

Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

|       |   |
|-------|---|
| 所 属   | 熊本大学大学院生命科学研究部 糖尿病分子病態解析学                                 |
| 氏 名   | 瀬ノ口 隆文  |
| 研究テーマ | M1/M2 マクロファージにおけるスカベンジャー受容体を介した細胞内シグナル活性化の動脈硬化形成に果たす役割の解明 |

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

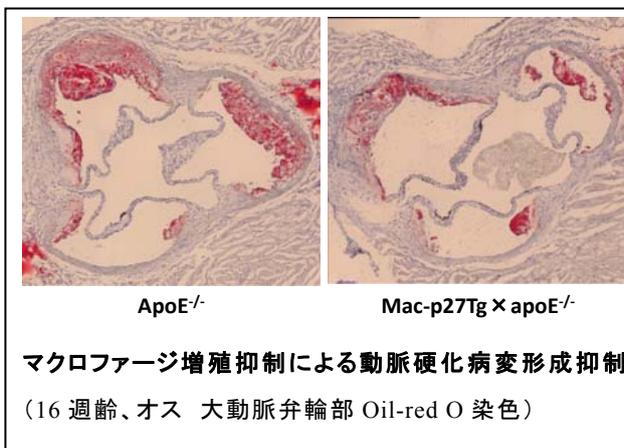
**【研究目的】**粥状動脈硬化の初期病変の形成にはマクロファージが重要な役割を果たす。動脈硬化巣には炎症性の M1、および抗炎症性の M2 の両マクロファージが存在し、M1 が動脈硬化形成促進的に、M2 が抑制的に作用していることが示唆されているが、一方で、泡沫化や粥腫形成に重要な役割を果たすマクロファージスカベンジャー受容体 (MSR) や CD36 は M2 への分化によって発現が増加することが報告されている。申請者らのグループは、スカベンジャー受容体 A-I/A-II 欠損マウス由来のマクロファージは酸化 LDL による増殖が有意に抑制されることを報告し (Sakai et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1996)、また、近年 in vivo においてもスカベンジャー受容体 A (SRA) 欠損によって動脈硬化病変のマクロファージ増殖が有意に抑制されること (Robbins et al. Nature Medicine. 2013) が報告されるなど、スカベンジャーレセプターを介したシグナルがマクロファージ増殖に重要な役割を果たし、動脈硬化病変形成へ関与することが示唆される。今回、動脈硬化病変におけるマクロファージ増殖に着目し、その病態生理学的意義を明らかにすることを目的とし本研究を行った。

**【研究方法】**1. マクロファージ極性誘導と増殖: マウス骨髄細胞を採取し、リコンビナント GM-CSF、M-CSF 存在下に培養し、M1、M2 に誘導したマクロファージ増殖能を検討した。

2. マクロファージ増殖抑制による動脈硬化発症・進展への影響の検討: スカベンジャー受容体 (SR-A) のプロモーター制御下にサイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p27<sup>kip</sup> を発現するマクロファージ特異的増殖抑制マウス (mac-p27Tg) を作成した。mac-p27Tg と apoE 欠損マウス (apoE<sup>-/-</sup>) とを交配し、apoE<sup>-/-</sup> × mac-p27Tg マウスを得た。16 週齢における動脈硬化形成の評価、動脈硬化病変組織における炎症性サイトカイン (MCP-1、IL-1β) の発現を検討した。

**【結果】**GM-CSF、M-CSF によって分化誘導したマクロファージは同様に生細胞数の増加がみられ、M1、M2 いずれのマクロファージも増殖能を有することが確認された。In vivo におけるマクロファージ増殖抑制による動脈硬化への検討では 16 週齢の大動脈弁輪部のプラークは、apoE<sup>-/-</sup> に比べ apoE<sup>-/-</sup> × mac-p27Tg 群で有意に減少していた。Iba1 陽性のマクロファージは apoE<sup>-/-</sup> × mac-p27Tg で少なく、Ki67 陽性の割合も低かった。病変部における CD68 の mRNA 発現は apoE<sup>-/-</sup> × mac-p27Tg で有意に減少し、また炎症性サイトカイン (MCP-1、IL-1β) の mRNA 発現も apoE<sup>-/-</sup> × mac-p27Tg で減少傾向を認めた。

**【結論】**マクロファージ増殖抑制により apoE<sup>-/-</sup> マウスの動脈硬化病変におけるマクロファージ数は減少し、病変部の炎症活性および動脈硬化病変の進展が抑制され、動脈硬化病変形成におけるマクロファージ増殖の意義を直接的に証明し得た。しかしながら、マクロファージ増殖の機序として注目したスカベンジャーレセプターを介した作用とマクロファージ増殖との関連や、当初の予定であったマクロファージ極性誘導による動脈硬化への影響を明らかとするには至っておらず、今後さらなる検討を続けてゆきたい。



マクロファージ増殖抑制による動脈硬化病変形成抑制  
(16 週齢、オス 大動脈弁輪部 Oil-red O 染色)

マクロファージ増殖抑制による動脈硬化への影響を明らかとするには至っておらず、今後さらなる検討を続けてゆきたい。



様式 4-2②

| 2. 学会発表実績  |               |  |
|--|---------------|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul> |               |  |
|  | 発表時期          | 発表学会名、発表者名、演題  |
| 1  | 2014/9/12, 13 | 9th Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes and Atherosclerosis Congress、Takafumi Senokuchi、Local macrophage growth inhibition ameliorates inflammation and suppresses atherosclerotic plaque formation in ApoE deficient mouse. |
| 2  | 2014/7/10, 11 | 第 46 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、山田 沙理恵、動脈硬化病変形成におけるマクロファージ増殖の病態生理学的意義の検討   |
| 3  | 2014/5/22-24  | 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会、山田 沙理恵、脂肪浸潤マクロファージ増殖の耐糖能に対する影響   |
| 4  | 2013/9/13, 14 | 第 28 回日本糖尿病合併症学会、瀬ノ口 隆文、マクロファージインスリン抵抗性による動脈硬化進展機序の解明  |
| 5  | 2013/7/18-19  | 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、瀬ノ口 隆文、インスリン抵抗性マクロファージの FoxO 活性化を介したアポトーシス誘導による動脈硬化進展機序の解明   |
| 6  | 2013/5/16-18  | 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会、瀬ノ口 隆文、肥満・メタボリックシンドロームにおける血清脂質値へのコレステロール合成・吸収能の影響  |
| 3. 投稿、発表予定   |               |  |
|  | 投稿/発表時期       | 雑誌名、学会名等   |
| 1  | 2014/11/21-24 | 6th AASD Scientific Meeting、Takafumi Senokuchi、Statin-mediated PPAR $\gamma$ activation in adipocytes may improve glucose tolerance in high fat-fed mice.  |
| 2  |               |  |
| 3  |               |  |
| 4  |               |  |
|  |               |  |
|  |               |  |