

## 脂肪組織における常在マクロファージの生理的機能

京都大学ウイルス・再生医科学研究所  
分子遺伝学  
岡部 泰賢

白血球の一種マクロファージは、生体のほぼ全ての組織に構成的に存在する。これら組織に常在するマクロファージは局在する組織に応じて特化した機能・形態（組織固有性）を有し、組織の正常な働きに貢献する。例えば、肺泡マクロファージによるサーファクタントタンパクの除去、マイクログリア（脳マクロファージ）による神経シナプスの剪定、骨リモデリング過程における破骨細胞（骨マクロファージ）の骨吸収などが、組織特異的なマクロファージの機能として報告されている(Okabe & Medzhitov, 2016, Nat. Immunol.)。これらの機能に異常が生じると肺胞蛋白症、神経変性疾患、大理石骨病などの組織疾患を引き起こすことが示すように、組織マクロファージは組織の恒常性を維持するうえで重要な役割を担う。このような背景から、マクロファージ研究に対する注目は高まりつつある。

一方で、脂肪組織に常在するマクロファージの組織固有性や生理的役割は十分に理解されてはいない。その理由として、マクロファージの組織固有性を分子レベルで明らかにしようとする試みが近年まで存在しなかったこと、脂肪組織マクロファージの機能に関しては生理的役割よりも病態への関連性に注目が集められていたことが考えられる。食物の過剰摂取や運動不足を原因とする肥満では、マクロファージが骨髄から多数浸潤する像が観察される。これらマクロファージは Tumor necrosis factor  $\alpha$  や Interleukin 6 などの炎症性サイトカインを産生することで、インスリン感受性の低下や動脈硬化を引き起こし、生活習慣病の基盤形成に寄与することが明らかにされている。その一方で、肥満になる前の脂肪組織においても多数の常在性マクロファージが常在するが、これら常在性の脂肪組織マクロファージの機能については不明な点が多い。

申請者はマクロファージの組織固有性を制御するメカニズムについて研究を行い、マクロファージの組織固有性が遺伝子発現レベルで制御されることを明らかにしてきた(Okabe & Medzhitov, 2016, Cell; Okabe 2018, Int Immunol.)。本研究では脂肪組織に常在するマクロファージに着目し、脂肪組織特異的に発現する遺伝子の機能を解析することにより、脂肪組織特異的なマクロファージの機能・役割を明らかにすることを試みた。

これまでの解析により、様々な組織の常在性マクロファージの遺伝子発現をゲノムレベルで解析し、脂肪組織マクロファージで顕著に発現する遺伝子を 20 遺伝子程同定した。本研究では、それら遺伝子のうち脂肪組織マクロファージで特異的に発現する上皮増殖因子(Epidermal Growth Factor, EGF)受容体に着目した(図1)。EGF受容体は細胞の生存・増殖・機能を制御する種々の細胞内シグナル伝達経路を制御するチロシンキナーゼ受容体である。この EGF 受容体の機能を in vivo で評価するため、EGF 受容体遺伝子を欠損するマウスの解析を試みた。

EGF 受容体を全身で欠損するマウスは胎生致死となることから、オーストリアウィーン大学の Maria Silbia 博士から提供された EGF 受容体のコンディショナルマウスと LysM-cre マウス(米国 Jackson 研究所より入手)を交配し、マクロファージ特異的に EGF 受容体を欠損するコンディショナルノックアウトマウス(Mac-Egfr KO)を作製した。

Mac-Egfr KO マウスの脂肪組織から調製した RNA に対して、RNA-seq を用いたゲノムワイドな遺伝子発現解析をおこなったところ、Acly, Fasn, Acaca, Elovl6, Ldlr などのトリグリセリド合成に関与する遺伝子の発現が低下していることが明らかになった。このことから EGF 受容体の活性化依存的にマクロファージから産生されるシグナルが、脂肪細胞の機能を調節しトリグリセリド合成を促進する可能性が考えられる。そこで現在、マクロファージが EGF 受容体依存的に何らかの液性因子を分泌することで脂肪細胞のトリグリセリド合成を促進する仮説をたて、その検証を行っている。

一方、Mac-Egfr KO マウスでは、脂肪組織のマクロファージの数に有為な差は生じなかったことから、EGF 受容体は脂肪組織におけるマクロファージの分化・維持には必須でないと結論した。そこで EGF 受容体が脂肪組織マクロファージの機能・活性化を制御する可能性について検討を行った。EGF 受容体は受容体型チロシンキナーゼであり、リガンドによって活性化されると自身の 1068 番目のチロシン残基が自己リン酸化される。そこで、フローサイトメトリーを用いて EGF 受容体の発現や 1068 番目チロシン残基のリン酸化を単一細胞レベルで検出する系を確立した。この系を用いて、脂肪組織マクロファージにおける EGF 受容体リン酸化をモニターしたところ、通常飼育(不断給餌)時には、脂肪組織マクロファージで EGF 受容体の 1068 番目チロシン残基のリン酸化が見出された(図2)。一方、12時間絶食した後の脂肪組織においてはこのリン酸化が消失することから、食物摂取によるシグナルがマクロファージに EGF 受容体の活性化を誘導する可能性が考えられた。

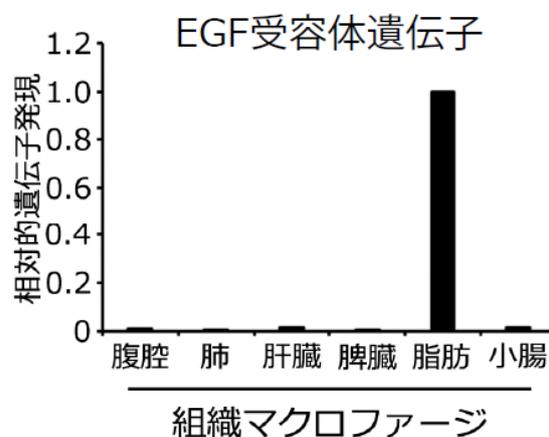


図1:脂肪組織マクロファージはEGF受容体の特異的に発現する。各組織マクロファージに発現するEGF受容体mRNAを定量。

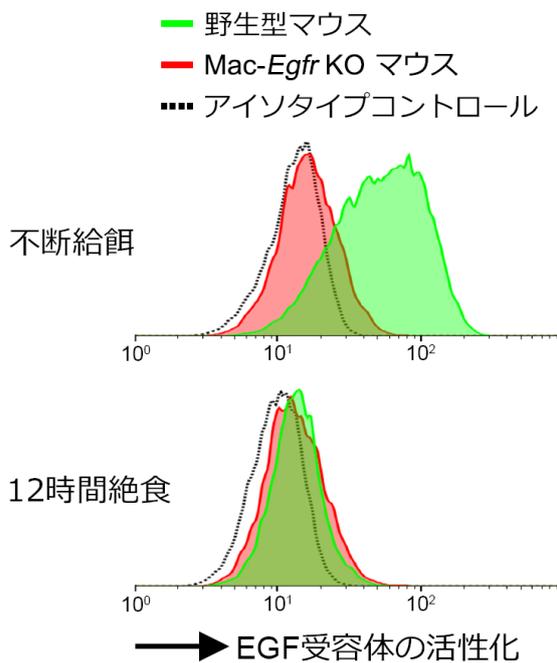


図2:食物摂取に依存的なEGF受容体活性化。脂肪組織マクロファージのEGF受容体活性化(pY1068)をFlow cytometryにより検討。

脂肪組織では、マクロファージ以外にも血小板由来成長因子受容体 (Platelet derived growth

factor receptor、PDGFR) α陽性の脂肪前駆細胞においても EGF 受容体が発現する。しかし、その活性化（1068 番目チロシン残基のリン酸化）は食物摂取には非依存的であり、常に一定の活性化状態にあることが分かった。このことから、マクロファージと間質細胞では、異なるメカニズムにより EGF 受容体の活性化が誘導されるのではないかと考えた。EGF 受容体に対するリガンドには、Epidermal growth factor(EGF)、Transforming growth factor-α(TGFα)、Heparin-binding EGF(HB-EGF) 、 Amphiregulin(AREG) 、 Betacellulin(BTC) 、 Epiregulin(EREG)、Epigen(EPGN)などの複数のリガンドが報告されている。マクロファージと前駆脂肪細胞の間で EGF 受容体活性化の動態が異なる理由として、細胞種によって異なるリガンドが作用する可能性が考えられる。そこで現在、食物摂取に応答して脂肪組織で活性化（産生）される EGF 受容体リガンドが存在し、そのリガンドが脂肪組織マクロファージの機能を制御するという仮説をたて、その検証を行っている。

従来の脂質代謝領域におけるマクロファージ研究は、炎症性変化におけるマクロファージの役割に焦点をあて代謝疾患との関連性を検証するものが主流であった。一方、本研究は組織固有性という指標を用いることにより脂質組織マクロファージの生理的役割を明らかにしようとする点に特徴がある。本研究で解析した脂肪組織マクロファージを介した脂肪蓄積のメカニズムは、エネルギーの余剰を脂肪に変換することで、飢餓に対する生存の手段として生命が進化の過程で獲得したものと考えられる。しかし、現在の先進諸国では過剰な食物摂取と慢性的な運動不足により肥満が常態化しつつあることでその生物学的意義は希薄となり、むしろ肥満の形成を助長している可能性が考えられる。このような背景のもと、マクロファージにおける EGF 受容体の活性化を人為的にコントロールすることで、本研究は将来的に肥満を予防する先制医療の創出へと発展する可能性が考えられる。