

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」
平成 22 年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告

石井 優

大阪大学大学院医学系研究科
教授

次世代の生体イメージングによる慢性炎症マクロファージの機能的解明

§ 1. 研究実施体制

(1) 「石井」グループ

- ① 研究代表者: 石井 優 (大阪大学大学院医学系研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・次世代イメージング基盤技術開発
 - ・慢性炎症探索研究

§2. 研究実施の概要

本研究は、次世代の光学技術と最新の医学・生物学の知識を融合させた学際的なアプローチにより、慢性炎症の発症・増悪機序の実体的解明を目指すものである。特に、慢性炎症が急性炎症と如何に異なるか、その細胞・分子機序を明らかにすることで、画期的な慢性炎症疾患治療法の開発を目標としている。具体的な研究としては、「光学・生物学的な要素開発による次世代の生体イメージング研究の確立」と、「慢性炎症のモデル系としての肥満脂肪組織における単球・マクロファージ機能の時空間制御、およびそれらによる炎症の慢性化機序を解明」の大きく2つのアプローチを並行して進めている。この結果、イメージング技術開発としては、実験系の改良により、従来の生体多光子励起観察の解像度を飛躍的に向上させ、単に細胞の移動を追跡するだけでなく、生きた個体・生きた細胞内での生きた機能分子の動態を解析する系を確立した。さらには、観察のみではなく、光刺激で活性化が可能な蛍光タンパク質を用いて、慢性炎症に特異的に関与するマクロファージのみを標識し個別に分取する方法論を確立した。また、これらのイメージング技術開発の成果を活用することにより、脂肪組織の慢性炎症のタイムラプス解析を行い、慢性炎症の「初期現象」を誘導する重要なトリガー分子の同定に成功した。

より具体的には、独自に確立した脂肪組織の長期間定点イメージング系を用いて、脂肪の慢性炎症が進行していく過程を、時系列を追って解析することに成功した。これにより、脂肪組織では、高脂肪食負荷 1 週後の極めて早期の段階において、すでに炎症性マクロファージの動態が変化していることを明らかとなった。さらに、高脂肪食負荷時1週時点の脂肪細胞分画を回収し、分子発現を検索することにより、病態のごく初期から発現が亢進する分子を同定した。さらに、この分子が脂肪組織内のマクロファージの遊走能を刺激すること、また脂肪細胞やマクロファージに作用し、その他の炎症性サイトカインやケモカインの発現を誘導し、炎症のトリガーとして作用することを明らかにした。この分子の機能を抑制することは、炎症の慢性化・持続化を未然に防ぎ、肥満や脂質代謝異常などの発症を初期から抑制する画期的な治療法となりうると考えられる。これは種々の生活習慣病への、対症療法ではなく根治療法の開発につながることで期待できるため、創薬面でも大きな期待が寄せられている。

また、これまでの生体イメージング研究では、生きた細胞の動態・機能を単に解析するのみで、それらの細胞現象を制御する分子基盤までは解析できていなかった。本研究では、光刺激で活性化が可能な蛍光タンパク質を用いて、観察部位における特定の細胞のみを多光子励起で *in situ* で標識し、個別に分取する新しい方法論を確立した。本研究では、慢性炎症の本質を解明するために、本法を用いて慢性炎症のみに関与するマクロファージのみを回収することに成功した。高脂肪負荷で炎症を誘導した脂肪組織では、急性炎症と慢性炎症が混在しており、本法により観察下で両者を区別し、選択的に回収することにより、特定の細胞集団・機能分子の同定につながることで期待される。本研究法は慢性炎症研究のみならず様々なライフサイエンス研究に応用可能な、次世代の生体イメージング研究の方向性として期待できる。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1. Kotani M, Kikuta J, Klauschen F, Chino T, Kobayashi Y, Yasuda H, Tamai K, Miyawaki A, Kanagawa, Tomura M, Ishii M. (2013) Systemic circulation and bone recruitment of osteoclast precursors tracked by using fluorescent imaging techniques. *J. Immunol.*, 190(2):605-12. (doi: 10.4049/jimmunol.1201345)
2. Kikuta J, Wada Y, Kowada T, Wang Z, Sun-Wada G-H, Nishiyama I, Mizukami S, Maiya N, Yasuda H, Kumanogoh A, Kikuchi K, Germain RN, Ishii M. (2013) Dynamic visualization of RANKL and Th17-mediated osteoclast function. *J. Clin. Invest.*, 123(2): 866-873. (doi: 10.1172/JCI65054)
3. Kikuta J, Kawamura S, Okiji F, Shirazaki M, Sakai S, Saito H, Ishii M (2013) S1P-mediated osteoclast precursor monocyte migration is a critical point of control in antibone-resorptive action of active vitamin D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(17): 7009-13. (doi: 10.1073/pnas.121879911)
4. Kagawa Y, Matsumoto S, Kamioka Y, Mimori M, Naito Y, Ishii T, Okuzaki D, Nishida N, Maeda S, Naito A, Kikuta J, Nishikawa K, Nishimura J, Haraguchi N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yamamoto H, Sekimoto M, Ishii H, Doki Y, Matsuda M, Kikuchi A, Mori M, Ishii M. (2013) Cell cycle-dependent Rho GTPase activity dynamically regulates cancer cell motility and invasion in vivo. *PLoS One*, 8(12): e83629. (doi: 10.1371/journal.pone.0083629)
5. Cuia G, Hara T, Simmons S, Wagatsuma K, Abe A, Miyachi H, Kitano S, Ishii M, Tani-ichi S, Ikuta K. (2014) Characterization of the Interleukin-15 niche in primary and secondary lymphoid organs in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(5):1915-20. (doi: 10.1073/pnas.1318281111)
6. Nishikawa K, Iwamoto Y, Ishii M. (2013) Development of an in vitro culture method for stepwise differentiation of mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells into mature osteoclasts. *J. Bone Miner. Metab.*, ePub.
7. Matsumoto S, Fujii S, Sato A, Ibuka S, Kagawa Y, Ishii M, Kikuchi A. (2014) A combination of Wnt and growth factor signaling induces Arl4c expression to form epithelial tubular structures. *EMBO J.*, ePub.