The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Visualized macrophage dynamics and significance of S100A8 in obese fat
Author(s)	堰本, 亮平
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55766
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	堰本　亮平
論文題名 Title	Visualized macrophage dynamics and significance of S100A8 in obese fat （肥満脂肪組織におけるマクロファージ動態の可視化とS100A8の重要性）

論文内容の要旨

〔背景と目的(Introduction/Purpose)〕

メタボリックシンドロームの基盤病態である内臓脂肪蓄積に伴い、脂肪組織では炎症が生じ、持続的な慢性炎症状態がインスリン抵抗性や全身の代謝異常の原因となっている。脂肪組織の炎症過程において、様々な免疫細胞の浸潤が認められ、脂肪組織炎症の原因として免疫細胞ネットワークの異常が関連していることが明らかとなってきている。生体内の免疫応答は迅速であり、多様な免疫細胞が動的ネットワークを形成していることを考えると、固定した組織の組織学的な評価や個々に単離した細胞の解析といった従来の実験方法だけでは、生体内における免疫応答バランスを評価・予測するには限界がある。

そこで本研究では、二光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング法により、肥満に伴う脂肪組織の炎症反応過程における免疫細胞動態変化を解析した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

脂肪組織イメージングは二光子レーザーを搭載した倒立型顕微鏡を用いて行った。麻酔下でマウスの精巣上体脂肪組織を露出し、脂肪細胞をBODIPYで染色し、Qtrackerで血管を染色した後にtime-lapse imagingを行った。本手法を用いて、生体イメージング法による生きたマウスの脂肪組織を長時間にわたり観察する手法を確立した。免疫細胞動態の観察はLysM EGFPマウス（lysozyme Mプロモータ下にEGFPが組み込まれており、好中球や単球/マクロファージが主にEGFPを発現している）を用いた。マウスに10週齢より高脂肪・高蔗糖（HF/HS）食を5日もしくは8週間負荷し、脂肪組織における免疫細胞動態を観察した。その結果、通常食を負荷したマウスでは脂肪組織内マクロファージの運動性は低かった。しかし、HF/HS食を負荷すると、負荷後5日目の極めて早期より脂肪組織マクロファージの運動性の亢進が観察された。この時点では脂肪細胞サイズ、脂肪組織内マクロファージの数に変化は無く、脂肪組織の形態学的な変化は見られなかった。HF/HS食負荷8週後においては、脂肪細胞周囲へのマクロファージ集積（crown-like structure）が形成され、マクロファージの動的活性化は維持されていた。脂肪組織の遺伝子発現解析により、HF/HS食負荷5日目の早期より認められた脂肪組織マクロファージの運動性亢進の原因となる候補分子としてS100A8を見出した。S100A8の肥満脂肪組織における役割をin vitroで解析したところ、本分子はマクロファージcell lineであるRAW264.7細胞に対して著明な遊走促進作用を示した。さらに本分子はRAW264.7細胞や3T3-L1脂肪細胞において炎症誘導作用を示したことから、肥満脂肪組織慢性炎症を引き起こす上流に位置する分子であることが示唆された。また、in vivo解析において、マウス脂肪組織にS100A8リコンビナントタンパク質を投与すると、脂肪組織のマクロファージが活性化され、細胞遊走が誘発されることが確認された。さらに、S100A8抗体投与はHF/HS負荷5日後のマクロファージの運動性亢進を著明に抑制し、HF/HS負荷に伴うインスリン抵抗性を改善した。

〔総　括(Conclusion)〕

脂肪組織の生体イメージングにより、脂肪組織慢性炎症過程の早期よりマクロファージの運動性が亢進しており、S100A8が初期因子として重要であることを明らかにした。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　堰本　亮平

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	下村伊一郎
	副　査	大阪大学教授	竹田潔
	副　査	大阪大学教授	高倉伸幸

論文審査の結果の要旨

近年、肥満に伴う脂肪組織の炎症過程では、様々な免疫細胞が関与し代謝異常の一因となっていることが報告されている。生体内の免疫応答は迅速であり、多様な免疫細胞が動的ネットワークを形成していることを考えると、従来の実験方法だけでは、肥満に伴う免疫応答を評価・予測するには限界がある。そこで本研究では生体イメージング法を用いて、肥満に伴う脂肪組織の炎症反応過程における免疫細胞動態変化を解析した。その結果、通常食を負荷したマウスでは脂肪組織内マクロファージの挙動は僅かであったが、高脂肪・高蔗糖食(HF/HS)負荷後超早期よりマクロファージの運動性の亢進が観察された。遺伝子発現解析の結果、HF/HS負荷超早期より脂肪組織で増加する因子としてS100A8を見出した。S100A8はマクロファージに対して遊走促進作用を示し、マクロファージや脂肪細胞において炎症誘導作用を示した。さらに、マウスへのS100A8抗体投与はHF/HS負荷に伴うマクロファージの運動性亢進を著明に抑制し、インスリン抵抗性を改善した。これらの結果から、S100A8は肥満脂肪組織慢性炎症の上流に位置する分子であることが示唆された。本研究では、脂肪組織の生体イメージングという新しい手法により、脂肪組織慢性炎症過程の早期よりマクロファージの運動性が亢進していること、またS100A8が脂肪組織慢性炎症の初期因子として重要であることを明らかにした。よって学位の授与に値すると考えられる。