

生体二光子分子イメージングによる運動に伴う骨格筋機能変化と 肥満病態改善機構の解明

自治医科大学分子病態治療研究センター 分子病態研究部 教授
東京大学医学系研究科循環器内科・システム疾患生命科学による先端医療技術開発拠点
西村智

研究の目的

三大疾病(生活習慣病・悪性腫瘍)の病態理解には、慢性炎症を基盤とする細胞動態・ネットワークの異常と、組織の再構築が重要である。生体内の組織では複数の細胞種が常に相互作用しており、その破綻が疾患と考えられる。我々は独自に生体内で細胞・分子動態を可視化する生体イメージング手法を開発しており、本手法を用いて、慢性炎症を背景とした各種疾患(肥満、糖尿病、動脈硬化)において、過食・肥満・高血糖・加齢といったストレスがいかに細胞ネットワーク・情報伝達の破綻と臓器機能異常、炎症病態を来すかを可視化し、その本態を明らかにし。特に、骨格筋では肥満病態に伴い炎症性マクロファージが浸潤すること、微小循環機能障害がおきること、これらの病態が運動により改善することが確認された。

研究の成果1

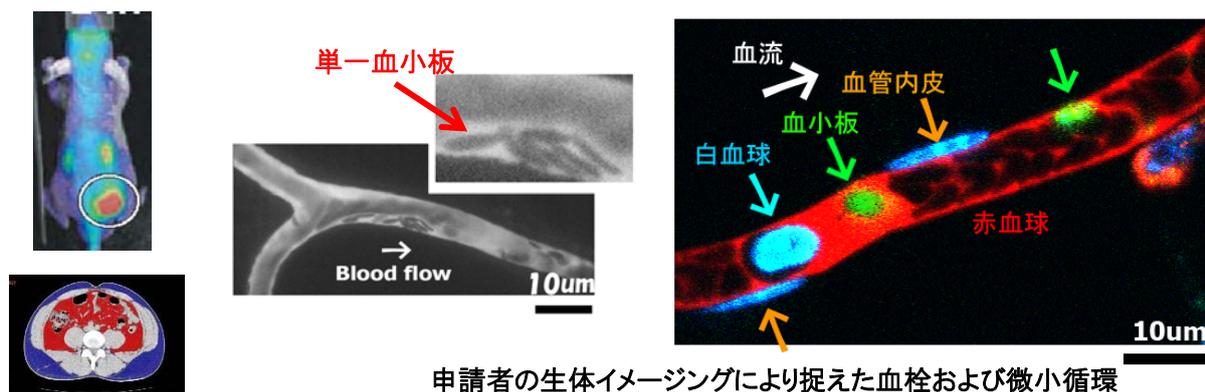
二光子レゾナンス顕微鏡を用いた生体観察システム

生体での骨格筋の病態下での細胞連関・情報伝達異常をより明らかにするためには、深部の光イメージング、及び、形態と機能と組み合わせたイメージングは必須である。光学系については、レゾナンス高速スキニングマルチカラー共焦点に、フェムトセカンドレーザーを組み合わせて二光子励起・深部の高速イメージングを行った。この、「マルチカラー・高速・高解像・深部・二光子イメージング」と新たな生体機能プローブとあわせ、骨格筋における遺伝子機能を光により評価可能な遺伝子改変動物の作成を行った。

従来の生体イメージングアプローチでは、免疫臓器などの深部臓器・臓器内部の構造に関しては可視化できず、遺伝子・細胞のダイナミズム、特にゲノムレベルの時系列によるゆらぎと生体内での恒常性およびその変化については観察手法が全く存在しなかった。たとえば、本邦の死因の上位を占める脳・心血管疾患の多くは血管の動脈硬化性変化を基盤とした血栓性疾患であると理解されており、血栓症では慢性炎症を背景とした動脈硬化巣の形成と、引き続いて起こる、動脈硬化巣の粥腫の破綻がその本態であると考えられている。しかし、このような多細胞からなる複雑病変とそのダイナミクスを生体内で検討する手法は存在しなかった。組織リモデリング・病態形成過程とそこに寄与するゲノム・エピゲノムのダイナミズム、恒常性維持破綻機構をシステムとしてより明らかにするためには、深部の光イメージング、及び、形態と機能と組み合わせたイメージングは必須である。

従来の生体イメージング手法はモダリティとしてMRI・CT・PETもしくは体表発光イメージングを用いるものが大半であったが、空間・時間解像度の低さが大きなネックになっている。しかし、申請者が立ち上げてきた蛍光を用いた生体分子イメージング手法では、現状で生体内の細胞をサブミクロンレベル、かつ、リアルタイムで見ることが可能であり、圧倒的に得られる情報が多い。本手法は申請者らが独自に開発したもので、世界最高水準の解像度、マルチカラーで生体内の多様な現象を可視化可能であり、きわめて独自性が高く、世界にさきがける報告を多数している(Nishimura et al, 2008 JCI, 2009 Nat Med, 2010 JCI, 2010 JEM, 2012

Blood, 2013 Cell Metabolism)。



従来のイメージング
CT・光イメージング

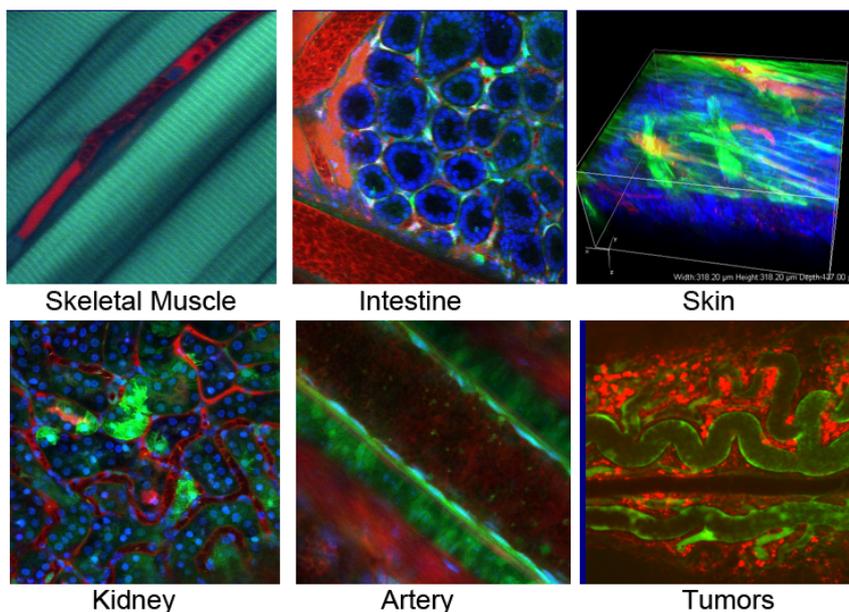
申請者の生体イメージングにより捉えた血栓および微小循環
血栓形成過程、血管構築、微小循環中の血球(赤血球・白血球・血小板)
が特異的にかつ高解像度でそれぞれ可視化されている

研究の成果2

運動に伴う骨格筋機能変化の解析

上記で開発した生体イメージング手法を、各種病態モデル動物・遺伝子改変動物に適応して、慢性炎症を背景とする骨格筋局所における細胞動態・ネットワークの可視化を行い、運動負荷の影響を検討した。特に、骨格筋においては、サルコメアが同定できる解像度で可視化が可能になった。運動にともおない、毛細血管のリクルートメントがおきること、インスリン作用が増強することが生体イメージングにより確かめられた。

また、各種炎症性細胞(血管内皮・血小板・白血球・リンパ球)と実質細胞の相互作用、病態下の臓器機能異常における細胞連関の役割を検討したところ、骨格筋には多数のマクロファージが存在すること、肥満により活性化され数が増えること、運動によりマクロファージの集積が抑制されることを確認した。



生体二光子イメージによる画像例

最近の研究により、食生活の欧米化(高脂肪食など)に伴うメタボリックシンドロームや糖尿病の背景には慢性炎症が存在することが明らかになってきた。しかし、慢性炎症を基盤とする慢性疾患に関しては、その病態が不明であることから特效薬が存在せず、依然として多くの有病患者と高い死亡率を生ずる要因となっている。肥満病態では脂肪組織のみならず、免疫組織や腸管にも免疫異常が起き、これらの組織はクロストークを形成していることが明らかになっているが、その詳細な分子メカニズムは不明である。腸管や脂肪組織には骨髄由来の活性化した、T 細胞、マクロファージ、NK 細胞が浸潤するが、遊走および賦活化について、その詳細なメカニズムは分かってない。さらに、高脂肪食により腸内細菌が変化するとともに、食事由来の直接脂質が腸管の免疫細胞を賦活化し、ひいては全身の脂肪組織の機能異常をひきおこすと示唆されている。そこで、本研究では、肥満にともなう免疫異常の関与を骨格筋・腸管を中心とした全身のレベルで明らかにし、その分子機構を検討した。

特に、我々は、心血管疾患の重大なリスク要因となる高脂肪食に伴うメタボリックシンドロームの病態解明を目指して、生体分子イメージング手法を活用し、食事由来脂質の全身性の影響、肥満に伴う腸内細菌叢の変化、脂肪組織の機能異常と局所免疫の賦活化を明らかにしてきた。たとえば、肥満した脂肪組織や腸管では、M1 マクロファージ、CD8 陽性 T 細胞といった炎症性細胞が賦活化されて、脂肪組織炎症と糖尿病病態を起こしている。そこで、炎症性・免疫細胞に影響し腸管と脂肪組織と免疫組織の異常なクロストークがいかに形成されているかを検討した。特に、腸管から吸収された脂質を代謝する酵素、オートタキシンの役割について、検討を行った。脂肪組織に内在する制御性 B 細胞の役割を検討した。この制御性 B 細胞は IL-10 を恒常的に発現しており、脂肪組織の炎症を負に制御していた。制御性 B 細胞の役割は、腸内細菌などの環境要因に依存しており、無菌マウスではこれらの B 細胞の役割が減弱することにより、全身のインスリン抵抗性が増悪していた (Nishimura et al, 2013 Cell Metabolism)。

まとめ

現在ゲノム・エピゲノムレベルでは生命現象が確定されているにもかかわらず、生理学的・病態学的な生体への説明には多くの困難がある。特に生体の中でも代謝臓器の血管・間質では複数の細胞種が常に相互作用し、恒常性維持・生体保護の最前線となっている。代謝疾患などの生活習慣病では、これらの生理的機能が破綻し、最終的には慢性炎症を基盤とする組織リモデリングと機能異常による病態が形成される。低侵襲・初期治療を考えると、機能破綻を呈する前の段階を、生体内で捉えて治療する必要がある、生体二光子分子イメージングは有効と考えられた。

発表論文

Expandable Megakaryocyte Cell Lines Enable Clinically Applicable Generation of Platelets from Human Induced Pluripotent Stem Cells

Nakamura S, Takayama N, Hirata S, Seo H, Endo H, Ochi K, Fujita K, Koike T, Harimoto K, Dohda T, Watanabe A, Okita K, Takahashi N, Sawaguchi A, Yamanaka S, Nakauchi H, **Nishimura S**, Eto

K

Cell Stem Cell, 2014 in publication.

Adipose natural regulatory B cells negatively control adipose tissue inflammation

Nishimura S, Manabe I, Takaki S, Nagaskai M, Ostu M, Yamashita H, Sugita J, Yoshimura K, Eto K, Komuro I, Kadowaki T, Nagai R

Cell Metabolism. 2013, 18, 759-766.

Inhibition of Stabilin-2 elevates circulating hyaluronic acid levels and prevents tumor metastasis

Hirose Y, Saijou E, Sugano Y, Takeshita F, **Nishimura S**, Nonaka H, Chen Y-R, Sekine K, Kido T, Nakamura T, Kato S, Kanke T, Nakamura K, Nagai R, Ochiya T, Miyajima A

PNAS 2012, 109(11):4263-8.

In vivo imaging visualizes discoid platelet aggregations without endothelium disruption and implicates contribution of inflammatory cytokine and integrin signaling.

Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Kakuta S, Iwakura Y, Takayama N, Oeohara J, Otsu M, Kamiya A, Petrich B, Urano T, Kadono T, Sato S, Aiba A, Yamashita H, Sugiura S, Kadowaki T, Nakauchi H, Eto K, Nagai R.

Blood. 2012 ;119(8):e45-56.

Adipose tissue remodeling associated with chronic inflammation and abnormal local immunity in obesity visualized by in vivo molecular imaging method

Nishimura S, Nagasaki M, Sugita J.

Inflammation and Regeneration, 2012, 32(4), 165-170.