

細胞内代謝に着目した動脈硬化性疾患におけるマクロファージの極性変化の意義の解明

野本博司

北海道大学病院 糖尿病・内分泌内科

【研究の背景】

動脈硬化病変の形成・進展には、血管壁に浸潤した単球・マクロファージ(M ϕ)が重要な役割を果たす。M ϕ には「極性」が存在し、極性によりその性質や細胞内代謝が大きく異なる¹⁾。解糖系マスターレギュレーター酵素 PFKFB3 は向炎症性 M ϕ (M1M ϕ) では高発現し細胞内代謝を解糖系に向かわせるが、抗炎症性 M ϕ (M2M ϕ) における意義は不明である。

【目的】

本課題ではヒト頸動脈プラーク検体を用いて M ϕ の極性と PFKFB3 を中心とした解糖系酵素群の発現について検討を行い、M ϕ の極性と細胞内代謝との連関とその意義の解明を目指す。

【方法】

1. 公共の遺伝子発現データベース(GEO database)を用いて、ヒト M1M ϕ と M2M ϕ の遺伝子発現の違いを比較検討する。
2. ヒト頸動脈プラーク切除検体のパラフィン包埋標本を薄切し、各 M ϕ の表面マーカーと PFKFB3 に対する特異的抗体を用いた蛍光免疫染色を行い、実際のヒト動脈硬化巣における浸潤した M ϕ の極性の違いと PFKFB3 の発現の有無ならびにその発現パターンを比較検討する。
3. ヒト単球系細胞株 THP-1 を M1M ϕ ないし M2M ϕ に分化させ、タンパク・遺伝子・細胞上清を回収した。また同細胞をスライドガラスに固定し、蛍光免疫染色法にて PFKFB3 の発現パターンを確認する。
4. 上記の方法で分化させた M2M ϕ にリポフェクタミンを用いて PFKFB3 に対する siRNA とそのコントロール siRNA を同濃度で導入し、PFKFB3 のノックダウン系を作成し同様に遺伝子発現を確認する。

【結果】

1. ヒト M1M ϕ と M2M ϕ の遺伝子発現を比較すると、M2M ϕ では解糖系に関連する酵素群 (PFKFB3, LDHA, HK2 etc.) の発現が低く、PCX をはじめとする酸化的リン酸化に関わる遺伝子群の発現が高いことが確認された。
2. ヒト頸動脈プラーク切除検体において、M1M ϕ では細胞質中心に PFKFB3 が高発現していた。検討 1. の結果から M2M ϕ においては PFKFB3 の発現が低いことを想定していたが、細胞質における発現は低いものの核において強い発現を認めた。
- 3-4. THP-1 細胞から分化させた M ϕ においても、M1M ϕ において細胞質の PFKFB3 の発現を認めた。siRNA を用いて M2M ϕ の PFKFB3 の発現を低下させると、向炎症性・抗炎症性サイトカインの遺伝子群の発現が増強された。

【考 察】

PFKFB3 は細胞内の局在によりその役割が異なることが知られ、M1M ϕ で観察された細胞質における発現では解糖系のプロセスに影響し、一方で M2M ϕ において観察された核における発現は、組織のリモデリングや増殖シグナルなどに関係するとされている。今後は更なる詳細な意義の解明のため、siRNA の導入を行った培養 M ϕ を用いた網羅的遺伝子発現解析を予定している。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

ヒト動脈硬化層に浸潤した M ϕ の極性と細胞内代謝の関連、さらにはプラークの性状との関連を明らかにすることで、M ϕ の細胞内代謝の観点から、動脈硬化性疾患への介入という新しいアプローチが可能となる可能性がある。本研究において着目している PFKFB3 が種々の癌腫で高発現していることが知られており²⁾、PFKFB3 を標的としたアジュバント治療の可能性が方々で検討されている。このような観点からも、PFKFB3 の種々の病態における役割や機能を抑制した際の影響を明確にしておくことは臨床上重要なことである。

【参考・引用文献】

- 1) Cho KY, et al. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2013 Oct;22(7):910-8
- 2) Kotowski K., et al. *Cancers (Basel).* 2021;13(4):909