

**京都大学教育研究振興財団助成事業  
成 果 報 告 書**

2019年 6月 21日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団  
会 長 藤 洋 作 様

所属部局・研究科 京都大学大学院医学研究科 内科学講座臨床免疫学

職 名・学 年 博士課程3年生

氏 名 MA SHUHE (馬 舒荷)

助 成 の 種 類	<b>2019 年度 ・ 国際研究集会発表助成</b>	
研 究 集 会 名	ヨーロッパリウマチ会議2019年次学術集会	
発 表 形 式	<input type="checkbox"/> 招 待 ・ <input type="checkbox"/> 口 頭 ・ <input checked="" type="checkbox"/> ポスター ・ <input type="checkbox"/> その他( )	
発 表 題 目	VARIATION IN MACROPHAGES DIFFERENTIATION AND SREBF1 EXPRESSION BETWEEN INFRAPATELLAR FAT PAD AND SUBCUTANEOUS TISSUES FROM RHEUMATOID ARTHRITIS AND OSTEOARTHRITIS PATIENTS	
開 催 場 所	スペイン、マドリッド	
渡 航 期 間	2019 年 6 月 12 日 ～ 2019 年 6 月 17 日	
成 果 の 概 要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )	
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	300,000円
	使用した助成金額	300,000円
	返納すべき助成金額	0円
	助 成 金 の 使 途 内 訳	ホテル代＋飛行機代
当財団の助成について	今回の助成金のお陰で、EULARでの発表が無事に成功し、今まで以上に頑張れる力を与えてくれました。本当にありがとうございます。	

## 成果の概要／馬 舒荷

京都大学大学院医学研究科 内科学講座臨床免疫学

この度、国際研究集会発表助成に選ばれたことに、本当に嬉しく思っております。心よりお礼を申し上げます。EULAR(ヨーロッパリウマチ会議 2019 年次学術集会)に参加できたことに、大変素晴らしく思っております。凄く勉強になりました。いい経験をさせていただきました。ありがとうございます。

私が今回、EULAR で発表したのは、SREBP1 という脂肪酸を制御するタンパク質が、膝蓋下脂肪体と皮下脂肪の発現量で有意差がありました、というお話です。以前の研究では、SREBP 1 は TLR4 アゴニストの刺激により、マクロファージの resolution phase で発現され、脂肪酸を制御する遺伝子 Fads, SCDなどを制御し、 $\omega$ -3 脂肪酸の産量が高くなり、そして炎症に関わるサイトカインやケモカインの産量が減ることが判りました。ここでもう少し背景を見てみたいですが、マクロファージは TLR アゴニストの刺激により M1 マクロファージになり、そして一方、解糖系に関わる転写因子、例えば *HF-1*, *NF- $\kappa$ B* の発現量が上がり、それとは別に、脂肪酸代謝に関わる遺伝子、例えば *LXR*s の発現量は低くなります。*LXR*s の発現量が低くなると、脂肪酸の産量も低くなるはずですが、そこで脂肪酸の量を維持してくれるのは SREBP1 です。SREBP1 は *LXR*s の代わりに脂肪酸代謝に関わる遺伝子のエレメントと結合し、脂肪酸の代謝を維持します。また、SREBP1 は SREBP1a と SREBP1c の二つの isoform があり、マクロファージでは SREBP1a の方が主になっています。さらに M2 マクロファージの役割は、主にリン酸化と脂肪酸代謝に関わる ATP 合成である。本研究では、SREBP1 が膝蓋下脂肪体と皮下脂肪でどのような発現の違いがあるのを検討したのと、M1 と M2 マクロファージの比率について検討していました。

我々の研究では、京大病院で関節リウマチや骨関節炎で手術する患者さんの同意を得て、彼らの手術した膝の膝蓋下脂肪体と皮下脂肪を取り、分析しています。方法としては、先ず、検体を細かく切り、コラゲナーゼで 37°C、一時間処理します。次に、検体をもっと細かくして洗った後、1800rpm で 3 分間遠心し、チューブの下に溜まっている SVF (間質血管画分)、もしくは脂肪組織の脂肪細胞以外の細胞を DMEM に溶け、計数します。計数したサンプルの 1/10 を別チューブに移り、残りのサンプルを CD14 (マクロファージのマーカ) のビーズで MACs した後、二部に分け、一部は Isogen に入れ、qRT-PCR で検討するため cDNA 合成に進めます。もう一部は CD14、CD86 (M1 マクロファージのマーカ)、CD163 (M2 マクロファージのマーカ) で染色し、FACs を行います。先に残した 1/10 のサンプルは、CD3(T cell マーカ)、CD20 (B cell マーカ) と CD14 で染色し、FACs を行います。最後にフローサイトメトリーで CD80 陽性細胞 (M1 マクロファージ) と CD163 陽性細胞 (M2 マクロファージ) の比率を計算します。

結果として、先ず、図 1 を示したように、膝蓋下脂肪体 (Hoffa) と皮下脂肪(SC)のマク

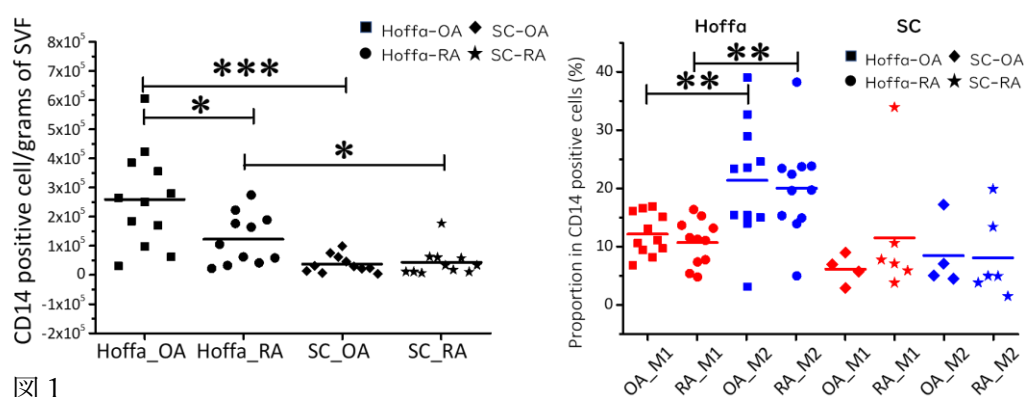


図 1

ロファージの間では、有意差が出ました。さらに、OA と RA の中で、M1 と M2 マクロファージの比率に有意差がありました。M2 マクロファージは皮下脂肪より膝蓋下脂肪体の方が多く存在しています。

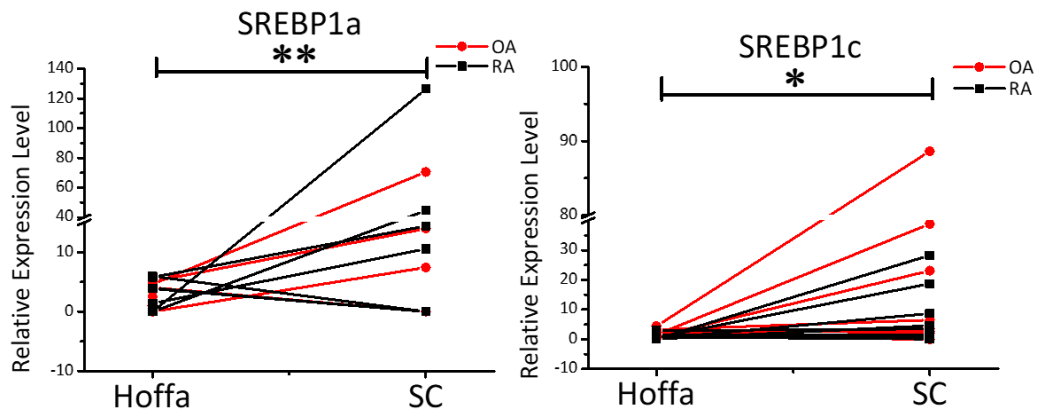


図 2

qRT-PCRの結果(図2)を見てみますと、膝蓋下脂肪体の方のSREBP1の発現量が低いことが判りました。さらに、OA患者とRA患者に関係なく、皮下脂肪のSREBP1の発現量が高いことで、疾患間での差はあんまりないと思われます。他の炎症に関わるサイトカインやケモカインのqRT-PCR結果では、有意差はなしが、IL-6とIL-1 $\beta$ の発現量はどれも膝蓋下脂肪体の方が高いことが判りました。これは、SREBP1が低いところに炎症を抑える作用のある $\omega$ -3脂肪酸の生産も低く、炎症反応が激しいためと説明されます。この二つのグラフから得られる結論は、マクロファージは脂肪体の場所によって、異なるレプログラミングを受けています。しかし局所的にSREBP1が低い理由はまたはっきりしていない。今後の研究方向ではあります。

SREBP1は脂肪酸の生産を制御するタンパク質ではありますが、 $\omega$ -3脂肪酸は炎症を抑制する機能から、SREBP1の調節でリウマチ疾患が改善できるのではないかと考えています。SREBP1の機能をもっと調べるため、Crispr/Cas9でSREBP1のノックアウトマウスを作っています。ノックアウトしたマウスはCIAもしくはSerum Transferで関節炎を起こさせて、qRT-PCRで炎症に関わるサイトカインやケモカインを検討します。さらにBetulinというSREBP1の阻害剤を別グループのマウスに使い、阻害されたままSerum Transferで関節炎を起こし、qRT-PCRやHE染色でSREBP1減少するメカニズムを探しています。患者さんからの検体はこれからも蓄積しますが、脂肪酸の量を調べるため、

一部を分けて、培養してから ELISA で DHA や TG を測定したいと思います。脂肪代謝の観点からの研究は新しいではありますが、これからはきっと注目されると思います。これからもリウマチ患者さんの痛みを少しでも軽くなれますよう、励みたいと思います。