

【目的】 マクロファージ (Mφ) は活性化の違いにより炎症惹起性の古典活性化 Mφ (M1 Mφ) と抗炎症性・組織修復性のオルタナティブ活性化 Mφ (M2 Mφ) の 2 種類に大別される。また、Mφ の起源は、卵黄嚢由来・組織在住 Mφ と骨髄・単球由来 Mφ の 2 種類に大別される。現在、M1/M2 Mφ を区別するマーカー分子は存在するが Mφ の起源を正確に区別するマーカー分子はないことから、起源の違いによる Mφ の機能的違いや各疾患に対する役割については未解明である。近年、M2 Mφ を組織幹細胞と共に動員する薬剤のハイドロゲル局所徐放化技術による組織幹細胞の再生・組織構築能を向上させるバイオマテリアル開発が行われているが、起源の違う 2 種類のどちらの M2 Mφ を動員すべきかは明確ではない。Mφ 特異的分子である CD163 は M2 Mφ の代表的な細胞表面マーカーであり、CD163 陽性 Mφ が強い組織修復能を有すると共に臓器に常在していることが知られている。ゆえに、CD163 が卵黄嚢由来・組織在住 Mφ のマーカーになりうる可能性や組織再生バイオマテリアル開発において動員すべき M2 Mφ は CD163 陽性 Mφ である可能性を考えた。そこで、本研究では Mφ の CD163 に着目したマウスにおける卵黄嚢・組織在住 Mφ の分布と単球由来 Mφ との機能差異を解析し、マウスとヒトにおける CD163 陽性 Mφ の優れた組織修復能を明らかにすることで、その促進的制御による再生医療材料への応用を目指した基礎的知見を得ることを目的とした。

【方法】 Mφ としてはヒト単球由来 Mφ、マウス骨髄由来 Mφ ならびにマウス腹腔 Mφ を用い、組織としてはマウス自然発生多重がん組織および、クロドロン酸リポソームにて Mφ を除去したマウス肝臓組織を用いて CD163 の発現をウエスタンブロット、Cell-ELSA、免疫細胞染色、免疫組織染色にて解析した。また、フィブリンビーズ (FB) や FB 含有ハイドロゲル、kakkalide 含有ハイドロゲルの Mφ に対する作用をマーカー (CD163、CD204、CD206、IL-10、TNF-α 等) の発現・分泌をウエスタンブロット、ELISA、qPCR、免疫細胞染色、免疫組織染色にて解析することで評価した。

【結果】 マウス骨髄由来 Mφ には CD163 の発現は認められず、マウス腹腔 Mφ では発現が認められた。また、マウスに自然発生した多重がん組織 (Hepatoma と Histiocytic sarcoma) では、肝細胞に由来するがんである Hepatoma の組織では CD163 陽性 Mφ は認められず、肝在住の Mφ であるクッパー細胞に由来するがんである Histiocytic sarcoma の組織では CD163 陽性 Mφ が認められた。さらに、クロドロン酸リポソームにて臓器 (肝臓) 中の組織在住の Mφ を一時的に除去し、骨髄・単球から供給される Mφ の CD163 発現を解析したところ CD163 陰性であり、マウス胎仔組織の卵黄嚢に存在する Mφ では CD163 陽性であったことから、マウスでは CD163 が卵黄嚢由来・組織在住 Mφ のマーカーになりうることを示唆された。また、フィブリンビーズ (FB) は Mφ に対して抗炎症マーカー (CD163、CD206、IL-10 等) の発現・分泌を誘導し、LPS による炎症刺激に対しては炎症マーカーである TNF-α の分泌を抑制したことから、FB は Mφ を抗炎症性のフェノタイプに誘導することを明らかにした。さらに、FB 含有ハイドロゲルを移植したマウスではハイドロゲル中に浸潤する Mφ が顕著に増加すると共に抗炎症性の M2 Mφ が増加していた。ゆえに、FB 含有ハイドロゲルは *in vivo* でも Mφ の抗炎症性フェノタイプを誘導する効果を持つ有用な組織再生バイオマテリアルとなりうる可能性が示唆された。

マクロファージを抗炎症性フェノタイプへ誘導するフィブリンビーズ

