

令和元年6月20日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15674

研究課題名(和文)耐糖能制御におけるIL-15の生理的意義の解明および治療への応用

研究課題名(英文)Elucidation of physiological significance and therapeutic applications for IL-15 in glucose tolerance regulation

研究代表者

森 泰三(Mori, Taizo)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・上級研究員

研究者番号：40625307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：IL-15は主に上皮、脂肪細胞、免疫細胞から産生され、免疫系細胞の発生や維持に重要なサイトカインであるが、耐糖能制御における生理的意義は不明であった。IL-15欠損マウスはインスリン産生能および抵抗性は野生型と変わらないものの、糖負荷時において野生型と比較して血糖の上昇が抑制されていた。一方で、定常状態においてIL-15の反応性亢進が認められるLnk欠損マウスに高脂肪食負荷を行うと、野生型と比較してLnk欠損マウスの炎症の増悪および耐糖能の悪化が認められた。Lnk/IL-15二重欠損マウスにおいては炎症および耐糖能が野生型と同程度まで抑制されていることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪細胞の分泌する液性因子であるアディポサイトカインは糖尿病をはじめとした代謝性疾患の進展に寄与することが知られている。アディポサイトカインの一つであるIL-15は非肥満状態において低下すると低血糖のリスクになる一方で、肥満など耐糖能異常が生じている場合はIL-15を抑制することで血糖値制御を正常化させることができるかもしれない。また、IL-15のシグナルを抑制する薬剤を用いることで、糖尿病の改善に有効である可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：IL-15 is mainly produced from the epithelium, adipocytes and immune cells, and is an important cytokine for the development and maintenance of cells of the immune system. However physiological significance of IL-15 in glucose tolerance regulation was unknown. Although IL-15 deficient mice were same levels from wild type for insulin production and resistance at glucose loading, elevation of blood glucose was suppressed as compared to wild type. On the other hand, when high-fat diet loading was performed on Lnk-deficient mice, in which IL-15 hyper-reactivity was observed in steady-state conditions, exacerbation of inflammation and glucose tolerance were observed in Lnk-deficient mice compared to wild-type mice. It was revealed that adipose inflammation and impaired glucose tolerance were suppressed to the same extent as wild type in Lnk/IL-15 double deficient mice.

研究分野：実験病理学

キーワード：耐糖能制御 2型糖尿病 サイトカイン 脂肪内炎症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病は年間1万人以上が死亡し、現在も1000万人以上の予備軍が存在すると言われる疾病である。患者の増加を受け、糖尿病に伴う特徴を関連づけようとする試みが進んでいる。2型糖尿病を誘引する主な要因として肥満が挙げられるが、どのようなメカニズムで慢性の炎症を誘導し、インスリンに抵抗性を獲得するに至るかは未だ不明な部分が多い。近年の研究より、肥満がマクロファージをはじめとした特定の免疫細胞の浸潤および活性化を惹起し、炎症性サイトカインやケモカインの産生を誘導する事でインスリン抵抗性を獲得するといった免疫細胞を介した新規の制御機構が報告され注目を集めてきている。免疫系は病原体などの外敵から自己を守るために必須の生体機構であるが、過剰な活性化は組織における恒常性を破壊し、時に自己免疫疾患などの難治性疾患の原因となる。生体には免疫系活性化のアクセルとなりうるサイトカインシグナルに対して、ブレーキの役割を持つ分子が存在し、免疫系の恒常性を制御することが知られている。

### 2. 研究の目的

近年、脂肪細胞の分泌するサイトカイン群、アディポサイトカインが糖尿病の発症に大きく関わっていることが明らかになりつつある。IL-15は主に上皮、脂肪細胞、免疫細胞から産生され、NK細胞やCD8陽性T細胞などの免疫系細胞の発生や維持に重要なサイトカインである。しかしながら、定常状態の耐糖能制御や2型糖尿病における生理的意義は不明であった。

Sh2b3/Lnk (Lnk)は、主に造血系細胞およびリンパ組織に発現する細胞内アダプター蛋白質である。富プロリン部を含み多量体形成に働くN末端領域、PHドメイン、SH2ドメインから形成され、サイトカインレセプター下流のJAK2あるいはC-KITのチロシン残基に結合することで、細胞外から受容したシグナルを抑制し細胞の機能を調節している。近年のヒトゲノムワイド関連解析(GWAS)より、SH2B3/LNK遺伝子のアミノ酸置換を伴うSNP(R262W)は糖尿病をはじめとする自己免疫疾患と高い関連を示すことが報告されてきている。我々は最近、Lnkは脂肪内の1型自然リンパ球のIL-15反応性を制御する事で脂肪内炎症および耐糖能の低下を抑制していることを見いだした。興味深い事に、Lnk欠損マウスをIL-15欠損マウスと交配し二重欠損マウスを作成して耐糖能を解析してみると、Lnk欠損マウスで見られていた耐糖能の悪化が改善している事が明らかとなった。以上の結果より、アディポサイトカインの一つであるIL-15は肥満状態における耐糖能制御およびインスリン抵抗性誘導のKey moleculeとして機能しているのではないかと考えた。

我々はLnkレポーターマウスを用いた検討より、高脂肪食を負荷すると脂肪内CD8陽性T細胞におけるLnkの発現が普通食負荷と比較して減少することを発見した。Lnkの発現抑制はIL-15依存性のCD8陽性T細胞の増加および活性化を誘導することを明らかにしているが、どのような分子がLnkの発現を制御しているかについては分かっていない。この機構が解明できれば、T細胞依存性の耐糖能異常を改善させることが可能となるかもしれない。

本研究計画では上述の背景を踏まえ、IL-15がいかにして耐糖能を制御しているかを明らかにすることで糖尿病における生理的意義を解明する。加えて、肥満による慢性炎症のイニシエーターである炎症細胞が増殖する際、IL-15の反応性を調節する因子であるLnkがそのキープレイヤーとなっている可能性を想定し、Lnkの発現を制御する分子の探索を行う。

### 3. 研究の方法

IL-15の耐糖能制御における生理的意義を明らかにするために、IL-15欠損マウスを用いて定常状態および肥満状態における糖負荷時血糖値、インスリン産生量、インスリン抵抗性を解析する。差が認められた場合、IL-15依存性免疫細胞の関与を明らかにする目的で、野生型およびIL-15欠損マウス

をドナーとした骨髄移植を行い、同様の実験を行う。また、IL-15 反応性亢進の認められる Lnk 欠損マウスに高脂肪食負荷を行い、耐糖能異常が増悪化するか、IL-15 二重欠損によって改善するかを明らかにする。Lnk の発現をモニターできるレポーターマウス Lnk-Venus マウス(+/-)に通常食あるいは高脂肪食を負荷し脂肪における各細胞集団の増減と Lnk の発現を解析した結果、増殖が見られる CD8 陽性 T 細胞特異的に Lnk の発現低下が認められた。どのような因子が Lnk の発現低下を誘導するかについて解析を行う。

#### 4. 研究成果

我々は IL-15 欠損マウスを用いて解析を行ったところ、定常状態および肥満状態において IL-15 欠損マウスの血糖値が野生型と比べて低く保たれる事を見出した。定常状態において IL-15 欠損マウスのインスリン産生能および抵抗性は野生型と変わらないものの、ピルビン酸負荷時において野生型と比較して有意に血糖の上昇が抑制されている事を明らかにした。この結果は IL-15 が脂肪、肝臓、筋肉などの代謝組織に直接作用し、ピルビン酸からの糖新生を制御している可能性を示唆するものである。一方で、IL-15 依存的免疫細胞集団の関与を明らかにするために、IL-15 欠損マウスをドナーとした骨髄移植マウスを用いて糖負荷試験を行ったところ、野生型を移植したマウスと比較して IL-15 骨髄移植マウスにおいて顕著な変化は認められないという結論となった。これらの結果より、IL-15 は血糖値の上昇において代謝系に働きかけることで促進的に機能しており、IL-15 依存的な免疫細胞集団の有無は定常状態の耐糖能制御においては影響しないことが示された。

通常食給餌において IL-15 反応性の亢進が認められる Lnk 欠損マウスに対して高脂肪食給餌における糖負荷試験を行なってみると、野生型と比較して耐糖能の増悪化が認められた。Lnk 欠損マウスは通常食給餌では糖負荷 30 分後において野生型と比較して約 1.5 倍程度の上昇を示すが、高脂肪食給餌条件においては野生型の 2 倍以上 (1000 mg/dl over)の異常な高血糖を示した。一方で、Lnk/IL-15 二重欠損マウスを解析してみると、高脂肪食負荷時においても野生型と同程度の血糖値を示した。インスリン抵抗性に関しても、高脂肪食給餌における Lnk 欠損マウスは反応性の悪化が認められるのに対し、二重欠損マウスは野生型と同程度であった。脂肪における炎症状態を調べるために、免疫細胞を調べてみると、野生型、Lnk 欠損マウス、Lnk/IL-15 二重欠損マウスの CD45 陽性細胞数は同じであったが、Lnk 欠損マウスにおいて 1 型自然リンパ球の顕著な増大が認められた。また、Lnk 欠損マウスの脂肪組織における IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ などのサイトカイン産生についても野生型と比較して増加しており、Lnk/IL-15 二重欠損マウスにおいては野生型と同程度まで抑制されていた。この結果より、高脂肪食負荷は IL-15 依存的な細胞集団のさらなる増加を誘導し、脂肪内炎症および耐糖能の増悪化を誘導していることが明らかとなった。

#### 5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 1 件)

Lnk/Sh2b3 Regulates Adipose Inflammation and Glucose Tolerance through Group 1 ILCs.

Mori T, Suzuki-Yamazaki N, Takaki S Cell Reports, 2019

(学会発表)(計 1 件)

Lnk/SH2B3 regulates adipose inflammation and glucose tolerance through group1-innate lymphoid cells.

第46回 日本免疫学会学術集会. 仙台. 2017年 12月12-14日.

(図書)(計 0 件)

(産業財産権)

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

(その他)

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

### (2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。