

令和元年6月14日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16146

研究課題名（和文）自己免疫疾患発症における細胞内コレステロール代謝の病態生理学的意義

研究課題名（英文）Pathophysiological relevance of intracellular cholesterol metabolism in autoimmune diseases

研究代表者

伊藤 綾香 (Ito, Ayaka)

名古屋大学・環境医学研究所・助教

研究者番号：80508333

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）：本研究では、遺伝性、および薬剤誘導性のSLEモデルマウスを解析することにより、いずれのマウスにおいても経時的に自己抗体価の上昇や、腎糸球体へのイムノグロブリン沈着が起こること、病態早期において、免疫細胞内への脂質蓄積が増加することを見出した。このとき、血中や肝臓における脂質代謝には変化が認められなかったことから、SLEの発症や進展の過程における免疫細胞の脂質蓄積は、全身の脂質代謝とは独立して制御されることが明らかになった。また、全身の脂質代謝を改善する薬剤の投与により、SLE病態の一部が改善したことから、早期の脂質代謝の改善がSLE治療標的となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、SLEの発症や進展過程において、早期から細胞自律的な脂質蓄積が起こることが明らかになり、近年注目されている免疫代謝領域における新たな発見となった。脂質代謝改善薬の投与がSLE発症を抑制したことより、今後は、全身とは独立して制御される免疫細胞内の脂質蓄積のメカニズムを解明し、免疫細胞内の脂質の量と質の変化に着目して、より詳細に研究を進める。SLEの病態メカニズムを明らかにするとともに、SLEの早期診断マーカーや食事療法の開発を目指したい。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed genetic and drug-induced SLE model mice and elucidated that titers of autoantibodies and deposition of immunoglobulin in kidney were increased in the SLE model mice compared to the control mice. We also found that lipid content in immune cells was higher in SLE than control mice, and which was observed at the beginning of the development of SLE. On the other hand, there was no difference in serum lipid profile and hepatic gene expression of lipid metabolism between SLE and control mice. Administration of an agent to improve systemic lipid metabolism prevented the development of SLE. These findings suggest that lipid accumulation in immune cells is cell intrinsic effect and improvement of systemic lipid metabolism could be beneficial in the setting of autoimmune disease.

研究分野：細胞内代謝

キーワード：自己免疫疾患 免疫細胞 脂質代謝 細胞内代謝 免疫代謝

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

1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス (SLE; systemic lupus erythematosus) や慢性関節リウマチに代表される自己免疫疾患は、自己免疫寛容に破綻をきたすことにより、自己の成分や組織に対して免疫系が異常に反応した結果起こる疾患である。厚生労働省により特定難病に指定されている疾患の大半は自己免疫疾患である。近年、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) や次世代シーケンシング技術によって、多数の疾患関連遺伝子が同定されているが、その分子機構は未だ十分に理解されていない。また、その治療法は抗炎症を目的とした非特異的方法が大半であり、免疫担当細胞の機能に基づいた治療法は限られている。一方、一卵性双生児では疾患一致率が 20~60% であることから、遺伝的要因のみでなく、環境要因も示唆される。特に、先進諸国における自己免疫疾患の罹患率は、発展途上諸国のそれと比べて高いことから、欧米型食生活 (脂質や糖質の過剰摂取) が慢性炎症を促進する環境要因のひとつである可能性が考えられるが、十分な臨床研究が少ないため、確定的な結論が得られていない。また、自己免疫疾患発症において、栄養代謝が免疫応答制御に及ぼす影響も明らかではない。

核内受容体 LXR はコレステロール、脂肪酸およびリン脂質の代謝を制御する転写因子であり、免疫応答を制御することも知られている。免疫担当細胞における LXR の代表的な役割は抗炎症性作用である。申請者は最近、LXR による抗炎症作用は、脂質代謝を介した二次的作用であることを見出した。すなわち、LXR の活性化により、コレステロールトランスポーター・ABCA1 が誘導されると、細胞膜脂質ラフト上のコレステロール含量が減少することにより、TLR4 などの受容体形成が阻害され、下流の炎症性サイトカインの発現・産生が抑制される (*eLife* 4: e08009, 2015)。一方、LXR を欠損するマウスは加齢に伴い SLE 様の自己免疫疾患を発症するが (*Immunity* 21: 245-258, 2009) 申請者は、若年であっても高コレステロール食を負荷することによって、あるいは高コレステロール血症モデルマウスと交配することによって、疾患発症が促進されることを見出した。その分子機構として、抗原提示細胞内のコレステロールの蓄積が、(1) 抗原取込み能の亢進、(2) サイトカイン産生増加、(3) 抗原提示を介した T 細胞の増殖をもたらすことにより、自己応答性 B 細胞の増殖と自己抗体の産生を促進することを明らかにした (図 2)。酸化 LDL やリン脂質に対する自己抗体も含まれていたことから高コレステロールが疾患発症の原因と考えられる。一方、ApoA1 を長期的に過剰発現させ、コレステロール逆輸送系を促進することにより、抗原提示細胞内のコレステロール蓄積が減少し、自己免疫疾患の発症が抑制されることを見出した (*Immunity*, in press)。

2. 研究の目的

本研究は、抗原提示細胞内のコレステロール代謝異常が自己免疫疾患の発症原因である可能性と、抗原提示細胞内のコレステロール量の減少が新しい自己免疫疾患の治療薬の確立につながる可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) SLE モデルマウスの病態発症・進展と脂質代謝の経時的変化の解析

遺伝性および薬剤誘導性の SLE モデルマウスと各対照マウスを経時的にサンプリングした。遺伝性 SLE モデルマウスとして、アポトーシス誘導受容体である Fas に変異を有し、SLE を自然発症する *lpr/lpr* を用いた。また、薬剤誘導性 SLE モデルとして、ミネラルオイルであるプリスタンを経内投与して病態を誘導するモデル、および TLR7 アゴニストであるイミキモドを耳に塗布して病態を誘導するモデルを用いた。SLE 病変として、血中免疫グロブリン濃度、腎臓における IgG、IgM の沈着、糸球体病変、B 細胞増殖因子 BAFF の血中濃度、リンパ節や脾臓における免疫担当細胞の細胞数や分化マーカーを解析した。また、全身および抗原提示細胞における脂質代謝の変化を検討することにより、脂質代謝状態と SLE 病変の進展を比較した。

(2) 全身の脂質代謝の変化が SLE の病態進展に及ぼす影響の検討

SLE モデルマウスに高脂肪・高コレステロール食を負荷して全身の脂質代謝を悪化させた場合、あるいは薬剤投与により全身の脂質代謝を改善させた際の病態進展に対する影響を検討した。高脂肪・高コレステロール食負荷は 8 週間の影響を解析した。また、脂質代謝改善の介入方法として遺伝性 SLE モデルマウスである *lpr/lpr* マウスに全身の脂質代謝を改善する薬剤 A を 12 週間混餌投与、あるいはイミキモド誘導型 SLE モデルマウスに薬剤 A を 6 週間混餌投与した。両実験とも、血中免疫グロブリン濃度、腎臓における免疫複合体の沈着、糸球体病変、B 細胞増殖因子 BAFF の血中濃度、リンパ節や脾臓における免疫担当細胞の細胞数や分化マーカーの変化に対する影響を検討した。

4. 研究成果

(1) SLEモデルマウスの病態発症・進展と脂質代謝の経時的変化の解析

遺伝性モデルマウス *lpr/lpr* マウス (C57BL/6Jマウス) では、16週齢以降に血中の抗DNA抗体およびBリンパ球増殖因子BAFF濃度の上昇、リンパ組織における免疫細胞数の増加を示した。これらの変化は、C3H/HeJマウスあるいはMRLマウスの遺伝的背景を持つ *lpr/lpr* マウスにおいてより強く認められ、腎臓への免疫複合体の沈着なども認められた。一方、抗原提示細胞の脂質蓄積は、病態の発症に先行して上昇した。この時、血中の総コレステロール、HDLコレステロール、LDLコレステロール、中性脂肪の量には変化を認めなかった。また、肝臓におけるコレステロール代謝関連遺伝子や脂肪酸代謝関連遺伝子にも大きな変化はなかった。プリスタン誘導性のSLEモデルマウス、およびイミキモド誘導性のSLEモデルマウスにおいても同様に、病態早期に免疫細胞内の脂質蓄積を認めたが、全身の脂質代謝には大きな変化がみられなかった。

(2) 全身の脂質代謝の変化がSLEの病態進展に及ぼす影響の検討

全身の脂質代謝を悪化させたときの病態進展への影響を検討するため、*lpr/lpr* マウスに高脂肪・高コレステロール食を8週間負荷したところ、IL-6などの一部の炎症性サイトカインの遺伝子発現が増加傾向を示したが、BAFF発現や免疫細胞数には変化がなく、8週間という短期では食餌中の脂質量はSLE病態に影響しないと考えられた。一方、*lpr/lpr* マウス、あるいはイミキモド誘導型SLEモデルマウスに薬剤Aを混餌投与したところ、血中の総コレステロールや中性脂肪の濃度が低下した。このとき、脾臓およびリンパ節における免疫細胞数には大きな変化がなかったものの、抗核抗体や抗dsDNA抗体などの自己抗体価が減少し、腎臓へのIgG、IgMの沈着も減少していた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

1. Sallam T, Jones M, Thomas BJ, Wu X, Gilliland T, Qian K, Eskin A, Casero D, Zhang Z, Sandhu J, Salisbury D, Rajbhandari P, Civelek M, Hong C, **Ito A**, Liu X, Daniel B, Lusic AJ, Whitelegge J, Nagy L, Castrillo A, Smale S and Tontonoz P. Transcriptional regulation of macrophage cholesterol efflux and atherogenesis by a long noncoding RNA. *Nat Med* 24: 304-312, 2018 (査読有)
2. **Ito A**, Hong C, Oka K, Salazar JV, Diehl C, Witztum JL, Diaz M, Castrillo A, Bensinger SV, Chan L, Tontonoz P. Cholesterol accumulation in antigen presenting cells is a causal and targetable factor in autoimmune disease. *Immunity* 45: 1311-1326, 2016 (査読有)

[学会発表](計6件)

1. **Ito A**, Hong C, Oka K, Salazar JV, Diehl C, Witztum JL, Diaz M, Castrillo A, Bensinger SJ, Chan L, Tontonoz P. Cholesterol accumulation in CD11c+ immune cells is a causal and targetable factor in autoimmune disease. 第47回日本免疫学会学術集会. 2018.12, 福岡
2. **Ito A**. Molecular crosstalk between cholesterol metabolism and immune responses. The 4th IMCR Symposium on endocrine and metabolism. 2018.11. Gunma, Japan
3. **伊藤綾香**, Cynthia Hong, Peter Tontonoz, 菅波孝祥. 脂質代謝と免疫応答のクロストーク. 第36回内分泌代謝学サマーセミナー, 2018. 8, 宮城
4. **Ito A**, Hong C, Oka K, Salazar JV, Diehl C, Witztum JL, Diaz M, Castrillo A, Bensinger SJ, Chan L, Tontonoz P. Cholesterol accumulation in CD11c+ immune cells is a causal and targetable factor in autoimmune disease. Cell Symposia, 2018.6. Basel, Switzerland.
5. **伊藤綾香**, Cynthia Hong, Peter Tontonoz, 菅波孝祥. 自己免疫疾患発症における細胞内コレステロール代謝の意義. 第55回日本臨床分子医学会学術集会. 2018.4, 京都
6. **伊藤綾香**, Cynthia Hong, Peter Tontonoz, 菅波孝祥. 自己免疫疾患発症における細胞内コレステロール代謝の意義. 第91回日本内分泌学会学術総会. 2018.4, 宮崎

[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

<http://www.riem.nagoya-u.ac.jp/4/mmm/index.html>

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：ピーター トントノズ

ローマ字氏名：Peter Tontonoz

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。