

令和 2 年 9 月 4 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16142

研究課題名(和文) 脂肪組織マクロファージがマスト細胞の活性および代謝に与える影響の解析

研究課題名(英文) Effects of adipose tissue macrophages on mast cell metabolism

研究代表者

中嶋 正太郎 (Nakajima, Shotaro)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：50723417

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)：本研究では肥満によりアレルギー反応が亢進することを明らかにした。高脂肪食誘導肥満マウスに対し個体レベルでI型アレルギー反応を観察できる受動全身アナフィラキシーを行ったところ、コントロールマウスに比べ血漿ヒスタミン濃度(アレルギー反応の指標)の有意な上昇が見られた。単球/マクロファージと脂肪細胞の共培養系により、脂肪組織マクロファージ様細胞においてオステオポンチンの産生が増加することが明らかとなった。オステオポンチンはサイトカインIL-12の産生に関与することから、マスト細胞をIL-12の存在化において抗原刺激したところ、脱顆粒反応(マスト細胞の活性化)が増強す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

2型糖尿病などの肥満関連疾患の増加が世界中で問題となっており、近年では肥満が癌やアレルギーなどの発症・進展に寄与する可能性が示唆されているが、不明な点も多い。本研究は、マウスを用いた個体レベルで肥満がアレルギーを悪化させることを明らかにした。またそのメカニズムとして脂肪組織局在マクロファージから産生されるオステオポンチンやIL-12がマスト細胞の脱顆粒反応を促進する可能性を示した。今後、脂肪組織局在マクロファージや血漿IL-12などを標的とすることでアレルギーを始め多くの肥満関連疾患の治療戦略に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigate whether and how obesity exacerbates allergic reaction.

We found that increased plasma histamine level by passive systemic anaphylaxis, a classical model of IgE/mast cell-mediated systemic allergic reaction, was significantly higher in high fat diet-induced obese mice than non-obese mice. To elucidate how obesity reinforces allergic reaction, we focus on the roles of adipose tissue macrophages because they are closely associated with obesity-related chronic diseases. In vitro experiment revealed that mRNA expression of osteopontin in macrophages was up-regulated by co-culturing with adipocytes. It has been reported that osteopontin regulates IL-12 production. Indeed, we found that IL-12 significantly enhanced degranulation of mast cell by antigen-challenge.

研究分野：アレルギー、免疫学、腫瘍免疫学

キーワード：肥満 I型アレルギー マスト細胞 脂肪組織マクロファージ IL-12

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

1. 研究開始当初の背景

現在、世界中で肥満人口の増加とそれに伴う関連疾患の患者数増加が問題となっている。特に日本人は遺伝的に肥満による疾患に罹患しやすい人種であり、今後肥満関連疾患の予防および治療戦略を進展させることが重要な課題である。近年、肥満が気管支喘息などのⅠ型アレルギーの発症に寄与することが疫学的に報告されている^{1,2}。しかしその詳細なメカニズムはほとんど明らかにされていない。

肥満時には、脂肪組織に炎症性マクロファージという免疫細胞が集積することが知られており、炎症性マクロファージが産生するサイトカインが2型糖尿病などの肥満関連疾患の発症に寄与することが知られている³。しかしながら肥満脂肪組織マクロファージがアレルギーに与える影響は明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、肥満がアレルギー（特にⅠ型アレルギー反応）に影響を与えるか否か、肥満時に脂肪組織に蓄積するマクロファージの役割に焦点を当て、肥満関連アレルギー疾患の新たな治療戦略の基盤の確立を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、i)高脂肪食誘導性肥満マウスを用い肥満によりⅠ型アレルギー反応が増強するか否かを個体レベルでⅠ型アレルギー反応を評価することができる受動全身アナフィラキシー反応（以下 PSA 反応）により検討した。また ii)ヒト末梢血単球（肥満脂肪組織に集積しマクロファージへと分化する）と脂肪細胞の共培養系を用い、脂肪細胞と共培養した単球/マクロファージにおける遺伝子発現を解析することで、肥満脂肪組織マクロファージが産生する因子の同定を試みた。さらに iii) *in vitro*の実験系によりマウス骨髄由来マスト細胞（以下 BMMC 細胞）を作成し、肥満脂肪組織マクロファージが産生する因子がマスト細胞の活性に与える影響について検討を行った。

4. 研究成果

(i)高脂肪食誘導性肥満マウスにおけるⅠ型アレルギー反応の亢進

雄の6週齢 C57BL/6J マウス(日本エスエルシー社)に通常食および高脂肪食(High Fat Diet 32,日本クレア社)を8週間給餌し、体重増加率の変化を観察した。通常食給餌群8週間後の体重増加率は142.3%だったのに対し、高脂肪食給餌群では199.8%に達し、通常食給餌群と高脂肪食給餌群の間で体重増加率におよそ1.4倍の差がみられた(図1A、図1B)。

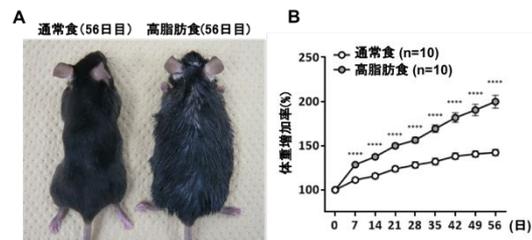


図1 高脂肪食誘導性肥満マウスの体重増加率の変化 (A) 通常食および高脂肪食を8週間給餌した雄のC57BL/6Jマウス (B) 通常食および高脂肪食を給餌したC57BL/6Jマウスの体重増加率の推移

肥満がⅠ型アレルギー反応に影響を与えるか否かを明らかにするため、図1に示した高脂肪食誘導性肥満マウスにPSA反応を行い、血漿ヒスタミン濃度を測定した(図2A)。通常食給餌群および高脂肪食給餌群ともにPSA反応により血漿ヒスタミン濃度の著しい上昇が見られた。また抗原刺激時における血漿ヒスタミン濃度は通常食給餌群に対し高脂肪食給餌群において有意に高値を示した(図2B)。

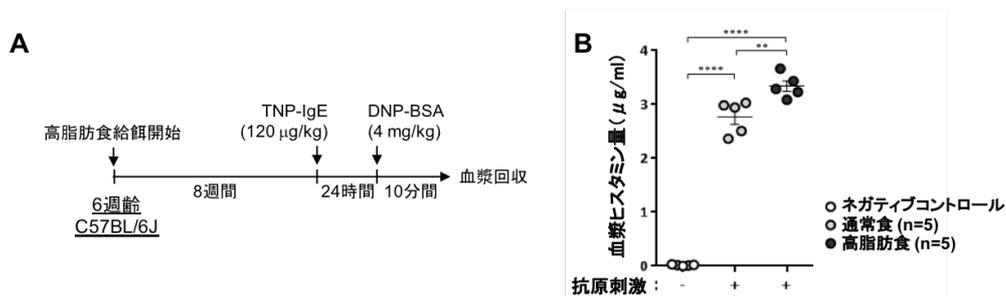


図2 高脂肪食誘導性肥満マウスにおける PSA 反応による血漿ヒスタミン濃度の上昇 (A) 通常食および高脂肪食を 8 週間給餌した雄の C57BL/6J マウスに TNP-IgE を静脈内投与し、その 24 時間後に抗原である DNP-BSA を静脈内投与した抗原刺激 10 分後に血漿を回収した (B) 通常食および高脂肪食を 8 週間給餌した雄の C57BL/6J マウスにおける PSA 反応による血漿ヒスタミン濃度を ELISA 法により測定した

(ii) 脂肪組織マクロファージが産生する因子の同定およびマスト細胞の活性化に対する影響の検討

脂肪組織マクロファージが産生する因子を同定するため、ヒト末梢血単球をヒト前駆脂肪細胞 (SGBS 細胞) から誘導した脂肪細胞⁴ と共培養した後、遺伝子発現をマイクロアレイ法により解析した。ヒト末梢血単球はヒト脂肪細胞との共培養によりマクロファージ様細胞へと分化する。培養後 24 時間および 48 時間後に発現が有意に増加した遺伝子数をベンダイアグラム解析により図 3 に示した。共培養 24 時間および 48 時間ともに mRNA の発現が増加した遺伝子が 160 個同定された (図 3)。

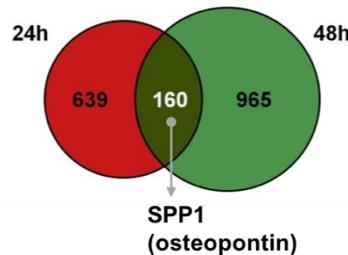


図3 マイクロアレイデータを用いたベンダイアグラム解析 ヒト脂肪細胞 (SGBS 細胞より分化) と 24 時間および 48 時間共培養したヒト単球/マクロファージにおいて mRNA の発現が上昇 (fold change>1.5) した遺伝子数を示す

ベンダイアグラム解析により同定された 160 個の遺伝子中に含まれる分泌型リンタンパク質 (SPP1) は、オステオポンチンとも呼ばれ産生された炎症局所 (肥満脂肪組織は軽度な炎症状態にあると考えられている) において IL-12 等のサイトカインの産生を促進する。実際、非肥満患者と比較し肥満患者の末梢血において IL-12 濃度が有意に増加することが報告されている⁵。そこで IL-12 がマスト細胞の活性化に与える影響を検討するため、BMMC 細胞を作成し IL-12 が BMMC 細胞の活性化を亢進するか否か検討を行った。BMMC 細胞はマスト細胞の活性化、増殖等の応答を *in vitro* で再現するために用いられる骨髄由来培養マスト細胞である。IgE 刺激によりマスト細胞の脱顆粒反応 (細胞表面 CD63 の発現量を指標とした) が誘導されるが、IL-12 存在下において脱顆粒反応の増強がみられた (図 4)。

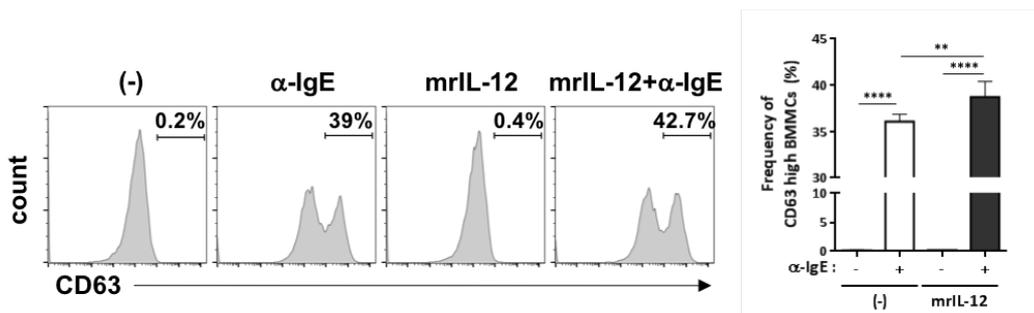


図4 IL-12 によるマスト細胞脱顆粒反応の増強 BMMC 細胞を IL-12 の存在下において IgE 刺激し、細胞表面 CD63 の発現量をフローサイトメトリーにより測定した

以上の結果より、個体レベルにおいて肥満により I 型アレルギー反応が増強 (抗原刺激によりヒスタミンの分泌が亢進) する可能性が示唆された。また脂肪組織マクロファージがオステオポンチンを産生することから、肥満脂肪組織および血中の IL-12 濃度を増加させる可能性が考えられる。BMMC 細胞を用いて IL-12 のマスト細胞の活性化への影響を検討したところ、IL-12 が IgE によるマスト細胞の活性化を亢進することが明らかとなった。したがって肥満脂肪組織マクロファージがオステオポンチンの産生を介して組織および血中の IL-12 を増加させ、全身のマスト細胞の活性化を亢進することで I 型アレルギー反応を増強する可能性が考えられる。

今後は当初予定していた脂肪組織特異的マクロファージ欠損マウスおよびマスト細胞欠損マウスに脂肪細胞と共培養した BMMC 細胞を皮内投与したマウス等を用いた *in vivo* におけるより詳細な検討を行い、肥満と I 型アレルギーの関係を明らかにしていくことで肥満関連アレルギー疾患の治療戦略の開発を目指す。

<引用文献>

1. Hancox RJ, Milne BJ, Poulton R, Taylor DR, Greene JM, McLachlan CR, Cowan JO, Flannery EM,

- Herbison GP, Sears MR. Sex differences in the relation between body mass index and asthma and atopy in a birth cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* 171:440-445, 2005.
2. Bergeron C, Boulet L, Hamid Q. Obesity, allergy and immunology. *J Allergy Clin Immunol.* 115:1102-1104, 2005.
 3. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest.* 117:175-184, 2007.
 4. Fischer-Posovszky P, Newell FS, Wabitsch M, Tornqvist HE. Human SGBS cells – a unique tool for studies of human fat cell biology. *Obes Facts.* 1:184-189, 2008.
 5. Suárez-Álvarez K, Solís-Lozano L, Leon-Cabrera S, González-Chávez A, Gómez-Hernández G, Quiñones-Álvarez MS, Serralde-Zúñiga AE, Hernández-Ruiz J, Ramírez-Velásquez J, Galindo-González FJ, Zavala-Castillo JC, De León-Nava MA, Robles-Díaz G, Escobedo G. Serum IL-12 is increased in Mexican obese subjects and associated with low-grade inflammation and obesity-related parameters. *Mediators Inflamm* 2013;967067, 2013.
 6. Enoksson M, Möller-Westerberg C, Wicher G, Fallon PG, Forsberg-Nilsson K, Lunderius-Andersson C, Nilsson G. Intraperitoneal influx of neutrophils in response to IL-33 is mast cell-dependent. *Blood.* 121:530-536, 2013.

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。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ishimaru K, Nakajima S, Yu G, Nakamura Y, Nakao A	4. 巻 20
2. 論文標題 The putatively specific REV-ERB agonist SR9009 inhibits IgE- and IL-33-mediated mast cell activation independently of the circadian clock	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6320
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20246320	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakajima S, Ishimaru K, Kobayashi A, Yu G, Nakamura Y, Oh-Oka K, Suzuki-Inoue K, Kono K, Nakao A	4. 巻 9
2. 論文標題 Resveratrol inhibits IL-33-mediated mast cell activation by targeting the MK2/3-PI3K/Akt axis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-54878-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----