

令和 5 年 5 月 8 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00511

研究課題名（和文）自然リンパ球による脂肪組織恒常性制御機構の解明

研究課題名（英文）Adipose tissue homeostasis and innate lymphoid cells

研究代表者

小安 重夫（Koyasu, Shigeo）

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：90153684

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,800,000円

研究成果の概要（和文）：研究代表者らは、腸管常在性の自然リンパ球（Innate Lymphoid Cell: ILC）、特に2型自然リンパ球（ILC2）と3型自然リンパ球（ILC3）が高脂肪食による肥満の誘導に関わることを示してきた。セロトニンをはじめとした消化管ホルモンは、脂質を含む栄養素の代謝に多大な影響を及ぼすことからILCが発現する消化管ホルモン受容体に着目し、ILC2がセロトニンに対する受容体HTR1bを高発現していることを見出した。解析を進めた結果、セロトニンが免疫系を介した高脂肪食による肥満誘導の制御に密接に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満は様々な生活習慣病の下地となるため、肥満を誘導するメカニズムの解明は急務である。研究代表者らは2型自然リンパ球（ILC2）と呼ばれる新たな免疫細胞を発見し、その後小腸常在性のILC2が肥満の誘導に寄与することを明らかにした。一連の解析から、消化管ホルモンの一種であるセロトニンが免疫系を介した脂質代謝制御において重要な役割を担っている可能性を見出した。今後、セロトニンが腸管ILC2に及ぼす作用やその分子機序の詳細を明らかにすることで肥満の予防や治療に繋がる新たな発見が期待される。

研究成果の概要（英文）：We have shown that intestinal resident innate lymphoid cells (ILCs), particularly group 2 innate lymphoid cells (ILC2) and group 3 innate lymphoid cells (ILC3) are involved in the induction of diet-induced obesity. Serotonin and other gastrointestinal hormones have a profound effect on the metabolism of nutrients, including lipids. We focused on the fact that ILC2 highly expresses the receptor for serotonin, HTR1b. A series of experiments suggest that serotonin is closely involved in the immune system-mediated regulation of the induction of diet-induced obesity.

研究分野：免疫学

キーワード：自然リンパ球 脂肪組織炎症 肥満 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

肥満に起因した脂肪組織炎症はインスリン抵抗性を引き起こし、2型糖尿病の発症に繋がる。肥満は様々な生活習慣病の下地となるため、肥満を誘導するメカニズムの解明とその適切な制御方法を確立することは極めて重要な課題である。近年の研究から、肥満の誘導や悪化には食事や生活習慣のみならず免疫系の関与が示唆されている。研究代表者らは脂肪組織中から2型自然リンパ球と呼ばれる新たな免疫細胞を発見した。2型自然リンパ球が産生する2型サイトカインには脂肪組織炎症を抑制する効果があるため、2型自然リンパ球は脂肪組織の恒常性維持制御において何らかの役割を担っていることが予想された。本研究開始までに、獲得免疫系を欠く *Rag2^{-/-}* マウスと、自然リンパ球を含む全てのリンパ球を欠損する *γc^{-/-}Rag2^{-/-}* マウスを用い、高脂肪食負荷を与えた際の体重増加に、小腸粘膜固有層由来の2型自然リンパ球と3型自然リンパ球が関与する事を明らかにした。

2. 研究の目的

自然リンパ球 (Innate Lymphoid Cell: ILC) は組織常在型のリンパ球であり、抗原受容体を持たず、周囲の細胞が産生するサイトカインに反応してさまざまな機能を果たす。ILC は機能や遺伝子発現の違いから1型自然リンパ球 (ILC1)、2型自然リンパ球 (ILC2)、3型自然リンパ球 (ILC3) の三つのサブセットに分けられる。それぞれの ILC を単独で欠損する遺伝子改変マウスを用いた解析の結果、肥満の誘導に最も密接に関わる ILC サブセットは ILC2 であること、さらに ILC3 が産生し ILC2 の増殖や生存に寄与する IL-2 が重要であることが判明した。ILC2 は脂肪組織だけでなく腸管にも豊富に存在する。そこで、各臓器から単離した ILC2 を *γc^{-/-}Rag2^{-/-}* マウスに移植し、高脂肪食を給餌した際の代謝応答を解析した。すると、脂肪組織に常在する ILC2 ではなく、腸管常在型の ILC2 が肥満の誘導と脂肪組織炎症、インスリン抵抗性に関わるということが示された。本研究では腸管 ILC2 がどのようにして肥満の誘導に関わるのか、そしてその詳細な分子機構に迫ることで腸管免疫と脂肪組織炎症の連関メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

ILC2 は抗原受容体を持たない代わりに、多様な液性因子に対する受容体を高発現している。そこで「腸管 ILC2 を活性化し、かつ肥満を誘導しうる液性因子」の候補として消化管ホルモンに着目した。公共のデータベースを用いて主だった免疫細胞における消化管ホルモン受容体の発現レベルを調べた結果、ILC2 は血管作動性腸管ペプチド (Vasoactive intestinal peptide: VIP) に対する受容体及びセロトニンに対する受容体 (それぞれ VIPR2 及び HTR1b) を高発現していることに気がついた。興味深いことに、いずれの消化管ホルモンも肥満の誘導に関わることが過去に報告されている。研究代表者らが以前に行った RNA-seq の解析結果を精査したところ、腸管 ILC2 は脂肪組織 ILC2 よりも VIPR2 や HTR1b を高く発現していることも分かった。そこで VIPR2 および HTR1b をそれぞれ欠損した遺伝子改変マウスを作製し、高脂肪食を給餌した際の代謝応答について解析を行った。

4. 研究成果

Cas9/CRISPR システムを用いて VIPR2 欠損マウス (*Vipr2^{-/-}* マウス) および HTR1b 欠損マウス (*Htr1b^{-/-}* マウス) を作製し、高脂肪食給餌後の体重の推移を解析した。その結果、いずれの系統も高脂肪食負荷に対して顕著な肥満抵抗性を示すことが明らかとなった。この結果は VIP およびセロトニンが肥満の誘導に関与することを強く示唆した。次に、この表現型が免疫系に依存したものが明らかにするために、*Vipr2^{-/-}* マウスあるいは *Htr1b^{-/-}* マウス由来の骨髄細胞を *γc^{-/-}Rag2^{-/-}* マウスに移植し、高脂肪食給餌後の体重の推移を解析した。野生型マウスおよび *Vipr2^{-/-}* マウスの骨髄を移植した *γc^{-/-}Rag2^{-/-}* マウスは高脂肪食給餌後にほぼ同様の体重推移を示した。このことは、*Vipr2^{-/-}* マウスの示した肥満抵抗性が免疫系に依存した表現

型ではなく、免疫系以外の細胞を介することを示唆する。一方、意外なことに *Htr1b*^{-/-}マウスの骨髄を移植した γ_c ^{-/-}*Rag2*^{-/-}マウスは高脂肪食給餌後に顕著な体重の増加を示した。このことは *Htr1b*^{-/-}マウスの示した肥満抵抗性が免疫系に依存した表現型ではないことを示唆する一方で、HTR1b の欠損によって免疫系にもたらされた何らかの変化が肥満を誘導する方向に働いた可能性を示唆した。先にも述べた通り ILC2 は他の免疫細胞に比べて HTR1b を高発現しているため、HTR1b の欠損によって最も影響を受けた細胞一つに ILC2 が含まれている可能性が高く、セロトニンが ILC2 を介して肥満の抑制に機能していることが示唆される。現在、*Htr1b*^{-/-}マウスから ILC2 を単離し、その機能(例えばサイトカインの産生能など)について詳細な解析も進めている。また今後は、ILC2 特異的に HTR1b を欠損した遺伝子改変マウスを作製し、その脂質代謝について解析することも検討している。高脂肪食負荷前後で腸管 ILC の機能を比較・解析することは極めて重要であるが、研究代表者らが使用している C57BL/6N (B6N) マウスでは高脂肪食給餌によって腸管に激しい炎症が生じ、細胞の回収が極めて困難になってしまう。そこでマウスの系統を C57BL/6J (B6J) に変更し、同様の検討を行ってみた結果、こちらの系統では高脂肪食を給餌しても腸管から問題なく細胞を回収することができた。B6J は B6N に比べて肥満になりにくい傾向があるものの、この表現型は少なくとも免疫系の差異に起因したものではないことを確認している。また、B6J および B6N の腸管 ILC の数および割合に大きな差はない。よって今後は HTR1b 欠損マウスを B6J のバックグラウンドで樹立した上で高脂肪食を給餌し、腸管 ILC の機能解析を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Misawa, T., Wagner, M. and Koyasu, S.	4. 巻 13
2. 論文標題 LC2s and adipose tissue homeostasis: Progress to date and the road ahead.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 876029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.876029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Wagner, M. and Koyasu, S.	4. 巻 8
2. 論文標題 Cancer immunosurveillance by ILC2s.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Trends in Cancer	6. 最初と最後の頁 792-794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.trecan.2022.06.010	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 該当する
1. 著者名 Wagner, M. and Koyasu, S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Innate lymphoid cells in skin homeostasis and malignancy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 758522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.758522	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Wagner, M. and Koyasu, S.	4. 巻 10 (23)
2. 論文標題 A 3D skin melanoma spheroid-based model to assess tumor-immune cell interactions.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bio-protocol	6. 最初と最後の頁 e3839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.3839	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shigeo Koyasu
2. 発表標題 Role of innate lymphoid cells in diet-induced obesity.
3. 学会等名 Japanese-German Immunology Workshop 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三澤拓馬、小安重夫
2. 発表標題 飢餓性脂肪肝を誘導する腸管免疫ネットワーク制御機構の解明
3. 学会等名 第31回Kyoto T Cell Conference
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小安重夫
2. 発表標題 2型自然リンパ球 (ILC2) とアレルギー性炎症
3. 学会等名 第50回日本臨床免疫学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takuma Misawa, Shigeo Koyasu
2. 発表標題 Gut-resident innate lymphoid cells regulate lipid metabolism in response to malnutrition.
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小安重夫
2. 発表標題 2型自然リンパ球とアレルギー性炎症
3. 学会等名 第4回日本眼科アレルギー学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 小安重夫	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 287
3. 書名 小説みたいに楽しく読める免疫学講義	

1. 著者名 宮坂昌之（監修）、小安重夫、椛島健治（共編集）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 416
3. 書名 標準免疫学第4版	

〔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
研究分担者	三澤 拓馬 (Misawa Takuma) (20880694)	国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・ 研究員 (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ノルウェー	Department of Biomedicine	University of Bergen		