

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11671

研究課題名(和文) SOCS3欠失マウスにおける食事誘発性炎症がGVHD重症化に及ぼす役割

研究課題名(英文) Role of diet-induced inflammation in SOCS3-deficient mice on the severity of GVHD

研究代表者

石黒 創 (Ishiguro, Hajime)

新潟大学・医歯学総合研究科・特任助教

研究者番号：10826283

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)：サイトカインシグナル伝達阻害因子(suppressor of cytokine signaling: SOCS)3は炎症抑制因子でありSOCS3のノックアウト(KO)は炎症が増悪する。我々はGVHDと高脂肪食(HFD)の関連を解明するため、SOCS3KOマウスをドナーとしてGVHDモデルを作成し、そのマウスにHFDを投与したところ、GVHDの高度の増悪を認め生存曲線が悪化した。さらなる解析にて本マウスは血中の顆粒球の増加や炎症と関連のあるEffector Memory T細胞割合の増加が生じていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GVHDは骨髄移植後の患者の生命を脅かす重大な疾患である。今まではGVHDの発症機構においてはT細胞や抗原提示細胞の活性化などの免疫学的な異常が主に議論されていたが、本研究を通じて、GVHDの発症機構には高脂肪食やSOCS3が深く関与することが明らかになった。この研究を進展させることで、GVHDの管理に従来の薬物治療に加え、食事療法を行いmild GVHDの段階から予防するという新たな治療戦略を開発することが期待できる。さらにSOCS3をターゲットとする創薬戦略についても探索でき、学術的および社会的に深い意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Suppressor of cytokine signaling (SOCS)3 is an anti-inflammatory factor, and knockout (KO) of SOCS3 exacerbates inflammation. In order to elucidate the relationship between GVHD and a high-fat diet (HFD), we created a GVHD model using SOCS3KO mice as donors, and when HFD was administered to the mice, a severe exacerbation of GVHD was observed and the survival curve worsened. Further analysis revealed that the mice exhibited an increase in blood granulocytes and an increased proportion of Effector Memory T cells, which is associated with inflammation.

研究分野：慢性炎症学

キーワード：SOCS3 高脂肪食 GVHD

## 1. 研究開始当初の背景

栄養素が移植片対宿主病 (GVHD) の重症化へ関与する可能性およびその課題: GVHD は造血幹細胞移植後に移植されたドナー細胞がレシピエント側の臓器を攻撃することによって起こる免疫反応である。従来、急性 GVHD 発症の発症機構においてはドナーの T 細胞やマクロファージの活性化など、免疫学的な異常を中心に議論がなされてきた。しかし、近年、脂肪過多など栄養の偏りに起因する腸内細菌叢の異常が、ヘルパー T17 細胞などの活性化などを介して、免疫変調を起こす可能性が示されている。実際にヒトの臨床研究から、同種造血幹細胞移植後の予後に、移植細胞生着時の腸内細菌叢の多様性の維持が、死亡率の低さと関連することが報告されており (Peled JU, et al. *N Engl J Med.* 2020)、食事の関与が示唆される。しかし、腸内細菌叢に関与する食事の三大栄養素、特に高脂肪食がどのような機序で GVHD に影響するかについては、明らかになっていない。

SOCS3 について: サイトカインシグナル伝達阻害因子 (suppressor of cytokine signaling: SOCS) は JAK-STAT 経路を介してサイトカインシグナルを負に制御するネガティブフィードバック調節因子として発見され、8 つの SOCS ファミリー (CIS, SOCS1-7) から構成される。ファミリーの中で特に SOCS3 は IL-6、G-CSF などの炎症性サイトカインを抑制的に制御することが報告されている (Delconte RB, et al. *Nature Immunology.* 2016, *Immunity* 2016)。また、SOCS3 は炎症抑制に加え、機能的にインスリンシグナルの抑制によりインスリン抵抗性を増悪することや中枢神経におけるレプチンシグナル制御により摂食中枢をコントロールすることからメタボリックシンドロームとの強い関連が示唆されてきた。このため、SOCS3 ノックアウト (KO) ではメタボリックシンドローム改善の可能性を有する一方で、メタボリックシンドローム誘発性の軽微な炎症を増悪する可能性があったが、高脂肪食を投与した際の炎症の発症についてフォーカスを当てた研究はあまり行われてこなかった。

SOCS3KO マウスは高脂肪食 (HFD) 投与により急性炎症を発症する: SOCS3 がメタボリックシンドロームと関連があるとすると、HFD の投与により SOCS3KO マウスでは炎症が重篤化するのではないかと考え、SOCS3 全身 KO マウスに HFD の投与を行った。その結果、皮膚発赤などの非致死的な炎症発症に差は見られなかったが、HFD 群ではコントロール食群と比較して、予想通り炎症が急激に増悪し致死経過を辿った。また、HFD 群では腸内細菌叢の異常を認めた (Ishiguro H, et al. *iScience.* 2021)。これらのマウスを解析したところ、全身的 SOCS3 KO に HFD を与えた群では炎症開始期 (タモキシフェン投与後 30 日) で肝臓に強い炎症細胞の浸潤を認めた。これらの炎症細胞を解析したところ、顆粒球、単球、マクロファージの浸潤が確認されると同時に末梢血の著明な顆粒球増加と巨脾を認めた。脾臓内には CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> の細胞群が 90% を占めるに到っており、前述の炎症細胞群が著増していることが確認された。以上から、実際に SOCS3KO マウスは高脂肪食負荷においては食事誘発性の微小炎症を増幅し、解析を容易にするモデルマウスであると考えた。また、炎症が誘発される臓器は GVHD の標的臓器と類似していた。HFD の微小炎症ではマクロファージや CD8 T cell が強く炎症巣形成に関与するが、これは GVHD においても同様の機序で発症する。このため、SOCS3KO マウスは GVHD と同様の微小炎症の増幅に適している可能性があると思われた。

## 2. 研究の目的

SOCS3KO マウスを用いて GVHD モデルを作成し、そのマウスに HFD を投与することで、HFD による食事誘発性の炎症が GVHD の重症化に与える影響を解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

8-10 週齢の血球特異的 SOCS3KO マウスあるいは野生型(WT) (C57BL/6 background、H-2<sup>b</sup>) をドナーとし、7Gy の Total body irradiation を照射した Balb/c (H-2<sup>d</sup>) レシピエントへ同種骨髄移植を行ない、急性 GVHD モデルを作成した。また、移植細胞数は骨髄単核球  $5 \times 10^6$  cells + 脾単核球  $1 \times 10^5$  cells (Low dose) または  $5 \times 10^5$  cells (High dose) とした。レシピエントには 4 週齢より HFD もしくはコントロール食 (chow) を投与した。ドナーマウスおよび給餌種類により、WT-chow、WT-HFD、SOCS3KO-chow、SOCS3KO-HFD の 4 群に分け、生存率と GVHD スコアを検討した。

### 4. 研究成果

高脂肪食負荷は WT ドナーにおいて GVHD を増悪させ生存率の短縮を生じた。さらに、高脂肪食と SOCS3KO が重なると、さらに GVHD は重症化して生存率の短縮 (図 a) や、GVHD スコアの増悪を認めた。

さらにそのマウスを詳細に検討したところ、SOCS3KO-HFD 群は顆粒球を中心とした白血球の有意な上昇、および炎症と関連のある Effector Memory CD4 T 細胞割合の有意な上昇を認めた (図 b)。以上より、SOCS3KO-HFD 群では炎症が悪化し GVHD が重症化することが示された。

今後さらなる解析を行いメカニズムの詳細な検討を行い論文投稿する予定である。

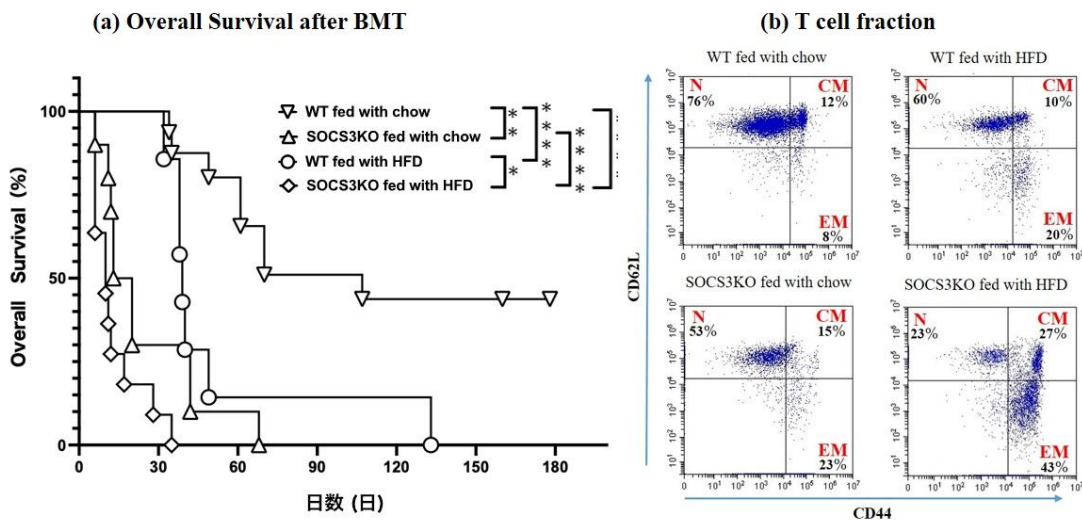


図 HFD負荷時にSOCS3KOドナー群 (◇) ではWild typeドナー群 (○) に比して (a)生存期間の短縮および(b) Effector Memory CD4陽性 T 細胞割合の増加を認める。 *Socs3<sup>fl/fl</sup>VavCre<sup>T</sup>*マウスあるいはWild typeマウスをドナーとしてBalb/cマウスに造血幹細胞移植を行いマウスGVHDモデルを作成し脾臓を解析した。BMT=Bone marrow transplantation  
\*p<0.05,\*\*p<0.01,\*\*\*p<0.001,\*\*\*\*p<0.0001 (SOCS3KO fed with HFD vs WT fed with HFD)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Cho Kaori, Ushiki Takashi, Ishiguro Hajime, Tamura Suguru, Araki Masaya, Suwabe Tatsuya, Katagiri Takayuki, Watanabe Mari, Fujimoto Yoko, Ohashi Riuko, Ajioka Yoichi, Shimizu Ippei, Okuda Shujiro, Masuko Masayoshi, Nakagawa Yoshimi, Hirai Hideyo, Alexander Warren S., Shimano Hitoshi, Sone Hirohito	4. 巻 24
2. 論文標題 Altered microbiota by a high-fat diet accelerates lethal myeloid hematopoiesis associated with systemic SOCS3 deficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103117 ~ 103117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103117	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石黒 創, Wu Sijia, 小林 孝也, 土田 拓睦, 諏訪部 達也, 荒木 雅弥, 横田 明日美, 中川 嘉, 平位 秀世, 進藤 岳郎, 曽根 博仁, 増子 正義, 牛木 隆志
2. 発表標題 高脂肪食により誘発される造血細胞移植後GVHDへの炎症抑制因子SOCSの関与
3. 学会等名 第67回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2024年

〔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
研究 分担者	牛木 隆志  (Ushiki Takashi)  (80579152)	新潟大学・医歯学総合病院・講師   (13101)	

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
---------	---------