

令和 6 年 4 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16284

研究課題名（和文）脂肪細胞が分泌するアディポカインを軸とした全身性強皮症の病態解析

研究課題名（英文）Analysis of the functions of adipokines secreted by adipocytes in systemic sclerosis models

研究代表者

宮川 卓也（Miyagawa, Takuya）

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60843323

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：全身性強皮症の病態に関与が示唆されるも詳細が分かっていないアディポカインの病態解析を行うため、全身性強皮症様の線維化と血管障害を自然発症する脂肪細胞特異的Fli1欠損マウス（Fli1 AdipoK0マウス）の脂肪細胞を単離して、アディポカインの発現パターンをコントロールマウスと比較した。IL-6がFli1 AdipoK0マウス脂肪細胞で上昇していることが分かり、またIL-6を調整することでFli1 AdipoK0マウスの血管障害や線維化の病態が改善した。アディポカインの中ではIL-6が全身性強皮症の病態と強く関連してい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

今まで全身性強皮症の病態と関与が疑われるも詳細が不明であったアディポカインに関して網羅的に発現の検討を行った。アディポカインの中でもIL-6が全身性強皮症の血管障害や線維化の病態と関連しており、IL-6をコントロールすることでその病態を改善できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To analyze the role of adipokines in systemic sclerosis, we isolated adipocytes from adipocyte-specific Fli1-deficient mice (Fli1 AdipoK0 mice), which spontaneously develop systemic sclerosis-like fibrosis and vascular disorders, and compared the expression patterns of adipokines with those of control mice. We found that IL-6 was elevated in adipocytes of Fli1 AdipoK0 mice, and vascular disorders and fibrosis in Fli1 AdipoK0 mice were improved by adjusting IL-6. It was suggested that IL-6 is closely associated with the pathology of systemic sclerosis among adipokines.

研究分野：全身性強皮症、皮膚悪性腫瘍

キーワード：全身性強皮症 脂肪細胞 アディポカイン

1. 研究開始当初の背景

全身性強皮症は線維化、血管障害、免疫異常を特徴とした自己免疫疾患で、近年その線維化や血管障害の病態とアディポカインの関与が示唆されている。例えばアディポネクチンは全身性強皮症の線維化に抑制的に作用し、その血清濃度の低下は線維化の病勢を反映する。またレジスチン、オメンチン、リポカリン 2 の血清濃度は血管障害と関連を示し、ビスファチン、リポカリン 2 などの血清濃度は線維化の程度を反映すると報告されている。しかしながらアディポカインが具体的にどのように線維化や血管障害の病態に関わるかに関しては依然として詳細が不明である。またこれまでに全身性強皮症においてアディポカインを網羅的に検討した研究もない。

2. 研究の目的

「研究活動スタート支援」にて、全身性強皮症においてエピジェネティック制御により発現調整を受けている転写因子の 1 つである *Fli1* を脂肪細胞特異的に欠損させたマウスを作成し、同マウスでは自然発症で全身性強皮症様の血管障害や線維化を発症することを確認した。アディポカインは主に脂肪細胞から分泌されるため、同マウスを用いて、病態に関与が示唆されるも詳細が分かっていないアディポカインの病態解析を行うこととした。脂肪細胞が分泌するアディポカインが具体的にどのように線維化や血管障害に関わるかについて明らかにすることで、全身性強皮症の病態理解ならびに新規治療法開発につながることを期待した。

3. 研究の方法

脂肪細胞特異的 *Fli1* 欠損 (*Fli1* AdipoK0) を用いて検討を行った。*Fli1* AdipoK0 マウスは遺伝子組み換え酵素 Cre を導入したアディポネクチン-Cre マウスと *Fli1* に flox サイトを導入した *Fli1*^{flox/flox} マウスを交配し作成するが、同マウスのコントロールに *Fli1*^{flox/flox} マウスを用いる。*Fli1* AdipoK0 マウスは 12 週齢で血管障害や線維化を自然発症するため、12 週齢のマウスを用い、皮下脂肪並びに精巣周囲脂肪を摘出した。摘出した脂肪をそれぞれミンスし、コラゲナーゼ処理後ろ過、遠心を行い、脂肪細胞を回収した。得られた脂肪細胞はフローサイトメトリーを用いて純度を確認後、RNA の抽出を行った。脂肪細胞が分泌するアディポカインの網羅的解析には、RNA シーケンスを用いた。検討後変化が見られたアディポカインに関しては、primer を購入し、定量的リアルタイム PCR を用いて再現性を確認した。また発現タンパク量の検討のため皮下脂肪が付着した皮膚組織で免疫組織学的検討を行った。*Fli1* AdipoK0 マウスでは、骨髓内脂肪細胞が骨髓由来間葉系幹細胞 (BM-MSCs) に作用し未熟な周皮細胞を形成することで血管障害を起こしていることが示唆されている。脂肪細胞が分泌するアディポカインに関して、上昇している因子に関しては、in vitro でアディポカインの siRNA を BM-MSCs に添加し BM-MSCs のフェノタイプの変化を確認した。さらに in vivo にて、中和抗体を投与し、病態への寄与に関して検討を行った。

4. 研究成果

Fli1 AdipoK0 マウスならびにコントロールマウスにおいて皮下脂肪ならびに精巣周囲脂肪細胞を摘出し、アディポカインの遺伝子発現量を比較した。皮下脂肪に関しては条件を様々に変えながら検討を行ったが、十分な純度は得られず、精巣周囲脂肪細胞のみの検討となった。これまでに全身性強皮症と関連があると言われていたアディポネクチン、ビスファチン、レジスチン、リポカリン 2、オメンチンなどのアディポカインに関しては *Fli1* AdipoK0 マウスとコントロールマウスで有意差は見られなかった。一方で、*IL-6* に関しては *Fli1* AdipoK0 マウス脂肪細胞で上昇している傾向が見られた。また皮下脂肪が付着した皮膚組織で免疫組織学的検討を行ったところ、アディポネクチン、ビスファチン、レジスチン、リポカリン 2、オメンチンなどのアディポカインでは *Fli1* AdipoK0 マウスとコントロールマウスの脂肪細胞で発現に有意差は見られなかったが、*IL-6* に関しては有意に発現が上昇していた。*Fli1* AdipoK0 マウスでは、骨髓内脂肪細胞が骨髓由来間葉系幹細胞 (BM-MSCs) に作用し未熟な周皮細胞を形成することで血管障害を起こしていることが示唆されている。in vitro で *IL-6* の siRNA を *Fli1* AdipoK0 マウスの BM-MSCs に添加したところ、BM-MSCs のフェノタイプがコントロールマウスと同等のものとなった。またコントロールマウスの BM-MSCs に recombinant *IL-6* ならびに recombinant soluble *IL-6* receptor を添加したところ、BM-MSCs のフェノタイプが *Fli1* AdipoK0 マウスと同等のものとなった。また in vivo で *IL-6* の中和抗体を *Fli1* AdipoK0 マウスに投与したところ、血管障害ならびに線

維化がコントロールマウスと同程度まで改善した。上記より、アディポカインの中でも IL-6 が全身性強皮症の血管障害や線維化の病態と関連しており、IL-6 をコントロールすることでその病態を改善できる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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