

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15417

研究課題名(和文)新規に同定した血管周囲脂肪組織による代謝と免疫のクロストーク

研究課題名(英文)The role of perivascular adipose tissue in skin immune responses

研究代表者

梶島 健治 (Kabashima, Kenji)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：00362484

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：申請者らは、二光子励起顕微鏡の導入により皮膚血管周囲に皮下脂肪とは異なる脂肪細胞の存在を新規に同定し、perivascular adipose tissue (PAT)と命名した。高脂肪食負荷マウスに尋常性乾癬様皮膚炎を発症させたところ皮疹が著明に増悪した。またIL-17産生のgdT細胞の浸潤が著明に亢進していた。さらに、PATに高脂肪食の成分であるリノレン酸などを添加したところ、同様のサイトカインやケモカインの産生が亢進した。以上の結果は、高脂肪食負荷により、皮膚のPATや血管内皮細胞を介して尋常性乾癬の症状が増悪に導かれていることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Psoriasis is a common, chronic inflammatory skin disease characterized by epidermal hyperplasia via the IL-23/IL-17 axis. Various studies have indicated the association between obesity and psoriasis, however, the underlying mechanisms remains unclarified. To this end, we focused on high-fat diet (HFD) HFD-fed mice exhibit exacerbated psoriatic dermatitis. Using murine imiquimod (IMQ)-induced psoriasis and HFD-induced obesity models, we found that HFD-fed mice exhibited aggravated psoriatic dermatitis, which was accompanied with increased accumulation of IL-17A-producing Vg4+ gd T cells in the skin. In addition, HFD-fed mice displayed increased expression of several gd T cell-recruiting chemokines in the skin. These results indicate that HFD is a key element in exacerbation of IMQ-induced psoriatic dermatitis, and further raise the possibility of HFD as a factor that links obesity and psoriasis.

研究分野：皮膚科学

キーワード：肥満 アレルギー 免疫

1. 研究開始当初の背景

肥満は2型糖尿病、動脈硬化などの様々な炎症性疾患に関与することが知られる。皮膚においても、代表的な炎症性角化症である尋常性乾癬が肥満の人で多く、また肥満の程度と臨床症状が相関することが知られている (Raychaudhuri et al. *Cutis*. 2000、他)。従来、肥満による脂肪組織の肥大・活性化が炎症を誘導すると考えられてきたが (Patel et al. *J Obes*. 2013) 皮下脂肪組織と乾癬病変の主座である表皮から真皮上層との時間的な離存は、その説明を困難なものとする。

近年申請者らは、二光子励起顕微鏡の導入により皮膚の三次元可視化に成功 (Kabashima et al. *J Invest Dermatol* 2014, Natsuaki et al. *Nat Immunol* 2014 など) し、皮膚血管周囲に皮下脂肪とは異なる脂肪細胞の存在を新規に同定し、PAT と命名した (Egawa et al. *Identification of perivascular adipose tissue in the mouse skin using two-photon microscopy. J Dermatol Sci* 2013)。PAT は真皮内に存在するため、肥満における尋常性乾癬の病態形成に関与する可能性がある。

2. 研究の目的

本研究はマウスとヒトの PAT による皮膚の局所免疫応答への寄与を明らかにするために以下の事項を明らかにする。

1. 高脂肪負荷によるマウス尋常性乾癬様皮膚炎への影響の検証
2. 遺伝子発現解析に基づく PAT の特徴の解明
3. PAT を基軸とした免疫細胞の動態・細胞機能変化の可視化とその解析
4. ヒト PAT の同定と尋常性乾癬への寄与の検討

3. 研究の方法

1. 高脂肪負荷によるマウス尋常性乾癬様皮膚炎への影響の検証

高脂肪食負荷におけるマウス皮膚炎の評価

高脂肪食による肥満マウスの作成は既に確立されている。一方、自然免疫の作動薬であるイミキモドの外用により、尋常性乾癬様皮膚炎モデル (Th17 型の皮膚炎) を誘導できる。

そこで、高脂肪食負荷マウス (コントロールは通常食負荷マウス) に尋常性乾癬様皮膚炎を発症させる。炎症部位における T 細胞サブセットなどの免疫細胞の質的および量的差異をフローサイトメトリーを用いて比較、検証する。

2. 遺伝子発現解析に基づく PAT の特徴の解明

皮下脂肪を除去した皮膚をコラゲナーゼ処理し、遠心分離後をすることにより PAT を回収し、通常食マウスと高脂肪食マウスの PAT の遺伝子発現プロファイルを定量的 PCR にて解析する。

3. PAT を基軸とした免疫細胞の動態・細胞機能変化の可視化とその解析

当研究室では二光子励起顕微鏡を用いることにより、マウスの皮膚脂肪組織を生きたまま非侵襲的に観察することに成功し、PAT の同定に成功した (Egawa et al. *J Dermatol Sci*. 2013)。免疫細胞蛍光タンパクを導入したマウス (各種皮膚構成細胞が赤色に蛍光標識) に高脂肪食を投与し、さらに脂肪を緑色に標識する蛍光色素である BODIPY を投与して、PAT と皮膚免疫細胞を可視化する。この技術導入により、高脂肪食による PAT の形態変化、PAT に集積する細胞の動態や、相互作用による細胞活性化などをリアルタイムに観察する。

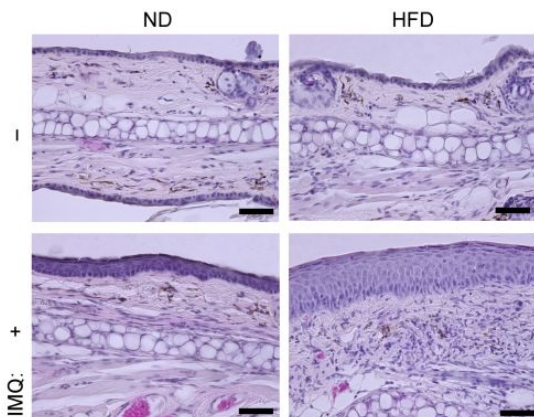
4. ヒト PAT の同定と尋常性乾癬への寄与の検討

次に、マウスで得られた PAT に関する知見がヒトに適用されるかどうかの検討を行う。皮膚生検の余剰サンプルを用いて二光子励起顕微鏡により解析し、ヒトの PAT の存在を観察し、さらに肥満による形態の変化などを明らかにする。

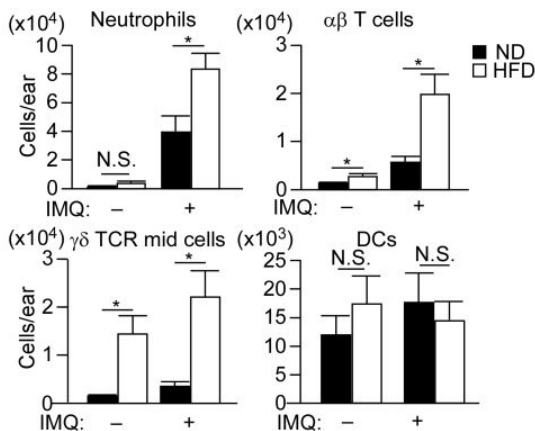
4. 研究成果

1) 高脂肪負荷によるマウス尋常性乾癬様皮膚炎への影響の検証

高脂肪食負荷マウスにイミキモド外用乾癬様皮膚炎を誘導したところ、高脂肪食マウスにおいて優位に皮膚炎症が亢進した(図1)。また、高脂肪負荷マウスでは T 細胞の数が通常食マウスに比べ優位に増加していた(図2)。



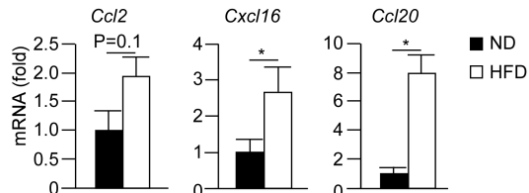
(図1): 高脂肪食負荷マウスにおけるイミキモド誘導性乾癬様皮膚炎の比較



(図2): 高脂肪食負荷マウスにおける皮膚浸潤免疫細胞の比較

2) 遺伝子発現解析に基づく PAT の特徴の解明

通常食マウスと高脂肪食マウスの PAT の遺伝子発現を定量的 PCR で比較した。高脂肪食マウスの PAT では *Ccl2*、*Cxcl16*、*Ccl20* といったケモカインが上昇しており、PAT が T 細胞を皮膚に引き寄せている可能性が示唆された(図2)。



(図2): 通常食マウスと高脂肪食負荷マウスにおけるケモカイン発現の比較

3) PAT を基軸とした免疫細胞の動態・細胞機能変化の可視化とその解析

Gamma-delta TCR GFP マウスに高脂肪食を負荷し、PAT を赤の蛍光を発する Bodipy でラベリングすることにより、PAT と Gamma-delta T 細胞のライブイメージングに成功した。Gamma-delta T 細胞は PAT の近くに存在しており、PAT が Gamma-delta T 細胞の皮膚浸潤を促進していることが示唆された。

4) ヒト PAT の同定と尋常性乾癬への寄与の検討

肥満を伴った乾癬患者の皮膚の脂肪組織を免疫染色にて観察したところ、血管周囲に脂肪組織を認めた。

高脂肪食負荷によりマウスの尋常性乾癬様皮疹は悪化した。皮膚では尋常性乾癬様皮疹を引き起こすとされている T 細胞が増加していた。PAT の PCR、イメージングにより高脂肪食マウスでは PAT からのケモカイン発現が亢進し、T 細胞を皮膚に引き寄せている可能性が示唆された。以上より、肥満に伴う乾癬の悪化には PAT が関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

1. Kanemaru K, Nakamura Y, Totoki K, Fukuyama T, Shoji M, Kaneko H, Shiratori K, Yoneda A, Inoue T, Iwakura Y, Kabashima K, Fukami K. 2017. Phospholipase Cdelta1

- regulates p38 MAPK activity and skin barrier integrity. *Cell Death Differ*
2. Honda T, Yamamoto O, Sawada Y, Egawa G, Kitoh A, Otsuka A, Dainichi T, Nakajima S, Miyachi Y, Kabashima K. 2017. Receptor-interacting protein kinase 3 controls keratinocyte activation in a necroptosis-independent manner and promotes psoriatic dermatitis in mice. *J Allergy Clin Immunol*
 3. Egawa G, Honda T, Kabashima K. 2017. SCFAs Control Skin Immune Responses via Increasing Tregs. *J Invest Dermatol* 137: 800-1
 4. Kogame T, Nomura T, Kataoka T, Hirata M, Ueshima C, Matsui M, Kabashima K. 2017. Possible inducible skin-associated lymphoid tissues (iSALT)-like structures with CXCL13+ fibroblast-like cells in secondary syphilis. *Br J Dermatol*
 5. Egawa G, Kabashima K. 2017. Visualization of the T Cell Response in Contact Hypersensitivity. *Methods Mol Biol* 1559: 53-62
 6. Kuroda E, Ozasa K, Temizoz B, Ohata K, Koo CX, Kanuma T, Kusakabe T, Kobari S, Horie M, Morimoto Y, Nakajima S, Kabashima K, Ziegler SF, Iwakura Y, Ise W, Kurosaki T, Nagatake T, Kunisawa J, Takemura N, Uematsu S, Hayashi M, Aoshi T, Kobiyama K, Coban C, Ishii KJ. 2016. Inhaled Fine Particles Induce Alveolar Macrophage Death and Interleukin-1alpha Release to Promote Inducible Bronchus-Associated Lymphoid Tissue Formation. *Immunity* 45: 1299-310
 7. Ono S, Kabashima K. 2016. The role of dendritic cells and macrophages in the skin immunity. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 39: 448-54
 8. Brunner PM, Silverberg JI, Guttman-Yassky E, Paller AS, Kabashima K, Amagai M, Luger TA, Deleuran M, Werfel T, Eyerich K, Stingl G, Councilors of the International Eczema C. 2017. Increasing Comorbidities Suggest that Atopic Dermatitis Is a Systemic Disorder. *J Invest Dermatol* 137: 18-25
- 〔学会発表〕(計 3 件)
- Kenji Kabashima
Live Imaging of Skin Immune Responses
March 27, 2017
The 17th Edition of Dubai World Dermatology and Laser Conference – Dubai Derma 2017
- 椋島健治
二光子励起顕微鏡を用いた皮膚のイメージング
平成 28 年 6 月 24 日, リンパ学会, 東京
- Kenji Kabashima
Skin inflammation by 3-dimensional imaging
Nov 17th, 2016 The 2nd ISDS
NYC in USA
- 〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~skin/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

椋島 健治 (KABASHIMA Kenji)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号：00362484

(2) 研究分担者

該当無し

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

該当無し

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

該当無し

()