

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09011

研究課題名(和文) NKT細胞による腸内細菌叢の制御と肥満との関わり

研究課題名(英文) NKT cells control obesity by regulating the microbiota

研究代表者

佐藤 雅 (Sato, Masashi)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：40611843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、NKT細胞・肥満・腸内細菌叢の関係性を肥満マウスモデルを用いて明らかにすることを目的とし、NKT細胞が腸内細菌叢の形成・組成にどのような影響を与えるのか、またどのような細胞間相互作用が肥満に影響を及ぼすかを検討した。腸内細菌叢解析の結果、体脂肪と相関することが報告されているAllobaculum属はWTマウスでは50%を占めるのに対し、CD1d<sup>-/-</sup>マウスでは20%以下と増加率が低かった。一方で、食事誘導性肥満を軽減することが報告されているBacteroides属はCD1d<sup>-/-</sup>マウスのほうがWTマウスよりも多く認められ、NKT細胞による腸内細菌叢の制御が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内細菌叢は肥満をはじめ、さまざまな疾患と関連があることが最近の研究で明らかとなっている。本研究から、NKT細胞が腸内細菌叢の形成に関与していることが示唆され、NKT細胞を介して腸内細菌叢をコントロールできる可能性が見出された。NKT細胞による腸内細菌叢の制御メカニズムが明らかとなれば、NKT細胞を介した新たな肥満等に対する治療アプローチの確立が期待できる。今後は、腸管NKT細胞がどのように活性化されるのか、どのような機能を有するのかなど詳細な解析が必要である。

研究成果の概要(英文)：We examined the relationship among NKT cell, microbiota and obesity using diet-induced obesity model. As a results, Allobaculum that related to body fat was more observed in WT mice than CD1d<sup>-/-</sup> mice. In contrast, Bacteroides that improve diet-induced obesity was decreased in WT mice compared with CD1d<sup>-/-</sup> mice. These data suggested that NKT cells control microbiota composition and development of obesity.

研究分野：免疫学

キーワード：NKT細胞 腸内細菌叢 脂肪組織 マクロファージ 肥満 組織炎症

## 1. 研究開始当初の背景

日本における肥満者 (BMI 値 25 以上) の割合は、成人男性で 3 割強、成人女性で 2 割強であり、特に男性では増加の一途をたどっている (厚生労働省 平成 28 年国民健康・栄養調査)。世界規模においてもやはり肥満者はこの 40 年間で急速に増加しており、今後はさらに増加していくと予想されている。肥満は、糖尿病や動脈硬化症、心疾患などのさまざまな疾患のリスクファクターとなり得るため、肥満の克服は日本だけでなく世界の喫緊の課題である。近年、腸内細菌叢を構成する細菌の組成の乱れが、消化器疾患のみならず、呼吸器系、神経系などの疾患にも関係することが報告されており、特に肥満との関係を示す報告が増えている。実際に、片方は痩せており、もう一方は肥満の遺伝的素因は同じである双子ドナーからマウスへ糞便移植したとき、肥満ドナーから移植を受けたマウスのほうが体重・脂肪重量が増加することが証明されている。申請者の研究グループはこれまでに、リンパ球の一つである NKT (ナチュラルキラー T) 細胞が肥満に促進的に働くこと、そのメカニズムとして NKT 細胞と脂肪細胞の相互作用による炎症誘導が重要であることをマウスモデルを用いて明らかにした。これらの成果と他の多くの報告から、NKT 細胞は脂質代謝異常の疾患に関連が深く、NKT 細胞の制御により脂肪組織炎症・メタボリック症候群を含め、生活習慣病を抑制できると考えた。しかしながら、NKT 細胞と腸内細菌叢との相互関係は未だ明らかになっていないため、申請者は肥満の克服を目指し、NKT 細胞による腸内細菌叢の制御機構と脂肪組織における NKT 細胞を中心とした細胞間相互作用について検討した。

## 2. 研究の目的

本研究は、NKT 細胞・肥満・腸内細菌叢の関係性を肥満マウスモデルを用いて明らかにすることを目的とする。NKT 細胞が腸内細菌叢の形成・組成にどのような影響を与えるのか、またその変化が肥満に及ぼす影響を検討する。

## 3. 研究の方法

腸内細菌叢の形成に NKT 細胞がどのように関与しているかを調べるために、野生型 (WT) マウスと NKT 細胞欠損 ( $CD1d^{-/-}$ ) マウスにおける腸内細菌叢組成を検討した。また、肥満における NKT 細胞とマクロファージや樹状細胞との相互作用の役割について、コンディショナルノックアウトマウスを用いて解析した。

## 4. 研究成果

WT マウスおよび  $CD1d^{-/-}$  マウスに高脂肪食 (HFD) を 12 週間給餌し、糞便をサンプルとして 16SrRNA 領域のシーケンスにより微生物群集解析を行った。Firmicutes 門の割合は WT マウスが  $CD1d^{-/-}$  マウスより多く、一方 Bacteroidetes 門の割合は  $CD1d^{-/-}$  マウスが WT マウスよりも多かった。多くの報告から、肥満に伴う Firmicutes 門の増加が示唆されており、本研究においても肥満・インスリン抵抗性が軽度となる  $CD1d^{-/-}$  マウスでは Firmicutes 門の増加が WT マウスほど認められなかった。また、体脂肪と相関することが報告されている *Allobaculum* 属は普通餌群よりも HFD 群で増加が認められ、WT マウスでは 50% を占めるのに対し、 $CD1d^{-/-}$  マウスでは 20% 以下と増加率が低いことがわかった。以上から、本研究における肥満を示す個体の腸内細菌叢は、すでに報告されている肥満の細菌叢と類似しており、それは NKT 細胞が欠損することで変化していることがわかった。この細菌叢のバランス変化が NKT 細胞によるものであることが考えられるが、今後、腸管の免疫反応における NKT 細胞の寄与を詳しく調べる必要がある。

肥満の進展における NKT 細胞の活性化機構を調べるために、抗原提示細胞としてマクロファージと樹状細胞に着目した。NKT 細胞は  $CD1d$  に提示された脂質抗原を認識して活性化する T 細胞亜群である。マクロファージ特異的に  $CD1d$  を欠損した *LysM-cre-cd1d1<sup>fl/fl</sup>* マウスと樹状細胞特異的に  $CD1d$  を欠損した *CD11c-cre-cd1d1<sup>fl/fl</sup>* マウスを用いて、肥満進展における NKT 細胞とマクロファージ/樹状細胞との相互作用の役割を検討した。高脂肪食給餌による *LysM-cre-cd1d1<sup>fl/fl</sup>* マウスのインスリン抵抗性はコントロールマウスに比べて増悪し、反対に、*CD11c-cre-cd1d1<sup>fl/fl</sup>* マウスではコントロールマウスに比べてインスリン抵抗性が軽減した。NKT 細胞の  $IFN-\gamma$  産生は、脂肪組織のマクロファージよりも樹状細胞と共培養したときのほうが高いことがわかった。このことから、NKT 細胞とマクロファージの相互作用は肥満進展に対して促進的に、反対に NKT 細胞と樹状細胞の相互作用は抑制的に働くことが明らかとなった。また、*LysM-cre-cd1d1<sup>fl/fl</sup>* マウスの脂肪組織マクロファージは、パルミチン酸刺激による  $IL-12p40$  の発現量がコントロールマウスのもよりも高いことが判明し、これが *LysM-cre-cd1d1<sup>fl/fl</sup>* マウスの Th1 免疫が亢進している原因の一つであると考えられた (図 1)。以上から、NKT 細胞は抗原提示細胞によってその機能が異なり、肥満進展に対して重要な役割を果たしていることが示唆された。

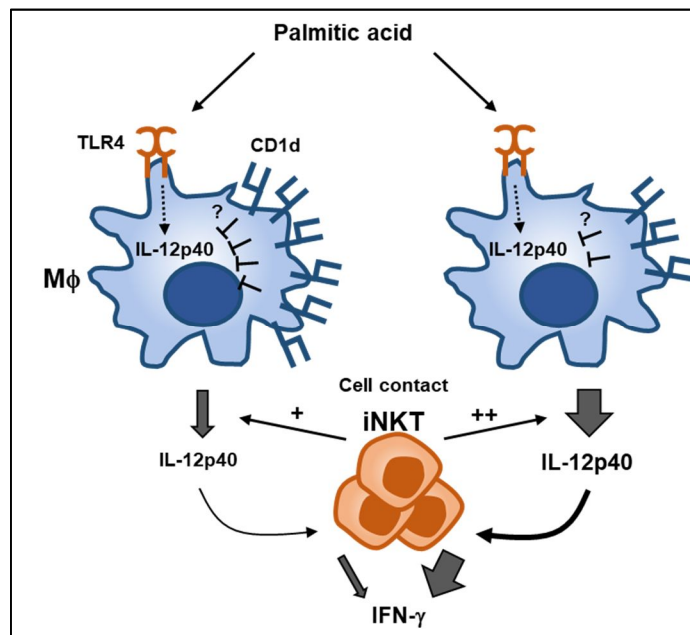


図 1. マクロファージと NKT 細胞の相互作用

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Muneshige K, Kenmoku T, Uchida K, Aredt-Nielsen L, Tazawa R, Nakawaki M, Satoh M, Inoue G, Takaso M.	4. 巻 4
2. 論文標題 Mild inflammation persists in the glenohumeral joint of patients with shoulder instability: Cross-sectional study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Osteoarthr Cartil Open	6. 最初と最後の頁 100241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ocarto.2022.100241	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 Mukai M, Uchida K, Inoue G, Satoh M, Miyagi M, Yokozeki Y, Hirose N, Matsuura Y, Ohtori S, Takaso M	4. 巻 40
2. 論文標題 Nerve decompression surgery suppresses TNF- $\alpha$ expression and T cell infiltration in a rat sciatic nerve chronic constriction injury model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Orthop Res	6. 最初と最後の頁 2537-2545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.25280	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 Satoh M, Iizuka M, Majima M, Ohwa C, Hattori A, Van Kaer L, Iwabuchi K.	4. 巻 165
2. 論文標題 Adipose invariant NKT cells interact with CD1d-expressing macrophages to regulate obesity-related inflammation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Immunology	6. 最初と最後の頁 414-427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/imm.13447.	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 Ohashi Y, Uchida K, Fukushima K, Satoh M, Koyama T, Tsuchiya M, Saito H, Takahira N, Inoue G, Takaso M	4. 巻 -
2. 論文標題 NGF expression and elevation in hip osteoarthritis patients with pain and central sensitization.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BioMed Research International	6. 最初と最後の頁 9212585
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2021/9212585.	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 -

1. 著者名 Ohashi Y, Uchida K, Fukushima K, Satoh M, Koyama T, Tsuchiya M, Saito H, Uchiyama K, Takahira N, Inoue G and Takaso M.	4. 巻 40
2. 論文標題 Correlation between CD163 expression and resting pain in patients with hip osteoarthritis: Possible contribution of CD163+ monocytes/macrophages to pain pathogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Orthop Res	6. 最初と最後の頁 1365-1374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.25157	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 Goto T, Ito Y, Satoh M, Nakamoto S, Nishizawa N, Hosono K, Naitoh T, Eshima K, Iwabuchi K, Hiki N, Amano H	4. 巻 12
2. 論文標題 Activation of iNKT Cells Facilitates Liver Repair After Hepatic Ischemia Reperfusion Injury Through Acceleration of Macrophage Polarization.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 754106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.754106.	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 -

1. 著者名 Mukai M, Uchida K, Okubo T, Takano S, Matsumoto T, Satoh M, Inoue G, Takaso M	4. 巻 8
2. 論文標題 Regulation of tumor necrosis factor- by peptide Lv in bone marrow macrophages and synovium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Med	6. 最初と最後の頁 702126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmed.2021.702126	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 -

1. 著者名 岩淵 和也, 田尻 夏海, 加藤 太喜, 佐藤 雅	4. 巻 79
2. 論文標題 実験的自己免疫性ぶどう膜炎モデルの炎症制御	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本臨牀	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Tajiri N, Kato T, Satoh M, Iizuka M, Taniguchi M, Kitaichi N, Iwabuchi K.	4. 巻 203
2. 論文標題 The protective function of invariant natural killer T cells in the relapse of experimental autoimmune uveoretinitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Exp Eye Res	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exer.2020.108406.	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 Kawakubo A, Uchida K, Miyagi M, Nakawaki M, Satoh M, Sekiguchi H, Yokozeki Y, Inoue G, Takaso M.	4. 巻 38
2. 論文標題 Investigation of resident and recruited macrophages following disc injury in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Orthop Res	6. 最初と最後の頁 1703-1709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.24590.	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 Sakurai Y, Ichinoe M, Yoshida K, Nakazato Y, Saito S, Satoh M, Nakada N, Sanoyama I, Umezawa A, Numata Y, Shi-Xu J, Ichihara M, Takahashi M, Murakumo Y	4. 巻 489
2. 論文標題 Inactivation of REV7 enhances chemosensitivity and overcomes acquired chemoresistance in testicular germ cell tumors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Lett.	6. 最初と最後の頁 100-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2020.06.001.	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 岩淵 和也, 佐藤 雅	4. 巻 70
2. 論文標題 NKT細胞と脂肪組織	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 130-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Nakawaki M, Uchida K, Miyagi M, Inoue G, Kawakubo A, Satoh M, Takaso M.	4. 巻 37
2. 論文標題 Changes in NGF expression and macrophage phenotype following intervertebral disc injury in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Orthop Res	6. 最初と最後の頁 1798-1804
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.24308	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 Nakawaki M, Uchida K, Miyagi M, Inoue G, Kawakubo A, Kuroda A, Satoh M, Takaso M	4. 巻 38
2. 論文標題 Sequential CCL2 Expression Profile After Disc Injury in Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Orthop Res	6. 最初と最後の頁 895-901
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jor.24522	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 Satoh M, Saeki M, Yoshino K, Mita K, Iizuka M, Hattori A, Takeuchi E, Eshima K, Iwabuchi K	4. 巻 50
2. 論文標題 De novo generation of CD1d1-deficient NKT-cell hybridomas from CD1d <sup>-/-</sup> mice or by gene editing of CD1d <sup>+</sup> hybridomas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kitasato Med J	6. 最初と最後の頁 34-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Yoshino K, Satoh M, Iwayama T, Kobayashi S, Okamoto H, Eshima K, Watarai H, Iwabuchi K	4. 巻 50
2. 論文標題 Amelioration of experimental autoimmune myocarditis through activation of invariant natural killer T cells by administration of $\alpha$ -galactosylceramide.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kitasato Med J	6. 最初と最後の頁 60-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Liu Y, Kitaichi N, Wu D, Hase K, Satoh M, Iwata D, Namba K, Kanda A, Noda K, Itai A, Iwabuchi K, Ishida S	4. 巻 525
2. 論文標題 Attenuation of experimental autoimmune uveoretinitis in mice by IKK inhibitor IMD-0354	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 589-594
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.02.117.	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

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Oowa C, Satoh M, Iwabuchi K.
2. 発表標題 Recurrence of experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) induced by administration of Staphylococcal Enterotoxin B was ameliorated by NKT-cell activation.
3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Satoh M, Iwabuchi K.
2. 発表標題 Adipose iNKT cell interacting with macrophage regulates obesity-associated inflammation.
3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大和 千鶴, 佐藤 雅, 櫻井 靖高, 岩淵 和也
2. 発表標題 NKT細胞ハイブリドームにおけるIL-10産生機構の検討.
3. 学会等名 第33回北里大学バイオサイエンスフォーラム
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 Sato M, Iwabuchi K.
2. 発表標題 The interaction of NKT cell and macrophage has regulatory function in obesity.
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tajiri N, Sato M, Iwabuchi K.
2. 発表標題 Experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in relapse model are ameliorated by NKT cells.
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hane K, Sato M, Iwabuchi K.
2. 発表標題 The alteration of NKT-cell function in mice fed on high fat diet.
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Imahashi N, Sato M, Iwabuchi K
2. 発表標題 MR1/MAIT cell alleviates allergic contact dermatitis through reduction of IL-17 production
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshino K, Satoh M, Iwabuchi K.
2. 発表標題 Potential role of invariant NKT cells in experimental autoimmune myocarditis in mice.
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

北里大学医学部免疫学 <a href="https://www.kitasato-u.ac.jp/med/research/departments/medicine/immunol.html">https://www.kitasato-u.ac.jp/med/research/departments/medicine/immunol.html</a>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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	岩淵 和也  (Iwabuchi Kazuya)  (20184898)	北里大学・医学部・名誉教授    (32607)	

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