

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08893

研究課題名(和文) 白色脂肪の褐色化と糖代謝制御におけるMAIT細胞の役割に関する研究

研究課題名(英文) a study about the role of MAIT cells in the browning of white adipose tissue and the regulation of glucose metabolism

研究代表者

薄井 勲 (Usui, Isao)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：50377272

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：自然免疫型T細胞であるMAIT細胞が白色脂肪組織の褐色化に与える影響について検討した。MAIT細胞を豊富に持つMAITマウスは対照マウスと比べ、通常食飼育と高脂肪食飼育時の皮下脂肪組織重量、脂肪細胞の形態、褐色化関連遺伝子、褐色化関連細胞、および耐糖能に有意差を認めなかった。また、MAIT細胞のT細胞受容体(TCR)特異的リガンドも解析結果に影響を与えなかった。以上より、MAIT細胞数の増加とそのTCRの活性化は脂肪組織の褐色化に影響を与えないと考えた。一方、MAITマウスは、高脂肪食飼育時、肝臓の脂肪合成と脂肪蓄積、血中中性脂肪と遊離脂肪酸値低下という特徴を有していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MAIT細胞と同じ自然免疫型T細胞であるnatural killer T細胞や 型T細胞は白色脂肪の褐色化促進能を持つと報告されていた。本研究結果よりMAIT細胞が褐色化に関与していないと考えられたことから、自然免疫型T細胞には脂肪組織の機能制御における役割分担があることが示唆された。また、高脂肪食飼育したMAITマウスでは、肝臓における脂肪合成と脂肪肝が軽減し、血中中性脂肪と遊離脂肪酸が低下していることを見出した。この点は本研究計画の申請時には予想していなかったが、MAIT細胞の代謝制御における新たな機能であると考えられた。更に検討を進める予定である。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the effects of MAIT cells, which are innate like-T cells, on the browning of white adipose tissue. MAIT mice with abundant MAIT cells did not have significant differences in subcutaneous adipose tissue weight, adipocyte morphology, browning-related genes, browning-related cells, and glucose tolerance compared to control mice fed either normal diet or high-fat diet. Administration of a ligand specific for MAIT cell T-cell receptor (TCR) did not affect these results. Thus, we considered that the increase in the number of MAIT cells and the activation of their TCR signaling do not affect the browning of adipose tissue. On the other hand, MAIT mice fed a high-fat diet had the characteristics of decrease in hepatic lipogenesis, lipid accumulation in the liver and decrease in serum triglyceride and free fatty acid levels.

研究分野：代謝学

キーワード：自然免疫型T細胞 MAIT細胞 脂肪組織 褐色化 耐糖能異常 脂肪肝

1. 研究開始当初の背景

(1) 白色脂肪組織が寒冷刺激や運動・交感神経刺激等に暴露されると、白色脂肪組織中にベージュ細胞と呼ばれる薄褐色の細胞が出現する。この変化を、白色脂肪の褐色化 (Browning) と呼ぶ。ベージュ細胞は褐色脂肪細胞の様に豊富なミトコンドリアと熱産生機能を持ち、体温維持や体重減少、耐糖能の改善などの役割を担う。

(2) 脂肪組織の間質には多様な免疫細胞が存在し、組織の恒常性維持や病態形成に関与する。白色脂肪の褐色化には、M2 マクロファージ、好酸球、2 型自然リンパ球 (ILC2)、制御性 T 細胞 (Treg)、自然免疫型 T 細胞など複数の免疫細胞の活性化が関与する。本研究計画で私は、自然免疫型 T 細胞のひとつである Mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞に注目した。自然免疫型 T 細胞は T 細胞受容体の単一性を特徴とし、自然免疫と適応免疫との橋渡しとして、個体の免疫・代謝調節機能を担う。自然免疫型 T 細胞のうち、natural killer T (NKT) 細胞と $\gamma\delta$ 型 T 細胞は、白色脂肪の褐色化促進能を持つとの報告がある。一方で、同じく自然免疫型 T 細胞である MAIT 細胞が、脂肪組織の褐色化において担う役割は不明であった。MAIT 細胞はヒトで最も豊富な T 細胞集団であるが、マウスには極めて数が少ない。そのため、マウスを用いて MAIT 細胞の詳細な機能を解析できないことが、その理由のひとつであった。

(3) 共同研究者で本研究計画の研究分担者である獨協医科大学の若尾宏らは、最近ヒト MAIT 細胞から iPS 細胞を樹立、ここから MAIT 細胞を再度分化誘導し、大量培養する技術を確立した (reMAIT 細胞)。さらに、iPS 細胞・キメラマウスを経由し、MAIT 細胞を豊富に有するマウス (MAIT マウス) を作成、これによりマウスにおける MAIT 細胞の詳細な機能解析が可能になった。本研究計画で私は、MAIT 細胞が白色脂肪の褐色化に与える影響について、MAIT マウスを用いて検討した。

2. 研究の目的

本研究計画では、

(1) MAIT マウスおよびコントロールマウスを解析することで、MAIT 細胞数の増加が白色脂肪組織の褐色化とそれに伴う代謝の変化に与える影響について調べる。

(2) MAIT 細胞の T 細胞受容体に特異的なリガンドを投与することで、MAIT 細胞の T 細胞受容体シグナルの活性化が白色脂肪組織の褐色化とそれに伴う代謝の変化に与える影響について調べる。

3. 研究の方法

(1) MAIT 細胞数の増加の影響

①食餌性肥満モデルの作製: MAIT マウスおよびコントロールマウスとして C57BL/6 マウス (MAIT 細胞を僅かに持つ; 以下 B6 マウス) を通常食および高脂肪食にて飼育、4 群を設定した。

②皮下脂肪組織の褐色化の評価: 皮下脂肪組織を採取後、脂肪組織の重量測定、組織染色による

脂肪細胞の形態、real time RT-PCRによる脂肪組織の褐色化に関与する遺伝子の発現、フローサイトメトリによる褐色化に関わる既知の細胞を評価、4群間で比較した。

③全身および脂肪組織以外の組織の代謝の評価：飼育開始後40週齢まで、体重および随時血糖の変化を経時的に評価した。糖負荷試験・インスリン負荷試験により耐糖能とインスリン抵抗性を評価。採血検査にて、脂質等その他の代謝マーカーを測定した。肝臓や筋肉などインスリンの標的臓器における、インスリンシグナルをウエスタンブロットにて評価した。また、肝臓の組織では、脂肪肝や炎症の程度を組織染色やreal time RT-PCR等で評価した。

(2) MAIT細胞 TCRシグナル活性化の影響：

①通常食飼育したMAITマウスに、MAIT細胞のT細胞受容体(TCR)に特異的なリガンドである5-OP-RUを投与する。上記(1)の②③と同様の解析を行い、5-OP-RU投与の有無による違いを評価する。

4. 研究成果

(1) 予備実験としてまず、MAIT細胞を豊富に持つMAITマウスとMAIT細胞を僅かに持つコントロールマウス(B6マウス)を40週齢まで飼育した。通常食および高脂肪食のいずれの飼育条件においても、体重および随時血糖に有意差は無かった。

(2) 27週齢、皮下脂肪組織を採取し解析を行った。皮下脂肪組織重量、脂肪細胞のサイズと形態、UCP-1をはじめとするベージュ細胞のマーカー遺伝子、およびIL-17、IL-4、IL-33やFGF21など褐色化に関する既知のサイトカインや成長因子等の遺伝子発現、ILC2、好酸球、Tregなど、白色脂肪の褐色化に関わることが報告されている細胞の数は、通常食および高脂肪食飼育の両条件において、MAITマウスとB6マウス間に有意差を認めなかった。

(3) 27週齢時、糖負荷試験・インスリン負荷試験を施行した。MAITマウスではB6マウスと比べ、通常食および高脂肪食飼育の両条件において、耐糖能とインスリン抵抗性に有意差が無かった。また、肝臓、筋肉、皮下脂肪組織における、Aktのリン酸化などインスリンシグナルも、MAITマウスではB6マウス間で有意差はなかった。

(4) 通常食飼育したMAITマウスにおいて、MAIT細胞のTCRに特異的なリガンドである5-OP-RUを投与し、上記(2)皮下脂肪組織の褐色化と、(3)全身の糖代謝に関する同様の検討を行った。5-OP-RUはこれらの解析結果に影響を与えなかった。

以上(1)～(4)の検討より、MAIT細胞数の増加とそのTCRシグナルの活性化は、皮下脂肪組織の褐色化とそれに伴う肥満度や全身の糖代謝に有意な影響を与えないものと考えた。本研究計画の申請前、MAIT細胞と同じ自然免疫型T細胞であるnatural killer T細胞や $\gamma\delta$ 型T細胞は白色脂肪の褐色化促進能を持つと報告されていた。今回の研究結果よりMAIT細胞は脂肪組織の褐色化に関与していないと考えられたことから、自然免疫型T細胞には脂肪組織の機能制御、特に褐色化に関連して役割分担があることが示唆された。

(5) MAITマウスの脂肪組織以外の組織の代謝の特徴についてさらに検討を進めた。その結果、高脂肪食飼育したMAITマウスの肝臓では、B6マウスと比べ脂肪蓄積が低下していることを見出

した。その機序として、肝の脂肪燃焼関連遺伝子の発現には差がないものの、脂肪合成関連遺伝子が低下していた。また、血清中性脂肪と遊離脂肪酸値が低下していた (Kishi H, Usui I, et al. *Int J Mol Sci*, 2022)。この結果は本研究計画の申請時には予想していなかったが、MAIT細胞の代謝制御における新たな機能である可能性がある。その機序等について、引き続き検討を進める予定である。

<引用文献>

Kishi H, Usui I, Jojima T, Fujisaka S, Wakamatsu S, Mizunuma-Inoue Y, Niitani T, Sakurai S, Iijima T, Tomaru T, Tobe K, Aso Y. Increased Number of Mucosal-Associated Invariant T Cells Is Associated with the Inhibition of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in High Fat Diet-Fed Mice. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(23): 15309. doi: 10.3390/ijms232315309.

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 Kishi Haruka, Usui Isao, Jojima Teruo, Fujisaka Shiho, Wakamatsu Sho, Mizunuma-Inoue Yuiko, Niitani Takafumi, Sakurai Shintaro, Iijima Toshie, Tomaru Takuya, Tobe Kazuyuki, Aso Yoshimasa	4. 巻 23
2. 論文標題 Increased Number of Mucosal-Associated Invariant T Cells Is Associated with the Inhibition of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in High Fat Diet?Fed Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 15309 ~ 15309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232315309	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岸 遼、薄井 勲、杉本 智恵、若松 翔、篠原 安武、飯嶋 寿江、登丸 琢也、城島 輝雄、若尾 宏、麻生 好正
2. 発表標題 MAIT細胞が脂肪組織リモデリングと糖代謝に与える影響
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岸 遼、薄井 勲、城島 輝雄、若松 翔、井上 有威子、二井谷 隆文、櫻井 慎太郎、飯嶋 寿江、登丸 琢也、麻生 好正
2. 発表標題 MAIT細胞数の増加は高脂肪食飼育マウスの肝脂肪蓄積を抑制する
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023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	若尾 宏 (Wakao Hiroshi) (10280950)	獨協医科大学・医学部・教授 (32203)	
研究分担者	藤坂 志帆 (Fujisaka Shiho) (30512082)	富山大学・学術研究部医学系・准教授 (13201)	

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