

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 7 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650442

研究課題名(和文) 免疫応答・慢性炎症におけるエピゲノム解析

研究課題名(英文) PPARbata/delta activation of CD300a controls intestinal immunity

研究代表者

酒井 寿郎 (Sakai, Juro)

東京大学・先端科学技術研究センター・教授

研究者番号：80323020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：核内受容体PPARデルタの標的遺伝子としてCD300aを同定した。PPARデルタの活性化に伴うCD300aの増加が腸炎さらにこれらを介したI型糖尿病発症に関与するかを解析した。

Non obese diabetes(NOD)マウスは腸炎とともにI型糖尿病発症を起こすことからPPARデルタのアゴニスト投与群との比較解析の結果NODマウスにPPARデルタ活性化剤を投与した群での糖尿病発症の頻度は顕著に低下しCD300aの発現は優位に増加し組織学解析からは腸炎が顕著に抑制されていることが見いだした。

よってPPARデルタの活性化はCD300を介し腸炎を抑制しI型糖尿病発症抑制に関与することを見いだした。

研究成果の概要(英文)：we show that PPARbeta/delta (peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta) directly regulates CD300a in macrophages that express the immunoreceptor tyrosine based-inhibitory motif (ITIM)-containing receptor. In mice lacking CD300a, high-fat diet (HFD) causes chronic intestinal inflammation with low numbers of intestinal lymph capillaries and dramatically expanded mesenteric lymph nodes.

As a result, these mice exhibit triglyceride malabsorption and reduced body weight gain on HFD. Peritoneal macrophages from Cd300a-/- mice on HFD are classically M1 activated. Activation of toll-like receptor 4 (TLR4)/MyD88 signaling by lipopolysaccharide (LPS) results in prolonged IL-6 secretion in Cd300a-/- macrophages. Bone marrow transplantation confirmed that the phenotype originates from CD300a deficiency in leucocytes. These results identify CD300a-mediated inhibitory signaling in macrophages as a critical regulator of intestinal immune homeostasis.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：応用健康科学

キーワード：生活習慣病 腸管免疫 核内受容体 TLR

### 1. 研究開始当初の背景

慢性炎症性腸疾患は、食生活の欧米化に伴い急増しており、発症のメカニズム解明とよりよい治療法は急務である。核内受容体 PPAR ファミリーは抗炎症に関与することがしめされてきており、特に PPAR デルタは免疫担当細胞であるマクロファージ系の細胞に発現している、抗炎症作用を示すことが報告されている。CD300a は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜貫通蛋白で、免疫抑制受容体 immune inhibitory receptor (IR) である。Immunoreceptor tyrosine based inhibitory motif (ITIM) モチーフを細胞質ドメインに有し、マクロファージ、NK 細胞、マスト細胞など免疫系細胞に発現し cytotoxicity, proinflammatory cytokine 分泌抑制、マスト細胞でのアレルギー反応・炎症作用などのこれらの細胞機能抑制に関与する。

### 2. 研究の目的

免疫担当細胞であるマクロファージ系の細胞 THP-1 において、核内受容体 PPAR $\delta$  アゴニスト刺激下で免疫抑制受容体 CD300a が誘導されることを見いだした。マクロファージは腸管に多数集積し、腸管免疫に重要である。本研究では、CD300a が腸管免疫で果たす役割を解明する。

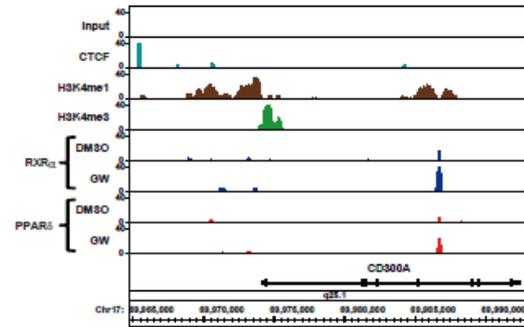
### 3. 研究の方法

- (1) PPAR デルタ抗体などで、マクロファージ細胞での ChIP Seq を行い直接の標的かを解析する。
- (2) CD300a 欠損(CD300a<sup>-/-</sup>)マウスを作製し、表現型を解析する。
- (3) CD300a<sup>-/-</sup>マウスの骨髄を野生型マウスに移植し、マウス表現型を解析する。
- (4) 逆に、CD300a<sup>-/-</sup>マウスに野生型のマクロファージの骨髄を移植することで表現型が回復可能か解析する。

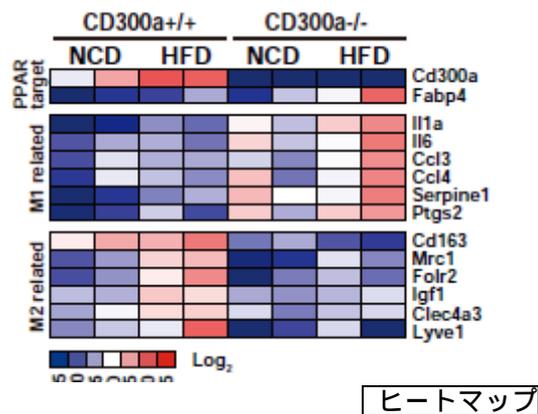
### 4. 研究成果

- (1) 免疫担当細胞である THP-1 マクロファージ系において、核内受容体 PPAR $\delta$  アゴニスト刺激下で CD300a が誘導された。また PPAR デルタの ChIP Seq では CD300a 遺伝子上の局在が認められた。

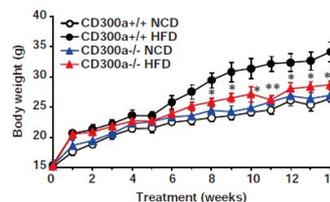
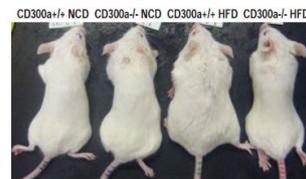
PPAR デルタの ChIP Seq, Cd300a 遺伝子上第 4 イントロン上に局在。エンハンサーマークの H3K4me1 のマークと共局在した。



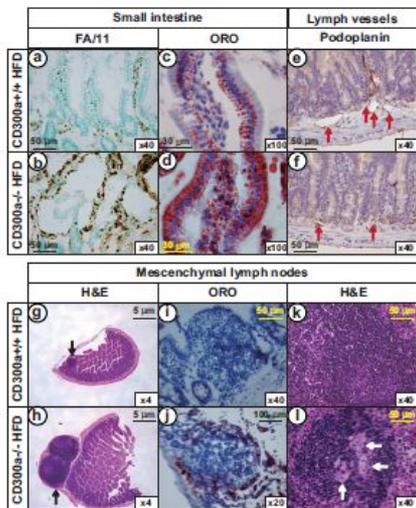
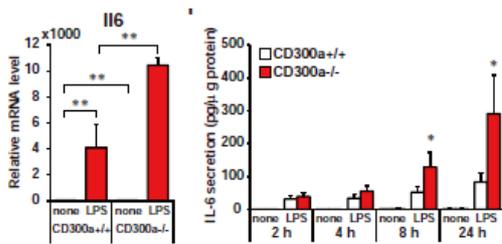
- (2) CD300a<sup>-/-</sup>マウスが、高脂肪食で慢性的の腸炎を呈した。
- (3) 高脂肪食下 CD300a<sup>-/-</sup> マウスのマクロファージは M1 分極、すなわち、炎症惹起しているのに対し、野生型のそれは M2 分極すなわち、炎症修復に機能していた。



- (4) この結果、Cd300a<sup>-/-</sup>マウスは脂質の吸収障害を呈し、高脂肪食でも体重増加が減少した(図)。

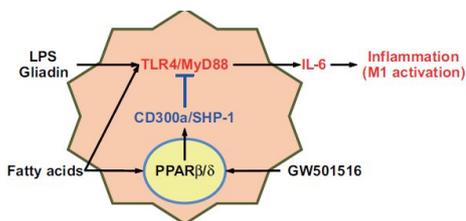


(5) 骨髄系における CD300a の欠損は Tol like receptor 4 (TLR4) を介した IL6 産生の増加を引き起こした (図)。このことは、PPAR デルタ活性化によって、免疫抑制受容体の発現を上昇させて、腸管での高脂肪食によって引き起こされる慢性炎症を抑制することを示す (図)。



CD300a<sup>-/-</sup>マウスは高脂肪食でリンパ管が狭くなり、脂肪吸収が悪くなった。M1 分極マクロファージが集積し、リンパ節が泡沫化していた。

以上、PPAR デルタ活性化によって、免疫抑制受容体の発現を上昇させて、腸管での高脂肪食によって引き起こされる慢性炎症を抑制する新規の機序を示した。



作業モデル

脂肪酸は PPAR デルタを活性化し、免疫抑制受容体 CD300a 発現を誘導する。この CD300a は TLR4/Myd88 経路を介した炎症惹起性サイトカインの分泌を抑制する。CD300a が欠損すると炎症性サイトカインを分泌し続ける M1 分極マクロファージとなり、慢性炎症を持続させる。

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 1 件)

1. Tanaka T, Tahara-Hanaoka S, Nabekura T, Ikeda K, Jiang S, Tsutsumi S, Inagaki T, Magoori K, Higurashi T, Takahashi H, Tachibana K, Tsurutani Y, Raza S, Anai M, Minami T, Wada Y, Yokote K, Doi T, Hamakubo T, Johan A, J. GF, Nakajima A, Aburatani H, Naito M, Shibuya A, Kodama T, Sakai J. PPAR beta/delta activation of CD300a controls intestinal immunity. *Scientific Reports*, in press 2014

[学会発表](計 0 件)

1. Juro Sakai: Epigenomic regulation of inflammation, energy metabolism, and adipogenesis, *The 2012 Deuel Conference on Lipids*, Palm Springs, California, March 8, 2012

2. Juro Sakai: The immuno-inhibitory receptor CD300A controls intestinal immunity and prevents onset of diabetes through a PPAR dependent pathway. 第 44 回日本動脈硬化学会, 福岡, 2012 年 7 月 19 日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

なし  
 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 件)

なし

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.mm.rcast.u-tokyo.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

酒井 寿郎 (Sakai, Juro)

東京大学、先端科学技術研究センター、  
教授

研究者番号: 80323020

### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

田中 十志也 (Tanaka, Toshiya)

東京大学、先端科学技術研究センター、  
特任准教授

研究者番号: 20396930