

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670235

研究課題名(和文) 脂肪組織慢性炎症におけるナチュラルヘルパー細胞の役割の解明

研究課題名(英文) Role of natural helper cells in adipose tissue inflammation

研究代表者

小安 重夫 (Koyasu, Shigeo)

独立行政法人理化学研究所・統合生命医科学研究センター・センター長

研究者番号：90153684

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：すべてのリンパ球を欠損する $c\text{-}/\text{-Rag2}\text{-}/\text{-}$ マウスは高脂肪食負荷条件下でも体重増加が抑制される。 $c\text{-}/\text{-Rag2}\text{-}/\text{-}$ マウスに腸間膜由来のナチュラルヘルパー(NH)細胞を移植しても体重増加はみられなかったが、腸管粘膜固有層から単離したNH細胞を移植によって体重増加が回復した。試験管内でNH細胞とマクロファージを共培養すると抗炎症性のM2マクロファージが増加するが、NH細胞を移植した $c\text{-}/\text{-Rag2}\text{-}/\text{-}$ マウスでは脂肪組織に炎症性のM1マクロファージが増加していた。これらの結果は腸管粘膜固有層のNH細胞が2型サイトカインとは別の経路で体重増加や脂肪組織炎症を誘導する可能性を示唆する。

研究成果の概要(英文)： $c\text{-}/\text{-Rag2}\text{-}/\text{-}$ mice deficient for all lymphocytes were resistant to high-fat diet (HFD)-induced obesity. Adoptive transfer of NH cells derived from small intestinal lamina propria (LP) but not those from mesentery restored weight gain of $c\text{-}/\text{-Rag2}\text{-}/\text{-}$ mice upon HFD. Co-cultivation of macrophage with NH cells in vitro increased anti-inflammatory M2 macrophages as expected. On the other hand, adoptive transfer of LP NH cells into $c\text{-}/\text{-Rag2}\text{-}/\text{-}$ mice resulted in the increase of pro-inflammatory M1 macrophages as well as eosinophils in adipose tissues in vivo. These results suggest that NH cells are involved in HFD-induced obesity and adipose tissue inflammation through mechanisms distinct from type 2 cytokine-mediated pathway.

研究分野：医歯薬学

キーワード：マクロファージ 腸管 粘膜固有層 自然リンパ球

1. 研究開始当初の背景

リンパ球でありながら抗原受容体を持たないリンパ球を自然リンパ球と総称する。古典的な自然リンパ球であるナチュラルキラー(NK)細胞、胎児期にリンパ組織を形成するために重要なリンパ組織誘導細胞(LTi細胞)に加え、近年の研究からTh1、Th2、Th17細胞に対応する自然リンパ球が同定された(引用文献1)。この中で、2型サイトカインを高発現するナチュラルヘルパー(NH)細胞(現在では類似の細胞を総称してILC2と呼ぶがここではNH細胞と呼ぶ)を発見したのは我々であり、我々はNH細胞を脂肪組織中から発見した(引用文献2)。腸間膜を始めとする脂肪組織には、皮膜を持たずに脂肪細胞と直接接するリンパ球集積が存在し、我々はこれをfat-associated lymphoid cluster (FALC)と名づけた(引用文献2)。免疫組織染色からNH細胞はFALC中のリンパ球の半分近くを占めることが知られる。その後、肺、肝臓、腸管粘膜固有層、皮膚などの様々な組織にもNH細胞が存在することが明らかになったが、NH細胞は脂肪組織に最も多く存在する。この事実は、NH細胞が脂肪組織において何らかの機能を持つことを伺わせた。特に2型サイトカインは抗炎症性のM2マクロファージを誘導することから、脂肪組織炎症におけるNH細胞の機能に注目した。

2. 研究の目的

NH細胞の分化がIL-7依存的事であることから、IL-7受容体のサブユニットでもある共通 γ 鎖(γ c)の欠損マウスにはNH細胞が存在しない。そこで、Rag2欠損マウス(T細胞とB細胞は欠損するが、自然リンパ球は存在する)と γ cとRag2の2重欠損マウス(自然リンパ球を含む全てのリンパ球を欠損する)に高脂肪食を付加したところ、Rag2欠損マウスは野生型マウスと同様に体重の増加が見られたが、 γ cとRag2の2重欠損マウスは優位に体重増加が抑制されていた。この知見をもとに、脂肪組織炎症における自然リンパ球、特にNH細胞の機能を明らかにすることを目的として、本研究を開始した。

3. 研究の方法

上記のマウスに加えて、様々な遺伝子改変マウスを用いて高脂肪食負荷条件下における体重増加や脂肪組織炎症を検討し、また単離した自然リンパ球を移植することで体重増加や脂肪組織炎症における自然リンパ球の機能を解析した。

4. 研究成果

T細胞とB細胞に加えてNK細胞を欠損するIL-15とRag2の2重欠損マウスでは高脂肪食負荷条件下における体重増加は野生型マウスやRag2欠損マウスと同様であり、NK細胞の関与は除外された。IL-17やIL-22を産生するLTiとILC3を欠損するROR γ t欠損マウス

は体重増加が野生型に比較してやや抑制されていたが、その程度は γ cとRag2の2重欠損マウスに比較して軽微であった。さらに自然リンパ球の関与を調べるためにIL-7とRag2の2重欠損マウスとIL-7受容体とRag2の2重欠損マウスを検討した。すると、IL-7受容体とRag2の2重欠損マウスでは γ cとRag2の2重欠損マウスと同様に体重増加の抑制がみられたがIL-7とRag2の2重欠損マウスでは抑制が見られなかった。そこで、それぞれのマウスの自然リンパ球を検討したところ、IL-7受容体とRag2の2重欠損マウスでは γ cとRag2の2重欠損マウスと同様に自然リンパ球が見られなかったが、IL-7とRag2の2重欠損マウスでは腸管粘膜固有層のNH細胞がほぼ正常に分化することが明らかになった。この理由は現在のところ明らかではないが、これらの結果は腸管粘膜固有層に存在するNH細胞が体重増加や脂肪組織炎症に関与する可能性を示唆した。

そこで、野生型マウスの腸間膜と腸管粘膜固有層からNH細胞を単離し、 γ cとRag2の2重欠損マウスに移植して高脂肪食不可を与えたところ、腸管粘膜固有層由来のNH細胞を移植した群のみ体重増加が回復した。この時に脂肪組織内には炎症性のM1マクロファージの数が増加していた。これらの事実は腸管粘膜固有層のNH細胞が体重増加や脂肪組織炎症に関与することを示唆する。試験管内でNH細胞とマクロファージを共培養すると抗炎症性のM2マクロファージが優位になる。これはNH細胞が2型のサイトカインを産生し、2型のサイトカイン特にIL-4やIL-13がM2マクロファージを誘導するというこれまでの報告と矛盾しない。その一方で、*in vivo*においては逆にM1マクロファージを増加させることは興味深い。

これらの結果はNH細胞、特に腸管粘膜固有層のNH細胞は*in vivo*では2型サイトカイン経路とは別の機構で脂肪組織炎症を誘導する可能性が考えられる。今後は腸間膜のNH細胞と腸管粘膜固有層のNH細胞の比較などからその分子機構を明らかにしていく予定である。

<引用文献>

1. Spits H, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, Koyasu S, Locksley RM, McKenzie AN, Mebius RE, Powrie F, Vivier E. Innate lymphoid cells--a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol.* 2013 Feb;13(2):145-9. doi: 10.1038/nri3365.
2. Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, Furusawa J, Ohtani M, Fujii H, Koyasu S. *Nature.* 2010 Jan 28;463(7280):540-4. doi: 10.1038/nature08636.

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. Moro K, Ealey KN, Kabata H, Koyasu S. Isolation and analysis of group 2 innate lymphoid cells in mice. *Nat Protoc*. 2015 May;10(5):792-806. doi: 10.1038/nprot.2015.047 (査読あり)
2. Vasanthakumar A, Moro K, Xin A, Liao Y, Gloury R, Kawamoto S, Fagarasan S, Mielke LA, Afshar-Sterle S, Masters SL, Nakae S, Saito H, Wentworth JM, Li P, Liao W, Leonard WJ, Smyth GK, Shi W, Nutt SL, Koyasu S, Kallies A. The transcriptional regulators IRF4, BATF and IL-33 orchestrate development and maintenance of adipose tissue-resident regulatory T cells. *Nat Immunol*. 2015 Mar;16(3):276-85. doi: 10.1038/ni.3085 (査読あり)
3. Yoshioka K, Ishii K, Kuramoto T, Nagai S, Funao H, Ishihama H, Shiono Y, Sasaki A, Aizawa M, Okada Y, Koyasu S, Toyama Y, Matsumoto M. A novel mouse model of soft-tissue infection using bioluminescence imaging allows noninvasive, real-time monitoring of bacterial growth. *PLoS One*. 2014 Sep 3;9(9):e106367. doi: 10.1371/journal.pone.0106367. (査読あり)
4. Motomura Y, Morita H, Moro K, Nakae S, Artis D, Endo TA, Kuroki Y, Ohara O, Koyasu S, Kubo M. Basophil-derived interleukin-4 controls the function of natural helper cells, a member of ILC2s, in lung inflammation. *Immunity*. 2014 May 15;40(5):758-71. doi: 10.1016/j.immuni.2014.04.013. (査読あり)
5. Yasui F, Kohara M, Kitabatake M, Nishiwaki T, Fujii H, Tateno C, Yoneda M, Morita K, Matsushima K, Koyasu S, Kai C. Phagocytic cells contribute to the antibody-mediated elimination of pulmonary-infected SARS coronavirus. *Virology*. 2014 Apr;454-455:157-68. doi: 10.1016/j.virol.2014.02.005. (査読あり)

総説等

1. Koyasu S. Inflammatory ILC2 cells: disguising themselves as progenitors? *Nat Immunol*. 2015 Feb;16(2):133-4. doi: 10.1038/ni.3080. (査読なし)
2. Moro K, Koyasu S. Innate lymphoid cells, possible interaction with microbiota. *Semin Immunopathol*. 2015 Jan;37(1):27-37.

doi: 10.1007/s00281-014-0470-4. (査読あり)

3. Diefenbach A, Colonna M, Koyasu S. Development, differentiation, and diversity of innate lymphoid cells. *Immunity*. 2014 Sep 18;41(3):354-65. doi: 10.1016/j.immuni.2014.09.005. (査読あり)

〔学会発表〕(計 33 件)

国外発表

1. Shigeo Koyasu. Group 2 innate lymphoid cells and Th2-type innate immunity. The 9th World Immune Regulation Meeting (March 18-21, 2015) (Davos, Switzerland) March 19, 2015 発表 (招待講演) Davos Congress Center
2. Shigeo Koyasu. Role of natural helper cells, a member of group 2 innate lymphoid cells (ILC2s), in allergic inflammation. 2014 NHRI/IBMS Joint International Conference on Inflammation & Disease (October 16-18, 2014) (Taipei, Taiwan) October 18, 2014 発表 (招待講演) Academia Sinica
3. Shigeo Koyasu, Yasutaka Motomura, Kazuyo Moro. The role of basophils in the activation of lung ILC2 in allergic inflammation in the lung. EMBO Conference on Innate Lymphoid Cells 2014 (September 29-October 1, 2014) (Paris, France) October 1, 2014 発表 (招待講演) Conference Centre of the Institut Pasteur, Paris
4. Koichiro Asano, Hiroki Kabata, Kazuyo Moro, Shigeo Koyasu. TSLP induces corticosteroid-resistance in the IL-33/natural helper cell pathway. 30th Symposium of the Collegium Internationale Allergologicum (September 13-18, 2014) (Petersberg, Germany) September 15, 2014 発表 Steigenberger Hotel
5. Shigeo Koyasu, Kazuyo Moro. Role of Natural Helper Cells, a member of group 2 innate lymphoid cells (ILC2s), in health and diseases. Cold Spring Harbor Asia Conferences "Frontiers of Immunology in Health and Diseases" (September 2-4, 2014) (Suzhou, China) September 2, 2014 発表 (招待講演) Dushu Lake Conference Center
6. Shigeo Koyasu. Allergic inflammation and natural helper

cells, a member of ILC2s.
Emory Vaccine Center & MMG Program
Joint Special Seminar (Atlanta, Georgia,
USA)
March 10, 2014 発表 (招待講演)
Whitehead Auditorium, The Emory
Vaccine Center

7. Shigeo Koyasu.

Thymic stromal lymphopoietin
induces corticosteroid resistance in
natural helper cells in the inflamed
airways.

Aegean Conference: 6th International
Conference on Autoimmunity:
Mechanism and Novel Treatments.
(October 2-7, 2013) (Corfu, Greece)
October 4, 2013 発表 (招待講演)
Grecotel Corfu Imperial Conference
Center

8. Shigeo Koyasu.

Natural helper cells and type-2 innate
immune responses.

5th Symposium & Master Classes on
Mucosal Immunology: "Cytokines and
border patrol" (May 13-14, 2013)
(Rotterdam, Kingdom of the Netherlands)
May 13, 2013 発表 (招待講演)
Congress Centre Engels

9. Shigeo Koyasu.

Role of natural helper cell, a member for
the ILC (ILC2) in steroid resistance of
allergic inflammation.

Keystone Symposia "Advances in the
Knowledge and Treatment of
Autoimmunity" (April 4-9, 2013) (British
Columbia, Canada)
April 8, 2013 発表 (招待講演)
Fairmont Chateau Whistler

国内発表 (抜粋)

1. 小安重夫, 茂呂和世.
寄生虫感染における 2 型自然リンパ
球「ナチュラルヘルパー細胞」の役
割.
第 84 回日本寄生虫学会大会 (2015
年 3 月 21-22 日)
2015 年 3 月 22 日発表 (招待講演)
三鷹、杏林大学三鷹キャンパス
2. Takaharu Sasaki, Kazuyo Moro, Shigeo
Koyasu.
Role of Natural Helper cells, a member
of group 2 ILCs, in obesity.
The 43rd Annual Meeting of The
Japanese Society for Immunology
(December 10-12, 2014)
2014 年 12 月 12 日発表 (口頭 / ポス
ター)
京都、国立京都国際会館
3. Kazuyo Moro, Shigeo Koyasu.
Innate lymphoid cells and inflammation.

The 43rd Annual Meeting of The
Japanese Society for Immunology
(December 10-12, 2014)

2014 年 12 月 11 日発表 (招待講演)
京都、国立京都国際会館

4. Satoshi Koga, Kazuyo Moro, Shigeo
Koyasu.

Critical role of IL-7 and Notch signaling
in natural helper cell development.

The 43rd Annual Meeting of The
Japanese Society for Immunology
(December 10-12, 2014)

2014 年 12 月 10 日発表 (口頭 / ポス
ター)

京都、国立京都国際会館

5. 小安重夫, 田邊将信, 茂呂和世

寄生虫感染防御に対する自然免疫反応
とナチュラルヘルパー細胞.

第 87 回日本生化学会大会 (2014 年 10
月 15-18 日)

2014 年 10 月 16 日発表 (招待講演)

京都、国立京都国際会館

6. Takaharu Sasaki, Kazuyo Moro, Tetsuya
Kubota, Naoto Kubota, Takashi Kadowaki,
Shigeo Koyasu.

Involvement of natural helper cells in the
onset of diet-induced obesity.

The 22nd International Symposium on
Molecular Cell Biology of Macrophages
"Macrophage in Maintenance of Tissue
Homeostasis and Diseases" (2014 年 6 月
2-3 日)

2014 年 6 月 2 日発表 (ポスター)

神戸、神戸商工会議所

7. 古賀諭, 茂呂和世, 小安重夫.

ナチュラルヘルパー細胞の分化機構解
明.

Kyoto T Cell Conference 第 24 回学術集
会 (2014 年 5 月 16-17 日)

2014 年 5 月 17 日発表 (口頭 / ポスター)

京都、京都平安ホテル

8. 本村泰隆, 森田英明, 茂呂和世, 中江進,
遠藤高帆, 黒木陽子, 小原収, 小安重
夫, 久保允人.

システインプロエアーゼによって誘導
される肺のアレルギー炎症における好
塩基球由来の IL-4 の役割.

Kyoto T Cell Conference 第 24 回学術集
会 (2014 年 5 月 16-17 日)

2014 年 5 月 17 日発表 (口頭 / ポスター)

京都、京都平安ホテル

9. 加畑宏樹, 茂呂和世, 小安重夫, 浅野浩一
郎.

重症喘息におけるナチュラルヘルパー
細胞の関与と治療法の探索.

第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大
会 (2014 年 5 月 9-11 日)

2014 年 5 月 9 日発表 (口頭発表)

京都、国立京都国際会館

10. 小安重夫.

アレルギー性炎症と自然リンパ球 .
第26回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2014年5月9-11日)
2014年5月11日発表 (招待講演)
京都、国立京都国際会館

11. Yasutaka Motomura, Kazuyo Moro, Hideaki Morita, Susumu Nakae, Shigeo Koyasu, Masato Kubo.

Critical role of basophil derived IL-4 in natural helper cell-mediated lung inflammation.

Annular Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2013 (December 11-13, 2013)

2013年11月12日発表 (Oral/poster)
千葉、幕張メッセ

12. Takaharu Sasaki, Kazuyo Moro, Shigeo Koyasu.

Role of natural helper cells in obesity.

Annular Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2013 (December 11-13, 2013)

2013年11月11日発表 (Oral/poster)
千葉、幕張メッセ

13. Shigeo Koyasu.

Innate lymphoid cells.

Annular Meeting of the Japanese Society for Immunology, 2013 (December 11-13, 2013)

2013年11月12日発表 (Overview Talk)
千葉、幕張メッセ

14. 小安重夫 .

自然リンパ球 .

第41回日本臨床免疫学会総会 (2013年11月27-29日)

2013年11月28日発表 (招待講演)
下関、海峡メッセ下関

15. 小安重夫 .

アレルギー性炎症とナチュラルヘルパー細胞 .

第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2013年7月18-19日)

2013年7月19日発表 (招待講演)
東京、京王プラザホテル

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

アウトリーチ活動：免疫ふしぎ未来、理化学研究所横浜キャンパス一般公開などでの講演および出展。

ホームページ等

<http://www.ims.riken.jp/labo/43/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小安 重夫 (Koyasu Shigeo)

独立行政法人理化学研究所・統合生命医科学研究センター

センター長

研究者番号：90153684

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし