

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870708

研究課題名(和文) 脂肪細胞とNKT細胞の相互作用の解明とメタボリック症候群への応用

研究課題名(英文) Clarification of the interaction between adipocyte and NKT cell and its application to metabolic syndrome

研究代表者

佐藤 雅 (Sato, Masashi)

北里大学・医学部・助教

研究者番号：40611843

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)：脂肪細胞とNKT細胞の相互作用について調べるために、脂肪細胞に分化させた3T3-L1細胞とNKT細胞を共培養したところ、脂肪細胞はCD1dを介してNKT細胞に抗原提示し、NKT細胞を活性化させることが明らかとなった。さらに、活性化したNKT細胞から産生されるIFN-gが脂肪細胞に作用し、Cd1d1の発現上昇や抗炎症機能をもつAdipoqの発現低下を誘導した。本研究は、脂肪組織炎症・インスリン抵抗性が誘導されるメカニズムの解明に貢献できると考えている。

研究成果の概要(英文)：To examine the interaction between adipocyte and NKT cell, NKT cells were cultured with differentiated 3T3-L1 adipocytes. We found that 3T3-L1 adipocytes expressed CD1d and presented the endogenous ligand to NKT cells. Activated NKT cells produced cytokines including IFN-g. Furthermore, IFN-g acted on adipocytes to induce more the expression of Cd1d1 and downregulated the expression of Adipoq. It was suggested that NKT cells have a pathogenic role to induce adipose tissue inflammation and insulin resistance by interacting with adipocytes.

研究分野：免疫学

キーワード：NKT細胞 脂肪細胞 脂肪組織炎症 メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

近年、食生活の変化に伴い生活習慣病患者の増加が懸念され、中でもメタボリック症候群が注目されている。過剰なエネルギー摂取により脂肪が蓄積し、高血糖・高脂血症となり、心臓・血管系の病気を引き起こす原因となりうる。メタボリック症候群を克服することで、その後派生してくる糖尿病や動脈硬化症を防ぐことにつながり、医療費を大幅に減らすことができる。しかしながら、現在行われている食事療法という患者の自助努力に訴える方法だけでは、欧米型の食生活の定着した昨今、患者数の減少は見込めない。したがって、メタボリック症候群の新たなリスクファクター(NKT細胞)を発見することは、新規治療の介入点を提示することに繋がる。

NKT(ナチュラルキラー-T)細胞は、MHCクラスI分子様の多様性を欠くCD1d分子によって提示される糖脂質・リン脂質等の脂質抗原を認識し、Th1/Th2両方のサイトカインを産生するユニークなT細胞亜群である。NKT細胞の最大の特徴は、脂質抗原を認識して様々なサイトカインを産生し、免疫システムを調節することである。この特徴に着目し、我々の研究グループはこれまでに、NKT細胞が動脈硬化症を促進するという成果(Nakai Y, et al. *Blood*, 2004. Andoh Y, et al. *Immunobiol.*, 2012)、またマウスモデルにおいてCD1d拘束性NKT細胞が欠損(CD1d<sup>-/-</sup>マウス)すると高脂肪食給餌による体重増加が抑制され、インスリン感受性が維持されることを見出した(Satoh M, et al. *PLoS One*, 2012)。これらの成果から、NKT細胞は脂質代謝異常の疾患に関連が深く、NKT細胞の制御によりメタボリック症候群をはじめとする生活習慣病を抑制できると考えている。

2. 研究の目的

NKT細胞欠損マウスでは高脂肪食(HFD)給餌において体重増加が少ないことを見出したが、その詳細なメカニズムはわかっていない。申請者は、HFD給餌ではNKT細胞が外来性または内因性の抗原を認識して活性化し、産生されるサイトカインによって組織炎症が増大し、脂肪の蓄積およびインスリン抵抗性が引き起こされると考えている。本研究では、HFD給餌マウスの内臓脂肪組織または肝臓においてNKT細胞が抗原提示を受けて活性化していること、さらにそのNKT細胞の活性化が脂肪細胞にどのように作用するのかを遺伝子レベルで明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1)脂肪組織中NKT細胞の表面抗原、PMA+ionomycinやCD3/CD28刺激によるサイトカイン産生能を明らかにする。FACS, ELISAにて解析する。

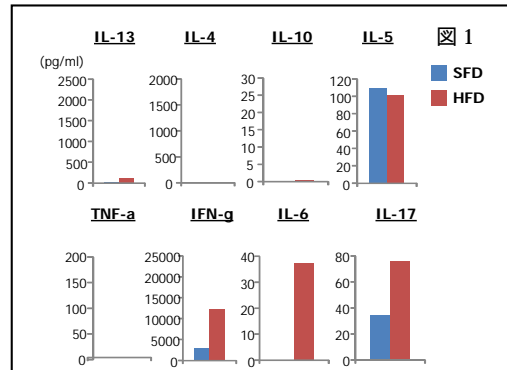
(2)HFD給餌早期のNKT細胞の反応を明らか

にするため、細胞動態(活性化マーカーの発現)をFACSにて解析する。

(3)WTマウスおよびCD1d<sup>-/-</sup>マウスから採取した脂肪組織由来SVF(stromal vascular fraction)のadipogenesisを比較する。さらに、3T3-L1細胞とsortingしたNKT細胞を共培養した系を確立しadipogenesisにおけるNKT細胞の役割を検討する。脂肪蓄積はoil-red-O染色にて評価し、adipogenesis関連遺伝子の発現をRT-PCRにて解析する。

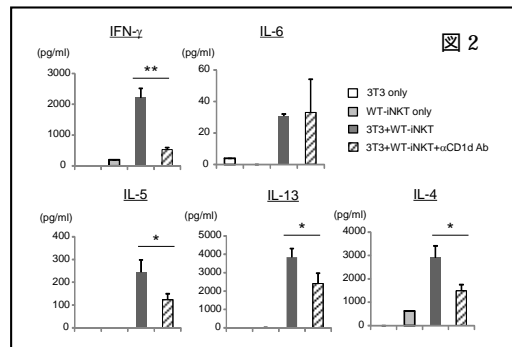
4. 研究成果

(1)HFDおよび普通餌(SFD)給餌マウスにおける脂肪組織中type II NKT細胞(Jα18<sup>-/-</sup>マウス由来)のサイトカイン産生は、IFN-γやIL-6、IL-17などの炎症性サイトカインが主であり、Th2サイトカイン(IL-4, IL-13, IL-10)の産生は認められなかった(図1)。

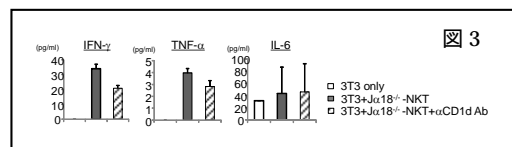


(2)HFD給餌(3日)により、脂肪組織中NKT細胞における活性化マーカー(CD69)の発現上昇が確認され、NKT細胞の活性化が認められた。

(3)脂肪細胞に分化させた3T3-L1細胞とソーティングにより回収したiNKT細胞を共培養すると、Th1/Th2サイトカイン産生が認められ、それは抗CD1d抗体で阻害された(図2)。

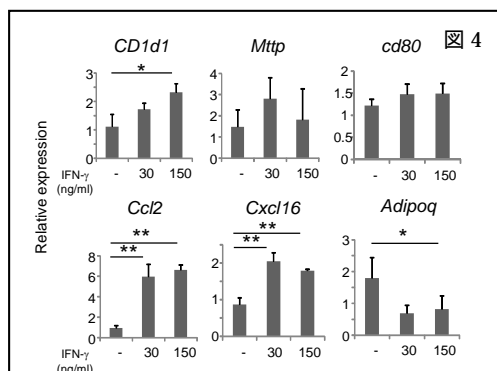


さらに、type II NKT細胞(Jα18<sup>-/-</sup>マウス由来NKT細胞)との共培養においても、IFN-γやTNF-α、IL-6の産生が認められた(図3)。

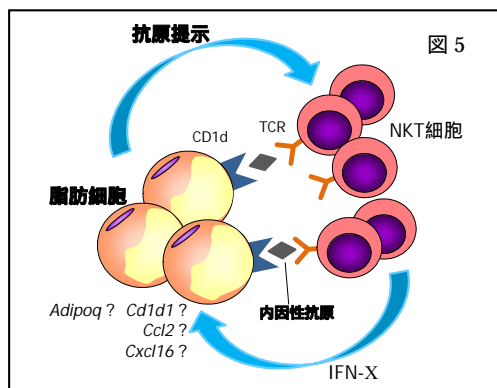


このことから、3T3-L1 細胞は iNKT 細胞と type II NKT 細胞両方に内因性リガンドを提示し、活性化させることができると考えられる。

(4)3T3-L1 細胞に IFN- $\gamma$  を作用させると、*Cd1d1* や *Ccl2*, *Cxcl16* といったケモカインの発現が上昇し、一方で抗炎症機能をもつ *Adipoq* の発現は低下した(図 4)。



本研究の結果から、脂肪細胞は CD1d を介して内因性抗原を NKT 細胞に提示し、活性化させる。産生された IFN- $\gamma$  は脂肪細胞に作用し、抗原提示能を活性化させるとともに、炎症を増幅させると考えられた(図 5)。したがって、NKT 細胞と脂肪細胞の相互作用によって、脂肪組織炎症やインスリン抵抗性が誘導されることが示唆された。



## 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 9 件)

佐藤 雅, 岩淵 和也, NKT 細胞・NK 細胞の脂肪組織での役割、*医学のあゆみ*, vol257, No.6, 2016, pp.681-685 (査読無)

[URL:https://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=925706&AC=16229](https://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=925706&AC=16229)

Takano S, Uchida K, Miyagi M, Inoue G, Aikawa J, Fujimaki H, Minatani A, Sato M, Iwabuchi K, Takaso M. Synovial macrophage-derived IL1B regulates the

calcitonin receptor in osteoarthritic mice. *Clin Exp Immunol.* 183(1):143-9, 2015 (査読有)  
doi: 10.1111/cei.12712.

佐藤 雅, 岩淵 和也, 代謝性疾患と NKT 細胞、*医学のあゆみ*, vol254, No.13, 2015, pp.1169-1174 (査読無)

[URL:https://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=925413&AC=15531](https://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=925413&AC=15531)

Noma H, Eshima K, Satoh M, Iwabuchi K. Differential dependence on nuclear factor- $\kappa$ B-inducing kinase among natural killer T-cell subsets in their development. *Immunology.* 146(1):89-99, 2015 (査読有)  
doi: 10.1111/imm.12484.

Uchida K, Satoh M, Inoue G, Onuma K, Miyagi M, Iwabuchi K, Takaso M. CD11c+ macrophages and levels of TNF- $\alpha$  and MMP-3 are increased in synovial and adipose tissues of osteoarthritic mice with hyperlipidaemia. *Clin Exp Immunol.* 180(3):551-9, 2015 (査読有)  
doi: 10.1111/cei.12607.

Dong Z, Iwata D, Kitaichi N, Takeuchi M, Sato M, Endo N, Iwabuchi K, Ando R, Fukuhara J, Kinoshita S, Lennikov A, Kitamura M, Mizuuchi K, Kanda A, Noda K, Namba K, Yamagishi S, Ohno S, Ishida S. Amelioration of experimental autoimmune uveoretinitis by inhibition of glyceraldehyde-derived advanced glycation end-product formation. *J Leukoc Biol.* 96(6):1077-85, 2014 (査読有)  
doi: 10.1189/jlb.3A0513-288RRR.

Ito S, Iwaki S, Kondo R, Satoh M, Iwabuchi K, Ohkawa R, Mishima Y, Yatomi Y, Furumoto T, Tsutsui H, Fujii S. TNF- $\alpha$  production in NKT cell hybridoma is regulated by sphingosine-1-phosphate: implications for inflammation in atherosclerosis. *Coron Artery Dis.* 25(4):311-20, 2014 (査読有)  
doi: 10.1097/MCA.000000000000082.

Uchida K, Naruse K, Satoh M, Onuma K, Ueno M, Takano S, Urabe K, Takaso M. Increase of circulating CD11b+ Gr1+ cells and recruitment into synovium in osteoarthritis mice with hyperlipidemia. *Exp Anim.* 62(3): 255-65, 2013 (査読有)  
doi: http://doi.org/10.1538/expanim.62.255

Iwabuchi K, Satoh M. Invariant NKT cell serves as a novel therapeutic target for control of obesity. *Clin Lipidol* 8(1): 51-4, 2013 (査読有)  
doi: 10.2217/clp.12.83.

[学会発表](計 6 件)

Masashi Satoh and Kazuya Iwabuchi, NKT cell - adipocyte interaction modulate adipose

tissue function, CD1/MR1 2015, 15<sup>th</sup>-19<sup>th</sup> Nov 2015, Lorne (Australia)

佐藤 雅、江島 耕二、竹内 恵美子、岩 淵 和也、Adipocytes activate NKT cells via CD1d、第 43 回 日本免疫学会、2014 年 12 月 10-12 日、京都国際会議場(京都府京都市)

佐藤 雅、江島 耕二、竹内 恵美子、岩 淵 和也、Characterization of non-invariant NKT cells in visceral adipose tissue、第 42 回 日本免疫学会、2013 年 12 月 11-13 日、幕張メッセ(千葉県千葉市)

Masashi Satoh, Koji Eshima, Emiko Takeuchi, Kazuya Iwabuchi, Characterization of non-invariant NKT cells in visceral adipose tissue, 7th International Symposium on CD1 and NKT cells, 13<sup>th</sup>-17<sup>th</sup> Sep 2013, Tours (France)

Masashi Satoh, Ken-ichi Namba, Nobuyoshi Kitaichi, Masaru Taniguchi, Luc Van Kaer, Koh-Hei Sonoda, Kazuya Iwabuchi, The preventive effect of a novel ligand for natural killer T cells in the development of experimental autoimmune uveoretinitis in mice, The 6th International Workshop of Kyoto T cell Conference, 3<sup>rd</sup>-7<sup>th</sup> Jun 2013, 京都芝蘭会館(京都府京都市)

Masashi Satoh, Koji Eshima, Hidekazu Tamauchi, Emiko Takeuchi, Kazuya Iwabuchi, Non-invariant NKT cells cause diet-induced obesity by tissue inflammation, AAI Annual Meeting, 3<sup>rd</sup>-7<sup>th</sup> May 2013, Hawaii (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  
北里大学医学部免疫学  
<http://www.med.kitasato-u.ac.jp/immunology/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 雅 (Satoh, Masashi)  
北里大学・医学部・助教  
研究者番号：40611843

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：