

皮膚血管周囲脂肪組織の皮膚免疫制御機構の解明

The role of perivascular adipose tissue in the regulation of cutaneous immunity

京都大学	中溝 聡
派遣期間	2016年4月1日～2017年3月31日
研究機関	Institute of Medical Biology, 8A Biomedical Grove, #06-06 Immunos, Singapore 138648
研究指導者	Prof. Kenji Kabashima

Perivascular adipose tissue (PAT) is a specialized adipose tissue that exists around the blood vessels. PAT has been shown to produce a variety of inflammatory cytokines, and suggested to be a major exacerbating factor of cardiovascular disorders in metabolic syndrome. We have recently revealed the existence of PAT in the skin (right figure). However the detail function of PAT in the skin remains unknown. The objective of this study is to investigate the molecular mechanisms by which PAT affects the regulation of cutaneous immunity. First, we succeeded in separating adipocytes by flow cytometry by studying the method of regulating fat. Next, we collected visceral fat, subcutaneous fat, PAT from each tissue and then separated only adipocytes by a cell separator using flow cytometry. The gene expression of each adipocyte was compared by extracting RNA from the separated adipocytes and then sequencing them. As a result, adipocytes around the blood vessels took gene expressions completely different from those of other fats. Based on this fact, we found that the perivascular fat of the skin does not store excessive nutrition, but it performs skin specific functions such as wound healing and fibrosis.

研究目的

血管周囲脂肪組織 (perivascular adipose tissue (PAT)) は血管周囲に限局して存在する特殊な脂肪組織である。PAT は肥満に伴い様々な炎症性サイトカインを産生することで、メタボリックシンドロームにおける心血管障害の主要因子とも報告されている。

我々は近年、多光子励起顕微鏡を用いた解析により、皮膚での PAT の同定に成功した (図 1)。しかし、その機能については不明なままである。

本研究では、皮膚 PAT の機能について、皮膚免疫制御という観点から解析を行い、皮膚 PAT の生理的意義の解明を目的とする。

研究経過

脂肪細胞は水に浮くため、フローサイトメトリーや等の解析が今まで困難であった。そのため、私は一般的な解析を行うために脂肪細胞を液体に沈むようにする方法を検討した。アセトンやメタノールな

どの有機溶媒は脂質を除去することが広く知られているが、蛍光物質に影響を及ぼすだけでなく細胞がプラスチックに接着するようになるため違う方法を検討した。その結果、細胞をパラホルムアルデヒドで固定したのちに細胞膜に穴をあけることにより脂肪細胞より脂質を除き脂肪細胞をペレットにすることに成功した。この技術を用いて脂肪組織より調節した細胞を脂肪特異的な抗体で標識する事によりフローサイトメトリーを用いて脂肪細胞を検出することに成功した。次に、各組織から内臓脂肪、皮下脂肪、血管周囲脂肪を集め、フローサイトメトリーを用いて純度の高い脂肪細胞を分離した。その後、分離した脂肪細胞から RNA を抽出し、次いでそれを配列決定することによって比較した。その結果、血管周囲の脂肪細胞は他の脂肪とは全く異なる遺伝子発現を示した。この事実に基づき、皮膚の血管周囲脂肪は過度の栄養を蓄積するのではなく、創傷治癒および線維症のような皮膚特異的機能を果たすこと

を見出した。

また、肥満における PAT の機能解析も行った。マウスに高脂肪食を負荷し、肥満マウスを作製した。肥満マウスでは、他の脂肪で報告されているように PAT の数、大きさともに増大した。また、PAT 周囲には IL-17 産生 T 細胞が浸潤していること、PAT から免疫細胞を引き寄せるケモカインが産生されていることを確認した。次に我々は、IL-17 産生 T 細胞が皮膚疾患に関係しているかを調べるために尋常性乾癬モデルを行った。慢性炎症皮膚炎の代表である尋常性乾癬は肥満により悪化することが知られている。その結果、肥満マウスでは通常マウスと比べて皮膚炎が悪化し、表皮の肥厚、皮膚への細胞浸潤ともに増加した。皮膚で増加している細胞は好中球とインターロイキン 17 (IL-17) 産生 T 細胞であった。乾癬では IL-17 が病態の中心的役割を果たしていることが知られているため、通常マウスと肥満マウスで皮膚の IL-17 遺伝子発現を調べたところ、肥満マウスで IL-17 発現が亢進していた。遺伝子改変マウスを用いて肥満マウスの IL-17 産生を阻害すると肥満マウスでの乾癬様皮膚炎悪化は改善された。

考察

我々は PAT が定常状態では他の脂肪細胞とは異なる遺伝子を発現していること、肥満状態では他の脂肪で報告されているように炎症を引き起こすことを見出した。このことは、皮膚疾患の治療において、PAT が新たな創薬ターゲットになりえることを示している。

PAT は他の脂肪とは異なり、線維化にかかわる遺伝子を多く発現していた。脂肪組織でも肥満による炎症が起こると脂肪前駆細胞が線維化に関わっていることが報告されている¹。このことから脂肪は余剰栄養を蓄えるだけでなく組織の線維化にもかかわっていることがわかる。皮膚は脂肪組織と違い多くのコラーゲン線維があるため、より線維化にかかわる遺伝子を発現していると思われる。

一方、肥満における PAT の変化は他の脂肪組織に類似している^{2,3}。肥満によりケモカインを産生し炎症細胞を誘導することにより、肥満関連の炎症性疾患を誘導する。肥満により多くの炎症性皮膚疾患が増加することが報告されている^{4,5}ため、PAT をターゲットした新たな治療が望まれる。

参考文献

- 1 Marcelin, G. et al. A PDGFRalpha-Mediated Switch toward CD9(high) Adipocyte Progenitors Controls Obesity-Induced Adipose Tissue Fibrosis. *Cell Metab* 25, 673-685, doi:10.1016/j.cmet.2017.01.010 (2017).
- 2 Xu, H. et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 112, 1821-1830, doi:10.1172/JCI19451 (2003).
- 3 Weisberg, S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112, 1796-1808, doi:10.1172/JCI19246 (2003).
- 4 Soltani-Arabshahi, R. et al. Obesity in early adulthood as a risk factor for psoriatic arthritis. *Arch. Dermatol.* 146, 721-726, doi:10.1001/archdermatol.2010.141 (2010).
- 5 Zhang, A. & Silverberg, J. I. Association of atopic dermatitis with being overweight and obese: a systematic review and metaanalysis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 72, 606-616 e604, doi:10.1016/j.jaad.2014.12.013 (2015).

図表

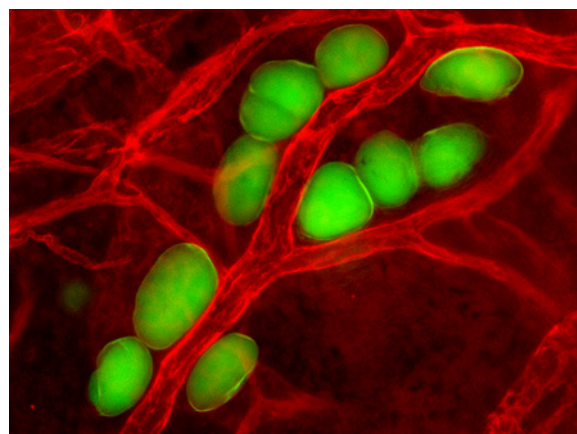


Fig 1. Mouse cutaneous PAT

Red: Blood vessels (CD31), Green: Adipocytes (Bodipy)

研究の発表

口頭発表

1. Nakamizo S, Honda T and Kabashima K. High fat diet exacerbates murine psoriatic dermatitis by facilitating IL-17-producing gamma delta T cells accumulation via endothelial cell activation. Obesity and Adipose Tissue Biology (Keystone symposia), Keystone, USA. January 2017.

誌上発表

1. Nakamizo S, Honda T, Adachi A, Nagatake T, Kunisawa J, Kitoh A, Otsuka A, Dainichi T, Nomura T, Ginhoux F, Ikuta K, Egawa G, Kabashima K. High fat diet exacerbates murine psoriatic dermatitis by increasing the number of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells. Sci Rep. 2017 Oct 26;7(1)