

NKT細胞と疾患

岩渕 和也

ナチュラルキラー T (natural killer T : NKT) 細胞は、分化抗原群 (cluster of differentiation : CD) 1 ファミリー分子の CD1d に提示される脂質抗原分子をその抗原受容体で認識する希少 T 細胞亜群で、NK 細胞マーカーも同時に発現していることから NKT 細胞と呼ばれる。その迅速で旺盛なサイトカイン産生や細胞傷害活性などから免疫・炎症性疾患にとどまらず、さまざまなマウス疾患モデルの進展に影響を与える。本稿では実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎での NKT 細胞の活性化のタイミングと軽症化について、また食餌誘導性肥満やインスリン抵抗性の進展については、脂肪組織炎症における脂肪組織内 CD1d 発現細胞と NKT 細胞との相互作用を中心に、それぞれの疾患モデルでの NKT 細胞の役割について解説する。

1. はじめに

細胞性免疫の主翼を担うメインストリーム T 細胞は、胸腺でのランダムな T 細胞抗原受容体遺伝子 (T_{cell} antigen receptor : TCR) の遺伝子組換え後に胸腺上皮細胞上の多型性のある主要組織適合抗原複合体 (major histocompatibility antigen complex : MHC) クラス I (特にこちらをクラス Ia と呼ぶ) 抗原/ペプチド抗原あるいは II 抗原/ペプチド抗原による正・負の選択過程により生成する¹⁾。その他に、遺伝子組換えの結果作られた TCR の特異性に導かれて、主に胸腺細胞に発現する MHC クラス I 分子に形状は酷似するが多型性を欠く MHC クラス I 様分子 (クラス Ib 分子と呼ぶ) と非ペプチド性小分子により選択される T 細胞も存在する。後者は反応様式が自然免疫系エフェクター細胞のように迅速であるため自然 T 細胞と呼ばれる²⁾。生成した自然 T 細胞はセミンバリエント (α 鎖が不変——インバリエント——で、 β 鎖がある程度固定だが多様性がある組み合わせ) な TCR で MHC クラス Ib/抗原を認識する。MHC クラス Ib 分子は多型性がない (同種ではほぼ均一、異種間であっても相同性は高い) ため、研究の結果得

られた知見やリガンドによる活性化などの免疫操作法は万人に適応可能となる。自然 T 細胞で $\alpha\beta$ TCR タイプのものの一つに NKT 細胞²⁾ (図 1) があり、クラス Ib の CD1d を抗原提示分子としている。本稿では NKT 細胞の機能と疾患との関連について、マウスを用いた実験結果をもとに解説したい。

2. ナチュラルキラー T (NKT) 細胞

NKT 細胞は、CD1d (後述) を抗原提示分子として主に脂質抗原 (糖脂質、リン脂質) を認識する T 細胞抗原受容体を発現する自然 T 細胞の一亜群である²⁾。T 細胞としてのマーカーの他にナチュラルキラー細胞のマーカーも同時に発現するところから、NKT という名称がついている³⁾。先に述べたように、NKT 細胞は自身と出自を同じくする $CD4^+8^+$ (double positive : DP) 胸腺細胞 (骨髄由来細胞である) 上の CD1d (+自己脂質抗原 X) により選択され、CD1d 分子に提示される脂質抗原を認識する T 細胞となる⁴⁾ (図 1a)。したがって、胸腺細胞上の CD1d を欠損 (ノックアウト ; KO) すると NKT 細胞は生じない。通常の NKT 細胞の TCR はメインストリームの T 細胞と同様に α 鎖と β 鎖のヘテロ二量体である (γ 鎖と δ 鎖を有するタイプで NK マーカー陽性の $\gamma\delta$ NKT 細胞もあるが、さらに希少なのでここでは述べない) が、このうちインバリエント α 鎖を用いる NKT 細胞は invariant NKT (iNKT) 細胞あるいは type I NKT 細胞と呼ばれ、NKT 細胞の約 6 割を占める。NKT 細胞の TCR の生成には、胸腺細胞におけるランダムな二度の遺伝子再構成が必要である。一度目の $V\beta$ 鎖の再構成で、 $V\beta 8, 7, 2$ (マウス ; ヒトでは $V\beta 11$ など) を発現した pre T 細胞が、次に $V\alpha$ 鎖をたまたまインバ

北里大学医学部免疫学 (〒252-0374 相模原市南区北里 1-15-1)
Roles of NKT cells in the development of several disease models in mice

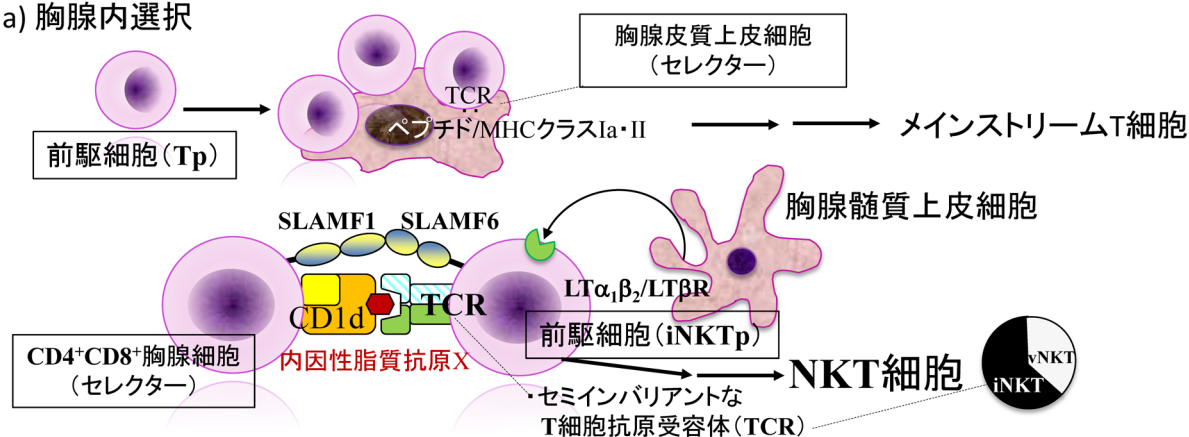
Kazuya Iwabuchi (Department of Immunology, Kitasato University School of Medicine, Kitasato 1-15-1, Minami, Sagami-hara 252-0374, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940663

© 2022 公益社団法人日本生化学会

a) 胸腺内選択



b) 成熟NKT細胞の活性化と機能発現(末梢)

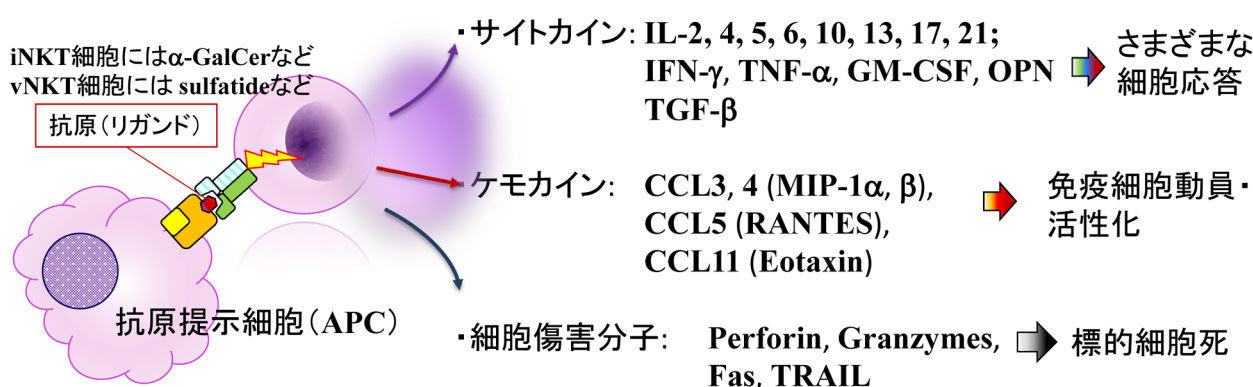


図1 NKT細胞の胸腺内選択・生成と末梢での機能発現

(a) メインストリームT細胞の胸腺内選択(上). メインストリームT細胞の正の選択はセクターとして皮質上皮細胞の発現する多型性のある主要組織適合抗原複合体クラスI抗原・II抗原(+ペプチド)をそれぞれのT細胞抗原受容体(TCR)で「適度に結合する」ことで行われる. セクターがNKT細胞と大きく違うところである. その後の過程(負の選択や移出)は略してある. NKT細胞の胸腺内選択(下). $V\beta 8, 7, 2$ を発現する胸腺細胞に $V\alpha 14J\alpha 18$ がペアとなったTCRを有するインバリエントNKT(iNKT)細胞はセクター $CD4^+8^+$ 胸腺細胞上のCD1d+内因性脂質抗原Xから第1シグナルを, SLAMF1/6相互作用の第2シグナル, さらに髄質胸腺上皮細胞からの第3シグナルを受け, 選択・分化成熟する. この過程を通して独特の機能発現様式を呈する. 個体間で多型性のないCD1dという抗原提示分子で正の選択を受け, 低分子量・化学的に安定な糖脂質抗原をCD1d拘束性に認識するT細胞になるため免疫操作は容易である. (b) 成熟したiNKT細胞は α -galactosylceramide (α -GalCer), vNKT細胞は sulfatideなどで刺激(CD1dで抗原提示されそれぞれの抗原受容体で認識)することで, 表記の各種サイトカイン産生によりさまざまな細胞応答を, ケモカイン産生により免疫細胞動員・活性化を, 細胞傷害装置の発現により標的細胞死などを引き起こす.

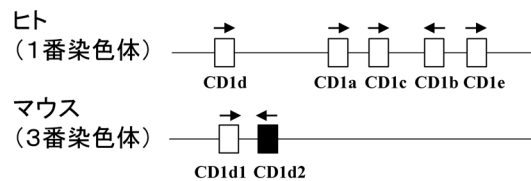
リアントな $V\alpha 14J\alpha 18$ (マウス; ヒトでは $V\alpha 24J\alpha 18$) として生産的に組み換えたものがiNKT細胞として約1000個/日で生じると試算されている⁵⁾. $J\alpha 18$ はiNKT細胞の生成に必須のJ鎖の主たるものであるため, $J\alpha 18$ KOマウスはiNKT細胞を生じない⁶⁾. 一定の確率で $V\alpha 14J\alpha 18/V\beta 7, 8, 2$ (invariant TCR: iTCR)⁺胸腺細胞(iNKT前駆細胞:iNKTp)が生じると, 内因性脂質+CD1d(DP)/iTCR(iNKTp)による第1のシグナル(強いTCRシグナルである)に加え, Signaling lymphocytic activation molecule family member 1 (SLAMF1) (DP)/SLAMF6 (iNKTp) による第2シグナル, 髄質胸腺上皮細胞(medullary thymic epithelial cell: mTEC)とのlymphotoxin β 受容体(LT β R) (mTEC)/LT $\alpha_1\beta_2$ (iNKTp) を介し核内因子 κ B(nuclear factor- κ B) 非古典経路の活性化の下流にある第3シグナルを受けてNKT細胞

の成熟が進む⁷⁻⁹⁾ (図1a). この過程が通常のT細胞とは異なるエフェクター・メモリー表現型をはじめとしたメインストリームT細胞との表現型の差異を生み出すものと考えられる. CD1dで選択されるが, iTCRを発現しないNKT細胞(NKT細胞の残り4割弱)は, 一部を除いてvariant TCR鎖を用いているためvNKT(あるいはtype II NKT)細胞と呼ばれる³⁾ (図1a).

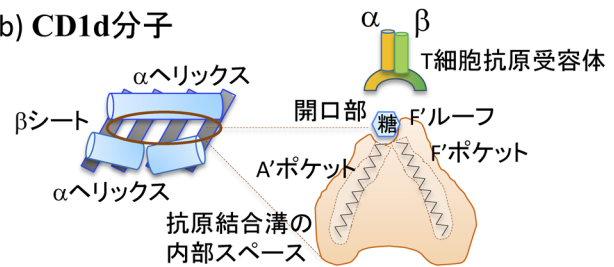
3. CD1d分子と提示される抗原

CD1dは糖脂質・リン脂質抗原の提示とNKT細胞の機能発現に重要な分子である¹⁰⁾. MHCクラスIIbの一つであるCD1分子として, ヒトはCD1a, b, cの三つのGroup I CD1(古典的CD1)とCD1d(Group II), CD1e(Group III)の

a) CD1遺伝子座 ヒト vs マウス



b) CD1d分子



c) iNKT細胞リガンド

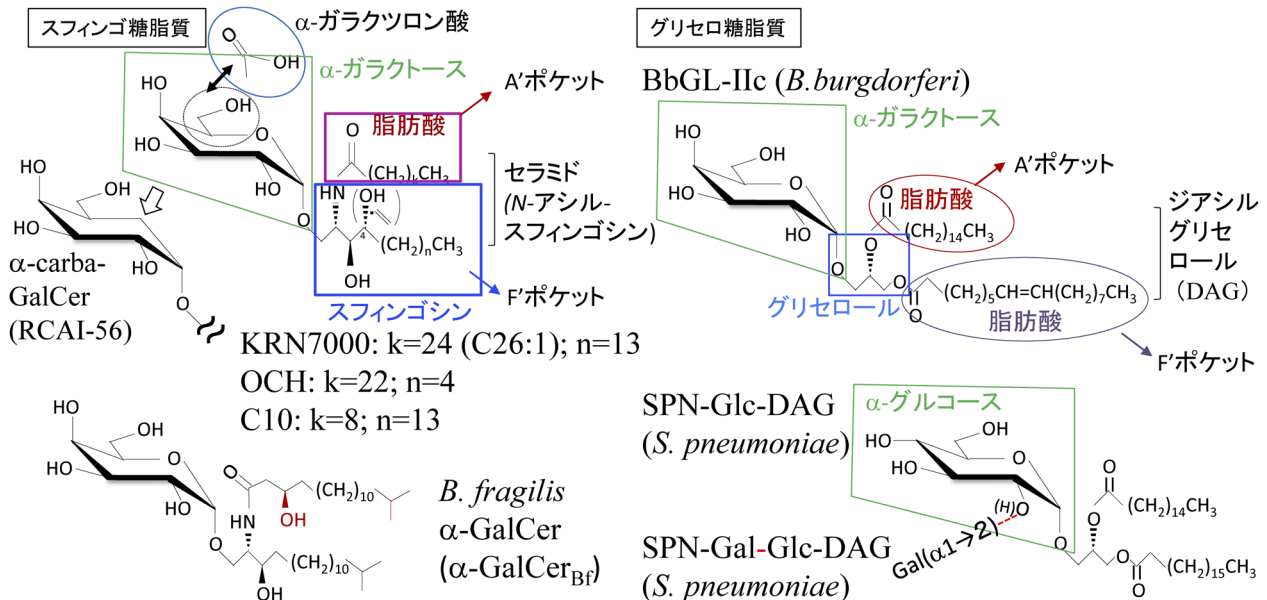


図2 NKT細胞の抗原提示分子とリガンド

(a) CD1 遺伝子座：ヒト vs マウス。ヒトは Group I・II・III の五つの遺伝子座を持つがマウスは Group II のみ二つの遺伝子座 CD1d1 と CD1d2 (系統により偽遺伝子) を有する。(b) NKT 細胞の抗原提示 (拘束) 分子 CD1d。対向する αヘリックス 2 本と βシート (底面) で囲まれた抗原結合溝を持つ。開口部は小さいが内部は疎水性側鎖を持つアミノ酸で形成される深いスペースがある。脂肪酸アルキル鎖を収容する A'ポケットとスフィンゴシンのアルキル鎖を収容する F'ポケットがある。α結合したガラクトースは開口部で水平に位置し、インバリアント α鎖の CDR3 他と相互作用する。(c) iNKT 細胞リガンド。スフィンゴ糖脂質 (左) とグリセロ糖脂質 (右) のそれぞれ代表的なリガンドをあげた。スフィンゴ糖脂質のスフィンゴシン部分の 4 位に水酸基がある場合 (フィトスフィンゴシン) と代わりに二重結合 (4-ene) がある場合を () で示した。

二つの非古典的 CD1 分子を、マウスは非古典的 CD1 として Group II の CD1d のみの遺伝子座を有する (図 2a)¹¹⁾。CD1 分子はいずれも構造的に開口部は小さいが、疎水性側鎖を有するアミノ酸で形作られた深い抗原結合溝を有し、T 細胞に脂質や非リボソーム性ペプチド抗原を提示する¹²⁾。CD1c は細胞表面には発現せず脂質抗原提示のシャペロンとして機能する¹³⁾。マウス CD1d 遺伝子座には *Cd1d1* と *Cd1d2* というホモロジー 95% の二つの遺伝子が隣接して存在するが、さまざまな組織で発現・機能しているのは主に *CD1d1* である⁵⁾。*Cd1d2* は C57BL/6 (B6) マウスでは偽遺伝子となっており発現しない (α3 ドメインアミノ末端に終止コドンが出現する)⁵⁾。一方、BALB/c, AKR, NOD, 129 などの系統では *CD1d2* も少ないながら胸腺などで発現する。CD1d2 は α2 ドメインにシステインからトリプトファンへのアミノ酸置換変異があり¹⁴⁾、過去の HLA クラス Ia 分子の同様な変異例における構造的な脆弱性から¹⁵⁾、発現しない可能性も示唆されていた。また発現しても量

や部位が CD1d1 に比してかなり限定していることもあり以前は CD1d2 拘束性 NKT 細胞の存在は想定されておらず、また実際に Sv129 (CD1d2 発現系)/B6 (CD1d2 非発現系) ミックス背景で CD1d1 のみを KO しても NKT 細胞の分化の大半は消失していると報告されてもいる¹⁶⁾。しかし、*in vivo* での生理機能は未知数ながら、近年詳細な免疫学的、構造生物学的な検討がなされ、CD1d2 により適合する抗原や CD1d2 拘束性 NKT 細胞 [interferon (IFN)-γ 産生など機能あり] の存在が確認された¹⁷⁾。

一方、組織・臓器の CD1d1 発現を National Center for Biotechnology Information Genes and Expression Database [reads per kilobase exon per million mapped reads (RPKM) という指標がよいかは議論があるようであるが] でみてみると、皮下脂肪>肝臓>副腎>生殖腺周囲脂肪>乳腺>胸腺>脾臓>卵巣となっており、脂肪での発現が非常に高いことがあらためてわかる¹⁸⁾。一方、*Cd1d2* (非 B6 由来) は低い発現としてはあるが、皮下脂肪=肝臓>副腎>生殖腺周囲

脂肪>乳腺>胸腺という同様な順となっている¹⁹⁾。CD1d1 (以降は特にCD1d2と区別する必要がある場合以外は単に、CD1dと記載する)とNKT細胞との相互作用については後述する。

CD1dがiNKT細胞に提示し、同細胞を活性化するプロトタイプ抗原として α -galactosylceramide (α -GalCer)が海洋天然物agelasphinとして見いだされ²⁰⁾、抗腫瘍活性の根幹にあるNKT細胞の活性化リガンドであるという報告^{7, 21)}から約4半世紀が経過した。 α -GalCerは単一のリガンドでiNKT細胞からIFN- γ 、interleukin (IL)-4の両方を誘導するが、その後の構造活性相関の研究からよりIFN- γ 方向(α -carba-GalCer)²²⁾あるいはIL-4の方向(OCH; KRN7000のスフィンゴシンのアルキル基長に比べ9炭素分短いリガンド)²³⁾に偏倚した代表的なリガンドが合成され、実験に供されている(図2c)。またさらなる自然抗原の探索から、ヒトやマウスの内因性糖脂質であるisoglobotriaosylceramide (iGb₃)²⁴⁾や腸内細菌構成成分(*Bacteroides fragilis*由来 α -GalCer類似物質; α -GalCer_{Br})^{25, 26)}にもiTCRと結合する α -Gal抗原構造が存在することが見いだされている。acylsphingosine (ceramide)の2本のアルキル鎖はCD1dのA' (acyl)およびF'ポケット(sphingosine)に収納され、TCR面に向き合うように α -Galが配向する²⁷⁾。また、グラム陰性菌でリポ多糖(lipopolysaccharide: LPS)陰性の*Sphingomonas*属の細胞膜成分にはガラクトースの代わりに α -ガラクトツロン酸が結合したセラミド^{28, 29)}が、ライム病病原体であるらせん菌*Borrelia burgdorferi*ではセラミドの代わりにジアシルグリセロール(DAG)をベースに α -galactosyl-DAG³⁰⁾が、肺炎の重要な病原菌である*Streptococcus pneumoniae*からもSPN-Glc-DAGやSPN-Gal-Glc-DAGがiNKT細胞を刺激するリガンド³¹⁾として見いだされている。糖脂質抗原陽性の日和見感染を生じる微生物に対しては、早期のiNKT細胞による防御が重要な役割を果たすことも示されている³⁰⁻³²⁾。また、現在も α -GalCerの誘導体としてiNKT細胞をさまざまに刺激し、生物活性を有する多様な化合物が合成されている^{33, 34)}。CD1d2に関してはA'ポケットが小さく、CD1d1にフィットするような長いアルキル基の α -GalCer(C26)は収まらないため、短いアシル鎖の脂肪酸の α -GalCer(C10)あるいは α -サイコシン(α -galactosylsphingosine)がよいリガンドとなることが示された¹⁷⁾。また、vNKT細胞については神経など生体内に存在するsulfatide³⁵⁾やlysosulfatide³⁶⁾がCD1dにより提示され、その認識抗原となっている。いずれにせよ、図2にはそのごく一部しか掲げられないため、リガンドの化学的詳細は文献に当たられたい^{37, 38)}。

4. NKT細胞の機能

iNKT細胞全体を活性化(リガンド*in vivo*投与、あるいは脾細胞や肝リンパ球全体、さらにはソートした α -GalCer負荷CD1d-tetramer⁺細胞をリガンドと培養)した場合、迅

速・大量・多種類のサイトカイン[IL-2, 4, 5, 6, 10, 13, 17, 21, IFN- γ , tumor necrosis factor (TNF)- α , granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), transforming growth factor (TGF)- β]の産生、ケモカイン[CC-chemokine ligand-3 (CCL3), CCL4, CCL5, LT, eotaxin]の産生、細胞傷害装置[TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), Fas ligand (FasL), Perforin, Granzyme]の誘導などを生じ(図1b)、その多機能性から免疫細胞界のスイスアーミーナイフと表現されたこともある³⁹⁾。迅速な反応は活性化・メモリーマーカーを発現していることを体現する応答であるが、多種類の遺伝子発現は集団としてみた場合の平均化された全方位的な応答といえる。ハイブリドーマなどにして個々の細胞としてサイトカインなどの産生でみると、一つのクローンが産生するサイトカインにはある程度偏りが認められる^{40, 41)}。これは、均一な細胞群と想定されながらも、胸腺内選択の時点でiTCRのアビディティーなどによりNKT1/2/17に分化することで決定されているためと考えられる⁴²⁾。

5. NKT細胞の疾患における役割

何らかの理由で自己寛容状態が破れ、そのT細胞応答がT helper 1 (Th1)/Th2/Th17のいずれかへ偏倚していることが疾患の特徴であるとすれば、そのような偏倚に傾かないようにバランスをとることが寛解へとつながることがある。たとえばTh1へ、あるいはTh2へ、またTh17へ誘導される応答(それぞれ1~3型免疫偏倚)を抑止すればそれぞれの関連疾患は軽症化する(図3)⁴³⁾。また一見、免疫学的機序が関連しないと考えられる疾患に関しても、傷害された細胞から傷害関連分子パターン(damage-associated molecular patterns: DAMPs)⁴⁴⁾が漏出することにより炎症性変化が惹起される。その場合も同様に1~3型免疫偏倚が進展過程を是正することは軽症化につながる。その意味で、NKT細胞の応答特性としてネガティブフィードバック制御が反応の場のサイトカイン環境とは反対の方向へ舵を切ることに関与していると思われる^{45, 46)}。

NKT細胞(特にiNKT細胞)の活性を修飾しうる体内への摂取物質として、食餌(主に乳製品)から年間150gくらい摂取する糖脂質(β 結合のものがほとんど)⁴⁷⁾がある。食用キノコ(そのうちのごく一部かもしれない)にiNKT細胞を刺激する成分を有するという報告もある⁴⁸⁾。さらに、環境抗原(花粉⁴⁹⁾、土壌や水中の環境微生物⁵⁰⁾、粉塵⁵¹⁾、腸内細菌叢(前述の*B. fragilis*由来各種 α -GalCer; これらが主たる供給源かもしれない)からも摂取可能である^{25, 26)}。また感染時には病原微生物などに由来する糖脂質²⁸⁻³¹⁾による機能修飾(活性化、抑制)、またリガンドである α -GalCer, OCHなどによる活性化で迅速・大量・多種類のサイトカイン/ケモカイン産生や傷害活性の誘導を通して、疾患に関連する免疫応答を抑制性~促進性までさまざまに修飾しうる(図3)。リガンドで人工的に刺激す

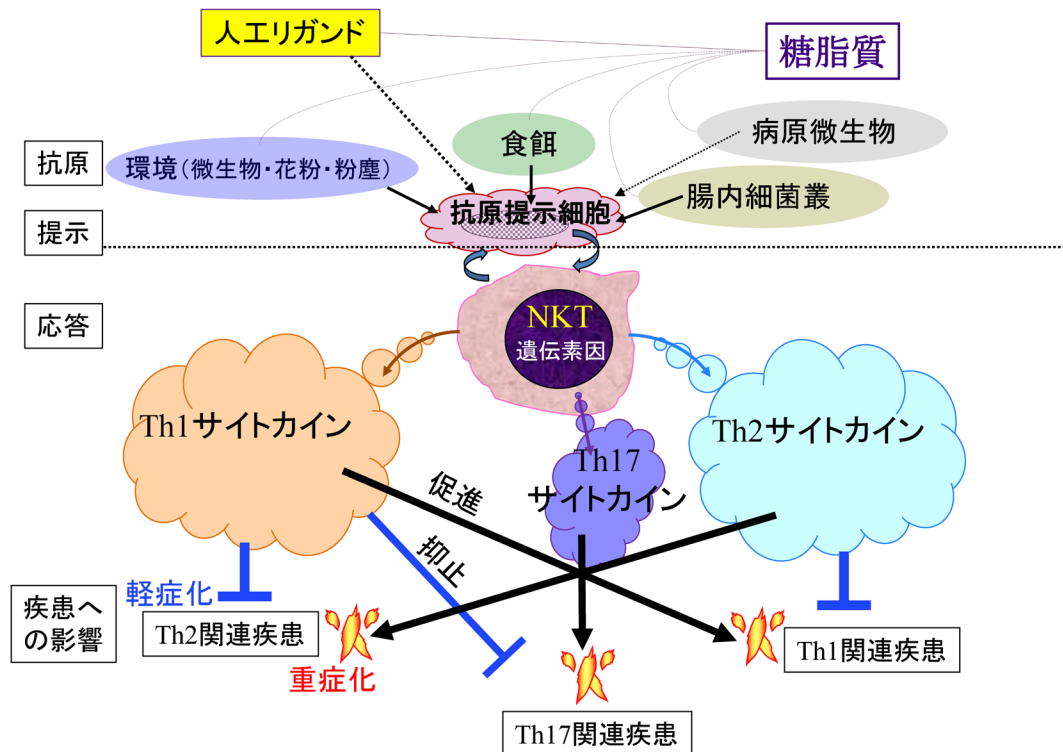


図3 NKT細胞の免疫偏倚が疾患進展過程に与える影響

食餌（直接、あるいは腸内細菌叢経由）・環境抗原・病原微生物・人工リガンドが抗原提示細胞上のCD1dに提示された形でNKT細胞を刺激すると、迅速・大量のTh1/2/17サイトカインが産生される（NKT1/2/17からそれぞれの局面で）。必ずしも、すべてがこのようになるかは疑問であるが、たとえばNKT1から産生されたIFN- γ は、Th17病・Th2病などの発症を予防、あるいは進展を抑制する（次節参照）。「調節」を意図しているわけではない。

る以外の要因は、それぞれの個体の置かれた環境や食を中心とした生活習慣などが当たるであろう。このことを証明するように宿主の摂取した分岐アミノ酸から*B. fragilis*が取り込み、sphinganineを経由し、自身が合成した分岐リガンドが宿主のiNKT細胞に制御的に作用しうることが示された⁵²⁾。

感染症を中心にNKT細胞と多くの疾患モデルの関連については過去にかなり網羅的にまとめられ⁵³⁾、最近アップデートもされている⁵⁴⁾。その関連は、NKT細胞が欠損しているマウス（CD1d1遺伝子ノックアウトマウス；以下単にCD1d KO）、さらにより狭くはiNKT細胞欠損（ α -GalCer KOマウス）で誘導した場合に疾患が重症化、あるいは α -GalCerでiNKT細胞を活性化した場合に軽症化が観察されるものはNKT細胞が疾患の軽症化に関与する（＝善玉として機能）、あるいはCD1d KOで軽症化するものはNKT細胞が疾患の重症化に関与する（＝悪玉として機能）ということで検証されてきた。ただ、疾患モデルによっては研究室間で結果が逆となっていることがあり、注意が必要である。自験例では前者として実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎（experimental autoimmune uveoretinitis：EAU）^{55, 56)}、心筋梗塞後リモデリング⁵⁷⁾、心筋虚血再灌流傷害⁵⁸⁾、圧負荷心肥大・心不全⁵⁹⁾、アンギオテンシンII誘導性腹部大動脈瘤⁶⁰⁾、II型コラーゲン誘導性関節炎⁶¹⁾、後者として食餌誘導性肥満（diet-induced obesity：DIO）⁶²⁻⁶⁵⁾、concan-

alin A hepatitis（自己免疫性肝炎のモデル）^{66, 67)}、動脈硬化症^{68, 69)}などがあり、本稿ではEAUとDIOについて例示したい。

6. 実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎（EAU）ではiNKT細胞は善玉

EAUはB6マウス（H-2^b）をヒト視細胞間レチノイド結合タンパク質（human interphotoreceptor retinoid binding protein：hIRBP）のアミノ末端から1～20番残基ペプチド（hIRBP₁₋₂₀）と完全フロイントアジュバントのエマルジョンで免疫し、同時に百日咳毒素を追加アジュバントとして投与することで誘導する（図4a左、基本型）⁷⁰⁾。通常この処置後10日前後で発症し、3週間後に眼組織病理スコアが最大となる経過でぶどう膜炎〔通常ぶどう膜炎が網膜にも波及するのでぶどう膜網膜炎（uveoretinitis）ということも多い〕が単相性に生じる。パーチェット病などヒトのぶどう膜炎疾患では初発から寛解、さらに再発を繰り返すような経過をたどることが多い。そこでマウスモデルとして、ヒトのように再発を生じさせるようなモデルも考案されている⁷¹⁾。図4a右はその一つで、ブドウ球菌エンテロトキシンB（Staphylococcal enterotoxin B：SEB）を用い、V β 8、V β 3などを有するhIRBP₁₋₂₀特異的T細胞クローンを再活性化させ、消退しかけたぶどう膜炎を惹起させる再発誘導

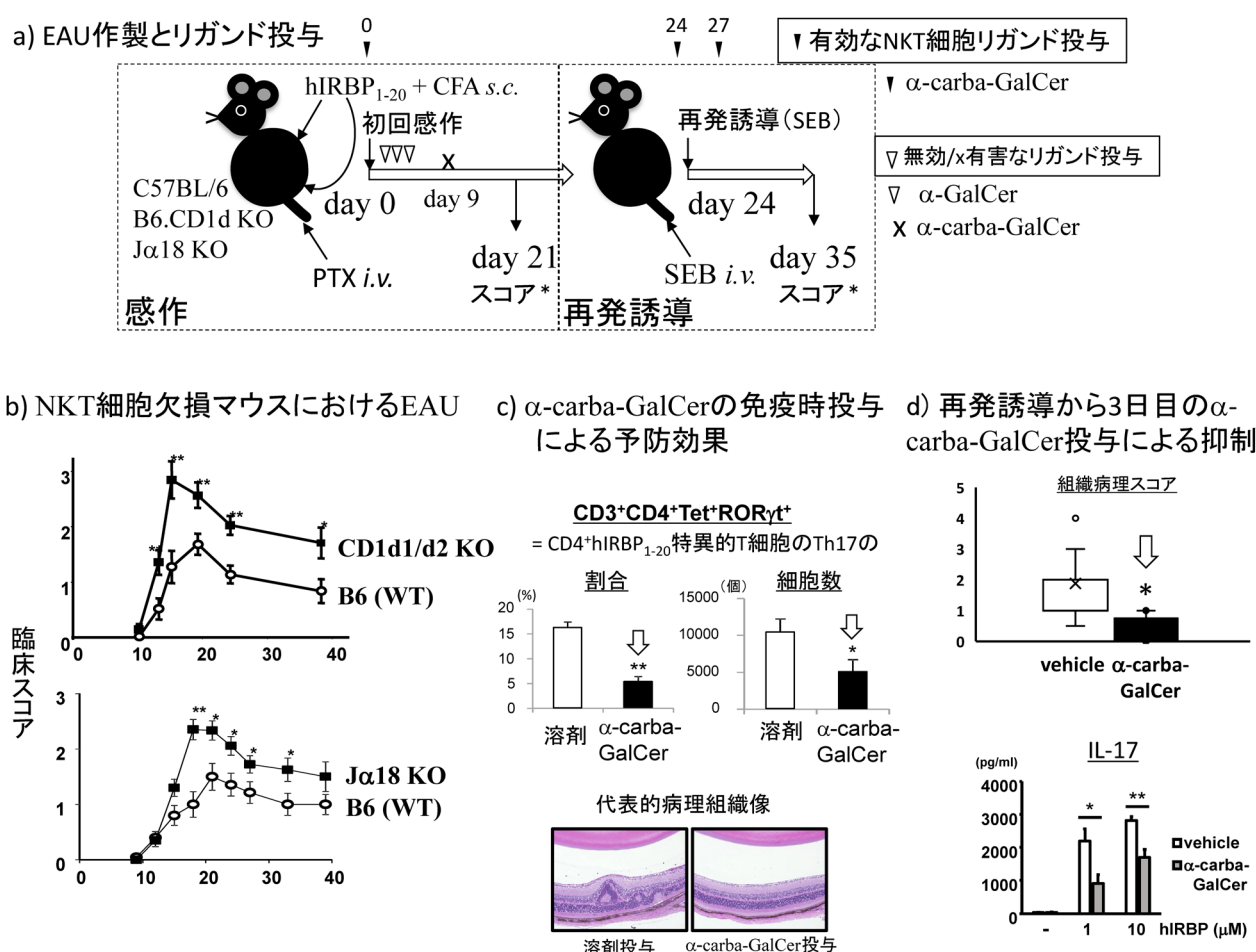


図4 実験的自身免疫性ぶどう膜網膜炎 (EAU) へのNKT細胞活性化の影響

(a) EAU作製とリガンド投与. マウスEAUはB6マウスにヒト視細胞間レチノイド結合タンパク質 (hIRBP) 1~20番残基hIRBP₁₋₂₀と完全フロイントアジュバント (CFA) の乳剤を皮下2か所に免疫し, 同日百日咳毒素 (PTX) を追加アジュバントとして投与すると, 9~10日ごろに発症する. 21日目に病理組織標本作製し, スコアを算出する. 再発を誘導する場合は, 炎症が消退し始める24日目にブドウ球菌エンテロトキシンB (SEB) を投与し, Vβ8⁺などの病原性T細胞を再活性化させることにより惹起し, 35日目の病理スコアで重症度を評価する. リガンド投与は, 有効であったα-carba-GalCerの感作時投与 (0日), 再発時投与 (24日), 誘導3日後 (27日) を▼で, 無効であったα-GalCer投与 (感作後3回) を▽, 悪化させたα-carba-GalCer投与 (感作9日後) を×で表示した. (b) NKT細胞欠損マウスにおけるEAU. 誘導後の臨床スコアを, それぞれWTを対照に表示した. iNKT細胞欠損, 全NKT細胞欠損とも重症化した. (c) α-carba-GalCerの免疫時投与による予防効果. (a)にあるように0日に投与するとCD4⁺hIRBP₁₋₂₀特異的Th17細胞の割合・実数ともに有意に減少した. 掲示したリガンド投与の組織も病理スコアがほぼ0である. (d) 再発誘導から3日目のα-carba-GalCer投与による抑制. 投与マウスの病理スコアが有意に低下し, 所属リンパ節T細胞の産生IL-17量が著明に減少した.

系である⁷²⁾.

EAUはCD1d KOあるいはJα18 KOマウスでは臨床スコア (経時的), 組織病理スコア (免疫後21日目) とも野生型マウス [B6; wild type (WT)] より重症化した (図4b)⁵⁶⁾. これはiNKT細胞が病態進展に対して抑制的に機能していることを示唆する結果である. では, iNKT細胞活性化で軽症化が誘導されるであろうか. 感作後早期にα-GalCerあるいはOCHを短回~複数回投与して検討した結果では, WTに誘導した溶剤対照群との間に臨床スコアの有意な軽症化は認められなかった. 一方, 感作用の乳剤中にNKT細胞リガンドを混じて皮下投与した場合, Th1方向にiNKT細胞を活性化するリガンドの投与群で21日目の組織病理スコアが溶剤対照群に比較して低下した (図

4c). 抗原特異的T細胞応答をhIRBP₃₋₁₃/I-A^dテトラマー [米国国立衛生研究所テトラマー中核施設 (NIH Tetramer Core Facility: NTCF) より供与] で可視化すると, テトラマー陽性 (Tet⁺) T細胞数には両群間に差はなかった. その反映として抗原hIRBP₁₋₂₀に対する増殖反応にも両群間に有意差を認めなかった. しかし, その培養上清でIL-17, IL-22, TNF-α, IFN-γなどの産生の顕著な低下が認められた. また所属リンパ節でiNKT細胞の増加に伴ってCD4⁺Tet⁺Th17が顕著に低下していることが示された. その結果, 眼内浸潤Tet⁺T細胞が21日で著明に減少した. このことは感作後早期 (6時間) のリガンド投与群ではIFN-γが上昇することで所属リンパ節のTet⁺Th17への分化が強く抑制されたためと考えられた. 惜しむらくは, 発症時付近の

α -carba-GalCer投与は病態をかえって重症化させることが判明しており、有効であったのは同リガンドの予防的投与のみであった⁵⁶⁾。

そこで、再発モデルで再発誘導を行った時点とその数日後で病態制御が可能かどうかを調べた。初回感作後24日後にSEBを静脈内投与し再発を誘導すると、溶剤対照群では組織病理スコアが低下する35日で有意な増大を観察し、ぶどう膜炎の再発が認められた⁵⁷⁾。また誘導後4日でのT細胞レパトアを解析したところSEBに反応性のV β を有するT細胞が対照群と比較して増大していることが確認された（未発表データ、岩淵）。同日に α -carba-GalCerを投与すると35日で溶剤投与群との間に有意差を持ってスコアの低下が認められた⁵⁷⁾。この際、初回感作と同時に投与して21日目の組織病理スコアが低下した場合と同様に所属リンパ節におけるIL-17発現が有意に低下していた。また再発誘導の3日後に α -carba-GalCerを静脈内投与した場合も組織病理スコアの著明な低下を認め、同様にIL-17産生が抑制された（図4d）⁵⁷⁾。再発誘導前にiNKT細胞に誘導されるIFN- γ 産生を抗体で中和すると、IL-17産生が増強し、病理スコアは増大し、再発EAUは重症化することが示された。

初感作時に1型免疫偏倚を呈するリガンドでiNKT細胞から高レベルにIFN- γ を産生させると、Th0 \rightarrow Th17への分化が抑制されたためIL-17産生が低下したと考えられる。再発時においてもiNKT細胞からのIFN- γ 産生を作用させることで、IL-17産生抑制を伴ってEAUは軽症化した。詳細な機序の解明とリガンド投与の臨界期の決定が必要である。

7. 食餌誘導性肥満 (DIO) とNKT細胞

DIOに取り組む契機となったのは、動脈硬化症の誘導のため当初使用していた動脈硬化食 [atherogenic diet (AD); 脂肪15%, コレステロール1.25%, コール酸0.5%, 日本農産製] を高脂肪食 [high fat diet (HFD); 脂肪21.2%, コレステロール0.2%, Harlan社製] 給餌に切り替えたことによる。HFD給餌では、AD給餌で認められない体重増加を生じたが、大学院生がCD1d KOではWTやJa18 KOと比較して体重増加が鈍いことを観察した。当初、NKT細胞は緑膿菌感染防御に必要という報告もあり⁷³⁾（限定的という報告も⁷⁴⁾）、免疫不全による成長不良かとも考えられた。しかし、動物施設のクリーン化後の検討でCD1d KOマウスでの体重増加の鈍化は同マウスでは脂肪組織における炎症が低く抑えられていることに起因していることが確認された。内臓脂肪における慢性炎症は肥満に重要な役割を果たしていること^{75, 76)}は、以前よりマクロファージ (M ϕ) など自然免疫との関連で報告されていたが、2009年にはCD8⁺ T細胞⁷⁷⁾、B細胞⁷⁸⁾、調節性T細胞 (regulatory T cell : Treg)⁷⁹⁾などの獲得免疫系細胞も肥満の進展と関連があることがメジャー誌に報告されるに

至って、より大きな注目を集めることとなった。肥満の進展に対してCD8⁺ T, B, M1 M ϕ (M1)⁸⁰⁾は促進性に、M2 M ϕ (M2)⁸⁰⁾、Treg、好酸球⁸¹⁾は抑制性に機能することがこれまでに示されたわけであるが、NKT細胞に関してはいずれの可能性も考えられた。これまでの実験結果を表にまとめた（表1）。CD1d欠損/NKT細胞欠損の効果が中立的なもの⁸²⁾、CD1d欠損の効果として悪化させるもNKT細胞非依存性のもの⁸³⁾、CD1d欠損が肥満、インスリン抵抗性 (insulin resistance : IR) の軽快につながるNKT細胞が悪化に作用するもの (Type II NKTが悪化に関連⁶³⁾、Type I NKT細胞が悪化に関連⁸⁴⁾と当初分かれていた)、V α 14トランスジェニックを用いてiNKT細胞が悪化に関連するもの⁸⁵⁾、CD1d欠損が肥満、IRの悪化につながるNKT細胞が抑制的に作用するもの⁸⁶⁻⁸⁹⁾などが、全身性 (ゲノム上の) CD1d1あるいはCD1d1/2両方の遺伝子破壊により作られたKOの形質となっている (表1上段)。これらの差がなぜ生じているかは、食餌、マウスの飼養施設の環境、腸内細菌叢 (前二者の影響ともいえる)、使用系統 (CD1d1 KO vs CD1d2 KO ; これは現在ではほぼ否定か) などと議論されているものの、いまだ原因について確定はしていない。

8. 食餌誘導性肥満 (DIO) ではNKT細胞は悪玉か？

我々はHFD [日本クレア製HFD32 ; 脂肪32% (牛脂15.88%, ベニバナ油20%), 全体5.08 kcal/g] を図5aのスケジュールでマウスに給餌した⁶³⁾。また、耐糖能は腹腔内投与グルコース耐性試験 (intraperitoneal glucose tolerance test : IPGTT) で、インスリン感受性 (抵抗性) は高インスリン正常血糖クランプ法などの精密な試験ではないが、インスリン耐性試験 (insulin tolerance test : ITT) で評価した (図5b)。

B6 (WT), Ja18 KO (iNKT細胞欠損), CD1d1 KO (全NKT細胞欠損) の3系統のマウスについて調べた結果、WTとJa18 KOは同等の体重増加を示し、その内訳たる生殖腺周囲脂肪重量、肝重量もWTと同等で、対するCD1d KOの場合よりも有意な増加を呈した (図6a)⁶³⁾。脂肪細胞周囲径 (顕微計測)、肝脂肪蓄積量 (オイルレッドO染色) もWT=Ja18 KO>CD1d KOであった。肥満を反映して、インスリン感受性が低下し、グルコースの負荷後WTとJa18 KOは同レベルの高血糖が認められたのに対して、CD1d KOのIPGTTは非常に低く抑えられ (図6b)、インスリン投与後の血糖降下も著明であった (図6c)。また、WT, Ja18 KOの脂肪組織のTCR β ⁺NK1.1⁺細胞はHFD給餌で同様の割合で増加しており、Ja18 KOではCD8⁺亜群がWTやCD1d KOと比較して割合が増加していた。またV β 使用ではV β 5がWT, Ja18 KOで比較的多く認められた。これらの特徴から応答NKT細胞亜群は明らかにしてはなかったもののiNKT細胞がなくともvNKTが脂肪組織炎症を惹起し、肥満の進展を支持・促進していると報告

表1 肥満・インスリン抵抗性に対するCD1d欠損（全身・組織特異的）の影響

全身でのノックアウト					
NKTの作用	遺伝背景	マウス系統	脂肪原料	CD1d欠損の効果	文献
中立的	BALB/c	CD1d1/2 KO	大豆油・ラード	なし	82
	C57BL/6	CD1d1/2 KO		NKT非依存性に悪化	83
促進的	C57BL/6	β_2m KO, WT + α -GC		KOで軽快・ α -GCでIR悪化	62
		CD1d1 KO	ベニ花油・牛脂	肥満・IRは軽快	63, 91
		CD1d1 KO	大豆油・ラード	肥満・IRは軽快	84
		V α 14 ^{Tg} /LDLR KO	ラード・ショ糖・コレステロール (0.15%)	Tgで肥満・IRは悪化	85
抑制的	C57BL/6	CD1d1/2 KO	大豆油・ラード	肥満・IRは悪化	86
		CD1d1/2 KO		肥満・IRは悪化	87
		CD1d1/2 KO		肥満・IRは悪化	88
		CD1d1/2 KO		肥満・IRは悪化	89
コンディショナルノックアウト（すべてC57BL/6背景）					
NKTの作用	欠損細胞	creの駆動遺伝子	脂肪原料	CD1d欠損の効果	文献
促進的	脂肪細胞	Adipoq-cre	ベニ花油・牛脂	肥満・IRは改善	64
抑制的			大豆油・ラード	肥満・IRは悪化	103
促進的	マクロファージ	LysM-cre	ベニ花油・牛脂	肥満・IRは改善	65
			大豆油・ラード*	肥満・IRは改善	101
抑制的	樹状細胞？	CD11c-cre	ベニ花油・牛脂	肥満・IRは悪化	65
	M1 M ϕ		大豆油・ラード*	肥満・IRは悪化	101

これまでの、主としてCD1d1あるいはCD1d1/d2のゲノムKOおよびCD1d1^{fl/fl}と組織・細胞系譜特異的発現creとの交配によるコンディショナルKOの欠損の効果を表にした。マウスの遺伝的背景と系統、餌の脂質の原料、CD1d欠損等の一次的効果、文献番号を記した。脂質の由来不明は空欄となっている。*は文献の記載から推定した。

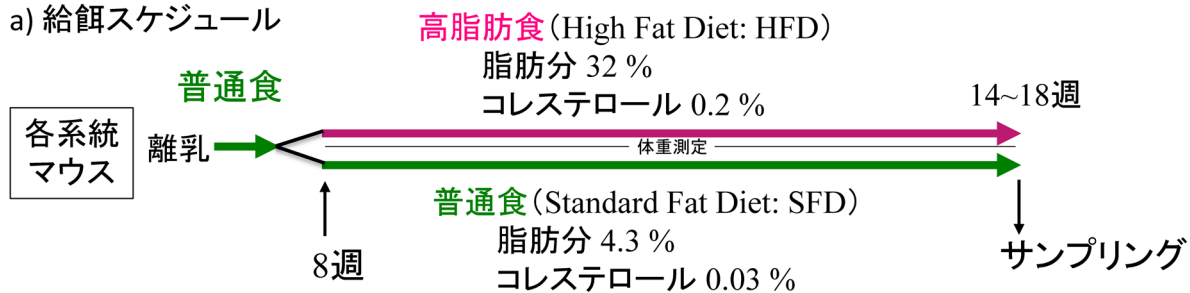
した⁶³⁾。また、J α 18 KO肝単核球をCD1d KOに移入したものでは、脂肪にCD8⁺TCR β ⁺NK1.1⁺細胞が有意に出現したこと、体重も有意差を生じるほどでないがCD1d KOマウス由来肝単核球をCD1d KOに移入した対照群を下回することはなかったこと、その反映としてITT試験で抵抗性が移入されたことなど、J α 18 KOに脂肪組織炎症を惹起するvNKT細胞が存在する可能性も併せて示した⁶³⁾。しかし、その後J α 18 KO (J α 281 KO)は挿入遺伝子の影響でかなりの数のJ α が再構成に使用されないことが報告された⁹⁰⁾ (研究室のJ α 18 KOでも調べたところ当然ながら同様であった)。そこで新たにCRISPR/Cas9でJ α 18のみをgRNAで破壊したTRAJ18 KOの1系統の供与を得て、DIOを誘導⁹¹⁾したところ、このiNKT細胞欠損マウスでは、CD1d KOと同様の体重増加、IPGTT (図6d, e)を示した。つまり、肥満の進展を支持する十分な炎症を惹起するのはiNKT細胞であるというWuらの結果と合致した⁸⁵⁾。先のJ α 18 KOで

WT並みに肥満が進展したのかメカニズムは不明のままであり、肥満・インスリン抵抗性へのvNKT細胞の関与は、移入に用いたHFD給餌J α 18 KO肝リンパ球および内臓脂肪NKT細胞のレパトアの解析を待たねばならない。

9. 食餌誘導性肥満 (DIO) ではNKT細胞は善玉か?

一方、DIOをWTとCD1d KOあるいはJ α 18 KOマウスに誘導した場合、かえって肥満、IRが増悪・進展したと報告したグループは、NKT細胞がIL-10を産生し脂肪組織炎症を抑制、インスリン感受性は保たれると報告している⁸⁷⁾。また、脂肪組織に局在するNKT細胞 (adipose tissue NKT: AT-NKT)は、他の組織のNKT細胞がpromyelocytic leukemia zinc finger (PLZF)を特徴的な転写因子として分化するのに対し、transcriptional repressor E4-binding protein 4 [E4BP4; nuclear factor, IL-3-regulated (NF-IL3) と同一]

a) 給餌スケジュール



b) 耐糖能・インスリン耐性の簡便な試験法

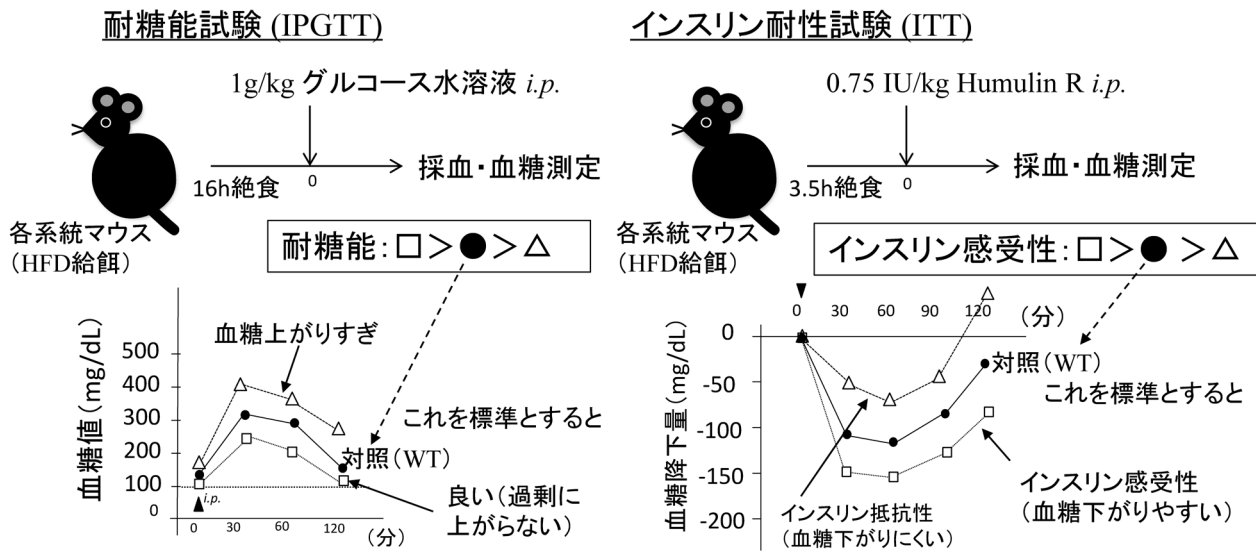


図5 食餌誘導性肥満 (DIO) の実験系と耐糖能・インスリン耐性試験法

(a) 給餌スケジュール. 各系統のマウスを離乳後より7週末まで普通食で飼育し、8週からも普通食 (SFD) の対照群と高脂肪食 (HFD) の実験群に分け14~18週の給餌後に採材した. (b) 耐糖能/インスリン耐性の簡便な試験法. 耐糖能は16時間の絶食後に1g/kgでグルコース水溶液を腹腔内注射で投与し、30, 60, 90, 120分後の血糖値を測定した. 簡便なインスリン抵抗性は3.5時間絶食後に0.75 IU/kgでHumulin Rを腹腔内注射で投与し、30, 60, 90, 120分後の血糖値を測定し、血糖降下量としてプロットした. ここではWTを●, 良好な反応を示す系統を□, 悪化した応答を示す系統を△として表した.

が用いられるとしている⁹²⁾. E4BP4 (NF-IL3) は、脂肪組織のサイトカイン環境をIL-10, IL-13産生性に、抗炎症性に保つ機能を発現する可能性があり、AT-NKT細胞は分化時点ですでに異なっていることを示すのかもしれない.

さらに、脂肪組織ではNKT細胞が抗炎症性サイトカイン産生により炎症を抑制するだけでなく、線維芽細胞増殖因子FGF-21を介し、白色脂肪を褐色脂肪化させ燃焼 (体熱産生) し、減量するというメカニズムも示している⁹³⁾. AT-NKT細胞についてもNK1.1⁺とNK1.1⁻の亜群で機能の違い [(+): 病的Mφのトリミング, (-): IL-10産生] を明らかにしており⁹⁴⁾, Lynch博士らはこの分野を独走している. その他のグループはまた、微妙な点で異なるもするが、iNKT細胞が肥満、IRの誘導に対して抵抗するのは同様である^{86, 88, 89)}.

齟齬のある結果はいかんともしがたいが、彼らがマウスに給餌している高脂肪食は表1にあるように大豆油とラードからなるResearch Diets社のD12492 (青い外見) の製品である. カロリーは5.24 kcal/gと同程度ながら、脂質の原料

がラード31.6%と大豆油3.2%と我々が給餌したHFD32と脂肪の内容がかなり異なっている. ラードと牛脂では構成脂肪酸の組成も、前者ではC18:1, C18:2などの不飽和脂肪酸が多く、後者ではC18:0, C14:0など飽和脂肪酸が多い特徴がある⁹⁵⁾. D12492を給餌した結果、当研究室でも体重がWTを超えることはなかったが、耐糖能で見た場合KOがWTより悪化したので、給餌したHFDの違いも一つの要因かと考えている (未発表データ). しかし、WuらはそのHFDを給餌してiNKT細胞は促進的と報告している⁸⁴⁾.

HFDの他に密接に関連し、かつ容易にコントロールできない腸内細菌叢の問題がある. SFD給餌ではWT, CD1d KOともに腸内細菌叢がBacteroidetes門細菌>Firmicutes門細菌であるが、HFDの給餌期間が永くなることにより次第にFirmicutes門細菌>Bacteroidetes門細菌となる. この置換がCD1d KOでは遅く、また属レベルでみるとより違いが認められた (未発表データ). CD1d-NKT細胞軸が腸内細菌の定着に関連するという報告⁹⁶⁾ から考えると、細菌叢の違いはCD1d KOにおける肥満、IRとも関連してい

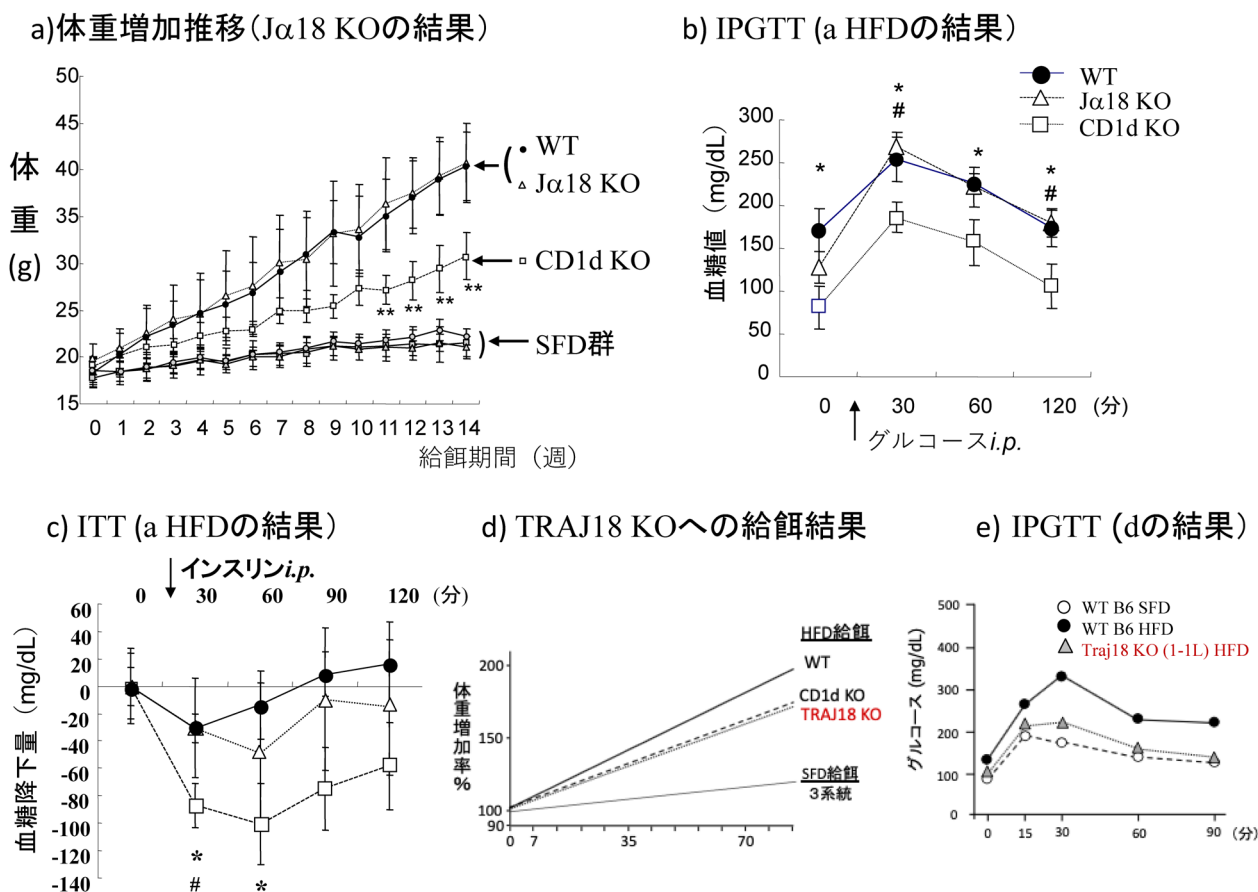


図6 CD1d KO (全身), Jα18 (Jα281) KOマウスDIO実験結果 (2012年 vs 2017年)

(a) 体重増加推移. CD1d欠損 (全身), Jα18 (Jα281) KO, WTのSFD群・HFD群の給餌後の体重増加の推移を表した. CD1d KOでは, 体重増加が強く抑制されていた. (b) 耐糖能試験 [(a)のHFD給餌マウスのIPGTT]. 体重増加が強く抑制されていたCD1d KOでは, 耐糖能も非常によく保たれていた. (c) インスリン耐性試験でも, 同様であった. (d) TRAJ18 KOへの給餌結果. CRISPR/Cas9で新たに作られたTRAJ18 KOでは大きなJα鎖の不使用によるレパトアの偏倚は認められない. このマウスへのHFD給餌ではCD1d KOと同じ体重増加の推移を示した. (e) IPGTT [(d)のTRAJ18 KOの結果]. 肥満の軽減により耐糖能はSFD給餌WT並みに良好であった. (d, e)は文献91の図を簡略化.

るのではないと思われるが, 証明には無菌化マウスへの注目する菌の単一移植系を構築するなどの必要があり, 課題となっている.

10. 細胞系譜特異的CD1d欠損マウスの作製

我々の結果からは, 全身的CD1d KOでDIOの進展が軽減されることが判明し, 特にiNKT細胞が何らかの内因性リガンドを認識・活性化することで, 脂肪組織における慢性炎症の基盤を形成していることが推測された. 内因性リガンドの解明が最も重要と考えられるが, まず脂肪組織中の主たる抗原提示細胞は何かを明らかにする実験に着手した. 脂肪組織中で主にCD1dを発現する細胞としては, 脂肪細胞, 次いで大きな脂肪細胞がひしめいている隙間に間質血管細胞群 (stromal vascular fraction: SVF) として存在するマクロファージ, 樹状細胞などがある. CD1d floxed mouse (cd1d^{fl/fl}) はBaiらによりすでに作製されており⁹⁷⁾, また細胞・組織特異的プロモーターで駆動されるCreマウ

スも幾種類も樹立されていたので, これらを交配して細胞特異的CD1dコンディショナルKO (cKO) マウスを作製し, DIOを誘導・解析することとした (図7a). 脂肪細胞特異的CD1d cKO (Adipo^{CD1d1}; A-cKO) マウスはアディポネクチン (Adipoq)-cre⁹⁸⁾×cd1d^{fl/fl} マウスから, マクロファージ特異的CD1d cKO (Mφ^{CD1d1}; M-cKO) は骨髓型リゾチーム (myeloid lysozyme; LysM)-cre⁹⁹⁾×cd1d^{fl/fl} マウスから, 樹状細胞特異的CD1d cKO (DC^{CD1d1}; DC-cKO) マウスはCD11c-cre¹⁰⁰⁾×cd1d^{fl/fl} マウスから準備し, いずれも対照としてはfl/fl, cre(-) マウスでWT形質を示す個体を用いた. DC-cKOではCD11cを活性化マーカーと考え, 樹状細胞でのCD1d KOではなく, むしろM1マクロファージのCD1d KOと捉えている見方もある¹⁰¹⁾.

11. 脂肪細胞でのCD1d KO (A-cKO) のDIO

脂肪細胞はCD1dを発現するが, これは線維芽細胞3T3の中で脂肪細胞分化能を持つ3T3-L1も同様である. 分

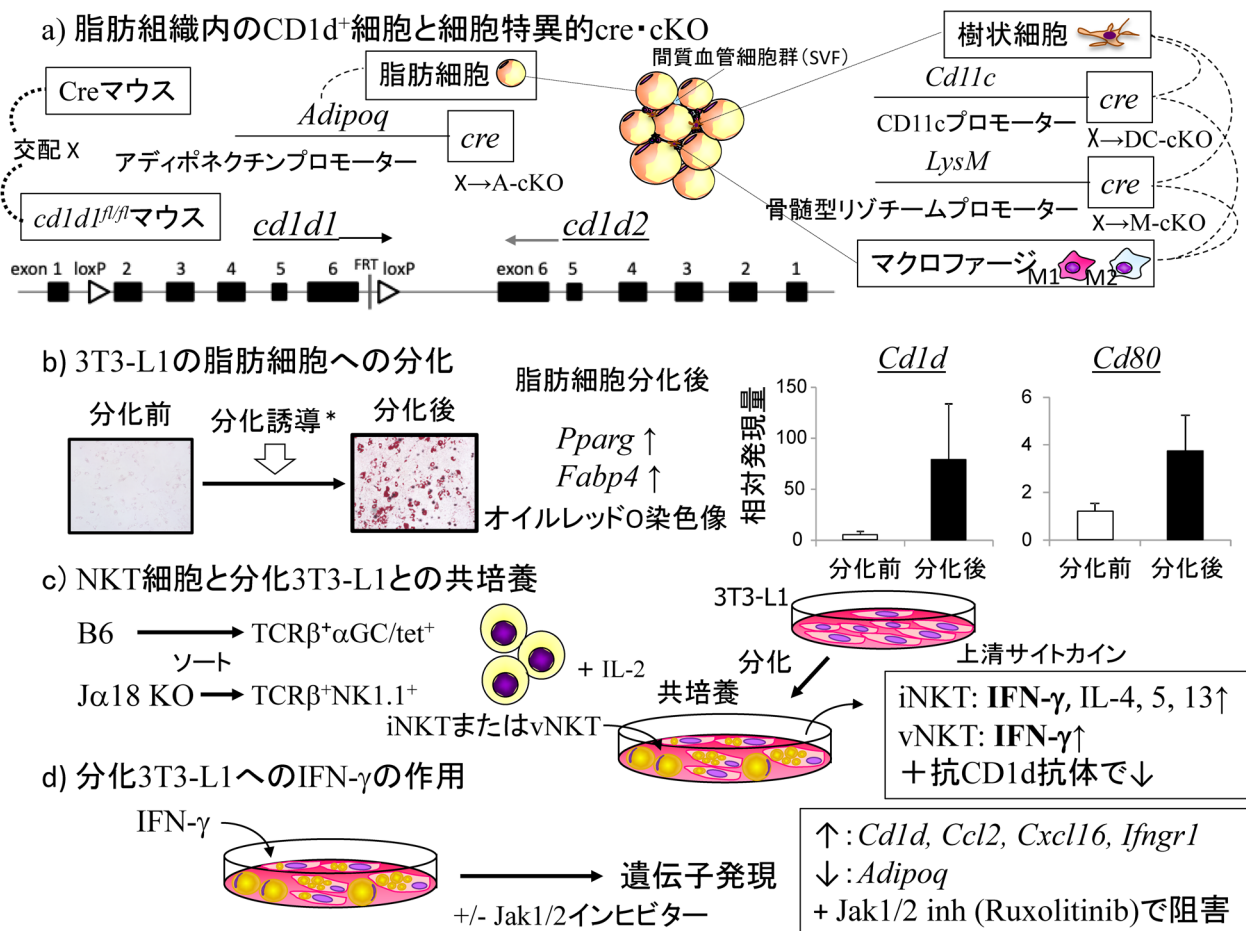


図7 脂肪細胞とNKT細胞の相互作用および脂肪細胞特異的コンディショナルKO

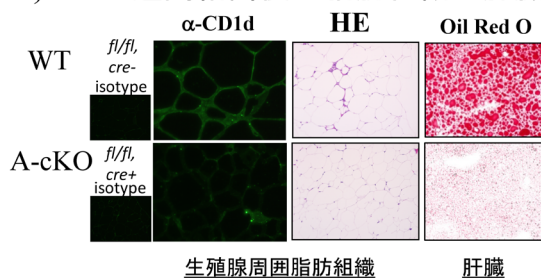
(a) 脂肪組織内のCD1d⁺細胞と細胞特異的cre・cKO. 次節で用いる細胞特異的cre発現マウスと交配する*Cd1d1* floxedマウス. Bai, L., et al. J.I 188: 3053-61, 2012の図よりloxPが挿入されている部位を若干改変して示した. 脂肪細胞・マクロファージ・樹状細胞特異的CreとそれぞれのコンディショナルKO (A-cKO, M-cKO, DC-cKO) を記した. *LysM*-cre, *Cd11c*-creからの点線は各creがMφ・DCで一部重複して作用することを示す. (b) 3T3-L1の脂肪細胞への分化. 3T3-L1は培養し, コンフルエントになった2日後に, 分化誘導を行った. 前脂肪細胞メディウム [5μg/mL インスリン, 0.5mM 3-イソブチル-1-メチルキサンチン (IBMX), 0.25μM デキサメサゾン] で2日間培養し, その後2日ごとにインスリン含有メディウムを交換し, 分化7~10日で使用した. 分化度はオイルレッドOで染色して脂肪滴を確認した. *Pparg*や*Fabp4*などの発現が脂肪細胞分化に伴って上昇し, 同時に*Cd1d*や*Cd80*も発現上昇している. (c) NKT細胞と分化3T3-L1との共培養. 分化脂肪細胞とB6からソートしたiNKT細胞やJα18 KOからソートしたvNKT細胞を培養すると図に記したようなサイトカインが産生され, これらは抗CD1d抗体の培養液への添加で阻害されるので, CD1d拘束性にiTCRを介して通ったシグナルによっていると考えられる. (d) 分化3T3-L1へのIFN-γの作用. 3T3-L1脂肪細胞へのiNKT/vNKT細胞で共通して産生されるIFN-γの顕著な効果として, *CD1d*, *Ccl2*, *Cxcl16*, *Ifngr1*などの発現上昇とアディポネクチンの発現低下が観察され, それらはJak1/2インヒビター (Ruxolitinib) の添加で阻害される.

化培養に従ってその発現が誘導され, 同時にCD80も発現し, 抗原提示能が十分に備わっていることを示す (図7b). WTからソートしたiNKT細胞は, 分化3T3-L1脂肪細胞と共培養すると外からリガンドを加えなくともIFN-γ, IL-4, 5, 13を産生する⁶⁴⁾ (図7c). この産生は抗CD1d抗体で阻害されるので, 脂肪細胞は何らかの内因性 (脂質) 抗原を発現しているものと考えられる (ただしα-GalCer/CD1d複合体をiTCRのように認識するL363抗体では検出できない). Jα18 KOからソートしたvNKT細胞もIFN-γ産生を示す. 産生されたIFN-γが脂肪細胞側の遺伝子発現にどのような影響を与えるかを*in vitro*で調べた (図7d). マクロファージをリクルートする*Ccl2*, NKT細胞を

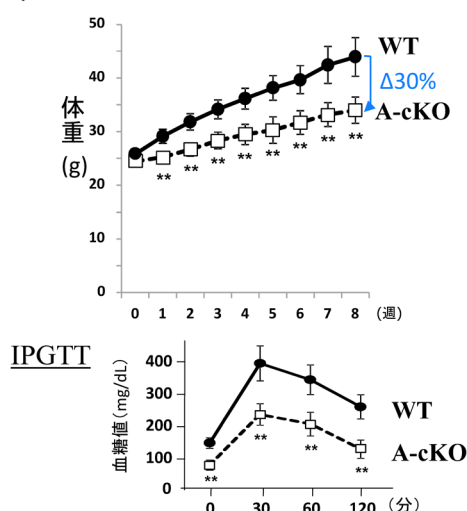
リクルートする*Cxcl16*の他に, 抗原提示分子*CD1d*やIFN-γ受容体*Ifngr1*などの発現が増強され, 炎症がポジティブフィードバックで進展する可能性が示された.

A-cKO (図7a) が樹立されると, 胸腺細胞でのCD1d発現は正常であるので, NKT細胞は分化し, それぞれの局在部位に配置されているが, HFD給餌しても活性化 (CD69⁺) NKT細胞, 細胞内IFN-γ⁺ NKT細胞の割合・実数が著明に減少した⁶⁴⁾. また, 内臓脂肪に分布するマクロファージ, iNKT/vNKT細胞も著明に減少し, 炎症性サイトカイン・ケモカインの発現も大きく減じていた. この脂肪組織炎症の「鎮火」により, 脂肪細胞の肥大や肝細胞への脂質蓄積は抑制され (図8a), 給餌8週後の体重増もWT

a) HFD8週間給餌後の脂肪組織と肝臓



b) HFD給餌後の体重推移と耐糖能



c) A-cKOで得られた結果とDIO進展抑制の関連

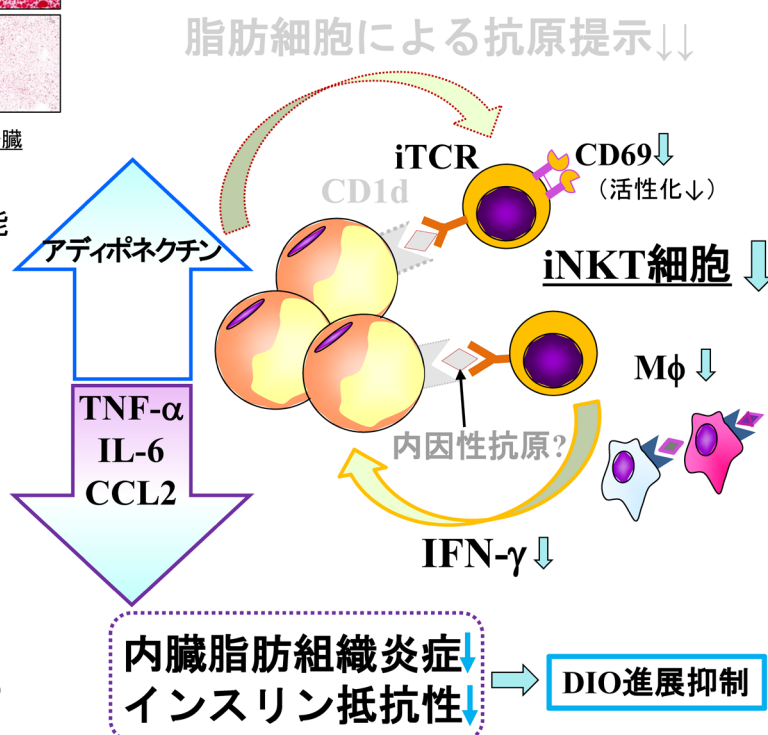


図8 脂肪細胞特異的CD1d KO (A-cKO) マウスにおけるDIO

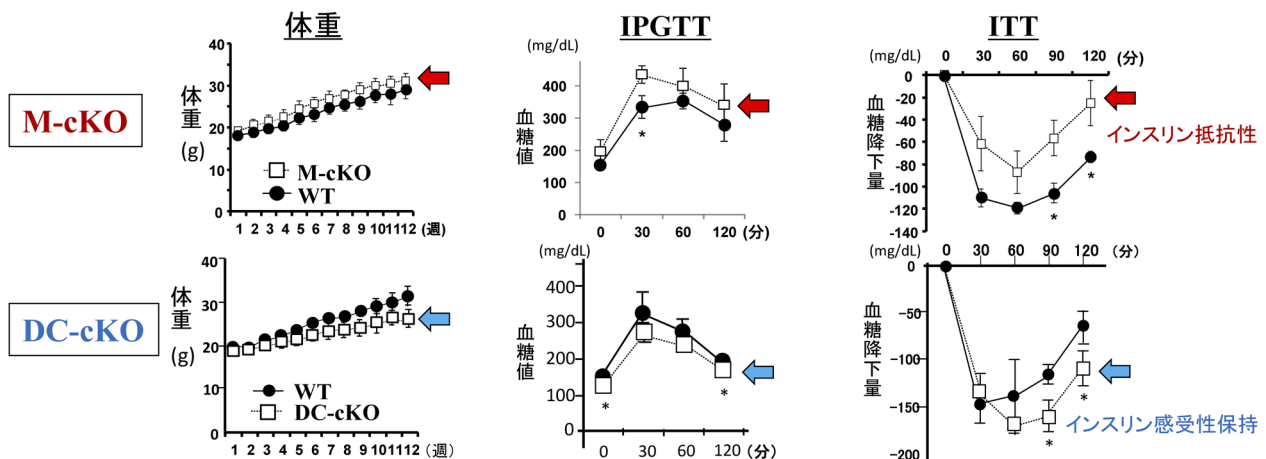
(a) HFD8週間給餌後の脂肪組織と肝臓. A-cKOの脂肪の抗CD1d抗体染色ではSVFにシグナルはあるが、脂肪細胞上には認められない. 脂肪細胞サイズもWTに比し小さく、脂肪肝も著明に抑制されている. (b) HFD給餌後の体重推移と耐糖能. A-cKOの体重増加は非常に抑制されており(約30%減)、全身KOの体重減(約30%)と重ね合わせることが可能である. 耐糖能もSFD給餌並みの良好さである. (c) A-cKOで得られた結果とDIO進展抑制の関連. A-cKOでは脂肪細胞でのみCD1dがKOされているため、全身でのKOと異なりiNKT細胞が分化するが、脂肪細胞から活性化シグナルが得られないため、CD69発現は低く、細胞数も少ない. またMφの動員も減少し、内臓脂肪中Mφ細胞数は激減している. またHFD給餌されてもIFN- γ , TNF- α , IL-6, CCL2発現が低く、逆に脂肪細胞からのアディポネクチン発現が増加する.

より約30%減じ(図8b), これは全身でのCD1d KOと同等であった. このことは、皮下脂肪や血管周囲脂肪組織¹⁰²⁾など身体中にあまねく分布する細胞でCD1dが除去された効果を意味しているのかもしれない. また、このA-cKOマウスとまったく同じように作製された脂肪細胞特異的CD1d KOマウスが別の研究室から報告されたが、結果はやはり、というべきか、逆であった(表1)¹⁰³⁾. 我々のA-cKOにおける結果と脂肪組織内での細胞動態などをまとめた(図8c).

12. マクロファージでのCD1d KO (M-cKO)

Mφおよび樹状細胞(dendritic cell: DC)は同じ骨髄球系であることもあり、LysM-creあるいはCD11-creで、CD1d発現が除去される集団は一部重複し、またLysM-creではMφでありながら、完全にはCD1d発現が除去できず、一部低下にとどまる集団もあった. ただし、M-cKO

由来骨髄細胞から誘導したMφ(bone marrow-derived Mφ: BMMφ)を抗原提示細胞として α -GalCerとiNKT細胞と培養した場合には、TNF- α , IFN- γ , IL-4などの産生は著明に減少し、CD1d発現量は機能的には十分低下していることを確認した. また、M-cKOとDC-cKOではCD1d除去範囲が一部重複しても結果は対照的であった(図9a). 結論的にいえばM-cKOでは内臓脂肪の環境はNKT1/Th1/M1の1型偏倚となり、体重は有意にWTより重いということとはなかったが、下回ることはなく、脂肪細胞のサイズは有意に大きく、肝臓への脂肪蓄積もM-cKO>WTであり、耐糖能、IRはM-cKOで悪化していた⁶⁵⁾. 一方、DC-cKOではM-cKOとは逆に体重はWTより低く推移し、耐糖能、IRはDC-cKOでWTより良好であった⁶⁵⁾. M-cKOでは内臓脂肪でのMφ細胞(CD11b⁺F4/80^{hi})の割合・実数とも対照群より有意に多かった. M1/M2サブセットでみると、M1亜群が多いわけではなかったが、M2亜群の割合が減少し、比ではM1優位となっていた. これらの結果は先行グルー

a) 体重推移・耐糖能・インスリン耐性 *M-cKO* vs *DC-cKO*

b) 内臓脂肪でのIL-12発現

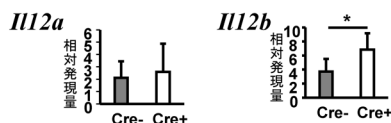
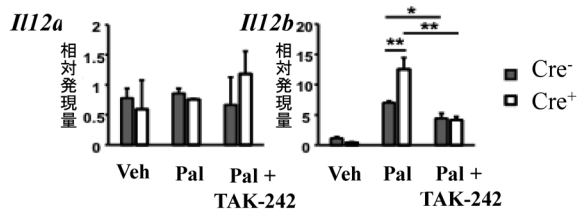
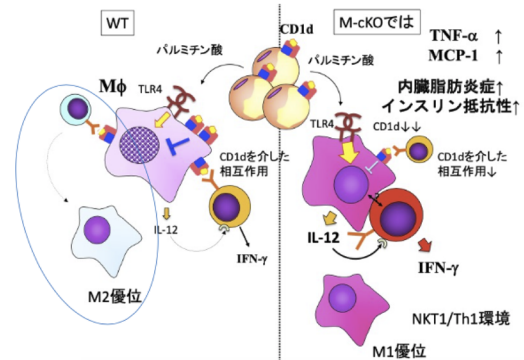
c) *M-cKO*由来BMMφでのIL-12発現d) WTと*M-cKO*脂肪組織(想像図)

図9 マクロファージ特異的および樹状細胞特異的CD1d KO (*M-cKO*, *DC-cKO*) におけるDIO

(a) 体重推移, 耐糖能, インスリン耐性. *M-cKO* vs *DC-cKO*. *M-cKO* (赤矢印) はWTより有意に体重が重いとはいえないが, WTを下回ることはない. 内臓脂肪の脂肪細胞サイズは有意に大である. また脂肪肝もWTよりも脂肪蓄積エリアが有意に大である. したがって, 耐糖能は $M-cKO < WT$ で, インスリン抵抗性は有意に $M-cKO > WT$ であった. 一方 *DC-cKO* (青矢印) では, 体重は $WT > DC-cKO$ で, その反映として耐糖能は *DC-cKO* がWTより良好で, インスリン耐性試験も同様であった. (b) *M-cKO* 内臓脂肪でのIL-12発現. *M-cKO* で *Il12b* が有意に高い. (c) 対照および *M-cKO* 骨髄由来マクロファージ (BMMφ) とTLR4リガンドとしてのパルミチン酸添加培養. 対照BMMφよりも *M-cKO* BMMφからの *Il12b* 発現が高く, TLR4阻害剤TAK-242で著明に低下した. またここには示さないがiNKTとMφの細胞接触がある方が *Il12b* の発現が多く, 溶液中のIFN-γ (iNKT細胞から) も高かった. (d) WTと *M-cKO* の脂肪組織 (想像図). *M-cKO* で内臓脂肪中のMφのCD1d発現が顕著に低下した場合に, 内臓脂肪の環境がいかにNKT1/Th1/M1側に偏倚するかを得られている結果から想像し図示した. しかし, NKT細胞と *M-cKO* Mφとの細胞接触でIL-12産生量が増加する相互作用に関わる分子は不明である. また, *M-cKO* MφにTLR4リガンドとしてのパルミチン酸を添加して, WT Mφよりも *Il12b* 発現が増加する点に関しCD1d分子を介したネガティブフィードバックなのか否か (本文参照) も未解決である.

プのものと一致していた¹⁰¹⁾.

この1型免疫偏倚を示す目的で, $CD4^+$ T細胞でT-bet⁺細胞の優勢, さらに $CD4^+$ T細胞の細胞内サイトカインを調べたところ, 肝・内臓脂肪でIFN-γ⁺, IFN-γ⁺/TNF-α⁺細胞が増加していた. また, iNKT細胞をRORγt⁺とT-betで展開してT-bet⁺ RORγt⁺ (NKT1), T-bet⁺ RORγt⁺ (NKT2) の画分を調べると, 内臓脂肪でNKT1の増加/NKT2の減少が, また細胞内IFN-γ⁺ iNKT細胞が増え, ソートiNKT細胞を刺激したときにIFN-γ, TNF-α産生が認められた⁶⁵⁾. この偏倚をもたらすものは何かを探る目的で, HFD給餌 *M-cKO* のBMMφのIL-12の構成サブユニットの遺伝子発現を調べたところ *Il12b* (*p40*) の発現が増強していた (図9b). *in vivo*でのMφを刺激する非病原微生物由来TLRリガンドと

して作用するものとしてパルミチン酸を想定し, *M-cKO* のBMMφを刺激すると *Il12b* の発現増強が観察された. この増強は, TLR4アンタゴニストTAK-242で阻害された (図9c). *M-cKO* BMMφとiNKT細胞をパルミチン酸(+)で共培養すると, 細胞間接触のある状態で培養した方が, *Il12b* の産生が増強した. また培養後非付着細胞のIFN-γ産生を調べると対照に比して増強が認められた. これらの結果をシェーマにまとめた (図9d) が, Mφ-iNKT細胞間の相互作用を仲介する分子など不明な点も多く, ここでも今後の詳細な検討が必要である.

13. NKT細胞の関与ではなくCD1dからのネガティブシグナリングが大切?

これまでNKT細胞自体の欠損や特定の組織や細胞におけるCD1d発現の除去により、その細胞とNKT細胞の相互作用がなくなることが、実験的自己免疫性炎症モデルやHFDの給餌によるDIOやIRにどのような影響を与えるか、を考察してきた。しかし、CD1d⁺抗原提示細胞-NKT細胞相互作用を考えずとも、逆に特定の細胞に発現するCD1d自体が、特に炎症時などに影響を与える可能性を示唆する論文が2020年に発表された¹⁰⁴⁾。すなわち、同じLysM-cre x *cd1d*^{fl/fl}を用いCD1dがマクロファージから除去されると、ドデシル硫酸ナトリウム (DSS) で誘導される腸炎に対してM-cKOが抵抗性になるという内容である。CD1dからの内在性シグナルが入らなくなりマクロファージへの炎症惹起時にインフラマソームの発現に影響を与えることでDSS腸炎が軽症化するというのである。この際に、CD1dに結合性のiNKT細胞リガンドでもあるiGb₃の誘導やCD1dへの結合もこのシグナル経路に関連し、それでいてNKT細胞の関与はないという結果であり謎である。ただ、M-cKOマクロファージに関するいくつかの結果については、マクロファージのCD1dからのネガティブシグナリングの欠損によって説明がつく可能性もあり、この経路についてもさらなる検討が必要と考えられた。

14. おわりに

二つのマウス疾患モデルにおけるNKT細胞の役割（あるいはCD1d分子それ自身かもしれない可能性）について紹介した。報告した研究室によらず同じ結果となる疾患（たとえばNKT細胞が促進的な役割の動脈硬化症）については、NKT細胞機能の抑制などが治療法の一つの候補となるかもしれない。しかし、研究者により帰結が逆となる結果は、それぞれの研究室での「正しい結果」と思われるが、その違いを生み出す原因がどこにあるかを明らかにしなければならない。さらにはJα18 KOとTRAJ18 KOの違いで生じた自研究室からの齟齬の究明も責務であり、この研究も回り道的ながらNKT細胞の機能発現の理解には必須であると考えている。

いずれにしても、がんについてはすでに先行しているように¹⁰⁵⁾、他の疾患でもいつかNKT細胞治療やリガンド・アンタゴニスト投与などが疾患治療の候補に上ることを願いたい。

これまで研究の遂行をご指導・ご協力下さいました、皆様（恩師から共同研究者、所属機関の教員・大学院生・学部卒業研究生などたくさんの方々がいまして書き切れません）にこの場をお借りして感謝申し上げます。

文 献

1) Klein, L., Kyewski, B., Allen, P.M., & Hogquist, K.A. (2014)

Positive and negative selection of the T cell repertoire: what thymocytes see (and don't see). *Nat. Rev. Immunol.*, **14**, 377–391.

2) Jameson, J., Witherden, D., & Havran, W.L. (2003) T-cell effector mechanisms: $\gamma\delta$ and CD1d-restricted subsets. *Curr. Opin. Immunol.*, **15**, 349–353.

3) Godfrey, D.I., MacDonald, H.R., Kronenberg, M., Smyth, M.J., & Van Kaer, L. (2004) NKT cells: what's in a name? *Nat. Rev. Immunol.*, **4**, 231–237.

4) Bendelac, A. (1995) Positive selection of mouse NK1⁺ T cells by CD1-expressing cortical thymocytes. *J. Exp. Med.*, **182**, 2091–2096.

5) Bendelac, A., Rivera, M.N., Park, S.-H., & Roark, J.H. (1997) Mouse CD1-specific NK1 T cells: Development, specificity, and function. *Annu. Rev. Immunol.*, **15**, 535–562.

6) Cui, J., Shin, T., Kawano, T., Sato, H., Kondo, E., Toura, I., Kaneko, Y., Koseki, H., Kanno, M., & Taniguchi, M. (1997) Requirement for Vα14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors. *Science*, **278**, 1623–1626.

7) Salio, M., Silk, J.D., Jones, E.Y., & Cerundolo, V. (2014) Biology of CD1- and MR1-restricted T cells. *Annu. Rev. Immunol.*, **32**, 323–366.

8) Li, W., Sofi, M.H., Rietdijk, S., Wang, N., Terhorst, C., & Chang, C.-H. (2007) The SLAM-associated protein signaling pathway is required for development of CD4⁺ T cells selected by homotypic thymocyte interaction. *Immunity*, **27**, 763–774.

9) White, A.J., Lucas, B., Jenkinson, W.E., & Anderson, G. (2018) Invariant NKT cells and control of the thymus medulla. *J. Immunol.*, **200**, 3333–3339.

10) McEwen-Smith, R.M., Salio, M., & Cerundolo, V. (2015) CD1d-dependent endogenous and exogenous lipid antigen presentation. *Curr. Opin. Immunol.*, **34**, 116–125.

11) Porcelli, S.A. (1995) The CD1 family: a third lineage of antigen-presenting molecules. *Adv. Immunol.*, **59**, 1–98.

12) Zajonc, D.M. (2014) CD1c caves in on lipids. *Nat. Immunol.*, **19**, 322–324.

13) De la Salle, H., Mariotti, S., Angenieux, C., Gilleron, M., Garcia-Alles, L.-F., Malm, D., Berg, T., Paoletti, S., Maître, B., Mournay, L., et al. (2005) Assistance of microbial glycolipid antigen processing by CD1e. *Science*, **310**, 1321–1324.

14) Bradbury, A., Belt, K.T., Neri, T.M., Milstein, C., & Calabi, F. (1988) Mouse CD1 is distinct from and co-exists with TL in the same thymus. *EMBO J.*, **7**, 3081–3086.

15) Warburton, R.J., Matsui, M., Rowland-Jones, S.L., Gammon, M.C., Katzenstein, G.E., Wei, T., Edidin, M., Zwerink, H.J., McMichael, A.J., & Frelinger, J.A. (1994) Mutation of the alpha 2 domain disulfide bridge of the class I molecule HLA-A*0201. Effect on maturation and peptide presentation. *Hum. Immunol.*, **39**, 261–271.

16) Chen, Y.-H., Wang, B., Chun, T., Zhao, L., Cardell, S., Behar, S.M., Brenner, M.B., & Wang, C.-R. (1999) Expression of CD1d2 on thymocytes is not sufficient for the development of NK T cells in CD1d1-deficient mice. *J. Immunol.*, **162**, 4560–4566.

17) Sundararaj, S., Zhang, J., Krovi, S.H., Bedel, R., Tuttle, K.D., Veerapen, N., Besra, G.S., Khandokar, Y., Praveena, T., Le Nours, J., et al. (2018) Differing roles of CD1d2 and CD1d1 proteins in type I natural killer T cell development and function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, E1204–E1213.

18) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/12479>

19) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/12480>

20) Natori, T., Akimoto, K., Motoki, K., Koezuka, Y., & Higa, T.

- (1997) Development of KRN7000, derived from agelasphin produced by Okinawan sponge. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **110**(Suppl 1), 63–68.
- 21) Kawano, T., Cui, J., Koezuka, Y., Toura, I., Kaneko, Y., Motoki, K., Ueno, H., Nakagawa, R., Sato, H., Kondo, E., et al. (1997) CD1d-restricted and TCR-mediated activation of V α 14 NKT cells by glycosylceramides. *Science*, **278**, 1626–1629.
 - 22) Tashiro, T., Sekine-Kondo, E., Shigeura, T., Nakagawa, R., Inoue, S., Omori-Miyake, M., Chiba, T., Hongo, N., Fujii, S., Shimizu, K., et al. (2010) Induction of Th1-biased cytokine production by α -carba-GalCer, a neoglycolipid ligand for NKT cells. *Int. Immunol.*, **22**, 319–328.
 - 23) Miyamoto, K., Miyake, S., & Yamamura, T. (2001) A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing TH2 bias of natural killer T cells. *Nature*, **413**, 531–534.
 - 24) Zhou, D., Mattner, J., Cantu, C. 3rd, Schrantz, N., Yin, N., Gao, Y., Sagiv, Y., Hudspeth, K., Wu, Y.P., Yamashita, T., et al. (2004) Lysosomal glycosphingolipid recognition by NKT cells. *Science*, **306**, 1786–1789.
 - 25) Wieland-Brown, L.C., Penaranda, C., Kashyap, P.C., Williams, B.B., Clardy, J., Kronenberg, M., Sonnenburg, J.L., Comstock, L.E., Bluestone, J.A., & Fischbach, M.A. (2013) Production of α -galactosylceramide by a prominent member of human gut microbiota. *PLoS Biol.*, **11**, e1001610.
 - 26) An, D., Oh, S.F., Olszak, T., Neves, J.F., Avci, F.Y., Erturk-Hasdemir, D., Lu, X., Zeissig, S., Blumberg, R.S., & Kasper, D.L. (2014) Sphingolipids from a symbiotic microbe regulate homeostasis of host intestinal natural killer T cells. *Cell*, **156**, 123–133.
 - 27) Borg, N.A., Wun, K.S., Kjer-Nielsen, L., Wilce, M.C., Pellicci, D.G., Koh, R., Besra, G.S., Bharadwaj, M., Godfrey, D.I., McCluskey, J., et al. (2007) CD1d-lipid-antigen recognition by the semi-invariant NKT T-cell receptor. *Nature*, **448**, 44–49.
 - 28) Kinjo, Y., Wu, D., Kim, G., Xing, G.W., Poles, M.A., Ho, D.D., Tsuji, M., Kawahara, K., Wong, C.H., & Kronenberg, M. (2005) Recognition of bacterial glycosphingolipids by natural killer T cells. *Nature*, **434**, 520–525.
 - 29) Mattner, J., Debord, K.L., Ismail, N., Goff, R.D., Cantu, C. 3rd, Zhou, D., Saint-Mezard, P., Wang, V., Gao, Y., Yin, N., et al. (2005) Exogenous and endogenous glycolipid antigens activate NKT cells during microbial infections. *Nature*, **434**, 525–529.
 - 30) Kinjo, Y., Tupin, E., Wu, D., Fujio, M., Garcia-Navarro, R., Benhnia, M.R., Zajonc, D.M., Ben-Menachem, G., Ainge, G.D., Painter, G.F., et al. (2006) Natural killer T cells recognize diacylglycerol antigens from pathogenic bacteria. *Nat. Immunol.*, **7**, 978–986.
 - 31) Kinjo, Y., Illarionov, P., Vela, J.L., Pei, B., Girardi, E., Li, X., Li, Y., Imamura, M., Kaneko, Y., Okawara, A., et al. (2011) Invariant natural killer T cells recognize glycolipids from pathogenic Gram-positive bacteria. *Nat. Immunol.*, **12**, 966–974.
 - 32) Behar, S.M. & Porcelli, S.A. (2007) CD1-restricted T cells in host defense to infectious diseases. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **314**, 215–250.
 - 33) Inuki, S., Hirata, N., Kashiwabara, E., Kishi, J., Aiba, T., Teratani, T., Nakamura, W., Kojima, Y., Maruyama, T., Kanai, T., et al. (2020) Polar functional group-containing glycolipid CD1d ligands modulate cytokine-biasing responses and prevent experimental colitis. *Sci. Rep.*, **10**, 15766.
 - 34) Saavedra-Avila, N.A., Keshipeddy, S., Guberman-Pfeffer, M.J., Pérez-Gallegos, A., Saini, N.K., Schäfer, C., Carreño, L.J., Gascón, J.A., Porcelli, S.A., & Howell, A.R. (2020) Amide-Linked C4"-saccharide modification of KRN7000 provides potent stimulation of human invariant NKT cells and anti-tumor immunity in a humanized mouse model. *ACS Chem. Biol.*, **15**, 3176–3186.
 - 35) Zajonc, D.M., Maricic, I., Wu, D., Halder, R., Roy, K., Wong, C.H., Kumar, V., & Wilson, I.A. (2005) Structural basis for CD1d presentation of a sulfatide derived from myelin and its implications for autoimmunity. *J. Exp. Med.*, **202**, 1517–1526.
 - 36) Roy, K.C., Maricic, I., Khurana, A., Smith, T.R.F., Halder, R.C., & Kumar, V. (2008) Involvement of secretory and endosomal compartments in presentation of an exogenous self-glycolipid to type II NKT cells. *J. Immunol.*, **180**, 2942–2950.
 - 37) Brutkiewicz, R.R. (2006) CD1d ligands: The good, the bad, and the ugly. *J. Immunol.*, **177**, 769–775.
 - 38) Tashiro, T. (2012) Structure–activity relationship studies of novel glycosphingolipids that stimulate natural killer T-cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **76**, 1055–1067.
 - 39) Matsuda, J.L., Mallevaey, T., Scott-Browne, J., & Gapin, L. (2008) CD1d-restricted iNKT cells, the ‘Swiss-Army knife’ of the immune system. *Curr. Opin. Immunol.*, **20**, 358–368.
 - 40) Nyambayar, D., Iwabuchi, K., Hedlund, E., Murakawa, S., Shirai, K., Iwabuchi, C., Kon, Y., Miyazaki, Y., Yanagawa, Y., & Onoé, K. (2007) Characterization of NKT-cell hybridomas expressing invariant T-cell antigen receptors. *J. Clin. Exp. Hematop.*, **47**, 1–8.
 - 41) Satoh, M., Saeki, M., Yoshino, K., Mita, K., Iizuka, M., Hattori, A., Takeuchi, E., Eshima, K., & Iwabuchi, K. (2020) *De novo* generation of CD1d1-deficient NKT-cell hybridomas from CD1d^{-/-} mice or by gene editing of CD1⁺ hybridomas. *Kitasato Med. J.*, **50**, 34–43.
 - 42) Hogquist, K. & Georgiev, H. (2020) Recent advances in iNKT cell development. *F1000 Res.*, **9**, F1000 Faculty Rev-127.
 - 43) Lim, J.Y., Park, M.J., Im, K.I., Kim, N., Jeon, E.J., Kim, E.J., Cho, M.L., & Cho, S.G. (2014) Combination cell therapy using mesenchymal stem cells and regulatory T-cells provides a synergistic immunomodulatory effect associated with reciprocal regulation of Th1/Th2 and Th17/Treg cells in a murine acute graft-versus-host disease model. *Cell Transplant.*, **23**, 703–714.
 - 44) Zindel, J. & Kubes, P. (2020) DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu. Rev. Pathol.*, **15**, 493–518.
 - 45) Ota, T., Takeda, K., Akiba, H., Hayakawa, Y., Ogasawara, K., Ikarashi, Y., Miyake, S., Wakasugi, H., Yamamura, T., Kronenberg, M., et al. (2005) IFN- γ mediated negative feedback regulation of NKT-cell function by CD94/NKG2. *Blood*, **106**, 184–192.
 - 46) Minami, K., Yanagawa, Y., Iwabuchi, K., Shinohara, N., Hara-bayashi, T., Nonomura, K., & Onoé, K. (2005) Negative feedback regulation of T helper type 1 (Th1)/Th2 cytokine balance via dendritic cell and natural killer T cell interactions. *Blood*, **106**, 1685–1693.
 - 47) Vesper, H., Schmelz, E.M., Nikolova-Karakashian, M.N., Dillehay, D.L., Lynch, D.V., & Merrill, A.H. Jr. (1999) Sphingolipids in food and the emerging importance of sphingolipids to nutrition. *J. Nutr.*, **129**, 1239–1250.
 - 48) Nozaki, H., Itonori, S., Sugita, M., Nakamura, K., Ohba, K., Ohnishi, M., Imai, K., Igarashi, Y., Suzuki, A., & Kushi, Y. (2010) Invariant V α 14 natural killer T cell activation by edible mushroom acidic glycosphingolipids. *Biol. Pharm. Bull.*, **33**, 580–584.

- 49) Dahl, Å. (2018) Pollen lipids can play a role in allergic airway inflammation. *Front. Immunol.*, **9**, 2816.
- 50) Kawahara, K., Kuraishi, H., & Zähringer, U. (1999) Chemical structure and function of glycosphingolipids of *Sphingomonas spp* and their distribution among members of the α -4 subclass of *Proteobacteria*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 408–413.
- 51) Finkelman, F.D., Yang, M., Orekhova, T., Clyne, E., Bernstein, J., Whitekus, M., Diaz-Sanchez, D., & Morris, S.C. (2004) Diesel exhaust particles suppress in vivo IFN- γ production by inhibiting cytokine effects on NK and NKT cells. *J. Immunol.*, **172**, 3808–3813.
- 52) Oh, S.F., Praveena, T., Song, H., Yoo, J.S., Jung, D.J., Erturk-Hasdemir, D., Hwang, Y.S., Lee, C.C., Le Nours, J., Kim, H., et al. (2021) Host immunomodulatory lipids created by symbionts from dietary amino acids. *Nature*, **600**, 302–307.
- 53) Yu, K.O.A. & Porcelli, S.A. (2005) The diverse function of CD1d-restricted NKT cells and their potential for immunotherapy. *Immunol. Lett.*, **100**, 42–55.
- 54) Iwabuchi, K. & Van Kaer, L. eds.(2019) Role of CD1- and MR1-restricted T cells in Immunity and Disease. pp.427, Frontiers Media (Lausanne).
- 55) Satoh, M., Namba, K.-i., Kitaichi, N., Endo, N., Kitamei, H., Iwata, D., Ohno, S., Ishida, S., Onoé, K., Watarai, H., et al. (2016) Invariant natural killer T cells play dual roles in the development of experimental autoimmune uveoretinitis. *Exp. Eye Res.*, **153**, 79–89.
- 56) Tajiri, N., Kato, T., Satoh, M., Iizuka, M., Taniguchi, M., Kitaichi, N., & Iwabuchi, K. (2021) The protective function of invariant natural killer T cells in the relapse of experimental autoimmune uveoretinitis. *Exp. Eye Res.*, **203**, 108406.
- 57) Sobirin, M.A., Kinugawa, S., Takahashi, M., Fukushima, A., Homma, T., Ono, T., Hirabayashi, K., Suga, T., Azalia, P., Takada, S., et al. (2012) Activation of natural killer T cells ameliorates postinfarct cardiac remodeling and failure in mice. *Circ. Res.*, **111**, 1037–1047.
- 58) Homma, T., Kinugawa, S., Takahashi, M., Sobirin, M.A., Saito, A., Fukushima, A., Suga, T., Takada, S., Kadoguchi, T., Masaki, Y., et al. (2013) Activation of invariant natural killer T cells by α -galactosylceramide ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **62**, 179–188.
- 59) Takahashi, M., Kinugawa, S., Takada, S., Kakutani, N., Furihata, T., Sobirin, M.A., Fukushima, A., Obata, Y., Saito, A., Ishimori, N., et al. (2020) The disruption of invariant natural killer T cells exacerbates cardiac hypertrophy and failure caused by pressure overload in mice. *Exp. Physiol.*, **105**, 489–501.
- 60) Saito, A., Ishimori, N., Tokuhara, S., Homma, T., Nishikawa, M., Iwabuchi, K., & Tsutsui, H. (2021) Activation of invariant natural killer T cells by α -galactosylceramide attenuates the development of angiotensin II-mediated abdominal aortic aneurysm in obese *ob/ob* mice. *Front. Cardiovasc. Med.*, **8**, 659418.
- 61) Takagi, D., Iwabuchi, K., Maeda, M., Nakamaru, Y., Furuta, Y., Fukuda, S., Van Kaer, L., Nishihira, J., & Onoé, K. (2006) Natural killer T cells ameliorate antibody-induced arthritis in macrophage migration inhibitory factor transgenic mice. *Int. J. Mol. Med.*, **18**, 829–836.
- 62) Ohmura, K., Ishimori, N., Ohmura, Y., Tokuhara, S., Nozawa, A., Horii, S., Andoh, Y., Fujii, S., Iwabuchi, K., Onoé, K., et al. (2010) Natural killer T cells are involved in adipose tissues inflammation and glucose intolerance in diet-induced obese mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **30**, 193–199.
- 63) Satoh, M., Andoh, Y., Clingan, C.S., Ogura, H., Fujii, S., Eshima, K., Nakayama, T., Taniguchi, M., Hirata, N., Ishimori, N., et al. (2012) Type II NKT cells stimulate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation, steatohepatitis and insulin resistance. *PLoS One*, **7**, e30568.
- 64) Satoh, M., Hoshino, M., Fujita, K., Iizuka, M., Fujii, S., Clingan, C.S., Van Kaer, L., & Iwabuchi, K. (2016) Adipocyte-specific CD1d-deficiency mitigates diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Sci. Rep.*, **6**, 28473.
- 65) Satoh, M., Iizuka, M., Majima, M., Ohwa, C., Hattori, A., Van Kaer, L., & Iwabuchi, K. (2022) Adipose invariant NKT cells interact with CD1d-expressing macrophages to regulate obesity-related inflammation. *Immunology*, **165**, 414–427.
- 66) Diao, H., Kon, S., Iwabuchi, K., Kimura, C., Morimoto, J., Ito, D., Segawa, T., Maeda, M., Hamuro, J., Nakayama, T., et al. (2004) Osteopontin as a mediator of NKT cell function in T cell-mediated liver diseases. *Immunity*, **21**, 539–550.
- 67) Wei, Y., Zeng, B., Chen, J., Cui, G., Lu, C., Wu, W., Yang, J., Wei, H., Xue, R., Bai, L., et al. (2016) Enterogenous bacterial glycolipids are required for the generation of natural killer T cells mediated liver injury. *Sci. Rep.*, **6**, 36365.
- 68) Nakai, Y., Iwabuchi, K., Fujii, S., Ishimori, N., Dashtsoodol, N., Watano, K., Mishima, T., Iwabuchi, C., Tanaka, S., Bezbradica, J.S., et al. (2004) Natural killer T cells accelerate atherogenesis in mice. *Blood*, **104**, 2051–2059.
- 69) Andoh, Y., Ogura, H., Satoh, M., Shimano, K., Okuno, H., Fujii, S., Ishimori, N., Eshima, K., Tamauchi, H., Otani, T., et al. (2003) Natural killer T cells are required for lipopolysaccharide-mediated enhancement of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Immunobiology*, **218**, 561–569.
- 70) Caspi, R.R., Roberge, F.G., Chan, C.C., Wiggert, B., Chader, G.J., Rozenszajn, L.A., Lando, Z., & Nussenblatt, R.B. (1988) A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J. Immunol.*, **140**, 1490–1495.
- 71) Thureau, S.R., Chan, C.C., Nussenblatt, R.B., & Caspi, R.R. (1997) Oral tolerance in a murine model of relapsing experimental autoimmune uveoretinitis (EAU): induction of protective tolerance in primed animals. *Clin. Exp. Immunol.*, **109**, 370–376.
- 72) Kohno, H., Sakai, T., Tsuneoka, H., Imanishi, K., & Saito, S. (2009) Staphylococcal enterotoxin B is involved in aggravation and recurrence of murine experimental autoimmune uveoretinitis via $V\beta 8^+CD4^+$ T cells. *Exp. Eye Res.*, **89**, 486–493.
- 73) Nieuwenhuis, E.E., Matsumoto, T., Exley, M., Schleipman, R.A., Glickman, J., Bailey, D.T., Corazza, N., Colgan, S.P., Onderdonk, A.B., & Blumberg, R.S. (2002) CD1d-dependent macrophage-mediated clearance of *Pseudomonas aeruginosa* from lung. *Nat. Med.*, **8**, 588–593.
- 74) Kinjo, T., Nakamatsu, M., Nakasone, C., Yamamoto, N., Kinjo, Y., Miyagi, K., Uezu, K., Nakamura, K., Higa, F., Tateyama, M., et al. (2006) NKT cells play a limited role in the neutrophilic inflammatory responses and host defense to pulmonary infection with *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbes Infect.*, **8**, 2679–2685.
- 75) Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S., & Spiegelman, B.M. (1993) Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, **259**, 87–91.
- 76) Xu, H., Barnes, G.T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C.J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J.S., Tartaglia, L.A., et al. (2003) Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the develop-

- ment of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, **112**, 1821–1830.
- 77) Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M., Otsu, M., Hara, K., Ueki, K., Sugiura, S., et al. (2009) CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.*, **15**, 914–920.
 - 78) Winer, S., Chan, Y., Paltser, G., Truong, D., Tsui, H., Bahrami, J., Dorfman, R., Wang, Y., Zielenski, J., Mastronardi, F., et al. (2009) Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat. Med.*, **15**, 921–929.
 - 79) Feuerer, M., Herrero, L., Cipolletta, D., Naaz, A., Wong, J., Nayer, A., Lee, J., Goldfine, A.B., Benoist, C., Shoelson, S., et al. (2009) Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat. Med.*, **15**, 930–939.
 - 80) Lumeng, C.N., Bodzin, J.L., & Saltiel, A.R. (2007) Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.*, **117**, 175–184.
 - 81) Wu, D., Molofsky, A.B., Liang, H.E., Ricardo-Gonzalez, R.R., Jouihan, H.A., Bando, J.K., Chawla, A., & Locksley, R.M. (2011) Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science*, **332**, 243–247.
 - 82) Mantell, B.S., Stefanovic-Racic, M., Yang, X., Dedousis, N., Sipula, I.J., & O'Doherty, R.M. (2011) Mice lacking NKT cells but with a complete complement of CD8⁺ T-cells are not protected against the metabolic abnormalities of diet-induced obesity. *PLoS One*, **6**, e19831.
 - 83) Kotas, M.E., Lee, H.Y., Gillum, M.P., Annicelli, C., Guigni, B.A., Shulman, G.I., & Medzhitov, R. (2011) Impact of CD1d deficiency on metabolism. *PLoS One*, **6**, e25478.
 - 84) Wu, L., Parekh, V.V., Gabriel, C.L., Bracy, D.P., Marks-Shulman, P.A., Tamboli, R.A., Kim, S., Mendez-Fernandez, Y.V., Besra, G.S., Lomenick, J.P., et al. (2012) Activation of invariant natural killer T cells by lipid excess promotes tissue inflammation, insulin resistance, and hepatic steatosis in obese mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, E1143–E1152.
 - 85) Subramanian, S., Turner, M.S., Ding, Y., Goodspeed, L., Wang, S., Buckner, J.H., O'Brien, K., Getz, G.S., Reardon, C.A., & Chait, A. (2013) Increased levels of invariant natural killer T lymphocytes worsen metabolic abnormalities and atherosclerosis in obese mice. *J. Lipid Res.*, **54**, 2831–2841.
 - 86) Ji, Y., Sun, S., Xu, A., Bhargava, P., Yang, L., Lam, K.S.L., Gao, B., Lee, C.-H., Kersten, S., & Qi, L. (2012) Activation of natural killer T cells promotes M2 macrophage polarization in adipose tissue and improves systemic glucose tolerance via the IL-4/STAT6 signaling axis in obesity. *J. Biol. Chem.*, **287**, 13561–13571.
 - 87) Lynch, L., Nowak, M., Varghese, B., Clark, J., Hogan, A.E., Toxavidis, V., Balk, S.P., O'Shea, D., O'Farrelly, C., & Exley, M.A. (2012) Adipose tissue invariant NKT cells protect against diet-induced obesity and metabolic disorder through regulatory cytokine production. *Immunity*, **37**, 574–587.
 - 88) Schipper, H.S., Rakhshandehroo, M., van de Graaf, S.F., Venken, K., Koppen, A., Stienstra, R., Prop, S., Meeding, J., Hamers, N., Besra, G., et al. (2012) Natural killer T cells in adipose tissue prevent insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, **122**, 3343–3354.
 - 89) Strodthoff, D., Lundberg, A.M., Agardh, H.E., Ketelhuth, D.F., Paulsson-Berne, G., Arner, P., Hansson, G.K., & Gerdes, N. (2013) Lack of invariant natural killer T cells affects lipid metabolism in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **33**, 1189–1196.
 - 90) Bedel, R., Matsuda, J.L., Brigl, M., White, J., Kappler, J., Marrack, P., & Gapin, L. (2012) Lower TCR repertoire diversity in Tcr18-deficient mice. *Nat. Immunol.*, **13**, 705–706.
 - 91) Ren, Y., Sekine-Kondo, E., Shibata, R., Kato-Itou, M., Umino, A., Yanagida, A., Satoh, M., Inoue, K., Yamaguchi, T., Mochida, K., et al. (2017) A novel mouse model of iNKT cell deficiency generated by CRISPR/Cas9 reveals a pathogenic role of iNKT cells in metabolic disease. *Sci. Rep.*, **7**, 12765.
 - 92) Lynch, L., Michelet, X., Zhang, S., Brennan, P.J., Moseman, A., Lester, C., Besra, G., Vomhof-Dekrey, E.E., Tighe, M., Koay, H.F., et al. (2015) Regulatory iNKT cells lack expression of the transcription factor PLZF and control the homeostasis of T(reg) cells and macrophages in adipose tissue. *Nat. Immunol.*, **16**, 85–95.
 - 93) Lynch, L., Hogan, A.E., Duquette, D., Lester, C., Banks, A., LeClair, K., Cohen, D.E., Ghosh, A., Lu, B., Corrigan, M., et al. (2016) iNKT cells induce FGF21 for thermogenesis and are required for maximal weight loss in GLP1 therapy. *Cell Metab.*, **24**, 510–519.
 - 94) LaMarche, N.M., Kane, H., Kohlgruber, A.C., Dong, H., Lynch, L., & Brenner, M.B. (2020) Distinct iNKT cell populations use IFN γ or ER stress-induced IL-10 to control adipose tissue homeostasis. *Cell Metab.*, **32**, 243–258.
 - 95) 日本食品標準成分表2020年版（八訂）。文部科学省
 - 96) Nieuwenhuis, E.E., Matsumoto, T., Lindenbergh, D., Willemsen, R., Kaser, A., Simons-Oosterhuis, Y., Brugman, S., Yamaguchi, K., Ishikawa, H., Aiba, Y., et al. (2009) Cd1d-dependent regulation of bacterial colonization in the intestine of mice. *J. Clin. Invest.*, **119**, 1241–1250.
 - 97) Bai, L., Constantinides, M.G., Thomas, S.Y., Reboulet, R., Meng, F., Koentgen, F., Teyton, L., Savage, P.B., & Bendelac, A. (2012) Distinct APCs explain the cytokine bias of α -galactosylceramide variants *in vivo*. *J. Immunol.*, **188**, 3053–3061.
 - 98) Wang, Z.V., Deng, Y., Wang, Q.A., Sun, K., & Scherer, P.E. (2010) Identification and characterization of a promoter cassette conferring adipocyte-specific gene expression. *Endocrinology*, **151**, 2933–2939.
 - 99) Clausen, B.E., Burkhardt, C., Reith, W., Renkawitz, R., & Förster, I. (1999) Conditional gene targeting in macrophages and granulocytes using LysMcre mice. *Transgenic Res.*, **8**, 265–277.
 - 100) Stranges, P.B., Watson, J., Cooper, C.J., Choisy-Rossi, C.M., Stonebraker, A.C., Beighton, R.A., Hartig, H., Sundberg, J.P., Servick, S., Kaufmann, G., et al. (2007) Elimination of antigen-presenting cells and autoreactive T cells by Fas contributes to prevention of autoimmunity. *Immunity*, **26**, 629–641.
 - 101) Zhang, H., Xue, R., Zhu, S., Fu, S., Chen, Z., Zhou, R., Tian, Z., & Bai, L. (2018) M2-specific reduction of CD1d switches NKT cell-mediated immune responses and triggers metaflammation in adipose tissue. *Cell. Mol. Immunol.*, **15**, 506–517.
 - 102) Saxton, S.N., Heagerty, A.M., & Withers, S.B. (2020) Perivascular adipose tissue: An immune cell metropolis. *Exp. Physiol.*, **105**, 1440–1443.
 - 103) Huh, J.Y., Park, J., Kim, J.I., Park, Y.J., Lee, Y.K., & Kim, J.B. (2017) Deletion of CD1d in adipocytes aggravates adipose tissue inflammation and insulin resistance in obesity. *Diabetes*, **66**, 835–847.
 - 104) Cui, S., Wang, C., Bai, W., Li, J., Pan, Y., Huang, X., Yang, H., Feng, Z., Xiang, Q., Fei, L., et al. (2020) CD1d1 intrinsic signaling in macrophages controls NLRP3 inflammasome

expression during inflammation. *Sci. Adv.*, **6**, eaaz7290.

- 105) Toyoda, T., Kamata, T., Tanaka, K., Ihara, F., Takami, M., Suzuki, H., Nakajima, T., Ikeuchi, T., Kawasaki, Y., Hanaoka, H., et al. (2020) Phase II study of α -galactosylceramide-pulsed

antigen-presenting cells in patients with advanced or recurrent non-small cell lung cancer. *J. Immunother. Cancer*, **8**, e000316.

著者寸描

●岩渕 和也 (いわぶち かずや)



北里大学名誉教授. 医学博士.

■略歴 1956年札幌市に生る. 82年北海道大学医学部卒業. 86年同大学院博士課程修了, 免疫科学研究所病理部門助手. 89~91年米国ワシントン大学ハワードヒューズ医学研究所 (HHMI@St.Louis) 留学. 99年北海道大学助教授. 2010年北里大学医学部免疫学教授. 18~20年同大学院医療系研究科長. 22年同退職.

■研究テーマと抱負 生化学会誌にNKT細胞について書けることは望外の幸せですが, 書きながらももう少し詳細なメカニズムを明らかに出来ていればと後悔頻りです. それらの解明は免疫学教室在籍の佐藤雅講師にバトンをパスしました.

■ウェブサイト <https://www.med.kitasato-u.ac.jp/lab/immunology/> (在職時)

■趣味 料理.