

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：83901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19461

研究課題名（和文）代謝調節を介してT細胞活性化閾値を改善する新機軸の難治性腫瘍に対する治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel therapeutic approach for refractory tumors that improves the T-cell activation threshold through metabolic modulation

研究代表者

村岡 大輔（Muraoka, Daisuke）

愛知県がんセンター（研究所）・腫瘍免疫制御TR分野・ユニット長

研究者番号：20608955

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：T細胞の活性化や分化制御に細胞内代謝が関与していることが報告されており、T細胞の活性化には抗原刺激後の解糖系の亢進が必須である。しかし、抗原刺激後の解糖系亢進を惹起する真に鍵となる機構については明らかにされていない。我々は、弱い抗原刺激下においても化合物によりミトコンドリアを刺激することで解糖系が亢進されT細胞の活性化が導かれることを明らかにしてきた。本申請研究では、当化合物の電子伝達系活性化による解糖系亢進作用をモデルとして、「どのようなシグナル分子が解糖系の亢進に関わるのか」を明らかにすることを目指し検討した。その結果、T細胞の代謝変化には細胞間相互作用が関わる可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

T細胞の活性化には抗原刺激後の解糖系の亢進が必須です。しかし、抗原刺激後の解糖系亢進を惹起する機構については完全には明らかにされていません。そこで、我々は、弱い抗原刺激を受けたT細胞においてミトコンドリアを刺激して解糖系を亢進する化合物を用いてこれを明らかにすることを目指しました。その結果、化合物を用いるとT細胞の細胞間相互作用に関する分子に変化があることがわかりました。細胞の代謝と細胞間相互作用に関する報告は少なく、今後の展開が期待されます。

研究成果の概要（英文）：It has been reported that intracellular metabolism is involved in the activation and differentiation of T cells, and that the enhancement of glycolysis after antigen stimulation is essential for T cell activation. However, the key mechanisms that trigger this glycolytic enhancement following antigen stimulation remain unclear. We have demonstrated that even under weak antigen stimulation, stimulating mitochondria with our compounds can enhance glycolysis and lead to T cell activation. In this research proposal, we aimed to investigate the involvement of signaling molecules in the enhancement of the glycolytic pathway induced by activation of the compound's electron transfer system. As a result, our findings suggest the potential involvement of cell-cell interactions in the metabolic changes observed in T cells.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：代謝 抗原提示 キラーT細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

T 細胞の活性化や分化制御に細胞内代謝が関与していることが報告されている。例えば、休止期にあるナイーブ T 細胞やメモリー T 細胞はミトコンドリアの酸化的リン酸化や脂肪酸酸化に依存してエネルギー (ATP) を合成するが、抗原刺激を受けた T 細胞は、急速な ATP 需要を賄う為、解糖系を亢進させる。この抗原刺激後の解糖系の亢進は、T 細胞の活性化に必須である。しかし、これには、PKD や PI3K、mTOR/AKT シグナルが関与していることが報告されているが、抗原刺激後の解糖系亢進を惹起する真に鍵となる機構については明らかにされていない。

2. 研究の目的

我々は、弱い抗原刺激下においても T 細胞の活性化を導く新規化合物 (以下、化合物 A) を同定し解析を進め、以下の 4 点を見出した。 抗原刺激が弱いと電子伝達系の活性化が不足し、解糖系が亢進しない。しかし、同定化合物 A は素早くミトコンドリアの電子伝達系を活性化しこれに伴い、解糖系が強く亢進する。その結果、抗原刺激が不十分な T 細胞でも活性化される。以上より、本研究では、化合物 A の電子伝達系活性化による解糖系亢進作用をモデルとして、「どの様なシグナル分子が解糖系の亢進に関わるのか」を明らかにすることを旨とする。

3. 研究の方法

ERK1/2 蛋白質の変異に由来する 9m 抗原に対する TCR を発現する DUC18TCR 遺伝子操作 (Tg) マウスより脾臓細胞を回収し、9 抗原ペプチドにて弱く抗原刺激を与えた。その後、細胞を回収し RNA を抽出後 RNA-seq 解析を実施した。

4. 研究成果

化合物 A 処理直後の細胞内変化を明らかにする為、網羅的遺伝子発現解析を行った。マウス由来 CD8 陽性 T 細胞を抗原にて弱く刺激し、その際の化合物 A 処理がどのような遺伝子の発現変化を導くかを検討した。PCA 解析により、化合物 A が遺伝子発現変化を導くことが確認できた (図 1)。また、その時、化合物 A 処理により 70 遺伝子の発現が上昇し 43 遺伝子の発現が有意に減少することも明らかにした (図 2)。

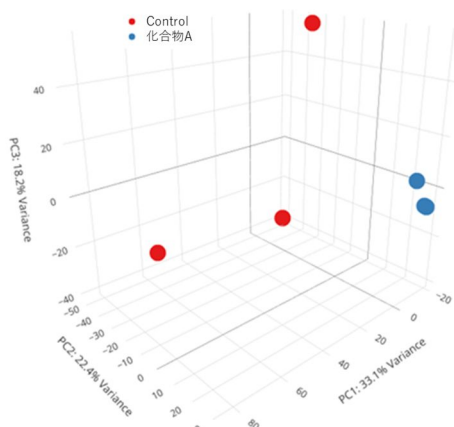


図 1. PCA 解析

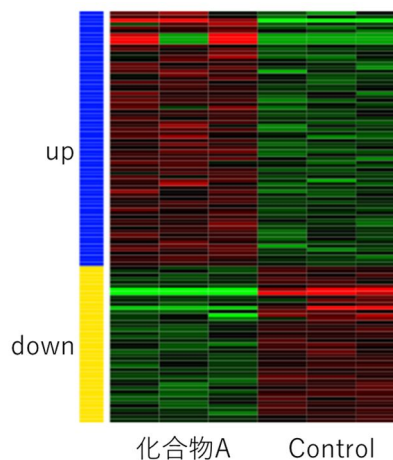


図 2. 発現が変化した遺伝子のヒートマップ

次に発現変化があった遺伝子がどのような生物学的プロセスに関与する遺伝子かを明らかにする為 Gene Ontology 解析を行った。その結果、発現が上昇した遺伝子には Cell adhesion や Cell activation などに関わる遺伝子が多く含まれることが分かった (図 3)。さらに、発現変化があった遺伝子を詳細に検討する為、化合物 A 処理有り無しにおける Volcano Plot 解析を行った。その結果、化合物 A 処理により STK4 や Prmt9 の発現が減少すると共に、Ndufv3 や Skap1、CD83 の発現が上昇することが明らかになった (図 4)。

Direction	adj.Pval	nGenes	Pathways
Up regulated	1.8e-03	10	Cell-cell adhesion
	3.0e-03	4	Positive regulation of B cell proliferation
	4.2e-03	11	Cell adhesion
	4.2e-03	11	Biological adhesion
	5.2e-03	9	Regulation of cell adhesion
	7.3e-03	7	Leukocyte cell-cell adhesion
	7.3e-03	7	Regulation of cell-cell adhesion
	7.3e-03	8	Regulation of cell activation
	9.9e-03	5	Regulation of B cell activation

図 3. Gene Ontology 解析

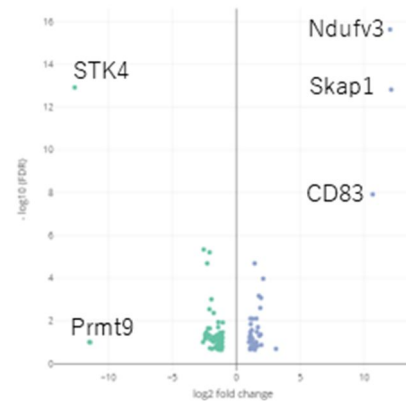


図 4. Volcano Plot 解析

考察

今回、化合物 A 処理にて優位に SKAP1 の発現が変動していた。SKAP1 は T 細胞の細胞間相互作用に重要なインテグリン LFA-1 のシグナルに関わるとの報告がある。つまり、化合物 A が LFA-1 を介した細胞間相互作用に何らかの関与をしている可能性が考えられる。現在まで、細胞間相互作用と代謝の変化については詳細な報告は存在せず、今後解析を進めることで、新たな切り口の代謝制御機構が明らかになるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Daisuke Muraoka, Yosuke Dotsu, Naohisa Ogo, Yudai Sonoda, Hideo Yagita, Hirokazu Matsushita, Akira Asai, Hiroaki Ikeda
2. 発表標題 Chemical augmentation of mitochondrial electron transport chains tunes T-cell activation threshold in tumors
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 道津洋介、村岡大輔、園田祐大、小郷尚久、浅井章良、八木田秀雄、迎 寛、池田裕明
2. 発表標題 ミトコンドリア電子伝達系を介してT細胞の活性化閾値を改善する新基軸代謝化合物を用いたがん免疫療法の開発
3. 学会等名 第26回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------