

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04086

研究課題名(和文) T細胞代謝リプログラミングによる免疫応答制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulatory mechanism of immune response through metabolic reprogramming of T lymphocytes

研究代表者

山下 政克 (Yamashita, Masakatsu)

愛媛大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00311605

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：これまで、T細胞の活性化や機能における代謝の重要性は分かっていたが、代謝経路の相互作用や制御メカニズムは解明されていなかった。また、免疫応答における代謝の重要性のin vivoでの解析は遅れていた。今回、解糖系酵素であるT細胞特異的なPgam1欠損マウスを用いて、解糖系の活性化がT細胞機能の発揮、T細胞依存的免疫応答の誘導に必要であることを示した。さらに、T細胞における解糖系の持続的活性化に、グルタミン代謝が必要であり、細胞外からのグルタミンの取込は、解糖系に依存していることがわかった。それに加え、解糖系とグルタミン代謝は、mTORC1シグナルを介して強制的に機能していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究により、T細胞の機能、T細胞依存的な免疫応答は、代謝によって制御されていることが明らかとなった。さらに、T細胞代謝は、解糖系、グルタミン代謝、mTORC1シグナルが強調して働くことで制御されていることが示された。また、Th1、Th2やTh17細胞などのエフェクター細胞、エフェクター細胞と制御性T細胞、CD4 T細胞とCD8 T細胞など免疫細胞間、免疫応答の違いによって代謝経路が異なっていることが明らかとなった。今回の研究結果から、今後、代謝酵素が免疫疾患の新規治療シースとなりうると思われる。

研究成果の概要(英文)：Although the important roles of metabolism in T cell activation and function have been demonstrated, the regulatory mechanism has not been fully elucidated. Furthermore, the influences of metabolic failure on the T cell-dependent immune response in vivo remain unclear. We therefore the role of glycolysis in the T cell-dependent immune response using T cell-specific Pgam1-deficient mice. Both CD8 and CD4 T cell-dependent immune responses were attenuated by Pgam1 deficiency. T cell-dependent inflammation was ameliorated in Pgam1-deficient mice. The development of regulatory T cells was not affected by the deletion of Pgam1 gene in vitro and in vivo. Glycolysis augments the activation of mTOR complex 1 (mTORC1) and the T-cell receptor (TCR) signals. Glutamine is required to augment glycolysis, increase mTORC1 activity and augment TCR signals. These findings suggest that mTORC1, glycolysis and glutamine affect each other and cooperate to induce T cell proliferation, differentiation.

研究分野：免疫学

キーワード：T細胞 代謝 免疫疾患 解糖系 グルタミン代謝 mTORC1

1. 研究開始当初の背景

抗原を認識したナイーブT細胞は、クローン増殖を行なうとともにエフェクターT細胞(Teff)、制御性T細胞(Treg)や記憶T細胞(Tmem)などへと分化する。ナイーブT細胞が活性化後Teff、TregやTmemへと分化するためには、クロマチンリモデリングを介した転写リプログラミングが必須である。一方、T細胞の活性化に伴うクローン増殖と機能獲得に必要な転写リプログラミングには膨大なエネルギーが必要であり、それはT細胞内エネルギー代謝系がリプログラミングされることで供給されると考えられる。このことは、免疫応答がT細胞代謝リプログラミングによって制御されており、その異常は免疫疾患の発症や病態形成の一因となりうることを意味し、T細胞代謝リプログラミングの分子機構を解明し、その制御法を確立する研究は、免疫疾患の新規治療法やがん免疫、感染免疫の新規賦活化法の開発につながることを示唆している。しかしながら、T細胞代謝リプログラミングの分子機構を解明するための研究は、国内外ともに(特に国内では)立ち遅れた状態にある。

エネルギー代謝経路のリプログラミング研究は、これまで主にがん細胞を用いて行なわれてきた。がん細胞は、活発な増殖と生存維持に必要な核酸や脂質などの生体高分子とATPを大量に得るために、代謝経路をクエン酸回路による酸化リン酸化から嫌氣的解糖にシフトさせている(ワールブルグ効果)。さらに、グルタミン、セリン、グリシンやトリプトファンなどのアミノ酸代謝の亢進も幾つかのがん細胞で報告されている。近年、活性化T細胞やTeffにおいてもワールブルグ効果が誘導され、クローン増殖をサポートしていることが分かってきている。一方、TregやTmemは脂肪酸分解経路(酸化)を主に利用して生存を維持していることが報告されている。このようにT細胞増殖と生存維持における代謝経路の役割については徐々に研究が開始されてはいるが、T細胞分化、機能獲得、運命決定における細胞内エネルギー代謝や代謝リプログラミングの役割については、ほとんど研究が行なわれていない。また、現在のT細胞代謝研究は、グルコース代謝と酸化の役割解析が中心であり、グルタミン代謝をはじめとしたアミノ酸代謝系の解析は非常に遅れている。

2. 研究の目的

抗原認識後のT細胞活性化に伴うクローン増殖と機能獲得には膨大なエネルギーが必要であり、それはT細胞内エネルギー代謝系がリプログラムされることで供給される。このことは、T細胞免疫応答が代謝リプログラミングによって制御されており、その異常は免疫疾患の発症要因となりうることを示唆するが、T細胞代謝リプログラミングの分子機構を解明するための研究、特にアミノ酸代謝系の解析は立ち遅れている。本申請では、グルタミン代謝を中心に(1)T細胞代謝リプログラミング誘導の分子機構、(2)転写/代謝リプログラミングのクロストークを介したT細胞分化制御機構を明らかにする研究を行い、(3)グルタミン代謝調節による免疫制御の方法論を確立する。これらの研究により、T細胞代謝リプログラミングを介した免疫反応調節機構の全容解明に向けた研究基盤を形成する。

3. 研究の方法

まず、(1)グルタミン代謝リプログラミングのT細胞抗原受容体とサイトカイン受容体シグナルによる協調的制御機構を解明する。次に、-KGを介したヒストンH3K27脱メチル化酵素活性化に着目し、(2)グルタミン代謝とその中間代謝産物の-KGによるTeff、Treg、Tmem分化のエピゲノム調節機構を解明する研究を行う。具体的には、代謝に直接関与する酵素群(ホスホグリセレートムターゼ1:Pgam1 アスパラギン合成酵素:Asns、グルタミナーゼ:Gls、アスパラギン酸アミノ基転移酵素:Got、アラニンアミノ基転移酵素:Gpt、グルタミン酸脱水素酵素:Glud1など)のT細胞特異的ノックアウトマウス及びノックアウトT細胞を解析し、T細胞分化・運命決定における役割を明らかにする。

4. 研究成果

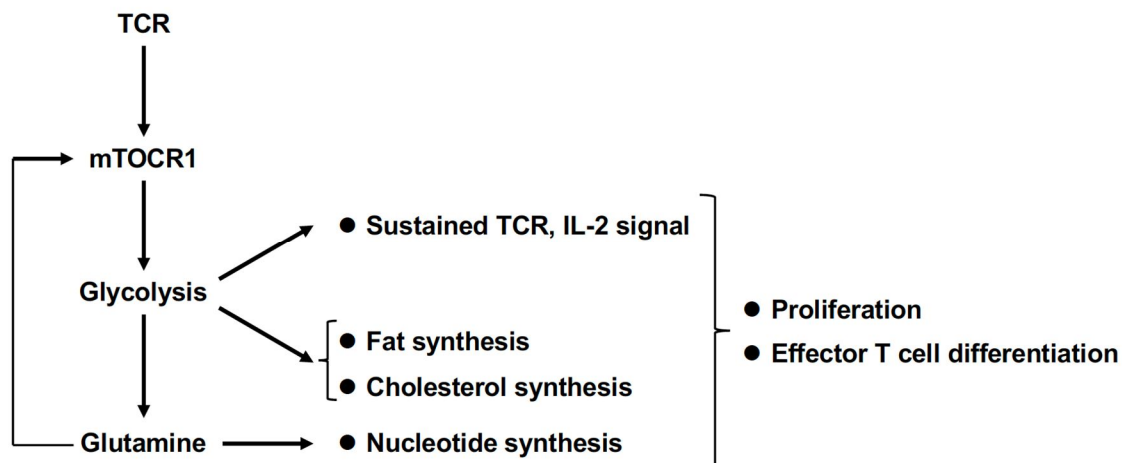
T細胞内のアミノ酸濃度測定のための検討を行い、測定条件を確立した。続いて、T細胞抗原受容体(TCR)刺激により誘導されるCD8 T細胞内のアミノ酸変化を掲示付きに測定した。その結果、TCR刺激によりAla、Arg、Asn、Asp、Gly、Gln、Glu、Pro濃度が上昇することが分かった。一方、Cysを除くその他のアミノ酸は、減少する傾向が見られた。TCR刺激によって細胞内濃度が上昇するアミノ酸の中で、Gln濃度は最も早くかつ大きく上昇し、それは細胞外Glnに依存していることが示された。この結果から、TCR刺激により細胞外Glnが細胞内に取り込まれることが明らかとなった。

次に、TCR刺激による細胞内グルタミン濃度の上昇のT細胞機能発現における意義について検討を行った。Glnは、グルタミン代謝により細胞内でGluを経て-ケトグルタル酸(-KG)に変換される。そこで、Glu- -KG経路の末梢T細胞分化における役割について解析した。CD4 T細胞*in vitro*分化誘導系では、Glu- -KG経路はTh2、Th17分化誘導に必要であることが示された。GlnをGluに変換する酵素の一つであるGls1の欠損により、Th17細胞分化が著しく低下したが、Th2細胞分化への影響は少なかった。このことから、グルタミンは異なった経路を介して、Th2とTh17細胞分化を制御していると考えられた。また、CD8 T細胞においては、Glu- -KG経路がメモリー前駆細胞への分化を抑制し、エフェクター細胞への分化を促進している結果

が得られた。さらに、これらの Glu- -KG 経路の作用の一端は、エピジェネティックな機構を介して発揮されていることが分かった。

続く解析から、グルタミンは mTORC1 と解糖系の持続的な活性化に必要であることが明らかとなった。そこで、解糖系酵素 Pgam1 の T 細胞特異的欠損マウスを用いて解析したところ、CD4 T 細胞、CD8 T 細胞の両方において、Pgam1 は T_{eff} の分化に必要であることが示された。さらに、Pgam1 の欠損により、活性化 CD8 T 細胞の細胞内グルタミン濃度が減少することがわかり、グルタミン、解糖系、mTORC1 は、お互いに影響し合いながら T 細胞代謝を調節し、T 細胞機能制御を行なっている可能性が示唆された。

今回の研究により、T 細胞の機能、T 細胞依存的な免疫応答は、代謝によって制御されていることが明らかとなった。また、免疫応答の種類によって代謝経路が異なっていることが明らかとなり、今後、代謝酵素が免疫疾患の新規治療シーズとなりうると思われる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamada T, Nabe S, Toriyama K, Inoue K, Imai Y, Shiraishi A, Takenaka K, Yasukawa M, Yamashita M.	4. 巻 202
2. 論文標題 Histone H3K27 Demethylase Negatively Controls the Memory Formation of Antigen-Stimulated CD8+ T Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1088-1098
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.1801083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nabe Shogo, Yamada Takeshi, Suzuki Junpei, Toriyama Koji, Yasuoka Toshiaki, Kuwahara Makoto, Shiraishi Atsushi, Takenaka Katsuto, Yasukawa Masaki, Yamashita Masakatsu	4. 巻 109
2. 論文標題 Reinforce the antitumor activity of CD8+ T cells via glutamine restriction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3737 ~ 3750
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.13827	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Junpei, Yamada Takeshi, Inoue Kazuki, Nabe Shogo, Kuwahara Makoto, Takemori Nobuaki, Takemori Ayako, Matsuda Seiji, Kanoh Makoto, Imai Yuuki, Yasukawa Masaki, Yamashita Masakatsu	4. 巻 9
2. 論文標題 The tumor suppressor menin prevents effector CD8 T-cell dysfunction by targeting mTORC1-dependent metabolic activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-018-05854-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 J. Suzuki, M. Kuwahara, M. Yamashita
2. 発表標題 The tumor suppressor menin prevents effector CD8 T cell dysfunction via metabolic restriction by targeting mTOR activation
3. 学会等名 Cell Symposia; Aging and Metabolism (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木淳平、桑原誠、山田武司、安川正貴、山下政克
2. 発表標題 腫瘍抑制因子Meninはグルタミン代謝調節を介してエピジェネティックにCD8 T細胞老化を制御する
3. 学会等名 2018 抗加齢学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 SUZUKI Junpei, KUWAHARA Makoto, YAMADA Takeshi, YASUKAWA Masaki, YAMASHITA Masakatsu
2. 発表標題 -ketoglutarate regulates CD8 T cell senescence via the prolongation of the central carbon metabolism activation
3. 学会等名 2018 日本免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 NOMURA Shunsuke, KUWAHARA Makoto, SAWASAKI Tatsuya, YAMASHITA Masakatsu
2. 発表標題 The important role of glutaminase 1 (Gls1)-mediated glutamine metabolism in Th17 differentiation
3. 学会等名 2018 日本免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Makoto Kuwahara, Tatsuya Sawasaki, Masakatsu Yamashita
2. 発表標題 The transcriptional repressor Bach2 controls Th2-type immune response via interaction with Bach2
3. 学会等名 The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society (ICIS 2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 名部彰吾, 山田武司, 鈴木淳平, 山下政克, 安川正貴
2. 発表標題 グルタミン代謝の抑制によるCD8+ T細胞の抗腫瘍活性の増強
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木淳平, 桑原誠, 山田武司, 安川正貴, 山下政克
2. 発表標題 Meninはグルタミン代謝とヒストンH3K27脱メチル化調節を介してCD8 T細胞老化を制御する
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masakatsu Yamashita
2. 発表標題 The critical role of Bach2 in regulating type2 inflammation
3. 学会等名 The 46th Annual Meeting of The Japanese Society of Immunology (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Makoto Kuwahara, Masakatsu Yamashita
2. 発表標題 The transcriptional repressor Bach2 regulates differentiation of pathogenic Th2 cells
3. 学会等名 The 46th Annual Meeting of The Japanese Society of Immunology
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

愛媛大学大学院医学系研究科 免疫学・感染防御学講座
<https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/immunology>

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
研究協力者	鈴木 淳平 (Suzuki Junpei)		
研究協力者	桑原 誠 (Kuwahara Makoto)		
研究協力者	武森 信暁 (Takemori Nobuaki)		