

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03504

研究課題名（和文）グルタミンによるT細胞シグナル伝達と分化の統合的制御機構の解明

研究課題名（英文）Integrated regulation of T cell signaling and differentiation by glutamine

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） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：T細胞抗原認識に伴う解糖系の活性亢進は、グルタミン代謝の活性化に必要であり、グルタミンはmTORの持続的活性を介して解糖系の活性化を維持していることが分かった。つまり、解糖系とグルタミン代謝はフィードフォワードループを形成することでTCRやサイトカイン受容体を介したシグナルを遷延させ、T細胞の活性化を維持している可能性が示唆された。今回の結果から、抗原認識に伴うT細胞における解糖系活性化は、正常なT細胞依存的免疫応答の誘導に必須であるとともに、免疫疾患治療の治療標的になることが明らかとなった。また、グルタミンがオートファジーの調節を介してT細胞老化を制御している可能性も見出している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルタミンが活性化T細胞における解糖系、シグナル伝達の維持に必要であることが明らかにするとともに、活性化T細胞におけるグルタミン（代謝）がオートファジーの調節を介してT細胞老化を制御している可能性を新たに見出したことが、今回の研究成果の学術的意義である。また、グルタミン流入阻害やT細胞解糖系酵素阻害が免疫疾患の治療標的になることを示したことは、免疫抑制による疾患治療の新しい選択肢を提示したという点において社会的なインパクトは大きい。

研究成果の概要（英文）：The increased activity of the glycolytic system upon T cell antigen recognition is required for activation of glutamine metabolism, and glutamine maintains activation of the glycolytic system via sustained activity of mTOR. In other words, it was suggested that the glycolytic system and glutamine metabolism may form a feed-forward loop to prolong signals via TCR and cytokine receptors and maintain T cell activation. These results indicate that glycolytic activation in T cells upon antigen recognition is essential for the induction of normal T cell-dependent immune responses and is a therapeutic target for the treatment of immunological diseases. We also found that glutamine may regulate T cellular senescence via modulation of autophagy.

研究分野：免疫学

キーワード：T細胞 グルタミン シグナル伝達 解糖系

## 1. 研究開始当初の背景

抗原認識によって活性化する細胞内シグナル伝達や、転写リプログラミング(エピゲノム調節)を介したT細胞機能分化(ヘルパーT細胞分化、エフェクター・メモリー細胞分化)に関する分野では、これまでに素晴らしい研究が数多く行われてきた。また、T細胞シグナル伝達では、キナーゼカスケードの活性化制御が非常によく研究されている。一方、エピゲノム研究分野では、ヒストンやDNAの化学修飾やクロマチンリモデリングのT細胞分化における役割が、この10年でもかなり解明されている。しかし、抗原認識によって活性化される細胞内シグナルは数秒から数時間単位で研究されているのに対し、クローン増殖や分化の研究は1日~数日単位で行われており、シグナル伝達研究と増殖・機能分化研究の間には、未だ大きなギャップが存在している。

プロテインキナーゼカスケードは、ATP依存的タンパク質リン酸化酵素によるシグナル伝達系であり、また、細胞分化を制御するクロマチンリモデリング因子の活性化もATP依存性である。さらに、ヒストンアセチル化を制御するヒストンアセチル化酵素の活性はアセチルCoAに依存しており、脱アセチル化酵素の一部はNAD<sup>+</sup>依存的にその活性を発揮する。それに加え、ヒストンやDNAのメチル化酵素、脱メチル化酵素の活性は、S-アデノシルメチオニンと $\alpha$ ケトグルタル酸( $\alpha$ KG)・FAD<sup>+</sup>にそれぞれ依存している。言うまでもなくこれらの因子は代謝産物であり、その量は細胞の代謝状態に大きく左右される。増殖もまた、*de novo* 核酸合成、コレステロール合成、脂肪合成やアミノ酸合成に大きく影響を受ける。つまり、細胞内シグナル伝達と増殖・分化は、細胞の代謝状態によって制御されうるということである。

## 2. 研究の目的

本申請研究では、①グルタミンによる代謝リプログラミング制御機構、代謝リプログラミングを介したT細胞シグナル伝達調節機構、代謝リプログラミングを介したT細胞分化制御機構を明らかにし、最終的には、代謝調節による新規免疫制御の方法論の確立を目指す。

## 3. 研究の方法

グルタミンのT細胞シグナル伝達、分化、エピジェネティック変化誘導における作用は、マウス脾臓からT細胞を単離し、*in vitro*で解析した。T細胞グルタミン代謝における解糖系の役割は、主に解糖系酵素の一つPgam1のT細胞特異的欠損マウスを用いて行った。

## 4. 研究成果

T細胞活性化初期(活性化0~48時間)の細胞外グルタミンが、T細胞抗原受容体(TCR)シグナルやサイトカイン受容体シグナルの持続的な活性化に必要であることを明らかにした(Toriyama et al. Commun. Biol, 2021)。低濃度グルタミン条件下で活性化したT細胞では、キナーゼシグナルが持続しないこと、特にそれはmTORCシグナルにおいて顕著であることを明らかにした。また、*in vitro*分化系による検討から、分化に必要なTCRシグナル、サイトカインが十分に存在する条件下においても、グルタミン量が低いと効率的に分化できないことを示した。これは、低グルタミン条件下では、ヒストンH3K27me3/2の脱メチル化が十分に誘導されず、分化に必要なエンハンサーランドスケープが形成できないためである可能性が示唆された。このことから、TCR細胞活性化に伴う細胞が胃からのグルタミン流入は、シグナルの持続のみならず、エピジェネティック変化の誘導にも必要であることが明らかとなった。

また、解糖系酵素の一つであるPgam1のT細胞特異的欠損マウスを用いて、抗原刺激によるT細胞における解糖系活性化が、TCRやIL-2受容体を介したシグナル伝達が持続するために必要であることを示した。また、T細胞抗原認識に伴う解糖系の活性亢進は、グルタミン代謝の活性化に必要であり、グルタミンはmTORの持続的活性を介して解糖系の活性化を維持していることが分かった。今回得られた結果により、解糖系とグルタミン代謝はフィードフォワードループを形成することでTCRやサイトカイン受容体を介したシグナルを遷延させ、T細胞の活性化を維持している可能性が示唆された。また、*in vivo*の解析から、解糖系の活性化は抗原特異的CD8<sup>+</sup>T細胞の増殖、T細胞依存的抗体産生とクラススイッチに必要であること、T細胞特異的Pgam1欠損マウスでは、卵白アルブミン誘発アレルギー性気道炎症、実験的アレルギー性脳脊髄

炎が発症しないことが分かった。以上の結果から、抗原認識に伴う T 細胞における解糖能の上昇は、正常な T 細胞依存的免疫応答の誘導に必須であるとともに、T 細胞解糖系酵素が免疫抑制による免疫疾患治療の標的になることが明らかとなった ( Toriyama et al. *Commun. Biol.*, 2021, Okamoto et al. *J. Invest. Dermatol.*, 2023 )。

さらに、活性化 T 細胞におけるグルタミンがオートファジーの調節を介して T 細胞老化を制御している可能性も新たに見出している ( 論文投稿準備中 )。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

|  |                               |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Inoue Takashi, Omori-Miyake Miyuki, Maruyama Saho, Okabe Masataka, Kuwahara Makoto, Honda Hiroaki, Miura Hiromasa, Yamashita Masakatsu   | 4. 巻<br>207                   |
| 2. 論文標題<br>The Loss of H3K27 Histone Demethylase Utx in T Cells Aggravates Allergic Contact Dermatitis   | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>The Journal of Immunology  | 6. 最初と最後の頁<br>2223 ~ 2234     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.4049/jimmunol.2001160   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>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<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Konishi Amane, Suzuki Junpei, Kuwahara Makoto, Matsumoto Akira, Nomura Shunsuke, Soga Tomoyoshi, Yorozuya Toshihiro, Yamashita Masakatsu   | 4. 巻<br>588                   |
| 2. 論文標題<br>Glucocorticoid imprints a low glucose metabolism onto CD8 T cells and induces the persistent suppression of the immune response   | 5. 発行年<br>2022年               |
| 3. 雑誌名<br>Biochemical and Biophysical Research Communications  | 6. 最初と最後の頁<br>34 ~ 40         |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bbrc.2021.12.050   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>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<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Choudhury Mohammed E., Mikami Kanta, Nakanishi Yuiko, Matsuura Taisei, Utsunomiya Ryo, Yano Hajime, Kubo Madoka, Ando Rina, Iwanami Jun, Yamashita Masakatsu, Nagai Masahiro, Tanaka Junya | 4. 巻<br>363                   |
| 2. 論文標題<br>Insomnia and depressive behavior of MyD88-deficient mice: Relationships with altered microglial functions   | 5. 発行年<br>2022年               |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Neuroimmunology   | 6. 最初と最後の頁<br>577794 ~ 577794 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jneuroim.2021.577794   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>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<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Toriyama Koji, Kuwahara Makoto, Kondoh Hiroshi, Mikawa Takumi, Takemori Nobuaki, Konishi Amane, Yorozuya Toshihiro, Yamada Takeshi, Soga Tomoyoshi, Shiraishi Atsushi, Yamashita Masakatsu | 4. 巻<br>3                     |
| 2. 論文標題<br>T cell-specific deletion of Pgam1 reveals a critical role for glycolysis in T cell responses  | 5. 発行年<br>2020年               |
| 3. 雑誌名<br>Communications Biology   | 6. 最初と最後の頁<br>1 ~ 13          |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s42003-020-01122-w   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>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<br>-                     |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Yagi Yuichiro, Kuwahara Makoto, Suzuki Junpei, Imai Yasushi, Yamashita Masakatsu                      | 4. 巻<br>530             |
| 2. 論文標題<br>Glycolysis and subsequent mevalonate biosynthesis play an important role in Th2 cell differentiation | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Biochemical and Biophysical Research Communications   | 6. 最初と最後の頁<br>355 ~ 361 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bbrc.2020.08.009  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Okamoto Michiko, Omori-Miyake Miyuki, Kuwahara Makoto, Okabe Masataka, Eguchi Mariko, Yamashita Masakatsu                       | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>The Inhibition of Glycolysis in T Cells by a Jak Inhibitor Ameliorates the Pathogenesis of Allergic Contact Dermatitis in Mice | 5. 発行年<br>2023年 |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Investigative Dermatology  | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jid.2023.03.1667  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>Noda Haruna, Suzuki Junpei, Matsuoka Yuko, Matsumoto Akira, Kuwahara Makoto, Kamei Yoshiaki, Takada Yasutsugu, Yamashita Masakatsu     | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>The histone demethylase Utx controls $CD8^{+}$ T cell dependent antitumor immunity via epigenetic regulation of the effector function | 5. 発行年<br>2023年 |
| 3. 雑誌名<br>Cancer Science   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/cas.15814  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>Kakuda Toshio, Suzuki Junpei, Matsuoka Yuko, Kikugawa Tadahiko, Saika Takashi, Yamashita Masakatsu | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>Senescent $CD8^{+}$ $NK$ cell like innate functions to promote antitumor immunity T cells acquire | 5. 発行年<br>2023年 |
| 3. 雑誌名<br>Cancer Science   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/cas.15824  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

〔学会発表〕 計0件

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

#### 6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)           | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|-------|-------------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 鈴木 淳平<br><br>(Suzuki Junpei)        |                       |    |
| 研究協力者 | 桑原 誠<br><br>(Kawahara Makoto)       |                       |    |
| 研究協力者 | ミヤケ 深雪<br><br>(Miyake-Omori Miyuki) |                       |    |
| 研究協力者 | 松岡 祐子<br><br>(Matsuoka Yuko)        |                       |    |

#### 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 |
|---------|---------|
|---------|---------|