

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32515

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15502

研究課題名（和文）皮膚T細胞の“病原性”を規定する脂質代謝経路の同定とアトピー性皮膚炎への治療応用

研究課題名（英文）Identification of lipid metabolic pathways that define the "pathogenicity" of cutaneous T cells and their therapeutic application to atopic dermatitis.

研究代表者

中嶋 隆裕（Nakajima, Takahiro）

東京情報大学・看護学部・准教授

研究者番号：90910943

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：De novo脂肪酸合成の律速酵素であるACC1をT細胞特異的にKOするACC1コンディショナルノックアウトマウスを用いた実験の結果、ACC1の抑制はヒストンアセチル化の制御を介して皮膚CD4+T細胞のIL-3産生を抑制し、アトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症を抑制できることを示した。また、ACC1の抑制は皮膚T細胞からのIL-31の産生を抑制することも示した。さらにIL-31のノックインノックアウトレポーターマウスを作成し、IL-31KO下ではアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症が抑制されることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎の痒みに寄与するサイトカインであるIL-31についてはまだ不明な部分が多いが、本研究によりACC1の制御によりde novo脂肪酸合成を抑制することでIL-31の産生を抑制できることが示された。IL-31に対しては抗体製剤が実用化されているが、本研究の結果から脂質代謝を標的とした低分子標的薬の創薬につながる可能性がある。また、研究の過程でT細胞が長期培養によりIL-31を多量に産生すること、eTh2に比べmTh2の方がIL-31産生量が多いこと、独自のIL-31レポーターマウス（ノックインノックアウト）の作成など、IL-31産生細胞のプロファイル解明に必要な基盤を創出した。

研究成果の概要（英文）：T-cell specific ACC1 knock out mice showed that reduction of IL-3 in skin T cells via regulation of histone acetylation, and suppressed skin inflammation in atopic dermatitis model mouse. Suppression of ACC1 in T cells also showed reduction of IL-31 production from skin T cells. Furthermore, we generated and characterized a IL-31 knock-in knockout reporter mice, the reporter mice showed suppression of skin inflammation in atopic dermatitis model mouse.

研究分野：免疫学

キーワード：T細胞 脂質代謝 アトピー性皮膚炎 病原性T細胞 ACC1 脂肪酸 IL-31 IL-3

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、免疫/代謝システムは互いにクロストークすることで生体の恒常性を維持する「イムノメタボリズム」という融合分野が確立している。イムノメタボリズムはアトピー性皮膚炎 (AD) などのアレルギー疾患にも深く関わっていることが知られているが、どの細胞種が代謝変化の影響を受け、組織中のどの代謝物によってアレルギー炎症が悪化しているか、そもそも免疫細胞自体の脂質代謝が病態に影響するかはよくわかっていない。自己免疫疾患やアレルギー疾患を引き起こす病原性 T 細胞には固有の脂質プロファイルが存在することが徐々に明らかになってきており、病原性 T 細胞特異的な脂質代謝を明らかにすることができれば、新たな治療標的としての活用が期待できる。

2. 研究の目的

これまでの基礎研究データの蓄積により、脂肪酸代謝が T 細胞サブセットの分化や機能制御に重要であることが示されている。本研究では、ACC1 がどのように T 細胞の IL-3 産生を制御しているか、皮膚 T 細胞の病原性を規定する因子とそれを制御する具体的な脂質は何か、それらの結果を踏まえ病態を制御しうる機能性脂質の同定を研究目的とした。

3. 研究の方法

A. オミックス解析による ACC1 作用点の解析

ACC1 欠損 Th2 細胞あるいは薬物により ACC1 を阻害した Th2 細胞を多角的に解析 (RNA-seq, ChIP-seq, ATAC-seq など) することで、ACC1 がどのように Th2 細胞の IL-3 産生および皮膚炎症を制御しているかを検証した。また、ピックアップされた遺伝子に関してはそれぞれ定量的 PCR、ウェスタンブロット、フローサイトメトリーなどを用いてたんぱく質の発現やヒストン修飾の確認を行った。

B. IL-31 による AD 病態への影響の評価と産生条件の検討

研究項目 A より ACC1 が制御している可能性のある因子として IL-31 がピックアップされた。ACC1 欠損 Th2 細胞あるいは薬物により ACC1 を阻害した Th2 細胞、その他長期培養やメモリー Th2 細胞での IL-31 の産生の確認、IL-31 レポーターマウス (ノックインノックアウト) の作成と AD 病態モデルでの検証を行い、IL-31 と脂肪酸代謝との関連、および病態への影響を評価した。

C. IL-31 制御の分子メカニズムの解明

IL-31 を制御する分子メカニズムを解明するため、IL-31 レポーターマウスを用いて in vitro にて Th2 を分化しレポータータンパク質 iRP670 を発現した細胞をセルソーターで分離して RNA-seq にて解析を行なった。また、AD モデルの皮膚から単離した T 細胞を単離し、シングルセル解析プラットフォーム Chromium X を用いて single-cell RNA-seq を行なった。

4. 研究成果

研究期間内に推進した成果を以下に示す。

1) Th2 細胞の ACC1 を介した IL-3 の制御が H3K9 アセチル化に因るものだというを示した。具体的には、ACC1 阻害剤 TOFA によって核内のアセチル CoA 量が減少することを示した (図 1A)。実際に H3K9 アセチル化は TOFA の投与で減少が見られ (図 1B)、アセチル CoA 減少を補うために Acetate を加えて Th2 を培養したところ、TOFA 処置下での IL-3 減少の大部分がキャンセルされた (図 1C)。またヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤である trichostatin A の投与でも同様に IL-3 の産生が制御された。

2) Th2 細胞の ACC1 抑制あるいはノックアウトにより IL-31 の発現が減少することを確認した (図 2)

3) IL-31 レポーターマウス (ノックインノックアウトマウス) を作成した。IL-31 産生条件下でレポータータンパク質の発現を認めた。

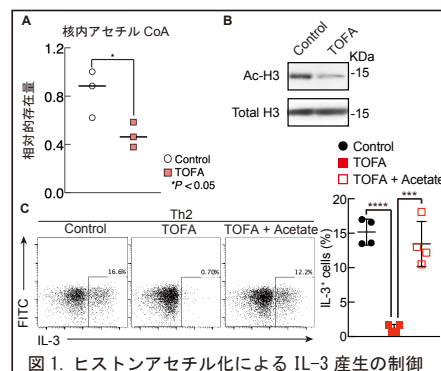


図 1. ヒストンアセチル化による IL-3 産生の制御

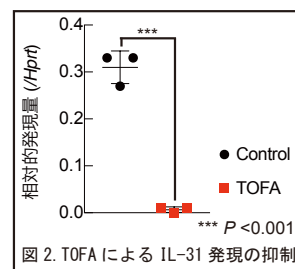


図 2. TOFA による IL-31 発現の抑制

- 4) IL-31 レポーターマウスを用いた AD 病態モデル実験により、IL-31 ノックアウト条件下では AD の皮膚炎症が減弱することが認められた (図 3)。
- 5) AD 病態モデルの皮膚 T 細胞を Chromium X controller を用いて single-cell RNA-seq を行ったところ、IL-31+ の細胞数が想定よりも著しく少なく明確なプロファイルを確認できなかった。そこで in vitro で長期培養した IL-31 レポーターマウス由来の Th2 細胞のレポーター遺伝子の発現の有無によって cell sorting したのち、RNA-seq 解析を行ったところいくつか特異的な遺伝子をピックアップすることができた。現在 IL-31 産生に関連する因子を検証・探索中である。

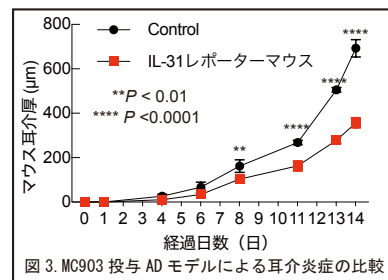


図 3. MC903 投与 AD モデルによる耳介炎症の比較

結論

以上の結果から、皮膚病原性 T 細胞では脂肪酸合成がヒストン修飾を介して IL-3 を制御していることが示された。現在具体的な機能性脂質の同定を進めており、病原性 T 細胞制御のさらなる作用点が明らかにできるよう検討を進めている。

また、本研究の過程で脂肪酸代謝が IL-31 の産生を制御することが判明した。IL-31 は近年アトピー性皮膚炎の炎症や痒みに重要であることが示され、治療標的として臨床応用が進められている。本研究は依然として不明な部分が多い IL-31 産生細胞のプロファイル解明の足掛かりとなると考えられる。

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 0件）

1. 著者名 Endo Yusuke, Kanno Toshio, Nakajima Takahiro, Ikeda Kazutaka, Taketomi Yoshitaka, Yokoyama Satoru, Sasamoto Shigemi, Asou Hikari K., Miyako Keisuke, Hasegawa Yoshinori, Kawashima Yusuke, Ohara Osamu, Murakami Makoto, Nakayama Toshinori	4. 巻 8
2. 論文標題 1-Oleoyl-lysophosphatidylethanolamine stimulates ROR γ activity in T 17 cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciimmunol.add4346	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 中嶋 隆裕, 菅野 敏生, 池田 和貴, 遠藤 裕介	4. 巻 65
2. 論文標題 De novo脂肪酸合成の阻害によるTh9細胞のIL-9産生増強とがん免疫療法への応用	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 脂質生化学研究	6. 最初と最後の頁 251, 254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 菅野 敏生, 中嶋 隆裕, 池田 和貴, 佐藤 大, 長谷川 嘉則, 川島 祐介, 小原 収, 遠藤 裕介	4. 巻 65
2. 論文標題 活性化CD4T細胞サブセットでの細胞内代謝経路に着目をした網羅的なオミックス解析の研究	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 脂質生化学研究	6. 最初と最後の頁 230, 231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Takahiro Nakajima, Toshio Kanno, Yusuke Endo
2. 発表標題 Inhibition of ACC1-dependent de novo fatty acid biosynthesis augments Th9 cell differentiation and anti-tumor immunity
3. 学会等名 The 51th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅野 敏生, 中嶋 隆裕, 池田 和貴, 佐藤 大, 長谷川 嘉則, 川島 祐介, 小原 収, 遠藤 裕介
2. 発表標題 活性化CD4T細胞サブセットでの細胞内代謝経路に着目をした網羅的なオミックス解析の研究
3. 学会等名 第65回日本脂質生化学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中嶋 隆裕, 菅野 敏生, 池田 和貴, 遠藤 裕介
2. 発表標題 De novo脂肪酸合成の阻害によるTh9細胞のIL-9産生増強とがん免疫療法への応用
3. 学会等名 第65回日本脂質生化学会
4. 発表年 2023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