

学 位 論 文 要 旨

氏 名 鳥山浩二

論 文 名 グルタミンは解糖系活性化を介して T 細胞免疫応答を制御する

学位論文要旨

目的：T 細胞は抗原刺激を受けて活性化すると、ミトコンドリアにおける酸化的リン酸化から嫌氣的解糖を中心としたエネルギー産生へと大きく代謝様式を変化させる。活性化した T 細胞と同様の代謝様式は古くから腫瘍細胞で報告されており、ワールブルグ効果と呼ばれ、腫瘍細胞の活発な増殖に必要なだと考えられている。T 細胞においても、活性化後の増殖・分化に嫌氣的解糖の活性化が重要な働きをもつことが *in vitro* で報告されているが、*in vivo* 免疫応答における解糖系の重要性や解糖系活性の制御機構については明らかにされていない。今回、私は解糖系酵素であるホスホグリセリン酸ムターゼ 1 (*Pgam1*) を T 細胞特異的に欠損させたマウス (*Pgam1* KO : *Pgam1*^{fllox/fllox} × *CD4-Cre* トランスジェニックマウス) を用いて、T 細胞の分化・増殖、および T 細胞依存的な免疫応答における解糖系の役割とその制御機構について解析を行った。

方法：本研究における動物実験は愛媛大学医学部の動物実験倫理委員会承認のもと行った。(承認番号 05KO19-16, 05KO23-16, 05KO32-16)

Pgam1 KO マウスを作製し、解糖能の低下が T 細胞の代謝、増殖、分化、機能に与える影響について *in vitro*、*in vivo* で解析した。さらに、グルタミンが解糖系活性に与える影響を検討するため、CD8T 細胞を通常、またはグルタミン制限培地でそれぞれ活性化し、グルタミンが CD8 T 細胞の代謝、分化および機能に与える影響についても解析した。

結果：*Pgam1* KO T 細胞では、wild-type (WT) に比べ、解糖、酸化的リン酸化機能がともに著明に低下していた。細胞内の ATP 量は T 細胞受容体 (TCR) 刺激による活性化後早期には差を認めなかったが、24 時間の時点で *Pgam1* KO では WT に比較し有意に低かった。TCR 下流のシグナル伝達分子のリン酸化レベルは ATP 量同様、活性化後 24 時間で *Pgam1* KO で減少しており、シグナルが十分に持続していないことが分かった。抗原刺激による *Pgam1* KO CD8 T 細胞の増殖は *in vitro*、*in vivo* いずれにおいても著しく低下しており、サイトカイン産生能も低下していた。CD4 T 細胞においても、TCR 刺激による増殖、エフェクターヘルパー T 細胞サブセットの Th1、Th2、Th17 いずれへの分化も *Pgam1* 欠損により *in vitro* で障害された。さらに、Th2 依存的アレルギー性気道炎症モデル、Th1・Th17 依存的実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルのいずれでも炎症症状の低下を認めた。*Pgam1* KO CD8 T 細胞では、代謝制御に重要とされるセリン・スレオニンキナーゼ複合体である mechanistic target of rapamycin complex1 (mTORC1)の活性

が、TCR 刺激後 24 時間の時点で低下していた。mTORC1 の下流に位置し、細胞の代謝調節に關与する転写因子 Hif1 α 、Myc、Srebp11 の発現量も *Pgam1* KO で明らかな低下を認めた。これを反映して、解糖系、脂肪酸合成、グルタミン代謝における酵素の遺伝子発現も同様に有意な低下を認め、解糖系抑制により mTORC1 を介した代謝リプログラミングが阻害されていることが推察された。

続いて、活性化 T 細胞における解糖系活性の制御機構をグルタミンに着目して解析した。CD8T 細胞は、活性化時に細胞外からグルタミンを取り込み、それは増殖や分化に必須であった。また、グルタミン制限培地の CD8 T 細胞では、活性化後 24 時間後の解糖能と mTORC1 シグナルの明らかな減少が認められた。活性化 CD8 T 細胞では、Hif1 α 、Myc、Srebp1 の発現はグルタミン依存的に増加し、それは mTORC1 の阻害剤であるラパマイシンで阻害された。このことから、グルタミンは mTORC1 活性を介して解糖系の活性を制御していることが示された。

結論：活性化 T 細胞では、解糖系、グルタミンおよび mTORC1 がポジティブフィードバックループを形成し解糖系を持続的に活性化する。それにより、持続的にシグナルが活性化し、T 細胞の増殖・分化が誘導され、T 細胞依存的免疫応答が成立する可能性が示された。

。

キーワード (3~5)	T細胞 解糖系 ホスホグリセリン酸ムターゼ 1 グルタミン mTORC1
-------------	--