

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	鳥山浩二
審査委員	主査 東山 繁樹 副査 田中 潤也 副査 長谷川 均 副査 竹下 英次 副査 坂上 倫久

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

### 審査結果の要旨 (2,000字以内)

【目的】 T細胞は抗原刺激を受けて活性化すると、酸化的リン酸化から解糖系やグルタミン代謝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(代謝リプログラミング)。T細胞の分化・増殖にこの代謝リプログラミングが重要であるが、解糖系が与える影響の詳細なメカニズムについては明らかにされていない。今回、申請者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 :  $Pgam1^{flox/flox} \times CD4-Cre$  TG) を用いて、解糖系がT細胞の代謝、分化・増殖および免疫応答に与える影響とそのメカニズム、解糖系活性におけるグルタミン代謝の重要性について研究を行った。

【対象と方法】  $Pgam1$  KO マウスを作成し、解糖系の抑制がT細胞の代謝、増殖、機能に与える影響について *in vitro*、*in vivo* で解析した。さらにCD8T細胞をグルタミン含有、非含有の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減していた。細胞内のATP量はT細胞受容体 (TCR) 刺激後24時間の時点で  $Pgam1$  KO ではWTと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、刺激後24時間で  $Pgam1$  KO で減少しており、TCRシグナルが十分に持続していないことが確認された。 $Pgam1$  KO CD8 T細胞の抗原刺激後の増殖は *in vitro*、*in vivo* いずれにおいても著減しており、

サイトカイン産生能も低下していた。CD4 T細胞についても同様に、エフェクターヘルパーT細胞サブセットであるTh1、Th2、Th17いずれへの分化もPgam1欠損により障害されており、*in vivo*におけるアレルギー性気道炎症モデル(Th2)、実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル(Th1/Th17)いずれにおいても免疫反応の低下を認めた。またmTORC1のシグナルはPgam1 KO CD8 T細胞においてWTと比較し刺激後24時間時点で低下しており、mTORC1が発現制御に関わるHif1 $\alpha$ 、Myc、SREBP1等の代謝系転写調節因子の発現量もPgam1 KOで低下を認めた。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。次に解糖系活性とグルタミンとの関連につき解析した。*in vitro*でグルタミン非含有培地で活性化させたCD8 T細胞は、コントロールと比較し有意に解糖能が低下していた。mTORC1のシグナルは、24時間以降ではグルタミン制限により著減していた。*in vitro*で活性化したCD8 T細胞のHif1 $\alpha$ 、Myc、SREBP1の発現量は、グルタミン添加により増加したが、mTORC1阻害剤であるラパマイシン添加で増加はみられなくなったことからmTORC1活性を介してT細胞代謝を制御していることが確認された。グルタミン非含有培地で活性化したCD8 T細胞では、Pgam1 KO同様に活性化後24時間の時点でTCRシグナルの減弱が認められた。

【考察】活性化後のT細胞において、解糖系、グルタミン代謝およびmTORC1シグナルが相互にポジティブフィードバックループを形成し代謝リプログラミングを行うことで、T細胞の分化、増殖および免疫応答を制御していると結論付けた。

公開審査会は、令和2年1月20日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した後に、審査員から本研究に関する以下の質問がなされ、的確に回答した。

- グルタミン添加によるATP産生の回復は、TCAサイクルの活性化、あるいはmTORC1シグナルの活性化のどちらによるものか？
- Pgam1 KOマウスの表現型は、Pgam1遺伝子の導入で、またピルビン酸添加やATP添加でどの程度回復するのか？ Pgam1ファミリー分子のPgam2によって代償はされないのか？
- Pgam1 KOマウスの表現型は、Pgam1 KOによる解糖系中間代謝産物の蓄積によるのか？ また、どの臨床病態を表していると考えられるのか？
- T-細胞分化においてPgam1遺伝子の発現が上昇する分子メカニズムは？
- Pgam1 KOマウスにおけるTCAサイクルからの代償としてホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼは活性化されていないのか？

審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。