

(第 12 号様式)

学 位 論 文 の 要 約 (研 究 成 果 の ま と め)

氏 名 小 西 周

学位論文名 グルコルチコイドは CD8 T 細胞に対し低代謝状態を記憶させ、
免疫応答を長期にわたって抑制する

学位論文の要約

【目的】免疫抑制・抗炎症活性を有する糖質コルチコイド(GC)は、糖質コルチコイド受容体(GR)への結合を介して多様な効果を発揮し、リンパ球を含むさまざまな細胞の増殖、分化、機能に影響を及ぼす。しかしながら、GC の作用機序は多様であり、T 細胞における長期的な影響については、いまだ十分には解明されていない。そこで、我々は合成 GC であるプレドニゾロン(PSL)で CD8 T 細胞を処理し、エフェクター機能、免疫記憶形成や代謝に与える GC の長期的な影響を解析した。

【方法】マウス脾臓由来のナイーブ CD8 T 細胞を、抗 TCR β 抗体、抗 CD28 抗体、IL-2 存在下で、PSL 処理有無の 2 条件で 2 日間培養し、十分活性化させた。その後、IL-2 のみで PSL 非存在下に 3 日間培養を行ない、TCR 刺激後 5 日目の CD8 T 細胞(PSL-CD8 T 細胞)を用いて *in vitro* の解析を行った。また、養子免疫実験や OVA-expressing *Listeria monocytogenes* (Lm-OVA)を用いた感染実験モデルを用いて *in vivo*での解析を行った。

【結果】PSL-CD8 T 細胞ではコントロールの CD8 T 細胞(Ctrl-CD8 T 細胞)と比較して、IFN- γ 、TNF- α 、granzyme B の産生が低下し、IL-2、IL-10 の産生が増加した。また、PSL-CD8 T 細胞において、抑制性受容体である PD-1 の発現が増加した。さらに、PSL-CD8 T 細胞では *in vitro*での細胞傷害活性の低下が認められた。これらのサイトカイン産生、抑制性受容体発現、細胞傷害活性に与える PSL の抑制的な影響は、GR のアンタゴニストである RU-486 との共処理により拮抗されたことから、PSL のエフェクター機能に与える抑制的な効果は GR 依存的であることが示された。

T 細胞の機能と分化は T 細胞の代謝状態と密接に関連することや、GR は解糖を阻害することで骨髄由来抑制細胞の機能を促進すると報告されている。したがって、PSL が CD8 T 細胞の代謝に与える長期的な影響を解析したところ、PSL-CD8 T 細胞では Ctrl-CD8 T 細胞と比較して、ECAR が著しく低下したが、OCR のレベルは Ctrl-CD8 T 細胞と同等または増加した。また、PSL-CD8 T 細胞では Ctrl-CD8 T 細胞と比較して、

グルコースの取り込み能が低下した。さらに、メタボローム解析を行ったところ、PSL-CD8 T 細胞では Ctrl-CD8 T 細胞と比較して、解糖の中間代謝物 (G1P、G6P、F6P、F1, 6P、乳酸など) の細胞内濃度が減少し、NADH の細胞内レベルも著しく減少した。さらに、養子免疫実験の結果においても、PSL-CD8 T 細胞は Ctrl-CD8 T 細胞と比較して、移入後の免疫記憶形成能や二次免疫応答能が低下した。また、PSL-CD8 T 細胞では、Ctrl-CD8 T 細胞に比べ、*Eomes*, *Bcl6*, *Tcf7* といったメモリー T 細胞関連転写因子の発現が低下していた。さらに、PSL-CD8 T 細胞の *Eomes*, *Bcl6*, *Tcf7* 遺伝子座でのヒストン H3K9 のアセチル化レベルは、Ctrl-CD8 T 細胞と比較して低下したことから、PSL の免疫記憶形成に与える抑制的な影響の一部は、エピジェネティックな機序によるものと示唆された。

さらに、養子免疫実験においても PSL-CD8 T 細胞を移入群では Ctrl-CD8 T 細胞移入群と比較して、生存率の低下を認め、PSL-CD8 T 細胞における抗腫瘍活性の低下が確認された。

【結論】 CD8 T 細胞活性化時における PSL の存在は、細胞に低代謝状態をインプリントし、長期にわたるエフェクター機能、免疫記憶形成、抗腫瘍活性の低下を引き起こすことが明らかとなった。また、その PSL の作用の一部は、エピジェネティックな機序によるものと示唆された。免疫関連の有害事象の管理には GC がよく用いられるが、免疫チェックポイント阻害剤 (ICB) による抗腫瘍免疫応答を抑制する可能性がある。最近、内因性および外因性の GC が免疫療法の治療効果を抑制すると報告された。さらに、PSL-CD8 T 細胞では、疲弊マーカーである PD-1 の発現が増加することを示した。これらの結果から、T 細胞活性化時における PSL の存在が CD8T 細胞の疲弊を加速させる可能性があることを示唆している。さらなる実験が必要だが、内分泌系と T 細胞免疫系の相互関係を正確に理解することで、免疫療法の重要な進歩の一助となると考える。

なお、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 05ko19-1. 16, 05ko20-1. 16)

この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Amane Konishi, Junpei Suzuki, Makoto Kuwahara, Akira Matsumoto, Shunsuke Nomura, Tomoyoshi Soga, Toshihiro Yorozuya, Masakatsu Yamashita : Glucocorticoid imprints a low glucose metabolism onto CD8 T cells and induces the persistent suppression of the immune response. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 588:34-40, 2022 DOI:10.1016/j.bbrc.2021.12.050