

(第3号様式)

学 位 論 文 要 旨

氏 名 小西 周

論 文 名 グルココルチコイドは 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

学位論文要旨

【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。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)

氏名 小西 周

【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 の産生が低下した。また、PSL-CD8 T 細胞において、PD-1 や BTLA といった抑制性受容体の発現が増加していた。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。養子免疫実験の結果においても PSL-CD8 T 細胞における抗腫瘍活性の低下が確認された。さらに、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を解析したところ、PSL-CD8 T 細胞における腫瘍浸潤細胞数の減少が認められた。また、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ていた。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。続いて、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、*Slc2a1*, *Slc2a3* といったグルコーストランスポーターの発現が低下し、メタボローム解析では解糖系中間代謝産物の低下が認められた。そこで、代謝制御に重要とされる mTOR を介したシグナル伝達に対する PSL の影響を解析した。mTOR によってリン酸化されることがわかっているタンパク質、4E-BP1 および S6K のリン酸化レベルは PSL-CD8 T 細胞において低下を認め、その低下は TCR 刺激後 24 時間の時点から始まっていた。また、mTOR の下流に位置し、細胞の代謝調節に関与する転写因子 Hif1 α 、c-Myc、Srebp1 の発現量も PSL-CD8 T 細胞で明らかな低下を認めた。

インスリン様増殖因子 1 (IGF-1) は、PI3K/Akt/mTOR 経路を介して解糖を活性化することが知られている。そこで、TCR 刺激時に PSL と IGF-1 を共処理したところ、TCR 刺激後 5 日目の PSL-CD8 T 細胞の解糖能の低下が改善した。さらに、養子移入実験においても抗腫瘍活性、免疫記憶形成や二次免疫応答の改善を認めた。

【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可能性が明らかとなった。また、その PSL の作用は、IGF-1 により拮抗されることが示された。

キーワード (3~5)	T細胞、エネルギー代謝、ステロイド、インプリント
-------------	--------------------------