

# 「代謝で免疫記憶システムをコントロール」 脂肪酸代謝による免疫記憶システムの解明 ～強力で長期に効果のある予防接種開発に期待～

千葉大学大学院医学研究院免疫発生学教室の中山 俊憲 教授の研究グループは、かずさDNA研究所先端研究開発部オミックス医科学研究室の遠藤 裕介 室長の研究グループと共同で、脂肪酸代謝制御による免疫記憶システムの解明を行いました。

## ■ 研究の背景

ウイルスや寄生虫をはじめとした感染に対してはワクチン(注1)が効果的です。ワクチンを用いた予防接種の要となっているのが免疫記憶システム(注2)です。免疫記憶は、T細胞が外来抗原を認識し、一過性に増殖することからはじまります。抗原が排除された後、殆どの細胞は死滅しますが、ごく一部の細胞は記憶T細胞として生体内で長期間生存し、次回の応答に備えます。記憶T細胞は免疫記憶の司令塔としての役割を担っていますが、その重要性にも拘わらず、どのような特徴を示す細胞が、いかなるメカニズムで記憶T細胞として生体内で長期間生存するのかは明らかになっていませんでした。

## ■ 本研究の成果

本研究グループは、ACC1という脂肪酸合成酵素の経路を抑制することで、より多くの記憶T細胞が形成されることを新たに発見しました。また、寄生虫感染モデルを用いた解析で、ACC1遺伝子欠損マウスではより多くの記憶T細胞が形成され、効率よく寄生虫排除に働くことがわかりました。これらは、脂肪酸代謝を制御することで免疫記憶が増強し、ワクチンの効果を高められることを示しています。さらに、これまで同定されていなかった、記憶T細胞へと分化しやすい「記憶T前駆細胞」(注3)を世界で初めて発見しました(図1)。

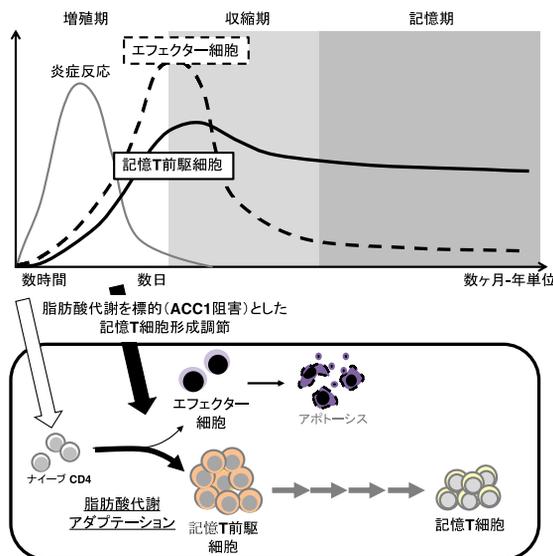


図1: 本研究成果の概要

### 脂肪酸代謝を標的とした記憶T細胞形成の調節

## ■ 今後の展開

本研究の発見を元に、脂肪酸代謝を調節することで、記憶T細胞を人為的にコントロールすることが可能となります。この技術を用いて生体にとって優良な記憶T細胞だけを増やせば、強力で長期に効果のある予防接種の開発が期待されます。また、生体にとって有害となる病原性記憶T細胞を減らすことで、慢性炎症の疾患治療の開発に貢献できると考えています。

本研究は、慈恵医科大学の嘉糠 洋陸 教授、石渡 賢治 教授の協力を得て行いました。

本研究成果は、2019年1月14日11時(米国東部時間)発行の米国科学誌「Nature Metabolism」オンライン版に掲載されました。(https://www.nature.com/articles/s42255-018-0025-4)

論文タイトル: "ACC1 determines memory potential of individual CD4<sup>+</sup> T cells by regulating de novo fatty acid biosynthesis" (ACC1は脂肪酸合成経路を介して記憶CD4<sup>+</sup> T細胞への運命決定を制御する)

## ■ 研究の背景と経緯

ウイルスや寄生虫をはじめとした感染に対してはワクチンが効果的です。最近ではワクチンは感染症だけでなく、アルツハイマーやてんかん、高血圧、肥満などに開発の対象が拡大しています。近代免疫学の父であるジェンナーによって行われた「二度なし」現象を応用したワクチンが有効に働くためには、免疫システムの中核である免疫記憶の成立が必須です。免疫記憶は、ナイーブT細胞が外来抗原を認識し、一過性に増殖することから始まります。抗原排除後、殆どの細胞はアポトーシス(注4)により死滅しますが、ごく一部の細胞は記憶T細胞として生体内で長期間生存し、次の応答に備えます。記憶T細胞は免疫記憶の司令塔としての役割を担っていますが、その重要性にも拘わらず、どのような特徴を示す細胞が、いかなるメカニズムで記憶T細胞として長期間生存するのかは依然として明らかになっていませんでした。

ここ数年間の研究にて、T細胞は分化段階(ナイーブ→エフェクター→記憶T)に応じて、全く異なる代謝経路を使用していることが明らかになりつつあります。実際に、最近の我々の研究から、数ある代謝経路の中でも脂肪酸代謝がTh17細胞分化に必須であることを明らかにしています(Endo et al. *Cell Rep* 2015, *Nature Commun.* 2016, *CMLS* 2017)。こうした代謝システムの視点から記憶T細胞の形成について検討を重ね、もしかしたら、細胞内代謝経路を制御することで記憶T細胞の産生を制御できないか？ワクチンの効果を増強できないだろうか？という挑戦的な疑問に対して答えを出すべく、「代謝で免疫記憶をコントロール」することを目標とし、本研究に取り組みました。

## ■ 研究の内容

本研究グループは、はじめに卵白アルブミン (OVA) に特異的なT細胞受容体(注5)をもつマウスを用いて記憶T細胞形成についての解析を行いました。数多くある代謝経路について調べたところ、脂肪酸合成経路を抑制する (ACC1酵素阻害薬) ことで、より多くの記憶T細胞が形成されることがわかりました。また、血清中のOVA特異的高親和性抗体価の著しい上昇が認められました (図2A、B)。

さらに、寄生虫感染モデルを用いて記憶T細胞に依存する寄生虫の排除についても調べました。OVAを用いた実験と同様、ACC1を欠損したマウス由来の細胞ではより多くの記憶T細胞が検出され、寄生虫も効率よく排除することがわかりました (図2C)。

これらの一連の実験結果は、脂肪酸代謝をコントロールすることで免疫記憶が増強し、ワクチンの効果を高められることを意味しています。

図2

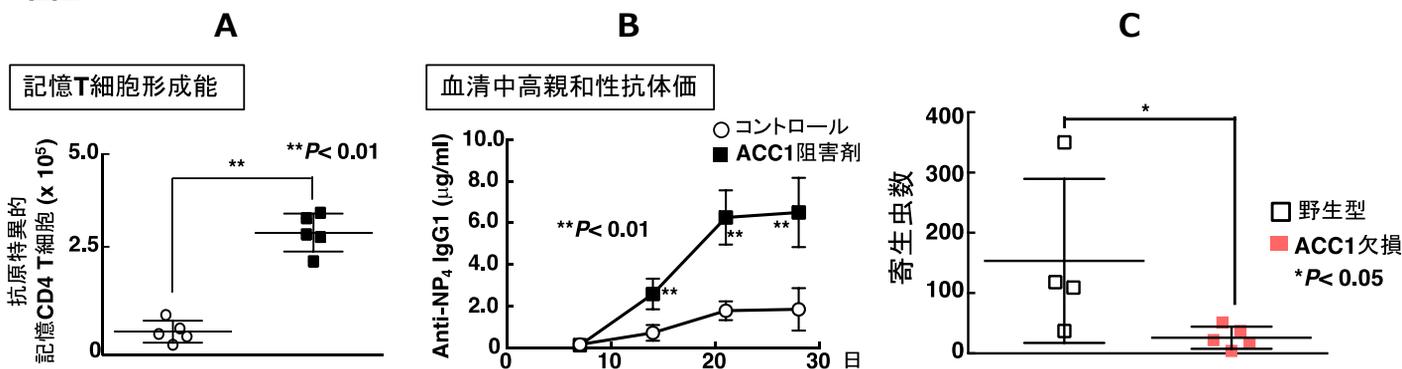


図2: 脂肪酸合成の中心酵素ACC1阻害・欠損による免疫記憶の増強

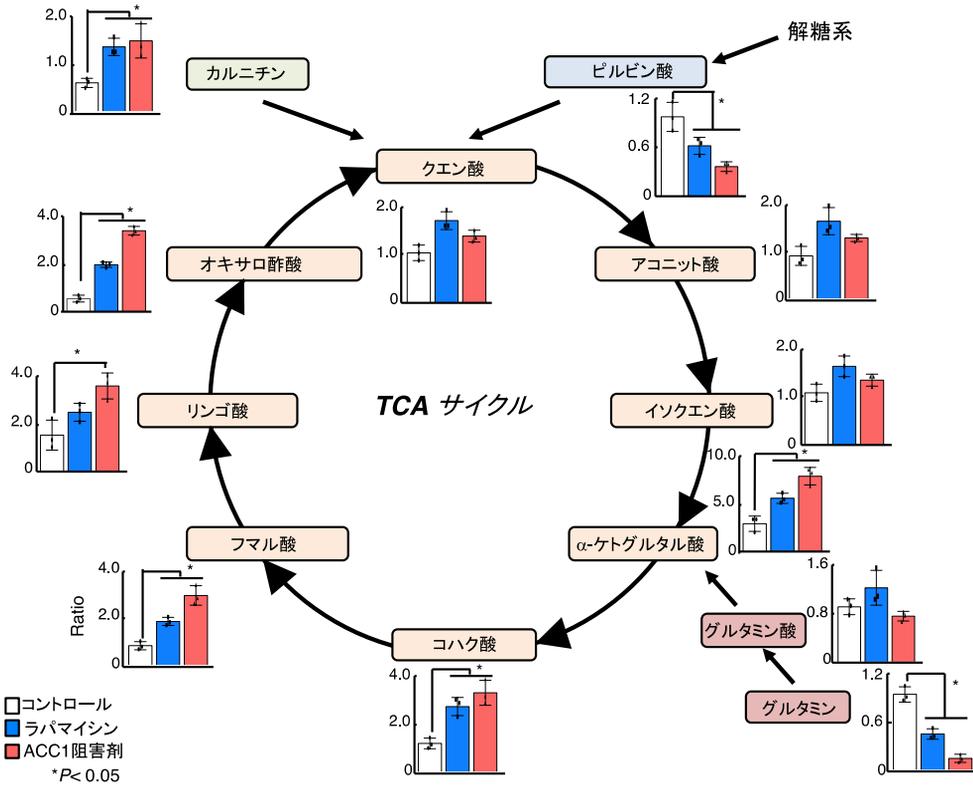
- (A), (B) マウスにOVAを注射することによって記憶T細胞形成能について検討したところ、記憶T細胞数はACC1阻害剤を投与することで著しく上昇した。また、血清中に存在するOVA特異的高親和性IgG1の量も増加が認められた。
- (C) *Nippostrongylus brasiliensis* (げっ歯類に感染する寄生虫の一種) マウス感染モデルを用いて記憶T細胞の能力について解析したところ、野生型と比較して、ACC1欠損マウスでは寄生虫の排除が効率よく行われることが示された。

ACC1の阻害によってなぜ記憶T細胞形成が増強するのか？ということに焦点をあて解析を進めました。活性化したエフェクターT細胞のような動的な代謝（解糖系優位）（注6）と比較して記憶T細胞は生体内で長期間生存するために細胞内の代謝状態も省エネルギー状態（TCAサイクル優位）になっていることが知られています。ACC1を阻害したエフェクターT細胞の代謝について、メタボローム解析（注7）を行い解析したところ、TCAサイクルの代謝物が一様に増加しているのに対し、本来エフェクターT細胞で高いとされるピルビン酸などは低下していることが示されました（図3）。このことから、ACC1阻害群では、エフェクターT細胞でありながら記憶T細胞のような代謝状態（省エネルギー状態）になっていること、すなわち「代謝のリプログラミング」が起こっていることがわかりました。

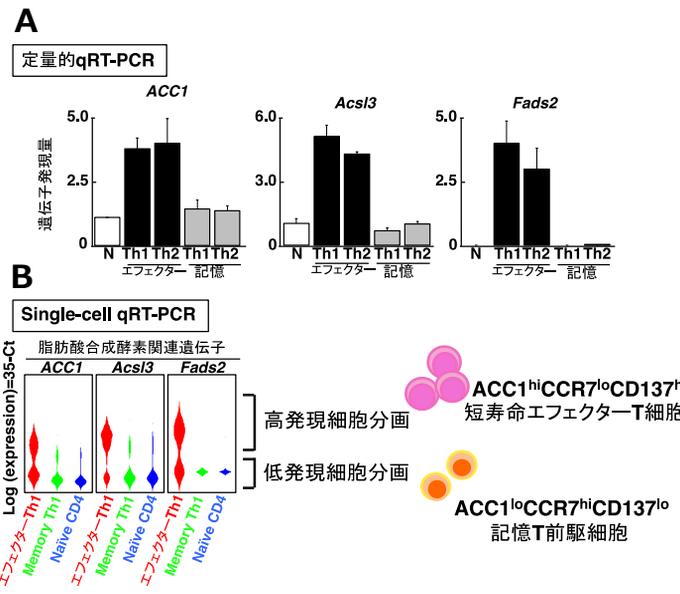
**図3:ACC1阻害剤によるエフェクターT細胞の代謝リプログラミング**

メタボローム解析を行い、ACC1阻害剤を添加したエフェクターT細胞の代謝状態について解析した。TCAサイクルの基質であるクエン酸をはじめとして多くの代謝物の増加が認められた。一方、エフェクターT細胞で亢進している解糖系の中間代謝物であるピルビン酸やグルタミン代謝の基質であるグルタミンの低下が認められた。

これらの結果は、ACC1阻害群はエフェクターT細胞でありながら記憶T細胞と似た代謝状態を示す特殊な細胞代謝特性（代謝リプログラミング）を示すことがわかった。



次に、各分化段階のT細胞について、単一細胞レベルで記憶T細胞として選別される細胞の性質をSingle-Cell Real Time PCR法（注8）を用いて解析しました。通常のReal Time PCRではエフェクターT細胞集団における脂肪酸代謝酵素の多様性は解析できませんが、Single-Cell Real Time PCRの結果から、エフェクターT細胞の中にも一部、記憶T細胞と同様にACC1の発現が低い集団が存在することが示されました（図4）。さらにACC1を指標にした統計解析により、細胞表面分子であるCCR7やCD137の発現レベルによってACC1の発現が低く、記憶T細胞へと分化しやすい「記憶T前駆細胞」が同定されました。



**図4:Single-Cell Real Time PCRによる記憶T前駆細胞の同定**

(A) 通常のReal Time PCRによる脂肪酸合成酵素の発現量。エフェクターT細胞でこれらの酵素の発現上昇が認められ、記憶T細胞で低下が認められる。

(B) Single-Cell Real Time PCRによる脂肪酸合成酵素の発現量。エフェクターT細胞の中にも一部は発現の低い細胞集団があることがわかった。ACC1を指標にした統計解析を行うことで、ACC1低発現細胞群ではCCR7の発現が高く、CD137の発現が低いことが示された。

## ■今後の展開

本研究によって、今までブラックボックスであった記憶T細胞形成の分子メカニズムが明らかになりました。また、これまでCD4 T細胞では同定されていなかった「記憶T前駆細胞」を世界で初めて見つけることができました。

さらに、脂肪酸代謝を調節することで記憶T細胞を人為的にコントロールすることが可能となります。この技術を用いて生体にとって優良な記憶T細胞だけを増やせば、強力に長期に効果のある予防接種の開発が期待されます。また、生体にとって有害となる病原性記憶T細胞を減らすことで、慢性炎症の疾患治療の開発に貢献できると考えています。

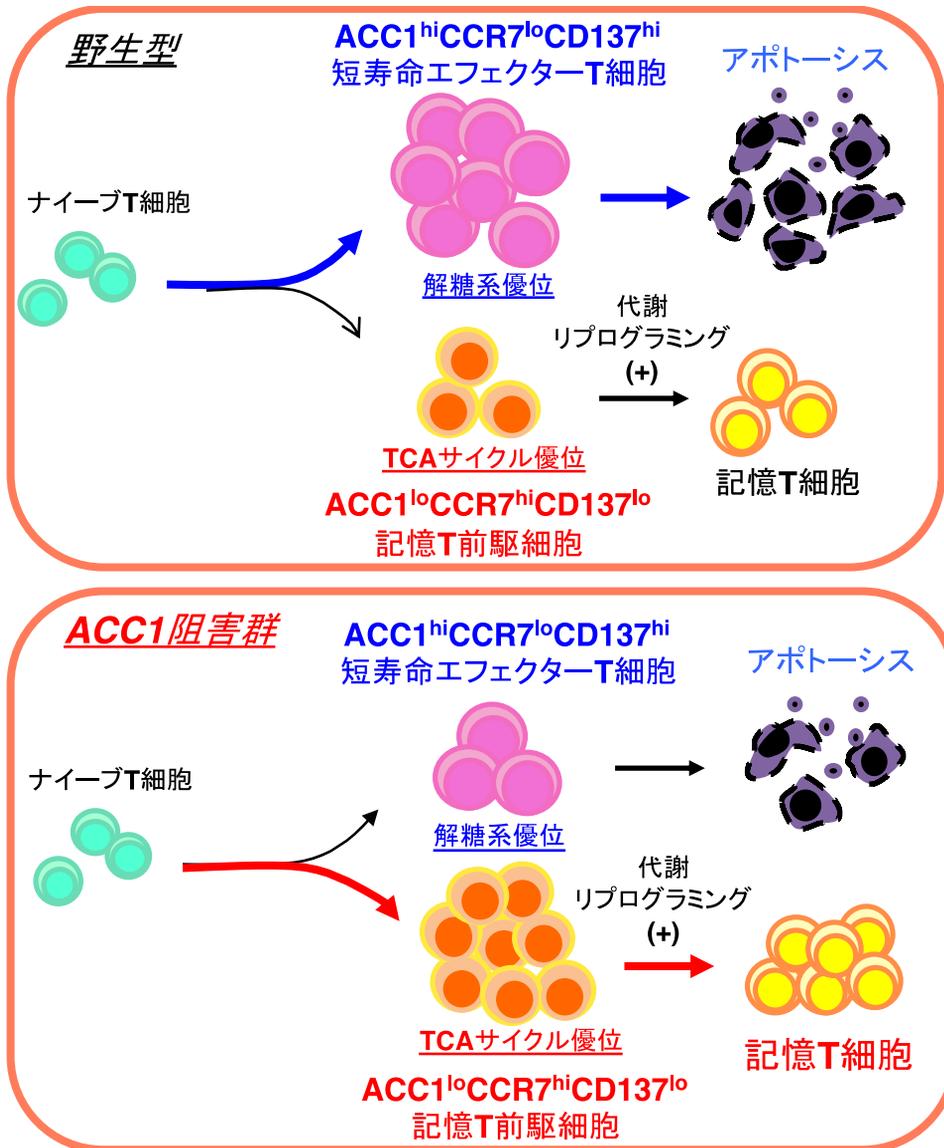


図5:本研究で明らかとなった脂肪酸代謝による記憶T細胞の形成メカニズム

## ■千葉大学とかずさDNA研究所の連携について

2009-2014年：

地域イノベーション戦略支援プログラムにおいて、千葉県が国から受けた競争的資金をもとに、かずさDNA研究所を中核機関として、医療を担う千葉大学と、基礎研究で最先端をいく理化学研究所が連携して、免疫・アレルギー疾患の克服を目指した研究を行い、数多くの成果をあげた。

2015年：

これまでの研究成果の臨床活用、および千葉県における医学研究の発展に向けて、千葉大学未来医療教育研究機構と人事交流も含めた密な連携関係を構築していく包括的な共同研究契約を締結。

2016年：

千葉大学がこれまでに行ってきたがん、免疫・アレルギー、各種疾患に関する研究とかずさDNA研究所がこれまでに蓄積してきたゲノム解析技術を統合して、ゲノム医療の実現を加速するための連携研究室を設置し、ゲノム医学に対する新しい取り組みを開始。

2018年：

かずさDNA研究所に蓄積されたヒトゲノム研究の成果を将来のゲノム医療の展開に活用していくために、様々な先端計測により実現される「オミックス」解析と医学研究の統合による新しい研究領域を切り拓いていくことを目指し、オミックス医科学研究室を新設。クロスアポイントメント制度を利用して、千葉大学大学院医学研究院特任准教授である遠藤裕介氏が室長に就任した。

\* クロスアポイントメント制度とは；

研究者が大学、公的研究機関、民間企業のうち、二つ以上の組織と雇用契約を結び、一定の勤務割合の下で、それぞれの組織における役割分担や指揮命令系統に従いつつ、研究・開発および教育などの業務に従事することを可能にする制度。新たなイノベーションを創出するための技術移転や、人材の流動化の促進につながると期待される。

## ■用語解説

注1：ワクチン

感染症の予防に用いる医薬品の一種。病原体からつくられた無毒化もしくは弱毒化された抗原を投与することで、体内にその病原体に対する抗体産生をうながし、感染症に対する生体内の免疫を獲得する。

注2：免疫記憶システム

免疫応答において、初回病原体などの感染を受けて生じたT細胞やB細胞などの獲得免疫を司る細胞群が一部保持され、二度目以降に同じ抗原に対して強い免疫応答を示し、迅速に病原体を排除する仕組み。

注3：記憶T前駆細胞

前駆細胞とは幹細胞から発生し体を構成する最終分化細胞へと分化することのできる細胞と定義づけられている。つまり記憶T前駆細胞は、数多くあるT細胞の中でも記憶T細胞への分化ポテンシャルを持った細胞集団である。

注4：アポトーシス

多細胞生物の体を構成する細胞の死に方の一種で、個体をより良い状態に保つために積極的に引き起こされる、管理・調節された細胞の自殺、すなわちプログラムされた細胞死のこと。壊死（ネクローシス）と対義づけられて用いられることが多い。

#### 注5：T細胞受容体

T細胞の膜表面上に発現している抗原受容体分子。成熟T細胞のもつT細胞受容体は遺伝子再構成を經過しているため、一個体の中には非常に多様性の富んだT細胞受容体を持ち、無数の抗原を認識し、対応できるようになっている。

#### 注6：細胞内代謝

代謝は大きく分けて異化（カタボリズム）と同化（アナボリズム）の二つに区分される。異化は細胞内にある物質（代謝物）を分解することによってエネルギーを得る過程であり、解糖系や細胞呼吸（TCAサイクル）がある。一方、同化はエネルギーを使って物質を合成する過程であり、例えばタンパク質・核酸・脂質の合成がある。解糖系と比較してTCAサイクルはエネルギー産生効率が高いが、産生速度がゆっくりである。酸素呼吸を行う生物の多くの体細胞は、はやい速度での細胞分裂を必要としないためTCAサイクルを主なエネルギー産生源として用いている。一方、活性化T細胞やがん細胞は急激な増殖をするため、好氣的な環境においてもエネルギー産生のはやい解糖系に偏った代謝状態（ワールブルク効果）をとる。

#### 注7：メタボローム解析

生体内には、核酸やタンパク質のような高分子の化合物のほか、糖や有機酸、アミノ酸、脂肪酸などの低分子化合物も数多く存在している。これらの多くは代謝によって作り出された代謝産物であり、生体内に存在する代謝産物を網羅的に解析することがメタボローム解析である。

#### 注8：Single-Cell Real Time PCR法

これまで同じ種類の細胞集団は均一であると考えられていたが、最近の研究では、非常に小さな同集団の細胞であっても実際には不均質性が存在することが明らかになっている。Single-Cell Real Time PCR法は単一細胞で遺伝子・RNA発現の定量を行う。最新の研究では、さらにその情報を次世代シーケンサーで解析するSingle-Cell RNAシーケンスが行われ、単一細胞の全遺伝子・RNAを読むことが行われている。

#### 【本研究に関するお問い合わせ】

千葉大学 大学院医学研究院 免疫発生学（H3）教授 中山 俊憲（ナカヤマ トシノリ）

Tel : 043-226-2185 携帯電話 : 080-5006-3213 Fax : 043-227-1498

E-mail : [tnakayama@faculty.chiba-u.jp](mailto:tnakayama@faculty.chiba-u.jp)

#### 【取材に関するお問い合わせ】

千葉大学 未来医療系事務部医学部事務部 総務係 佐藤

Tel : 043-226-2841 E-mail : [med-international@chiba-u.jp](mailto:med-international@chiba-u.jp)