

【要約】

Acetyl-CoA carboxylase 1 drives two functionally distinct pathogenic T cell populations to facilitate allergic inflammation in the lung and skin

(ACC1 の発現は機能的に異なる 2 つの病原性 2 型ヘルパー

T 細胞の集団を誘導し肺や皮膚の炎症を促進する)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：小原 収教授)

中嶋 隆裕

【背景】

アトピー性皮膚炎や喘息などのアレルギー疾患の患者数は多くの国で増加しており、深刻な問題となっている。これらの疾患は主に Th2 細胞や近年同定された 2 型自然リンパ球 (ILC2) などが産生する 2 型サイトカインによって誘導されることが知られている。我々は以前好酸球性気道炎症の原因となる、IL-5 を多量に産生する病原性記憶 Th2 細胞を同定し報告している。2 型サイトカインを特に多量に産生する病原性記憶 Th2 細胞や ILC2 は IL-33 や IL-25 などの上皮細胞の障害によって放出される組織チェックポイントサイトカインで誘導されることはよく知られているが、内因性の誘導因子については未だ不明な点が多い。我々はこれまでに CD4⁺ T 細胞の早期活性化や記憶 T 細胞の形成が細胞の内在性の脂肪酸によって制御されていることを報告し、CD4⁺ T 細胞の分化・活性化と脂肪酸合成との関係を明らかにしており、病原性 Th2 細胞特異的な脂質代謝プロファイルが判明すればアレルギー疾患治療のターゲットとなり得る。

【目的】

IL-5 を高産生する病原性 Th2 細胞の機能分化における脂質代謝の役割を解明し、代謝を標的としたアレルギー疾患の病態制御の基盤を構築することを目的とした。

【方法】

DO11.10 トランスジェニックマウス由来のナイーブ CD4⁺ T 細胞を *in vitro* にてエフェクター Th2 細胞に分化させたのち、同系のヌードマウスに移入した。4~6 週間後に脾臓から CD4 陽性 DO11.10 陽性の移入細胞を回収し、記憶 Th2 細胞として一連の実験に使用した。また、ILC2 は過去の報告を参考に IL-33 をマウスに 5 日間腹腔内投与を連続して行い、脾臓から Lineage marker 陰性 CD127 陽性 Thy1.2 陽性の細胞を単離し ILC2 として実験に使用した。アセチル CoA カルボキシラーゼ 1 (ACC1) の阻害には 5-tetradecyloxy-2-furoic acid (TOFA) を、mTOR の阻害にはラパマイシンをそれぞれ用いて病原性記憶 Th2 細胞および ILC2 のサイトカイン産生や増殖に対する影響について解析した。また、CD4⁺ T 細胞特異的 ACC1 欠損マウスを用い、IL-33 誘導性気道炎症モデルマウスおよび MC903 誘導性アトピー性皮膚炎モデルマウスによって、アレルギー疾患の病態における ACC1 の作用について評価を行った。さらに ACC1 欠損病原性記憶 Th2 細胞を用いて RNA シークエンス解析を行い、ACC1 によって制御されるサイトカインの候補を同定した。ACC1 欠損細胞における代謝状態の変化はフラックスアナライザーによって解析し、サイトカイン産生をはじめとした病原性 Th2 細胞の機能分化を制御する分子メカニズムの解明を行なった。

【結果・考察】

はじめに病原性 Th2 細胞の誘導サイトカイン IL-33 による細胞内代謝経路の作用について解析を行った。記憶 Th2 細胞を IL-33 で 5 日間培養することで細胞内代謝の主要因子である Mechanistic target of rapamycin (mTOR) が活性化し mTOR 下流の S6、4E-BP1 がリン酸化されることがわかった。また、ACC1 をコードする *Acaca* をはじめとした脂肪酸合成関連遺伝子が活性化することが示された。IL-33 との培養で記憶 Th2 細胞の IL-5 産生も誘導されるが mTOR の阻害剤であるラパマイシン投与により IL-5 の産生および脂肪酸合成関連遺伝子の抑制が認められた。同様に、ACC1 のアロステリック阻害剤である TOFA の投与によって IL-5 の産生が抑制されることから、記憶 Th2 細胞の IL-5 産生は mTOR を介した ACC1 による脂肪酸合成によって制御されることが示唆された。また ILC2 においてもラパマイシン、および TOFA の投与により IL-5 や IL-13 の産生が抑制された。フラックスアナライザーによって記憶 Th2 細胞を解析した結果、解糖系や酸化的リン酸化が ACC1 の欠損により抑制されており、オレイン酸を補充するとその一部を回復できることが明らかとなった。また、ACC1 の阻害により、ヒストンのアセチル化が抑制されていることが確認されたことから、代謝リプログラミングが阻害された結果 IL-5 遺伝子の転写が障害され IL-5 産生の抑制につながったことが示唆された。次に我々は ACC1 の抑制による IL-5 産生の減弱が病態に及ぼす影響を評価するため、CD4⁺ T 細胞特異的に ACC1 を欠損したマウスを用いて実験を行なった。マウスに IL-33 を 3 日間経鼻投与し気道炎症を誘導したところ、コントロールのマウスと比較して ACC1 を欠損したマウスでは ST2^{hi}IL-5⁺CD4⁺ T 細胞の集団が顕著に減少し肺胞洗浄液中の細胞数、好酸球数、および肺の炎症像や好酸球炎症に関連する mRNA の発現が抑制された。これらの結果から、ACC1 は IL-5 を産生する病原性 Th2 細胞の誘導を介して肺の好酸球性炎症の病態を制御していることが示唆された。

我々は以前 Th17 細胞の IL-17A 産生、および自己免疫疾患病態が ACC1 による脂肪酸合成を介して制御されていることを報告した。今回の研究において、ACC1 が病原性 Th2 細胞の IL-5 産生およびアレルギー疾患病態を制御することが示唆されたことから、ACC1 が病原性サイトカインの産生を制御しているのではないかと着想し、ACC1 を欠損した記憶 Th2 細胞の RNA シークエンス解析を行った。これまでの実験結果と同様に IL-5 や IL-13 が ACC1 の欠損により発現が抑制されていたが、それに加え IL-3 や GM-CSF などの発現が ACC1 欠損群で低下していることが認められた。実際に、IL-3 や GM-CSF の産生をフローサイトメトリーで評価を行ったが、ACC1 の阻害により記憶 Th2 細胞由来のこれらのサイトカインが抑制されることが確認された。ACC1 阻害による IL-3、IL-5、GM-CSF の産生抑制は、Acetate の投与によってヒストンアセチル化を誘導することで一部が回復することが確認された。次に IL-3 がその病態形成に重要であることが知られているアトピー性皮膚炎について、CD4⁺ T 細胞特異的に ACC1 欠損マウスを用いて検証を行った。カルシポトリオール (MC903) をマウスの耳介に経皮投与し皮膚炎を誘導したところ、コントロールのマウスと比べ CD4⁺ T 細胞特異的に ACC1 を欠損したマウスでは皮膚の炎症や腫脹が抑制されることが認められた。また、このシステムにおける皮膚 CD4⁺ T 細胞において、ACC1

を高発現する細胞集団から特異的に IL-3 が産生されることが明らかとなった。ACC1 を欠損したマウスでは CD4⁺ T 細胞からの IL-3 産生のほか、所属リンパ節および耳介の好塩基球の CD63 や CD203c などの活性化マーカーの発現が抑制されていた。このことから、CD4⁺ T 細胞特異的な ACC1 の欠損による IL-3 の減少が好塩基球の活性化を妨げ皮膚炎症が抑制されたものと示唆された。

以上の結果により、病原性 Th2 細胞の IL-5 や IL-3 の産生は ACC1 による脂肪酸合成を介して制御されていること、病原性 Th2 細胞における ACC1 は代謝リプログラミングとヒストンアセチル化をコントロールすることでその病原性を制御していること、*in vivo* モデルにおける CD4⁺ T 細胞特異的な ACC1 欠損により病原性 T 細胞の機能を抑制することでアレルギー性炎症病態が改善されることが示唆された。また、ACC1 は肺における IL-5 産生 Th2 細胞と皮膚における IL-3 産生 Th2 細胞という異なる表現型を持つ病原性 Th2 細胞を共に制御することが明らかとなった。今後の展望としては病原性 Th2 細胞の誘導に特異的に必要な脂肪酸の特定とそのメカニズムの解明が必要だと考えられた。

【結論】

ACC1 は IL-5 産生および IL-3 産生病原性 Th2 細胞を誘導することで、喘息および皮膚炎の病態を制御していることが示された。これらの一連の実験結果から、喘息やアトピー性皮膚炎の病態を引き起こす病原性 Th2 細胞の内因性因子である ACC1-脂質合成経路がアレルギー病態をコントロールする新たな治療標的となりうることが示された。