

肥満-乾癬の免疫代謝を標的とした制御法の基盤構築

公益財団法人かずさ DNA 研究所先端研究開発部オミックス医科学研究室
遠藤 裕介

1. 研究背景と目的

尋常性乾癬は近年の日本において増加が著しい慢性皮膚炎症角化症である。また、メタボリックシンドロームと慢性炎症の観点から、肥満、脂質異常症をもつ患者において乾癬の罹患率が上昇すると報告されている。そのような背景において、我々は以下に示す重要な予備的知見を得ている。

1. BMI35 以上の高度肥満患者において炎症性 Th17 細胞の増加、および免疫抑制作用を持つ Treg の著しい減少が認められた。

2. 高脂肪食を 30 週以上与えた高度肥満マウスでは乾癬様症状を示し、Treg の劇的な減少、および Th17 関連免疫細胞集団 (Th17・ILC3・ $\gamma\delta$ T) の増加が認められた。また、Treg 除去マウスでは、乾癬病態の早期化が認められた。

以上の背景・予備的実験結果より、Th17 関連細胞/Treg バランスの破綻が肥満-乾癬病態を誘導する要因なのではないかと推察された。そこで、本研究は肥満-乾癬の病態について、Th17 関連細胞/Treg の組織動態を解析し、病態を促進/抑制する細胞集団の役割について明らかにする。また、それぞれの免疫細胞集団について、どの種の代謝物を介して免疫システムの調節が行われ、いかなるメカニズムで組織リモデリングに至るか解明することを目標とし研究を開始した。

2. 方法と結果

① 肥満-乾癬病態における ACC1 の重要性解明

これまで、肥満により Th17 細胞の数が増加するという報告はあったものの、どのような分子を介して、またどのようなメカニズムで誘導されるかについては不明であった。この要因を探るべく、高脂肪食による肥満マウスの CD44 陽性メモリー様 CD4 T 細胞を用いて RNA シークエンス解析を行ったところ、コントロールマウス由来の細胞と比較して、脂肪酸合成酵素 ACC1 を高発現していることが明らかとなった。同様に、健常人 20 人、および肥満患者 20 人 (BMI>30) を対象として、末梢血 CD4 T 細胞の機能および ACC1 の発現について解析を行った。肥満マウスの実験結果と同様に、肥満患者由来の CD45RO 陽性メモリー様 CD4 T 細胞は健常人由来の細胞と比較して、より多くの IL-17A を産生すること、また ACC1 の発現上昇が認められた。非常に興味深いことに、肥満患者の CD45RO 陽性メモリー様 CD4 T 細胞における ACC1 の発現レベルは IL-17 産生細胞の割合と強い相関関係にあることが分かった (図 1)。こうした結果と一致して、多発性硬化症のマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE: Experimental Autoimmune Encephalomyelitis) や乾癬の病態が肥満マウスで増悪化するという結果についても確認した。そこで次に、ACC1 がこうした肥満誘導性の自己免疫疾患病態に関与しているか解析する目的で、ACC1 の選択的阻害剤を投与して同様にこれらの病態が改善されるか検討をおこなった。結果として、肥満誘導性の EAE 病態、乾癬の病態、さらには Th17 細胞の炎症局所への浸潤は著しく抑制されることが認められたため、CD4 T 細胞で発現上昇が認められた ACC1 が肥満病態において自己免疫疾患を増悪化させることが示唆された (図 2)。これら一連の結果より、肥満環境において、

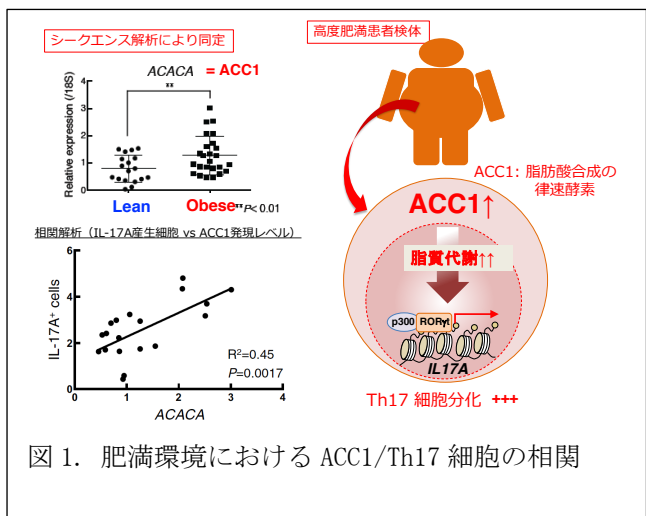


図 1. 肥満環境における ACC1/Th17 細胞の相関

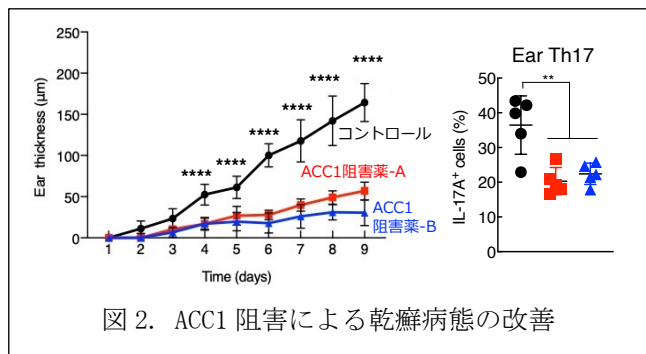


図 2. ACC1 阻害による乾癬病態の改善

これら一連の結果より、肥満環境において、

ACC1 は Th17 細胞分化を増強し、自己免疫疾患を増悪化させるドライバー因子として作用することが明らかとなった。次に、肥満の乾癬病態亢進と制御性 T 細胞との関連について解析するべく、CD25 抗体を用いて制御性 T 細胞を欠損させたマウスを用いて検討を行った。制御性 T 細胞を欠損したマウスにおいても高脂肪食によって 10 週間までは野生型マウスと同様に体重増加が認められた。しかし、10 週過ぎたあたりから制御性 T 細胞を欠損させたマウスでは自発的に皮膚炎症状を示すようになってきた。20 週を過ぎるとより高度な全身性の炎症病態を示す重症化群が多数認められたことから、制御性 T 細胞が高度肥満病態の抑制に重要な役割を担っていることが推測された。

② ACC1-脂質合成経路の Th17 細胞分化における役割解明

ACC1 の Th17 細胞分化の役割について、選択的 ACC1 阻害剤および T 細胞特異的 ACC1 欠損マウスを用いて解析を行ったところ、ACC1 の阻害および欠損により Th17 細胞分化が著しく抑制されることが示された (図 3)。逆に ACC1 の過剰発現トランスジェニックマウスではマウス生体内の Th17 細胞数の増加が認められた。以上の結果より、ACC1 が CD4 T 細胞内において、内因的に Th17 細胞分化を誘導する作用をもつことが明らかとなった。ACC1 の欠損、阻害もしくは過剰発現によって、他のサブセットである Th1、Th2、iTreg に大きな変化は認められなかったことから、ACC1 は Th17 細胞に選択的に作用していることが推察された。

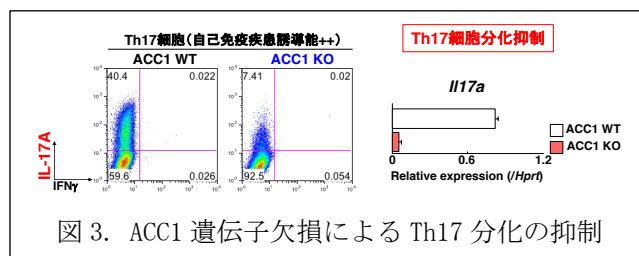


図 3. ACC1 遺伝子欠損による Th17 分化の抑制

次に ACC1 がいかんして Th17 細胞分化をコントロールしているか続けて解析を行った。Th17 細胞分化のマスター転写因子である RORγt は転写レベルの制御として IL-6-STAT3 経路により誘導されることが知られている。しかし、タンパクレベルでの活性化制御機構には未だ不明な点が多い。2009 年に、Dan Littman らのグループは人工的に合成した Digoxigenin が RORγt のインバーサゴニストとして作用し、Th17 細胞分化の著しい抑制および Th17 誘導性の EAE 病態の劇的な改善がおこることを報告している。この結果は RORγt の機能低下により Th17 細胞分化が大きく影響されることを意味している。我々は ACC1 欠損 Th17 細胞について RORγt に焦点をあて解析を行ったところ、RORγt 自体の mRNA およびタンパク量に変化は認められなかったが RORγt の標的遺伝子である Il23r、Ltb4r1 および Ccr6 の発現が著しく低下していた。また、それに伴い RORγt の標的遺伝子座への結合能の低下、核内における局在変化が認められた。

野生型マウス由来の Th17 細胞では RORγt は核内で HAT 複合体の主要構成分子である p300 と共局在するのに対して、ACC1 欠損および阻害した Th17 細胞では RORγt は核の端に局在し、p300 とほとんど共局在している像は観察されなかった (図 4)。重要な点として、RORγt は核内受容体の一つであり、活性化にはリガンドの結合が必要であると推測されている。しかし、これまでに生理的リガンドは未だ同定されていない。核内受容体研究から、ほとんどの核内受容体はリガンドとして、脂肪酸を含む脂質やその類似体を用いていることが明らかとなっている。以上の点を踏まえ、我々は ACC1 によって合成される脂肪酸代謝物が RORγt の生理的リガンドとして作用しているのではないかと考えた。はじめに、脂質代謝物に焦点をあてたメタボローム解析を行ったところ、生体内に最も豊富に存在している脂肪酸の一つであるオレイン酸が TOFA を用いて ACC1 を抑制した Th17 細胞で優位に低下していることが示された。また、ACC1 欠損 Th17 細胞にオレイン酸を添加することによって IL-17A 産生細胞の回復が認められた。同様に IL-17A だけでなく、Il23r や Ccr6 の発現についてもオレイン酸の添加によって回復することが示された。次に RORγt の機能についても解析を行ったところ、予想通りオレイン酸を添加することによって標的遺伝子座への結合能および、核内局在、p300 との共局在が野生型マウス由来の Th17 細胞とほぼ同程度まで回復することが認められた。非常に興味深いことに、多価不飽和脂肪酸や飽和脂肪酸ではこのような RORγt の機能、Th17 細胞分化の回復は認められず、一価の不飽和脂肪酸でこのような傾向が認められたことから、おそらく RORγt の生理的リガンドとして一価の不飽和脂肪酸およびその代謝物が機能していることが推測された。

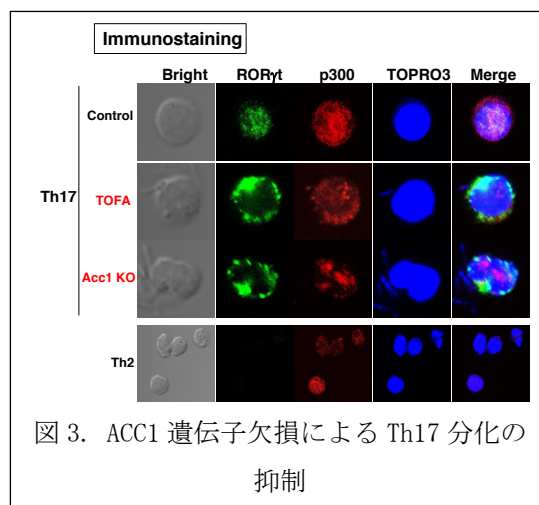


図 3. ACC1 遺伝子欠損による Th17 分化の抑制

3. 考察および今後の展望

本研究によって見出された脂肪酸合成酵素 ACC1 は肥満環境下で、Th17 細胞誘導性の乾癬病態を増悪化させていたことから、肥満における自己免疫性炎症疾患のドライバー因子であると考えられる。また、今回の研究結果から、ACC1 は脂肪酸合成経路を活性化し、Th17 細胞のマスター転写因子である RORγt の機能をコン

トロールすることで、Th17 細胞分化を誘導するという新たな分子メカニズムが解明された。今後、どの脂肪酸代謝物が ROR γ t の内在性リガンドとして機能しているかを探索することで、Th17 細胞による炎症性疾患の予防、新規診断マーカー、治療に結びつく可能性が広がると期待される。また、肥満患者の CD4 T 細胞において、ACC1 の発現レベルと Th17 細胞の割合に相関が認められたことから、ACC1 は自己免疫疾患を含む肥満誘導性の炎症性疾患のリスク因子であると考えられる。これまでに、脂肪酸合成酵素をターゲットとした阻害剤は製品化には至っていないが、今後、ACC1 や ACC1 が制御している特定の脂肪酸およびその合成経路を創薬ターゲットとする研究を進展させることで、将来的に肥満誘導性自己免疫性炎症疾患の治療開発に役立つことが期待される。また、飽和脂肪酸=悪玉、多価不飽和脂肪酸=善玉というシンプルな考えを修正し、疾患に応じた脂肪酸の意味づけを解明していくことが必要であると考えられる。これらの結果を受けて、今後の課題として制御性 T 細胞の減少、あるいは Th17 細胞の機能亢進が高度重症化マウスの病態誘導のトリガーとなっているのかを確定したい。そのため、次の指針として、肥満誘導後の細かいタイムコースをとって制御性 T 細胞および Th17 細胞のホメオスタシスをコントロールする脂質や制御性 T 細胞内因性の代謝酵素の同定を試みる。現状、プレリミナリーな段階ではあるが、RNA シークエンスおよびプロテオームの統合解析により、制御性 T 細胞特異的に発現している脂質代謝酵素を見出している。今後はこれらの脂質代謝酵素の高度肥満病態における作用について検討を行うこと、また同時に炎症を誘導する病原性リンパ球をコントロールする脂質代謝酵素および脂質代謝産物を同定し、「脂質代謝で免疫を制御する」ことを目指して邁進していきたい。

参考文献

- 1) Endo Y.^{*}, Kanno T., and Nakajima T. 2022. Fatty acid metabolism in T cell function and differentiation. *International Immunology*, 10.1093/intimm/dxac025.
- 2) Endo, Y., Asou, H. K., Matsugae, N., Hirahara, K., Shinoda, K., Tumes, D. J., Tokuyama, H., Yokote, K., and Nakayama, T. 2015. Obesity Drives Th17 Cell Differentiation by Inducing the Lipid Metabolic Kinase, ACC1. *Cell Rep* 12:1042.
- 3) Bettelli, E., Carrier, Y., Gao, W., Korn, T., Strom, T. B., Oukka, M., Weiner, H. L., and Kuchroo, V. K. 2006. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 441:235.
- 4) Sun, L., Fu, J., and Zhou, Y. 2017. Metabolism Controls the Balance of Th17/T-Regulatory Cells. *Front Immunol* 8:1632.
- 5) Berod, L., Friedrich, C., Nandan, A., Freitag, J., Hagemann, S., Harmrolfs, K., Sandouk, A., Hesse, C., Castro, C. N., Bahre, H., Tschirner, S. K., Gorinski, N., Gohmert, M., Mayer, C. T., Huehn, J., Ponimaskin, E., Abraham, W. R., Muller, R., Lochner, M., and Sparwasser, T. 2014. De novo fatty acid synthesis controls the fate between regulatory T and T helper 17 cells. *Nat Med* 20:1327.
- 6) Endo, Y., Yokote, K., and Nakayama, T. 2017. The obesity-related pathology and Th17 cells. *Cell Mol Life Sci* 74:1231.
- 7) Gaublot, J. T., Yosef, N., Lee, Y., Gertner, R. S., Yang, L. V., Wu, C., Pandolfi, P. P., Mak, T., Satija, R., Shalek, A. K., Kuchroo, V. K., Park, H., and Regev, A. 2015. Single-Cell Genomics Unveils Critical Regulators of Th17 Cell Pathogenicity. *Cell* 163:1400.
- 8) Wang, C., Yosef, N., Gaublot, J., Wu, C., Lee, Y., Clish, C. B., Kaminski, J., Xiao, S., Meyer Zu Horste, G., Pawlak, M., Kishi, Y., Joller, N., Karwacz, K., Zhu, C., Ordovas-Montanes, M., Madi, A., Wortman, I., Miyazaki, T., Sobel, R. A., Park, H., Regev, A., and Kuchroo, V. K. 2015. CD5L/AIM Regulates Lipid Biosynthesis and Restrains Th17 Cell Pathogenicity. *Cell* 163:1413.
- 9) Santori, F. R., Huang, P., van de Pavert, S. A., Douglass, E. F., Jr., Leaver, D. J., Haubrich, B. A., Keber, R., Lorbek, G., Konijn, T., Rosales, B. N., Rozman, D., Horvat, S., Rahier, A., Mebius, R. E., Rastinejad, F., Nes, W. D., and Littman, D. R. 2015. Identification of natural ROR γ ligands that regulate the development of lymphoid cells. *Cell Metab* 21:286.
- 10) Hu, X., Wang, Y., Hao, L. Y., Liu, X., Lesch, C. A., Sanchez, B. M., Wendling, J. M., Morgan, R. W., Aicher, T. D., Carter, L. L., Toogood, P. L., and Glick, G. D. 2015. Sterol metabolism controls T(H)17 differentiation by generating endogenous ROR γ agonists. *Nat Chem Biol* 11:141.