

主論文の要旨

Macrophages rely on extracellular serine to suppress aberrant cytokine production

マクロファージは異常なサイトカイン産生を抑制するために
細胞外のセリンを必要とする

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 糖尿病・内分泌内科学分野

(指導：有馬 寛 教授)

栗田 研人

【背景】

近年、栄養代謝と免疫応答が相互制御しながら生体の恒常性を維持する分子機構が明らかになりつつあり、免疫代謝 (Immunometabolism) と称される研究領域が注目されている。マクロファージはサイトカイン産生、死細胞や外来異物の貪食、抗原提示などを介して生体の炎症応答を制御しており、特にサイトカイン産生は感染や組織損傷において重要な役割を果たしている。これまでに、マクロファージにおける過剰な脂質の蓄積や糖代謝異常が炎症性サイトカイン産生の促進し、炎症を悪化させることが報告されているが、アミノ酸、特に非必須アミノ酸の炎症制御における意義には不明な点が多い。

我々は既に、飽和脂肪酸によるマクロファージ炎症時には、セリン代謝関連遺伝子群が大きく変化することを見出しており、マクロファージ炎症制御においてセリン代謝が関与する可能性を示唆してきた。セリンは細胞のヌクレオチドやタンパク質の合成に不可欠であり、細胞の生存や増殖に重要である。細胞内のセリンは、①解糖系代謝産物からの生合成、②グリシンからの変換、③細胞外からの取込みによって供給され、生体内のほとんどの細胞では自己合成が可能であることから、セリンは非必須アミノ酸に分類される。しかしながら、炎症時のマクロファージにおけるセリンの意義には不明な点が多く、そのメカニズムも明らかではない。本研究では、セリンによるマクロファージのサイトカイン産生に対する影響とそのメカニズムの解明を目的とした。

【方法】

マウスから得た骨髓由来あるいは腹腔内マクロファージを、全てのアミノ酸を含む通常培地、あるいはセリンと細胞内セリンの供給源であるグリシンを除去した培地で培養し、リポポリサッカライド (LPS) により炎症を誘導したときの、サイトカイン産生への影響を検討した。また、セリン欠乏による細胞内の変化を網羅的に解析するために、メタボローム解析とトランスクリプトーム解析を施行し、セリン欠乏により減少する代謝産物の補充や、酵素阻害剤の添加により、セリン代謝がサイトカイン産生を制御するメカニズムを検討した。

【結果】

全てのアミノ酸を含む通常培地で培養したマクロファージにおいて、LPS により炎症を誘導すると、セリン代謝関連遺伝子の発現が増加する (Fig.1A)。この時、培地中のセリン、グリシンを除去することにより、セリン合成酵素などのセリン代謝関連遺伝子の発現量はさらに増加したが、マクロファージ内のセリン含量は顕著に減少することを見出した (Fig.1B, 1C)。培地内セリン、グリシンの除去、あるいは細胞内へのセリン取り込みを担うトランスポーターの発現抑制により、LPS 誘導性の抗炎症性サイトカイン Interleukin-10 (IL10) 産生は顕著に減少し、Interleukin-6 (IL6) などの炎症性サイトカイン産生は増加した (Fig.2A, 2B)。

次に、細胞内セリン欠乏によるサイトカイン産生制御のメカニズムを明らかにする目的でメタボローム解析をトランスクリプトーム解析したところ、セリン欠乏により細胞内代謝物がダイナミックに変容することを見出した。セリン欠乏により減少する代謝物を補充したところ、ピルビン酸の補充により IL10 産生が回復するとともに、炎症性サイトカインの産生が抑制された (Fig.3A)。

ピルビン酸は細胞質からミトコンドリアへ移行し、クエン酸回路と電子伝達系によりエネルギーを産生する。通常培地で培養したマクロファージにおいて、ピルビン酸の細胞質からミトコンドリアへの輸送を阻害することにより、IL10 産生が減少、IL6 産生が増加し、セリン欠乏時と同様の現象を認めた (Fig.3B)。さらに、セリン欠乏時のマクロファージでは、酸素消費速度が低下しており (Fig.4A)、ミトコンドリアにおける酸化リン酸化が低下していると考えられた。実際セリン欠乏時には、マクロファージ内 NADH が減少しており (Fig.4B)、ミトコンドリアにおける活性酸素産生も低下していた (Fig.5A)。一方、通常培地で培養したマクロファージにおいてミトコンドリア活性酸素を除去すると、IL10 産生の減少と IL6 産生の増加が認められた (Fig.5B)。

【考察】

従来、セリンは非必須アミノ酸であると考えられてきたが、本研究において、炎症時のマクロファージではセリン合成遺伝子発現が増加するにも関わらず、細胞内のセリンが枯渇することを見出した。この時マクロファージは、セリン供給を細胞外に依存し、炎症応答のためのサイトカイン産生を制御することが明らかとなった。本研究では、メタボローム解析とトランスクリプトーム解析を組み合わせることにより、細胞全体の代謝変化を網羅的に捉え、ピルビン酸がマクロファージ炎症応答における鍵分子であることを見出した。

セリンはピルビン酸合成酵素の活性化に必要なため、セリン欠乏状態においてピルビン酸量の低下が生じたと考えられる。セリンは、そのメチル基をヌクレオチドやタンパク質の合成のために供与し、細胞増殖に不可欠であることが報告されているが、マクロファージのような非増殖性の細胞機能における意義は明らかではなかった。我々のメタボローム解析の結果、セリン欠乏によってグルタチオン (GSH) が低下することから、セリンのメチル基供与体としての重要性は確認できた。一方、セリン欠乏により減少した GSH を補充しても IL-10 には影響がないことから、少なくとも IL-10 発現において GSH へのメチル基供与体としてのセリンは重要ではないと考えられる。

本研究では、データベースに登録されているトランスクリプトームデータを再解析することにより、ロタウィルスや関節リウマチなど一部のヒト炎症性疾患において、マクロファージのセリン需要が増加する可能性が明らかとなった。いくつかの炎症性疾患動物モデルにおいては、セリンを負荷することで病態が改善することが報告されており、その作用メカニズムとして、セリンによる GSH 増加が炎症抑制に寄与すると考えられている。本研究において、セリンが GSH のみならず、ピルビン酸合成を介して炎症を抑制することが明らかとなり、ピルビン酸代謝が炎症性疾患の新たな治療標

的になる可能性が示された。

【結語】

本研究により、炎症時のマクロファージは非必須アミノ酸のセリンを細胞外に依存することを見出した。細胞内セリンの欠乏は、細胞内ピルビン酸濃度の低下を介してミトコンドリア機能異常をもたらし、マクロファージを炎症促進性に変化させることを明らかにした (Fig.6)。