

代謝を通じて免疫応答を制御する新たなタンパク質の発見

—マクロファージに発現する Cyclin J を介した新たながんや感染制御機序—

概要

京都大学大学院医学研究科 竹内理 教授らの研究グループは、感染やがん免疫応答にも重要な免疫細胞であるマクロファージが、サイクリン J (Cyclin J) という細胞内タンパク質により制御される新たなメカニズムを見出しました。

サイクリン J はサイクリンファミリー属し、感染や炎症に対してマクロファージで発現が誘導されます。本研究で、サイクリン J がマクロファージの好氣的解糖やミトコンドリア機能を強制的に制御し、マクロファージからの炎症性サイトカイン^{注1}を減少させることを見出しました。サイクリン J は、サイクリン依存性リン酸化酵素 (CDK) と相互作用し、解糖系の活性化に関わる転写因子 FoxK1 をリン酸化して抑制する事、また、ミトコンドリアの断片化に関わる分子である Drp1 をリン酸化してミトコンドリアを断片化させ、活性酸素種の産生減弱させていることが分かりました。マクロファージでサイクリン J を欠損させたマウスを作製すると、このマウス由来のマクロファージでは炎症応答が亢進しており、このマウスは細菌感染に対する抵抗力が増していることが分かりました。一方、このマウスにがん細胞を移植すると、サイクリン J を欠損した腫瘍内のマクロファージは、がん細胞の成長を助けてしまう事が分かりました。このように、サイクリン J は、マクロファージの代謝を通じて感染に対する炎症応答やがん免疫応答を制御する、新たな鍵分子として機能することを明らかにしました。

本研究成果は、2022 年 4 月 12 日 (現地時刻) に国際学術誌「Science Signaling」にオンライン掲載されます。

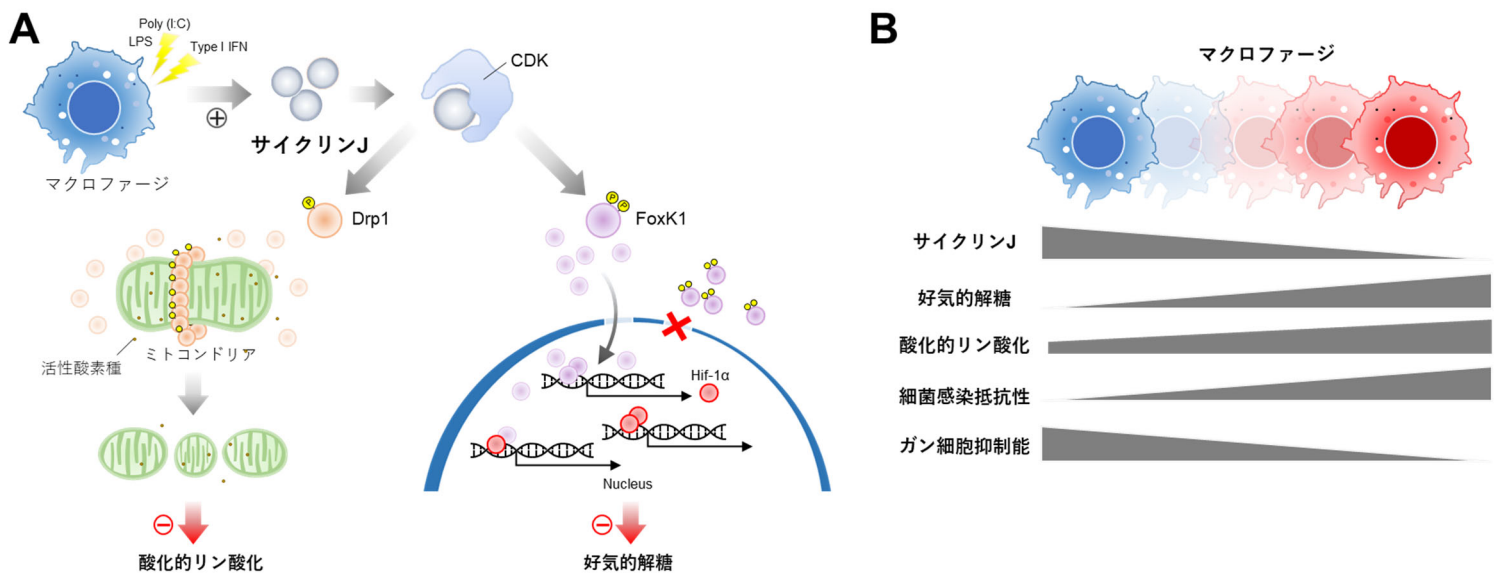


図 サイクリン J による炎症抑制メカニズム(A)と、サイクリン J 発現とマクロファージ状態の関連(B)

1. 背景

マクロファージは、微生物感染に対する炎症応答や組織修復、がん免疫などに重要な自然免疫細胞の一種です。マクロファージは、感染した病原体をトル様受容体 (Toll-like receptor) などのセンサーを通じて認識し、細胞内にその情報を伝達し、病原体を排除するための炎症応答に関わる多くのタンパク質をコードする遺伝子を発現します。その遺伝子から炎症性サイトカインなどのタンパク質が作られ、病原体に対する排除応答に寄与します。トル様受容体は、病原体を構成するさまざまな物質、例えばリポ多糖 (LPS) や、2本鎖 RNA などの核酸などを認識します。感染に対するマクロファージ活性化の過程で、細胞がエネルギーを産生する代謝経路に、ダイナミックな変化が起こることが知られています。細胞は、解糖系^{注2}、もしくはミトコンドリアの酸化的リン酸化^{注3}によりエネルギー通貨であるアデノシン三リン酸 (ATP) を得ますが、マクロファージの病原体感染に対する活性化により、酸化的リン酸化から好氣的解糖へと代謝がシフトします。また、マクロファージの活性化によりミトコンドリアの活性酸素種の産生なども認められます。マクロファージの代謝変化は、サイトカイン産生の制御にも密接に関わると考えられています。

一方、サイクリン (Cyclin) ファミリーは 30 種類ほど存在する進化的に保存されたタンパク質で、サイクリン依存性キナーゼ (CDK) と結合して細胞周期、細胞分裂の調節に働くことが知られています。最近、サイクリンタンパク質が、細胞周期だけでなく、炎症の制御を始めさまざまな機能を持つことが報告されてきました。しかし、サイクリン分子が炎症を制御する分子機構は十分には明らかになっていませんでした。

2. 研究手法・成果

本研究では、マクロファージにおける LPS 刺激に対するサイクリンファミリー分子の遺伝子発現変化を網羅的に解析し、この中でこれまで機能未知の分子であるサイクリン J の発現が、マクロファージにおいて細胞周期とは関係なく、細菌細胞壁構成成分である LPS をはじめとしたトル様受容体刺激、また、ウイルス感染時に産生される I 型インターフェロン^{注4}により誘導されることを見出しました。

そこで、サイクリン J のマクロファージにおける機能に着目し研究することとしました。マクロファージ細胞株に Cyclin J を発現させた所、LPS 刺激に対するインターロイキン 6 (IL-6) をはじめとしたサイトカイン遺伝子やタンパク質の発現が抑制されることを見出しました。これに対し、サイクリン J 発現を増加させてもマクロファージの細胞周期には影響を与えませんでした。また、マクロファージにおいてサイクリン J を欠損させたマウスを作製して、このマウスからマクロファージを取り出し、トル様受容体を刺激したところ、IL-6 などのサイトカイン遺伝子やタンパク質の発現が、正常なマクロファージと比べて増加していることを見出しました。すなわち、サイクリン J は、感染に対して、マクロファージが過剰に活性化しないように調節する役割をもっていることが分かりました。

次にサイクリン J がマクロファージの活性化やサイトカイン発現を抑制するメカニズムについて解析を行っていきました。サイクリン J のマクロファージにおける発現増加が遺伝子の発現に与える影響をトランスクリプトーム解析^{注5}により検討しました。その結果、サイクリン J 発現マクロファージでは興味深いことに、エネルギー代謝の解糖系に関わる遺伝子発現が低下しており、マクロファージの代謝解析でも解糖系の活性化が抑制されていました。さらに、代謝解析から、サイクリン J 発現で、ミトコンドリアの酸化的リン酸化やミトコンドリアの活性酸素発現も抑制されることが明らかとなりました。

続いて、サイクリン J がどのようにマクロファージの機能を調節するかその分子機構について解析していきました。質量分析解析により、サイクリン J 結合がサイクリン依存性キナーゼ (CDK) ファミリータンパク質に結合する事、サイクリン J の CDK との結合がサイトカイン抑制能の獲得に重要であることを見出しました。

サイクリンJはCDKによるリン酸化を促進していることが分かり、マクロファージにおいてサイクリンJ発現によりリン酸化が誘導される61リン酸化部位を、リン酸化プロテオーム解析^{注6}により同定しました。つまり、サイクリンJは、CDKと協調してマクロファージにおけるタンパク質のリン酸化を調節していることが分かりました。

さらに、サイクリンJとCDKによるリン酸化がどのようにマクロファージ機能を調節するか検討しました。リン酸化されるタンパク質のうち、Foxk1という分子は、解糖系に関わる遺伝子発現を調節する転写因子として機能します。マクロファージにおいてFoxK1発現を抑制すると、サイトカイン産生が低下することが分かりました。マクロファージにおいて、サイクリンJの発現によりリン酸化依存的にFoxK1の活性化が抑えられることも分かりました。また、サイクリンJが、ミトコンドリアの分裂に関わるタンパク質であるDrp1もリン酸化することが分かりました。そこで、Drp1の機能についても検討を加え、Drp1の616番目のセリン残基のリン酸化がサイクリンJ発現により誘導されること、このリン酸化によりDrp1が活性化してミトコンドリアの分裂が亢進し、これが、ミトコンドリアからの活性酸素種産生の抑制とサイトカイン産生の低下につながることを示唆されました。

次にマクロファージに発現するサイクリンJの個体レベルでの機能について解析を行いました。マクロファージにおいてサイクリンJを欠損するマウスを用いてLPS投与実験を行い、このマウスがLPSショックに対する感受性が亢進していることや、このマウスに黄色ブドウ球菌を感染させると、炎症性サイトカインの産生が増加し、正常のマウスと比べ感染に対してより感染に対して耐性になっていることが分かりました。

マクロファージはがん組織にも豊富に存在し、がん微小環境では大きな代謝変化が起こることが知られている。そこで、マクロファージに発現するサイクリンJが腫瘍に存在するマクロファージの機能や抗腫瘍免疫に機能する可能性を考え、検証を行いました。興味深いことに、マクロファージにおいてサイクリンJを欠損するマウスは、MC38やB16-F10などのがん細胞を移植した場合や、AOM-DSSという薬剤処理による発がんに対して、正常マウスと比較して腫瘍がより早く増大する事、またがん組織のなかでのマクロファージの割合が増加することを見出しました。さらに、このマウスから腫瘍内のマクロファージを単離し、トランスクリプトーム解析により、遺伝子発現を解析すると解糖系に関わる遺伝子発現がCyclinJ欠損下で増加しており、さらにマクロファージの機能がより腫瘍促進型になっていることが分かりました。

このように、本研究では、マクロファージにおいて感染などの刺激により発現が上昇するユニークなサイクリンタンパク質としてサイクリンJを同定し、この分子がサイクリン依存性キナーゼと結合し、Foxk1やDrp1など標的タンパク質のリン酸化を促進、これらのタンパク質の活性化を制御することが分かりました。その結果、サイクリンJは、マクロファージの代謝を変化させ、炎症刺激に対するサイトカイン応答を負に調節していました。サイクリンJによるマクロファージの制御は、マウスの個体レベルでも機能し、細菌感染に対する応答を制御する事や、腫瘍マクロファージの機能制御を通じてがん免疫に影響を与えていることを見出しました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究では、マクロファージの代謝を通じて機能を制御する鍵分子としてサイクリンJが存在する事を発見しました。本研究はサイクリンJが、マクロファージの代謝制御や、感染防御、がん免疫などに対する創薬のターゲットとなる可能性を示しています。

マクロファージは単一のタンパク質だけで制御を受けている訳ではなく、多くのタンパク質が複合的に作用しています。これらの機構を包括的に解明することで、マクロファージ制御の全体像につなげてきたいと考え

ています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業 19H03488(研究開発代表者: 竹内 理)、日本学術振興会 Core-to-Core Program (研究開発代表者: 竹内 理)の一環で行われました。

<用語解説>

注 1 炎症性サイトカイン：炎症反応の際に主に免疫細胞で作られ分泌されるタンパク質群で、細胞間の情報のやり取りに使われます。例として、インターロイキン 6 (IL-6)、IL-1、腫瘍壊死因子 (TNF) などがあります。

注 2 解糖系：細胞に取り込まれたグルコース (糖) を分解して、ピルビン酸や乳酸をつくる化学反応経路で、酸素が存在しない嫌気性の状態でもはたらき、細胞のエネルギー源である ATP を作ることができます。炎症下で解糖系がより活性化することが知られています。

注 3 酸化的リン酸化：細胞が呼吸により ATP を合成する過程を指します。この反応は、ミトコンドリアの内膜で電子伝達系によりできたミトコンドリア膜での水素イオンの濃度勾配を利用して、ADP とリン酸から ATP を合成します。

注 4 I 型インターフェロン：サイトカインの一種で、I 型、II 型、III 型に分類されます。I 型インターフェロンはインターフェロン α とインターフェロン β があり、細胞がウイルス感染をトル様受容体などのセンサーにより認識すると、作られて分泌され、周囲の細胞や免疫細胞のウイルス感染抵抗性を付与します。

注 5 トランスクリプトーム解析：細胞に発現している RNA (本研究ではメッセンジャーRNA) を、次世代シーケンサーを用いて解析することにより、遺伝子 RNA 発現パターンを網羅的にプロファイリングすることを可能にする方法です。

注 6 リン酸化プロテオーム解析：細胞内のタンパク質のリン酸化状態を、質量分析により網羅的に定量解析する方法を指します。

<研究者のコメント>

サイクリン J タンパク質は、ヒトやマウスなどの哺乳類だけではなく、ハエなどの昆虫にも存在しており、共同研究者である Ferrandon 博士はショウジョウバエにおけるサイクリン J の機能を研究しています。このように、マクロファージを介した自然免疫の進化や保存性の観点も興味深いと考えています。(竹内理)

<論文タイトルと著者>

タイトル：Cyclin J-CDK complexes limit innate immune responses by reducing proinflammatory changes in macrophage metabolism (Cyclin J/CDK 複合体はマクロファージの代謝を介し炎症性変化を抑制することで自然免疫応答を調節する)

著者：Yee Kien Chong, Sarang Tartey, Yuki Yoshikawa, Koshi Imami, Songling Li, Masanori Yoshinaga, Ai Hirabayashi, Guohao Liu, Alexis Vandenbon, Fabian Hia, Takuya Uehata, Takashi Mino, Yutaka Suzuki, Takeshi Noda, Dominique Ferrandon, Daron M. Standley, Yasushi Ishihama, Osamu Takeuchi

掲載誌：Science Signaling DOI：10.1126/scisignal.abm5011