第44回総会ポスター受賞記念論文

総説（推薦論文）

推薦者：慶應義塾大学医学部先端科学研究所・細胞上法研究部門 河上 裕

全身性エリテマトーデスの病態と代謝制御 ～新規治療応用の可能性～

竹島 雄介, 岩崎由希子, 岡村 僚久, 藤尾 圭志, 山本 一彦

The metabolic regulation in immune cells and pathogenesis of systemic lupus erythematosus ~toward new therapeutic applications~

Yusuke TAKESHIMA, Yukiko IWASAKI, Tomohisa OKAMURA, Keishi FUJIO and Kazuhiko YAMAMOTO

Department of Allergy and Rheumatology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

(Accepted December 2, 2016)

summary

The importance of cellular metabolism has long been known as Warburg effect; cancer cells are characterized by mitochondrial defect that shifts towards aerobic glycolysis. Recently, many reports have revealed that immune metabolism is a key factor for controlling immune cell proliferation and differentiation. Resting lymphocytes generate energy through oxidative phosphorylation and fatty acid oxidation, whereas activated lymphocytes rapidly shift to glycolysis. Especially in T cells, more precise mechanism of regulating metabolism have been clarified on differentiation from naïve T cells to effector T cells. Similar studies have also been carried out to characterize B cell and myeloid cell metabolism. Metabolic regulation is considered to be particularly important in autoimmune diseases. Metabolic changes in these diseases might not only reflect the chronic activated immune-status but also associated with their pathogenesis. Here, we review what is known on the altered metabolism in systemic lupus erythematosus (SLE), mainly focusing on T cells and B cells, and how they contribute to SLE pathogenesis. We also discuss how immune metabolic defects can become targets of future SLE therapy.

Key words—— SLE; pathogenesis; metabolism; mitochondria

抄 録

細胞の代謝制御の重要性は、癌細胞においてエネルギー産生を解糖系に依存する現象が Warburg 効果として報告されたことに始まる。近年、免疫担当細胞における代謝の制御が細胞の分化や機能において鍵となるという知見が蓄積されつつあり、免疫担当細胞が休止状態から活性化状態に入る際には、酸化的リン酸化に依っていたエネルギー産生から、解糖系に依存したエネルギー産生へと大きな代謝状態の変化を要することが明らかとなっている。特に T 細胞においては、ナイーブ T 細胞からエフェクター T 細胞への分化過程における代謝制御の研究がより詳細に解明されており、免疫代謝の分野では最も研究が進んだ分野となっているが、B 細胞や骨髄球系の細胞においても特徴的な代謝制御が明らかにされつつある。現在、全身性エリテマトーデスを始めとする自己免疫疾患において、免疫担当細胞における代謝変調は慢性的な免疫系の活性化の結果としてばかりでなく、疾患の引き金としても極めて重要であると考えられている。本稿では、全身性エリテマトーデスにおける代謝制御について、T 細胞および B 細胞を中心に概説し、病態と如何に関わっているか、更には将来的な治療ターゲットの可能性について考察する。

1. はじめに

全身性エリテマトーデス (Systemic Lupus Erythematosus; SLE) は、核酸などの主に核抗原に対する免疫寛容が失われることでもたらされる自己抗体により、自己の臓器の炎症と組織障害が引き起こされ

る代表的な自己免疫疾患の一つである。近年の治療は、ステロイドを中心とした抗炎症・免疫抑制・細胞増殖抑制作用を期待した治療に加え、Cyclophosphamide, Azathioprine, Mycophenolate mofetil (MMF) などの細胞障害性のある薬剤を如何に効果的かつ安全に使用するかの知見が蓄積したことにより、大きく進歩した。一方で、こうした全身性に免疫抑制をもたらす治療による感染症コントロールの

問題は依然として存在し、より病態の本質に即した新規の治療の開発が切望されている。抗 ds-DNA 抗体や免疫複合体の SLE の病態への関与という観点から、これまでに、特に抗体産生能をもつ B 細胞を治療標的として B 細胞の depletion (抗 CD20 抗体; Rituximab) や機能・分化を調節する薬剤 (抗 CD22 抗体; Epratuzumab, 抗 BlyS (B lymphocyte stimulator (別名 BAFF)) 抗体; Belimumab, TACI-Ig; Atacicept) の開発が進められてきた。その他、T 細胞を標的とする CTLA-4-Ig (Abatacept) や、近年 SLE の病勢との関連が示唆されている type I interferon (IFN) signature に着目して抗 IFN- α 抗体 (Sifalimumab) や抗 I 型 IFN 受容体抗体 (Anifrolumab) の治験の結果も注目されている。しかしながら、SLE の治療の break through に繋がるような薬剤開発には至っておらず、より詳細な病態解明を目指したアプローチが必須である。

SLE の病態形成には、自然免疫系と適応免疫系双方が関与し、様々な細胞間相互作用やサイトカインなどの液性因子を介した制御機構が働いていることが明らかになりつつあるが、最近、免疫系を制御する重要な因子としてミトコンドリアを中心とした細胞の代謝制御が注目を浴びている。ミトコンドリア機能異常が細胞機能に及ぼす影響の重要性については、癌研究の歴史に端を発しており、癌細胞においては、ミトコンドリア機能異常により解糖系に依存したエネルギー産生にシフトすることが特徴とされ、所謂 Warburg 効果として知られている。この発見により、細胞の機能の変調が代謝制御を反映していることが示唆されたと同時に、中間代謝産物のバイオマーカーとしての有用性も検討されるようになった。この代謝制御の重要性は、免疫担当細胞にも当てはまることが次第に明らかにされ、現在 SLE においては、主としてミトコンドリア由来の酸化ストレスが亢進しており、それが免疫系の機能不全をきたし、自己抗体産生へと至る経路が想定されている。SLE の T 細胞において、細胞内の中心的な抗酸化物質であるグルタチオンが低下し、セリン・スレオニンキナーゼである mammalian target of rapamycin (mTOR) が酸化還元反応による調節 (レドックス制御) を受けて活性化することが知られており、グルタチオンの前駆体である N-acetylcysteine (NAC) の投与によるグルタチオンの回復や、rapamycin による mTOR の阻害により、SLE の病勢が改善する可能性も示唆されている¹⁾。

本稿では、比較的新しい分野である SLE の病態形成における代謝制御機構について概説する。

2. ミトコンドリアと SLE

ミトコンドリアは細胞内におけるエネルギー産生の中心となる脂質二重膜構造の細胞内小器官で、細胞における酸素消費の中心となっており、その過程で生じる活性酸素 (Reactive-oxygen species (ROS)) の不均衡は酸化ストレスとなり、ミトコンドリアの正常な機能を障害し結果として細胞の代謝全体に影響を与える。ミトコンドリアの主な機能である ATP の産生は、電子伝達系 (または呼吸鎖とも呼ばれる) (Electron Transport Chain; ETC) における酸化的リン酸化 (oxidative phosphorylation (OXPHOS)) により行われ、ETC を構成する複合体 I ~ V のうち主に I ~ III が活性酸素産生に関与しており、また、電子の伝達により生じるミトコンドリア膜電位 ($\Delta\psi_m$) は ROS と並び細胞の生理的な状態の重要な指標となる。SLE の病態における酸化ストレスとミトコンドリア機能異常の関与については、複数の SLE 患者における報告²⁾ およびループスモデルマウスを用いた研究にて報告されてきている。

ループスモデルマウスにおいて、疾患感受性遺伝子座として知られている *Sle1c2* には、エストロゲン関連レセプター γ 遺伝子 *Esrrg* が含まれ、*Esrrg* は脂肪酸酸化とミトコンドリア機能を制御する核内オーファン受容体をコードしており、*Esrrg* 低形質アレルの T 細胞における発現によりミトコンドリアの容積増加とミトコンドリア膜の過分極がもたらされ、CD4 陽性 T 細胞の活性化と IFN- γ 産生と関連していることが報告されている³⁾。SLE 疾患感受性一塩基多型 (Single nucleotide polymorphism; SNP) との関連では、ヒトのミトコンドリア電子伝達系複合体 (ETC complex) の、Complex I (ND2) と Complex V (ATP6) のアミノ酸変異を伴う多型が SLE と関連することが示されている⁴⁾。また、同じく多型である HRES-1 は、ミトコンドリアの分裂に必要な dynamin-related protein 1 (DRP1) の発現を抑制する HRES-1/RAB4 の発現を誘導し、T 細胞におけるミトコンドリアの集積に繋がることが報告されている⁵⁾。加えて、酸化ストレスを減少させる働きをもつミトコンドリアタンパクである uncoupling protein 2 (UCP2) の遺伝子多型は、多発性硬化症や関節リウマチ、多発血管炎性肉芽腫症、炎症性腸疾患などの自己免疫疾患にならんで、SLE でも認める

ことが報告されている⁶⁾。更にこれまでに蓄積されてきた genome-wide association studies (GWAS) の結果を俯瞰すると⁷⁾、表 1 の様に、多くの SLE に関連した SNPs が、ミトコンドリアと何らかの関連をもっており、SLE の病態形成におけるミトコンドリアの重要性が示唆されている。

3. T 細胞における代謝制御と SLE

免疫担当細胞における代謝の研究は、T 細胞における CD28 の活性化が解糖系を亢進させるという報告に始まり⁸⁾、近年特に T 細胞における代謝制御に関する論文が多数報告されている。休止状態にある（ナイーブ）T 細胞は脂肪酸（Fatty acid; FA）、グル

表 1 ミトコンドリア機能異常に関連する SLE 疾患感受性遺伝子多型

gene	説 明	文献
<i>NCF2</i>	NADPH オキシダーゼ複合体の一部で、SLE における mutation で ROS の産生を低下させる。	44)
<i>NADSYN1</i>	NAD 合成酵素。	
<i>IFIH1</i>	細胞質に存在する dsRNA の受容体である MDA5 をエンコードする。SLE における変異で、MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein)-TBK1-IRF3 の系を介して 1 型 IFN を亢進する。	45)
<i>IKZF1</i> (Ikaros)	Ikaros 関連 zinc-finger1. 様々なシグナル伝達に関与しており、SLE において IKZF1 の低下で STAT4 や IFN が亢進する。	46)
	IKZF1 はミトコンドリアにおいて ATP 産生に関与するクレアチン経路の遺伝子 (ckmt1 や gamt) の発現を抑制する。	47)
<i>IKZF2</i> (Helios)	Ikaros 関連 zinc-finger2. SLE の疾患活動性と FoxP3+Helios+Treg の割合が相関する。IKZF2 欠失によって、B 細胞前駆細胞において、プロテインキナーゼ C (PKC) の発現が亢進し、スーパーオキシド産生が上昇する。	48, 49) 50)
<i>IKZF3</i> (Aiolos)	Ikaros 関連 zinc-finger3. SLE の PBMC において Aiolos は発現が亢進している。	51)
	IKZF3 欠失によって、ミトコンドリアから細胞質へのシトクローム c の放出とカスパーゼ活性が劇的に増加し、B 細胞前駆細胞における BCR 刺激による細胞死が亢進する。	52)
<i>JAZF1</i>	Jazf1-tg マウスの心筋で、ミトコンドリアが膨化し、外膜が破壊される。	53)
<i>UBE2L3</i>	ユビキチン結合酵素。SLE において、UBE2L3 の発現は亢進しておりユビキチン化を介して NF-κB を活性化し形質細胞・形質芽細胞の増加と関連する。	54)
	Parkin 依存的な mitophagy (損傷ミトコンドリアを分解する品質管理システム) に必須である。	55)
<i>PDHB</i>	ピルビン酸脱水素酵素 E1 の β サブユニット。	
<i>ATXN2</i>	RNA プロセッシングに関与する Ataxin-2 を code している。Ataxin-2 は小胞体や形質膜に局在し、エンドサイトーシスや mTOR シグナルを調整することで、リボソームでの翻訳やミトコンドリア機能を調整する。(ALS において CAG のトリプレット配列が増えると) NADPH オキシダーゼ酵素と関与し、NADPH ROS の産生を増やす。	56)
<i>CLEC16A</i>	C 型レクチンスーパーファミリー。SLE の PBMC において CLEC16A の発現低下が示されている。CLEC16A は mitophagy に関連する。Clec16a 遺伝子の欠損にてミトコンドリア機能異常をきたす。	57) 58)
<i>ERBB2/HER2</i>	EGF ファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼ。(がん患者において) HER2[=ERBB2] は mtHSP70 を介してミトコンドリアにも発現し、ミトコンドリア呼吸鎖を抑制し、解糖系を亢進させる。(ハーセプチンによる) HER2 の抑制で、心筋におけるミトコンドリアによるアポトーシスを活性化し、ミトコンドリア機能異常が生じる。	59) 60)
<i>HCFC1</i>	宿主細胞因子。PGC-1 ファミリー・NRF-2 と結合して、ミトコンドリア転写因子 (TFB1M や TFB2M) の発現につながる。	61)
<i>MECP2</i>	メチル化 CpG 結合タンパク質 2. SLE のリスクハプロタイプを持つ健常人の T 細胞を刺激したところ、MECP2B の mRNA が上昇した。MECP2 を過剰発現させた Tg マウスでは、SLE 患者の CD4 陽性 T 細胞で発現が亢進している miR-21 の上昇を認め、抗核抗体の上昇も認めた。(Rett 症候群のモデルマウス) MECP2-null マウスで <i>Uqcrc</i> (ubiquinol-cytochrome c reductase core protein 1) が過剰発現している。UQCRC1 は complex III の subunit である。	62) 63)
	Rett 症候群の患者では、全身に酸化ストレスが生じている。	64)

タミン酸、およびグルコースから TCA 回路を介してエネルギーを得ており、ATP 産生は OXPHOS に依存している。ナイーブ T 細胞は細胞の状態として完全に休止しているわけではなく、免疫監視として二次リンパ組織間を移動し、細胞骨格の再構成は一貫して行われており ATP を多く消費する。そのため細胞内においては生合成よりはエネルギー産生に代謝の均衡をシフトさせる必要があり、ATP 産生効率の高い OXPHOS に依存していると考えられる。抗原刺激や、サイトカインによる活性化は T 細胞をエフェクター細胞へと分化させ、T 細胞は代謝状態を大きく変え、グルコースとグルタミン酸にエネルギー源を大きくシフトさせ、ミトコンドリア非依存性に解糖系を介して ATP を産生する。解糖系は OXPHOS に比して ATP の産生能は低いが、解糖系により細胞の成長や分化に必要な中間代謝産物（核酸やアミノ酸の前駆体）が生じるため、エフェクター T 細胞においては好ましい代謝状態と考えられる。また、エフェクター T 細胞では脂肪酸代謝においても、 β 酸化から脂肪酸合成へと代謝状態が変化する。対照的に、Foxp3 陽性制御性 T 細胞やメモリー T 細胞においては、エネルギー源として大半を脂肪酸酸化に依存している⁹⁾。

最近、T 細胞の活性化は全ての活性化状態において共通した代謝状態を誘導するのではなく、各サブセット間で異なる制御を受けていることが次第に明らかにされつつある¹⁰⁾。最初にこれらのサブセット間で異なる代謝制御を論じる契機になったものは、T 細胞分化過程における mTOR の寄与である。mTOR には mTOR complex1 (mTORC1) と mTORC2 があり詳述は割愛するが、mTORC1 には特有の RAPTOR が構成分子として含まれ、mTORC2 には特有の RICTOR が構成分子として含まれており、mTORC1 は翻訳促進、オートファジー抑制、脂質合成、ミトコンドリア合成など様々な下流の生物現象を制御し、mTORC2 は Akt を活性化することにより細胞の生存を促進する。mTORC1 の阻害剤である rapamycin 処理によりエフェクター T 細胞の分化増殖は阻害され制御性 T 細胞の分化が促進されることが報告されており、実際制御性 T 細胞においては mTOR を抑制する AMP-activated protein kinase (AMPK) の活性が亢進していることが知られている。また、AMPK のアクチベーターである metformin の投与により、グルコーストランスポーターである GLUT1 の発現が低下し制御性 T 細胞が

増加することも報告されている⁹⁾。

これまで、多様な自己抗体が SLE において産生されることから、B 細胞における機能異常が注目されることが多かったが、T 細胞の異常な活性化も B 細胞を自己抗体産生に向かわせる要素として重要と認識されつつある。SLE における疾患の引き金となり得る T 細胞機能異常において、SLE 患者 T 細胞における代謝制御が関与していることが複数の論文にて報告されている。SLE 患者 T 細胞では解糖系の亢進を認めるものの、健常人由来のものと異なり、ATP 産生を解糖系よりも OXPHOS から確保していることが知られている^{11, 12)}。以下にこれらの代謝制御機構について、現時点で明らかにされていることを述べる。

3-1. SLE T 細胞における mTOR の活性化

SLE において、CD4 陽性 T 細胞における mTORC1 の活性化が広く知られるようになっており、癌・肥満・老化と並んで、mTORC1 の活性化はバイオマーカーとしての役割も提唱されている¹³⁾。また、CD4 陽性 T 細胞における mTORC1 の活性化は、NZM2410 由来の triple congenic (TC) B6, *Sle1.Sle2.Sle3* 系などのループスモデルマウスにおいても証明されている¹²⁾。SLE への治療応用においては、NAC (グルタチオンの前駆体で mTORC1 を阻害) は、(NZBxNZW) F1 ループスモデルマウスにおいて、抗酸化物質であるグルタチオンの減少を抑制し、自己抗体産生や腎炎発症を抑制することが報告されている他¹⁴⁾、SLE 患者においても NAC 投与により自己抗体産生が減少し疾患活動性が低下することが報告されている¹⁾。Rapamycin は直接的な mTOR の阻害剤であるが、既存治療に抵抗性の SLE 患者において臨床的に大きな改善をもたらすことが判明している¹⁵⁾。mTOR 阻害による治療効果の詳細な作用機序としては、自己反応性 T 細胞における TCR 下流シグナルの不適切な活性化の抑制、制御性 T 細胞の増加、Double negative T 細胞からの IL-4 産生抑制を介した B 細胞からの抗体産生抑制などが知られている¹³⁾。また、濾胞性ヘルパー T 細胞 (Tfh) の分化に重要な RNA 結合タンパクである ROQUIN が AMPK を抑制することが示されており¹⁶⁾、mTORC1 の活性化が Tfh で生じていることが示唆されている。このため、胚中心において B 細胞における抗体産生を促進し、SLE 患者末梢血中で増加しているとの報告もある Tfh の機能も mTOR 阻害

により抑制される可能性もある。

3-2. SLE T 細胞における解糖系と酸化的リン酸化

SLE 患者 CD4 陽性 T 細胞において解糖系が亢進しており、T 細胞における主要なグルコーストランスポーターである GLUT1 は、活性化により発現が亢進することが知られている。GLUT1 を過剰発現させたマウスにおいて自己抗体産生や糸球体への免疫複合体沈着を認めるほか¹⁷⁾、CD4 陽性 T 細胞特異的 *Glut1* 欠損マウスにおいてエフェクター T 細胞の分化と生存が抑制され graft-versus-host disease (GVHD) や炎症性腸疾患が改善することが報告されているが¹⁸⁾、ループスモデルマウスにおける *Glut1* 欠損の影響については未だ検証はされておらず、現時点においてループスモデルマウスや SLE 患者 CD4 陽性 T 細胞において、*Glut1* の発現が影響を受けていることは報告されていない。T 細胞における *Glut1* の発現には補体制御分子である CD46 (membrane cofactor protein; MCP) の活性化が関与し、CD46 はアミノ酸トランスポーターである L-type AA transporter (LAT) 1 も誘導すると同時に mTORC1 複合体形成を促進する late endosomal or lysosomal adaptor and MAPK and mTOR activator (LAMTOR) 5 を誘導し mTORC1 の活性化をもたらしことが示されている¹⁹⁾。SLE 患者 T 細胞において、CD46 の活性化が報告されていることから²⁰⁾、CD46 は SLE 患者 T 細胞における代謝の変調に関与している可能性があると考えられる。一方、解糖系に関与する別の因子として、低酸素状態によって誘導される転写因子 hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α が着目されており、HIF-1 α は *Glut1* を含む解糖系に重要な遺伝子の発現を誘導する^{21, 22)}。HIF-1 α の発現制御は複雑で、低酸素による誘導のほか mTORC1 活性化の下流にあることが知られており、このことから、SLE 患者 T 細胞で発現が亢進している可能性が示唆される。しかしながら、ループス腎炎の糸球体および尿細管間質に健常コントロールと比較して HIF-1 α 陽性細胞が多くいることが報告されている一方²³⁾、これらが T 細胞と同定されておらず、SLE 患者 T 細胞における HIF-1 α の役割については未だ明らかにされていない。

SLE 患者およびループスモデルマウスの CD4 陽性 T 細胞において、酸素消費が亢進していることが知られており、これは、活性化急性期の T 細胞がより解糖系に依存しているのに対し、慢性的な活

性化刺激下にあるヒト CD4 陽性 T 細胞が高い酸素消費能を呈する現象と一致すると考えられる¹¹⁾。すなわち、外来抗原による急性の活性化が解糖系に代謝系をシフトさせるのに対して、自己抗原による慢性的な活性化は好氣的な代謝にシフトさせると解釈される。興味深いことに、健常人におけるエフェクターメモリー細胞は、生存と分化増殖に高いグルコース代謝と並んで OXPHOS を必要とし、取り入れたグルコースから酸化に必要なピルビン酸が供給され、ミトコンドリア膜電位の上昇と ROS の産生がもたらされるが、この現象は SLE 患者 CD4 陽性 T 細胞におけるミトコンドリア膜電位の上昇および ROS 産生と類似している。一方で、ループスモデルマウスにおける検討では、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞においても解糖系および OXPHOS の亢進を認めていることから¹²⁾、SLE 患者 T 細胞における解糖系亢進および OXPHOS 亢進は、慢性的な免疫系の活性化による二次的な現象をみているのではなく、病態形成そのものに関わる変化をみている可能性があると考えられる。

では、SLE T 細胞における亢進した解糖系と OXPHOS をターゲットとした治療の方向性はどうか。2-deoxy-glucose (2DG) はグルコースの 2-ヒドルキシル基が水素原子に置換されたグルコース誘導體で、GLUT1 を介して細胞内に取り込まれた後、ヘキソキナーゼによって 2-DG-6 リン酸に変換されるが、これ以降解糖系酵素による代謝が不可能であることから、結果として 2-DG-6 リン酸が細胞内に蓄積し、解糖系が回らなくなるという作用機序をもつ、解糖系阻害剤である。また、metformin は直接的にミトコンドリア ETC に作用し、ATP 産生を障害することが知られているが²⁴⁾、ループスモデルマウスにおいて、2-DG と metformin の投与により、mTORC1 の活性化が抑制され、腎炎の活動性や抗核抗体の産生が抑制されることが示されている¹²⁾。また、peroxisome proliferator activated receptor (PPAR)- γ のアゴニストである thiazolidinediones (TZDs) ファミリーの一つ pioglitazone は mitochondria pyruvate carrier complex (MPC) を阻害し、ピルビン酸の酸化を効率的に阻害する機序をもつが、SLE 患者 CD4 陽性 T 細胞を用いた in vitro の系において細胞増殖と活性化を抑制することが報告されている²⁵⁾。

4. B細胞における代謝制御とSLE

T細胞に比して、B細胞における代謝制御の研究は遅れをとっているが、近年はいくつかの興味深い報告が相次いでいる。B細胞においては、活性化により解糖系とOXPHOSがバランスをとって亢進し、細胞質内の解糖系とミトコンドリアにおけるエネルギー産生を最適化していることが、解糖系の亢進優位となる活性化T細胞とは異なる特徴となっている。B細胞特異的な*Glut1*の欠損は、B細胞の増殖と抗体産生を抑制し、また、慢性的なB cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family (BAFF)の刺激はB細胞における解糖系を亢進させることが報告されている²⁶⁾。SLEの血清中ではBAFFが高値であることが知られており、このことはSLE患者のB細胞においては、解糖系が亢進している可能性を示唆している。B細胞におけるmTORという観点においては、制御機構がやや複雑となっている。B細胞特異的なmTOR欠損によりB細胞増殖と胚中心B細胞への分化が障害されることや²⁷⁾、RICTOR欠損によるmTORC2のB細胞における不活化は、成熟B細胞の生存および抗体産生と胚中心の形成を抑制することが報告されており²⁸⁾、rapamycinによりマウスおよびヒトB細胞においても増殖および抗体産生が抑制されることから²⁹⁾、全体としてmTORシグナルはB細胞において、増殖と分化を制御していると考えられる。一方で、mTORC2選択的な抑制はAktによるクラススイッチ(CSR)を抑制する転写因子forkhead box, subgroup O (FoxO)の抑制を解除することでCSRを亢進させ、mTORC1選択的な抑制はCSRを抑制するという機序も報告されている³⁰⁾。また、胚中心B細胞は、その組織学的な構造上低酸素状態にあり、HIF-1 α が誘導されることでmTORC1活性が抑制され、B細胞の増殖や高親和性の抗体産生が抑制される機構が働いていることが報告されているが³¹⁾、SLEにおいて胚中心B細胞は増加していることが知られており、これらの制御機構に異常があることも想定される。

自己抗体は形質細胞(Plasma cell)により産生されることから、自己反応性を有する形質細胞を除去することはSLEの治療戦略の一つである。形質細胞は、活性化B細胞から分化したshort-lived形質細胞(SLPC)と、2度目の免疫反応により誘導されるlong-lived形質細胞(LLPC)に分かれるが、

LLPCは免疫記憶を担い、SLEを始めとする自己免疫疾患の再燃に重要と考えられている。形質細胞における代謝は、多くのグルコースを必要とし、その大半は免疫グロブリンのglycosylationに使われる一方で、一部はピルビン酸へと異化されてミトコンドリアに取り込まれ、これがLLPCの生存に必要であることが報告されている³²⁾。従ってSLEのT細胞におけるMPCを標的とした治療戦略が、SLEにおけるLLPCの生存を阻害する方向でも効果を発揮する可能性が考えられる。さらに、SLE患者B細胞においてはオートファジーが亢進していることが示されており³³⁾、LLPCの生存にオートファジーが重要であるという知見と一致し³⁴⁾、ループスモデルマウスにおいてB細胞特異的*Atg5*欠損により自己免疫病態が改善することも報告されている³⁵⁾。

5. その他の免疫担当細胞における代謝制御とSLE

樹状細胞やマクロファージにおいても、代謝制御が近年注目されている。樹状細胞において前駆細胞からの分化過程では、PPAR γ co-activator 1a (PGC1 α), PPAR γ , mTOR, c-MYCの働きによりミトコンドリアの生合成が亢進する。分化した樹状細胞は、未成熟樹状細胞でいる間は脂肪酸酸化が代謝の中心となっており、TLR刺激で活性化を受けると、解糖系が亢進し、TCA回路を介して供給されるクエン酸からの脂肪酸合成が亢進する。一度活性化を受けた後は、樹状細胞においては解糖系亢進の状態が持続することが知られており、この状態はmTORやHIF-1 α によってコントロールされていることが知られている³⁶⁾。更に形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cell)においてmTORの阻害によりtoll-like receptor (TLR) 9刺激によって誘導されるinterferon (IFN)- α の産生が低下することが報告されており³⁷⁾、SLEの病態を考えるうえで興味深い。単球およびマクロファージにおける代謝研究の歴史は長く、食作用を示す際に解糖系に代謝がシフトすることが1963年に既に報告されている³⁸⁾。現在では、炎症応答を惹起するM1マクロファージでは解糖系の代謝に傾き、抗炎症応答に関与すると考えられているM2マクロファージではOXPHOSに依存することが報告されている^{39,40)}。SLEにおいては、M1マクロファージが増加しており、M1マクロファージは抗炎症応答をする際にROS産生に働くことが知られていることから、ROS産生を介してSLEの病態に関与している可能性も考えられ

る。好中球は、ミトコンドリアの含有が極めて少なく、好中球における代謝制御については殆ど知られていないが、最近の研究で mTOR の活性化が好中球の遊走に必要であることが報告されている⁴¹⁾。

また、好中球と SLE との病態で興味深い事象としては、SLE 患者では pro-inflammatory な好中球サブセットとして low-density granulocytes (LDGs) が存在し、LDGs におけるミトコンドリア由来の ROS は、NETosis を誘導し、NETs (Neutrophil extracellular traps) に含まれる酸化されたミトコンドリア DNA が SLE の病態における type I IFN シグナルの誘導に関与していることが報告されている⁴²⁾。

上述の如く、T 細胞、B 細胞以外の免疫担当細胞も SLE の病態に何らかの形で寄与していると考えられ、疾患の発症と進展を考えていく上で代謝制御機構のさらなる解明が望まれている。

6. おわりに

メタボロミクスとは、生体に含まれる代謝産物全体であるメタボロームを対象にした omics 解析であり、代謝産物を網羅的に解析することで、ゲノム情報によりもたらされたタンパク質の活性が捉えられ、生体内の情報を包括的に把握することを可能にした解析手法である。SLE 患者血清を用いたメタボローム解析により、解糖系、TCA 回路、脂肪酸酸化、アミノ酸代謝すべてにおいて、エネルギー産生が低下し、遊離脂肪酸の増加と必須脂肪酸の低下を認めることが明らかとなっている。更に、SLE 患者血清において抗酸化物質であるグルタチオンの低下を認めることも示されており、これらは総じて SLE 患者におけるミトコンドリアや小胞体の機能障害と酸化ストレスの亢進を支持する現象と考えられる⁴³⁾。

SLE の病態形成における免疫担当細胞の代謝制御に関する研究は T 細胞を筆頭に近年飛躍的に発展しており、その中心としてミトコンドリアの機能調節機構の詳細な解析は SLE の病態解明の鍵となるものと考えられる。筆者らも、SLE 患者 Peripheral blood mononuclear cell (PBMC) におけるリンパ球サブセット毎のトランスクリプトーム解析により、Switched memory B 細胞におけるミトコンドリア機能異常が SLE の病態と関わっていることを最近報告している (unpublished data)。今後 SLE の病態における代謝の全体像を、細胞レベルの解析からメタボローム解析などの網羅的解析も組み合わせて包括的に研究していくことにより、病態に即した新しい

治療薬の開発や、新規疾患バイオマーカーの同定に繋がることが期待される。

文 献

- 1) Lai, Z.W., et al.: N-acetylcysteine reduces disease activity by blocking mammalian target of rapamycin in T cells from systemic lupus erythematosus patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* **64**: 2937–2946, 2012.
- 2) Shah, D., et al.: Altered redox state and apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunobiology.* **218**: 620–627, 2013.
- 3) Perry, D.J., et al.: Murine lupus susceptibility locus Sle1c2 mediates CD4+ T cell activation and maps to estrogen-related receptor gamma. *J Immunol.* **189**: 793–803, 2012.
- 4) Vyshkina, T., et al.: Association of common mitochondrial DNA variants with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* **129**: 31–35, 2008.
- 5) Caza, T.N., et al.: HRES-1/Rab4-mediated depletion of Drp1 impairs mitochondrial homeostasis and represents a target for treatment in SLE. *Ann Rheum Dis.* **73**: 1888–1897, 2014.
- 6) Yu, X., et al.: Association of UCP2 -866 G/A polymorphism with chronic inflammatory diseases. *Genes Immun.* **10**: 601–605, 2009.
- 7) Bentham, J., et al.: Genetic association analyses implicate aberrant regulation of innate and adaptive immunity genes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* **47**: 1457–1464, 2015.
- 8) Frauwirth, K.A., et al.: The CD28 signaling pathway regulates glucose metabolism. *Immunity.* **16**: 769–777, 2002.
- 9) Michalek, R.D., et al.: Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *J Immunol.* **186**: 3299–3303, 2011.
- 10) MacIver, N.J., et al.: Metabolic regulation of T lymphocytes. *Annu Rev Immunol.* **31**: 259–283, 2013.
- 11) Wahl, D.R., et al.: Characterization of the metabolic phenotype of chronically activated lymphocytes. *Lupus.* **19**: 1492–1501, 2010.
- 12) Yin, Y., et al.: Normalization of CD4+ T cell metabolism reverses lupus. *Sci Transl Med.* **7**: 274ra18, 2015.
- 13) Perl, A.: Activation of mTOR (mechanistic target of rapamycin) in rheumatic diseases. *Nat Rev*

- Rheumatol.* **12**: 169–182, 2016.
- 14) Suwannaroj, S., et al.: Antioxidants suppress mortality in the female NZB x NZW F1 mouse model of systemic lupus erythematosus (SLE). *Lupus*. **10**: 258–265, 2001.
 - 15) Fernandez, D., et al.: Rapamycin reduces disease activity and normalizes T cell activation-induced calcium fluxing in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **54**: 2983–2988, 2006.
 - 16) Ramiscal, R.R., et al.: Attenuation of AMPK signaling by ROQUIN promotes T follicular helper cell formation. *Elife*. **4** 2015.
 - 17) Jacobs, S.R., et al.: Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28-mediated Akt-dependent and independent pathways. *J Immunol.* **180**: 4476–4486, 2008.
 - 18) Macintyre, A.N., et al.: The glucose transporter Glut1 is selectively essential for CD4 T cell activation and effector function. *Cell Metab.* **20**: 61–72, 2014.
 - 19) Kolev, M., et al.: Complement Regulates Nutrient Influx and Metabolic Reprogramming during Th1 Cell Responses. *Immunity*. **42**: 1033–1047, 2015.
 - 20) Le Buanec, H., et al.: IFN- α and CD46 stimulation are associated with active lupus and skew natural T regulatory cell differentiation to type 1 regulatory T (Tr1) cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **108**: 18995–19000, 2011.
 - 21) Shi, L.Z., et al.: HIF1 α -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells. *J Exp Med.* **208**: 1367–1376, 2011.
 - 22) Yang, Z.C., et al.: Hypoxia-Inducible Factor-1 α and Autoimmune Lupus, Arthritis. *Inflammation*. **39**: 1268–1273, 2016.
 - 23) Deng, W., et al.: Hypoxia inducible factor-1 α promotes mesangial cell proliferation in lupus nephritis. *Am J Nephrol.* **40**: 507–515, 2014.
 - 24) Andrzejewski, S., et al.: Metformin directly acts on mitochondria to alter cellular bioenergetics. *Cancer Metab.* **2**: 12, 2014.
 - 25) Zhao, W., et al.: The peroxisome-proliferator activated receptor- γ agonist pioglitazone modulates aberrant T cell responses in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* **149**: 119–132, 2013.
 - 26) Caro-Maldonado, A., et al.: Metabolic reprogramming is required for antibody production that is suppressed in anergic but exaggerated in chronically BAFF-exposed B cells. *J Immunol.* **192**: 3626–3636, 2014.
 - 27) Zhang, S., et al.: B cell-specific deficiencies in mTOR limit humoral immune responses. *J Immunol.* **191**: 1692–1703, 2013.
 - 28) Lee, K., et al.: Requirement for Rictor in homeostasis and function of mature B lymphoid cells. *Blood*. **122**: 2369–2379, 2013.
 - 29) Aagaard-Tillery, K.M., et al.: Inhibition of human B lymphocyte cell cycle progression and differentiation by rapamycin. *Cell Immunol.* **156**: 493–507, 1994.
 - 30) Limon, J.J., et al.: mTOR kinase inhibitors promote antibody class switching via mTORC2 inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **111**: E5076–E5085, 2014.
 - 31) Cho, S.H., et al.: Germinal centre hypoxia and regulation of antibody qualities by a hypoxia response system. *Nature*. **537**: 234–238, 2016.
 - 32) Lam, W.Y., et al.: Mitochondrial Pyruvate Import Promotes Long-Term Survival of Antibody-Secreting Plasma Cells. *Immunity*. **45**: 60–73, 2016.
 - 33) Clarke, A.J., et al.: Autophagy is activated in systemic lupus erythematosus and required for plasmablast development. *Ann Rheum Dis.* **74**: 912–920, 2015.
 - 34) Pengo, N., et al.: Plasma cells require autophagy for sustainable immunoglobulin production. *Nat Immunol.* **14**: 298–305, 2013.
 - 35) Arnold, J., et al.: Autophagy is dispensable for B-cell development but essential for humoral autoimmune responses. *Cell Death Differ.* **23**: 853–864, 2016.
 - 36) Pearce, E.J., et al.: Dendritic cell metabolism. *Nat Rev Immunol.* **15**: 18–29, 2015.
 - 37) Cao, W., et al.: Toll-like receptor-mediated induction of type I interferon in plasmacytoid dendritic cells requires the rapamycin-sensitive PI(3)K-mTOR-p70S6K pathway. *Nat Immunol.* **9**: 1157–1164, 2008.
 - 38) Oren, R., et al.: Metabolic patterns in three types of phagocytizing cells. *J Cell Biol.* **17**: 487–501, 1963.
 - 39) Galvan-Pena, S., et al.: Metabolic reprogramming in macrophage polarization. *Front Immunol.* **5**: 420, 2014.
 - 40) O'Neill, L.A., et al.: Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. *J Exp Med.* **213**: 15–23, 2016.
 - 41) Bao, Y., et al.: mTOR and differential activation of mitochondria orchestrate neutrophil chemotaxis. *J Cell Biol.* **210**: 1153–1164, 2015.
 - 42) Lood, C., et al.: Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are inter-

- ferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat Med.* **22**: 146–153, 2016.
- 43) Wu, T., et al.: Metabolic disturbances associated with systemic lupus erythematosus. *PLoS One.* **7**: e37210, 2012.
- 44) Jacob, C.O., et al.: *Lupus*-associated causal mutation in neutrophil cytosolic factor 2 (NCF2) brings unique insights to the structure and function of NADPH oxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **109**: E59–67, 2012.
- 45) Rice, G.I., et al.: Gain-of-function mutations in IFIH1 cause a spectrum of human disease phenotypes associated with upregulated type I interferon signaling. *Nat Genet.* **46**: 503–509, 2014.
- 46) Hu, S.J., et al.: IKZF1: a critical role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus? *Mod Rheumatol.* **23**: 205–209, 2013.
- 47) Heizmann, B., et al.: Ikaros is absolutely required for pre-B cell differentiation by attenuating IL-7 signals. *J Exp Med.* **210**: 2823–2832, 2013.
- 48) Alexander, T., et al.: Foxp3+ Helios+ regulatory T cells are expanded in active systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* **72**: 1549–1558, 2013.
- 49) Golding, A., et al.: The percentage of FoxP3+ Helios+ Treg cells correlates positively with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **65**: 2898–2906, 2013.
- 50) Kikuchi, H., et al.: Possible involvement of Helios in controlling the immature B cell functions via transcriptional regulation of protein kinase Cs. *Results Immunol.* **1**: 88–94, 2011.
- 51) Cai, X., et al.: Overexpression of Aiolos in Peripheral Blood Mononuclear Cell Subsets from Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis. *Biochem Genet.* **54**: 73–82, 2016.
- 52) Kikuchi, H., et al.: Lacking of Aiolos accelerates pre-mature B cell apoptosis mediated by BCR signaling through elevation in cytochrome c release. *Biochim Biophys Acta.* **1793**: 1304–1314, 2009.
- 53) Bae, K.B., et al.: Overexpression of Jazf1 induces cardiac malformation through the upregulation of pro-apoptotic genes in mice. *Transgenic Res.* **20**: 1019–1031, 2011.
- 54) Lewis, M., et al.: Effect of UBE2L3 genotype on regulation of the linear ubiquitin chain assembly complex in systemic lupus erythematosus. *Lancet.* **385 Suppl 1**: S9, 2015.
- 55) Geisler, S., et al.: The ubiquitin-conjugating enzymes UBE2N, UBE2L3 and UBE2D2/3 are essential for Parkin-dependent mitophagy. *J Cell Sci.* **127**: 3280–3293, 2014.
- 56) van den Heuvel, D.M., et al.: Taking a risk: a therapeutic focus on ataxin-2 in amyotrophic lateral sclerosis? *Trends Mol Med.* **20**: 25–35, 2014.
- 57) Tam, R.C., et al.: Systemic Lupus Erythematosus Patients Exhibit Reduced Expression of CLEC16A Isoforms in Peripheral Leukocytes. *Int J Mol Sci.* **16**: 14428–14440, 2015.
- 58) Soleimanpour, S.A., et al.: The diabetes susceptibility gene Clec16a regulates mitophagy. *Cell.* **157**: 1577–1590, 2014.
- 59) Ding, Y., et al.: Receptor tyrosine kinase ErbB2 translocates into mitochondria and regulates cellular metabolism. *Nat Commun.* **3**: 1271, 2012.
- 60) Grazette, L.P., et al.: Inhibition of ErbB2 causes mitochondrial dysfunction in cardiomyocytes: implications for herceptin-induced cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* **44**: 2231–2238, 2004.
- 61) Vercauteren, K., et al.: PGC-1-related coactivator complexes with HCF-1 and NRF-2beta in mediating NRF-2(GABP)-dependent respiratory gene expression. *J Biol Chem.* **283**: 12102–12111, 2008.
- 62) Koelsch, K.A., et al.: Functional characterization of the MECP2/IRAK1 lupus risk haplotype in human T cells and a human MECP2 transgenic mouse. *J Autoimmun.* **41**: 168–174, 2013.
- 63) Kriaucionis, S., et al.: Gene expression analysis exposes mitochondrial abnormalities in a mouse model of Rett syndrome. *Mol Cell Biol.* **26**: 5033–5042, 2006.
- 64) Filosa, S., et al.: Exploring the possible link between MeCP2 and oxidative stress in Rett syndrome. *Free Radic Biol Med.* **88**: 81–90, 2015.