

研究課題：メトホルミン刺激による T 細胞の代謝シフト機構の解明

慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科修士課程 1 年
先端生命科学 (BI)
出野泉花

1. 研究背景・目的

2 型糖尿病の第一選択薬であるメトホルミンは、免疫細胞のエネルギー代謝状態を一変させ（以下「代謝シフト」）、免疫活性を向上させることが知られている[1,2]。しかし、メトホルミンが代謝シフトを引き起こす分子メカニズムには諸説あり[3,4]、その実体たる生化学ネットワークの全容は不明である。そこで本研究では、メトホルミンによる免疫細胞の代謝シフトメカニズムを解明すべく、当該薬剤に応答して変動した分子を同定し、それらをつなぐ大規模生化学ネットワークをトランスオミクス解析により再構築する。トランスオミクスとは、網羅的に計測された時系列の多階層オミクスデータ（マルチオミクスデータ）を、情報科学的・統計学的手法により、直接的な分子間相互作用の連鎖として、オミクス階層内および階層間を結ぶ方法論である[5]。今年度は、トランスオミクス解析にあたり必要な、時系列のマルチオミクスデータを取得するための条件検討及びポジティブコントロール検出を達成した。

2. 成果

本成果は国際論文への投稿を予定しており、本報告書への詳細なデータの掲載は控えさせていただく。

<結果 1>メトホルミンは Jurkat 細胞のエネルギー産生経路を相対的に解糖系へ切り替える

メトホルミンによる免疫細胞の代謝シフトを評価するため、Flux Analyzer を用いて代謝状態の指標である酸素消費速度（Oxygen Consumption Rate : OCR）と、細胞外酸性化速度（Extracellular Acidification Rate : ECAR）を計測した。OCR はミトコンドリアにおける酸化リン酸化によるエネルギー産生の指標であり、ECAR は解糖系によるエネルギー産生を意味することが知られている。

生理濃度の範囲内である 100 μM のメトホルミンで 5 時間、10 時間、18 時間、24 時間処理したヒト T 細胞性白血病由来の Jurkat 細胞に、ミトコンドリア機能を評価するミトストレス試験を実施した。その結果、それぞれの時間においてメトホルミン処理により OCR/ECAR 比が有意に減少した。また、同条件のサンプルについて ATP production rate assay を実施し、酸化リン酸化または解糖系のどちらによる ATP 産生の速度が変化するかを測定した。メトホルミンで 5 時間処理した群では ATP 産生速度の有意な変動は見られなかったものの、10 時間処理したサンプルでは解糖系由来の ATP 産生速度が上昇し、18 時間以上処理したサンプルではミトコンドリア由来の ATP 産生速度が低下した。18 時間以上処理した群については、ATP 総産生速度もコントロールと比較して低下した。以上の結果より、メトホルミンは Jurkat 細胞のエネルギー産生経路を、相対的に酸化リン酸化から解糖系へと切り替えることが示唆された。

<結果 2>メトホルミンは Jurkat 細胞のミトコンドリアの状態を変化させる

100 μM のメトホルミンで 24 時間処理した Jurkat 細胞について、Complex 1 阻害剤であるロテノン徐徐に高濃度になるよう測定中に投与し、Flux Analyzer によって OCR の変化を追跡した。ロテノンによる OCR の低下幅がメトホルミン処理によって縮小したことから、メトホルミンはロテノンと同様に Complex 1 に作用点を持つことが示唆された。また、フローサイトメトリーを用いて同サンプル中のミトコンドリア量を計測したところ、メトホルミン処理によってミトコンドリア量が増大することを確認した。同じく末梢組織である骨格筋細胞の例で、メトホルミンによってミトコンドリアの生合成が促進されるという先行研究が存在し[6]、本実験結果と整合性がある。

3. 総括

メトホルミンは元来 2 型糖尿病薬として長い歴史を持つ医薬品でありながら、薬理作用の分子機構は不明なままである。近年がんやメタボリックシンドロームといった他の代謝性疾患に対する効果も報告されていることから、当該薬剤の作用機序解明は重要な課題である。免疫細胞におけるメトホルミンの作用を多階層のネットワークシステムとして包括的に解明できれば、他の疾患への免疫療法的な応用や他の薬剤との併用によるシナジー効果の予測が期待される。

4. 謝辞

受給した本奨学金は、本研究の実験より得られたデータの解析機器等備品代として主に利用させていただきました。この場を借りて深く御礼申し上げます。

5. 参考文献

1. Uehara T, Eikawa S, Nishida M, Kunisada Y, Yoshida A, Fujiwara T, et al. Metformin induces CD11b⁺-cell-mediated growth inhibition of an osteosarcoma: Implications for metabolic reprogramming of myeloid cells and anti-tumor effects. *Int Immunol.* 2019;31: 187–198.
2. Zhang Z, Li F, Tian Y, Cao L, Gao Q, Zhang C, et al. Metformin Enhances the Antitumor Activity of CD8⁺ T Lymphocytes via the AMPK–miR-107–Eomes–PD-1 Pathway. *The Journal of Immunology.* 2020;204: 2575–2588.
3. Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest.* 2001;108: 1167–1174.
4. Madiraju AK, Qiu Y, Perry RJ, Rahimi Y, Zhang XM, Zhang D, et al. Metformin inhibits gluconeogenesis via a redox-dependent mechanism in vivo. *Nat Med.* 2018;24: 1384–1394.
5. Yugi K, Kubota H, Hatano A, Kuroda S. Trans-Omics: How To Reconstruct Biochemical Networks Across Multiple “Omic” Layers. *Trends Biotechnol.* 2016;34: 276–290.
6. Suwa M, Egashira T, Nakano H, Sasaki H, Kumagai S. Metformin increases the PGC-1 α protein and oxidative enzyme activities possibly via AMPK phosphorylation in skeletal muscle in vivo. *J Appl Physiol.* 2006;101: 1685–1692.