

## 高齢マウス由来樹状細胞の免疫特性や代謝特性の解析

### [1] 組織

代表者：戸田 雅子

(東北大学大学院農学研究科)

対応者：田中 耕三

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

宮澤 大樹(東北大学未来科学技術共同研究センター)

研究費：物件費 15 万円

### [2] 研究経過

本共同研究では、老化が脾臓細胞の代謝に及ぼす影響を明らかにすること目的として、網羅的メタボローム解析を行った。高齢マウスとそのコントロール若齢マウスの脾臓は対応者により供与された。当初は脾臓から単離した樹状細胞のメタボローム解析を行う計画であった。しかしながら、脾臓における樹状細胞数は少なく安定なデータを得るには細胞数を増やす必要がある一方で高齢マウスの数は限られていること、さらに樹状細胞の単離に用いた抗 CD11c 抗体結合ビーズにより細胞に刺激が入る傾向が認められたことから、対応者である田中耕三教授とも協議し、今回は脾臓細胞を解析に用いた。田中教授とは解剖の度に、打ち合わせを行った。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、若齢マウス (2 ヶ月齢) と高齢マウス (26 ヶ月齢) の脾臓細胞をトル様受容体 4 リガンドリポ多糖類 (LPS) により刺激し、24 時間後に細胞に含まれる代謝物レベルを GC-MS/MS TQ8040 (島津製作所) により測定した。Negative control としては無刺激の細胞を用いた。Cell lysate サンプルからは約 130 種類の一次代謝物が検出された。

無刺激の高齢マウス由来脾臓細胞では、顕著に高いグルコースやフルクトース、ガラクトースが検出された (次ページ: 図 1 参照)。細胞内グルコースのレベルが亢進するメカニズムとしては、糖新生 (解糖系やクエン酸回路とはほぼ逆の反応で、ピルビン酸や乳酸、TCA 回路の中間体などからグルコースが作

られる) や、細胞外からのグルコース取り込み促進が考えられる。フルクトースを産生する経路としては、グルコースからソルビトール産生を介するポリオール経路があげられる。このように、高齢マウスの脾臓細胞では、解糖系以外のグルコースが関与する代謝経路が亢進することが示唆された。

次に、脾臓細胞が LPS 刺激時に起こす代謝変化を解析した。若齢マウスの脾臓細胞に比較して、高齢マウスの脾臓細胞は LPS 刺激に対して高いレベルの炎症性サイトカイン IL-6 を産生する。若齢マウスでは LPS 刺激時にピルビン酸や乳酸レベルが増加し、解糖系の亢進誘導が示唆された (図 1 参照)。マクロファージなどを用いた先行研究でも、LPS 刺激は解糖系を亢進することが報告されている。高齢マウス由来脾臓細胞においても LPS 刺激によりピルビン酸や乳酸レベルは亢進したが、そのレベルは若齢マウスよりも低い一方、コハク酸やリンゴ酸などの TCA 回路における代謝物レベルが亢進していた。以上より、高齢マウスの脾臓細胞では、LPS 刺激の際、解糖系より TCA 回路が優位に働くことが示唆された。

LPS 刺激は細胞におけるアミノ酸レベルも変化させたが、最も顕著にレベルが変化したのはヒドロキシプロリンであった。また、ヒドロキシプロリンは若齢マウス由来脾臓細胞に比較して、高齢マウス由来脾臓細胞におけるレベルが高かった。LPS 刺激によりグルタミン濃度も増加したが、他の多くのアミノ酸レベルは減少した。刺激によりサイトカインなどの多くのたんぱく合成が誘導されるため、細胞内アミノ酸の多くは合成に利用されたと考えられる。この他には、高齢マウスではオルニチンレベルが高いなど、尿素代謝レベルも異なることが示唆された。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

高齢マウスの脾臓細胞ではグルコース、フルクトース、ガラクトース濃度が顕著に増加しており、ヒドロキシプロリンレベルが高いことも明らかになった。そのような代謝が細胞応答に及ぼす影響をさらに解析する必要がある。本共同研究で得られた高齢マウスの脾臓細胞メタボロームに関する知見は、代謝を介した免疫応答の制御、そして老化抑制のストラテジー確立に結びつき、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料  
特になし

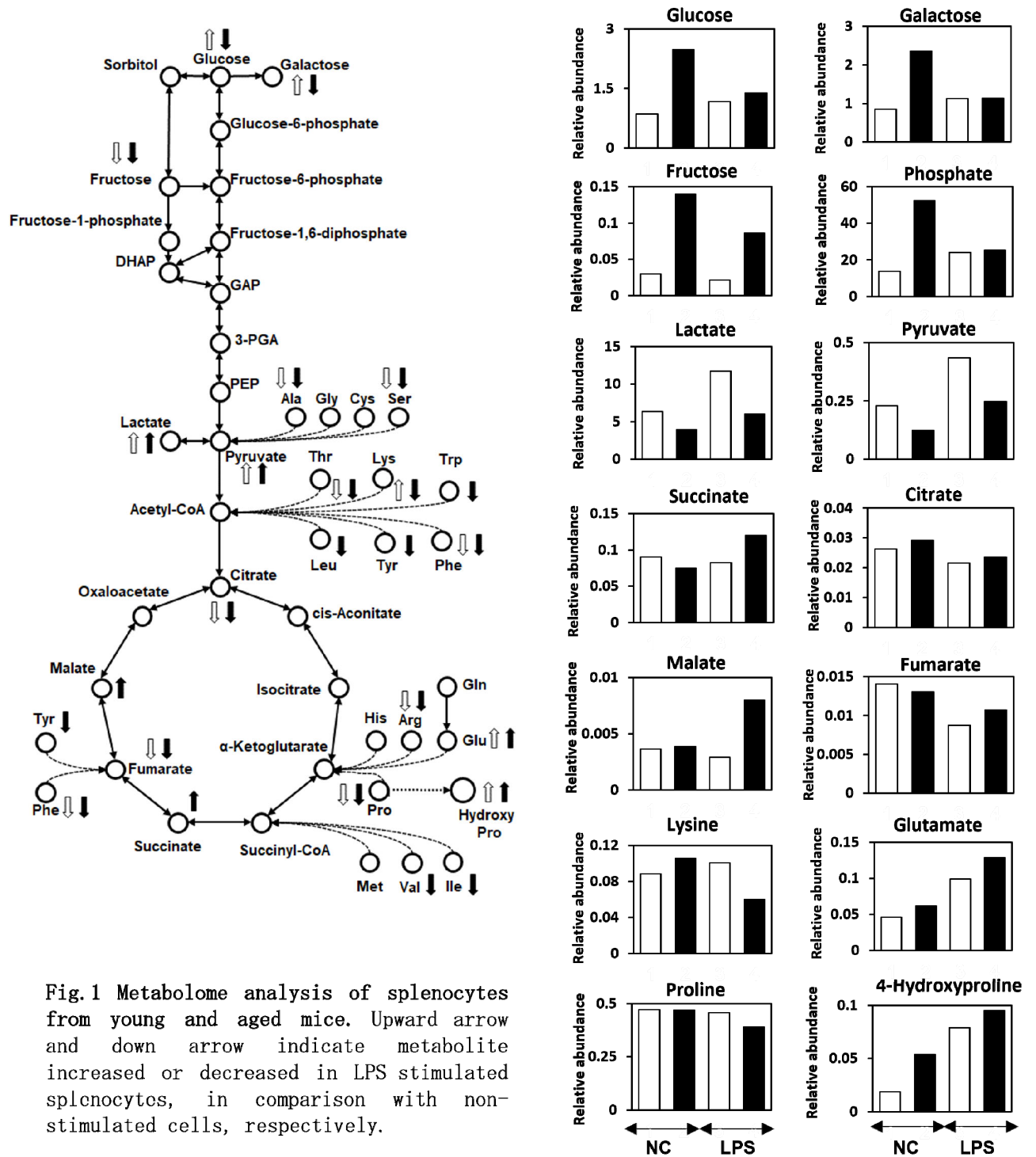


Fig.1 Metabolome analysis of splenocytes from young and aged mice. Upward arrow and down arrow indicate metabolite increased or decreased in LPS stimulated splenocytes, in comparison with non-stimulated cells, respectively.