

T細胞分化を制御する転写因子ネットワークの解明

Analyses of transcription factors networks that govern T lymphocyte development

谷内 一郎 (TANIUCHI ICHIRO)

理化学研究所・免疫転写制御研究グループ・グループディレクター



研究の概要

我々ヒトの健康維持に必須の高次生命機能系である免疫系の調節では、異なる機能を持つ幾つかの細胞亜群から構成されるT細胞が重要な役割を果たす。本研究は、複数の転写因子の相互作用によって形成される転写因子ネットワークが如何にしてT細胞の分化を制御するか解明し、T細胞分化プログラムを総括的に理解することにより、医療応用への基盤提供を目指す。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：リンパ球、T細胞、転写因子ネットワーク

1. 研究開始当初の背景

免疫系の機能調節に重要なT細胞は機能の異なる幾つかの細胞亜群から構成されるが、その分化プログラムは未だ解明されておらず、特に転写因子による遺伝子発現制御機構からの理解が不足していた。私は2008年に、胸腺内でのヘルパーT細胞とキラーT細胞への分化運命決定ではThPOK転写因子とRunx転写因子の相反的な相互作用が重要であることを解明したことから、この発見を更に発展させるべく研究を開始した

2. 研究の目的

胸腺内でのヘルパー/キラー系列への分化運命決定を制御する転写因子ネットワークを解明する。またRunx転写因子を研究対象の中心に据えて、その他のT細胞亜群(例えば制御性T細胞、NKT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞)への分化決定を制御する転写因子ネットワークを解明する。

3. 研究の方法

発生工学的手法により、転写因子の機能や転写因子の発現を制御するゲノム領域に変異を導入したマウスを作製し、転写因子の生体内での機能を解明する。またそれら変異マウス由来の生物試料を用いて、生化学的、分子生物学的、バイオインフォマティクスの解析を行い、転写因子の標的遺伝子、相互作用分子の同定を行う。

4. これまでの成果

まず、胸腺内でのヘルパー/キラー系列への分化運命決定については、独自の研究成果として、ThPOK遺伝子座に在る遺伝子発現を負に制御する活性を持つサイレンサー領域(ThPOKサイレンサー)がThPOKのヘルパー系列特異的な発現に必須であることを見出していた。そこで更にThPOKサイレンサーの機能を解明すべく、ES細胞を用いた遺伝子標的法のより、ThPOKサイレンサー領域に様々な変異を導入し、サイレンサー内の機能配列の同定を行った。同様の手法により、サイレンサー周囲にloxP配列を挿入し、Creタンパクの発現により誘導的にサイレンサーをマウスゲノムから除去出来るマウスを作製した。このマウスを用いて、分化したCD8⁺キラーT細胞からThPOKサイレンサーを除去してもThPOK遺伝子の発現抑制状態が維持される結果を得た。同時に分子生物学的解析によりキラーT細胞への分化過程で、ThPOK遺伝子座のプロモーター領域で、ヒストンH3K27Me3修飾が蓄積することを見出した。これらの結果はCD8陽性キラーT細胞では、エピジェネティックジーンサイレンシングが確立される事を示す。更にサイレンサーのコピー数を増加することでサイレンサー機能が增強されれば、ヘルパー細胞でもThPOK遺伝子座にエピジェネティックジーンサイレンシングが確立されることを見出した。これらの結果から、ヘルパー系列への分化運命決定にはクラスII MHC拘束性のTCRシグナルによるThPOK

サイレンサーの不活性化が正の選択後、適切な時期に、ある程度の期間続くこと必須であると考えられた。

次に ThPOK 遺伝子座内に、ThPOK の効率的な初期発現に必須の新規エンハンサー (thymic enhancer:TE) を同定した。TE と近位エンハンサー (PE) は、共に分化段階特異性を持ち、相補的に機能し、その活性化には GATA3 転写因子が重要であることを見出した。

次に、CD8 遺伝子の発現抑制分子として同定された MAZR 転写因子が ThPOK サイレンサーの活性制御にも関与することを報告した。一方で、生化学的に ThPOK サイレンサー結合タンパク複合体を精製し、複数の新規サイレンサー結合因子を同定した。これら新規サイレンサー結合因子の機能解析を目的に、それぞれ遺伝子改変マウスを入手或は独自に作製し、表現型解析を行った。その結果、これらの因子のひとつは、ThPOK サイレンサーの機能発現に必須であり、かつ ThPOK 遺伝子の発現レベルの維持にも必要であることが判明した。すなわち、この新規因子は ThPOK 遺伝子の発現を正にも負にも制御する活性を持ち、その結果この因子を欠損する事でクラス I MHC とクラス II MHC 拘束性の胸腺細胞の系列決定が共に障害されるという大変興味深い表現型を示すことを見出した。しかしながら、これら新規サイレンサー結合因子は全て ThPOK サイレンサー活性の有無に関わらず、サイレンサー領域に結合しており、ThPOK サイレンサー活性制御のスイッチとなる機構の解明には、これら因子の翻訳後修飾の解析を含んだ更なる研究が必要と考えられた。

一方、Runx タンパクの C 末端に存在する進化上保存された VWRPY 配列の欠損により、ThPOK サイレンサーの活性は部分的に、Cd4 サイレンサーの活性は完全に障害されることを見出した。このことから、両サイレンサーは共に Runx 転写因子依存性であるが、制御機構は異なると考えられた。

次に腸管に存在する CD4⁺CD8 α ⁺IEL 細胞の分化過程を解析し、この細胞はヘルパー系列の CD4⁺CD8 α ⁻細胞から分化し ThPOK サイレンサーを介した ThPOK の発現抑制と共に Runx3 の発現誘導が必須であることを発見した。

更に制御性 T 細胞の正常な分化には Runx1 転写因子による FoxP3 遺伝子の発現維持が必須であること、NKT 細胞の分化には Runx1 の VWRPY 配列を介した遺伝子発現抑制機構が必須であり、ThPOK 転写因子は NKT 細胞でのサイトカインの発現制御機構に重要であることを発見した。

また、皮膚に特異的な γ δ T 細胞である DETC 細胞の分化には Runx3/Cbf β 2 複合体の活性が必須であることを発見し、胸腺外での分化経路の可能性について、新たに共同研究を開始した。

5. 今後の計画

ThPOK サイレンサー結合因子の同定と機能解析を計画の中心に据えると共に、CD4⁺CD8 α ⁺IEL 細胞や γ δ T 細胞の分化過程についても転写因子ネットワークの同定を進めて行く。また転写因子が働く場である核内構造の理解を目的とした研究、数理科学を用いた転写因子ネットワークのモデル化とその検証といった新しい方法論を積極的に取り入れて、研究を発展させる

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Taniuchi I, Osato M, Egawa T, Sunshine M.J, Bae S.-C, Komori T, Ito Y and Littman D.R. Differential requirements for Runx proteins in CD4 repression and epigenetic silencing during T lymphocyte development. Cell 111: 621-33, 2002.
- Chi T.H, Wan M, Zhao K, Taniuchi I, Chen L, Littman D.R and Crabtree G.R. Reciprocal regulation of CD4/CD8 expression by SWI/SNF-like BAF complexes. Nature 418: 195-9, 2002.
- Naoe Y, Setoguchi R, Akiyama K, Muroi S, Kuroda M, Hatam F, Littman D.R and Taniuchi I. Repression of interleukin-4 in T helper type 1 cells by Runx/Cbfb binding to the *Ii4* silencer. J.Exp.Med. 204:1749-1755, 2007.
- Setoguchi R, Tachibana M, Naoe Y, Muroi S, Akiyama K, Tezuka C, Okuda T and Taniuchi I. Repression of the Transcription Factor ThPOK by Runx Complexes in Cytotoxic T Cell Development. Science 319:816-819, 2008.
- Muroi S, Naoe Y, Miyamoto C, Akiyama K, Ikawa T, Masuda K, Kawamoto H and Taniuchi I. Cascading suppression of transcriptional silencers by ThPOK seals helper T cell fate. Nat. Immunol. 9:1113-21, 2008.
- Sakaguchi S, Hombauer M, Bilic I, Naoe Y, Schebesta A, Taniuchi I and Ellmeier W. The zinc finger protein MAZR is part of the transcription factor network controlling CD4/CD8 cell fate decision of DP thymocytes. Nat. Immunol. 11:442-448, 2010.

ホームページ等

<http://web.rcai.riken.jp/en/labo/regu/publication.html>