

科学研究費補助金（特別推進研究）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成20年度採択分

平成23年5月24日現在

研究課題名（和文） 制御性T細胞機能の分子的基礎に関する研究  
研究課題名（英文） Molecular basis of the function and generation of  
Foxp3-expressing regulatory T cells

研究代表者

坂口 志文(Sakaguchi Shimon)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授



研究の概要：免疫応答に対する“負”の制御は、現代免疫学の重要研究課題のひとつである。その理解は、正常自己組織に対する異常免疫応答としての自己免疫病、逸脱あるいは過剰な免疫反応としてのアレルギー、炎症性腸疾患などの免疫病の理解と治療・予防に繋がる。さらに、自家腫瘍細胞に対する有効な腫瘍免疫の惹起、他人からの移植臓器に対する移植免疫寛容の導入に繋がる。本研究では、抑制的免疫応答制御に中心的役割を果たす制御性T細胞（以下Tregと略）の免疫抑制機構および発生・分化・増殖機構の分子的基礎を明らかにし、ヒトTregの機能操作による病的および生理的免疫応答制御の基礎を確立する。特に、Treg特異的転写因子Foxp3を中心として、Foxp3結合因子の同定によるFoxp3転写複合体の構造解明と抑制的転写プログラムの解明、Foxp3転写複合体が標的とする遺伝子群の同定と機能解析、さらに、Foxp3上流シグナルの解析を行うと共に、鍵となる遺伝子について細胞系列特異的遺伝子欠損マウス〔コンディショナルノックアウトマウス〕、特定遺伝子変異導入マウス〔ノックインマウス〕の作製により生体でのTreg機能を解析する。これらの研究結果に基づき、Foxp3に制御されるTreg機能分子の機能操作（単クローン抗体、サイトカイン、小分子）による免疫応答制御法を確立する。

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：Foxp3、制御性T細胞、自己免疫病、Tリンパ球、CTLA-4、免疫制御

#### 1. 研究開始当初の背景

免疫応答に対する“負”の制御は、現代免疫学の重要研究課題のひとつである。その理解は、正常自己組織に対する異常免疫応答としての自己免疫病、逸脱あるいは過剰な免疫反応としてのアレルギー、炎症性腸疾患などの免疫病の理解と治療・予防に繋がる。さらに、自家腫瘍細胞に対する有効な腫瘍免疫の惹起、他人からの移植臓器に対する移植免疫寛容の導入に繋がる。Foxp3+CD25+CD4+ Tregは、今や、あらゆる免疫応答の抑制的制御に関与すると考えられ、上述の自己免疫、腫瘍免疫、移植免疫、微生物免疫、アレルギーのみならず、胎児母体免疫寛容維持と流産の阻止にも重要な役割を果たすと考えられている。本研究の独創性は、従来の免疫制御の研究が、免疫応答を媒介するエフェクターT細胞、B細胞を標的とするのに対し、これらを抑制的に制御するTregの発生・機能を理解し、その操作によって免疫応答を制御することにある。内在性Tregによる異常・過剰な免疫応答抑制は、免疫系に生理的に備わった免疫制御機構であり、従って、Tregを標的とすれば、従来の免疫抑制法に比較してより生理的な免疫応

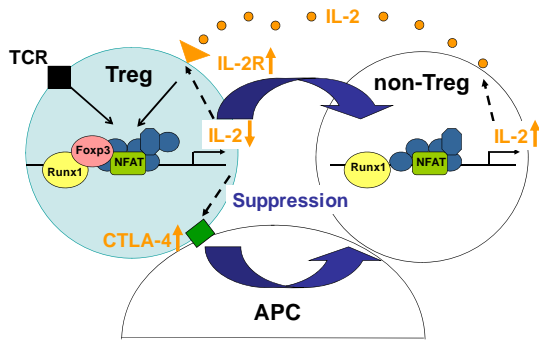
答制御が可能である。Tregによる免疫制御の戦略として、二つの方法が考えられる。ひとつは、内在性Tregが機能的に安定であることから、ex vivoでTregを増殖させた後、その移入による細胞療法としての免疫抑制が可能である。また、Treg特異的分子（CD25など）をマーカーとしてTregの数的減少による免疫増強（腫瘍免疫など）が可能である。もうひとつの方法は、Tregによる抑制機構、増殖機構の分子的基礎の理解に基づく分子レベルでのTreg機能操作である。転写因子Foxp3は、胸腺におけるTregの発生を制御し、また、Foxp3を発現させるだけで正常T細胞を機能的にTregに転換できる、その意味でTregのマスター制御分子である。従って、Treg発生・機能を分子レベルで解明し、操作するための重要な鍵となる。

#### 4. これまでの成果

Tregの発生・機能のマスター転写因子Foxp3の機能を、それに結合する分子の同定・解析、およびFoxp3の制御する下流遺伝子とその産物の機能について解析を進めた。まず、Foxp3が転写因子Runx1と結合するとの結果に基づきTreg特異的にRunx1、Runx3、あるいはこ

これらの co-factor である CBF- $\beta$  を欠損するマウスを作製したところ、Runx1 あるいは CBF- $\beta$  欠損マウスは自己免疫病、高 IgE 血症を自然発症し、in vivo, in vitro における Treg 抑制機能が低下していた。この結果は、Foxp3/Runx1 転写複合体が Treg の抑制機能の発現に重要であることを意味する。

一方、Foxp3 が制御する下流分子として CTLA-4 に注目し、Treg 特異的 CTLA-4 欠損マウスを作製したところ、このマウスは致死的自己免疫病（心筋炎など）、高 IgE 血症を自然発症し、また自家腫瘍に対して強力な免疫応答を示した。CTLA-4 欠損は、Treg の発生、生存、活性化には影響しないが、in vitro, in vivo での抑制活性を顕著に低下させた。さらに、Treg に発現する CTLA-4 は、樹状細胞上の副刺激分子 CD80, CD86 と結合し、その発現を低下させることによって、他の T 細胞の活性化を妨げるとの結果を得た。これは Treg による免疫抑制の重要な分子機構と考える。



Treg の TCR レパトアがどのように形成されるかについても、TCR シグナル分子の遺伝子改変マウスを作製して検討を進め、ZAP-70 および CTLA-4 分子の役割を明らかにした。

さらに、ヒト Treg について、末梢中の Foxp3 発現 T 細胞は機能的に均一ではなく、CD45RA, CD25 の発現程度によって 3 つの亜群に分けうることを示し、この分類が Treg の機能解析、特に諸種免疫疾患における Treg の動態解析に有用であることを示した。

##### 5. 今後の計画

Treg の発生、機能の分子機構の解析をさらに進めるとともに、ヒト Treg の臨床応用、特にヒト Treg サブセットを操作して癌免疫を増強できる可能性を探る。

##### 6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

- (1) Wing, K., and Sakaguchi, S. Regulatory T cells exert checks and balances on self-tolerance and autoimmunity. *Nat. Immunol.* 11:7-13, 2010.
- (2) Sakaguchi, S., Miyara, M., Costantino, C. M., and Hafler, D. A. FOXP3+ regulatory T cells in the human system. *Nat. Rev. Immunol.* 185:2295-305, 2010.

- (3) Tanaka, S., Maeda, S., Hashimoto, M., Teradaira, S., Hirota, K., Yoshitomi, H., Katakai, T., Shimizu, A., Nomura, T., Sakaguchi, N., and Sakaguchi, S. Graded attenuation of TCR signaling elicits distinct autoimmune diseases by altering thymic T cell selection and regulatory T cell function. *J. Immunol.* 185:2295-305, 2010.

- (4) Hashimoto, M., Hirota, K., Yoshitomi, H., Maeda, S., Teradaira, S., Akizuki, S., Prieto-Martin, P., Nomura, T., Sakaguchi, N., Köhl, J., Heyman, B., Takahashi, M., Fujita, T., Mimori, T., Sakaguchi, S. Complement drives Th-17 cell differentiation and triggers autoimmune disease. *J. Exp. Med.* 207:1135-43, 2010.

- (5) Kitoh, A., Ono, M., Naoe, Y., Ohkura, N., Yamaguchi, T., Yaguchi, H., Kitabayashi, I., Tsukada, T., Nomura, T., Miyachi, Y., Taniuchi, I., and Sakaguchi, S. Indispensable role of Runx1/Cbfb complexes for in vivo suppressive function of FoxP3+ regulatory T cells. *Immunity.* 31:609-620, 2009.

- (6) Miyara, M., Shima, T., Kitoh, A., Yoshioka, Y., Niwa, A., Tafllin, C., Heike, T., Valeyre, D., Mathian, A., Nakahata, T., Yamaguchi, T., Nomura, T., Wing, K., Ono, M., Amoura, Z., Gorochoy, G., and Sakaguchi, S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4(+) T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity.* 30:899-911, 2009.

- (7) Nagahama, K., Fehervari, Z., Oida, T., Ogawa, O., and Sakaguchi, S. Differential control of alloantigen-specific regulatory T cells and effector T cells by anti-CD4 and other agents in establishing transplantation tolerance. *Int. Immunol.* 21:379-391, 2009.

- (8) Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T., and Sakaguchi, S. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science.* 322:271-275, 2008.

- (9) Onishi, Y., Fehervari, Z., Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 29:10113-10118, 2008.

- (10) Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T., and Ono, M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell.* 133: 775-787, 2008.

他 28 篇

受賞

2008 年 慶応医学賞

2009 年 紫綬褒章