

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料
〔平成31（2019）年度研究進捗評価用〕

平成28（2016）年度採択分

令和元（2019）年5月17日現在

研究課題名（和文）制御性T細胞による免疫応答制御の包括的研究

研究課題名（英文）Study of the function and development of regulatory T cells

課題番号：16H06295

研究代表者

坂口 志文 (Shimon Sakaguchi)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任教授（常勤）



研究の概要：

正常個体中に存在する内在性制御性T細胞(Treg)は、異常・過剰な免疫反応の抑制に特化したT細胞群であり、免疫自己寛容、免疫恒常性の維持に中心的役割を果たしている。その異常は、自己免疫病、アレルギー、炎症性腸炎などの直接的原因となることから、Tregの増殖・増強によって、自己免疫病、炎症性腸疾患の治療・予防、移植臓器に対する免疫寛容の誘導が可能であり、一方、Tregの減少・減弱によって感染免疫、腫瘍免疫の強化が可能である。

本研究の目的は、Tregをモデルとした細胞系譜決定機構の分子的基礎の解明およびTregによる免疫抑制機能の分子的基礎の解明にある。そしてその理解をもとに、Tregの量的、機能的操作によるアレルギー・自己免疫疾患、難治感染症、悪性腫瘍の治療と予防、また移植免疫寛容の誘導など、新たな免疫治療法の基礎を確立することにある。

研究分野：医歯薬学

キーワード：免疫寛容、制御性T細胞、エピジェネティクス、Foxp3、自己免疫疾患

1. 研究開始当初の背景

(1) 正常個体中に存在する内在性制御性T細胞(Treg)は、異常・過剰な免疫反応の抑制に特化したT細胞群であり、免疫寛容、免疫恒常性の維持に中心的役割を果たしている。その異常は、自己免疫病、アレルギー、炎症性腸炎などの直接的原因となる。Tregの増殖・増強によって、自己免疫病、炎症性腸疾患の治療・予防、移植臓器に対する免疫寛容の誘導が可能であり、一方、Tregの減少・減弱によって感染免疫、腫瘍免疫の強化が可能である。

内在性Tregの大部分は、他のT細胞と異なり、正常胸腺で抑制機能に特化した細胞群として機能的に成熟した状態で産生される。本研究では、申請者らが証明した転写因子Foxp3の機能、さらにTreg特異的エピゲノム変化を基盤として、Tregの発生・分化・増殖・抑制機能の分子的基礎を解明する。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、免疫自己寛容、免疫恒常性の確立と維持に不可欠である内在性Tregによる抑制的免疫制御、特にTregによる免疫抑制機構およびTregの発生・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。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、Tregによる抑制的免疫応答制御およびTregの発生・分化・増殖機構の分子的基礎の解明をめざし、以下の項目について研究を進めている。

①Treg特異的エピゲノムの成立機構と分化誘導要素の解析、②ヒトTreg亜群のエピゲノム解析と疾患関連遺伝子多型との相関解析、③Tregの発生・分化におけるゲノム高次構造と分子基盤の解明、④誘導型iTregの基礎的理解と誘導条件の確立、⑤Treg特異的なTCRシグナルの制御機構とTregTCRレパトア形成の分子的基盤、⑥Tregによる抑制機構および被抑制T細胞の解析。

4. これまでの成果

(1) Tregによる免疫応答抑制およびTregの発生・分化・増殖機構の分子的基礎の解明をめざし多角的に解析を進めてきた。

具体的には、Treg分化時にFoxp3を発現する以前のTreg前駆細胞におけるエピゲノム変化に焦点を置き、網羅的な解析を行った。その結果、TregにはFoxp3およびTreg特異的遺伝子を制御するTreg特異的スーパーエンハンサー(SE)領域が存在し、Treg前駆細胞ではTreg特異的SE領域の活性化が惹起されTreg分化が誘導されることを示した。この過程に必要な分子としてゲノムオーガナイザ

一Satb1を同定した。T細胞特異的Satb1欠損マウスでは、Treg特異的SE領域の活性化阻害によりTreg特異的遺伝子の発現が阻害され、その結果として胸腺におけるTreg産生が減少し、様々な臓器に自己免疫病を自然発症した。以上の結果から、Satb1を介したTreg特異的エピゲノム成立が胸腺Tregの発生に必須であることが明らかとなった(Kitagawa et al, Nat Immunol, 2017)。

Tregによる免疫抑制機構に関して、濾胞性Tヘルパー細胞を介しB細胞の抗体産生を制御する濾胞性Treg (Tfr)に注目し、その抑制機能と特異的遺伝子の発現解析を進めた。その結果、Tfrが抗体産生の際である胚中心へと遊走する細胞機構を見出し、Tregが抗体産生を制御する仕組みを明らかにした(Wing et al, PNAS, 2017)。また、抗腫瘍免疫応答を制御する腫瘍浸潤Tregにも注目し、腫瘍浸潤Tregで高発現する抑制型受容体PD-1の役割についてTreg特異的なPD-1欠損マウスを用いて検討を行った。その結果、Treg発現PD-1の阻害によりTregの増殖能および免疫抑制能が増強され、抗腫瘍免疫応答が减弱する機構をヒトおよびマウスで明らかにした(Kamada et al, PNAS, 2019)。さらに、Tregに高発現するCTLA-4分子についても解析を進め、細胞傷害能を亢進させた抗CTLA-4抗体でTregを除去すれば腫瘍免疫を増強できることを示した(Ha et al, PNAS, 2019)。

加えて、TCR近傍シグナル遺伝子であるZAP-70の変異によりTregの減弱を伴ったTh17依存性の自己免疫性関節炎を自然発症するSKGマウスについて、関節炎の惹起には自然リンパ球ILC2と線維芽細胞様滑膜細胞によるGM-CSF産生の重要性を明らかにした(Hirota et al, Immunity, 2018)。

5. 今後の計画

(1) 今後の研究推進方策として、Tregの発生・分化におけるゲノム高次構造と分子基盤の解明を目指し分子生物学的・免疫学的解析をさらに進めていく。特に、Tregの各発生段階での遺伝子発現およびクロマチンの動態を単一細胞レベルで明らかにするため、CyTOF質量分析装置や単一細胞RNA-Seq法、単一細胞ATAC-Seq法を用いて高次元パラメーターによる単一細胞解析をマウスTregおよびヒトTreg亜群で進める。また、3C法などを用いて、各発生段階のTreg特異的なゲノム立体構造の動態・変化についても解析を進める。

機能的に安定な誘導型Tregの培養法を確立すべく、共刺激分子の有無やサイトカイン、他の生理活性物質を操作し、Treg特異的エピゲノムを備え機能的に安定なTregの分化誘

導に最適な培養条件をマウスおよびヒトで探る。得られた基礎的知見を元に、Treg細胞療法の臨床応用を可能とするヒトTreg作製法の開発を進める。

さらに、Tregが抑制する被抑制T細胞の免疫学的機能として、Tregが恒常的に高発現する可溶化型CTLA-4に注目し、可溶化型あるいは膜型CTLA-4をそれぞれ特異的に欠損するマウスを用いて、可溶化型CTLA-4による免疫応答制御機構の解析を進める。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者(平成29年度(2017年度)まで)は点線を付してください。

1. Ha D, Tanaka T, Kibayashi T, Tanemura A, Sugiyama D, Wing JB, Lim EL, Tang K, Adeegbe D, Newell EW, Katayama I, Nishikawa H, and Sakaguchi S. Differential control of human Treg and effector T cells in tumor immunity by Fc-engineered anti-CTLA-4 antibody. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 116(2):609-618, 2019.
2. Hirota K, Hashimoto M, Ito Y, Matsuura M, Ito H, Tanaka M, Watanabe H, Kondoh G, Tanaka A, Yasuda K, Kopf M, Potocnik AJ, Stockinger B, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Autoimmune Th17 cells induced synovial stromal and innate lymphoid cells secretion of the cytokine GM-CSF to initiate and augment autoimmune arthritis. *Immunity*. 48:1220-1232, 2018.
3. Kitagawa Y, Ohkura N, Kidani Y, Vandenbon A, Hirota K, Kawakami R, Yasuda K, Motooka D, Nakamura S, Kondo M, Taniuchi I, Kohwi-Shigematsu T, Sakaguchi S. Guidance of regulatory T cell development by Satb1-dependent super-enhancer establishment. *Nat. Immunol*. 18:173-183, 2017.
4. Wing JB, Kitagawa Y, Locci M, Hume H, Tay C, Morita T, Kidani Y, Matsuda K, Inoue T, Kurosaki T, Crotty S, Coban C, Ohkura N, Sakaguchi S. A distinct subpopulation of CD25⁺ T-follicular regulatory cells localizes in the germinal centers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 114:E6400-E6409, 2017.
5. Saito T, Nishikawa H, Wada H, Nagano Y, Sugiyama D, Atarashi K, Maeda Y, Hamaguchi M, Ohkura N, Sato E, Nagase H, Nishimura J, Yamamoto H, Takiguchi S, Tanoue T, Suda W, Morita H, Hattori M, Honda K, Mori M, Doki Y, Sakaguchi S. Two FOXP3⁺CD4⁺ T-cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers. *Nature Med*. 22: 679-684, 2016.

受賞：German Immunology Prize 2019 (Avery-Landsteiner Award)

ホームページ：

<http://exp.immunol.ifrec.osaka-u.ac.jp/>