

令和元年5月27日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08847

研究課題名(和文) クロマチン制御因子TRIM28による自己反応性Th17の抑制機構

研究課題名(英文) Regulation of self-reactive T cells by TRIM28

研究代表者

竹馬 俊介(Chikuma, Shunsuke)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：50437208

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚抗原を認識、攻撃するTCRトランスジェニックマウスに、TRIM28欠損マウスを交配し、TRIM28の免疫寛容における役割を調べた。TRIM28欠損T細胞は、皮膚特異的T細胞だけでなく、幅広くT細胞の活性化を抑制すること、これまでにわかっていた、Th17の抑制以外に、制御性制御性T細胞に必須の遺伝子発現を通じ、自己免疫の抑制機構を担うことが示唆された。Th17と制御性制御性T細胞は、ともに似たサイトカイン環境で分化することが知られ、TRIM28がこのバランスを制御して、多くの免疫疾患を抑制していることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Tリンパ球は、生涯にわたって強力に生体を防御する一方で、乾癬、リウマチ性関節炎、全身性エリテマトーデス(SLE)、リウマチ性関節炎、自己免疫性甲状腺炎といった、自己免疫疾患の原因となる。体内には自己反応性T細胞の活性化によって起こるが、なぜこれらが健常個体では抑制されているのか、なぜ活性化して自己免疫疾患を起こすのかは、いまだ明らかになっていない疑問である。当研究では、細胞の遺伝子発現制御に関わる核内分子の欠損マウスが、さまざまな免疫疾患を呈することを出発点とし、TRIM28によって自己免疫疾患が抑制されるメカニズムの一端を明らかにした。将来的な治療法の開発に役立つと思われる。

研究成果の概要(英文)：We previously showed mice deficient for TRIM28 molecule on lymphocytes develop spontaneous autoimmunity. To examine TRIM28 function in autoreactive T cells, we bred TRIM28 KO mice to skin-specific TCR transgenic mice. We found negative regulation of lymphocyte activation by TRIM28 was polyclonal, rather than antigen specific, and involves deregulation of regulatory T cell (Treg) gene expression and function. Since IL-17 producing helper T cell (Th17) and Treg develop in a similar pathway, the data suggested that TRIM28 prevention of autoimmunity is through altering the balance between autoaggressive Th17 vs. protective Tregs.

研究分野：分子生物学、免疫学

キーワード：免疫寛容 自己免疫疾患

1. 研究開始当初の背景

Tリンパ球(T細胞)は、生涯にわたって強力に生体を防御する一方で、乾癬、リウマチ性関節炎、全身性エリテマトーデス(SLE)、リウマチ性関節炎、自己免疫性甲状腺炎といった、自己免疫疾患の原因となる。体内には自己反応性T細胞の活性化によって起こるが、なぜこれらが健康個体では抑制されている(寛容状態にある)のか、なぜ活性化して自己免疫疾患を起こすのかは、いまだ明らかになっていない疑問である。

申請者は、T細胞の活性化や寛容に必須のサイトカインである、IL-2の産生調節因子として、核内因子である TRIM28 分子に注目し、これをT細胞で特異的に欠損したマウス(conditional knockout: CKO)を作成した。CKO マウスはリンパ球の減少を示し、免疫不全であることが予想されたが、一方で多臓器にT細胞浸潤を伴う炎症性病変を起こし、早期に死亡することが明らかになった(Chikuma et al., *Nat. Immunol.* 2012)。CKO マウスに起こる症状は、ヒトのSLEなどと良く似ており、自己反応性のIL-17産生ヘルパーT細胞(Th17)の集積、活性化を伴うことを見出している。TRIM28分子は、もとは核内レセプターの会合分子として見出されたが、抑制性ヒストンコードであるH3K9me3を生成してクロマチン制御による遺伝子発現調節をおこなったり、DNA修復反応を担ったりと、細胞の恒常性維持に必須の役割を果たす。発生学的には、ES細胞の未分化性維持や(Seki et al. PNAS 107, 10926-31, 2010)精子の持続的産生に関わるなど(Weber et al. Development 129, 2329-37, 2002)、幹細胞の機能維持に重要であることが示唆されているが、体細胞、特に免疫系などにおける機能を解析するという試みはこれまでにまれである。

2. 研究の目的

CKO マウスにおいては、肺炎、腎炎、膵炎、唾液腺といった全身の臓器に自己免疫疾患が起こる。しかしながら、これらの症状は加齢にともなって、不特定の組織に緩やかに起こる変化でありTRIM28が発症におけるどの局面を抑制するのか不明である。当研究では、特定の自己抗原に対する自己反応性T細胞の反応をみる遺伝的モデルを使いTRIM28の自己寛容における役割を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

T細胞におけるTRIM28の欠損が自己寛容の破綻を起こすか否かを、自己組織特異的な系を用いて直接的に検証するため、皮膚抗原特異的T細胞レセプタートランスジェニックマウス(H1 Tg マウス; Nishimoto et al. J. Immunol 191, 3065-72, 2013)に、TRIM28 CKO マウスを交配し、このマウスで成立する皮膚抗原に対する免疫寛容が、TRIM28依存性であるかを観察した。また、この系においてT細胞移入モデルを用い、Th17の自己免疫疾患における役割を検討した。

4. 研究成果

(1)TRIM28によるポリクローナルなT細胞抑制

H1 Tg Trim28 CKO を SPF 環境にて6ヶ月程度飼育すると、40%程度のマウスが脾臓やリンパ節の顕著な腫大を起こすことがわかった。リンパ節や脾臓ではT細胞、B細胞、マクロファージの増殖が起こり、典型的なリンパ球増殖症候群を起こすことがわかった。コントロールとして用いた同腹由来H1 Tg Trim28 野生型(WT)では、このような顕著な変化は見られなかった。H1 Tg Trim28 CKO では、H1 Tg が呈するTCR Vb6以外にも、内因性TCRを発現するポリクローナルなT細胞増殖が起こることがわかった。H1 Tg Trim28 CKO では当初、皮膚に対する自己免疫症状が起こることを期待したものの、リンパ球増殖の所見が顕著で、皮膚炎は観察されなかった。

(2) H1 Tg マウスにおける免疫寛容のメカニズム

TRIM28野生型のH1マウスには免疫寛容が維持される。この寛容メカニズムを検討するため、免疫系に影響を及ぼすと考えられる薬剤を数種マウスに投与したところ、cyclophosphamide(CY)を、200mg/kg体重投与した際、免疫寛容状態が解除され、90%のマウスでIL-17産生をとまなう乾癬様皮膚炎が発症することを見出した。CYはリンパ球を一時的に除去する活性の他に、制御性T細胞(Treg)を抑制する活性を持つことで知られる。H1マウスの皮膚反応性T細胞は、Tregの活性によって寛容状態にあることが示唆された。

(3)TRIM28によるTh17抑制メカニズム

TregとTh17はともにTGF β の存在下で分化し、FoxP3を失ったTregがIL-17を産生するなど表現型転化することが知られる。CKO由来T細胞はIn vitroでTh17に分化しにくいことから、TRIM28がTregにおいても重要である可能性を考えた。RAG2ノックアウトマウスにCKO由

来 Treg を移入したところ、分裂不全により早期に消失したこと、マイクロアレイ解析で、CKO 由来 Treg が、Plagl1, Rora, Areg といった機能分子を欠損していたことから、TRIM28 による Treg の維持不全が、相対的に Th17 の分化に有利な環境を作っていることが考えられた。最後に、In vitro によって強く Th17 に分化させた H1T 細胞は、Treg の存在下においても皮膚炎誘導することがわかり、TRIM28 の Treg における機能の重要性が示唆された。

(4)その他

本研究費により、PD-1分子のTregにおける役割Zhang, Chikuma et al. (equal contribution)、TregにおけるNr4a分子の役割(Hibino, Chikuma et al.)、PD-1分子におけるフコシル化の意義 (Okada, Chikuma et al.)などを明らかにし、論文発表した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11件)

Tsuda M, Ogawa S, Ooka M, Kobayashi K, Hirota K, Wakasugi M, Matsunaga T, Sakuma T, Yamamoto T, **Chikuma S**, Sasanuma H, Debatisse M, Doherty AJ, Fuchs RP, Takeda S PDIP38/PolDIP2 controls the DNA damage tolerance pathways by increasing the relative usage of translesion DNA synthesis over template switching. **PLoS One** 14: e0213383, 2019. 査読あり。

Nakatsukasa H, Oda M, Yin J, **Chikuma S**, Ito M, Koga-Iizuka M, Someya K, Kitagawa Y, Ohkura N, Sakaguchi S, Koya I, Sanosaka T, Kohyama J, Tsukada YI, Yamanaka S, Takamura-Enya T, Lu Q, Yoshimura A Loss of TET proteins in regulatory T cells promotes abnormal proliferation, FoxP3 destabilization, and IL-17 expression. **Int Immunol**. [Epub ahead of print], 2019. 査読あり。

Ito M, Komai K, Mise-Omata S, Iizuka-Koga M, Noguchi Y, Kondo T, Sakai R, Matsuo K, Nakayama T, Yoshie, O, Nakatsukasa H, **Chikuma S**, Shichita, T, Yoshimura A Brain regulatory T cells suppress astrogliosis and potentiate neurological recovery. **Nature** 565: 246-250, 2019. 査読あり。

Kanamori M, Nakatsukasa H, Ito M, **Chikuma S**, Yoshimura A Reprogramming of Th1 cells into regulatory T cells through rewiring of the metabolic status. **Int Immunol** 30: 357-373, 2018. 査読あり。

Kondo T, Imura Y, **Chikuma S**, Hibino S, Omata-Mise S, .Ando M, Akanuma, T, Iizuka M, Sakai R, Morita R, Yoshimura A Generation and application of human induced-stem cell memory cells for adoptive immunotherapy. **Cancer Sci** 109: 2130-2149, 2018 査読あり。

Hibino S, **Chikuma S**, Kondo T, Ito M, Nakatsukasa H, Omata-Mise S, Yoshimura A. Inhibition of Nr4a receptors enhances anti-tumor immunity by breaking Treg-mediated immune tolerance. **Cancer Research** Mar 20[Epubahead of print], 2018. 査読あり。

Kasahara H, Kondo T, Nakatsukasa H, **Chikuma S**, Ito M, Amdo M, Kurebayashi Y, Sekiya T, Yamada T, Okamoto S, Yoshimura A. Generation of allo-antigen-specific induced Treg stabilized by vitamine C treatment and its application for acute graft versus host disease model. **Int Immunol** 29: 457-469, 2017. 査読あり。

Okada M, **Chikuma S**, Kondo T, Hibino S, Machiyama H, Yokosuka T, Nakano M, Yoshimura A, Blockage of Core Fucosylation Reduces Cell-Surface Expression of PD-1 and Promotes Anti-tumor Immune Responses of T cells, **Cell Rep.**, 20:1017-1028, 2017. 査読あり。

Kondo T, Morita R, Okuzono Y, Nakatsukasa H, Sekiya T, **Chikuma S**, ShichitaT, Kanamori M, Kubo M, Koka K, Miyazaki T, Kassai Y, Yoshimura A. Notch-mediated conversion of activated T cells into stem cell memory-like T cells for adoptive immunotherapy **Nature Communications**8: 15338, 2017. 査読あり。

Komai K, Shichita T, Ito M, Kanamori M, **Chikuma S**, Yoshimura A Role of scavenger receptors as damage-associated molecular pattern receptors in TLR activation. **Int Immunol**.29: 59-70, 2017. 査読あり。

Zhang B*, Chikuma S*, Hori S, Fagarasan S, Honjo T Non-overlapping roles of PD-1 and FoxP3 in maintaining immune tolerance in a novel autoimmune pancreatitis mouse model. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 113 8490-5, 2016 (*:equal contribution) 査読あり。

〔学会発表〕(計 3件)

竹馬 俊介 「T細胞性免疫の、新しい制御機構」 福山大学グリーンサイエンス講演会 2018、2018年

竹馬 俊介 「クロマチン制御因子 TRIM28 による T細胞免疫の制御」 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター第40回講演会、2017年

竹馬 俊介 「抑制受容体による Tリンパ球の制御」 岐阜大学医学部分子病態学セミナー、2016年

〔図書〕(計 2件)

竹馬 俊介 自己免疫寛容における FoxP3 陽性 Treg と PD-1 医学のあゆみ 特集「制御性 T細胞の現在」 268, 2019.

Chikuma S, CTLA-4, an essential immune-checkpoint for T-cell activation. *Curr Top Microbiol Immunol* 1410: 99-126, 2017.

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：

<http://www.maroon.dti.ne.jp/schikuma/> (慶應義塾大学医学部吉村研ちくまのページ:研究内容、研究成果など)

アウトリーチ活動等：

慶應義塾大学四谷祭(信濃町キャンパス)研究室オープン&教育講演「次のノーベル賞は君だ」
竹馬 俊介、中司 寛子、近藤 泰介 慶應大学医学部、東京 2018年11月3日

6. 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：時藤 夕紀子
ローマ字氏名：Tokifuji, Yukiko
研究協力者氏名：石田 典仁
ローマ字氏名：Ishida, Norihito

研究協力者氏名：大倉 千明
ローマ字氏名：Ohkura, Chiaki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。