

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07164

研究課題名(和文) T細胞における受動的及び能動的DNA脱メチル化機構の解明

研究課題名(英文) Active and passive DNA demethylation in T cells

研究代表者

小野寺 淳 (Onodera, Atsushi)

千葉大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：10586598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：“何がDNAの能動的及び受動的脱メチル化を区別するのか”という学術的な問いを設定して研究に取り組んだ。その結果、免疫系における脱メチル化のプロセスは、1. 主にTETを介した受動的な機構で生じること、2. TDGを介した能動的な機構も寄与は少ないものの確かに働いていること、3. 近接するCpGが調和的に制御されること、を見出した。また、様々な国際共同研究により、DNAメチル化の新規検出方法の応用、最適化にも取り組んだ。これらの研究結果は、将来的にDNAメチル化異常によって生じる炎症性疾患の解明に繋がると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究成果の学術的意義や社会的意義：本研究では、総説等で併記されている、DNAの能動的及び受動的脱メチル化機構の使い分けについて、複数のマウスモデルを用いて検討した。その結果、それら二つが等価ではなく、免疫系の細胞では大部分が後者の受動的な機構に依存していることが明らかとなった。これは基礎生物学上非常に重要な知見である。また、最適化したDNAメチル化の新規検出方法は、今後DNAメチル化異常と炎症性疾患との関連、あるいは腫瘍性疾患の新規診断方法を研究する上で有用なツールとなり、将来的に大きな社会的意義をもたらすと考えている。

研究成果の概要(英文)：DNA demethylation can occur through “passive”, replication-dependent dilution of 5mC and 5hmC as cells divide, which is mediated by TET. A distinct, replication-independent “active” mechanism of DNA demethylation involves excision of 5fC and 5caC by the DNA repair enzyme TDG, followed by base excision repair. In summary, TET enzymes regulate differentiation and DNA demethylation primarily through passive dilution of oxidized mCs in proliferating T-cells. However, active, replication-independent DNA demethylation mediated by TDG does not appear to be essential for immune cell activation or differentiation. We also successfully quantified the occurrence of concordant demethylation within and near enhancer regions in T-cells. Based on the present study, we will further investigate a link between inflammation and impaired DNA methylation and address the therapeutic application and molecular mechanisms that underlie the inflammatory diseases.

研究分野：T細胞を中心とした免疫学とエピジェネティクスおよびその融合分野

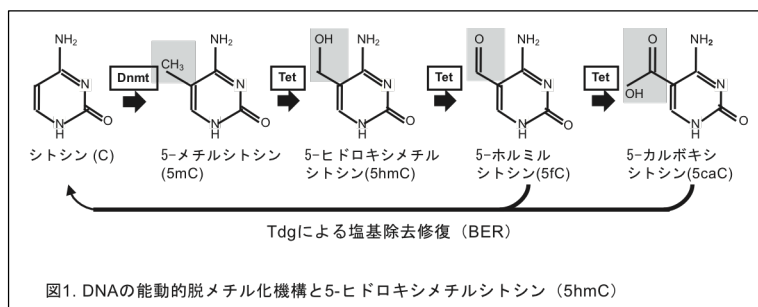
キーワード：免疫記憶 発生・分化 エピジェネティクス アレルギー・ぜんそく 発現制御

1. 研究開始当初の背景

(1) 免疫記憶を司るメモリーT細胞の epigenetic 制御

研究代表者は、免疫記憶機構を epigenetic な観点から捉え、「なぜメモリー (記憶) T細胞はナイーブ (未感作) T細胞に比べて迅速な免疫応答を起こすことができるのか」という疑問を解決すべく研究を行ってきた。特に、ヒストン修飾酵素であるポリコーム群 (PcG) およびトライソックス群 (TrxG) 複合体に着目し、それらによる転写制御機構が免疫記憶成立時の T細胞応答 (主としてサイトカイン産生) に与える影響について研究を進めてきた。Epigenetic は後天的ゲノム修飾とも呼ばれ、ヒストン修飾による転写調節や DNA メチル化による転写抑制が代表例である。研究代表者らはこれまでの研究で、ヘルパーT細胞がナイーブからエフェクターに分化する際に、特定の遺伝子が TrxG によるヒストン修飾 (H3K4me3) を受けること、その修飾がメモリー細胞でも維持され、メモリー細胞の迅速な抗原応答に重要であること、を見出した。しかしながら、この機構で説明できる遺伝子発現変動は一部であり、その他にも重要な分子機構が存在している可能性が高い。そこで今回着目したのが、ヒストン修飾とともに epigenetic な制御機構に重要な役割を果たす、DNA メチル化である。

T細胞における DNA メチル化に関しては、制御性 T細胞 (Treg) の Foxp3 遺伝子座の発現調節に重要であることが報告されている。また、メモリー CD8 T細胞の機能分子をコードする Ifng や Gzmb 遺伝子も DNA メチル化によって制御され、DNA メチル化は T細胞機能を調節する重要な epigenetic 修飾と認識されている。DNA メチル化は遺伝子発現を抑制する機構であるので、T細胞がナイーブからエフェクターに分化する際に、発現上昇する遺伝子群では DNA の脱メチル化が起こることが予想された。さらに、DNA の脱メチル化状態の維持が、メモリー細胞の迅速な応答に重要であることも示唆された。しかしながら、DNA の脱メチル化の詳細な機構に関して、様々な細胞種で様々な説が提唱されており、根本原理は解明されていない。ましてや、免疫系においては、ゲノム全体でどこが、どの分子によって、どのような時間経過で脱メチル化されるかほとんど分かっていないのが現状であった。

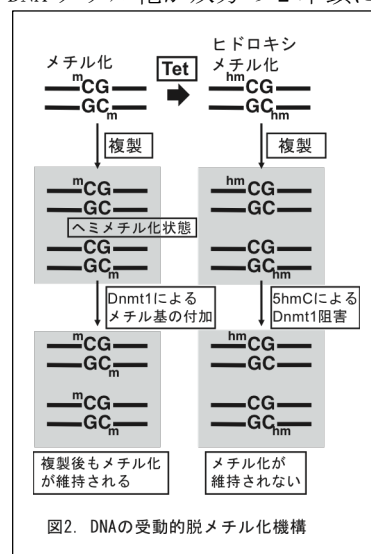


(2) DNA のメチル化、ヒドロキシメチル化、及び脱メチル化

通常の DNA メチル化はシトシン C の 5' 位に見られるため、5mC と表記される。2009 年、このメチル基が酸化されたヒドロキシメチル化 (5hmC) とその修飾酵素 Tet が報告され、脱メチル化の中間体であるという理論が提唱された。また、5hmC 自身の機能として、結合タンパク質のリクルートなどが提唱され、新たな epigenetic 修飾として注目されている。図 1 に示す通り、5mC は 5hmC を経て徐々に酸化され、最終的には塩基除去修復の過程を経て脱メチル化される。これが、「能動的」脱メチル化の機構である。一方、5hmC は DNA 複製を伴う「受動的」脱メチル化機構にも重要であると考えられている (図 2)。DNA 複製の際には、DNA メチル化が双方の 2 本鎖に分配され (ヘミメチル化の状態)、ヘミメチル化は Dnmt1 により認識されてメチル基を付加され、双方の鎖がメチル化された状態に戻る (図 2 左)。5hmC が存在する場合は、Dnmt1 によるメチル基の付加が阻害されるため、DNA が複製される度にメチル化が希釈されて起こる受動的 DNA 脱メチル化の経過をとる (図 2 右)。この二つの脱メチル化機構の使い分けに関しては、未知な部分が多く、「何が DNA の能動的及び受動的脱メチル化を区別するのか」を本研究の学術的な「問い」として設定し、解明を目標にして研究を進めた。これは基礎生物学上、非常に重要かつ本質的な問いである。

(3) DNA のメチル化とヒストン修飾との関連

先述した、ヒストン修飾 (H3K4me3) 酵素群である TrxG (具体的には Cxxc1, MLL1, MLL2) と、DNA メチル化に関連する一連の酵素群 (具体的には Dnmt1, Tet1, Tet3) には、CXXC と呼ばれる共通のドメイン構造が見られる (図 3 および引用文献 1)。ヒト白血病では、TET1 と MLL 遺伝子が融合する例が報告されており、ヒストン修飾と DNA メチル化の関連性が示唆されて

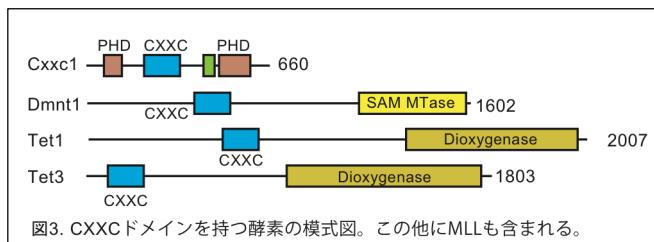


いる。本研究では、DNAの脱メチル化機構を調べることを主目的としたが、研究代表者がこれまで継続してきたヒストン修飾との関連性を調べるため、Cxxc1に着目した研究にも取り組んだ。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、DNA脱メチル化の機構の解明である。このような基礎生物学上の研究は、ES細胞等シンプルな実験系を用いるのが常套手段である。今回敢えてT細胞を用いたことには、大きく二つの理由があった。一つは、T細胞は抗原刺激で細胞分裂を起こし、その過程をCFSE等のトレース試薬を用いて容易に観察することができる点である。もう一つは、この研究で得られた知見を、最終的には先述の通り、メモリーT細胞の迅速応答機構の解明へ応用することを目指すからである。

研究代表者は、免疫系という高次機能に興味を持ちながら、同時に普遍的原理を追求する志向も強い。本研究は、基礎生物学上の疑問点に迫る上で免疫系を用いるメリットがあった。このように免疫系という複雑な系から、より基礎的な分子機構の解明を目指す研究は他の研究者が用いる手法と異なっており、研究代表者の独自性と創造性が発揮できるテーマである。また、基礎研究の知見の疾患治療等への応用を考える際に非常に迅速に進められることが期待され、新たな産業創生の可能性も秘めている。さらに、本研究の学術的独自性として、非常に難易度が高い5hmCの解析に取り組むことを記載していた。研究代表者は、La Jolla Institute for Immunology (LJI)と千葉大学国際粘膜免疫アレルギー治療学 San Diego 研究センターを中心とした国際研究ネットワークを構築し、この難度の高い解析方法を習得し研究を遂行した。



## 3. 研究の方法

### (1) 本研究に用いたマウス実験モデル

#### ① CD4 T細胞

本研究では、ナイーブ CD4 T細胞がThサブセットに分化する際に、遺伝子発現上昇に伴ってDNAの脱メチル化が誘導される領域に着目した。具体的には、Th2細胞のIL4遺伝子座と、iTreg細胞のFoxp3遺伝子座である。これらは細胞分裂、つまりDNA複製に伴って増殖、分化するモデル系である。

#### ② 骨髄由来のマクロファージ (BMDM)

単球がマクロファージに分化する際は細胞分裂を伴うが、分化したマクロファージがLPS刺激を受ける際は細胞分裂が停止した状態で、遺伝子発現およびepigenetic変化が起こることが知られている。本研究では、骨髄由来のマクロファージ (BMDM) のLPS刺激前後を比較することで、DNA複製に依存しない脱メチル化機構について検討を行った。

### (2) DNAのヒドロキシメチル化及びメチル化のゲノムワイドなレベルでの解析

#### ① CMS-IPによる5hmCのゲノムワイド解析

5hmC自身を検出するのは非常に難しく、5hmCをbisulfite (BS)処理することで生じるCMS (シトシン5-メチルサルファイト)を検出する方法が確立されている。本研究では、ナイーブT細胞がTCR刺激を受けて活性化し、Th2細胞およびiTreg細胞へ分化していく時系列に従って、5hmCのパターンがゲノムワイドにどのように変化していくかを調べた。なぜならば、5hmCの集積はDNA脱メチル化の最初のステップであり、これを検出することでDNAの脱メチル化の起こる領域を予測できるからである。また、BMDMのLPS刺激後の時系列に沿ったCMS-IPのデータも取得した。

#### ② BS-seq, bACE-seq, PB-seq

上記①で5hmCの集積が見られる領域をピックアップし、PCR法とBS-seq, bACE-seq, PB-seqなどを組み合わせることにより一塩基レベルでメチル化DNAを検出した。通常のBS処理で、メチル化のないC(シトシン)はT(チミン)へと変換されるため、5mC/5hmCと区別することができる。しかし、5mCと5hmCを区別することはできないため、この区別にはsubtraction-freeで5hmCを検出できるbACE-seq (APOBEC酵素を利用)を用いた。また、5fC/5caCを検出にはpyridine-borane (PB)-seqを用いた。これらを組み合わせることで、ナイーブT細胞がTCR刺激を受けた際に生じる、C、5mC、5hmCのパターン変化を調べてプロファイルを作成した。BMDMでも同様のことを行った。bACE-seq (引用文献2)とPB-seq (引用文献3)は本研究開始後に発表された手法で、当初の計画書には記載されていなかったが、国際共同研究者の協力もあり有効に活用することができた。

### (3) DNAの受動的及び能動的脱メチル化に関わる分子の機能解析 (本研究に用いた遺伝子欠損マウス)

図1-2で示すように、Tdg, Dnmt1, Tetは脱メチル化に関わる重要な分子である。これらの遺伝子を欠損するマウスを使った解析で、TCR刺激により受動的脱メチル化が起こる領域及び能動的脱メチル化が起こる領域を明らかにし、両者の分類を試みた。具体的に用いた遺伝子欠損マウス

スは以下である。基本的にはERT2-Cre のシステムを使って、タモキシフェンの腹腔内投与により遺伝子を欠損させる手法 (conditional KO) を用いた。

① Tdg 遺伝子欠損 (KO) マウスの解析

図 1 に示すように、Tdg は 5fC 及び 5caC を塩基除去修復によって C に戻す能動的脱メチル化を担う分子である。従って、この遺伝子欠損の影響を調べれば、DNA 能動的脱メチル化が起こる領域を抽出できる。具体的な実験として、野生型 (WT) と Tdg KO からナイーブ CD4 T 細胞を分離して、TCR 刺激によって誘導される DNA 脱メチルの違いを BS-seq、PB-seq にて解析した。また同様のマウスを用いて、Th サブセットへの分化、サイトカイン産生、転写因子の発現を、FACS や qPCR、RNA-seq にて解析した。また BMDM についても同様の実験を行った。

② Dnmt1 遺伝子欠損 (KO) マウスの解析

図 2 に示すように、Dnmt1 はヘミメチル化 DNA を認識してメチル基を付加し、DNA 複製後の新生鎖におけるメチル化維持に重要な分子である。この遺伝子を欠損した場合は、DNA 複製即ち細胞分裂に伴う DNA メチル化維持に何らかの影響を与えられ、受動的脱メチル化を強制的に誘導する実験系となる。具体的には①と同様に、DNA のメチル化状態、Th サブセットへの分化、サイトカイン産生、転写因子の発現などを、WT と Dnmt1 KO の細胞間で比較した。

③ Tet1/2/3 の三遺伝子欠損 (TKO) マウスの解析

Tet 分子ファミリーは、Tet1-3 の三種類が報告されている。Tet1 の発現は ES 細胞で高く、T 細胞や BMDM で発現が見られるのは Tet2/3 である。本研究では、Tet の機能を完全に消失させる目的で、Tet1/2/3 の三遺伝子欠損 (TKO) マウスを用いた。Tet が触媒する 5mC から 5hmC への変換は、受動的、能動的メチル化いずれの脱メチル化の最初のステップであり、DNA 脱メチル化全体に影響を与えることが予測された。しかし、Tet に依存しない脱メチル化機構も報告されており、TKO マウスを用いた実験により、Tet のゲノムワイドな脱メチル化への寄与度を知ることができる。実験内容としては①②と同様に、DNA のメチル化状態、Th サブセットへの分化、サイトカイン産生、転写因子の発現などを、WT と TKO の細胞間で比較した。また BMDM についても同様の実験を行った。

(4) 上記の (3) で明らかとなった受動的及び能動的脱メチル化を誘導する転写因子を同定

(3) で記述した通り、Tet は受動的及び能動的脱メチル化に共通した制御因子である。従って Tet をリクルートする因子を明らかにすれば、受動的及び能動的脱メチル化を誘導する分子機構を知ることができる。CMS-IP によるゲノムワイド解析により、5hmC の集積つまり Tet の集積が分かることを足掛かりにして、候補因子を探索した。また候補因子の検証のため、sgRNA のライブラリを用いた。具体的には以下の手順で研究を進めた。

① スクリーニング

CMS-IP のピーク領域を抽出し、HOMER で motif 解析を行った。これにより、脱メチル化に関わる転写因子やクロマチン結合因子の認識配列が予測でき、候補因子の絞り込みを行った。

② スクリーニングから抽出された因子の機能解析

① で抽出された候補因子をノックダウンするために sgRNA を設計し、レトロウイルスにて遺伝子導入後、脱メチル化に与える影響を BS-seq で解析した。

4. 研究成果

(1) IL4 遺伝子座の脱メチル化は、Tet 依存的、Tdg 非依存的に起こる

ナイーブ CD4 T 細胞では、IL4 遺伝子は高度にメチル化されている。Th2 細胞へと分化を誘導すると、IL4 の高発現と共にその遺伝子座での脱メチル化が観察される。我々が Tdg 欠損マウスと Tet 欠損マウスを用いて行った実験の結果、IL4 遺伝子座の脱メチル化は基本的に、Tet 依存的、Tdg 非依存的に起こることが分かった (図 4)。興味深いことに、HSII の 3' 領域は例外的に Tet 非依存的であることが分かった。また、pyridine-borane (PB) を用いることで、Tdg 欠損が 5fC/5caC の集積をもたらすことを見出した。Tdg 欠損による 5fC/5caC の集積は、ビオチン修飾を利用したプルダウン法でも確認された。さらに、Gata3 に対する sgRNA を導入したところ、IL4 遺伝子の脱メチル化が阻害されることも分かった。免疫沈降の実験では、Gata3 と Tet の相互作用は確認できなかったが、Gata3 が Tet を何らかの形でリクルートすることが示唆される結果となった。iTerg 細胞での Foxp3 の発現に関しては、TET 欠損で低下、Dnmt1 欠損で上昇が見られたが、Tdg 欠損では変化は見られなかった。以上から導き出された結論は以下である：T 細胞で

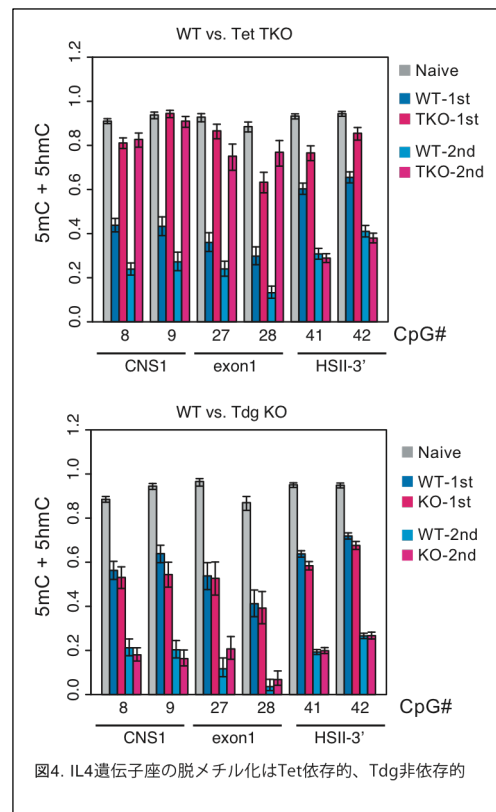


図4. IL4遺伝子座の脱メチル化はTet依存的、Tdg非依存的

見られる DNA の脱メチル化のほとんどは、Tet に依存した受動的な機構で起こる。一方で、Tdg 依存的な能動的脱メチル化機構も確かに働いているが、その寄与は小さい。

## (2) IL4 遺伝子では調和的脱メチル化が観察される

DNA 脱メチル化に関する新たな分子機構の解析として取り組んだのが、隣り合う CpG メチル化同士が互いに影響し合うかどうかの解析 (concordance 解析) である。我々は Odds Ratio を計算することで、concordance 解析を定量的に行う手法を考案し、CpG 間の距離が近い程 Odds Ratio が大きくなることを見出した。また、Odds Ratio の matrix として可視化すると、小さなブロック (TAD; topologically associating domain のようにも見える) が形成されることも分かった (図 5)。これに関しては、今まで取得したデータを、新たな自作プログラムで別角度から解析中である。さらに機械学習を用いて、脱メチル化の順序を予測するシミュレーションにも取り組んでおり、今後のより詳細な条件を検討していく予定である。

## (3) LPS 刺激を受けたマクロファージ (増殖しない細胞の例) での DNA 脱メチル化機構

CMS-IP で LPS 刺激に伴う 5hmC の集積を調べたところ、約 1000 個の de novo ピークが見つかった。このうち約 40% は、LPS 刺激により活性化する enhancer 領域と重複していた。我々はその中の latent enhancer (引用文献 4) に着目し、BS-seq、bACE-seq、PB-seq で詳しく解析した。その結果、LPS 刺激で脱メチル化は誘導されないが、ヒドロキシメチル化は誘導されることが分かった。つまり DNA 複製非依存的な脱メチル化は観察されなかった。Tdg 欠損では T 細胞と同様に 5fC/5caC の集積が見られたが、遺伝子発現に特に大きな影響は見られなかった。一方、Tet 欠損は遺伝子欠損に大きく影響することが分かった。中でも炎症性サイトカインの高産生は非常に特徴的であった (図 6)。Tet 欠損がなぜ炎症性サイトカイン高産生を誘発するのか詳しいメカニズムは依然不明のままであるが、今後詳細な研究を進めていく予定である。

## (4) Tdg 欠損の造血系に対する影響

Tdg 遺伝子の conditional 欠損マウスを用いて実験を行った。タモキシフェンを投与後、毎月採血して末梢血中の Gr-1+CD11b+ の顆粒球、TCRb+ の T 細胞、B220+ の B 細胞の割合をモニタリングしたところ、初期には顆粒球数の軽度な低下が見られたが、6 ヶ月後にはほぼ回復した。12 ヶ月経過後も全例生存していたことから、Tdg 欠損は Tet の欠損で見られる AML のような骨髄増殖性疾患を誘発せず、造血系には大きな影響がないことが示唆された。また、CD4-Cre を用いた Tdg の conditional 欠損マウスの胸腺を調べたところ、CD4、CD8 のパターンに特に異常は見られなかった。

## (5) Cxxc1

Klf2 遺伝子座では、ナイーブ CD4 T 細胞で 5hmC の集積が見られるが、Th2 細胞に分化するとこの 5hmC の集積が消失することが分かった。RNA-seq のデータでは、Klf2 遺伝子発現は初期の TCR 刺激で低下し、その後 Th2 分化が進むにつれて回復が見られた。Cxxc1 欠損細胞では、この回復が起こらず、IL4、IL5、IL13 などのサイトカインの高産生が見られた。このサイトカイン高産生の表現系は、Tet を欠損した BMDM でも見られたものであり、CXXC ドメインを持つ因子の欠損で共通するものとして興味深い。今後詳細な研究を進めていく予定である。

### <引用文献>

1. Liu et al., Structural Basis for the Recognition of Non-methylated DNA by the CXXC Domain, J Mol Biol., 2019.
2. Caldwell et al., Functionally distinct roles for TET-oxidized 5-methylcytosine bases in somatic reprogramming to pluripotency, Molecular Cell, 2021.
3. Liu et al., Subtraction-free and bisulfite-free specific sequencing of 5-methylcytosine and its oxidized derivatives at base resolution, Nat Commun., 2021.
4. Ostuni et al., Latent enhancers activated by stimulation in differentiated cells, Cell, 2013.

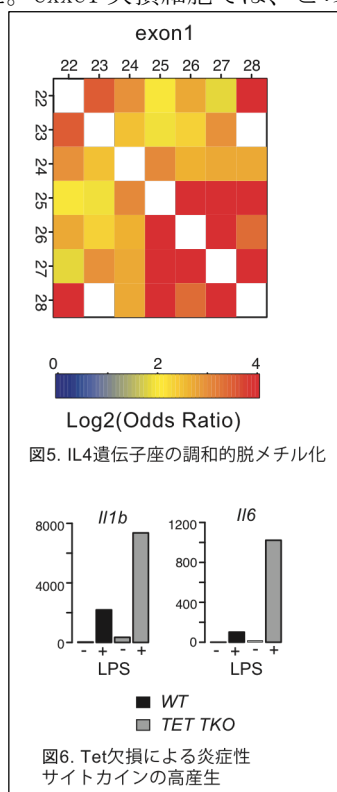


図5. IL4遺伝子座の調和的脱メチル化

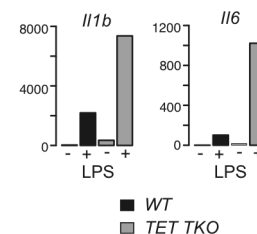


図6. Tet欠損による炎症性サイトカインの高産生

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 8件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Atsushi Onodera, Edahi Gonzalez-Avalos, Chan-Wang Lio, Romain Olivier Georges, Alfonso Bellacosa, Toshinori Nakayama, Anjana Rao	4. 巻 -
2. 論文標題 Roles of TET and TDG in DNA demethylation in proliferating and non-proliferating immune cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Kiuchi M, Onodera A, Kokubo K, Ichikawa T, Morimoto Y, Kawakami E, Takayama N, Eto K, Koseki H, Hirahara K, Nakayama T	4. 巻 218
2. 論文標題 The Cxxc1 subunit of the Trithorax complex directs epigenetic licensing of CD4+ T cell differentiation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1084/jem.20201690	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki AS, Yagi R, Kimura MY, Iwamura C, Shinoda K, Onodera A, Hirahara K, Tumes D, Koyama-Nasu R, Iismaa SE, Graham RM, Motohashi S, Nakayama T	4. 巻 11
2. 論文標題 Essential Role for CD30-Transglutaminase 2 Axis in Memory Th1 and Th17 Cell Generation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2020.01536	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Tumes D, Hirahara K, Papadopoulos M, Shinoda K, Onodera A, Kumagai J, Yip KH, Pant H, Kokubo K, Masahiro K, Aoki A, Obata-Ninomiya K, Yokoyoda K, Endo Y, Kimura MY, Nakayama T	4. 巻 144
2. 論文標題 Ezh2 controls development of natural killer T cells, which cause spontaneous asthma-like pathology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 549 ~ 560.e10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaci.2019.02.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Seo H, Chen J, Gonzalez-Avalos E, Samaniego-Castruita D, Das A, Wang YH, Lopez-Moyado IF, Georges RO, Zhang W, Onodera A, Wu CJ, Lu LF, Hogan PG, Bhandoola A, Rao A.	4. 巻 116
2. 論文標題 TOX and TOX2 transcription factors cooperate with NR4A transcription factors to impose CD8+ T cell exhaustion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 12410 ~ 12415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1905675116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ichikawa T*, Hirahara K*, Kokubo K*, Kiuchi M, Aoki A, Morimoto Y, Kumagai J, Onodera A, Mato N, Tumes D, Goto Y, Hagiwara K, Inagaki Y, Sparwasser T, Tobe K, Nakayama T	4. 巻 20
2. 論文標題 CD103hi Treg cells constrain lung fibrosis induced by CD103lo tissue-resident pathogenic CD4 T cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 1469 ~ 1480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-019-0494-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 小久保幸太、小野寺淳、中山俊憲	4. 巻 72(2)
2. 論文標題 エフェクター、メモリーTh2細胞の誘導と維持のエピジェネティクス	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床免疫 / アレルギー科	6. 最初と最後の頁 117 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tumes D, Hirahara K, Papadopoulos M, Shinoda K, Onodera A, Kumagai J, Yip KH, Pant H, Kokubo K, Masahiro K, Aoki A, Obata-Ninomiya K, Tokoyoda K, Endo Y, Kimura MY, Nakayama T	4. 巻 S0091-6749(19)
2. 論文標題 Ezh2 controls development of natural killer T cells that cause spontaneous asthma-like pathology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 30340-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.02.024.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Onodera A, Kokubo K, Nakayama T	4. 巻 9
2. 論文標題 Epigenetic and Transcriptional Regulation in the Induction, Maintenance, Heterogeneity, and Recall-Response of Effector and Memory Th2 Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 2929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2018.02929.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka K, Kanesaka Y, Takami M, Suzuki A, Hosokawa H, Onodera A, Kamata T, Nagato K, Nakayama T, Yoshino I, Motohashi S	4. 巻 506(1)
2. 論文標題 Role of leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase in $\alpha$ -galactosylceramide-pulsed dendritic cell therapy for non-small cell lung cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 27-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.10.048.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto T, Endo Y, Onodera A, Hirahara K, Asou KH, Nakajima T, Kanno T, Ouchi Y, Uematsu S, Nishimasu H, Nureki O, Tumes D, Shimojo N, Nakayama T	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 DUSP10 constrains innate IL-33-mediated cytokine production in ST2hi memory-type pathogenic Th2 cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 4231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-06468-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Obata-Ninomiya K, Ishiwata K, Nakano H, Endo Y, Ichikawa T, Onodera A, Hirahara K, Okamoto Y, Kanuka H, Nakayama T	4. 巻 115(42)
2. 論文標題 CXCR6+ST2+ memory T helper 2 cells induced the expression of major basic protein in eosinophils to reduce the fecundity of helminth	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PNAS	6. 最初と最後の頁 E9849-E9858
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1714731115.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 Morimoto Y, Hirahara K, Kiuchi M, Wada T, Ichikawa T, Kanno T, Okano M, Kokubo K, Onodera A, Sakurai D, Okamoto Y, Nakayama T	4. 巻 49(1)
2. 論文標題 Amphiregulin-Producing Pathogenic Memory T Helper 2 Cells Instruct Eosinophils to Secrete Osteopontin and Facilitate Airway Fibrosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Immunity	6. 最初と最後の頁 134-150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.immuni.2018.04.023.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Endo Y, Onodera A, Obata-Ninomiya K, Koyama-Nasu R, Asou KH, Ito T, Yamamoto T, Kanno T, Nakajima T, Ishiwata K, Kanuka H, Tumes D, Nakayama T	4. 巻 1(2)
2. 論文標題 ACC1 determines memory potential of individual CD4+ T cells by regulating de novo fatty acid biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Metabolism	6. 最初と最後の頁 261-275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42255-018-0025-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 平原潔、小野寺淳、飯沼智久、間藤尚子
2. 発表標題 アレルギー炎症に伴う線維化に対する新規治療法開発
3. 学会等名 難治性疾患実用化研究事業 免疫アレルギー疾患実用化研究事業 2019年度合同成果報告会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 小野寺淳、中山俊憲(第9章担当)、笹月健彦/吉開泰信(監訳)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 910
3. 書名 免疫生物学原書第9版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

千葉大学大学院医学研究院免疫発生学  
[https://www.m.chiba-u.ac.jp/class/meneki/latest\\_research/index.html](https://www.m.chiba-u.ac.jp/class/meneki/latest_research/index.html)  
千葉大学大学院医学研究院免疫発生学  
<https://www.m.chiba-u.ac.jp/class/meneki/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	La Jolla Institute for Immunology	University of California, San Diego	University of Pennsylvania	他3機関
英国	Oxford University	Cambridge University		
オーストラリア	University of Queensland			