

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H04025

研究課題名（和文）制御性T細胞による免疫制御機構の解明

研究課題名（英文）Mechanisms of regulatory T cell-mediated immune regulation

研究代表者

堀 昌平（Hori, Shohei）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・教授

研究者番号：50392113

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究で我々は、制御性T細胞（Treg）が固有のエピゲノムを獲得するメカニズムとTregのエフェクター分化メカニズムの解明に取り組んだ。前者の問いに関しては、T細胞受容体（TCR）-mTORC1シグナルとTETファミリータンパク質が重要であること、CD4 T細胞が胸腺から末梢にかけて分化・成熟する過程でFoxp3を発現してTreg固有のエピゲノムを獲得するポテンシャルを失ってゆくことを見いだした。後者の問いに関しては、転写因子Foxp3とBATFが協調的にTCRシグナル依存的なTregのエフェクター分化プログラムを制御することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られたTreg固有のエピゲノム形成機構に関する知見は、様々な免疫疾患の治療に用いることのできる機能的に安定なTregを人為的に誘導する方法を開発するうえで基盤となるものである。また、Foxp3とBATFの相互作用を介したTCR依存的なTregのエフェクター分化制御機構の発見は、Treg機能を抗原特異的に操作することを可能にし、疾患の特異的治療に道を拓くと期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we elucidated the mechanisms of how regulatory T (Treg) cells acquire their characteristic epigenome and how their effector differentiation is controlled. As for the former question, our results suggested an important role for the T cell receptor (TCR)-mTORC1 signaling and the TET-family proteins. In addition, we also found that the potential of CD4 T cells to acquire Foxp3 expression and the characteristic epigenome of Treg cells decline as they undergo differentiation and maturation from the thymus to the periphery. As for the latter question, we found that the transcription factors Foxp3 and BATF cooperate to regulate the TCR-dependent effector differentiation program of Treg cells.

研究分野：免疫学

キーワード：制御性T細胞 自己免疫疾患 免疫寛容 遺伝子発現制御 エピゲノム 転写因子

1. 研究開始当初の背景

免疫系が「自己」・「非自己」を識別し「自己」に対する免疫寛容を確立して維持するメカニズムを解明することは免疫学における最も本質的な課題の一つであり、またその破綻が関係する様々な疾患(自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー、がん、感染症など)を克服するためにも重要である。免疫応答を抑制する機能に特化した制御性 T 細胞 (regulatory T cells; Treg) は「自己」に対する免疫寛容の獲得・維持に必須の役割を担っており、Treg による免疫制御システムの異常・変調が様々な疾患の発症と病態に深く関与している。我々は、ヒト自己免疫疾患 IPEX 症候群の原因遺伝子として同定された転写因子 *Foxp3* が Treg の選択的分子マーカーであり分化と機能を司る“マスター転写因子”として機能することを報告し、免疫制御における Treg の中心的な役割を明らかにした。

近年、Treg は炎症や組織環境の変化といった細胞外環境からの様々な擾乱に対して、Treg としての機能を安定に維持する“安定性”を示しつつ、遺伝子発現を可塑的に変化させて時々刻々変化する炎症環境や組織環境に適応し、置かれた環境に応じて適切に機能する能力(“適応性”)を持つことが明らかにされてきた。そして Treg の安定性あるいは適応性の破綻が自己免疫疾患の発症に直結することが示唆されている。従って、Treg による免疫制御メカニズムを理解し、Treg を人為的に操作して様々な疾患を治療するためには、Treg の安定性と適応性を保証するメカニズムを解明することが本質的かつ喫緊の課題である。

我々はこれまでに、Treg の安定性と適応性を保証するメカニズムの解明に取り組んできた。安定性に関しては、Treg は *Foxp3* 発現を記憶して不可逆的に運命決定を受けた安定な細胞系列であり、*Foxp3* 発現の記憶はエピジェネティックな遺伝子発現制御メカニズム、特に *Foxp3* 遺伝子の Treg-specific demethylation region (TSDR) と呼ばれるエンハンサー領域の DNA 脱メチル化により保証されていることを明らかにした (Miyao, *Immunity*, 2012; Hori, *Immunol Rev*, 2014)。適応性に関しては、IPEX 患者で同定された *Foxp3* 変異を導入したマウスモデルの作製・解析を通して、Treg の適応性を特異的に障害することで自己免疫疾患を惹起する *Foxp3* A384T 変異を同定した。すなわち、*Foxp3* A384T 変異は、Treg が活性化・増殖し、実際に機能を発現するエフェクター型 Treg (effector Treg; eTreg) に分化して皮膚や肺などの特定の組織環境に集積する過程を障害し、これらの組織に炎症を惹起すること、転写因子 BATF の発現抑制が *Foxp3* A384T 変異体による Treg の適応性障害の一因であることを報告した (Hayatsu, *Immunity*, 2017)。

2. 研究の目的

これらの研究から新たに生まれた重要な研究課題は、(1) Treg 固有のエピゲノムはどのようなメカニズムにより形成されるのかという問いであり、(2) Treg の適応性はどのような遺伝子発現制御メカニズムにより制御されているのかという問いである。本研究では、これらの問いに答えることを目的とした。具体的には、安定性に関しては、Treg 固有のエピゲノム形成において、① T 細胞受容体 (T cell receptor; TCR) シグナル、② CD4⁺ T 細胞の分化・成熟段階、③ *Foxp3* が担う役割を解析することで、(1)の問いに答えることを目指した。適応性に関しては、④ *Foxp3* A384T 変異による Treg 適応性障害機構、⑤ *Foxp3* と BATF による Treg 適応性制御機構を明らかにすることで、(2)の問いに答えることを目指した。

3. 研究の方法

(1) Treg 安定性のメカニズム

① *Foxp3* TSDR 脱メチル化における TCR シグナルの役割: *Foxp3*^{hCD2} レポーターマウスから単離したナイーブ *Foxp3*⁺CD4⁺ T 細胞を、IL-2 と TGF-β 存在下で、様々な濃度で固相化した anti-CD3 抗体と anti-CD28 抗体で刺激した。誘導された *Foxp3*⁺CD4⁺ T 細胞をソートし、バイサルファイトシーケンス法により TSDR のメチル化状態を解析した。また、*Foxp3*^{hCD2} x *ROSA26*^{CreERT2} x *Tet2*^{fllox} x *Tet3*^{fllox} マウスから単離したナイーブ *Foxp3*⁺CD4⁺ T 細胞を IL-7 および 4-OHT 存在下で 2 日間培養して TET2 と TET3 を欠損させた細胞を使って同様の実験を行った。mTORC1 の活性化はリン酸化 S6 をフローサイトメトリーにより解析した。Raptor への変異導入は、*Foxp3*^{hCD2} x *ROSA26*^{Cas9} マウスから単離したナイーブ *Foxp3*⁺CD4⁺ T 細胞を IL-2 存在下で anti-CD3/CD28 抗体により活性化させ、レトロウイルスを用いて Raptor に対する single guide RNA または対照 single guide RNA を発現させた。感染細胞を iTreg に分化させ、TSDR のメチル化状態を解析した。

② *Foxp3* TSDR 脱メチル化における CD4⁺ T 細胞の分化・成熟段階の役割: *Foxp3*^{hCD2} レポーターマウスから未成熟 *Foxp3*⁺CD25⁺CD4⁺CD8⁻胸腺細胞、成熟 *Foxp3*⁺CD25⁺CD4⁺CD8⁻胸腺細胞、末梢ナイーブ *Foxp3*⁺CD4⁺ T 細胞を単離し、IL-2 存在下で固相化 anti-CD3 抗体と anti-CD28 抗体で刺激した。誘導された *Foxp3*⁺CD4⁺ T 細胞をソートし、バイサルファイトシーケンス法により TSDR のメチル化状態を解析した。

③ *Foxp3* 依存的な内在性 *Foxp3* 発現と TSDR 脱メチル化誘導: *Foxp3*^{hCD2} レポーターマウスから単離したナイーブ *Foxp3*⁺CD4⁺ T 細胞を活性化し、レトロウイルスベクターを用いて *Foxp3* を導

入した。対照として空ベクターを導入した細胞を用いた。Foxp3 導入 T 細胞を RAG1 欠損マウスに移入し、3.5 週間後にドナー T 細胞における Treg signatures の発現をフローサイトメトリーにより解析した。また、ドナー T 細胞サブセットをソーティングし、試験管内において T 細胞増殖を抑制する活性を調べた。内在性 Foxp3 発現誘導における IL-2/STAT5 経路の役割を明らかにするために、STAT5a/b に共通した配列に特異的な miRNA を Foxp3 とともにレトロウイルスベクターを用いて活性化したナイーブ Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞に導入した。そして、細胞を X 線照射した Ly5.1 コンジェニックマウスに移入し、1 週間後に内在性 Foxp3 発現を調べた。

(2) Treg 適応性のメカニズム

④ Foxp3 A384T 変異体による Treg 適応性障害メカニズム：Batf プロモーター変異マウスは CRISPR/Cas9 法により作製した。Foxp3^{A384T} マウスと交配させ、表現型をフローサイトメトリーにより解析した。Foxp3^{WT}、Foxp3^{A384T}、Batf^{-/-} マウスから単離した Treg について RNA-seq 解析を行った。また、これらの Treg を cell proliferation dye eFluor 450 で染色し、抗原提示細胞と IL-2 存在下で anti-CD3 により活性化して細胞分裂と c-Myc の発現をフローサイトメトリーで評価した。また、同様に活性化した Foxp3 A384T Treg にレトロウイルスベクターを用いて c-Myc を強制発現させ、その細胞分裂と c-Myc 発現をフローサイトメトリーにより評価した。

⑤ Foxp3 と BATF による Treg 適応性制御機構：BATF 欠損マウスおよび野生型マウスから Treg を単離し、RNA-seq 解析、ATAC-seq 解析を行った。また、Foxp3^{R397W} マウスおよび野生型マウスから単離した Treg についても RNA-seq 解析を行った。野生型マウスの Treg について BATF と Foxp3 の ChIP-seq 解析を行った。Foxp3^{R397W} x Batf^{-/-} マウスを作製し、単離した Treg にレトロウイルスベクターを用いて Foxp3 単独、BATF 単独、Foxp3 と BATF 両者を導入した。空ベクターに感染させた細胞を対照とした。導入した Treg 細胞を X 線照射した Ly5.1 コンジェニックマウスに移入し、細胞分裂と表現型をフローサイトメトリーにより解析した。また、Foxp3^{WT} x Batf^{-/-} x Rag1^{-/-} x OTII TCR トランスジェニックマウスを作製し、単離したナイーブ Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞に対して同様の強制発現を行い、Ly5.1 コンジェニックマウスに移入した。ホストマウスに抗原 (OVA) を経鼻投与した群と投与しない群を設け、ドナー T 細胞の細胞分裂と表現型をフローサイトメトリーにより解析した。また、試験管内で IL-2 存在下で活性化した Treg から核抽出液を調製し、抗 BATF 抗体を用いて免疫沈降を行った後、抗 Foxp3 抗体を用いて Western blot 解析を行った。

4. 研究成果

(1) Treg 安定性のメカニズム

① Foxp3 TSDR 脱メチル化における TCR シグナルの役割

我々はこれまでに、*in vitro*-induced Treg (iTreg) 分化系を用いて Foxp3 TSDR 脱メチル化制御機構を研究してきた。試験管内で末梢ナイーブ Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞を TGF-β と IL-2 存在下で TCR 刺激を加えることにより Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞 (iTreg) が誘導されるが、従来 iTreg では TSDR はほとんど脱メチル化を受けないと報告されてきた。一方、我々は iTreg における脱メチル化の程度は TCR 刺激の強さと持続時間により左右されることを見いだした：弱いまたは短い TCR 刺激では TSDR は確かに脱メチル化を受けないものの、強く持続的な TCR 刺激により脱メチル化が進むことを明らかにした。

本研究では、どのようなシグナル伝達経路の活性化が強く持続的な TCR 刺激による TSDR 脱メチル化に必要であるかを検討するために、様々な阻害剤が TSDR 脱メチル化に与える影響を検討した。その結果、mTORC1 選択的阻害剤であるラパマイシンが Foxp3 発現誘導には影響を与えず TSDR 脱メチル化を阻害すること、TCR 刺激の強さと持続時間に応じて mTORC1 が活性化することを見いだした。そして、CRISPR/Cas9 により CD4⁺ T 細胞において mTORC1 複合体の主要なサブユニットである Raptor に変異を導入すると、TSDR 脱メチル化が阻害されることを見いだし、TCR-mTORC1 経路が iTreg における TSDR 脱メチル化に必須であることを明らかにした。

次に、強く持続的な TCR 刺激による TSDR 脱メチル化が DNA 脱メチル化酵素 TET に依存するか検討した。その結果、ナイーブ CD4⁺ T 細胞において TET2/3 を欠損させた上で強く持続的な TCR 刺激を加えて iTreg を分化させたところ、TSDR 脱メチル化が著しく阻害されることを見いだし、iTreg における TSDR 脱メチル化が TET2/3 に依存することを明らかにした。

② Foxp3 TSDR 脱メチル化における CD4⁺ T 細胞の分化・成熟段階の役割

Treg の多くは胸腺において TCR を介して自己抗原を認識することで分化する。胸腺における Foxp3 発現誘導は TGF-β 非依存的とされ、実際、試験管内で Foxp3⁺CD4⁺CD8⁻ single-positive (SP) 胸腺細胞に IL-2 存在下、TGF-β 非存在下で TCR 刺激を加えることで Foxp3 発現が誘導される。本研究では、この TGF-β 非依存的な Foxp3 発現誘導系を用いて、未成熟 Foxp3⁺CD25⁻CD4SP 胸腺細胞、成熟 Foxp3⁺CD25⁺CD4SP 胸腺細胞、末梢ナイーブ Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞における Foxp3 発現誘導と TSDR 脱メチル化を比較解析した。その結果、CD4⁺ T 細胞が分化・成熟するに従って、Foxp3 発現誘導効率と TSDR 脱メチル化効率が低下することを見いだした。このことから、CD4⁺ T 細胞の分化・成熟が進むほど機能的に安定な Treg へ分化するポテンシャルが失われてゆくこ

とが明らかとなった。

③ Foxp3 依存的な内在性 Foxp3 発現と TSDR 脱メチル化誘導

末梢ナイーブ Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞にレトロウイルスベクターを用いて Foxp3 を強制発現させることで免疫抑制活性を備えた Treg 様細胞が誘導される。これまでに、この Foxp3 導入 T 細胞においては、TSDR 脱メチル化など Treg 固有のエピゲノムが誘導されず、CTLA-4 など Treg を特徴付ける分子群 (Treg signatures) の発現も十分には誘導されないことが明らかにされている。しかしながら、我々は Foxp3 導入 T 細胞を RAG 欠損マウスや X 線照射によりリンパ球を減少させたマウスに移入すると、一部の細胞において内在性 Foxp3 発現が誘導され、誘導された内在性 Foxp3⁺ T 細胞において TSDR が脱メチル化されることを見いだしている。

本研究では、まずこの内在性 Foxp3⁺ T 細胞が Treg と類似した表現型と機能を示すのか検討した。その結果、内在性 Foxp3 を発現しない Foxp3 導入 T 細胞は Foxp3 タンパク質、CD25、CTLA-4 などの Treg signatures の発現と抑制活性をほとんど示さないのに対し、内在性 Foxp3⁺ T 細胞は Treg signatures を発現して強い抑制活性を示した。このことから、Foxp3 導入 T 細胞における免疫抑制活性は、Treg としての特徴を備えた内在性 Foxp3⁺ T 細胞により説明されることが明らかになった。

内在性 Foxp3⁺ T 細胞が試験管内では誘導されず、マウス個体内において誘導されるという事実は、内在性 Foxp3 発現誘導と TSDR 脱メチル化には Foxp3 導入に加えて、何らかの生体環境由来のシグナルが必要であることを示唆している。一つの候補として TGF- β シグナルが考えられたが、dominant-negative TGF β RII トランスジェニックマウスから単離したナイーブ CD4⁺ T 細胞を用いた場合も内在性 Foxp3⁺ T 細胞が誘導されたことから、TGF- β は寄与しないと考えられた。内在性 Foxp3 発現誘導に関わる生体内環境由来シグナルを探索するために、内在性 Foxp3⁺ T 細胞、内在性 Foxp3⁻ Foxp3 導入 T 細胞、空ベクターを導入した対照 T 細胞を単離し、RNA-seq 解析を行った。得られた遺伝子発現データの GSEA 解析を行った結果、内在性 Foxp3⁺ T 細胞では他の細胞に比べて IL-2/STAT5 経路が選択的に活性化されていると予想された。そこで、Foxp3 導入と同時に miRNA を用いて STAT5a/b をノックダウンして X 線照射マウスに移入したところ、内在性 Foxp3 発現誘導が抑制された。このことから、Foxp3 は IL-2 受容体の発現誘導を介して IL-2/STAT5 経路を活性化し、内在性 Foxp3 発現を誘導している可能性が示唆された。

(2) Treg 適応性のメカニズム

④ Foxp3 A384T 変異体による Treg 適応性障害メカニズム

これまでの研究から、Foxp3 A384T 変異体が *Batf* など特定の Foxp3 標的遺伝子の発現を障害すること、BATF 発現が低下した Foxp3 A384T Treg にレトロウイルスベクターを用いて BATF を強制発現させると、大腸炎発症を抑制する機能が回復することを明らかにし、Foxp3 A384T 変異体による *Batf* 発現抑制が Foxp3 A384T Treg のエフェクター分化・組織集積の障害の原因であることが示唆されていた (Hayatsu, *Immunity*, 2017)。しかしながら、BATF の強制発現により野生型 Treg における BATF 発現レベルよりも発現が高くなることから、BATF 発現レベルの低下が組織における eTreg の減少と自己免疫疾患の原因であるかについては明らかではなかった。

本研究では、この問題を解決するために、Foxp3 A384T 変異体による *Batf* プロモーター一活性抑制に必要な 2 カ所のフォークヘッド (FKH) 認識配列を変異させた変異マウス (*Batf*^{FKHmut}) を作製し、これを *Foxp3*^{A384T} マウスと交配させた。そして、Treg における BATF 発現、eTreg 数、肺組織におけるサイトカイン産生 CD4⁺ T 細胞数をフローサイトメトリーで解析した。その結果、*Foxp3*^{A384T} x *Batf*^{FKHmut} マウスでは、Treg における BATF 発現が *Foxp3*^{WT} マウスの Treg と同程度まで回復したにも関わらず、eTreg の減少と肺におけるサイトカイン産生 CD4⁺ T 細胞の増加は *Foxp3*^{A384T} マウスと同程度であった。このことから、Foxp3 A384T 変異による eTreg 障害と自己免疫疾患は変異体による BATF 発現抑制のみによっては説明できないことが明らかになった。

次に、*Foxp3*^{A384T} Treg において BATF 発現抑制とは独立して生じる障害を探索するために、*Foxp3*^{WT}、*Foxp3*^{A384T}、*Batf*^{-/-} マウス由来 Treg の RNA-seq 解析を行った。得られた遺伝子発現データの GSEA 解析を行った結果、Foxp3 A384T 変異 Treg においてのみ転写因子 c-Myc の標的遺伝子の発現が低下している可能性が示唆された。そこで、試験管内で Treg に IL-2 存在下で TCR 刺激を加えたところ、Foxp3 A384T Treg においてのみ c-Myc の発現誘導と細胞増殖が障害されていることがわかった。そして、レトロウイルスベクターを用いて Foxp3 A384T Treg に c-Myc を発現増強させると、*in vitro*、*in vivo* の両方で Foxp3 A384T Treg の増殖障害がレスキューされることが示された。以上の結果から、Foxp3 A384T 変異による eTreg の減少は、BATF 発現抑制非依存的であり、c-Myc 発現抑制による TCR 刺激依存的な細胞増殖の障害に起因する可能性が示唆された。

⑤ Foxp3 と BATF による Treg 適応性制御機構

これまでの研究から、AP-1 ファミリーの転写因子 BATF が Treg のエフェクター分化と組織集積に必須の役割を担っていることを明らかにしている (Hayatsu, *Immunity*, 2017)。BATF による Treg のエフェクター分化と組織集積制御メカニズムを明らかにするために、BATF 欠損 Treg と野生型 Treg の RNA-seq 解析と ATAC-seq 解析、そして野生型 Treg における BATF ChIP-seq 解析を行った。その結果、Treg において BATF 依存的に発現が誘導される遺伝子群が同定された。こ

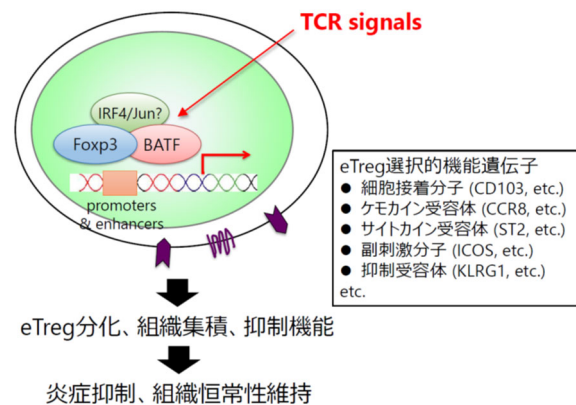
これら遺伝子の大多数は、eTreg とエフェクターFoxp3⁺CD4⁺ T 細胞 (Teff) において高発現するエフェクター遺伝子であったが、約半数は、Teff よりも eTreg において発現が高い eTreg 特徴的遺伝子であることがわかった。同様に、Treg において BATF 依存的にアクセシビリティが増加する領域 (open chromatin regions; OCRs) が同定された。これら OCRs には他の OCRs に比べて AP-1 モチーフと AICE (AP-1/IRF composite element) モチーフが濃縮されており、これらのうち BATF が結合している OCRs では結合していない OCRs よりもアクセシビリティが高かったことから、BATF が結合することで直接クロマチンを開いている可能性が考えられた。また、これら BATF 依存的 OCRs の大多数は eTreg と Teff 選択的 OCRs であり、その約半数は Teff よりも eTreg においてよりアクセシビリティが高い eTreg 特徴的 OCRs であった。以上の結果から、BATF は eTreg と Teff に共通したエフェクター遺伝子群に加えて、eTreg に特徴的な遺伝子群の発現と OCRs を誘導していることが明らかになった。

BATF がこれら eTreg に特徴的な遺伝子群の発現と OCRs を誘導するメカニズムとして、Foxp3 の役割に着目した。我々は、IPEX 症候群において同定された Foxp3 変異のなかで、Foxp3 の DNA 結合活性を消失させる機能欠失型変異である Foxp3 R397W 変異を導入したノックインマウスも作製している。このマウスの Treg においては eTreg が欠損し、eTreg 特徴的遺伝子群の発現が低下していたことから、Foxp3 もまた eTreg 分化と eTreg 特徴的遺伝子群の発現に寄与していることが明らかになった。また、BATF 依存的な eTreg 特徴的 OCRs には Foxp3 が選択的に結合していることから、Foxp3 が BATF と協調的に eTreg 分化と eTreg 特徴的遺伝子群の発現を制御している可能性が考えられた。この可能性を検証するために、Batf^{-/-} x Foxp3^{R397W} マウスを作製し、その Treg に BATF 単独、Foxp3 単独、または BATF と Foxp3 の両者を導入し、X 線照射した Ly5.1 コンジュニックマウスに移入した。その結果、Foxp3 単独では eTreg 分化・増殖と組織における細胞数には影響が見られなかったのに対し、BATF 単独では促進されることがわかった。さらに、BATF と Foxp3 両者を導入した群では、BATF 単独群よりもさらに eTreg 分化・増殖と組織における細胞数が増加したことから、Foxp3 は BATF と協調して eTreg 分化・増殖と組織集積を促進することが明らかになった。

BATF は TCR シグナルにより発現が上昇し、IRF4 と複合体を形成して T 細胞のエフェクター分化を制御すると報告されている。Foxp3 が BATF と協調して eTreg 分化・増殖と組織集積を促進するために TCR シグナルが必要であるかを検討するために、OTII TCR Tg x Rag1^{-/-} x Batf^{-/-} マウスを作製し、そのナイーブ Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞に BATF 単独、Foxp3 単独、または BATF と Foxp3 の両者を導入して Ly5.1 コンジュニックマウスに移入してホストマウスに抗原 (OVA) を経鼻投与した。その結果、OVA を投与した群でのみ Foxp3 による BATF 依存的な T 細胞増殖と組織集積の促進が見られた。このことから、Foxp3 は BATF と協調することにより TCR シグナル依存的な Treg のエフェクター分化と組織集積を促進することが明らかになった。

最後に、Foxp3 と BATF の協調メカニズムとして、両者が複合体を形成する可能性を検討した。試験管内で活性化した Treg から核抽出液を調製し、抗 BATF 抗体を用いて免疫沈降を行った後、抗 Foxp3 抗体を用いて Western blot 解析を行った。その結果、Foxp3 と BATF が複合体を形成していることが明らかになった。

以上の結果から、Foxp3 は BATF を介して TCR シグナル依存的な Treg のエフェクター分化と組織集積を促進することで Treg の適応性を制御していることが明らかになった (図)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Li J, Yang KY, Tam RCY, Chan VW, Lan HY, Hori S, Zhou B, Lui KO	4. 巻 9
2. 論文標題 Regulatory T-cells regulate neonatal heart regeneration by potentiating cardiomyocyte proliferation in a paracrine manner	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Theranostics	6. 最初と最後の頁 4324-4341
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7150/thno.32734. eCollection 2019	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 Herppich S, Toker A, Pietzsch B, Kitagawa Y, Ohkura N, Miyao T, Floess S, Hori S, Sakaguchi S, Huehn J	4. 巻 10
2. 論文標題 Dynamic Imprinting of the Treg Cell-Specific Epigenetic Signature in Developing Thymic Regulatory T Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 2382
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2019.02382. eCollection 2019	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 Arata Y, Watanabe A, Motosugi R, Murakami R, Goto T, Hori S, Hirayama S, Hamazaki J, Murata S	4. 巻 24
2. 論文標題 Defective induction of the proteasome associated with T-cell receptor signaling underlies T-cell senescence	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 801-813
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12728	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 Fujimoto, H. Saito, Y. Ohuchida, K. Kawakami, E. Fujiki, S. Watanabe, T. Ono, R. Kaneko, A. Takagi, S. Najima, Y. Hijikata, A. Cui, L. Ueki, T. Oda, Y. Hori, S. Ohara, O. Nakamura, M. Saito, T. Ishikawa, F.	4. 巻 200
2. 論文標題 Deregulated Mucosal Immune Surveillance through Gut-Associated Regulatory T Cells and PD-1(+) T Cells in Human Colorectal Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Immunol	6. 最初と最後の頁 3291-3303
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.1701222	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 Leung, C. S. Yang, K. Y. Li, X. Chan, V. W. Ku, M. Waldmann, H. Hori, S. Tsang, J. C. H. Lo, Y. M. D. Lui, K. O.	4. 巻 10
2. 論文標題 Single-cell transcriptomics reveal that PD-1 mediates immune tolerance by regulating proliferation of regulatory T cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genome Med	6. 最初と最後の頁 71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13073-018-0581-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 村上龍一、堀昌平	4. 巻 69
2. 論文標題 非リンパ組織における制御性T細胞の恒常性維持機構	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6. 最初と最後の頁 1-6
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 村上龍一、堀昌平	4. 巻 265
2. 論文標題 制御性T細胞によるアレルギー反応の制御	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 724-728
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 中島啓、堀昌平	4. 巻 268
2. 論文標題 制御性T細胞の系列安定性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1036-1042
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 村上龍一、堀昌平	4. 巻 268
2. 論文標題 エフェクター制御性T細胞分化・維持の分子基板	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1101-1105
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 中島啓、榎本志樹、堀昌平	4. 巻 69
2. 論文標題 制御性T細胞と免疫寛容 - アレルギー疾患における制御性T細胞の役割 -	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アレルギー	6. 最初と最後の頁 310-317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15036/arerugi.69.310	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 Iriki H, Takahashi H, Wada N, Nomura H, Mukai M, Kamata A, Ito H, Yamagami J, Matsui T, Kurebayashi Y, Mise-Omata S, Nishimasu H, Nureki O, Yoshimura A, Hori S, Amagai M	4. 巻 118
2. 論文標題 Peripheral tolerance by Treg via constraining OX40 signal in autoreactive T cells against desmoglein 3, a target antigen in pemphigus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2026763118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2026763118	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 Fujimoto K, Nakajima A, Hori S, Irie N	4. 巻 16
2. 論文標題 Whole embryonic detection of maternal microchimeric cells highlights significant differences in their numbers among individuals	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0261357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0261357	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 Hori S, Murakami R	4. 巻 33
2. 論文標題 The adaptability of regulatory T cells and Foxp3	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 803 ~ 807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab045	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 Hori S	4. 巻 21
2. 論文標題 FOXP3 as a master regulator of Treg cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Reviews Immunology	6. 最初と最後の頁 618-619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41577-021-00598-9	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 Sefik E, Hori S, Vasanthakumar A	4. 巻 12
2. 論文標題 Editorial: Regulatory T Cell Heterogeneity: Canonical and Non-Canonical Functions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 722563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.722563	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

〔学会発表〕 計32件 (うち招待講演 17件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Molecular control of effector differentiation and tissue adaptation of Treg cells
3. 学会等名 17th International Congress of Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Coupling the genetic and phenotypic heterogeneity in the adaptive immune system: a role for regulatory T cells
3. 学会等名 Interface between Immunology & Quantitative Biology (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 T cell-dependent regulation of immunological tolerance and tissue homeostasis
3. 学会等名 48th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀昌平
2. 発表標題 制御性T細胞のエフェクター分化と組織集積の分子的制御
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀昌平
2. 発表標題 制御性T細胞と免疫寛容
3. 学会等名 第6回総合アレルギー講習会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木下誠秀、中島啓、早津徳人、大西玲子、堀昌平
2. 発表標題 TCRシグナルによる制御性T細胞のエピゲノム形成機構の解明
3. 学会等名 第19回東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松井文、清水沙耶、船津翔太郎、川上英良、村上龍一、中島啓、堀昌平
2. 発表標題 制御性T細胞のエピゲノム形成における転写因子GATA1の役割
3. 学会等名 第19回東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星谷圭徹、村上龍一、堀昌平
2. 発表標題 組織選択的な自己免疫疾患制御におけるTCRレパトアの役割の解明
3. 学会等名 第19回東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木下誠秀、中島啓、早津徳人、大西玲子、堀昌平
2. 発表標題 TCRシグナルによる制御性T細胞のエピゲノム形成機構の解明
3. 学会等名 第29回Kyoto T Cell Conference
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木下誠秀、中島啓、早津徳人、大西玲子、堀昌平
2. 発表標題 TCRシグナルによる制御性T細胞のエピゲノム形成機構の解明
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松井文、清水沙耶、船津翔太郎、川上英良、村上龍一、中島啓、堀昌平
2. 発表標題 制御性T細胞のエピゲノム形成における転写因子GATA1の役割
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星谷圭徹、村上龍一、堀昌平
2. 発表標題 組織選択的な自己免疫疾患制御における制御性T細胞のTCRレパトアの役割
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryuichi Murakami, Wataru Ise, Tomohiro Kurosaki, Shohei Hori
2. 発表標題 The transcription factor BATF functionally to control effector program in regulatory T cells
3. 学会等名 48th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上龍一、堀昌平
2. 発表標題 転写因子Foxp3はTCRシグナル依存的な制御性T細胞のエフェクター分化・非リンパ組織集積を促進する
3. 学会等名 第3回新学術領域研究「ネオ・セルフ」若手の回
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 星谷圭徹、村上龍一、堀昌平
2. 発表標題 組織特異的な自己免疫疾患制御におけるTregのTCRレパトアの役割の解明
3. 学会等名 第3回新学術領域研究「ネオ・セルフ」若手の回
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木下誠秀、中島啓、早津徳人、大西玲子、堀昌平
2. 発表標題 TCRシグナルによる制御性T細胞のエピゲノム形成機構の解明
3. 学会等名 第3回新学術領域研究「ネオ・セルフ」若手の回
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shohei Hori and Ryuichi Murakami
2. 発表標題 Molecular control of the differentiation and accumulation of tissue regulatory T cells
3. 学会等名 AMED-CREST恒常性領域&適応・修復領域 合同国際シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Transcriptional control of tissue Treg cells
3. 学会等名 The 1st International Symposium on NEO-SELF (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Transcriptional control of tissue Treg cell differentiation and homeostasis
3. 学会等名 10th Japanese-German Immunology Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Molecular control of effector Treg cell differentiation and tissue accumulation
3. 学会等名 KAI (The Korean Association of Immunologists) International Meeting 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shohei Hori, Ryuichi Murakami
2. 発表標題 Molecular control of Treg cell effector differentiation and tissue accumulation
3. 学会等名 The 47th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀昌平
2. 発表標題 免疫寛容とアレルギー
3. 学会等名 日本アレルギー学会 第5回総合アレルギー講習会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上龍一、堀昌平
2. 発表標題 転写因子BATFはFoxp3と機能的に協調してエフェクター制御性T細胞の分化・恒常性を制御する
3. 学会等名 第28回Kyoto T Cell Conference
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上龍一、早津徳人、堀昌平
2. 発表標題 転写因子Foxp3はBATF依存的な エフェクター制御性T細胞の分化・恒常性を制御する
3. 学会等名 第18回東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ryuichi Murakami, Wataru Ise, Tomohiro Kurosaki, Shohei Hori
2. 発表標題 The transcription factor BATF functionally cooperates with Foxp3 to control effector program in regulatory T cells
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀昌平
2. 発表標題 制御性T細胞による免疫制御
3. 学会等名 第64回 日本薬学会 関東支部大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Molecular control of regulatory T cell development and function by the transcription factor Foxp3 and T cell receptor signals
3. 学会等名 東京大学医科学研究所学友会セミナー (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Molecular control of Treg cell function by Foxp3 and TCR signals
3. 学会等名 Hong Kong Immunology Forum 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shohei Hori
2. 発表標題 Molecular control of regulatory T cell differentiation and function.
3. 学会等名 University of Massachusetts, IMP Spring Seminar Series (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀昌平
2. 発表標題 組織Tregによる組織選択的2型炎症制御機構
3. 学会等名 第85回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀昌平
2. 発表標題 Tregとアレルギー
3. 学会等名 日本アレルギー学会 第7回総合アレルギー講習（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀昌平
2. 発表標題 制御性T細胞による免疫制御メカニズム
3. 学会等名 第46回皮膚科免疫セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------