

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：38005

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15201

研究課題名(和文) 制御性T細胞機能を司る転写制御機構の解明

研究課題名(英文) Transcriptional regulation of Treg development and function

研究代表者

小泉 真一 (Koizumi, Shin-ichi)

沖縄科学技術大学院大学・免疫シグナルユニット・研究員

研究者番号：70636547

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)：制御性T細胞(Treg)は免疫抑制型のT細胞であり、自己への免疫応答を抑制することで、生体の恒常性を維持している。二次リンパ組織において活性化されたTregはより抑制能が強い活性型のTregへと分化し、最終的には組織に移行していく。本研究においては、この活性化型のTregの機能を制御する転写因子としてJunBを同定した。Treg特異的にJunBを欠損させると肺や大腸などの限られた組織で自己免疫症状が確認され、組織の免疫寛容にJunBが重要であることが示された。また、JunBがエフェクター型Tregの機能分子の発現をIRF4の機能を調整することで部分的に制御していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、エフェクターTregの転写制御機構の一端が明らかとなった。本研究成果は、Treg、特にエフェクターTregの機能制御を介した自己免疫疾患の治療法の開発へとつながることが予想される。またそれに加え、Tregの機能を部分的に抑制することによる、副作用の少ないがん免疫療法の開発へとつながる可能性もある。

研究成果の概要(英文)：Regulatory T (Treg) cells need to differentiate into effector Treg (eTreg) cells to maintain immune homeostasis. I elucidated that the AP-1 transcription factor JunB is expressed in eTreg cells and promotes an IRF4-dependent transcription program. Mice lacking JunB in Treg cells develop multi-organ autoimmunity, concomitant with aberrant activation of T helper cells. JunB promotes expression of Treg effector molecules, such as ICOS and CTLA4, in BATF-dependent and BATF-independent manners, and is also required for homeostasis and suppressive functions of eTreg. Mechanistically, JunB facilitates the accumulation of IRF4 at a subset of IRF4 target sites, including those located near Icos and Ctla4. Thus, JunB is a critical regulator of IRF4-dependent Treg effector programs, highlighting important functions for AP-1 in Treg-mediated immune homeostasis.

研究分野：免疫学

キーワード：制御性T細胞 Treg 転写因子 JunB エフェクター型制御性T細胞 自己免疫疾患 ChIP-seq effector Treg

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

制御性 T 細胞は転写因子 Foxp3 を高発現する免疫抑制性の T 細胞であり、免疫恒常性の維持に非常に重要である。実際制御性 T 細胞が正常に働かないマウスおよびヒトでは、重篤な自己免疫疾患が引き起こされる。近年、リンパ節で抗原刺激を受け活性化した制御性 T 細胞は、エフェクター型制御性 T 細胞と呼ばれるより免疫抑制能が高い細胞へと分化し、最終的には組織に移行して組織の免疫恒常性を保っていることが分かっている。しかしながら、エフェクター型制御性 T 細胞の分化や機能を維持している分子機構は十分に分かっていなかった。

2. 研究の目的

申請者はそれまでの研究で、転写因子 JunB が病原性 Th17 細胞の分化に必須の転写因子であることを見出していた。その研究の中で、T 細胞特異的に JunB を欠損させてマウスでは制御性 T 細胞にも異常が存在していることに気が付いた。そこで制御性 T 細胞における JunB の正確な重要性を明らかにするために、本研究課題をスタートさせた。

3. 研究の方法

T 細胞特異的 JunB 欠損マウスと制御性 T 細胞特異的 JunB 欠損マウスを用いて、制御性 T 細胞における JunB の重要性の解析を行った。

4. 研究成果

まず JunB の発現レベルをフローサイトメトリーで確認したところ、エフェクター型制御性 T 細胞において高発現していることが明らかとなった。また、エフェクター型制御性 T 細胞の中でも、特に組織に存在しているものに強い発現が認められた。続いてどのような刺激により JunB が発現上昇するか検討したところ、T 細胞の抗原受容体刺激に加え、共刺激分子である CD28、あるいは Treg の生存に必須である IL-2 の刺激が存在することでその発現が強く誘導されることが分かった。

つづいて実際の制御性 T 細胞における JunB の機能を確認するために、制御性 T 特異的 JunB 欠損マウスの解析を行った。その結果、JunB を欠損させたマウスは成長不全をきたし、およそ 6 割が生後半年以内に死亡した。これらが、自己免疫応答によるものかを調べるために組織学的解析を行ったところ、興味深いことに通常の制御性 T 細胞欠損マウスと異なり、炎症症状は肺や大腸などの組織に限局して強い炎症が起こっていた。さらに、血清レベルでの抗体産生の増加、抗体産生性細胞数の増加、炎症性 T 細胞の増加も認められ、強い自己免疫応答が起こっていることが明らかとなった。

この結果が制御性 T 細胞の機能不全であることを明らかにするために、マウスを用いた制御性 T 細胞の機能評価を腸炎モデルを用いて行ったところ、JunB を欠損した Treg が腸炎を全く抑制できないことが明らかとなった。また試験管内の実験から、活性化した制御性 T 細胞は通常免疫抑制能が上昇するにもかかわらず、JunB 欠損の状態ではむしろ減少した。したがって、JunB は制御性 T 細胞の活性化によりエフェクター型制御性 T 細胞に分化するに伴い発現が上昇し、その機能や生存を維持していることが明らかとなった。

続いて JunB を欠損した制御性 T 細胞で何が起きているのかを明らかにするために、より詳細な解析を行った。その結果、制御性 T 細胞特異的 JunB 欠損マウスでは大腸において制御性 T 細胞の数が著しく減少していた。このことから、JunB は制御性 T 細胞が大腸に集積するために重要であることが明らかとなった。また、そのほかの機能分子の発現を解析したところ、エフェクター型制御性 T 細胞のマーカーである ICOS や、CD44 の発現が減弱していることも確認された。

しかしながら、このマウスでは重篤な自己免疫応答が起こっており、厳密な意味で対照となるコントロールマウスとの比較は困難である。そこで、おそらくは通常の T 細胞の機能不全のため自己免疫症状を示さない T 細胞特異的 JunB 欠損マウスの解析を行い、定常状態における JunB の制御性 T 細胞での役割を解析した。その結果、このマウスでは全身的にエフェクター型制御性 T 細胞が減少していた。さらに、ICOS や CD44 に加え、TIGIT や CTLA-4 などの分子の発現も強く減少しており、JunB が定常状態においてエフェクター型制御性 T 細胞の機能や維持に重要であることが確認された。また、これらの表現型は骨髄混合キメラマウスでも同様であったことから、JunB は cell intrinsic にエフェクター型制御性 T 細胞の機能や維持に関与していることが明らかとなった。

最後に、JunB によるエフェクター型制御性 T 細胞の転写制御機構の解析を行った。RNA-seq 解析から、JunB はエフェクター型制御性 T 細胞高発現遺伝子の一部を制御していることが明らかとなり、これが組織特異的な自己免疫応答の亢進に関与している可能性が示された。また、ChIP-seq 解析から、JunB は IRF4 や BATF などそのほかの転写因子と協調的に働くこと、しかしながら IRF4 や BATF の機能の一部にのみ関与していることが明らかとなった。したがって JunB の機能的重要性はやや限定的であり、こういった転写因子の機能的多様性が制御性 T 細胞サブセットの違いを生み出している可能性が示唆された。

以上の研究により、JunB が制御性 T 細胞、中でもエフェクター型制御性 T 細胞と呼ばれる活性化型の制御性 T 細胞の機能や維持に重要であることが明らかとなった。以上の研究成果は、組織特異的な免疫恒常性の仕組みを理解するための分子基盤を明らかにしただけでなく、免疫応

答の制御による自己免疫疾患の治療や、副作用の少ないがん免疫療法への応用などへとつながっていく可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shin-ichi Koizumi, Daiki Sasaki, Tsung-Han Hsieh, Naoyuki Taira, Nana Arakaki, Shin-ichi Yamasaki, Ke Wang, Shukla Sarkar, Hiroki Shirahata, Mio Miyagi, Hiroki Ishikawa	4. 巻 17
2. 論文標題 JunB regulates homeostasis and suppressive functions of effector regulatory T cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature communications	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-018-07735-4.	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 Shin-ichi Koizumi, Hiroki Ishikawa	4. 巻 8
2. 論文標題 Transcriptional regulation of differentiation and functions of effector T regulatory cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells8080939	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小泉 真一、佐々木 大樹、石川 裕規
2. 発表標題 転写因子JunBはEffector型制御性T細胞の機能と維持に必須の役割を果たす
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Shin-ichi Koizumi, Hiroki Ishikawa
2. 発表標題 Transcription factor JunB is essential for effector regulatory T cells homeostasis and function
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2018年～2019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
--	---------------------------	-----------------------	----