

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 12 日現在

機関番号：14301

研究種目：特別推進研究

研究期間：2008 年～2012 年

課題番号：20002007

研究課題名（和文） 制御性 T 細胞機能の分子的基础に関する研究

研究課題名（英文） Molecular basis of the function and generation of Foxp3-expressing regulatory T cells

研究代表者

坂口 志文 (SAKAGUCHI SHIMON)

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：30280770

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：

キーワード：FOXP3、制御性 T 細胞、自己免疫病、T リンパ球、CTLA-4、免疫制御

1. 研究計画の概要

免疫応答に対する“負”の制御は、現代免疫学の重要研究課題のひとつである。その理解は、正常自己組織に対する異常免疫応答としての自己免疫病、逸脱あるいは過剰な免疫反応としてのアレルギー、炎症性腸疾患などの免疫病の理解と治療・予防に繋がる。さらに、自家腫瘍細胞に対する有効な腫瘍免疫の惹起、他人からの移植臓器に対する移植免疫寛容の導入に繋がる。本研究では、抑制的免疫応答制御に中心的役割を果たす制御性 T 細胞（以下 Treg と略）の免疫抑制機構および発生・分化・増殖機構の分子的基础を明らかにし、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。特に、Treg 特異的転写因子 Foxp3 を中心として、Foxp3 結合因子の同定による Foxp3 転写複合体の構造解明と抑制的転写プログラムの解明、Foxp3 転写複合体が標的とする遺伝子群の同定と機能解析、さらに、Foxp3 上流シグナルの解析を行うと共に、鍵となる遺伝子について細胞系列特異的遺伝子欠損マウス〔コンディショナルノックアウトマウス〕、特定遺伝子変異導入マウス〔ノックインマウス〕の作製により生体での Treg 機能を解析する。これらの研究結果に基づき、Foxp3 に制御される Treg 機能分子の機能操作（単クローン抗体、サイトカイン、小分子）による免疫応答制御法を確立する。

2. 研究の進捗状況

Treg の発生・機能のマスター転写因子 Foxp3 の機能を、それに結合する分子の同定・解析、および Foxp3 の制御する下流遺伝子とその産物の機能について解析を進めた。まず、Foxp3 が転写因子 Runx1 と結合するとの結果に基づ

き Treg 特異的に Runx1、Runx3、あるいはこれらの co-factor である CBF- β を欠損するマウスを作製したところ、Runx1 あるいは CBF- β 欠損マウスは自己免疫病、高 IgE 血症を自然発症し、in vivo, in vitro における Treg 抑制機能が低下していた。この結果は、Foxp3/Runx1 転写複合体が Treg の抑制機能の発現に重要であることを意味する。

一方、Foxp3 が制御する下流分子として CTLA-4 に注目し、Treg 特異的 CTLA-4 欠損マウスを作製したところ、このマウスは致死性の自己免疫病（心筋炎など）、高 IgE 血症を自然発症し、また自家腫瘍に対して強力な免疫応答を示した。CTLA-4 欠損は、Treg の発生、生存、活性化には影響しないが、in vitro, in vivo での抑制活性を顕著に低下させた。さらに、Treg に発現する CTLA-4 は、樹状細胞上の副刺激分子 CD80、CD86 と結合し、その発現を低下させることによって、他の T 細胞の活性化を妨げるとの結果を得た。これは Treg による免疫抑制の重要な分子機構と考える。

Treg の TCR レパトアがどのように形成されるかについても、TCR シグナル分子の遺伝子改変マウスを作製して検討を進め、ZAP-70 および CTLA-4 分子の役割を明らかにした。

さらに、ヒト Treg について、末梢血中の Foxp3 発現 T 細胞は機能的に均一ではなく、CD45RA、CD25 の発現程度によって 3 つの亜群に分けうることを示し、この分類が Treg の機能解析、特に諸種免疫疾患における Treg の動態解析に有用であることを示した。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。本研究では、生体内、試験管内での制御性 T 細胞の機能、動態を解析するため、多種類の遺伝子改変マ

ウスを作製している。3年の間に必要なマウスの作製を概ね終了し、それらの解析を進めている。

4. 今後の研究の推進方策

概ね現在の研究方向を継続する。それに加えて、ヒトで Treg 操作によって腫瘍免疫応答を惹起すべく、そのための基礎研究に従来よりも重点を置く。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 33 件)

- ① Hashimoto, M., Hirota, K., Yoshitomi, H., Maeda, S., Teradaira, S., Akizuki, S., Prieto-Martin, P., Nomura, T., Sakaguchi, N., Köhl, J., Heyman, B., Takahashi, M., Fujita, T., Mimori, T., Sakaguchi, S. Complement drives Th-17 cell differentiation and triggers autoimmune disease. *J. Exp. Med.* 207:1135-43, 2010. 査読あり
- ② Kitoh, A., Ono, M., Naoe, Y., Ohkura, N., Yamaguchi, T., Yaguchi, H., Kitabayashi, I., Tsukada, T., Nomura, T., Miyachi, Y., Taniuchi, I., and Sakaguchi, S. Indispensable role of Runx1/Cbf \cdot complexes for *in vivo* suppressive function of FoxP3⁺ regulatory T cells. *Immunity.* 31:609-620, 2009. 査読あり
- ③ Miyara, M., Shima, T., Kitoh, A., Yoshioka, Y., Niwa, A., Taflin, C., Heike, T., Valeyre, D., Mathian, A., Nakahata, T., Yamaguchi T., Nomura, T., Wing, K., Ono, M., Amoura, Z., Gorochev, G., and Sakaguchi, S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4(+) T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity.* 30:899-911, 2009. 査読あり
- ④ Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T., and Sakaguchi, S. CTLA-4 control over Foxp3⁺ regulatory T cell function. *Science.* 322:271-275, 2008. 査読あり
- ⑤ Onishi, Y., Fehervari, Z., Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S. Foxp3⁺ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells *in vitro* and actively inhibit their maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 29:10113-10118, 2008. 査読あり

[学会発表] (計 39 件)

- ① T. Yamaguchi, A. Kishi, M. Osaki, S.

Sakaguchi: Construction of regulatory T cells without FoxP3. 14th International Congress of Immunology (2010. 8. 22-27, 神戸)

- ② N. Ohkura, M. Hamaguchi, K. Sugimura, A. Tanaka, N. Sasaki S. Sakaguchi: Analysis of epigenetic status in regulatory T cells. 14th International Congress of Immunology (2010. 8. 22-27, 神戸)

- ③ Shimon Sakaguchi: CTLA-4-dependent mechanism of Treg-mediated *in vivo* and *in vitro* suppression. WORLD IMMUNE REGULATION MEETING-III (2009 3.22-25. Davos, Switzerland)

- ④ Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis, The 4th Congress of the Federation of Immunology Societies of Asia-Oceania 2008 (2008.10.17-20. Taipei Taiwan)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 1 件)

名称: 4 型葉酸受容体も発現を指標とした制御性T細胞の検出方法、及び免疫賦活剤

発明者: 坂口 志文

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 12/339,129

出願年月日: 2008.12.19

国内外の別: 国内

- 取得状況 (計 1 件)

名称: 4 型葉酸受容体も発現を指標とした制御性T細胞の検出方法、及び免疫賦活剤

発明者: 坂口 志文

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 12/339,129

取得年月日: 2008.12.19

国内外の別: 国内

[その他]