

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 1 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659148

研究課題名(和文)新規CD8T細胞分化機構の腫瘍免疫・自己免疫疾患治療への応用

研究課題名(英文)Development of new therapies for tumor and autoimmunity using CD8aaT cells

研究代表者

菅井 学 (Sugai, Manabu)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：90303891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：ヘルパーT細胞(CD4T細胞)と細胞障害性T細胞(CD8 T細胞)への運命決定は、胸腺における抗原認識様式に依存した相互排他的な分化過程である。我々は、CD4T細胞が末梢組織においてCD8T細胞に再分化することを発見した。強い抗原刺激に加え、Interleikin-2、レチノイン酸、Transforming Growth Factor- $\beta$ 1によって、CD4 T細胞はCD8 T細胞に分化することを見いだした。さらに、「CD4T細胞から誘導されたCD8T細胞」の遺伝子発現を解析した。

さらに、様々な阻害剤ライブラリーを用いて、CD8 T細胞分化を亢進する化合物や、促進する化合物を見いだした。

研究成果の概要(英文)：Cell fate determination of helper T cells (CD4 T cells) or cytotoxic T cells (CD8 T cells) is mutually exclusive process depending on antigen recognition, which occurs in the thymus. We found that retinoic acid and transforming growth factor- $\beta$ 1 promoted the differentiation of CD8 aaT cells from CD4 T cells in peripheral lymphoid tissues. And we examined the expression patterns of various genes in differentiated CD8aa T cells and compared with those in iTreg cells. Furthermore, we found various compounds, which regulate differentiation of CD8aa T cells from CD4 cells.

研究分野：基礎医学

科研費の分科・細目：病態医化学

キーワード：自己免疫疾患 制御性T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

免疫システムは、様々な方法を用いて、自己を攻撃しない『自己寛容性』を確立している。最近の研究から、活性化 T 細胞特異的免疫抑制機能を持つ CD8T 細胞の存在が明らかになってきている (Kim ら Nature 2010, Kumar ら Trends in Immunol 2008)。しかし、これらの CD8 制御性 T 細胞の分化、分化に必要な因子、免疫制御機構の詳細は未だ不明である。申請者は、転写因子『Runx3』の欠損マウスにおいて、慢性的な腸炎を認め、細菌の多い環境下において、腸に腫瘍ができることを観察した (Sugai, et al., J. Immunol. 2011)。この腫瘍形成は、野生型由来 CD8T 細胞を移植することで抑制されることから、野生型 CD8T 細胞に何らかの炎症抑制作用のあることが想定されたが、その実態は不明であった。

## 2. 研究の目的

Runx3 欠損マウスで見られる自己免疫疾患発症の原因となる CD8T 細胞を検索する。さらに、制御性 T 細胞としての機能を持つ CD8T 細胞の分化過程や、この細胞が関与する免疫反応等の詳細を明らかにし、腫瘍免疫・自己免疫疾患治療への応用を目指す。

## 3. 研究の方法

Runx3 で分化障害のある CD8T 細胞を調べ、その細胞の分化してくる系譜をおおまかに明らかにする。さらに、この CD8T 細胞の分化機構の詳細を調べる。また、腸炎以外の自己免疫疾患への関わりを明らかにすることを通じて、この CD8T 細胞による、細胞機能発現の具体的なメカニズムを知る足がかりを得る。さらに、その細胞で発現する遺伝子を調べ、平行して、分化に関わる各種阻害剤を検索する。また腫瘍免疫等、各種免疫反応への関与を調べる。これらの基礎的データの収集をさらに発展させ、『CD4 から分化した CD8aaT 細胞』の腫瘍免疫・自己免疫疾患治療への応用を目指す。

## 4. 研究成果

我々は、CD4T 細胞が末梢組織において CD8T 細胞に再分化すること

を発見した。強い抗原刺激に加え、Interleikin-2 (IL-2)、レチノイン酸、Transforming Growth Factor-1 (TGF-1) によって、CD4 T 細胞は CD8 $\alpha$ T 細胞に分化することを見いだし、この分化には Runx3 が必要である事もわかった。さらに、CD8<sup>+</sup>TCR<sup>+</sup> T 細胞のなかには、活性化 T 細胞を特異的に抑制する細胞群の存在が知られていることから、CD4 由来 CD8aaT 細胞の免疫反応抑制機能を、自己免疫疾患モデルマウスを用いて評価した。その結果、CD4 T 細胞から CD8<sup>+</sup> T 細胞への分化に障害を持つ Runx3<sup>-/-</sup> T 細胞をもつマウスでは、実験的アレルギー性脳脊髄炎からの回復に障害があることが明らかになった。このことから、CD4 由来 CD8aaT 細胞は、ある種の免疫抑制機能を持つことが示唆された。さらに、この『CD4T 細胞から誘導された CD8T 細胞』の遺伝子発現を網羅的に解析し、他の制御性 T 細胞『iTreg 細胞 (Foxp3+CD4T 細胞)』と遺伝子発現と比較することによって、『CD4T 細胞から誘導された CD8T 細胞』分化機構に關与する可能性のある候補遺伝子群を同定した(一時スクリーニング)。さらに、様々な阻害剤ライブラリーを用いて、CD8 $\alpha$ T 細胞分化を亢進する化合物や、促進する化合物を見いだした。腫瘍免疫反応や、自己免疫疾患での CD4 由来 CD8aaT 細胞の関与と応用に関する研究は引き続いて展開していく予定である。

## 5. 主な発表論文等 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7件)

*In situ* differentiation of CD8 $\alpha$  T cells from CD4 T cells in peripheral lymphoid tissues

*Scientific Reports* 2, 645-623(2012)

Nambu, Y., Hayashi, T., Jang, KJ., Aoki, K., Mano, H., Nakano, K., Osato, M., Takahashi, K., Itoh, K., Teramukai, S., Komori, T., Fujita, J., Ito, Y., Shimizu, A. & Sugai, M.

Id2 controls chondrogenesis acting downstream of BMP signaling during maxillary morphogenesis

**Bone 50, 69-78 (2012)**

Sakata-Goto, T., Takahashi, K., Kiso, H., Huang, B., Tsukamoto, H., Takemoto, M., Hayashi, T., Sugai, M., Nakamura, T., Tokota, Y., Shimizu, A., Slavkin, H. and Bessho, K.

Phenotypes of CCAAT/enhancer-binding protein beta deficiency: hyperdantia

**Oral Diseases19 (2013)**

Huang, B., Takahashi, K., Sakata-Goto, T., Kiso, H., Togo, Y., Saito, K., Tsukamoto, H., Sugai, M., Shimizu, A. and Bessho, K.

The metalloloid arsenite induces nuclear export of Id3 possibly via binding to the N-terminal cysteine residues

**Biochem.Biophys. Res. Commun. 433 (2013)**

Kurooka, H., Sugai, M., Mori, K. and Yokota, Y.

Evasion from accelerated blood clearance of nanocarrier named as "Lactosome"

**Biochim. Biophys. Acta 1830 (2013)**

Hara, E., Makino, A., Kurihara, K., Sugai, M., Shimizu, A., Hara, I., Ozeki, E., Kimura, S.

Functional Evaluation of Activation-dependent Alterations in the Sialoglycan Composition of T Cells

**J. Biol. Chem. 289, 1564-1579 (2014)**

Naito-Matsui, Y., Takada, S., Kano, Y., Iyoda, T., Sugai, M., Shimizu, A., Inaba, K., Nitschke, L., Tsubata, T., Oka, S., Kozutsumi, Y. and Takematsu, H.

制御性 T 細胞と大腸炎関連派発癌  
GI Research 20 (6) 466-471 (2012)  
菅井学、南部由希子、清水章

[学会発表](計 3件)

Essential role of SIP1 and CD19 in B cell differentiation. 日本免疫学会学術集会、神戸、2012年12月

Hayashi T, Nambu Y, Jang KJ, Mano H, Higashi Y, Kristin V, Danny H, Shimizu A, Sugai M.

In situ differentiation of CD8aa T cells from CD4 T cells in peripheral lymphoid tissues. 日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月

Nambu Y, Hayashi T, Jang KJ, Aoki K, Mano H, Nakano K, Osato M, Takahashi K, Itoh K, Teramukai S, Komori T, Fujita J, Ito Y, Shimizu A, Sugai M.

Essential role of SIP1 and CD19 in B cell differentiation. 日本免疫学会学術集会、横浜、2013年12月

Hayashi T, Nambu Y, Jang KJ, Mano H, Higashi Y, Kristin V, Danny H, Shimizu A, Sugai M.

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 2件)

名称：  
T細胞の分化誘導方法、T細胞の製造方法、T細胞、医薬組成物、及び、スクリーニング方法

発明者：  
菅井学、清水章、南部由希子

権利者：  
京都大学

種類：特願  
番号：2012-101390

出願年月日：平成24年4月26日

国内外の別：国内

名称：  
T細胞の分化誘導方法、T細胞の製造方法、T細胞、医薬組成物、及び、スクリーニング方法

発明者：

菅井学、清水章、南部由希子

権利者：  
京都大学

種類：PTC  
番号：PTC/JP2013/056758

出願年月日：平成25年3月12日

国内外の別： 国外

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1) 研究代表者 菅井 学  
( )

研究者番号：90303891

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：