

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461461

研究課題名(和文) Soxファミリー分子による自己免疫疾患制御機構に関する研究

研究課題名(英文) Role of Sox molecules in the development of autoimmune diseases

研究代表者

須藤 明 (Suto, Akira)

千葉大学・大学院医学研究院・特任准教授

研究者番号：50447306

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究者はSox5がc-Mafと協調的にTh17細胞分化を誘導し、実験的脳脊髄炎を惹起することを明らかにした。さらに本研究者は炎症環境下の末梢の制御性T細胞(Treg細胞)にSox12が強く発現することを見出した。そして、野生型またはSox12欠損ナイーブCD4陽性T細胞を免疫不全マウスに移入することにより惹起される腸炎の発症は、Sox12欠損細胞移入群では野生型細胞移入群と比較して増悪し、脾臓及び腸管膜リンパ節におけるFoxp3陽性T細胞数が有意に減少することを明らかにした。これらの結果、Sox12は炎症環境下での末梢性のFoxp3陽性Treg細胞分化に必要であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We have previously shown that Sox5 and c-Maf cooperatively induce Th17 cell differentiation via the induction of ROR $\gamma$ t as downstream targets of Stat3. However, the role of other Sox family molecules in the development of autoimmune diseases was still largely unknown. Here, we show that the expression of Sox12, a member of SoxC family, is significantly induced in Treg cells under inflammatory conditions. Although Sox12 is not required for the development of nTreg cells, Sox12 is involved in the development of pTreg cells under inflammatory conditions in adoptive transfer colitis models. Moreover, we found that enforced expression of Sox12 is sufficient to promote Foxp3 expression in CD4<sup>+</sup> T cells even in the absence of TGF- $\beta$  or IL-2 and that Sox12 binds to Foxp3 promoter and drives its transcription.

研究分野：アレルギー 膠原病

キーワード：Sox12 自己免疫性腸炎

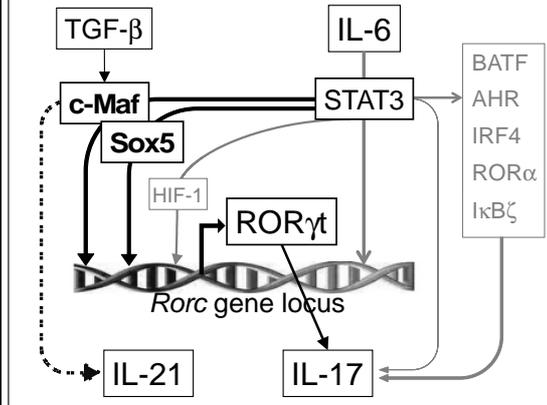
1. 研究開始当初の背景

自己免疫疾患は人口の約5%が罹患する多因子疾患であるが、その分子基盤は依然不明である。近年の実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を用いた解析により、転写因子 ROR $\gamma$ t を発現し IL-17 や IL-21 を産生することにより病態の惹起に寄与する Th17 細胞と、転写因子 Foxp3 を発現し抑制的に機能する制御性 T 細胞(Treg 細胞)との分化バランスが自己免疫疾患の病態に深く関与することが明らかとなった。一方、これまでの報告より、1) Th17 細胞の分化には IL-6 または IL-21 により誘導される STAT3 の活性化とそれより誘導される ROR $\gamma$ t の発現が必須であること、2) STAT3 は ROR $\gamma$ t 遺伝子の intron 1 に結合し、クロマチンリモデリングを惹起するとともに、I $\beta$ B, BATF, c-Maf, AhR, ROR $\gamma$ , HIF-1 等の Th17 細胞関連転写因子の発現を誘導することが示されている。しかし、STAT3 の下流で、ROR $\gamma$ t の発現を誘導する分子機構の詳細は不明であった。

そこで、本研究者は IL-6 により T 細胞で発現誘導される遺伝子の網羅的解析を行い、IL-6 で刺激された T 細胞や Th17 細胞に c-Maf と Sox5 に属する転写因子 Sox5 が高発現していることを見いだした。Sox5 ファミリーは DNA 結合ドメインである HMG ドメインと二量体形成ドメインを持つ核内蛋白であり、転写活性化部位をもたないが、他の転写因子と協調的に作用し転写活性化や抑制に働くことが知られている。そして本研究者は c-Maf と Sox5 の共発現により ROR $\gamma$ t の発現と Th17 細胞の分化を誘導できることを見いだした(図：太線)。さらに 1) IL-6 による c-Maf と Sox5 の発現誘導は STAT3 欠損 CD4 陽性 T 細胞では認められないこと、2) STAT3 欠損 CD4 陽性 T 細胞においても c-Maf と Sox5 の共発現により ROR $\gamma$ t の発現と Th17 細胞の分化を誘導できること、3) 一方、ROR $\gamma$ t 欠損 CD4 陽性 T 細胞に c-Maf と Sox5 を共発現させても Th17 細胞の分化を誘導できないことを示し、c-Maf と Sox5 は STAT3 の下流、かつ ROR $\gamma$ t の上流で Th17 細胞の分化を誘導していることを明らかにした。また、その分子メカニズムとして、Sox5 と c-Maf が ROR $\gamma$ t プロモーターの近接した部位に協調的に作用することにより ROR $\gamma$ t の発現を増強し、Th17 細

胞の分化を誘導することを見出した(図：太線)。

図: Th17細胞分化に関わる転写因子



一方、CD4 陽性 T 細胞には Sox5 以外に SoxC ファミリーに属する転写因子が発現している。SoxC ファミリー分子は HMG ドメインと C 末端に転写活性化部位を持ち、Sox4, Sox11, Sox12 が属しており、Sox4 は TGF- $\beta$  により誘導され、Th2 細胞の master regulator である GATA-3 の機能を抑制することが報告されていた。本研究者は予備実験にて CD4 陽性 T 細胞には Sox11 の発現は認めず、Sox4 と Sox12 のみが発現していること、Sox4 と Sox12 が Treg 細胞に発現していること、T 細胞に Sox12 を強制発現させると IL-21 の産生が抑制され Foxp3 の発現が誘導されることを見出していた。しかし、Treg 細胞と Th17 細胞の分化、及び自己免疫疾患の発症における Sox5 および SoxC ファミリー分子の役割は未だ不明であった。

2. 研究の目的

したがって、本申請研究ではこれまでの本研究者の研究を進展させ、自己免疫疾患の病態と Th17 細胞、Treg 細胞分化における Sox4, Sox5, Sox12 の役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 自己免疫疾患発症における Sox5 の役割の解析

T 細胞特異的 Sox5 欠損マウスを用いて、実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症や遅延型過敏症の発症を検討した。

(2) Treg 細胞における SoxC 分子の発現誘導とその機序の検討

後日公開予定

### (3) Treg 細胞分化における SoxC の役割

後日公開予定

#### 4 . 研究成果

##### (1) 自己免疫疾患発症における Sox5 の役割の解析

Th17 細胞依存性の自己免疫炎症における Sox5 の役割を検討する為に、T 細胞特異的 Sox5 欠損マウスを作製し EAE の発症を検討した。その結果、T 細胞特異的 Sox5 欠損マウスでは野生型マウスを比較して、EAE の発症が有意に抑制されており、組織学的にも脊髄の炎症細胞浸潤や脱髄が抑制されており、また脳脊髄中に浸潤した CD4 陽性 T 細胞の IL-17 や IFN- $\gamma$  の産生が有意に低下していることが明らかとなった。

従来、遅延型過敏反応は Th1 反応と考えられていたが、近年 Th17 細胞が遅延型過敏反応の増悪に関与している事が明らかとなっている。そこで T 細胞特異的 Sox5 欠損マウスを用いて遅延型過敏反応の発症を検討した。その結果、T 細胞特異的 Sox5 欠損マウスでは野生型マウスを比較して、遅延型過敏反応の発症が有意に抑制されており、所属リンパ節の CD4 陽性 T 細胞からの IL-17A と IFN- $\gamma$  の産生が有意に抑制されている事が明らかとなった。以上の結果、Sox5 は in vivo において Th17 細胞分化に重要な役割を果たしている事が明らかになった (*J Exp Med* 2014, *Oncotarget* 2015)。

##### (2) Treg 細胞における SoxC 分子の発現とその機序の検討

後日公表予定

##### (3) Treg 細胞分化における Sox12 の役割

後日公表予定

#### 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 11 件)

IkBNS enhances follicular helper T-cell differentiation and function downstream of ASC12. Hosokawa J, Suzuki K, Meguro K, Tanaka S, Maezawa Y, Suto A, Fujimura L,

Sakamoto A, Clevers H, Ohara O, Nakajima H. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Dec 28. In press. pii: S0091-6749(16)32476-9. 査読有り doi: 10.1016/j.jaci.2016.10.047.

IkBNS induces Muc5ac expression in epithelial cells and causes airway hyper-responsiveness in murine asthma models. Yokota M, Tamachi T, Yokoyama Y, Maezawa Y, Takatori H, Suto A, Suzuki K, Hirose K, Takeda K, Nakajima H. *Allergy*. 2017;72(7):1043-1053. 査読有り doi: 10.1111/all.13079.

T-bet inhibits innate lymphoid cell-mediated eosinophilic airway inflammation by suppressing IL-9 production. Matsuki A, Takatori H, Makita S, Yokota M, Tamachi T, Suto A, Suzuki K, Hirose K, Nakajima H. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(4):1355-1367. 査読有り doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.022.

SOCS3 Expressed in M2 Macrophages Attenuates Contact Hypersensitivity by Suppressing MMP-12 Production. Meguro K, Nakagomi D, Suzuki K, Hosokawa J, Fukuta T, Yokota M, Maezawa Y, Suto A, Nakajima H. *J Invest Dermatol*. 2016;136(3):649-57. 査読有り doi: 10.1016/j.jid.2015.12.010.

Sox5 and Th17 cell differentiation. Suto A, Tanaka S, Nakajima H. *Oncotarget*. 査読あり 2015;6(24):19952-3.

Role of Bcl-3 in the development of follicular helper T cells and in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Meguro K, Suzuki K, Hosokawa J, Sanayama Y, Tanaka S, Furuta S, Ikeda K, Takatori H, Suto A, Sakamoto A, Ohara O, Nakajima H. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(10):2651-60. 査読有り doi: 10.1002/art.39266.

Helios Enhances Treg Cell Function in Cooperation With FoxP3. Takatori H, Kawashima H, Matsuki A, Meguro K, Tanaka S, Iwamoto T, Sanayama Y, Nishikawa N, Tamachi T, Ikeda K, Suto A, Suzuki K, Kagami S, Hirose K, Kubo M, Hori S, Nakajima H. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67:1491-502. 査読有り doi: 10.1002/art.39091.

Matrix metalloproteinase 12 is produced by M2 macrophages and plays important roles in the development of contact

hypersensitivity. Nakagomi D, Suzuki K, Meguro K, Hosokawa J, Tamachi T, Takatori H, Suto A, Matsue H, Ohara O, Nakayama T, Shimada S, Nakajima H. J Allergy Clin Immunol. 2015;135(5): 1397-400. 査読有り doi: 10.1016/j.jaci.2014.10.055.  
Sox5 and c-Maf cooperatively induce Th17 cell differentiation via RORyt induction as downstream targets of Stat3. Tanaka S, Suto A, Iwamoto T, Kashiwakuma D, Kagami S, Suzuki K, Takatori H, Tamachi T, Hirose K, Onodera A, Suzuki J, Ohara O, Yamashita M, Nakayama T, Nakajima H. J Exp Med. 2014;211(9):1857-74. 査読有り doi: 10.1084/jem.20130791.  
AT-rich-interactive domain-containing protein 5A functions as a negative regulator of retinoic acid receptor-related orphan nuclear receptor  $\gamma$ t-induced Th17 cell differentiation. Saito Y, Kagami S, Sanayama Y, Ikeda K, Suto A, Kashiwakuma D, Furuta S, Iwamoto I, Nonaka K, Ohara O, Nakajima H. Arthritis Rheumatol. 2014;66(5):1185-94. 査読有り doi: 10.1002/art.38324.  
Interleukin-21-producing c-Maf-expressing CD4+ T cells induce effector CD8+ T cells and enhance autoimmune inflammation in scurfy mice. Iwamoto T, Suto A, Tanaka S, Takatori H, Suzuki K, Iwamoto I, Nakajima H. Arthritis Rheumatol. 2014;66(8):2079-90. 査読有り doi: 10.1002/art.38658.

〔学会発表〕(計 0件)

〔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：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(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：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.m.chiba-u.jp/class/allergy/research/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

須藤 明 (SUTO, Akira)  
千葉大学・大学院医学研究院・特任准教授  
研究者番号：50447306

### (2) 研究分担者

鈴木 浩太郎 (SUZUKI, Kotaro)  
千葉大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：90554634

### (3) 連携研究者

中島 裕史 (NAKAJIMA, Hiroshi)  
千葉大学・大学院医学研究院・教授  
研究者番号：322024