

過剰な免疫反応を抑制する制御性 T 細胞の発生過程を明らかに

—免疫寛容に不可欠な非コード DNA 領域を発見—

キーワード：制御性 T 細胞 (Treg)、Foxp3、非コード DNA 領域、自己免疫疾患

❖ 研究成果のポイント

- タンパク質の設計図情報を持っていない非コード DNA 領域^{*1}の中から、制御性 T 細胞(Treg 細胞)^{*2}の発生に不可欠な DNA 領域を同定した
- この DNA 領域は、制御性 T 細胞のマスター転写因子 Foxp3 遺伝子^{*3}周辺に 2 ヶ所に分かれて存在しており、欠損したマウスは深刻な自己免疫疾患^{*4}を発症した
- 制御性 T 細胞の発生や機能をコントロールする免疫疾患治療法の開発が期待される

❖ 研究の概要

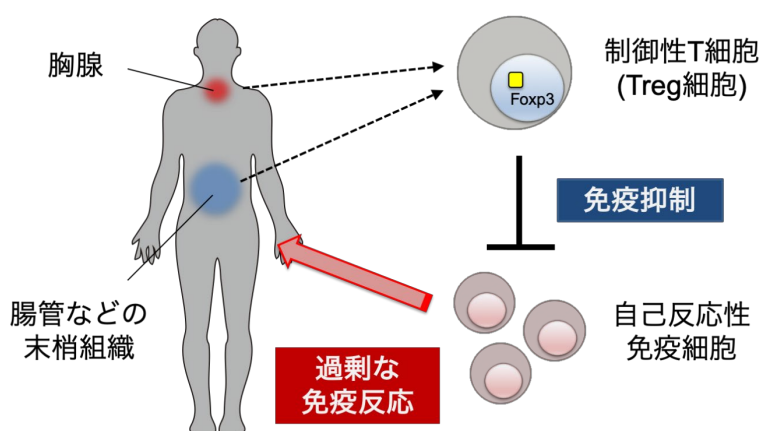
IFReC 実験免疫学教室の川上 竜司招へい教員、北川 瑤子研究員（当時）、坂口 志文特任教授らの研究グループは、制御性 T 細胞が発生する際に利用される DNA 領域を調べ、**制御性 T 細胞の分化と免疫恒常性の維持に不可欠な DNA 領域を発見**しました。

❖ 研究の背景

免疫系はウイルスや細菌など、生体にとって害となる病原性の異物を適切に捕捉し排除する一方で、自己抗原や食物、共生細菌などに対しては過剰に反応しない免疫寛容状態を成立させています。

ヘルパー T 細胞のひとつである**制御性 T 細胞(Treg 細胞)**は、過剰な免疫応答にブレーキをかけることで、自己免疫疾患の防止、免疫応答の終息、傷ついた組織の修復など、多様な場面で生体の恒常性を保つためにはたります。

これまでに、制御性 T 細胞が抗原刺激を受けた CD4 陽性 T 細胞の一部から分化すること、核内タンパク質のひとつである**転写因子 Foxp3** が免疫抑制能に重要であることがわかっていました。しかし、**細胞の核の中でどのような現象が起こって制御性 T 細胞が生まれてくるか**は明らかではありませんでした。

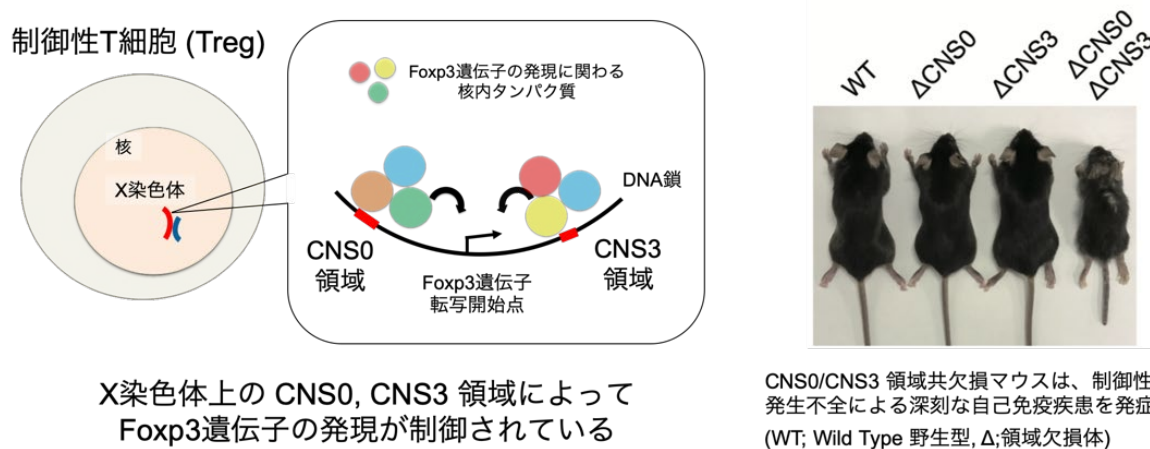


胸腺や末梢で生まれた制御性T細胞(Treg細胞)は過剰な免疫反応にブレーキをかける

❖ 研究の詳細

制御性 T 細胞は胸腺や末梢の腸管組織などで抗原に遭遇した CD4 陽性 T 細胞から分化しますが、幼少期の胸腺の中で特に大量に作られることが知られています。研究グループは制御性 T 細胞の発生メカニズムを明らかにするために、マウス胸腺で T 細胞に分化する途中の未熟な細胞から制御性 T 細胞に分化するまでに活性化する DNA 領域を、次世代 DNA シークエンス技術^{*5}を用いて調べました。

その結果、制御性 T 細胞の分化と機能に重要な転写因子である Foxp3 遺伝子領域周辺に、T 細胞分化の初期から活性化している DNA 領域が 2 カ所に分かれて点在していることがわかりました。これら 2 ヶ所の領域は X 染色体上にあり、それぞれ CNS0、CNS3 領域と呼ばれる 400 塩基対と 200 塩基対の小さな DNA 配列ですが、タンパク質の設計図情報をもっていない非コード DNA 領域です。しかし、ヒトを含む多くの哺乳類 DNA の中で類似した配列が認められる（進化的な保存度が高い）ことから、制御性 T 細胞の発生に関与している可能性が考えられました。



そこで、CNS0・CNS3 領域のそれぞれ、または両方を欠損するマウスを、CRISPR/Cas9 システムと呼ばれるゲノム編集技術^{*6}で作成し、制御性 T 細胞の分化や機能に及ぼす影響を検討しました。CNS0 または CNS3 それぞれ片方だけ欠損したマウスは制御性 T 細胞をわずかに減少させましたが、個体は正常に発育しました。一方で、2 ヶ所を両方とも同時に欠損したマウスは胸腺での正常な制御性 T 細胞分化ができず、全身の臓器において深刻な自己免疫疾患を発症しました。これらの実験から、**制御性 T 細胞の発生と自己免疫寛容の成立のために、タンパク質の情報そのものではない非コード DNA 領域が重要な役割を果たしていることが証明されました。**

CNS0、CNS3 領域はそれぞれ制御性 T 細胞の分化や機能に重要な核内タンパク質に認識される DNA 配列を持っていましたが、どのようなタンパク質に認識されるかは必ずしも一致しませんでした。また、これらの領域は T 細胞分化の過程で独立して活性化し、Foxp3 遺伝子周辺の DNA 領域間で立体的な相互作用を形成することもわかりました。これらの検討から、**CNS0、CNS3 領域は制御性 T 細胞の分化段階において、Foxp3 遺伝子のプロモータ領域と立体的に相互作用して協調的に Foxp3 遺伝子の発現を調節する機能があると結論づけられました。**

以上の成果は京都大学ウイルス・再生医科学研究所、スタンフォード大学との共同研究で、Elsevier 社の学術誌 Immunity に掲載されました。

❖ 本研究の意義・社会に与える影響

関節リウマチや多発性硬化症等の自己免疫疾患や、現在世界的に流行している新型コロナウイルス関連疾患など、免疫系が過剰に活性化して身体を傷つける疾病には、根本的な予防・治療法がないケースが多くあります。本研究で制御性 T 細胞が発生する際に機能する重要な DNA 領域が同定されたことは、その発生メカニズムの理解にとって大きな一歩です。これをもとに「過剰に活性化した T 細胞を制御性 T 細胞に転換する方法」や「体内に制御性 T 細胞が発生しやすい環境を作る方法」を考えることが可能となり、**様々な免疫疾患の根本的な予防や治療法の開発に繋がる**ことが期待されます。

❖ 用語解説

* 1 : 非コード DNA 領域 (Non-coding sequence)

DNA の中でタンパク質の設計図情報として使用されない領域。真核生物 DNA 全体のほとんどを占めるが大部分の機能は不明で、かつては「がらくた(Junk)DNA」とも呼ばれていた。一部の DNA 配列は多数の生物種の間で共通していることから「進化的に高度に保存された非コード領域」Conserved Non-coding Sequence (CNS)と呼ばれる。

* 2 : 制御性 T 細胞 (Regulatory T cell; Treg)

免疫抑制能に特化した CD4 陽性ヘルパー T 細胞の一種。自己反応性の免疫応答を防ぐために不可欠な役割を果たしている。がん、ウイルス・細菌感染、自己免疫疾患など、様々な免疫応答や疾患の病態に関与する。

* 3 : Foxp3 遺伝子

制御性 T 細胞の機能に重要な転写因子。核内で様々な遺伝子の発現をコントロールし、T 細胞に免疫抑制能を賦与する。

* 4 : 自己免疫疾患 (Autoimmune disease)

免疫系が、自己を誤認識して活性化することで起こる疾患の総称。免疫系によって認識される自己抗原の違いによって、全身や臓器に病態を引き起こす。多発性硬化症、関節リウマチ、重症筋無力症、全身性エリトマトーデスなど。

* 5 : 次世代 DNA シーケンス技術 (Next-generation DNA sequencing technology)

高速で DNA 配列を解析する技術開発が進み、特定の生物種ゲノムの全塩基配列や、遺伝子の発現情報を迅速かつ網羅的に得ることが可能になった。

* 6 : ゲノム編集 (Genome editing)

ゲノム中の特定の DNA 配列を標的にして、改変する技術。本研究では、CRISPR/Cas9 システムを利用し、特定の DNA 領域を削除したマウスを作成した。

❖ 掲載論文・雑誌

Title: "Distinct Foxp3 enhancer elements coordinate development, maintenance and function of regulatory T cells"

「特定の Foxp3 エンハンサー領域が制御性 T 細胞の分化、維持とその機能を統御する」

Authors: Ryoji Kawakami*, Yohko Kitagawa*, Kelvin Y. Chen, Masaya Arai, Daiya Ohara, Yamami Nakamura, Keiko Yasuda, Motonao Osaki, Norihisa Mikami, Caleb A. Lareau, Hitomi Watanabe, Gen Kondoh, Keiji Hirota, Naganari Ohkura, and Shimon Sakaguchi**

(*; contributed equally, **, corresponding)

Immunity 2021 年 4 月 29 日 オンライン

DOI:<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.04.005>

❖ 特記事項

本研究成果は、日本学術振興会の特別推進研究「制御性 T 細胞による免疫応答制御の包括的研究」ならびに国立医療研究開発機構（AMED）の Leading Advanced Projects for medical innovation「制御性 T 細胞を標的とした免疫応答制御技術に関する研究開発」の一環として得られたものです。