

制御性 T 細胞を安定化させるタンパク質を発見

～自己免疫疾患や癌の画期的な治療法開発に期待～

キーワード：制御性 T 細胞、Foxp3、Ikzf1、自己免疫疾患

【研究成果のポイント】

- 制御性 T 細胞 (Treg)^{※1} の機能安定性維持には、Ikzf1^{※2} との相互作用が必要であることを解明。
- 転写因子 Ikzf1 は、制御性 T 細胞 (Treg) のマスター転写因子^{※3} である Foxp3^{※4} と相互作用することが知られていたが、Treg におけるその役割は不明であった。
- Foxp3 との結合に必要な Ikzf1 の領域を同定し、さらにその結合領域を欠損させて相互作用を阻害すると、IFN- γ ^{※5} の過剰産生を介した Treg の機能不安定化が誘導され、結果として重篤な自己免疫疾患が発症することを明らかにした。
- IKZF1 分解誘導剤であるボマリドミド^{※6} は、IKZF1 の発現抑制を介してヒト Treg の機能不安定化を促進する。
- Foxp3 および Ikzf1 の相互作用を標的として Treg の機能安定性を制御する新たな免疫応答制御法の開発、自己免疫疾患や癌などの様々な免疫関連疾患に対する画期的な治療法の開発に期待

❖ 概要

大阪大学免疫学フロンティア研究センター (WPI-IFReC) の市山 健司 特任准教授(常勤)、坂口 志文 特任教授(常勤)らの研究グループは、大塚製薬株式会社、米国ハーバード大学との共同研究で、転写因子 Ikzf1 が自身の Exon 5 (IkE5) 領域を介して Foxp3 と結合することを見出しました。さらに、Treg 特異的に IkE5 を欠損させると、IFN- γ の過剰産生を介した Treg の機能不安定化が誘導され、マウスが重篤な炎症性疾患を発症することから、Foxp3 と Ikzf1 の相互作用が Treg の機能安定性維持に重要であることを明らかにしました(図1)。また、ヒト Treg においても IKZF1 の発現を減少させることで、Treg の機能不安定化が誘導可能であることを見出しました。

今後、Foxp3 および Ikzf1 の相互作用を標的として人為的に Treg 機能安定性を制御する新たな免疫応答制御法の開発が期待されます。

❖ 研究の背景

Treg は免疫自己寛容の確立・維持において中心的な働きを担っており、自己免疫応答やアレルギー反応、移植免疫、腫瘍免疫など、あらゆる免疫応答の抑制的制御に関与すると考えられています。転写因子や修飾酵素など多くのタンパク質は他のタンパク質や生体高分子と相互作用し、複合体を形成することでその機能を果たすことが知られています。実際に Treg においてもマスター転写因子 Foxp3 が様々な転写因子と複合体を形成し、Treg 特異的な遺伝子発現を制御することがこれまでに報告されています。しかしながら、転写因子 Ikzf1 は Foxp3 と結合することは知られていたものの、その Treg における役割はよく分かっていませんでした

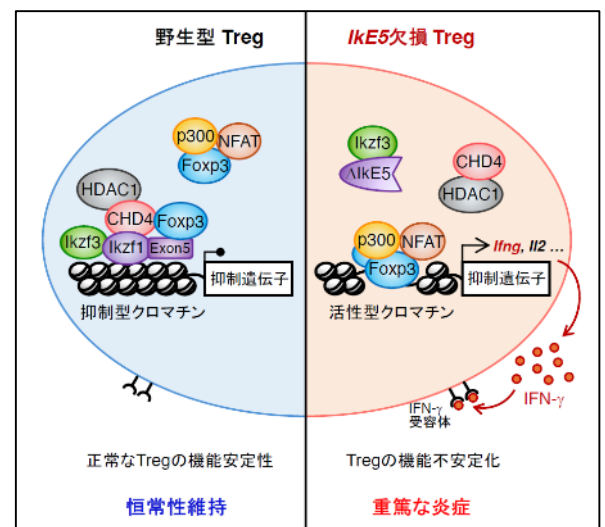


図1 本研究成果の概要

IkE5 欠損 (Δ IkE5) により、NuRD 複合体が Foxp3 から解離し、p300 や NFAT が *Ikzf1* 遺伝子付近に結合することで転写が活性化される。その結果、過剰に産生された IFN- γ を介して Treg の機能不安定化が誘導され、重篤な炎症疾患が発症する。

❖ 研究の内容

Foxp3 との相互作用に必要な Ikzf1 の領域を同定するため、種々の Ikzf1 変異体を作製し、免疫沈降実験を行った結果、Ikzf1 は自身の Exon 5 領域 (IkE5) を介して Foxp3 と結合することを見出しました(図 2A)。次に、Ikzf1 と Foxp3 の相互作用が Treg に及ぼす役割を検討するため、Treg 特異的に IkE5 を欠損する遺伝子改変マウス (Foxp3^{Cre}IkE5^{ff} マウス) を作製し、その表現型を解析したところ、Foxp3^{Cre}IkE5^{ff} マウスは重篤な自己免疫疾患を発症し、早期に死亡することが明らかとなりました(図 2B)。そこで自己免疫疾患発症の原因を探るため、Foxp3^{Cre}IkE5^{ff} マウスの末梢組織に存在する Treg の割合を確認したところ、野生型マウス (Foxp3^{Cre}) と比較して Foxp3^{Cre}IkE5^{ff} マウスでは Treg の割合が減少し、それに伴って Foxp3 を失った exTreg^{※7} の割合が有意に増加することを見出しました(図 2C)。このことから、Foxp3 と Ikzf1 の相互作用を阻害すると Treg の機能安定性が障害され、その結果、自己免疫疾患を発症する可能性が示唆されました。

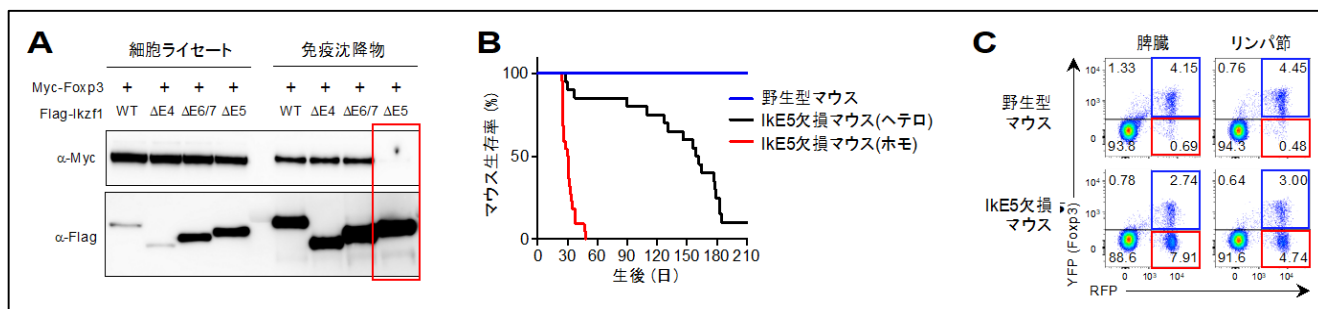


図 2 Treg 特異的 IkE5 欠損マウスの表現型解析

A) Foxp3 と Ikzf1 変異体の免疫沈降実験. IkE5 欠損変異体だけ Foxp3 との結合が消失する(赤枠). B) 各種マウスの生存曲線. IkE5 欠損マウス(赤線)は野生型マウス(青線)と比較して早期に死亡する. C) 末梢組織における Foxp3 陽性 Treg (YFP⁺RFP⁺: 青枠) および exTreg (YFP⁺RFP⁻: 赤枠) の割合. IkE5 欠損マウスでは exTreg の割合が増加する。

次に、IkE5 欠損による Treg の機能障害の分子機構を解明するため、Treg で特徴的な遺伝子の発現を確認した結果、IkE5 欠損 Treg では、通常 Foxp3 によって抑制されている IFN- γ の発現が顕著に上昇していました。IFN- γ は Treg の機能不安定化を誘導することが知られていたため、IkE5 欠損による Treg の機能不安定化に IFN- γ が寄与するか確認したところ、IFN- γ の遺伝子欠損により Foxp3^{Cre}IkE5^{ff} マウスにおける exTreg の割合が野生型マウスと同程度まで回復しました (図 3A)。このことから、IkE5 欠損による過剰な IFN- γ 産生が Treg 異常の主な原因である事が示唆されました。さらに、IkE5 欠損でなぜ IFN- γ 産生が増強するのか検討するため、IFN- γ 遺伝子付近のクロマチン^{※8} 状態を解析した結果、IkE5 欠損により IFN- γ 遺伝子付近のクロマチン構造が活性型になること、そして、その場所に活性化因子である p300^{※9} や IFN- γ の発現誘導に寄与する転写因子 NFAT が動員されることが明らかとなりました。また、IkE5 欠損による Foxp3 複合体への影響を免疫沈降法で検討したところ、IkE5 欠損により NuRD 複合体^{※10} が Foxp3 と解離することを見出しました (図 3B)。

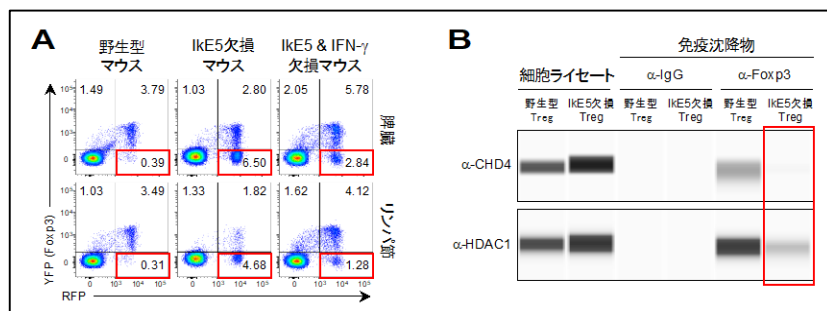


図 3 IkE5 欠損 Treg の機能不安定化の分子機構

(A) 末梢組織における exTreg (YFP⁺RFP⁻: 赤枠) の割合. IFN- γ 欠損により、IkE5 欠損で見られた exTreg の増加がキャンセルされる。(B) Foxp3 と NuRD 複合体の免疫沈降実験. IkE5 欠損 Treg では、Foxp3 と NuRD 複合体構成因子の結合が減弱する(赤枠)。

以上の結果から、通常 Foxp3 は NuRD 複合体を介して IFN- γ 遺伝子付近のクロマチン状態を抑制型にすることでその発現を抑制しますが、IkE5 欠損により NuRD 複合体が Foxp3 から解離するとクロマチン状態が活性型へと偏向し、p300 や NFAT を介した IFN- γ の転写活性化が起こると考えられます。最後に、ヒト Treg における IKZF1 の役割を検討するため、IKZF1 の分解誘導剤として知られるポマリドミドとヒト Treg の共培養実験を行いました。その結果、ポマリドミド処理により IFN- γ の高産生を介した FOXP3 の発現低下が観察され、**ヒト Treg の機能安定性維持にも IKZF1 が大事であることが示唆されました。**

❖ **本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)**

近年、Treg が様々なヒト免疫関連疾患で重要な役割を担っている可能性が明らかになって以降、ヒトの免疫疾患制御に向けて Treg を操作あるいは標的とした治療法の開発が世界中で注目を集めています。本研究成果に基づいて、Treg の機能安定性を人為的に制御可能な方法が確立されれば、自己免疫疾患や癌などの**様々な免疫関連疾患に対する画期的な治療法の開発に繋がるのが期待できます。**

❖ **掲載論文・雑誌**

掲載紙 : Immunity 2024 年 8 月 7 日 (日本時間午前 0 時) オンライン版

タイトル: "Transcription factor Ikzf1 associates with Foxp3 to repress gene expression in Treg cells and limit autoimmunity and anti-tumor immunity"

著者名 : Kenji Ichiyama*, Jia Long, Yusuke Kobayashi, Yuji Horita, Takeshi Kinoshita, Yamami Nakamura, Chizuko Kominami, Katia Georgopoulos, and Shimon Sakaguchi*
(*; corresponding)

❖ **特記事項**

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業(16H06295、21H02748)、日本医療研究開発機構(AMED)(18cm0106303、18gm0010005)、武田科学振興財団の支援を受けて行われました。

❖ 用語説明

※1 制御性 T 細胞 (Treg)

積極的に抑制性の応答を促す CD4 陽性ヘルパーT (Th)細胞の一種。免疫自己寛容の確立・維持において中心的な働きを担っており、自己免疫応答や腫瘍免疫など、あらゆる免疫応答の抑制的制御に関与する。

※2 Ikzf1

Zinc fingerドメインを有する Ikaros family 転写因子の一つ。造血系において重要な機能を示し、主に初期 B 細胞や CD4 陽性 T 細胞の発達を制御する。

※3 マスター転写因子

細胞分化に伴ってその細胞種に特有の遺伝子群の発現がオンになる。その際、最初のスイッチとして機能する転写因子のこと。細胞のアイデンティティーを決める重要なタンパク質。

※4 Foxp3

Treg の分化および機能に必須のマスター転写因子。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。

※5 IFN- γ

主に活性化された T 細胞や NK 細胞から分泌されるサイトカインで、Treg では通常発現が抑制されている。白血球による炎症を強化する作用を持ち、Treg の機能不安定化を誘導する。

※6 ポマリドミド

多発性骨髄腫の治療に用いられる免疫調節薬の一つであり、Ikzf1 の強力な分解誘導剤でもある。

※7 exTreg

以前 Foxp3 を発現していたが、何らかの理由により Foxp3 の発現を失った T 細胞のこと。Treg の様な免疫抑制機能は無い。

※8 クロマチン

真核生物の細胞核にある DNA とヒストンの複合体。遺伝子の転写が活発な領域のクロマチンは、比較的緩んでおりオープンな状態(活性型)となり、そこに転写を活性化させる因子が動員され結合する。一方、遺伝子発現が抑制されている領域は、クロマチンが凝集しクローズな状態(抑制型)となる。

※9 p300

ヒストンアセチル化転移酵素の一種であり、転写因子に直接結合することで標的遺伝子の発現を促進する。

※10 NuRD 複合体

抑制型のクロマチン構造を形成する複合体であり、転写抑制に寄与する。構成因子としてヒストン脱アセチル化酵素:HDAC1 やクロマチン再構成因子:CHD4 などが含まれている。