

「免疫難病・感染症等の先進医療技術」

平成 15 年度採択研究代表者

坂口 志文

(京都大学再生医科学研究所 教授)

「制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発」

1. 研究実施の概要

CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞は、正常個体の末梢に生理的に存在する特異な T 細胞集団であり、免疫応答を抑制的に制御する。この細胞集団の機能的異常は、ヒトの自己免疫疾患、アレルギーなどの直接原因となりうる。従って、この制御性 T 細胞群の機能を明らかにすれば、ヒト自己免疫病の新しい治療法につながる。また、制御性 T 細胞の機能を人為的に弱めて免疫応答を増強すれば、難治感染症や悪性腫瘍に対する免疫応答の増強による免疫療法の開発が可能となる。一方、制御性 T 細胞を抗原特異的に増強できれば、移植片に対して特異的免疫寛容状態を誘導できよう。そのため、本研究では、CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞の産生機構、抑制機能を、分子レベル、細胞レベル、個体レベルで解明する。即ち、制御性 T 細胞上に発現する抑制機能分子、増殖・活性化に関与する分子を同定し、抑制機構、増殖・活性化機構を解明する。また、それらの胸腺内、末梢での発生・分化機構を解明する。その展開として、制御性 T 細胞による自己免疫病治療法の開発、制御性 T 細胞機能の強化による移植免疫寛容導入法、あるいは減弱による腫瘍免疫誘導法、さらに制御性 T 細胞機能の操作による感染症・アレルギー治療法を開発する。さらに、これらの方法を用いて前臨床的研究につなげる。

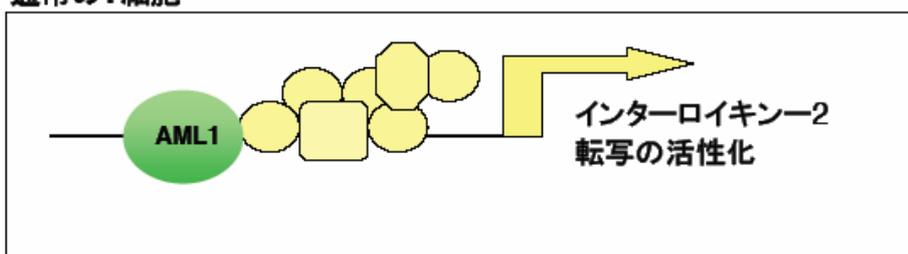
2. 研究実施内容

本プロジェクト（「制御性 T 細胞による新しい免疫制御法の開発」）の最近の成果のひとつとして、制御性 T 細胞特異的転写因子 Foxp3 の遺伝子制御機構に関して、別の転写因子 AML1/Runx1（以下 AML1）と結合することにより、その制御活性を発揮することを示した。まず、免疫制御に必須なサイトカインである IL-2 の発現を制御する遺伝子の動作メカニズムを解析し、その結果、通常の T 細胞においては、AML1 が IL-2 の遺伝子制御領域に結合し、IL-2 の遺伝子発現を活性化していることを見出した。対照的に、転写因子 Foxp3 を発現する制御性 T 細胞においては、AML1 は IL-2 転写を活性化できなかった。この結果は、制御性 T 細胞において、Foxp3 が AML1 と結合することによって、IL-2 の転写活性化を抑制していることを示唆する。実際、Foxp3 と AML1 は物理的に結合する。また、実験的に AML1 と結合

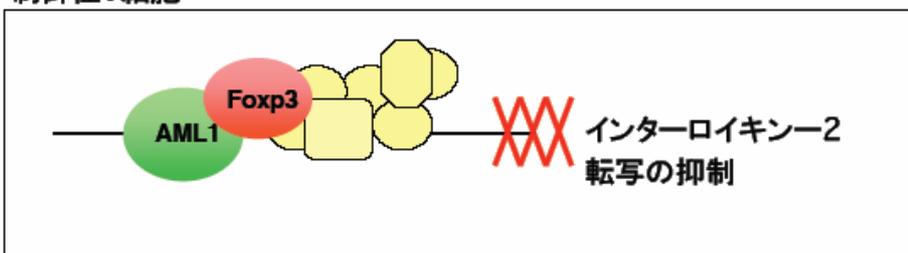
できない変異型 Foxp3 を作製し解析したところ、野生型 Foxp3 が IL-2 の転写を抑制するのに対して、AML1 と結合できない変異型 Foxp3 は IL-2 の転写を抑制できないことを示した。さらに、野生型 Foxp3 および AML1 と結合する変異型 Foxp3 を遺伝子導入すると、導入された T 細胞は新たに免疫調節機能を獲得したが、AML1 と結合できない変異型 Foxp3 を遺伝子導入された T 細胞は、免疫調節機能を獲得できなかった。一方、RNA 干渉により、実験的に制御性 T 細胞内での AML1 の発現を減らすと、制御性 T 細胞の機能は弱化した。これらの結果から、通常の T 細胞においては、AML1 は免疫反応を引き起こすための遺伝子を制御しており、制御性 T 細胞においては、Foxp3 と AML1 が相互作用し、複合体を形成することで、制御性 T 細胞としての遺伝プログラムを実行していると考えられた (図)。

Foxp3とAML1の相互作用による遺伝子調節

通常のT細胞



制御性T細胞



この結果により、Foxp3 と AML1 の相互作用に干渉することにより、制御性 T 細胞機能を制御できる可能性が開けた。この発見は、これまで謎が多かった自己免疫・アレルギー疾患の発症メカニズムを解明することにも貢献するのみならず、様々な免疫疾患の新しい治療薬の創薬や、腫瘍に対する免疫反応を高める作用を持つ新しいがんの治療薬、新しい免疫抑制剤の開発に繋がると考える。

3. 研究実施体制

本研究はすべて、坂口志文グループで行う。

①研究分担グループ長：坂口志文(京都大学 再生医科学研究所 生体機能調節学分野 教授)

②研究実施項目：

- ・制御性 T 細胞上に発現する抑制機能分子の同定。
- ・制御性 T 細胞の増殖・活性化に関する分子の同定と増殖・活性化機構の解明。
- ・制御性 T 細胞の胸腺内発生・分化機構の解明。
- ・制御性 T 細胞による自己免疫病治療法の開発。
- ・制御性 T 細胞機能の強化による移植免疫寛容導入法の開発。
- ・制御性 T 細胞機能の減弱による腫瘍免疫誘導法の開発。
- ・制御性 T 細胞機能の操作による感染症・アレルギー治療法の開発。

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, Kitabayashi I, Nagamura Y, Nomura T, Miyachi Y, Tsukada T, Sakaguchi S. Foxp3 controls regulatory T cell function via interacting with AML1/Runx1. *Nature*. 446:685-689, 2007.
- Nomura T, Sakaguchi S. Foxp3 and Aire in thymus-generated T(reg) cells: a link in self-tolerance. *Nat Immunol*. 8:333-334, 2007.
- Miyara M, Sakaguchi S. Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med*. 13:108-116, 2007.
- Hirota K, Hashimoto M, Yoshitomi H, Tanaka S, Nomura T, Yamaguchi T, Iwakura Y, Sakaguchi N, Sakaguchi S. T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17⁺ Th cells that cause autoimmune arthritis. *J Exp Med*. 204:41-47, 2007.
- Koshiba T, Li Y, Takemura M, Wu Y, Sakaguchi S, Minato N, Wood KJ, Haga H, Ueda M, Uemoto S. Clinical, immunological, and pathological aspects of operational tolerance after pediatric living-donor liver transplantation. *Transpl Immunol*. 17:94-97, 2007.
- Bodor J, Fehervari Z, Diamond B, Sakaguchi S. Regulatory T cell-mediated suppression: potential role of ICER. *J Leukoc Biol*. 81:161-167, 2007.
- Lee SK, Choi BK, Kim YH, Kang WJ, Kim KH, Sakaguchi S, Suh JH, Kim TY, Kwon BS. Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor family-related receptor signalling exacerbates hapten-induced colitis by CD4⁺ T cells. *Immunology*. 119(4):479-87, 2006.
- Yamaguchi T, Sakaguchi S. Skin controls immune regulators. *Nat Med*. 12:1358-1359, 2006.
- Katakai T, Nomura T, Gonda H, Sugai M, Agata Y, Nishio A, Masuda T, Sakaguchi S, Shimizu A. Spontaneous Large-Scale Lymphoid Neogenesis and Balanced Autoimmunity versus Tolerance in the Stomach of H⁺/K⁺-ATPase-Reactive TCR Transgenic Mouse. *J Immunol*. 177:7858-67,

2006.

- Cobb BS, Hertweck A, Smith J, O'connor E, Graf D, Cook T, Smale ST, Sakaguchi S, Livesey FJ, Fisher AG, Merckenschlager M. A role for Dicer in immune regulation. *J Exp Med.* 203:2519-2527, 2006.
- Matsubara Y, Hori T, Morita R, Sakaguchi S, Uchiyama T.: Delineation of immunoregulatory properties of adult T-cell leukemia cells. *Int. J. Hematol.* 84:63-69, 2006.
- Kobayashi K, Suda T, Nan-Ya K, Sakaguchi N, Sakaguchi S, Miki I. Cytokine production profile of splenocytes derived from zymosan A-treated SKG mice developing arthritis. *Inflamm Res.* 55:335-341, 2006.
- Wing, K. and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells in allergy. *Curr. Opin. Allergy and Immunol.* 6:482-8, 2006.
- Sakaguchi, S.: Introduction: Regulatory T cells. *Springer Semin. Immunopathol.* 28:1-2, 2006.
- Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.: Peacekeepers of the immune system. *Sci Am.* 295:56-63, 2006.
- Wing, K., Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: Emerging possibilities in the development and function of regulatory T cells. *Int. Immunol.* 18:991-1000, 2006.
- Sugimoto, N., Oida, T., Hirota, K., Nakamura, K., Nomura, T., Uchiyama, T., and Sakaguchi, S.: Foxp3-dependent and -independent molecules specific for CD25⁺CD4⁺ natural regulatory T cells revealed by DNA microarray analysis. *Int. Immunol.* 18:1197-1209, 2006.
- Nishioka, T., Shimizu, J, Iida, R., Yamazaki, S., and Sakaguchi, S.: CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T cells and CD4⁺CD25⁻Foxp3⁺ T cells in aged mice. *J. Immunol.* 176:6586-6593, 2006.
- Ramirez-Montagut T, Chow A, Hirschhorn-Cymerman D, Terwey TH, Kochman AA, Lu S, Miles RC, Sakaguchi S, Houghton AN, van den Brink MR. Glucocorticoid-Induced TNF Receptor Family Related Gene Activation Overcomes Tolerance/Ignorance to Melanoma Differentiation Antigens and Enhances Antitumor Immunity. *J Immunol.* 176:6434-6442, 2006.
- Sakaguchi, S.: Regulatory T cells: meden agan. *Immunol. Rev.* 212:5-7, 2006.
- Sakaguchi, S., Ono, M., Setoguchi, R., Hori, S., Fehervari, Z., Shimizu, J., Takahashi, T., and Nomura, T.: Foxp3⁺CD25⁺CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol. Rev.* 212:8-27, 2006.
- Cohen AD, Diab A, Perales MA, Wolchok JD, Rizzuto G, Merghoub T, Huggins D, Liu C, Turk MJ, Restifo NP, Sakaguchi S, Houghton AN. Agonist anti-GITR antibody enhances vaccine-induced CD8(+) T-cell responses and tumor immunity. *Cancer Res.* 66:4904-4912, 2006.
- Kim, J., Choi, W. S, Kim, H. J., Suh, J-H., Sakaguchi, S., and Kwon B.: Conversion of

alloantigen-specific CD8⁺ T-cell priming through in vitro ligation of glucocorticoid-induced TNF receptor. *J. Immunol.* 176:5223-5231, 2006.

- Ono, M., Shimizu, J., Miyachi, Y., and Sakaguchi, S.: Induction of fatal autoimmune myocarditis and other autoimmune diseases in mice by depleting Foxp3-expressing naturally arising CD4⁺ regulatory T cells. *J. Immunol.* 176:4748-4756, 2006.
- Fehervari, Z., Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S.: The dichotomous roles of IL-2: tolerance versus immunity. *Trends Immunol.* 27:109-111, 2006.
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Yoshitomi, H., Hata, H., Takahashi, T., and Nomura, T.: Spontaneous development of autoimmune arthritis due to genetic anomaly of T cell signal transduction: Part 1. *Semin. Immunol.* 18:199-206, 2006.
- Yamaguchi, T. and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells in immune surveillance and treatment of cancer. *Semin. Cancer Biol.* 16:115-123, 2006.
- Sakaguchi, S., Takahashi, T., Hata, H., Yoshitomi, H., Tanaka, S., Hirota, K., Nomura, T., and Sakaguchi, N. SKG mice, a monogenic model of autoimmune arthritis due to altered signal transduction in T cells. In *The hereditary Basis of Rheumatic Diseases, Progress in Inflammation Research*. Edited by Rikard Holmdahl, Birkhaeuser Verlag, Basel, p147-159, 2006.
- Nagahama, K., and Sakaguchi, S.: Preparation of regulatory T cells in vitro. In *Immunological Tolerance: Methods and Protocols*, edit. P. J. Fairchild, Humana Press, In press.
- Sakaguchi, S., Setoguchi, R., Yagi, H., and Nomura, T.: Naturally arising Foxp3-expressing CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease. *Curr Top Microbiol Immunol.* 305:51-66, 2006.
- Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.: T lymphocytes: Regulatory. *Nature Encyclopedia of Life Sciences*. Wiley Interscience, 2006. Available at www.els.net.

(2) 特許出願

平成 18年度特許出願:0件(CREST 研究期間累積件数:4件)