

「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所長・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

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、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、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たい。

2. 研究実施内容

本プロジェクトでの、平成 19 年度を代表する成果は、Foxp3 の遺伝子制御機構の解明と、制御性 T 細胞に特異的に発現する葉酸受容体の同定の二つである。

小野は、制御性 T 細胞特異的転写因子 Foxp3 が、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。通常の T 細胞において、免疫制御に必須のサイトカインである IL-2 の発現制御を解析したところ、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することが分かった。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 細胞における IL-2 転写活性の抑制機序が、Foxp3 と AML1 の結合によるものであることを示唆するが、実際に Foxp3 と AML1 が物理的に結合する事も明らかにした。また、AML1 と結合しない変異型 Foxp3 が、IL-2 の転写を抑制しないことを明らかにした。更に、RNA 干渉により制御性 T 細胞の AML1 発現を抑制すると、同細胞の免疫抑制活性が減弱した。これらの結果から、(1) 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、一方で、(2) 制御性 T 細胞においては、Foxp3 と AML1 が相互作用して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 1)。

Foxp3とAML1の相互作用による遺伝子調節

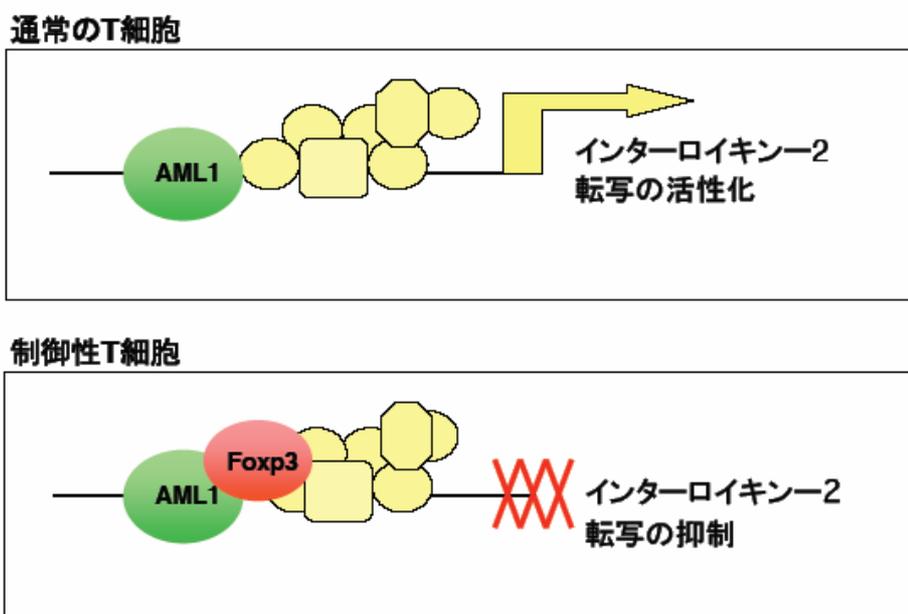


図 1

この結果から、Foxp3 と AML1 の相互作用に介入することで、制御性 T 細胞の機能を人為的に制御できる可能性が開かれた。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の解明に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。

山口は、4 型葉酸受容体 (FR4) が、制御性 T 細胞に特異的に発現することを発見した。山口が樹立した抗 4 型葉酸受容体抗体 TH6 を正常マウスに投与すると、制御性 T 細胞の数が著しく減少する。また新生仔期に同抗体を投与された正常マウスは、成熟後、遺伝的背

景に依存して、様々な自己免疫病を自然発症することが分かった。興味深い事に、TH6 を Fab 断片化してもこの作用が保持される。すなわち、TH6 による制御性 T 細胞数の減少は、補体や抗体結合依存性の細胞傷害によるものではない。葉酸等のリガンドが FR4 に結合することが制御性 T 細胞数の維持に必須なのだと考えられる。更に TH6 は、担がんマウスの腫瘍免疫を強力に惹起することも明らかにした。この発見は、がん治療剤の開発に繋がると考える。

3. 研究実施体制

(1) 「坂口志文」グループ

①研究者名:坂口 志文 (京都大学再生医科学研究所、所長・教授)

②研究項目

- (1) 制御性 T 細胞上に発現する抑制機能分子の同定。
- (2) 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。
- (3) 制御性 T 細胞の胸腺内発生・分化機構の解明。
- (4) 制御性 T 細胞による自己免疫病治療法の開発。
- (5) 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。
- (6) 制御性 T 細胞機能の減弱による腫瘍免疫誘導法の開発。
- (7) 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.

Hirota K, Yoshitomi H, Hashimoto M, Maeda S, Teradaira S, Sugimoto N, Yamaguchi T, Nomura T, Ito H, Nakamura T, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Preferential recruitment of arthritogenic Th17 cells to inflamed joints via CCR6/CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model. *J. Exp. Med.* 204:2803-2812, 2007

Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells in brief history and perspective. *Eur. J. Immunol.* 37:s116-123, 2007

Sakaguchi S, Powrie F. Emerging challenges in regulatory T cell function and biology. *Science*. 317:627-629, 2007.

Ko, H. J., Kim, Y. J., Kim, Y. S., Chang, W. S., Ko, S. Y., Chang, S. Y., Sakaguchi S, Kang, C. Y. A combination of chemoimmunotherapies can efficiently break self-tolerance and induce antitumor immunity in a tolerogenic murine tumor model. *Cancer Res*. 67:7477-7486, 2007.

Yamaguchi T, Hirota K, Nagahama K, Ohkawa K, Takahashi T, Nomura T, Sakaguchi S. Control of immune responses by antigen-specific regulatory T cells expressing the folate receptor. *Immunity*. 27:145-159, 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. ICER/CREM-mediated transcriptional attenuation of IL-2 and its role in suppression by regulatory T cells. *Eur J Immunol*. 37:884-895, 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.

(2) 特許出願

平成 19 年度国内特許出願件数： 0 件 (CREST 研究期間累積件数： 5 件)