

「エピゲノム研究に基づく診断・治療に向けた新技術の創出」  
平成 25 年度採択研究代表者

H26 年度  
実績報告書

吉村 昭彦

慶應義塾大学 医学部  
教授

T 細胞のエピジェネティック変化による免疫疾患制御

## § 1. 研究実施体制

(1) 「吉村」グループ(慶應義塾大学)

- ① 研究代表者: 吉村昭彦 (慶應義塾大学医学部、教授)
- ② 研究項目
  - ・ NR4a の解析
  - ・ T 細胞リプログラミング因子の探索
  - ・ Foxp3 遺伝子 DNA 脱メチル化の解析
  - ・ TGF  $\beta$  プロモーターの解析

## § 2. 研究実施の概要

本研究は免疫応答の中心をなす CD4 陽性ヘルパーT (Th) 細胞の分化をリプログラムし、アレルギーなどの免疫疾患の新規治療法や治臓器移植の拒絶反応を抑制する新しい方法の開発を目標としている。逆に免疫応答を増強して効果的な抗腫瘍免疫効果を誘導する方法論の開発も含まれる。獲得免疫の中心であるエフェクターT細胞はナイーブT細胞より環境中のサイトカインの影響で種々のサブセットとして分化誘導され形成される。このような分化はエピジェネティックなレベルで制御、固定されており脱分化や再分化は困難とされている。しかし人為的にエピジェネティック制御を改変しT細胞の性質を変更できれば、抗原特性は保持されることから特異性の高い免疫疾患の治療方法となるはずである。本年度は以下のような研究を行った。

(1) NR4a を制御性 T 細胞(Treg)で欠損させた場合の遺伝子変動を明らかにし、Treg における NR4a の機能を明らかにするとともに、Treg がどのようなエフェクターに転換するのか明らかにした。すなわち Treg において NR4a を欠損させると Foxp3 の発現が低下するとともに、Th2 や Tfh 様の表現型を示すことを明らかにした。このときに NR4a の重要な標的遺伝子が *Ikzf4*(EOS)であることがわかった。(2) リンパ球の発生に関与する種々の遺伝子を線維芽細胞に導入し T 細胞へのリプログラミングを誘導する遺伝子を同定した。ヒト線維芽細胞に造血細胞やリンパ球の分化に必須の遺伝子群をレンチウイルスによって導入した。その過程で ETV2 転写因子 1 遺伝子の導入によって線維芽細胞を血管内皮細胞(ETVEC)に転換できる事がわかった。ETVEC は試験内で管空構造を形成し、Ac-LDL の取り込み能を有する等、血管内皮細胞の性質を示し、また遺伝子発現も内皮細胞に極めて近かった。更に免疫不全マウスに移植したところ、ETVEC はマウス由来壁細胞と融合して血流に寄与していることが確認された。さらにマウス下肢虚血モデルを作製し、ETVEC を移植したところ移植なしに比べ有意な血流改善を認めた。以上より ETV2 単一遺伝子により線維芽細胞が血管内皮細胞にリプログラムしうることがわかった。(3) 消化管における Treg 誘導のメカニズムを解明する目的で腸内細菌による TGF- $\beta$  産生のエピジェネティック制御機構を解明した。消化管内においてクロストリジウム属が TLR2 および TGF  $\beta$  依存的に誘導性 Treg (iTreg) を誘導することを明らかにした。そこで粘膜樹状細胞 (LPDC) および骨髄由来樹状細胞 (BMDC) を用いて TLR2 刺激による TGF  $\beta$  産生機構の解析を行った。TLR2 は ERK 経路を活性化し、その結果転写因子 AP1 がまず TGF  $\beta$  プロモーターの上流に結合してヒストンアセチル化を誘導すること、さらに TGF  $\beta$  のオートクライン刺激によって Smad3 が活性化されてプロモーター下流の Smad 結合サイトに結合して転写活性化型のクロマチン変化を誘導することを見出した。また Smad2 は Smad3 に拮抗してこの過程を負に制御することも見出した。またこれに関連して消化管上皮細胞の再生に gp130-YAP 経路の重要性を明らかにした。

(1) Suppression of TH2 and TFH immune reactions by Nr4a receptors in mature Treg cells Sekiya et al. J. Exp.Med. in press

(2) ETS transcription factor ETV2 directly converts human fibroblasts into functional endothelial cells. Morita R, et al.. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Jan 6;112(1):160-5. doi: 10.1073/pnas.1413234112.

(3) [Smad2 and Smad3 Inversely Regulate TGF- \$\beta\$  Autoinduction in Clostridium butyricum-Activated Dendritic Cells.](#) Kashiwagi et al. Immunity. 2015 Jul 21;43(1):65-79. doi: 10.1016/j.immuni.2015.06.010.