

# 免疫制御性T細胞の分化メカニズムの解明とその免疫疾患治療への応用

研究課題名：免疫抑制性T細胞の分化メカニズムの解明とその免疫疾患治療への応用

理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 免疫恒常性研究 ユニット ユニットリーダー  
堀 昌平

## はじめに

免疫系は「自己」・「非自己」を識別し、「非自己」を排除する一方で「自己」に対する寛容性を確立・維持している。近年の研究により、健常個体の免疫系には制御性T細胞 (regulatory T cells,  $T_{reg}$ ) と呼ばれるCD4<sup>+</sup> T細胞サブセットが存在し、自己反応性T細胞を抑制的に制御することで自己免疫寛容の確立・維持に重要な機能を担うことが明らかにされてきた。さらに、 $T_{reg}$ は自己免疫のみならず、炎症、感染免疫、アレルギー、移植免疫、腫瘍免疫などのさまざまな免疫応答を抑制的に制御し得ることが明らかにされ、免疫恒常性の維持に極めて重要であることが示唆されてきた。従って、 $T_{reg}$ の発生・分化、抑制機能の分子の基盤を明らかにすることは、基礎免疫学的にも本質的な課題であるのみならず、上記のさまざまな免疫関連疾患を克服するためにも極めて重要である。

我々は、マウスおよびヒトの致死的自己免疫疾患IPEXの原因遺伝子として同定された転写因子Foxp3に着目し、これが $T_{reg}$ 特異的に発現する分子マーカーであり、その発生・分化と機能を制御するマスター遺伝子として機能することを明らかにしてきた。本研究は、Foxp3遺伝子の自然突然変異に着目し、Foxp3変異により発症する自己免疫疾患のメカニズムを究明することで $T_{reg}$ の免疫制御系における生理的意義を確立し、そしてFoxp3が $T_{reg}$ の発生・分化と抑制機能を制御する分子機構を解明することを目的とした。

## 研究結果と考察

### 1. 制御性T細胞の自己免疫寛容における生理的意義

機能的Foxp3を発現できない自然変異マウスである *scurfy* マウスにおいては $T_{reg}$ が発生・分化しないことから、*scurfy*マウスは $T_{reg}$ 欠損のために致死的な自己免疫疾患を発症すると考えられている。一方、*scurfy*マウスの骨髓細胞を致死量の放射線をあてた野生型マウスに移植して免疫細胞を*scurfy*ドナー由来の細胞に置換した骨髓キメラマウスは致死的な自己免疫疾患を発症しないことから、この自己免疫疾患は $T_{reg}$ の発生・分化異常によるのではなく、むしろ非血球系細胞、特にT細胞の分化・選択を担う胸腺上皮細胞側の異常により発症するとの仮説が提唱されてきた。我々はこれらの2つの仮説を検証する目的で、まず上記骨髓キメラマウスを作製・解析し、実際このキメラマウスが自己免疫疾患を発症しないことを確認した。しかしながら、このキメラマウスにおいては宿主由来の放射線抵抗性Foxp3陽性 $T_{reg}$ が選択的に残存しており、これらが自己免疫疾患の発症を抑制していることが明らかになった。一方、非血球系細胞側のFoxp3遺伝子異常の病態への関与を明らかにする目的で、RAG遺伝子欠損*scurfy*マウスを作製し、これを宿主として野生型骨髓細胞を移植した骨髓キメラを作製した。その結果、これらキメラマウスは自己免疫疾患を発症せず健常であることから、*scurfy*マウスに発症する自己免疫疾患は非血球系細胞側の異常によるのではなく、 $T_{reg}$ の欠損によることが明確に示された。従って、Foxp3発現制御性T細胞は自己免疫寛容の確立・維持において極めて本質的な役割を担っていることが明らかになった。

### 2. IPEX型Foxp3遺伝子変異の制御性T細胞の発生・分化と機能に与える影響

次に、ヒトIPEX患者に発症する自己免疫疾患が $T_{reg}$ の発生・分化、機能異常によるのかを明らかにするために、IPEX患者で同定・報告されているFoxp3変異の $T_{reg}$ 分化と機能に与える影響を解析した。このためにIPEX患者で同定されているFoxp3変異体を7種作製し、レトロウイルスを用いてナイーブ (CD25<sup>low</sup>CD4<sup>+</sup>) T細胞に導入することで $T_{reg}$ と同様の性質と機能を与えるか検討した。その結果、変異体を導入したT細胞は*in vitro*において通常のT細胞の増殖応答を抑制する機能、及び*in vivo*においてSCIDマウスにナイーブT細胞を移入することによって誘導される炎症性腸炎の発症を抑制する機能を示すことができなかった (図

A)。また、ほとんどの変異体は抑制機能のみならずCD25, GITR, CTLA-4などT<sub>reg</sub>に発現するマーカー分子群も正常に誘導できなかったことから、これら変異によりT<sub>reg</sub>の発生・分化が障害されることが明らかになった。一方、非常に興味深いことに、これらのうち一つの変異体はT<sub>reg</sub>マーカー分子群を正常に誘導したことから、この変異によってT<sub>reg</sub>の分化ではなく機能が選択的に障害される可能性が考えられた(図B)。以上の結果は、IPEX患者においてはT<sub>reg</sub>の発生・分化あるいは機能が障害されており、このためにIPEXが発症するという可能性を強く示唆している。

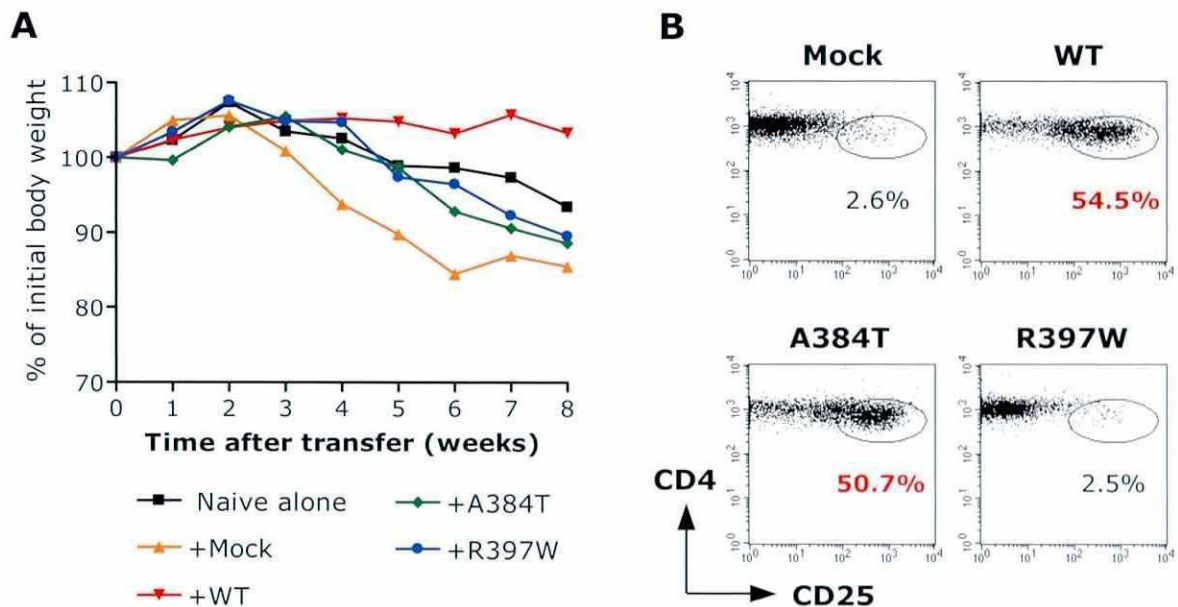


図. IPEX型Foxp3変異体を導入したT細胞の免疫抑制機能障害とT<sub>reg</sub>マーカー発現

### 3. 免疫抑制機能に関わるFoxp3の標的遺伝子の探索

T<sub>reg</sub>の抑制機能に選択的に障害を与えるIPEX型変異体が存在するという上記の知見は、この変異により抑制機能に関わる抑制機能分子が選択的に誘導されなくなるために免疫抑制活性を示すことができないという可能性を示唆している。この作業仮説を検証する目的で、DNAマイクロアレイ法により野生型Foxp3を導入したT細胞群とこの変異体を導入したT細胞群のあいだで遺伝子発現プロファイルを比較した。その結果、これら2種類のT細胞群は極めて類似した遺伝子発現パターンを示すこと、しかしながら、少数の遺伝子群の発現がこの変異により影響されることを見出した。発現解析により、これらのうちの一つの遺伝子(ここではFit1: Foxp3-induced transcript 1と呼ぶ)がT<sub>reg</sub>の機能的活性化に伴って誘導される遺伝子であることを見出し、抑制機能に関わる重要な遺伝子であると考えられた。そして、T細胞特異的にFit1を発現するトランスジェニックマウスを作製し、これをscurfyマウスと交配させることでscurfyマウスに見られるT細胞の異常増殖が部分的に是正されたことからFit1はFoxp3の機能を担う重要な標的遺伝子であることが示唆された。現在、Fit1をT細胞特異的に欠損するノックアウトマウスを作製・解析してそのT<sub>reg</sub>における機能を解析している。

### ● 今後の展望

本研究により、制御性T細胞の発生・分化あるいは機能の異常がIPEXという重篤な自己免疫疾患の発症に直結することが明らかにされ、制御性T細胞が自己免疫寛容の確立・維持に必須の役割を担っていることが明らかになった。さらに、IPEX型Foxp3変異体の解析を通して、抑制機能に関わると考えられる候補遺伝子を同定することができた。本研究期間内にこれら遺伝子の制御性T細胞における機能を明らかにすることはできなかったが、今後の研究を通して制御性T細胞による免疫抑制機構の分子メカニズムが解明されることを期待している。そして、最終的には、免疫抑制機構の分子メカニズムを解明することで制御性T細胞の機能を人為

---

的に制御することが可能になり、自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー、慢性感染症、がんなどの様々な免疫関連疾患の新たな治療法の開発に貢献したいと考えている。

---

#### 主要論文リスト

1. Wang, Y.M., Zhang, G.Y., Wang, Y., Hu, M., Wu, H., Watson, D., Hori, S., Alexander I.E., Harris, D.C., Alexander, S.I. (2006) Foxp3-transduced polyclonal regulatory T cells protect against chronic renal injury from adriamycin. *Journal of American Society of Nephrology* **17**: 697-706
2. Chai, J.G., Xue, S.A., Coe, D., Addey, C., Bartok, I., Scott, D., Simpson, E., Stauss, H.J., Hori, S., Sakaguchi, S., Dyson, J. (2005) Regulatory T cells, derived from naive CD4+CD25- T cells by in vitro Foxp3 gene transfer, can induce transplantation tolerance. *Transplantation* **79**: 1310-1316
3. Hori, S. and Sakaguchi, S. (2004) Foxp3: a critical regulator of the development and function of regulatory T cells. *Microbes and Infection* **6**: 745-751