京都大学	博士（医学）	氏　名	鬼頭　昭彦
論文題目	Indispensable Role of the Runx1-Cbfb Transcription Complex for In Vivo-Suppressive Function of FoxP3+ Regulatory T Cells　(Runx1-Cbfb 転写複合体は FoxP3 陽性制御性 T 細胞の生体内抑制活性に必須である)		

（論文内容の要旨）

CD4^{+}FoxP3^{+}制御性 T 細胞は、自己免疫病、アレルギーなど過剰あるいは異常な免疫応答を抑制することで、免疫寛容、免疫恒常性の維持に重要な役割を果たしている。制御性 T 細胞の機能は、制御性 T 細胞特異的に発現する転写因子 FoxP3 によって制御されている。しかし機能の分子メカニズムの詳細は解決されていない。近年、FoxP3 は Runx 転写因子群との相互作用を介し、制御性 T 細胞特異的な遺伝子発現、また免疫抑制活性を制御していることが明らかになった。しかし、Runx 転写因子複合体による遺伝子発現制御が、実際に制御性 T 細胞の生体内機能に必須であるかどうかについては未だ明らかではない。本研究では、この問題を解決するため、制御性 T 細胞特異的に Runx 複合体の機能を欠損するマウスを作製し解析した。

Runx 複合体の安定化には転写共役因子 Cbfβ（core-binding factor β）が必須であるため、Cbfβを欠損した T 細胞では Runx 複合体の機能障害がおこる。そこで、まず制御性 T 細胞特異的に Cre を発現するマウス（*Foxp3-ires-Cre*, 以下 *FIC*）を、*Cbfb* 遺伝子を loxP で挟んだマウス（*Cbfb*^{F}）と交配し、制御性 T 細胞特異的に Cbfβを欠損するマウスを得た。制御性 T 細胞特異的 Cbfβ欠損マウス（*Cbfb*$^{F/F}$*: FIC*）は、リンパ増殖症、自己免疫疾患、高 IgE 血症を自然発症した。試験管内および生体内で、Cbfβ欠損制御性 T 細胞の抑制活性は有意に低下していた。

Cbfβ欠損により制御性 T 細胞の抑制活性が低下する分子メカニズムを解明するために、Cbfβ欠損制御性 T 細胞の遺伝子発現プロファイルを解析した。遺伝子の多くは Cbfβ欠損制御性 T 細胞においても対照制御性 T 細胞と同等に発現していたが、*Foxp3* 発現低下、*Pde3b*、*Socs2*、*Il4*、*Ccr5*、*Ltb4r1* の発現亢進など、制御性 T 細胞の機能に関与しうる遺伝子発現異常が複数検出された。次に、クロマチン免疫沈降法とタイリングアレイによる解析（ChIP on chip）を用い、Runx 複合体の標的遺伝子を探索した。野生型マウスの制御性 T 細胞において、*Foxp3*、*Il4* を含む 3000 以上の遺伝子の遺伝子制御領域に Cbfβの結合がみられた。さらに、ヒト T 細胞を使用した RUNX1 のノックダウンおよびヒト *FOXP3* 遺伝子制御領域を使ったレポーターアセイにより、FoxP3 の適正な発現調節には RUNX1 が必要であること、および、T 細胞活性化による FoxP3 の適正な発現誘導には RUNX 複合体による直接制御が関与していることが示唆された。

Runx 転写因子群の内、T 細胞内で機能することが知られている Runx1 と Runx3 のどちらが、制御性 T 細胞の生体内抑制機能に中心的な役割を果たしているのかを明らかにするため、制御性 T 細胞特異的に Runx1 および Runx3 を欠損するマウス（*Runx1*$^{F/F}$*: FIC* および *Runx3*$^{F/F}$*: FIC*）をそれぞれ作製し、解析した。*Runx1*$^{F/F}$*: FIC* マウスは、*Cbfb*$^{F/F}$*: FIC* マウスと同様にリンパ増殖症、自己免疫疾患、高 IgE 血症を自然発症し、制御性 T 細胞の FoxP3 発現低下がみられた。一方、*Runx3*$^{F/F}$*: FIC* マウスではこれらの表現型はみられなかった。

以上の結果より、Runx1-Cbfβ複合体が生体内での制御性 T 細胞の機能、特に抑制活性および FoxP3 の適正な発現制御に必須であることが明らかとなった。

（論文審査の結果の要旨）

CD4^{+}FoxP3^{+}制御性T細胞の機能は転写因子FoxP3によって制御されている。FoxP3は制御性T細胞内でRunx転写因子群と相互作用している。本研究では、Runx複合体が制御性T細胞の生体内機能に必須であるかどうかについて検討した。

Runx複合体の機能に必須の転写共役因子Cbfβ(core-binding factor　β)あるいはRunx1が制御性T細胞特異的に欠損したマウスは、リンパ増殖症、自己免疫疾患、高IgE血症を自然発症した。制御性T細胞特異的Runx3欠損マウスではこれらの表現型はみられなかった。Cbfβ欠損制御性T細胞は試験管内および生体内の抑制活性が低下しており、*Foxp3*発現低下や*Il4*発現亢進など制御性T細胞の機能に関与しうる遺伝子発現異常がみられた。野生型制御性T細胞において、Cbfβは*Foxp3*、*Il4*を含む3000以上の遺伝子の遺伝子制御領域に結合していた。さらに、RUNX1のノックダウンにより、FoxP3の適正な発現調節にはRUNX1が必要であることが示唆された。これらの結果より、Runxl-Cbfβ複合体が、生体内での制御性T細胞の機能、特に抑制活性およびFoxP3の発現制御に必須であることが明らかとなった。

以上の研究は、制御性T細胞機能の分子的基礎の解明に貢献し、基礎免疫学のみならず、病的、生理的免疫応答の制御法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成21年12月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降