

[0028]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2013年

<https://doi.org/10.15017/1485125>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 28, 2014. 九州大学生体防御医学研究所
バージョン :
権利関係 :

感 染 ネットワーク 研 究 セ ン タ ー
Research Center for Infectious Diseases

感染制御学分野

Division of Host Defense

教授：吉開 泰信

Professor : Yasunobu Yoshikai, M.D., Ph.D.

生体防御機構とは、外から侵入する微生物やアレルゲンなどの異物や死細胞などの自己老廃物や腫瘍細胞を処理し、個体の独立性、恒常性を維持する仕組みをいう。微生物の侵入に際して、あらかじめ備わった自然免疫とリンパ球の免疫応答によって獲得される獲得免疫でこの異物を撃退する。自然免疫を担う細胞性因子の代表として、好中球やマクロファージなどの食細胞が挙げられる。これらの細胞は、細菌由来のくり返しパターン、病原体関連分子パターン pathogen-associated molecular pattern (PAMP) を認識するパターン認識受容体 pattern recognition receptor (PRR) で、迅速に貪食、排除を行う。自然免疫リンパ球 (innate lymphocytes) と呼ばれるナチュラルキラー (natural killer ; NK) 細胞、 γ δ 型 T 細胞や NK T 細胞は細菌の感染細胞の発現する微生物由来または自己細胞由来の成分を認識して活性化され、感染細胞を傷害する一方で、サイトカインを産生して獲得免疫を方向づける自然免疫と獲得免疫との橋渡しの役割を担う。獲得免疫を担う T 細胞および B 細胞は細菌由来の抗原で活性化され、直接的に細胞傷害活性で感染細胞を排除し、サイトカインや抗体を産生して自然免疫と共同で、効率よく微生物の排除を行う。微生物が完全に排除され、戦いが終了するとほとんどの活性化リンパ球はアポトーシスで細胞死を起し、免疫反応が終息する。一部のリンパ球は記憶細胞となり、再感染時には迅速に応答して感染防御を行う。結核などの慢性感染症では抗原刺激が持続して獲得免疫が疲弊 (exhausted) に陥る。これは過剰な免疫応答で正常組織の傷害を防ぐためと考えられる。当研究分野では病原微生物などの異物から宿主を防御する生体防御機構を解明し、その分子基盤に基づいて生体防御機構を再構築することによって、難治性疾患 (感染症, 癌, 自己免疫, アレルギー病) の先端的治療法の開発をめざしている。

人事面では平成 25 年 10 月から、モンゴルからの国費留学生 Surenchimeg Mondoong が研究生として参加した。平成 26 年 3 月 DC4 年、櫻庭康司 (整形外科), 中村真隆 (病態制御内科) が博士課程を修了した。また免疫機構センター助教の黄銀霞 (首都医科大学副教授就任予定) が退職した。

A. γ δ 型 T 細胞の分化

T 細胞前駆細胞は骨髄から胸腺に入ったのちに胸腺ストロマ細胞との相互関係によって、分裂増殖し、未熟胸腺細胞として特徴的な表面抗原を発現するようになる。未熟胸腺細胞は成熟 T 細胞にみられる CD3・TCR 複合体や CD4 または CD8 分子の発現は認められない。CD4, CD8 分子とともに発現していないこのような細胞をダブルネガティブ胸腺細胞 double negative thymocyte (DN) とよぶ。DN は CD117 (kit), CD44 と CD25 (IL-2 受容体 α 鎖) の発現によって亜集団に分けられる。最も未分化な DN 1 は CD44^{high}CD25^{low}CD117 (kit)^{high} で kit リガンドである幹細胞成長因

子 stem cell factor (SCF) と IL-7 に反応して活発に分裂する。この胸腺細胞がさらに分化すると CD25 の発現が誘導され、CD44^{high}CD25⁺CD117⁺ (DN2) となる。さらに分化すると CD44 の発現量の減少がおこり CD44^{low}CD25⁺CD117⁺ (DN3) となる。このステージに $\alpha\beta$ 型 T 細胞へ分化する未熟胸腺細胞では TCR β 鎖遺伝子の再編成が起こり、引き続いて TCR β 鎖蛋白質が産生され、CD25 と CD117 の発現が抑制された CD44^{low}CD25⁺CD117⁺ (DN4) となる。DN 細胞に発現された β 鎖はプレ TCR α 鎖 (pT α) と二量体を形成し、CD3 とともに細胞表面に発現される。このプレ TCR のシグナルより、細胞増殖と TCR β 鎖遺伝子の再編成が停止され、CD4、CD8 が発現される。この時期の胸腺細胞はダブルポジティブ胸腺細胞 double positive thymocyte (DP) とよばれる。この DP 胸腺細胞が増殖を止め、遺伝子再編成に関する酵素類が再度活性化され、 α 鎖遺伝子の再編成と TCR α 鎖が産生される。この DP ステージで自己 MHC 拘束性 (positive selection) と自己反応性 TCR 発現細胞の消失 (negative selection) が起こり、 $\alpha\beta$ 型 TCR を発現する CD4 または CD8 single positive thymocytes (SP) と成熟して、末梢リンパ組織に移行する。一方、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は DP のステージを経ず、DN のステージから直接分化する。この過程で $\gamma\delta$ 型 T 細胞は IL-17 または IFN- γ 産生能を獲得すると考えられるが、IFN- γ 産生型と IL-17 産生型の $\gamma\delta$ 型 T 細胞が DN のどのステージから分化が決定されるのか不明である。

我々は胎生期胸腺の DN 細胞を CD44^{high}CD25⁺CD117⁺ (DN1), CD44^{high}CD25⁺CD117⁺ (DN2), CD44^{low}CD25⁺CD117⁺ (DN3) にわけてソーティングして、Notch-1 リガンドである DLL4 (delta-like 4) を発現するストロマ細胞株 (TSt4-DLL4) を用いて in vitro 培養系で解析した。in vitro における T 細胞分化には Delta-like 4 発現胎児胸腺由来分化支持細胞 TSt4 (理化学研究所河本宏先生より供与) を用いた。 $\gamma\delta$ 型 T 細胞のサイトカイン産生は PMA/Ionomycin 刺激後、細胞内染色法によりフローサイトメーターで解析した。mRNA の発現は real-time PCR 法により解析した。その結果、DN2 から分化した $\gamma\delta$ 型 T 細胞は IFN- γ と IL-17 産生型にともに分化できるが、DN3 から分化できるのは IFN- γ 産生型だけであった。このことから IL-17 産生型は DN2 のステージから直接分化することがわかった。DN 2 ステージはさらに CD117 の発現によって CD117^{high} の DN 2a と CD117^{med} の DN 2b ステージにわけられる。転写因子 BCL11b はこの DN2a から DN2b への分化に必須の転写因子であることが報告されている。我々は BCL11bKO マウスでの胸腺では $\alpha\beta$ 型 T 細胞が分化できないが、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は分化できることを見いだした。しかしこの $\gamma\delta$ 型 T 細胞は IFN- γ 産生型細胞であり、IL-17 産生型細胞は分化できないことがわかった。BCL11bKO マウスでの胸腺で分化する IFN- γ 産生型細胞は NK1.1 陽性で転写因子 PLZF (Kruppel-like transcription factor promyelocytic leukemia zinc finger) と転写調整因子 ID2 (Inhibitor of DNA binding) の発現が高いことから、典型的な T 細胞 (conventional T cells) とは異なる自然免疫 T 細胞 (innate T cells) に属するものと考えられた。一方、BCL11b 依存性に DN3 ステージを経て分化する IFN- γ 産生 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は PLZF-ID3⁺ の特徴を有すると考えられる。HEB は $\alpha\beta$ 型 T 細胞の分化により重要な転写因子で、HEB のインヒビター ID3 は $\gamma\delta$ 型 T 細胞への分化を促進すると報告されている。IFN- γ 産生 $\gamma\delta$ 型 T 細胞には DN2a から直接分化する $\gamma\delta$ 型 T 細胞と DN3 から分化

する γ δ 型T細胞の2種類が存在することになる。胎生型から成人型への γ 鎖遺伝子再構成への変換にはhelix-loop-helix構造をもつE2Aが関与している。ID2からID3への変換はEタンパクの変化と連動しているのかもしれない。一方、IL-17産生 γ δ 型T細胞はDN2bのステージからBCL11b依存性に直接分化するID3^{PLZF}タイプということがわかった。

本研究により、IL-17産生 γ δ 型T細胞はDN2bのステージからBCL11b依存性に直接分化することがわかった。一方、IFN- γ 産生 γ δ 型T細胞にはDN2aから直接分化する γ δ 型T細胞とDN3から分化する γ δ 型T細胞の2種類が存在することになる。今後、これらの γ δ 型T細胞の末梢での機能について検討する予定である。

B. インフルエンザウイルス感染症と自然免疫

高病原性A型インフルエンザウイルス感染における抗ウイルス免疫応答は、感染の治癒に働く一方急性肺傷害の病因にもなり得る、いわば“諸刃の剣”である。我々は、A型インフルエンザウイルスの急性感染に対する宿主防御においてI型インターフェロン(IFN)の抗ウイルス作用だけでなく抗炎症作用が重要な役割を果たしていることを示した。インフルエンザウイルスA/FM/1/47(H1N1, マウス適応株)感染において、IFN α レセプターノックアウト(IFNAR KO)マウスは野生型(WT)マウスと比べて高い死亡率と傷害率を示した。しかし、ウイルスは最終的に両群において排除された。感染後の肺の炎症性サイトカインの濃度はWTマウスに比べIFNAR KOマウスにおいて有意に高値であったが、IL-10の濃度は有意に低値であった。IFNAR KOマウスに感染の経過中にIL-10を投与すると炎症性サイトカインの濃度は有意に減少し、生存率は改善した。これらの結果から、I型IFNはウイルスの直接的な排除だけではなく、A型インフルエンザウイルスによって引き起こされる免疫病変をIL-10を介し抑制することで宿主防御に貢献していることが示唆された。

C. 自然免疫 CD4T細胞の解析

ナイーブマウスのCD4T細胞の一部は、メモリー型表面マーカーを発現し、IFN- γ 産生能も備えている。これら自然発生Th1細胞には、①ナイーブCD4T細胞が環境抗原等に暴露され誘導されたもの、②ナイーブCD4T細胞がリンパ球減少状態で、いわゆるLymphopenia-Induced Proliferation(LIP)を経て誘導されたもの、③通常のT細胞とは異なり、その発生時からエフェクター機能を獲得している、自然免疫リンパ球と呼ばれるもの、等が混在すると考えられている。ここでナイーブマウスの自然発生Th1細胞は、IL-12や*Listeria monocytogenes*感染により活性化、IFN- γ を産生することが報告されているが、上記3つのTh1サブセットのいずれがこの機能を持つのかは明らかでない。またこのようなTh1細胞の抗原非特異的IFN- γ 産生が、感染防御に果たす役割も明らかでない。

一般的にナイーブCD4T細胞のTh1分化には、抗原提示細胞が病原体に反応して産生するIL-12が重要で、そのシグナル伝達はTyrosine kinase2(Tyk2)を介する。しかしナイーブマウスに存在する、各種Th1サブセットの分化におけるIL-12の役割は不明である。そこで本研究ではTyk2

欠損マウスを用いて、各種 Th1 サブセットの分化における IL-12 シグナルの役割を明らかにするとともに、IL-12 による抗原非特異的 Th1 細胞の活性化が感染防御に果たす役割を検討した。

ナイーブ Tyk2 欠損マウスの脾臓および胸腺細胞を PMA/ionomycin で刺激したところ、野生型と同レベルの IFN- γ 産生をメモリー型 CD4 T 細胞分画に認めた。しかし Tyk2 欠損細胞は、IL-12 にほとんど反応せず、IL-12 非依存性に Th1 分化を果たしたと考えられた。次に LIP 誘導性 Th1 細胞分化の Tyk2 依存性を調べるため、野生型あるいは Tyk2 欠損 OVA 特異的ナイーブ CD4T 細胞 (OTII) を、RAG 欠損マウスに移入し、8 週後に脾臓から回収した。野生型、Tyk2 欠損 OTII 細胞共に、ほとんどがメモリー型表現型に変化しており、かつ IFN- γ 産生能を有していた。よって、これらも IL-12 非依存性に分化することが判明した。一方、CFA を用いた抗原免疫による Th1 細胞の誘導は Tyk2 依存性であった。次に生体内における IL-12 誘導性 IFN- γ 産生を調べるため、野生型および Tyk2 欠損マウスに *L monocytogenes* を腹腔内接種した。経時的に脾臓、腹腔細胞を採取後、無刺激でゴルジ装置阻害剤を加えて短時間培養することで、IFN- γ 産生を検出した。Tyk2 欠損マウスでは感染 2 日目に菌数の有意な増加を認めたが、このとき IFN- γ 産生 CD4T 細胞数は野生型に比べ減少しており、IL-12 シグナル依存性の反応と考えられた。ナイーブマウスの自然発生メモリー型 CD4 T 細胞を、感染前に移入することで Tyk2 欠損マウスの菌数が低下すること、これは IFN- γ 欠損 CD4T 細胞の移入では認めなかったことから、CD4T 細胞の IL-12 誘導性 IFN- γ 産生の感染防御における有効性が明らかになった。さらに OVA 特異的 Th1 細胞も IL-12 刺激により抗原非依存性に IFN- γ を産生し、生体内で感染防御に働くことも明らかになった。

ナイーブマウスに存在する Th1 細胞には Tyk2/IL-12 シグナル非依存性に分化するものも含まれるが、どのサブセットの Th1 細胞も Tyk2/IL-12 シグナル依存性に IFN- γ を産生することにより、感染初期防御に働くことが示唆された。

業績目録

原著論文

1. Sakuraba, K., Shibata, K., Iwamoto, Y., Yoshikai, Y., Yamada, H. 2013.
Naturally occurring PD-1⁺ memory phenotype CD8 T cells belong to nonconventional CD8 T cells and are cyclophosphamide-sensitive regulatory T cells.
J. Immunol. 90: 1560-6.
2. Saiwai, H., Kumamaru, H., Ohkawa, Y., Kubota, K., Kobayakawa, K., Yamada, H., Yokomizo, T., Iwamoto, Y., Okada, S. 2013.
Ly6C(+) Ly6G(-) Myeloid-derived suppressor cells play a critical role in the resolution of acute inflammation and the subsequent tissue repair process after spinal cord injury.
J. Neurochem. 25:74-88.
3. Sun, X., Shibata, K., Yamada, H., Guo, Y., Muta, H., Podack, E.R. Yoshikai, Y. 2013.
CD30L/CD30 is critical for maintenance of IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells bearing V γ 6 in mucosa-associated tissues in mice.

- Mucosal Immunol. 6:1191-201.
4. Fujimura, K., Oyamada, A., Iwamoto, Y., Yoshikai, Y., Yamada, H. 2013.
Limited role of IL-2 signaling during in vivo development of effector CD4 T cell subsets.
J. Leuko Biol. 94:271-9.
 5. Miyake, Y., Toyonaga, K., Mori, D., Kakuta, S., Hoshino, Y., Oyamada, A., Yamada, H., Ono, K., Suyama, M., Iwakura, Y., Yoshikai, Y., Yamasaki, S. 2013.
C-type lectin MCL is an FcR-coupled receptor that mediates the adjuvanticity of mycobacterial cord factor.
Immunity. 38:1050-62.
 6. Dejima T., Shibata K., Yamada H., Takeuchi A., Hara H., Eto M., Naito S. and Yoshikai Y. 2013.
A C-type lectin receptor pathway is responsible for the pathogenesis of acute cyclophosphamide-induced cystitis in mice.
Microbio. Immunol 57:833-41.
 7. Guo Y. Sun X., Shibata K., Yamada, H., Muta H., Podack, ER and Yoshikai Y. 2013.
CD30 is required for activation of a unique subset of IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells in innate immunity against *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin infection..
Infect. Immun. 81:3923-34.
 8. Arimori Y., Nakamura R, Yamada H., Shibata K., Maeda N., Kase T., and Yoshikai Y. 2013.
Type I interferon limits influenza virus-induced acute lung injury by regulation of excessive inflammation in mice.
Antiviral Res. 99:230-237.
 9. Yamada, H., Shibata, K., Sakuraba, K., Fujimura K., and Yoshikai Y. 2013.
Positive selection of self antigen-specific CD8 T cells by hematopoietic cells in mice.
Eur. J. Immunol 43:2033-42.
 10. Okano S, Kondoh H, Toshima T, Nakagawara H, Yoshizumi T, Soejima Y, Shirabe K, Harada M, Yoshikai Y, Maehara Y. 2013.
Fas-deficient fully allogeneic dendritic cells administered via an intratumoral injection route show efficient antitumor effects in murine models.
Fukuoka Igaku Zasshi. 104:15-26.
 11. Okano S, Matsumoto Y, Yoshiya S, Yamashita Y, Harimoto N, Ikegami T, Shirabe K, Harada M, Yoshikai Y, Maehara Y. 2013.
CD4 T cell-mediated masking effects of the immunogenicity of tumor-associated antigens are qualitatively and quantitatively different depending on the individual antigens.
Fukuoka Igaku Zasshi. 104:1-14.
 12. Shibata K., Yamada H., Nakamura M., Katsuragi Y., Kominami R. and Yoshikai Y. 2014.
IFN- γ -producing and IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells differentiate at distinct developmental stages in murine fetal thymus.
J.Immunol. 192:2210-2218.
 13. Ueda S., Oryoji D, Yamamoto K, Noh JY, Okamura K, Noda M, Kashiwase K, Kosuga Y, Sekiya K, Inoue K, Yamada H, Oyamada A, Nishimura Y, Yoshikai Y, Ito K, Sasazuki T. 2014.

Identification of independent susceptible and protective HLA alleles in Japanese autoimmune thyroid disease and their epistasis.

J Clin Endocrinol Metab. 99:379-383.

14. Arimori Y., Nakamura R, Yamada H., Shibata K., Maeda N., Kase T., and Yoshikai Y. 2014.
Type I interferon plays opposing roles in cytotoxicity and IFN- γ production by NK and CD8⁺ T cells after influenza A virus infection in mice.
J. Innate Immunol. in press
15. Hirose Y., Yamamoto Y., Yoshikai Y., and Murosaki S. 2014.
Oral intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 decreases the incidence of upper respiratory tract infection in healthy subjects with high levels of psychological stress
J. Nutr Sci in press
16. Wang Y., Lin L., Yin C., Ohtani S., Aoyama K., Lu C.3, Sun X., and Yoshikai Y. 2014.
Oral administration of bovine milk from cows hyperimmunized with intestinal bacterin stimulates lamina propria T lymphocytes to produce Th1-biased cytokine in mice
Int. J. Mol. Sci. , 15:5458-71
17. Hashiguchi T., Oyamada A., Sakuraba K., Iwamoto Y., Yoshikai, Y. and Yamada H. 2014.
Tyk2-dependent bystander activation of conventional and non-conventional Th1 cell subsets contributes to innate host defense against *Listeria monocytogenes* infection.
J. Immunol. 192: 4739-47

総説

1. 吉開 泰信. 2013.
感染と免疫.
最新医学 68 : 578-591.
2. 吉開 泰信. 2014.
 $\gamma\delta$ 型 T 細胞からの IL-17 産生
臨床免疫 アレルギー 科, 61(3) 241-247

著書

1. 吉開泰信. 2013.
免疫学総論
戸田新細菌学 改訂第 34 版 788-801 (編集 吉田真一, 柳雄介, 吉開泰信 編)
南山堂
2. 吉開 泰信. 2013.
第 II 部 免疫システムの基本メカニズム 第 2 章 誘導的メカニズム 【外来性抗原排除のメカニズム】
A 細菌感染に対する反応
標準免疫学 第 3 版, 270-280.

医学書院

3. 吉開 泰信. 2013.
自然免疫を構成する細胞群
リップシンコットイラストレイテッド免疫学 原書2版 37-44 (編集矢田純一, 高橋秀美),
丸善出版
4. 吉開 泰信. 2013.
感染防御免疫
南山堂辞典, 南山堂

学会発表

1. 櫻庭康司, 小山田亜希子, 藤村謙次郎, 橋口智光, 岩本幸英, 吉開 泰信, 山田 久方 (2013.04.18-20)
「IL-21 シグナルはコラーゲン誘導関節炎の発症に重要な役割を果たす」
第57回日本リウマチ学会総会・学術集会, 京都市
2. 橋口智光, 小山田 亜希子, 櫻庭康司, 吉開 泰信, 山田 久方 (2013.07.11)
「異なる Th1 細胞サブセットの分化, 機能における Tyk2 の役割」
第24回日本生体防御学会学術総会, 熊本市
3. 山田久方, Johan Backlund, 小山田亜希子, Rikard Holmdahl, 吉開泰信 (2013.11.27-29)
自己II型コラーゲンの操作修飾が自己免疫寛容に及ぼす影響
第41回日本臨床免疫学会総会, 下関市
4. Koji Sakuraba, Tomomitsu Hashiguchi, Yasunobu Yoshikai, Hisakata Yamada (2013.12.11-13)
Naturally-occurring PD-1+ memory phenotype CD8 T cells belong to non-conventional CD8 T cells and are cyclophosphamide-sensitive regulatory T cells.
第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市
5. Tomomitsu Hashiguchi, koji Sakuraba, Yasunobu Yoshikai, Hisakata Yamada (2013.12.11-13)
Differential requirement of Tyk2 for the development of different subsets of CD44^{high} memory phenotype CD4 T cells with Th1 functions.
第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市
6. Kensuke Shibata, Hisakata Yamada, Masataka Nakamura, Yasunobu Yoshikai (2013.12.11-13)
IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells develop directly from double-negative 2 cells in murine fetal thymus in Bcl11b-dependent manner.
第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市
7. Masataka Nakamura, Kensuke Shibata, Hisakata Yamada, Koichi Ikuta, Yasunobu Yoshikai (2013.12.11-13)
Notch-RBP-Jk-IL-7R α pathway plays a pivotal role in the maintenance of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells.
第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市
8. Ying Guo, Xun Sun, Kensuke Shibata, Hisakata Yamada, Hiromi Muta, Eckhard R. Podack, Yasunobu Yoshikai (2013.12.11-13)
A novel role of CD30L/CD30 signaling by naturally occurring IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells in response against Mycobacterium bovis BCG.

第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市

9. Hisakata Yamada, Johan Backlund, Rikard Holmdahl, Yasunobu Yoshikai (2013.12.11-13)
CD4 T cell tolerance to self type II collagen depends on post-translational modification in the T cell epitope
第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市
10. Koji Shinoda, Xun Sun, Akiko Oyamada, Hisakata Yamada, Jun-ichi Kira, Yasunobu Yoshikai (2013.12.11-13)
CD30 ligand is a target for a novel biological therapy against experimental autoimmune encephalomyelitis
第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市
11. Yinxia Huang, Xun Sun, Risa Nakamura, Kensuke Shibata, Hisakata Yamada, Ying Guo, Naoya Ohara, and Yasunobu Yoshikai (2013.12.11-13)
IL-21 plays an important role in regulation of IL-17A and IFN- γ production by $\gamma\delta$ T cells.
第42回日本免疫学会総会・学術集会, 千葉市
12. Ying Guo, Xun Sun, Kensuke Shibata, Hisakata Yamada, Hiromi Muta, Eckhard R. Podack and Yasunobu Yoshikai. (January 30-31, 2014)
CD30L/CD30 is required for activation of a unique subset of IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells in innate immunity against *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin infection.
12th Cytokines & Inflammation Conference, USA
13. Yasunobu Yoshikai (February 7, 2014)
Development and function of naturally occurring $\gamma\delta$ T cells in mice.
International Symposium between Kyushu U. Post-Global COE and School of Biomedical Sciences, Monash U, Australia

免疫制御学分野（分子免疫学分野）

Division of Molecular and Cellular Immunology

教授：山崎 晶

Professor : Sho Yamasaki, Ph.D.

本分野では、免疫受容体を介する外界の適切な認識と免疫応答の制御機構の解明に注力して研究を行っている。生体は常に自己・非自己に起因する危機に曝されているが、我々の免疫系はこれを様々な免疫受容体で察知し、多様な細胞応答を惹起して個体の恒常性を維持している。当分野では、免疫受容体を介する自己・非自己の認識機構の分子基盤の解明を通して、感染性疾患、自己免疫疾患に対する有効な治療法の確立に寄与したいと考えている。

平成 25 年 4 月より大洞将嗣が准教授として、陸修遠が修士課程大学院生として、生命科学科 4 年の土居梨映子が研究室配属学生として、10 月に金山亜貴子が技術補佐員として参加した。同年 11 月に石川哲章が学位を取得し、翌年 3 月に豊永憲司が博士課程を修了した。また、大学院生修士課程の永田雅大、森大輝は修了し、博士課程に進学した。平成 25 年 5 月に技能補佐員の郷田真純、翌年 3 月に技術補佐員の金山亜貴子が退職した。

現在、免疫受容体が自己・非自己・損傷自己を識別する戦略と普遍原理の解明を目指して、以下に掲げるテーマに関して研究を行っている。

A. C 型レクチンレセプターによる自己・非自己の認識と意義

a. C 型レクチン Mincle のリガンド探索

C 型レクチン Mincle (macrophage inducible C-type lectin, Clec4e) はストレスに伴って発現が誘導され、炎症性サイトカイン産生等を促す活性化レセプターである。我々はこれまで、Mincle が生体の危機を感知して、炎症を促すセンサーとして機能することを見出してきた。Mincle が認識するリガンドとして、損傷自己より放出される核タンパク質、並びに非自己病原体である病原性真菌、*Malassezia* を同定している。さらに感染制御学分野との共同研究により、新たに Mincle が結核菌由来糖脂質で古くから強いアジュバントとして知られていたトレハロースジミコール酸 (TDM; trehalose-6,6'-dimycolate) を認識することを見出した。また、新たなアジュバント候補という観点から Mincle の新規リガンドの探索を進めたところ、TDM を上回る活性を有する化合物を発見し、この化合物は *in vivo* でも細胞性免疫を強く活性化することを見出した。*Malassezia* からは TDM とは異なる 2 種類の新たな糖脂質リガンドを同定した。これらに加えて、新たな DAMPs (damage-associated molecular patterns)

としての内因性リガンドの探索も進行中であり、現在2つの候補を見出しつつある。また、ヒト Mincle, MCL の結晶構造の決定に成功し、レクチン受容体がどのようにして糖脂質リガンドを認識しているのかが明らかとなった。

b. 新たな結核菌受容体 MCL の同定

新規受容体の探索を進めた結果、Mincle と類似した C 型レクチン MCL (Clec4d) を同定した。MCL はマクロファイド系細胞に恒常的に発現し、Mincle 同様に FcR γ 鎖に会合する活性化受容体であり、結核菌糖脂質 TDM を認識することを見出した。MCL 欠損マウスを樹立したところ、自然免疫応答の低下が観察されたが、このとき、Mincle の発現が大幅に減弱していた。獲得免疫応答においては、MCL 欠損マウスは TDM 誘導性 EAE に強い抵抗性を示した。現在 MCL が獲得免疫活性化にどのように寄与しているのかを解析中であり、新たなアジュバント開発にも期待が持たれる。

c. C 型レクチンの発現制御破綻に伴う疾患の解析

C 型レクチン Mincle は通常ストレス時のみ発現し、炎症を促す受容体であることから、その発現制御の破綻が疾患を誘導する可能性も想定される。実際、種々の自己免疫疾患において Mincle の恒常的発現が報告されていることから、Mincle を恒常的に発現するトランスジェニックマウスを樹立し、この因果関係を検討したところ、20 週令前に全個体が致死性疾患を発症して死亡することが判明した。損傷自己の過剰な感知と応答が生体の恒常性破綻と疾患に直結することを示す知見であり、現在疾患発症の分子機構を解析している。

d. 新規 C 型レクチンの自己・非自己リガンドの同定

C 型レクチンには未だリガンド不明の orphan receptor が数多く残されている。レポーター細胞を用いて、これら機能未知のレクチンレセプターの自己・非自己リガンドの探索を実施し、新たなレクチンレセプターが結核菌を認識することを見出した。現在リガンドの同定、またその認識の生理的意義解明に注力した研究を推進している。

B. T 細胞抗原受容体を介する自己の識別と T 細胞分化の制御機構

a. positive/negative selection の分子機構

$\alpha\beta$ TCR を発現する未熟 T 細胞は、胸腺において認識する抗原の親和性に応じて生存、死の運命が決定される (positive/negative selection) と考えられている。ところが、TCR が

どのような分子機構でリガンドの質的差異を識別し、異なる細胞応答を惹起しているのかは未だに不明である。近年我々は、positive selection に伴って強くリン酸化されるキナーゼを見出し、このキナーゼの欠損マウスを樹立したところ、CD4+ T 細胞のみが特異的に消失することを見出した。また、プロテオミクスを用いてこのキナーゼの特異的な基質を同定した。当該マウスの解析を通して、受容体が抗原の微弱な質的違いを感知し、異なった細胞応答に振り分ける機構の普遍原理を明らかにすることを目指している。

b. 成熟 T 細胞の活性化と維持を担う分子機構の解明

成熟 T 細胞は、強い親和性のペプチドを認識して活性化される一方、弱い自己抗原を認識することによって末梢で維持されていると考えられている。ところが、TCR を介する末梢 T 細胞の維持機構は適切な実験系がなく、これまで不明であった。そこで、末梢 T 細胞特異的に Cre を発現するマウスを樹立し、細胞増殖・分化に重要な Erk1/2 を成熟 T 細胞でのみ特異的に欠損するマウスを作成して解析したところ、それぞれの応答における寄与に差異が見出されつつある。

業績目録

原著論文

1. Kawai Y, Ouchida R, Yamasaki S, Dragone L, Tsubata T, Wang JY. 2014.
LAPTM5 promotes lysosomal degradation of intracellular but not the cell surface CD3 ζ .
Immunology and Cell Biology. in press.
2. Roncagalli R, Hauri S, Fiore F, Liang Y, Chen Z, Sansoni A, Kanduri K, Joly R, Malzac A, Lahdemaki H, Lahesmaa R, Yamasaki S, Saito T, Mallisen M, Aebbersold R, Gstaiger M, Malissen B. 2014.
Quantitative proteomic analysis of signalosome dynamics in primary T cells identifies the CD6 surface receptor as a LAT-independent TCR signaling hub.
Nat. Immunol. 15, 384-392.
3. Toyonaga K, Miyake Y, Yamasaki S. 2014.
Characterization of the Receptors for Mycobacterial Cord Factor in Guinea Pig.
PLoS One. 9.
4. Furukawa A, Kamishikiryo J, Mori D, Toyonaga K, Okabe Y, Toji A, Kanda R, Miyake Y, Ose T, Yamasaki S, Maenaka, K. 2013.
Structural analysis for glycolipid recognition by the C-type lectins Mincle and MCL.

- Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 110, 17438-17443.
5. Shenderov K, Barber DL, Mayer-Barber KD, Gurcha SS, Jankovic D, Feng CG, Oland S, Hieny S, Caspar P, Yamasaki S, Lin X, Ting JP, Trinchieri G, Besra GS, Cerundolo V, Sher A. 2013.
Cord factor and peptidoglycan recapitulate the Th17-promoting adjuvant activity of mycobacteria through mincle/CARD9 signaling and the inflammasome.
J. Immunol. 190, 5722-5730.
 6. Miyake Y, Toyonaga K, Mori D, Kakuta S, Hoshino Y, Oyamada A, Yamada H, Ono K, Suyama M, Iwakura Y, Yoshikai Y, Yamasaki S. 2013.
C-Type lectin MCL is an FcRγ-coupled receptor that mediates the adjuvanticity of mycobacterial cord factor.
Immunity. 38, 1050-1062.
 7. Ishikawa T, Itoh F, Yoshida S, Saijo S, Matsuzawa T, Gono T, Saito T, Okawa Y, Shibata N, Miyamoto T, Yamasaki S. 2013.
Identification of distinct ligands for the C-type lectin receptors Mincle and Dectin-2 in the pathogenic fungus *Malassezia*.
Cell Host Microbe. 13, 477-488.

総説

1. Yamasaki S. 2014.
Clec12a: Quietening the Dead.
Immunity, 40, 309-311.
2. Yamasaki S. 2013.
Signaling while eating: MCL is coupled with Mincle.
Eur. J. Immunol., 43, 3156-3158.
3. 三宅靖延, 山崎晶. 2013.
死細胞を認識する受容体 Mincle.
医学のあゆみ, 246, 438-442.
4. 森 大輝, 山崎晶. 2013.
結核菌を認識する自然免疫受容体.
臨床免疫・アレルギー科, 60, 668-675.

学会発表

1. Sho Yamasaki (2013, 6/2-7).

- Immune responses through ITAM-coupled C-type lectin receptors.
FASEB, Nassau.
2. 山崎 晶 (2013, 7/23).
病原体を感知するからだのしくみ.
LOVE LABO 2013, 東京.
 3. 山崎 晶 (2013, 8/2-3).
C型レクチン受容体を介する自己・非自己認識と免疫応答.
第37回阿蘇シンポジウム, 阿蘇.
 4. 山崎 晶 (2013, 9/11-13).
C型レクチンによる死細胞認識と免疫応答.
第86回日本生化学会大会, 横浜.
 5. Sho Yamasaki (2013, 11/8).
Recognition of pathogens through C-type lectin receptors.
EAJS 20-Year Anniversary Special Symposium, 東京.
 6. Sho Yamasaki (2013, 12/5-8).
Regulation of immune responses through C-type lectin receptors.
Germany-Japan Immunology Seminar 2013, 静岡.
 7. Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
C-type lectin receptors for mycobacterial adjuvants.
第42回日本免疫学会学術集会, 千葉.
 8. Miyake Yasunobu, Toyonaga Kenji, Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
C-type lectin, MCL is associated with Mincle.
第42回日本免疫学会学術集会, 千葉.
 9. Yonekawa Akiko, Saijo Shinobu, Miyake Yasunobu, Ishikawa Eri, Inoue Hiromasa, Hoshino Yoshihiko,
Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
Dectin-2 recognizes a lipoglycan of mycobacteria to mediate its adjuvanticity.
第42回日本免疫学会学術集会, 千葉.
 10. Mori Daiki, Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
Recognition of pathogenic fungus through C-type lectin Clec12b.
第42回日本免疫学会学術集会, 千葉.
 11. Eri Ishikawa, Hidetaka Kosako, Masatsugu Ohora, Tomoharu Yasuda, Tomohiro Kurosaki, Takashi Saito,
Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).

- Search for downstream targets of Protein kinase D that is critical for T cell development.
第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉.
12. Nagata Masahiro, Shimamura Michio, Ishikawa Eri, Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
The role of C-type lectin Mincle in immune responses against *Helicobacter pylori*.
第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉.
13. Moe Shiokawa, Eri Ishikawa, Masato Ogata, Takashi Saito, Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
Evidence for distinct TCR signaling towards maintenance and activation of peripheral T cells.
第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉.
14. Yoshitomo Motomura, Eri Ishikawa, Toshiro Hara, Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
Role of CD11c⁺ cells in Nod1-ligand-induced coronary arteritis.
第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉.
15. Kiyotake Ryoko, Yamasaki Sho (2013, 12/11-13).
Search for endogenous ligand of C-type lectin receptors.
第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉.
16. Sho Yamasaki (2014, 1/19-23).
Recognition of pathogens through C-type lectin receptors.
The 3rd NIF Winter School on Advanced Immunology, 淡路.
17. 山崎 晶 (2014, 2/17-18).
C 型レクチン受容体による病原体由来糖脂質認識機構.
糖鎖免疫研究会, 東京.
18. 山崎 晶 (2014, 3/10).
C 型レクチン受容体を介する結核菌アジュバント認識機構と免疫応答.
基盤研究所セミナー, 大阪.
19. 山崎 晶 (2014, 3/26-28).
Recognition of bacterial components through C-type lectin receptors.
第 87 回日本細菌学会総会, 東京.

分子免疫学分野

Division of Molecular Immunology

I. 准教授：大洞 将嗣 Associate Professor : Masatsugu Oh-hora, Ph.D.

本分野では、生体内イオンによる免疫応答の制御機構の解明に注力して研究を行っている。生体内には、カルシウム、マグネシウム、カリウムなど様々なイオンが存在し、それぞれ様々な組織や細胞で重要な機能を持つ。免疫細胞も、免疫受容体刺激によって細胞内と細胞外でイオンの流出入が生じ、多様な細胞応答を惹起して免疫システムの恒常性を維持している。当分野では、免疫細胞におけるカルシウムシグナルの活性化機構と標的分子による機能発現の解析することによって、免疫細胞の分化、感染防御、自己免疫疾患発症の分子基盤を解明し、新規免疫療法の確立に貢献したいと考えています。

A. カルシウムシグナルによる免疫細胞の制御機構

a. カルシウムによる「アゴニスト選択」／「正の選択」の制御機構の解明

これまでの研究から、STIM1 や STIM2 によって制御されるストア作動性カルシウム流入は、制御性 T 細胞などの「アゴニスト選択」される T 細胞の分化を制御していることが明らかとなった。その分子メカニズムを説明する候補の 1 つとして、ストア作動性カルシウム流入で活性化されるカルシウムシグナルが、エピジェネティックな変化を制御する分子の発現を制御していることを見いだしており、現在これらの分子の発現制御機構を解析中である。また、それらの T 細胞特異的な遺伝子欠損マウスを作製中である。

一方、ストア作動性カルシウム流入は、「正の選択」には必須ではないことも明らかとなった。カルシウム依存性脱リン酸化酵素カルシニューリンが、「正の選択」を制御していることが明らかにされている。しかし、カルシニューリンを活性化させるカルシウム流入機構は依然として不明であるため、どのようなチャネルがカルシニューリンによる「正の選択」を支持しているのかを解析中である。現在までに、阻害剤を用いた実験から、複数のカルシウム透過性チャネルを候補として同定した。また現在、「正の選択」におけるカルシニューリンの標的分子の同定を、リン酸化プロテームや RNA シーケンスなどを駆使して行っている。

b. 樹状細胞におけるカルシウム流入の制御機構とその意義の解明

免疫応答における樹状細胞のシグナル伝達経路は、NF- κ B 経路を中心に解析が行われており、カルシウムシグナル経路の役割はほとんど明らかにされていない。これまでの研究から、ITAMモチーフを有するC型レクチン受容体、ITAMモチーフを有するFc γ と結合する受容体は、ホスホリパーゼC γ の活性化を介して、ストア作動性カルシウム流入も活性化することがわかっている。現在、樹状細胞におけるカルシウムシグナルの活性化機構とその下流の標的分子の同定、炎症応答や感染防御といった個体レベルの解析を行っており、カルシウムシグナルを欠損した樹状細胞をもつマウス個体において有意な表現型を認めている。

c. ストア作動性カルシウム流入の異常による疾患発症メカニズムの解析

これまでの研究から、制御分子STIM1とチャネルORAI1で制御されるストア作動性カルシウム流入を欠損することによって、重症複合免疫不全症候群と自己免疫疾患を同時に発症することを明らかにしている。この自己免疫疾患の特徴として、優位に濾胞ヘルパーT細胞へ分化が偏ることによって胚中心B細胞の異常な増加、それに伴う血清中の抗体量の増加であることを明らかにしている。そして、ストア作動性カルシウム流入を代償する複数のカルシウム流入経路が存在し、これによってNFATが活性化されることが、この自己免疫疾患の発症に重要であることを明らかにしている。現在、さらなる自己免疫疾患発症の分子制御機構の解析を行っている。

業績目録

原著論文

1. Oh-hora M, Komatsu N, Pishyraeh M, Feske S, Hori S, Taniguchi M, Rao A, Takayanagi H. 2013
Agonist-selected T cell development requires strong T-cell receptor signaling and store-operated calcium entry.
Immunity. 38, 881-895.
2. Komatsu N, Okamoto K, Sawa S, Nakashima T, Oh-hora M, Kodama T, Tanaka S, Bluestone JA, Takayanagi H. 2014
Pathogenic conversion of Foxp3⁺ T cells into T_H17 cells in autoimmune arthritis.
Nat Med. 20, 62-68.

学会発表

1. Masatsugu Oh-hora, Noriko Komatsu, Anjana Rao, Hiroshi Takayanagi (2013, 6/9-6/14)

- Store-operated calcium entry is crucial for the development of agonist-selected T cells.
FASEB Science Research Conference, Signal Transduction in the Immune System, Nassau, Bahamas
2. Masatsugu Oh-hora, Noriko Komatsu, Anjana Rao, Hiroshi Takayanagi (2013, 11/5)
Store-operated calcium entry is crucial for the development of agonist-selected T cells.
23rd Hot Spring Harbor International Symposium held jointly with the 3rd 'Grants for Excellent Graduate Schools' International Symposium, 福岡
 3. 三宅健介, 吉川宗一郎, 大洞将嗣, 烏山一 (2013, 11/28-11/30)
STIM1 を介したストア作動性カルシウム流入は好塩基球の脱下流および炎症局所への浸潤に重要である
第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京.
 4. Soichiro Yoshikawa, Masatsugu Oh-hora, Kensuke Miyake, Lihua Li, Takuya Ohta, Takahiro Adachi, Kayo Horiguchi, Yohei Kawano, Hajime Karasuyama (2013, 12/11-12/13)
STIM1-mediated store operated Ca^{2+} entry is essential for basophil recruitment in IgE-mediated chronic allergic inflammation.
第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉.
 5. Eri Ishikawa, Masatsugu Oh-hora, Tomohiro Kurosaki, Takasi Saito, Sho Yamasaki (2013, 12/11-12/13)
Search for downstream targets of protein kinase D that is critical for T cell development.
第 42 回日本免疫学会学術集会, 千葉.
 6. Masatsugu Oh-hora, Noriko Komatsu, Anjana Rao, Hiroshi Takayanagi (2013, 12/3-12/7)
Store-operated calcium entry and T cell development.
第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸.
 7. Masatsugu Oh-hora, Xiuyuan Liu, Sho Yamasaki (2014, 1/17-1/22)
NFAT2-dependent IL-4-producing follicular helper T cells is a critical factor in Th2 inflammation by the lack of store-operated calcium entry.
Keystone Symposia, Emerging cytokine networks, Vancouver, Canada
 8. 大洞将嗣 (2014, 3/16-3/18)
ストア作動性カルシウム流入による免疫制御
第 91 回日本生理学会大会, 鹿児島.
 9. 大洞将嗣, 小松紀子, Anjana Rao, 高柳広 (2014, 3/19-3/21)
ストア作動性カルシウム流入の異常による疾患発症のメカニズム
第 87 回日本薬理学会年会, 仙台.

II. 准教授：東田 裕一 Associate Professor : Yuichi Tsukada, Ph.D.

当部門では、生命現象を操る新たなドグマであるエピジェネティクスの制御機構について、基礎的な研究を行っている。なかでも、哺乳類初期胚のもつ全能性および全能性細胞へのゲノムリプログラミング機構について、その分子基盤の解明にエピジェネティクスの視点から取り組んでいる。

A. マウス受精卵の雄性 DNA 脱メチル化メカニズム

ゲノムの持つ遺伝情報の発現は、塩基配列と転写装置だけで制御されている訳ではなく、“エピジェネティクス”と呼ばれる DNA とヒストンなどのタンパク質から構成されるクロマチンの化学的・構造的な修飾による制御も受けており、これは発生の過程で確立され、その後細胞の記憶として働く。生命の発生、再生の本質的な制御機構である細胞のリプログラミング機構も、その実体はエピジェネティクスであると考えられている。しかしながら、そのメカニズムは解明されておらず、なかでも最大の謎はクロマチンのメチル化修飾消去機構である。哺乳類では細胞が全能性を獲得するためのゲノムリプログラミングが受精卵で起こり、受精後の 1 細胞期胚において起こる雄性 DNA のゲノムワイドな脱メチル化は、リプログラミングの柱とも言える中心的なエピゲノム制御機構と考えられてきた。

我々はこれまでの研究で、マウス受精卵の雄性 DNA 脱メチル化はメチル化 DNA の水酸化により部分的に説明できること、その責任分子が母性因子の TET3 であることを明らかにしてきた。そこで、受精後の 1 細胞期胚において起こる雄性 DNA のゲノムワイドな脱メチル化（酸化）の生物学的意義を明らかにする解析を行った。

まず、TET3 のノックアウトマウスを作製し、TET3 のホモ欠損個体の作製を試みたところ、TET3 のホモ欠損個体は産後致死であった。死亡個体の多くは、チアノーゼ様の青紫色の体色を示したことから、致死の原因として呼吸不全が考えられた。そして、脳神経系の発生異常が呼吸不全を引き起こすことが知られていること、および TET3 が神経系前駆細胞に高発現していることから、TET3 のホモ欠損個体が産後致死となる原因として、脳神経系の発生異常による呼吸不全が考えられ、TET3 は正常な発生に必須の役割を果たすことが示唆された。

さらに TET3 のホモ欠損個体が産後致死であることから、TET3 の卵母細胞特異的ノックアウトマウスを作製し、母性由来 TET3 欠損個体を作製したところ、母性由来 TET3 ホモ欠損個体は母性由来 TET3 ヘテロ欠損個体に比べ、出生率に顕著な差はみられないものの、離乳時までの生存率が若干下がることを見出した。

以上の解析結果から、母性由来 TET3 が触媒する 1 細胞期胚雄性 DNA のゲノムワイドな脱メチル化は、正常な発生に必須ではないことが明らかになった。今回得られた結果は、1 細胞期胚において起こる雄性 DNA のゲノムワイドな脱メチル化は、ゲノムリプログラミングに重要な役割を果たし、発生に必須であるという従来の考えを覆すものであった。

今後母性由来 TET3 の生理的役割の解析により、1 細胞期胚雄性 DNA のゲノムワイドな脱メチル化の生物学的意義が解明され、ゲノムリプログラミング機構の分子基盤が明らかになることが期待される。

B. マウス受精卵の雄性 DNA 脱メチル化防御メカニズム

哺乳類では、受精後の 1 細胞期胚において雄性 DNA のゲノムワイドな脱メチル化（酸化）がおこるが、全ての DNA が脱メチル化されるわけではない。つまり、雄性 DNA の一部は脱メチル化から守られており、このメカニズムを明らかにすることは、ゲノムリプログラミングを理解する上で大変重要である。

我々はマウス 1 細胞期胚の免疫染色像の解析により、1 細胞期胚の雄性 DNA の中で脱メチル化から守られている領域の一つが、核小体前駆体周辺に局在する DNA 領域であることを見出した。そして、クロマチン修飾酵素の各阻害剤を用いた解析により、この脱メチル化から守られている DNA 領域を人工的に脱メチル化（酸化）させることに成功し、防御メカニズムの責任分子として class I HDAC を同定した。

さらに、1 細胞期胚雄性 DNA の脱メチル化防御メカニズムを解明するために、人工的な脱メチル化モデルの解析を行った。まず、脱メチル化防御メカニズムにおけるヒストンの化学修飾とバリエーションの役割を免疫染色像の解析により行った。その結果、class I HDAC の酵素活性を特異的阻害剤により阻害すると、ヒストンのアセチル化が亢進し、ヒストンバリエーションの置換（H3.1 の H3.3 による置換）が誘導されることを見出した。さらに、class I HDAC の阻害により誘導される人工的な脱メチル化は、TET3 が触媒するメチル化 DNA の酸化であることがわかった。

1 細胞期胚の核小体前駆体周辺に局在する DNA 領域には、各染色体のペリセントロメア領域に存在する major satellite repeat 配列が含まれる。この major satellite repeat の転写は、クロモセーターとよばれるヘテロクロマチン構造体が初期胚型から体細胞型へ移行するのに重要な役割を果たすことが知られている。DNA のメチル化状態とその転写状態には密接な関係があることが知られている。そこで、class I HDAC の阻害により引き起こされる脱メチル化防御機構の破綻が major satellite repeat の転写状態に与える影響を調べた結果、major satellite repeat は脱メチル化により転写活性が上昇することが分かった。

以上の解析結果から、1 細胞期胚雄性前核の核小体前駆体周辺に局在する DNA 領域の脱メチル化防御機構は、major satellite repeat の転写を適切なレベルに調整し、クロモセーターとよばれるヘテロクロマチン構造体が初期胚型から体細胞型へ移行するのに重要な役割を果たしていることが示唆された。

今後さらに 1 細胞期胚の雄性 DNA 脱メチル化防御機構の解明が進み、ゲノムリプログラミング機構の分子基盤が明らかになることが期待される。

業績目録

著書

1. Shi, Y. Tsukada, Y. 2014.
The discovery of histone demethylases.
Epigenetics (Editors: David Allis, Thomas Jenuwein and Danny Reinberg), in press.
Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
2. Shi, Y. Tsukada, Y. 2013.
The discovery of histone demethylases.
Cold Spring Harb. Perspect. Biol. doi:pil: a017947. 10.1101/cshperspect.a017947.
Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
3. 東田裕一. 2013.
ヒストンのメチル化と脱メチル化.
エピジェネティクス (田嶋正二編)、pp.67-89
化学同人, 東京.

学会発表

1. Tsukada, Y. (2013, 6/27-6/28)
Regulation of chromatin demethylation.
The 8th International Symposium of the Institute Network, Kyoto, Japan.
2. Tsukada, Y. (2013, 9/10)
Mechanism of epigenome regulation in early embryo development.
The Fukuoka International Symposium on Genomics & Epigenomics 2013, –Expanding Frontiers of Genomic Science–, Fukuoka, Japan.
3. 東田裕一 (2013, 9/11-9/13)
A unique regulatory phase of chromatin modification in the early mammalian embryo.
第86回日本生化学会大会, 横浜.
4. Tsukada, Y. and Nakayama, K. I. (2013, 11/6-11/8)
Regulation mechanism of DNA oxidation in mammalian zygote.
8th Annual Conference of Asia Epigenome Alliance and 2nd Taipei Epigenetics and Chromatin Meeting, Taipei, Taiwan.
5. 東田裕一 (2013, 11/14-11/15)
哺乳類初期胚におけるメチル化DNA酸化の機能と制御機構.
新学術領域研究第1回公開シンポジウム, 大阪.