

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Special AT richsequence binding protein 1 is required for maintenance of T cell receptor responsiveness and development of experimental autoimmune encephalomyelitis
別タイトル	SATB1はT細胞受容体の反応性の維持と実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症に必要な分子である
作成者（著者）	秋葉, 靖
公開者	東邦大学
発行日	2019.03.13
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. 61.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：中野裕康 / タイトル：Special AT richsequence binding protein 1 is required for maintenance of T cell receptor responsiveness and development of experimental autoimmune encephalomyelitis / 著者：Yasushi Akiba, Taku Kuwabara, Takanori Mukozu, Tetuo Mikami, Motonari Kondo / 掲載誌：Microbiology and Immunology / 巻号・発行年等：62(4):255-268, 2018
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第897号
学位記番号	甲第611号
学位授与年月日	2019.03.13
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD37430910">https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD37430910</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

秋葉 靖より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第611号

学位申請者 : あき 秋                      ば 葉                      やすし 靖

学位審査論文 : Special AT-rich sequence binding protein 1 is required for maintenance of T cell receptor responsiveness and development of experimental autoimmune encephalomyelitis

(SATB1 は T 細胞受容体の反応性の維持と実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症に必要な分子である)

著 者 : Yasushi Akiba, Taku Kuwabara, Takanori Mukozu, Tetuo Mikami, Motonari Kondo

公 表 誌 : Microbiology and Immunology 62 (4) : 255-268, 2018

論文内容の要旨 :

背景 ; SATB1 は、クロマチン構造と遺伝子発現を制御するゲノムオーガナイザーである。クロマチン構造の再構成とそれに続く遺伝子発現制御を通して、ヘルパーT 細胞の特異的機能を調節している。我々は、T 細胞受容体への架橋に対する反応として見られるシグナル伝達分子のリン酸化が、血球特異的 SATB1 遺伝子欠損マウスにおいては減弱していることを見出した。しかし、生体内で抗原に応答する T 細胞での SATB1 の役割はこれまで全く明らかにされていない。

方法 ; C57BL/6 系統の野生型マウス、遺伝子改変マウスとして血球特異的 SATB1 欠損マウス、T 細胞特異的 SATB1 欠損マウス、タモキシフェン (TAM) 依存性 SATB1 欠損マウス (SATB-ER) を用い実験をおこなった。T 細胞受容体刺激に対する T 細胞の反応性における SATB1 の役割を解析するために、試験管内で抗原再刺激に対するサイトカイン産生と細胞増殖を解析した。また、病原 T 細胞依存的に中枢神経脱髄疾患を発症する実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルを用いて、生体内での反応を解析した。

結果 ; 野生型マウス、血球特異的 SATB1 欠損マウス、T 細胞特異的 SATB1 欠損マウスに EAE を誘導したところ、用いた 2 系統の SATB1 欠損マウスは EAE の発症に抵抗性であった。SATB1 欠損マウスでは T 細胞の恒常性増殖を認める。恒常性増殖による T 細胞活性化後の細胞死亢進が EAE 抵抗性の一因であるかを次に解析した。試験管内で抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体とにより T 細胞受容体を刺激した場合、SATB1 欠損マウス由来の T 細胞は野生型マウス由来のそれらと比べて、細胞死の亢進は起きていなかった。

次に、SATB1 欠損マウスにおいて病原性 T 細胞が誘導されるかどうかを確認した。ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質

(MOG) を抗原として免疫したマウスから所属リンパ節細胞を調製し、試験管内で再び抗原で刺激してサイトカイン産生と細胞増殖を解析した。T 細胞の産生するサイトカインを ELISA 法で調べたところ、2 系統の SATB1 欠損マウス由来の T 細胞では野生型マウスと比較して、IFN- $\gamma$  と IL-17 の産生は低レベルであった。細胞内染色法でも IFN- $\gamma$  と IL-17 陽性細胞の割合は SATB1 欠損マウス由来の T 細胞で低下していた。同様に SATB1 欠損マウス由来の T 細胞の増殖反応は野生型マウス由来の T 細胞に比べ低下していた。以上から、病原性 T 細胞の誘導相（プライミング）が SATB1 依存的であることが示唆された。次に SATB1 が EAE のエフェクター相において T 細胞機能を調節しているかを検討した。TAM 処理で SATB1 欠損誘導可能な SATB-ER マウスに MOG 免疫を行い、病原性 T 細胞を誘導した。10 日後の所属リンパ節細胞を MOG で再刺激して病原性 T 細胞を調製した後に野生型マウスへ養子移入を行い、受動的 EAE を発症するかを TAM 投与群と非投与群に分けて比較した。TAM 非投与群は EAE を発症したが、TAM 投与により SATB1 を欠損させた群は EAE を発症しなかった。病原性 T 細胞を試験管内で再刺激して、TAM 添加群と非添加群とでサイトカイン産生と増殖反応を調べたところ、IFN- $\gamma$  と IL-17 の産生および増殖反応は非添加群に比べ TAM 添加群で低下していた。SATB1 はプライミング後の T 細胞反応維持に必要であることが示唆された。次に、病原性 Th17 細胞から SATB1 を欠損させた場合に、別の Th 細胞サブセットに変化するかを検討した。病原性 T 細胞を養子移入した後に TAM 投与群と非投与群の 2 群にわけ、養子移入した細胞を回収して発現遺伝子を解析した。TAM 投与群と非投与群では、Rorc と IL-23r の発現に低下を認めず、他系統を示唆する Ifng や Foxp3 の発現上昇を認めなかった。病原性 Th17 細胞から SATB1 を欠損させても、Th17 細胞としての細胞特性は維持されていた。回収した T 細胞を試験管内で再刺激して、TAM 投与群と非投与群でサイトカイン産生を細胞内染色で調べたところ、TAM 投与群は非投与群と比べて IFN- $\gamma$  と IL-17 陽性細胞の割合が低下していた。次に、受動的 EAE の系により発症後の病原性 T 細胞から SATB1 を欠損させることが EAE の麻痺症状に影響するかを検討した。SATB-ER マウスに MOG を免疫して調製した病原性 T 細胞を養子移入し、EAE を発症させた後に TAM 投与群と非投与群の 2 群にわけ、その後の症状の経過を点数化した。TAM 投与群は非投与群と比べて平均点数が低く経過した。

結語：SATB1 は、EAE の誘導相とエフェクター相の両方において T 細胞受容体の反応性の維持に必要である。SATB1 が T 細胞介在性自己免疫疾患の新規の治療標的となりうる可能性が示唆された。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 611 号	氏 名	秋 葉 靖
学位審査担当者	主 査	中 野 裕 康
	副 査	館 田 一 博
	副 査	亀 田 秀 人
	副 査	南 木 敏 宏
	副 査	榊 原 隆 次

学位審査論文の審査結果の要旨 :

SATB1 はクロマチン構造の再構成とそれに続く遺伝子発現制御を通して、ヘルパーT細胞の特異的機能を調節している。これまで申請者らのグループは、T細胞受容体刺激により誘導されるシグナル伝達分子のリン酸化が、SATB1欠損T細胞では減弱していることを報告してきた。しかし、生体内において抗原刺激に反応するT細胞におけるSATB1の役割は明らかにされていなかった。本研究では、T細胞特異的なSATB1欠損マウスや、薬剤依存性にSATB1の欠損を誘導できるマウスを樹立した。それらのマウスに実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を誘導し、T細胞におけるSATB1の機能を解析した。T細胞特異的なSATB1欠損マウスはEAEを発症しないことが明らかとなった。そこでSATB1欠損マウスでEAEの発症に関与する病原性T細胞が誘導されるかを検討した。マウスにミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質(MOG)を免疫し、免疫したマウスの所属リンパ節細胞を再び抗原で刺激してサイトカイン産生と細胞増殖を解析した。SATB1欠損マウス由来のT細胞では、野生型マウスと比較してIFN- $\gamma$ とIL-17の産生が低下しており、増殖反応も低下していた。以上から、病原性T細胞が誘導される時には、SATB1が必要であることが示唆された。次にSATB1がEAEのエフェクター相においてT細胞機能を調節しているかを検討した。薬剤処理によりSATB1欠損を誘導できるマウスにMOG免疫を行い、病原性T細胞を誘導した。薬剤を投与してSATB1を消失させた病原性T細胞を移入したマウスではEAEが発症しなかった。薬剤を投与して後天的にSATB1を欠損させたT細胞もIFN- $\gamma$ やIL-17産生、細胞増殖ともに薬剤非投与群と比較して低下していた。以上より、SATB1は、EAEの誘導相とエフェクター相の両方においてT細胞受容体の反応性の維持に必要であり、SATB1がT細胞介在性自己免疫疾患の新規の治療標的となりうる可能性が示唆された。

平成30年10月23日に館田、南木、中野の3名が出席して開催された。亀田、榊原の2名は書面にての参加となった。研究内容を発表した後で活発な質疑応答が行われた。審査委員からは①SATB1の機能をEAE以外のマウスモデルで検討しているのか、②SATB1欠損T細胞でIFN- $\gamma$ やIL-17の産生低下が見られたが、その他のTh2サイトカインの産生は検討しているか、③SATB1の標的となる遺伝子はどのような遺伝子が考えられるのかなど、様々な質問が提起された。それらに対して申請者は適切に回答した。SATB1がT細胞で欠損したマウスは、実験的自己免疫性脳脊髄炎が発症しないことを示した今回の研究は、今後SATB1の機能を阻害することで新たなヒト多発性硬化症の治療薬の開発につながる可能性をも示しており、本研究の意義は高く、本論文は学位に値するとの結論に達し、学位審査会を終了した。