

血液・腫瘍学研究部門

「時空間特異的なNotchシグナルによるT細胞運命決定メカニズムの解明」

【研究概要】

私たちの体を形成している細胞は30兆個を超えていると言われていて、これらの細胞はたった一つの受精卵から分裂し、基本的には同じDNAを持っているにもかかわらず、200種類以上の性質の異なる細胞集団として様々な臓器を形成し、恒常性を保っている。幹細胞は外界からのシグナルを受けることで、cell type特異的な遺伝子発現が誘導され、特定の機能を持った細胞へと分化する。幹細胞から特定の細胞系列への運命決定メカニズムの解明は、私たちの生命現象を理解する上で極めて重要な課題である。我々は免疫細胞の運命決定を司る転写因子群と外界からのシグナルであるNotchシグナルがどのように相互作用し、どのような分子メカニズムで免疫細胞の系列決定がなされるか解明すること、さらには、Notchシグナルと転写因子の相互作用をコントロールすることで、免疫関連疾患の発症や憎悪を制御する新規治療戦略の確立を目標として研究を進めている。

【研究成果】

(1) T細胞の初期発生におけるガン遺伝子PU.1の発現抑制メカニズムの解明

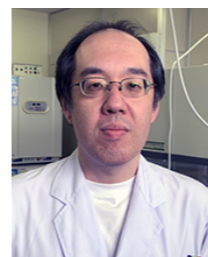
ガン遺伝子PU.1はETSファミリーに属する転写因子で、様々な血球細胞の発生や機能に重要な役割を果たす。T細胞系列においては、最も初期のT前駆細胞で高く発現するが、T細胞抗原受容体の遺伝子再構成が起きる直前に、その発現がシャットオフされる。T前駆細胞や成熟T細胞におけるPU.1の脱抑制や過剰発現はT細胞急性リンパ性白血病の原因となることが報告されており、T細胞においてPU.1の発現を適切に抑制することは、その恒常性の維持に極めて重要である。本研究では、転写因子GATA3とRunx1に着目し、PU.1がT細胞の発生段階特異的に発現抑制される分子メカニズムの解明を目指した。胸腺移入直後のPU.1を高発現しているT前駆細胞にGATA3およびRunx1を過剰発現することで、PU.1の発現が強く抑制されることを見出した。反対に、PU.1の発現が抑制された抗原受容体の遺伝子再構成直前の細胞において、CRISPR/Cas9システムを用いて、GATA3およびRunx1をノックアウトすることで、PU.1の発現が脱抑制されることを明らかにした。さらに、胸腺移入直後と遺伝子再構成直前の細胞を用いてGATA3およびRunx1のChIPシーケンス解析を行い、遺伝子再構成直前の細胞に特異的なGATA3およびRunx1の結合シグナルをPU.1遺伝子のイントロン領域に見出した。この発生段階特異的なGATA3およびRunx1結合ゲノム領域を細胞レベルで欠損させるとPU.1の脱抑制が誘導された。これらの結果から、GATA3およびRunx1が発生段階特異的にPU.1遺伝子座のイントロン領域に結合することで、PU.1の発現抑制のタイミングをコントロールしていると考えられた (図1) (Hosokawa et al., J Exp Med, 2021)。

(2) 造血幹細胞の持つT細胞分化能を制御する転写因子Lmo2の機能解析

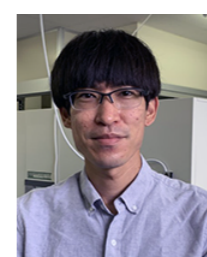
リンパ球前駆細胞は胸腺へ移行し、Notchシグナルを受け取ることでT細胞分化プログラムをスタートさせる。我々はリンパ球前駆細胞の持つT細胞分化能がbridging factorであるLmo2によって維持されていることを報告してきた。Lmo2がT細胞分化能の維持を制御する分子メカニズムを明らかにする目的でCas9発現リンパ球前駆細胞株を用いてLmo2会合分子のプロテオミクス解析を行い、600個以上のLmo2会合分子を同定した。CRISPR/Cas9システムを用いたLmo2会合分子の機能解析の結果から、転写因子Zbtb1とCbfa2t3が機能的に重要なLmo2会合分子である事が明らかになった。Lmo2、Zbtb1、Cbfa2t3欠損細胞のRNA-seq解析の結果から、T細胞の初期発生に必須の転写因子Tcf7がLmo2複合体のターゲットである事がわかった。さらに、Lmo2、Zbtb1、Cbfa2t3のChIP-seq解析の結果から、これら3つの分子がTcf7遺伝子のエンハンサー領域に結合する事で、Notchシグナル依存的なTcf7の活性化を制御していることが明らかになった(図2) (Koizumi et al., J Biol Chem, 2022)。

【今後の展望】

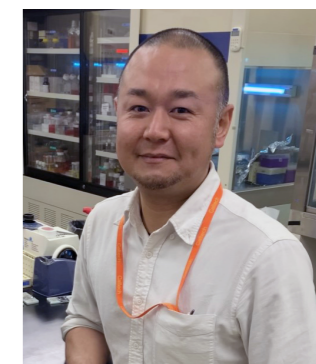
すべての免疫細胞は骨髄に存在する造血幹細胞から分化し、免疫細胞の発生段階は細胞表面分子の発現パターンを単一細胞レベルで調べることで、容易に検出することができる。さらに、免疫細胞の系列決定を制御できれば、感染症や癌、アレルギー、自己免疫疾患といった免疫関連疾患の新規治療法の開発にもつながる可能性を秘めている。このことから、免疫細胞は、細胞の運命決定メカニズム機構を解析する上で非常に良いモデルであると考えている。今後、T細胞の発生及び機能を制御する転写因子群とNotchシグナルの生理的な機能を明らかにすることで、様々な免疫関連疾患(感染症、癌、アレルギー性疾患、自己免疫疾患など)のコントロールに結びつける研究へと発展させていきたい。



平野 健一
Hirano Ken-ichi
生体防御学 特定研究員



鎌 裕一
Kama Yuichi
生体防御学 奨励研究員



プロジェクトリーダー：細川 裕之
Hosokawa Hiroyuki
医学部医学科基礎医学系生体防御学 准教授

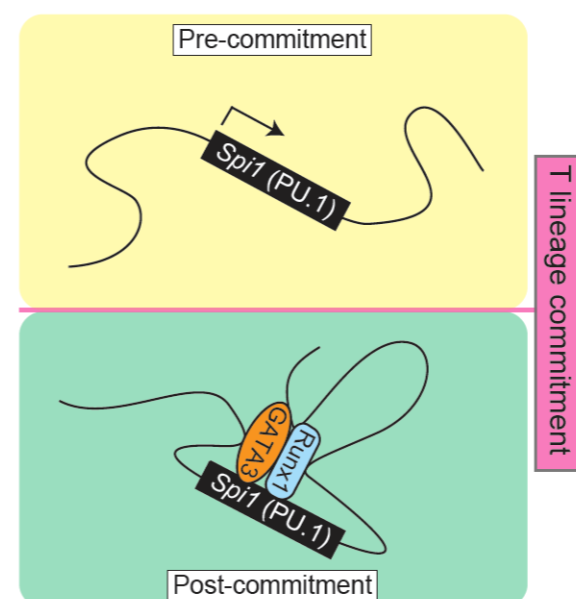


図1 GATA3 と Runx1 による発生段階特異的な PU.1 (*Spi1* 遺伝子)の発現抑制

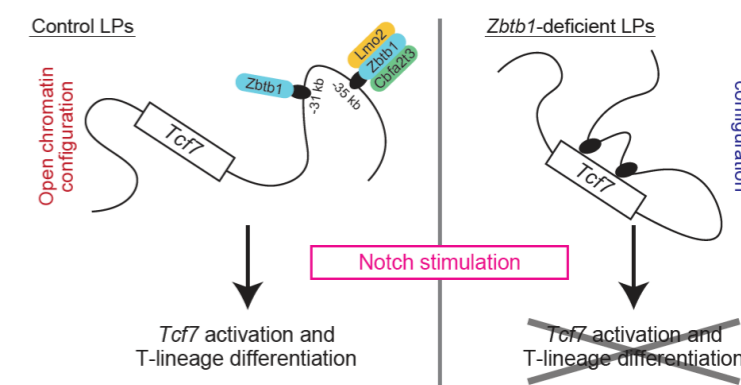


図2 Lmo2/Zbtb1/Cbfa2t3 複合体による Tcf7 遺伝子座の制御

Selected Papers

- Koizumi M, Kama Y, Hirano K, Endo Y, Tanaka T, Hozumi K and Hosokawa H. :Transcription factor Zbtb1 interacts with bridging factor Lmo2 and maintains the T-lineage differentiation capacity of lymphoid progenitor cells. J Biol Chem.298(11): 102506 (2022)
- Fujimoto M, Yokoyama M, Kiuchi M, Hosokawa H, Nakayama A, Hashimoto N, Sakuma H, Nagano H, Yamagata K, Kudo F, Manabe I, Lee E, Hatano R, Onodera A, Hirahara K, Yokote K, Miki T, Nakayama Y and Tanaka T. :Liver group 2 innate lymphoid cells regulate blood glucose levels through IL-13 signaling and suppression of gluconeogenesis. Nat Commun. 13(1): 5408 (2022)
- Suzuki S, Venkatesh D, Kanda H, Nakayama A, Hosokawa H, Lee E, Miki T, Stockwell BR, Yokote K, Tanaka T and Prives C. :GLS2 is a tumor suppressor and a regulator of ferroptosis in hepatocellular carcinoma. Cancer Res. 82(18): 3209-3222 (2022)
- Hirano K, Hosokawa H, Yahata T, Ando K, Tanaka M, Imai J, Yazawa M, Ohtsuka M, Negishi N, Habu S, Sato T and Hozumi K. :Dll1 can function as a ligand of Notch1 and Notch2 in the thymic epithelium. Front Immunol. 13: 852427 (2022)