



Title	Genome-wide CRISPR screen in human T cells reveals regulators of FOXP3
Author(s)	木林, 達也
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105314
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	木林 達也
論文題名 Title	Genome-wide CRISPR screen in human T cells reveals regulators of FOXP3 (ヒトT細胞におけるゲノムワイドCRISPRスクリーニングはFoxP3制御因子を明らかにする)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 制御性T細胞 (Treg) は生体の免疫寛容に重要な CD4 陽性 T 細胞サブセットであり、近年では自己免疫疾患治療への応用も期待されている。その候補の一つである <i>in vitro</i> 誘導型 Treg (以下、iTreg) は、比較的多くの細胞数を容易に得ることが可能である一方、FoxP3 発現を含む Treg 特有の性質が不安定であることが知られており、臨床応用のボトルネックとなっている。そこで本研究では、iTreg における FoxP3 発現制御ネットワークを解析することで、より効果的な Treg 細胞療法の実現を目指すことを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 <i>In vitro</i> FoxP3 誘導条件下において、ヒト CD4 陽性 T 細胞を用いたゲノムワイド CRISPR/Cas9 KO スクリーニングを実施した。FoxP3 高発現および低発現のエンリッチメント解析により、FoxP3 発現制御因子群を同定した。さらに、このスクリーニングにより得られた制御因子群を標的とした Focused library を用いて Perturb intracellular CITE-seq を実施し、ヒト CD4 陽性 T 細胞における FoxP3 発現制御ネットワークを明らかにした。同定された FoxP3 発現制御因子の中で特に発現亢進効果のあった RBPJ に着目し、iTreg における RBPJ KO の表現型解析を行った。その結果、コントロールと比較して、胸腺分化型 Treg (以下、nTreg) に近い遺伝子発現パターンを示すだけでなく、FoxP3 の安定発現に重要である CNS2 領域の脱メチル化亢進、さらに抑制能の亢進も示した。次に、RBPJ による FoxP3 制御メカニズムを明らかにするため、CRISPR exon tiling スクリーニングを実施した。これにより、RBPJ-NCoR 抑制性複合体コンポーネントと相互作用する部位が重要であることが示唆された。実際に、RBPJ は直接的に FoxP3 遺伝子の転写開始領域に結合すること、複合体エフェクター分子の HDAC3 が FoxP3 遺伝子座のヒストンアセチル化修飾を制御することによって FoxP3 遺伝子発現を調節していることを明らかにした。最後に、<i>in vivo</i> GVHD モデルにおいても nTreg と同等の生存率改善効果があることを確認した。 〔総 括(Conclusion)〕 以上より、本研究では CRISPR Cas9 スクリーニングを用いてヒト CD4 陽性 T 細胞における FoxP3 発現制御ネットワークを明らかにするとともに、iTreg の安定性・抑制能を改善する標的候補を同定した。本研究は自己免疫疾患に対する Treg 細胞療法の新たなアプローチを提案するものである。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		木 林 達 也	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	竹 田 潔
	副 査	大阪大学教授	長 澤 丘 司
	副 査	大阪大学教授	山 本 雅 裕

論文審査の結果の要旨

本研究は、免疫のブレーキ役である制御性T細胞（Treg）の要となる遺伝子FOXP3の誘導/発現制御機構をヒトのT細胞で全ゲノムCRISPRスクリーニング解析と単一細胞解析により調べ、FOXP3を支える制御ネットワークの全体像を描いた。得られた知見から、試験管内で作る誘導型Treg（iTreg）の性質をより安定で高機能に作り出す方法としてRBPJ遺伝子をKOする方法を示し、異種GVHDマウスモデルでもその効果を示した。また、RBPJがNCOR抑制性複合体を介したエピジェネティック修飾（ヒストン脱アセチル化）によって直接的にFOXP3遺伝子座に作用することで、その転写を抑制していることも明らかとした。本研究成果は、Treg分化に対して科学的に重要な知見を与えるとともに、Treg細胞療法における新たなアプローチを提示するものであり、博士の学位の授与に値すると考えられる。