

Title	Satb1 regulates the effector program of encephalitogenic tissue Th17 cells in chronic inflammation
Author(s)	安田, 圭子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/72510">https://hdl.handle.net/11094/72510</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 安田 圭子	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 猪 阪 善 隆
	副 査 大阪大学教授 竹 田 潔
	副 査 大阪大学教授 熊 郷 淳
論文審査の結果の要旨	
<p>ゲノムオーガナイザーであるSatb1 (special AT-rich sequence-binding protein-1) は、胸腺でのT細胞分化に必須の転写因子であることがこれまでに示されている。しかしヘルパーT細胞に分化後の末梢でのSatb1の役割については十分な知見がなく、本研究ではSatb1のTh17細胞への分化および機能(病原性獲得)における役割について検討を行った。その結果、CD4+T細胞からのTh17細胞への分化にはSatb1は必須ではなく、定常状態における腸管パイエル板に存在する病原性のないTh17細胞においてもSatb1の有無は機能に大きな影響がないものと考えられた。一方で、多発性硬化症(MS)のマウスモデルであるEAE誘導後のTh17細胞ではSatb1はBhlhe40を介してGM-CSFの産生、PD-1の発現抑制に関与することで病原性獲得に重要な役割を果たしていると考えられた。GWASでSATB1領域がMSと関連したSNPとして挙げられていることから、ヒト疾患においてもTh17細胞でのSatb1発現を抑制するアプローチにより病態が改善する可能性がある。上記の研究は、博士(医学)の学位授与に値する。</p>	

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	安田 圭子
論文題名 Title	Satb1 regulates the effector program of encephalitogenic tissue Th17 cells in chronic inflammation (Satb1は、慢性炎症における炎症組織での病原性Th17細胞の機能を制御する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>ゲノムオーガナイザーであるSatb1 (special AT-rich sequence-binding protein-1)は、細胞の分化の過程において遺伝子ネットワークを包括的に制御しており、胸腺でのCD4<sup>+</sup>T細胞、CD8<sup>+</sup>T細胞、Foxp3<sup>+</sup>制御性T細胞の分化に必須であることがこれまでに示されている。しかしながら、ヘルパーT細胞に分化後の末梢でのSatb1の役割については十分に知られていない。そこで、我々はSatb1のTh17細胞への分化およびTh17の機能における役割について検討を行った。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>まず、Th17細胞への分化におけるSatb1の役割について検討を行った。CD4<sup>+</sup>T細胞においてSatb1を欠損している <i>ThpoK<sup>flx</sup> Satb1<sup>fl/fl</sup></i> マウスから回収したナイーブT細胞を <i>in vitro</i> でTh17に分化させる系において、Satb1欠損はTh17への分化に影響を与えなかった。また、<i>in vivo</i> においてもリンパ節(LN)、パイエル板ともにIL-17産生細胞の割合には影響を認めず、ナイーブT細胞を遺伝的にT細胞およびB細胞を欠損する <i>Rag2KO</i> マウスに移入する系でもTh17への分化に差を認めなかった。これらの結果から、CD4<sup>+</sup>T細胞へ分化後のTh17への分化にはSatb1は必須ではないことが示された。</p> <p>次に、Th17細胞の機能におけるSatb1の役割を調べるためにIL-17産生後にSatb1を欠損し、なおかつIL-17産生歴のある細胞(Th17)がeYFP<sup>+</sup>となるレポーターマウスである、<i>Il17a<sup>flx</sup> R26R<sup>eYFP</sup> Satb1<sup>fl/fl</sup></i> (Th17<sup>Satb1<sup>fl/fl</sup></sup>) マウスを用いて、ヒト多発性硬化症のマウスモデルであるEAE(実験的自己免疫性脳脊髄炎)を誘導した。その結果、Th17<sup>Satb1<sup>fl/fl</sup></sup> マウスはEAEに抵抗性であり、LN、脊髄のTh17細胞においてEAEの病原性に重要な役割をもつサイトカインである、GM-CSFの産生が有意に低かった。EAE誘導マウスの脊髄Th17細胞を用いてRNAseqを行った結果、コントロールと比較してTh17<sup>Satb1<sup>fl/fl</sup></sup> マウスで低下する遺伝子が92個、上昇する遺伝子が100個検出され、この中で <i>Bhlhe40</i> (GM-CSF産生を制御する転写因子)と <i>Pdcd-1</i> (PD-1をコードする遺伝子)に着目した。EAE誘導Th17<sup>Satb1<sup>fl/fl</sup></sup> マウスのTh17細胞では <i>Bhlhe40</i> 発現が有意に低く、<i>Bhlhe40</i> を強制発現したTh17<sup>Satb1<sup>fl/fl</sup></sup> マウスのCD4<sup>+</sup>T細胞を <i>Rag2KO</i> マウスに移入してEAEを誘導すると、Th17細胞のGM-CSF産生が上昇し、EAEの増悪を認めた。EAE誘導マウスの所属LNではPD-1の発現に差がない一方、脊髄のTh17細胞では、Th17<sup>Satb1<sup>fl/fl</sup></sup> マウスにおいてPD-1の発現上昇を認めた。これらの遺伝子の発現へのSatb1の関与を調べるためにSatb1抗体を用いたDNA免疫沈降を行った結果、<i>Bhlhe40</i> へは直接作用 (<i>Bhlhe40</i> の活性化プロモーター領域にSatb1が直接結合)、<i>Pdcd-1</i> へは間接作用していると考えられた。さらに、定常状態におけるパイエル板に常在するTh17においてはEAEの脊髄Th17と比較して <i>Satb1</i>、<i>Bhlhe40</i> の発現は有意に低かった。EAE誘導後のTh17でのSatb1発現は、IL-23によってさらに増加し、TGFβによって抑制された。パイエル板Th17ではSatb1の有無にかかわらずGM-CSFの産生はほとんど認められず、Th17<sup>Satb1<sup>fl/fl</sup></sup> マウスにおいても <i>Bhlhe40</i> や <i>Pdcd-1</i> の発現に差を認めなかった。以上より、Th17細胞においてはSatb1はGM-CSFの産生、PD-1の発現抑制に関与することでTh17細胞の機能(病原性)に重要な役割を果たしていると考えられる。一方で、定常状態での病原性のないTh17においてはSatb1の有無は機能に大きな影響がないものと考えられた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>CD4<sup>+</sup>T細胞からのTh17への分化にはSatb1は必須ではなく、定常状態における病原性のないTh17においてもSatb1の有無は機能に大きな影響がないものと考えられた。しかしながら、EAE誘導後の病原性のあるTh17においてはSatb1はGM-CSFの産生、PD-1の発現抑制に関与することでTh17細胞の機能(病原性)に重要な役割を果たしていると考えられた。Th17に分化後のSatb1の発現をIL-23がさらに上昇させたことから、EAEにおける炎症局所での環境に含まれるサイトカインがTh17細胞におけるSatb1の発現を上昇させることが病原性獲得に寄与していると考えられ、Satb1の抑制をターゲットとすることが病勢の抑制に有用である可能性が示唆された。</p>	