

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名  
野田 令菜

論 文 名  
ヒストン脱メチル化酵素 Utx は Cxcr3 発現のエピジェネティックな制御を介して CD8<sup>+</sup> T 細胞依存的な抗腫瘍免疫を制御する

---

### 学位論文要旨

#### 【緒言】

CD8<sup>+</sup> T 細胞は、抗腫瘍免疫応答において中心的な役割を担っている。ナイーブ CD8<sup>+</sup> T 細胞が抗原刺激を受け、抗原排除のための機能を持つエフェクター細胞へ分化するには、遺伝子発現のエピジェネティック制御が不可欠である。エピジェネティック制御とは、DNA やヒストンの化学修飾により、遺伝子発現が網羅的、かつ協調的に調節される仕組みのことである。T 細胞を含む多くの細胞において、ヒストン H3K27 の化学修飾は、遺伝子発現調節に重要な、エンハンサーの活性化状態と相関している。ヒストン H3K27 のメチル化は、不活性なエンハンサー領域のマーカーとなる。T 細胞胸腺内分化において、ヒストン H3K27 のメチル化が必須であることが報告されている。しかし、末梢 T 細胞の分化におけるヒストン H3K27 メチル化の役割は明らかとなっていない。ヒストン H3K27 は、ヒストンメチル基転移酵素 Ezh2 でメチル化され、ヒストン脱メチル化酵素 Utx や Jmjd3 で脱メチル化されることがわかっている。本論文では、T 細胞特異的 Utx 欠損(Utx KO)マウスを用いて、CD8<sup>+</sup> T 細胞のエフェクター分化、および抗腫瘍免疫におけるヒストン H3K27 脱メチル化の役割を明らかにすることを目的に研究を行った。

#### 【方法】

*In vivo* の抗腫瘍活性を検討するため、野生型(WT)マウス、Utx KO マウスおよび T 細胞特異的 Jmjd3 欠損(Jmjd3 KO)マウスを用い、ovalbumin (OVA)を強制発現させたマウス胸腺腫細胞である E.G7 をマウスの背部に皮下接種させることで腫瘍モデルを作製した。*In vitro* の検討のため、WT、Utx KO マウスおよび T 細胞特異的 Ezh2 欠損(Ezh2 KO)マウス脾臓由来のナイーブ CD8<sup>+</sup> T 細胞を IL-2 存在下で抗 TCR β /CD28 抗体で 2 日間刺激後、IL-2 存在下で培養を行った。この動物実験は、愛媛大学医学部の動物実験の倫理委員会によって承認されている。

【結果】

*Utx* KO マウスにおいて、WT マウスと比較して、腫瘍サイズの増大と生存率の低下が観察された。しかし、*Jmjd3* KO マウスでは WT マウスと比較して腫瘍サイズの増大や生存率の低下は認められなかった。RNA-シーケンス解析を施行したところ、*in vitro* で分化誘導した *Utx* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞では *Eomes* や *Id2* といったエフェクター関連遺伝子の発現低下、エフェクター機能の獲得の遅延と減弱が認められた。さらに、E.G7 を標的細胞とした *in vitro* 細胞傷害活性も、WT に比べ *Utx* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞で減弱していた。一方、*Id3*、*Bach2*、*Sox4*、*Bcl6*、*Tcf7*、*Lef1* といったナイーブ関連遺伝子、およびメモリー関連遺伝子の発現は、WT と比較し *Utx* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞で発現が増加していた。

また、腫瘍浸潤リンパ球 (TILs) の解析では、CD8<sup>+</sup> TIL の数が、WT と比較し *Utx* KO マウスで有意に減少していた。そこで、T 細胞を腫瘍局所へ遊走するために必要なケモカイン受容体の発現を RNA-シーケンスにて解析した結果、ケモカイン受容体 *Cxcr3* 遺伝子の発現が *Utx* KO で著しく低下していることがわかった。続くフローサイトメトリー解析により、*Cxcr3* の細胞表面で発現は、WT CD8<sup>+</sup> T 細胞では抗原刺激後に上昇するのに対し、*Utx* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞では、発現上昇が認められないことが明らかとなった。一方で、ヒストン H3K27 にメチル基転移酵素である *Ezh2* を欠損した CD8<sup>+</sup> T では、*Cxcr3* の発現が WT に比べて上昇していた。*Cxcr3* の遺伝子発現におけるヒストン H3K27 メチル化の役割を検討するため、WT 及び *Utx* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞を用いて ChIP-シーケンスを行った。その結果、*Cxcr3* 遺伝子座のヒストン H3K27 メチル化レベルは、WT に比べ *Utx* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞で高いことが確認された。

【考察】

*Utx* は、抗原刺激を受けたナイーブ CD8<sup>+</sup> T 細胞がエフェクターへ分化するために必要であることが示唆された。また、*Utx* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞では *Cxcr3* の発現が低下するのに対し、*Ezh2* KO CD8<sup>+</sup> T 細胞では *Cxcr3* の発現が上昇した。したがって、*Utx* と *Ezh2* の活性バランスによるヒストン H3K27 のメチル化状態の調節により *Cxcr3* の発現を制御し、CD8<sup>+</sup> T 細胞の腫瘍部位への浸潤、その後の抗腫瘍活性を制御していると考えられた。

キーワード (3~5)	抗腫瘍免疫, <i>Utx</i> , CD8 <sup>+</sup> T細胞, <i>Cxcr3</i> , ヒストンH3K27
-------------	--