

学位論文審査結果の要旨

氏名	野田 令菜
審査委員	主査 東山 繁樹 副査 江口 真理子 副査 加藤 英政 副査 惠木 浩之 副査 武森 信暁

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⁺ T 細胞依存的な抗腫瘍免疫を制御する
審査結果の要旨

CD8⁺ 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⁺ 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。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が、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 のメチル化は、メチル基転移酵素 Ezh2 と脱メチル化酵素 Utx や Jmjd3 で制御されている。本論文では、T 細胞特異的 *Utx* KO マウスを用いて、CD8⁺ 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とした。

In vivo の抗腫瘍活性を検討するため、野生型 (WT) マウス、T 細胞特異的 *Utx* KO マウスおよび T 細胞特異的 *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、T 細胞特異的 *Utx* KO マウスおよび *Ezh2* KO マウス脾臓由来のナイーブ CD8⁺ 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。

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-シーケンス解析の結果、*in vitro*で分化誘導した *Utx* KO CD8⁺ 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⁺ 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⁺ 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⁺ 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⁺ T 細胞では抗原刺激後に上昇するのに対し、*Utx* KO CD8⁺ T 細胞では、発現上昇が認められなかった。一方で、*Ezh2* KO CD8⁺ 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⁺ 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⁺ T 細胞で高いことが確認された。

以上のことから、*Utx* は、抗原刺激を受けたナイーブ CD8⁺ 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、また、*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⁺ 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ことが示唆された。

公開審査会は、令和 5 年 1 月 17 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した後に、審査委員から本研究に関する以下の質問がなされた。

- 1) EZH2 による H3K27 のメチル化を抑制 (UNC1999) することと、UTX による効果を増進することはイコールなのか？
- 2) Jmjd3 は CD8⁺T cell の数や機能にはあまり関与していないのか？ サイトカイン、ケモカイン受容体等の発現に影響はあるのか？
- 3) *Utx* を KO すると effector 及び naïve/memory 細胞数やそれぞれの関連因子の発現レベルに変化はあるのか？
- 4) CAR T cells を実際に臨床応用した場合の予想しうる問題点はあるか？
- 5) UTX には、H3K27me3 の脱メチル化以外の他の機能については解析されているか？
- 6) 刺激に応じて、UTX が T 細胞のエフェクター遺伝子の遺伝子座に UTX をリクルートする分子機構は？

申請者はこれらの質問に対しの確に答えた。

審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。