

審査の結果の要旨

氏名 照屋周造

免疫応答を負に制御する共抑制分子 programmed death 1 (PD-1) のリガンドである PD-L1 は、近年腫瘍免疫において注目されている分子である。本研究では定常状態において PD-L1 を高発現する CD4⁺CD25⁺LAG3⁺ 制御性 T 細胞 (LAG3⁺ Treg) に着目し、その PD-L1 発現機構について下記の結果を得ている。

1. LAG3⁺ Treg に特異的に高発現する転写因子 early growth response 2 (Egr2) と PD-L1 発現の関係について、レトロウイルスベクターpMIG-Egr2 を T 細胞に導入して検討した結果、Egr2 導入細胞で PD-L1 の発現増加が認められた。しかしながら、T 細胞特異的 Egr2 欠損 (*Egr2^{fl/fl}*CD4Cre⁺; Egr2 CKO) マウスの LAG3⁺ Treg も PD-L1 を高発現しており、Egr2 CKO マウスの CD4⁺ T 細胞に T 細胞受容体刺激として抗 CD3 ϵ 抗体、抗 CD28 抗体刺激を加えると PD-L1 の発現は増強されたことより、CD4⁺ T 細胞における PD-L1 発現には Egr2 非依存性の発現誘導機構が働いていることが示唆された。
2. Egr2 以外に PD-L1 発現誘導に関わる転写因子を探索するため、LAG3⁺ Treg に特異的な転写因子をマイクロアレイデータから抽出した。これらの転写因子を JASPAR database から推測された PD-L1 プロモーター領域に結合可能な転写因子のデータと照合したところ、転写因子 Krüppel-like factor 1 (Klf1) が候補として挙げられた。Klf1 は赤血球前駆細胞においてヘモグロビン構成分子である β グロビンの転写を制御する転写因子として知られていたが、Klf1 欠損マウスが造血障害で胎生致死となるため、免疫制御機構における Klf1 の役割はこれまで不明であった。そこで、レトロウイルスベクターpMIG-Klf1 を用いて *Klf1* 遺伝子を CD4⁺ T 細胞に強制発現させると、Klf1 導入細胞で PD-L1 の発現増強を認めた。
3. Egr2 CKO マウスの CD4⁺ T 細胞においても、*Klf1* 遺伝子強制発現による PD-L1 発現誘導が観察され、Klf1 は Egr2 非依存性に PD-L1 発現を制御していることが示唆された。
4. KO マウスでの解析により Klf1 による PD-L1 発現は STAT1, 3, 4, 5, 6 の各シグナル伝達経路非依存性であることが示された。
5. 次世代シーケンサーを用いた Klf1 遺伝子導入 CD4⁺ T 細胞の解析結果から、CD4⁺ T 細胞誘導時には細胞内シグナル伝達経路の mitogen-activated

protein kinase (MAPK) 経路、nuclear factor- κ B (NF κ B) 経路、phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K) 経路、mammalian target of rapamycin (mTOR) 経路が活性化していることが示唆された。

6. C57BL/6 マウス CD4⁺ T 細胞に Klf1 を導入する際に MAPK 阻害剤、PI3K 阻害剤、mTOR 阻害剤を添加した実験では、PI3K 阻害剤、mTOR 阻害剤を加えた群において PD-L1 発現の減弱を認め、Klf1 による PD-L1 発現には PI3K-mTOR シグナル伝達経路が関与していることが示唆された。

以上、本論文では LAG3⁺ Treg に特異的に発現する転写因子の解析から T 細胞における PD-L1 発現誘導に関わる新しい転写因子として Klf1 の存在を明らかにした。本研究は、今まで未知であった Klf1 の免疫系細胞における役割を見だし、T 細胞における PD-L1 発現誘導機構の解明に重要な貢献をなすと考えられる。PD-L1 の発現誘導機構の解明は自己免疫疾患や腫瘍の病態理解、新規治療法開発の発展に寄与すると期待され、学位の授与に値するものと考えられる。