

【目的】リンパ球の一つであるNKT細胞は、他の免疫細胞を活性化することで高い抗腫瘍効果をもたらす。がん免疫治療法への利用が期待されるが、ヒト末梢血中には0.01~0.1%しか存在せず、試験管内で治療に必要な細胞数まで増殖させることは困難である。我々の研究室では、ヒトNKT細胞由来iPS細胞を再度NKT細胞へと分化させることでこの問題に取り組んできている。しかしながら、現行の分化誘導法は計40日間にわたり、最終的にVa24、Vb11、CD3、CD45全てを強く発現しているNKT細胞の割合は全体の約20~30%と誘導効率にばらつきがあるのが現状である。がん免疫治療法の実施に向けて、十分な細胞量を安定かつ迅速に供給するためには、工程期間の短縮と誘導効率の改善が大きな課題である。そこで分化誘導期間の短縮と高い誘導効率を兼ね備えた次世代の分化誘導法の開発に向け、本研究では現行の分化誘導法を用いて、NKT細胞への分化運命を規定するような発現制御領域（エンハンサー）を同定し、その制御機構を明らかにすることを目指した。

【方法】ヒトNKT細胞由来iPS細胞からNKT細胞への分化誘導過程における遺伝子発現状態の遷移を明らかにするため、分化誘導前のiPS細胞と分化誘導後40日目のNKT細胞を用いて、RNA-seqを行った。次に、それらの遺伝子群の発現を制御するエンハンサー候補を調べるために、iPSおよび分化誘導後40日目のNKT細胞を用いて、エンハンサー領域の指標となるヒストンアセチル化酵素P300およびヒストン修飾状態を認識する抗体を用いて、CUT&Tag法によるクロマチンプロファイリングを行った。

【結果】ヒトNKT細胞由来iPS細胞と分化誘導後40日目のNKT細胞を用いて遺伝子発現比較を行った結果、NKT細胞では予想通り免疫細胞を特徴づけるような遺伝子群の発現が上昇していることがわかった。これらの遺伝子のTSS領域周辺におけるヒストン修飾状態をみたところ、NKT細胞では転写の活性化およびエンハンサー活性の指標となるH3K4me1とH3K27acのシグナルが高くなっており、反対に転写の抑制に作用するH3K27me3のシグナルは低くなっていた。また、エンハンサー領域の指標となるP300のプロファイリングを行ったところ、およそ6,800ヶ所において強い結合がみられた。分化誘導のNKT細胞において、P300結合領域におけるH3K4me1、H3K27acおよびH3K27me3のシグナルを調べたところ、分化誘導後のNKT細胞では転写活性に作用するH3K4me1とH3K27acの濃縮状態がiPS細胞のものよりも上昇していることが明らかとなった。

P300結合領域周辺5kb内でのヒストン修飾の濃縮状態から明らかとなった
iPS細胞とNKT細胞におけるエンハンサーの活性の違い

