

“機能的 FOXP3 の見分け方”

TGF- β and IL-6 signals modulate chromatin binding and promoter occupancy by acetylated FOXP3

【背景】制御性 T 細胞のマスター転写因子; FOXP3 が、**機能的**であるためには、核内に存在するだけでは十分ではなく、クロマチンに結合するためにアセチル化を受けた **acetylated FOXP3** でなければ、真の制御性 T 細胞の機能を果たすことができません。今回、蒲池先生には、クロマチンに結合した DNA のみを見る免疫沈降法 (ChIP) の方法論と、ChIP による機能的 FOXP3 の動きについて解説いただきました。

【方法】ChIP とは、細胞の核内成分から、高アセチル化ヒストン抗体と結合する DNA フラグメント (アセチル化を受けている部分のみ) を免疫沈降させて特異的 PCR で確認する方法です。今回、Jurkat 細胞に FOXP3 遺伝子を導入した HA-FOXP3a 細胞を用いて検討を行いました。

【結果】まずは、遠沈法により細胞内、核内、クロマチン分画に分ける方法により、 α CD3+ α CD28 の刺激を加えた HA-FOXP3a 細胞の FOXP3 は、核内からクロマチンへと移行していることが確認されました。

次に ChIP 法を用いると、HA-FOXP3a 細胞を TGF- β で刺激すると、抗アセチル化ヒストン抗体と抗 FOXP3 抗体に結合する蛋白が誘導され、TGF- β により **acetylated FOXP3** が誘導されることが確認されました。また、ChIP では、DNA をクロマチンから分離するのに 65°C の加熱が必要でしたが、DNA 分解酵素を用いることにより、**acetylated FOXP3** を分離同定できることも示されました。

TGF- β で誘導されたクロマチン分画の FOXP3 発現は IL-6 添加により減少します。これに、ヒストン/タンパク質脱アセチル化酵素 (HDAC) (以前蒲池先生の抄読会で登場した、クロマチンをほどいて、転写因子の反応を促進する) を投与すると、FOXP3 発現が reverse することが示されました。

また、IL-6 単独投与では予想外にクロマチン分画の FOXP3 発現の上昇が認められました。

【結論】核内に FOXP3 があるあると喜んでばかりでは意味がなく、しっかりとクロマチンに擁かれるべく、翻訳後修飾を受けた、機能的 FOXP3 を証明することが重要だというお話です。(文責阿比留)