

# 研究題目 ヒトおよびマウス胸腺細胞との相互作用による胸腺上皮細胞の成熟過程の解析

## 研究組織

研究代表者：木梨達雄（関西医科大学附属生命医学研究所分子遺伝学部門）

共同研究者：松本 満（徳島大学疾患酵素学研究センター）

研究分担者：植田祥啓（関西医科大学附属生命医学研究所分子遺伝学部門）

研究分担者：福原貴太郎（関西医科大学内科学第三講座）

## 【1】研究の概要

### [1-1]本研究の目的・概要

ヒトにおける胸腺の分化の詳細な過程は未だ不明である。ヒト化マウスの胸腺細胞の分化過程を明らかにするため、胸腺培養を行って、MHC 拘束性を明らかにする。また、ヒト胸腺細胞と抗原提示細胞との相互作用を活性化型 Rap1 蛍光バイオセンサーを用いた二光子ライブイメージングにより明らかにする。

### [1-2]研究の方法・経過

我々は、ヒト臍帯血から CD133 陽性細胞を分取して、NSG マウスに移植してヒト化マウスを作製し、胸腺細胞の分化や局在をフローサイトメトリー及び免疫組織染色により解析した。

ヒト化マウスにおける選択過程を明らかにするために、ヒト化マウスの胸腺を抗 HLA-DR 抗体存在下で培養し、分化の過程を測定した。

胸腺上皮細胞と樹状細胞の相互作用を可視化するために、活性化型 Rap1 の蛍光バイオセンサーを胸腺スライスを作製し胸腺細胞を導入して胸腺細胞との接触を観察した。

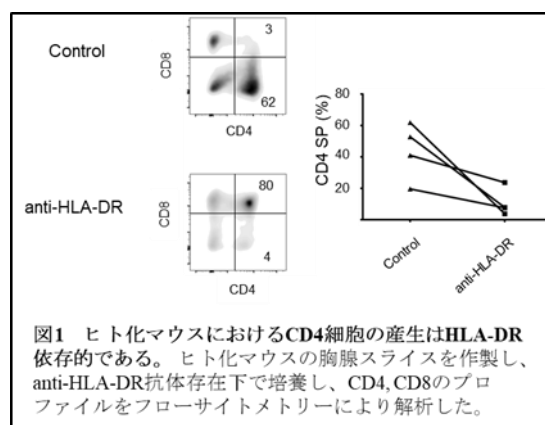
## 【2】研究成果

### [2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

我々は、ヒト臍帯血から CD133 陽性細胞を分取して、NSG マウスに移植してヒト化マウスを作製し、免疫系の発達を免疫組織化学的に解析をした。これまでの解析により、末梢に CD4、CD8 が観察され、数ミリ長の胸腺に DP 細胞および CD4SP、CD8SP 細胞が確認された。胸腺においては UEA+ の髄質上皮細胞 (mTEC) の集積がなく髄質が発達せず、被膜側に成熟 T 細胞の集積が島状に散在し

ていた。一方免疫刺激によってヒト由来樹状細胞の集積が起こり髄質様の構造が認められ、CD69-CD62L 陽性成熟胸腺細胞への分化または細胞数が促進された。

ヒト化マウスにおいて、胸腺細胞はマウスおよびヒト由来の抗原提示細胞それぞれ両方から正および負の選択を受ける可能性がある。前年度においては、以上のことから、抗原刺激により、HLA-DR 陽性の樹状細胞が胸腺に移住し、ヒト由来胸腺細胞の教育を促進している可能性が考えられたため、免疫をしたヒト化マウスから胸腺を摘出し、抗 HLA-DR 抗体存在下で胸腺培養を行った。その結果、抗体による HLA-DR の阻害により CD4 陽性の T 細胞の産生が顕著に抑制された(図 1)。



加えてレンチウイルス法により CD133 陽性細胞に Rap1 活性化シグナルの可視化プローブを導入して移植後、胸腺組織培養系を用いた 2 光子顕微鏡観察により、胸腺組織内のヒト胸腺細胞とヒト抗原提示細胞との相互作用を観察すると、樹状細胞と接着すると同時に Rap1 活性化が観察され(図 2)、ヒト由来抗原提示細胞とヒト T 細胞の相互作用が可視化された。Rap1 シグナルの活性化から、ヒト由来抗原提示細胞とヒト T 細胞の相互作用の平均は 2 分程度であった。

したがって胸腺がマウス由来であるヒト化マウスにおいても、HLA-DR を介したヒト由来の抗原提示細胞との相互作用が、胸腺細胞の成熟および末梢での活性化に重要であることを初めて明らかにした。

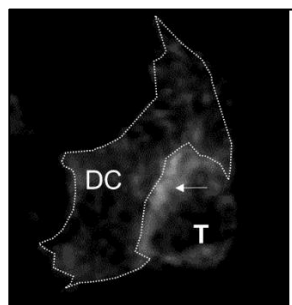


図2 ヒト化マウス胸腺におけるT-DC相互作用  
蛍光Rap1活性化プローブを導入したヒト化マウスを免疫後、胸腺を2光子顕微鏡によりライブイメージングした。T細胞に発現した蛍光Rap1活性化プローブがDCとの接触面に集積している(矢印)。

## [2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

ex vivo でヒトの胸腺細胞の選択機構を詳細に解析する実験系は開発されておらず、ヒト化マウスにより不明であった胸腺の選択の過程・制御機構が明らかになることが期待される。また、胸腺細胞と胸腺上皮細胞との相互作用を直接的に観察する実験系をもちいて、胸腺環境の構築の観点から胸腺細胞の選択過程を詳細に解析し、胸腺細胞の分化、選択異常による自己免疫病の解明および、分子標的薬の開発に発展する可能性がある。

## 【3】主な発表論文等

### [3-1]論文発表

1. Y Konishi, K Terai, Y Furuta, H Kiyonari, T Abe, Y Ueda, T Kinashi, Y Hamazaki, A Takaori-Kondo, M Matsuda, Live-Cell FRET Imaging Reveals a Role of Extracellular Signal-Regulated Kinase Activity Dynamics in Thymocyte Motility, *iScience*, Volume 10, 2018, Pages 98-113