

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および末梢の免疫の過程は未だ不明である。ヒト化マウスの免疫の過程を明らかにするため、ヒト化マウスに免疫を行って、抗体産生応答を検討する。また、炎症モデルを作成して蛍光バイオセンサーを用いて二光子ライブイメージングにより末梢の炎症の過程を明らかにする。

[1-2]研究の方法・経過

- 1) ヒト化マウスにおいて前免疫をして胸腺の分化を促進したのち、抗原で免疫をし、抗体産生やT細胞応答を詳細に解析する。
- 2) 炎症性腸疾患や多発性硬化症においてはインテグリンの関与が示唆されているため、ヒト化マウスでこれらの疾患モデルを確立し詳細に解析する。
- 3) レンチウイルス法により CD133 陽性細胞に T 細胞シグナル可視化プローブを導入して移植後、2 光子顕微鏡を用いた観察により、炎症組織内のヒト T 細胞の動態を解析して免疫反応の進行過程を明らかにする。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

1) 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複製し、免疫系の発達を免疫組織化学的に解析をした。前年度の研究により、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なったため、免疫により末梢の免疫応答が促進されるかを検討した。ヒト化マウスに BSA/CFA を全免疫したのち、TNP-OVA/CFA を繰り返し免疫した。その結果、血中に IgG が確認された加えて、免疫したマウスの脾臓において、CD20⁺IgD⁻CD38⁺胚中心様の B 細胞の存在が確認された。T 細胞の免疫応答に関しては検討中である。

2) さらに炎症におけるヒト細胞の動態を検討するために、CD133 陽性細胞に Venus プローブを導入して免疫細胞を可視化したヒト化マウスに DSS を投与して腸炎を引き起こし、2 光子顕微鏡により、イメージングを行った。

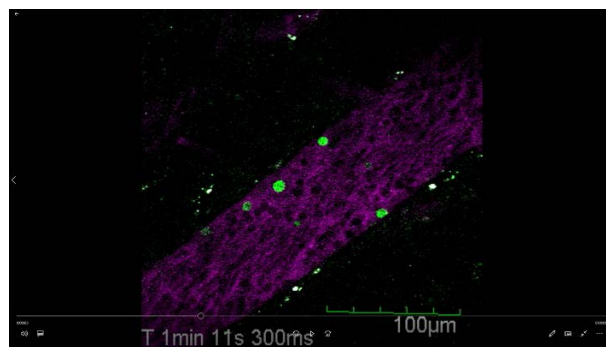


図1 炎症血管におけるヒト化免疫細胞の観察
(緑：免疫細胞、紫：血流)

その結果、腸の血管を、ローリングする免疫細胞が観察された(図1)。さらに我々は、リンパ球のローリングを観察するために、高速な CMOS カメラを導入し、パイエル板および粘膜固有層の血管を高速にローリングする過程を観察した。今後、ヒト化マウスにおける炎症の過程をライブイメ

ージングにより検討していく。

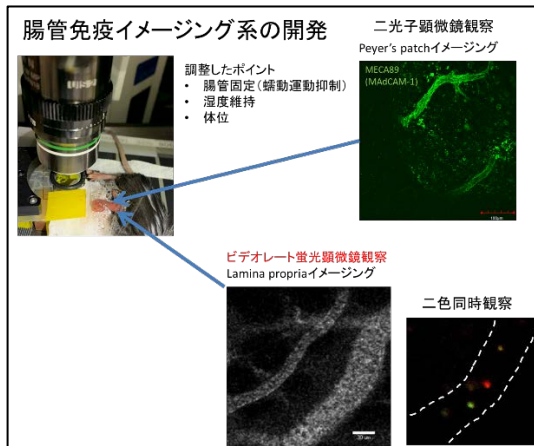


図2 腸管における高速イメージングの開発

3) 胸腺における胸腺上皮の活性化を検討するために RelB-Venus ノックインマウスから胸腺を摘出しCUBICにより透明化したのち、2光子顕微鏡により、3次元の RelB シグナルの観察を検討中である(図3)。今後、フローサイトメトリーによる RELB-Venus 陽性細胞を明らかにし、また、正常マウスの骨髄を RELB ノックインマウスに移植して、非免疫細胞だけが RELB-Venus を発現するマウスを作成し、胸腺上皮細胞における RelB シグナルの撮影を目指す。

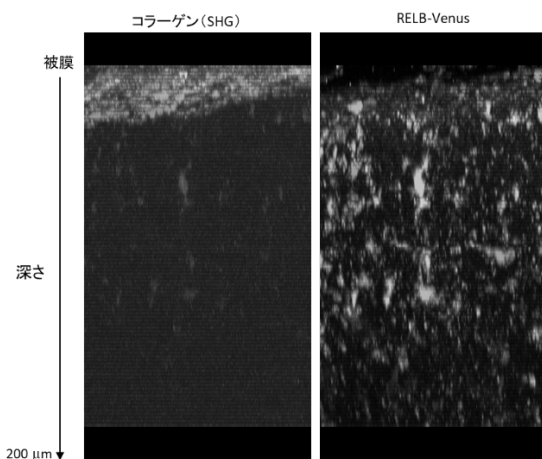


図3 2光子顕微鏡による透明化した胸腺の RELB-Venus のイメージング。左図: SHG によるコラーゲンの撮影。右図: RelB-Venus の撮影。

[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

Yoshihiro Ueda, Naoyuki Kondo, Tatsuo Kinashi
MST1/2 balance immune activation and tolerance by orchestrating adhesion, transcription, and organelle dynamics in lymphocytes. *Frontier Immunology*. 総説 (accepted).