

研究題目 胸腺上皮細胞を形成するサブポピュレーションの解析

研究組織

研究代表者：吉田 英行（国立研究開発法人 理化学研究所 生命医科学研究センター）

共同研究者：松本 満 教授（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

免疫システムでは自己と非自己が識別され、自己への反応性が抑制された自己免疫寛容の状態が成立する。しかしながら、自己免疫疾患では免疫システムが自己の成分にも反応し、炎症が持続的に発生する慢性炎症の病態が生じる。そのため、「自己」への反応性が抑制されるメカニズムを明らかにすることは、これらの慢性炎症の病態を理解する上で重要と考えられる。

自己免疫寛容は複数のシステムにより成立するが、その一つが自己反応性 T 細胞の負の選択である。胸腺上皮細胞では、インスリン等、本来は特定の末梢組織でのみ発現している自己成分（末梢組織特異抗原、Peripheral Tissue Antigens: PTAs）を含む、様々な自己成分が発現しており、これら自己成分に強く反応した未熟 T 細胞はアポトーシスを起こし除去される。様々な自己成分に対し、負の選択がもれなく起こるためには、幅広い PTAs の発現が必要であり、その発現誘導には、胸腺上皮細胞特異的な転写因子 AIRE が重要であることが、松本教授らを含めた複数のグループにより明らかにされてきている。

負の選択は細胞—細胞間の相互作用に基づく結果であるため、そのメカニズムを詳細に理解するには 1) 胸腺上皮細胞が均一な細胞集団であるのか、それとも複数のサブポピュレーションで構成される細胞集団であるかを解明し、また、2) 転写因子 AIRE はこれら細胞集団の構成へ影響するのかについて理解を進める必要がある。しかしながら、これまでの研究では技術的制約により、胸腺上皮細胞全体を 1 つの細胞集団としてとらえる研究が主体であり、十

分な理解には至っていなかった。

1 細胞遺伝子発現解析 (scRNA-seq: Single cell RNA-sequencing) は細胞の差異を 1 細胞レベルで解析し、細胞集団に含まれるサブポピュレーションを明らかにする手法である。我々を含む複数のグループが、胸腺上皮細胞の scRNA-seq を行い、胸腺上皮細胞に含まれるサブポピュレーションを報告している。一方、これらサブポピュレーションの違いを理解するためには遺伝子発現 (RNA) の解析のみでは不十分であった。我々は、2021 年度より共同研究を行っており、野生型および Aire 遺伝子改変マウスの胸腺上皮細胞を用い、1 細胞レベルで RNA 解析と ATAC-seq (Assay for Transposase-Accessible Chromatin-seq) 法によるクロマチン解析を同時に行う「1 細胞マルチオミクス解析」を活用し、胸腺上皮細胞を形成するサブポピュレーションの解析に取り組んできた。ATAC-seq 法によるクロマチン解析は細胞の特性をゲノムの制御という視点から調べる手法であり、RNA 解析と組み合わせることで細胞の差異を形成するメカニズムにも迫ることが可能となる。

本年度の共同研究では、胸腺上皮細胞を構成するサブポピュレーションが形成されるメカニズムや、転写因子 AIRE がこれらサブポピュレーションに及ぼす影響の解析を進展させるとともに、転写因子 AIRE による遺伝子発現誘導のメカニズムを胸腺上皮細胞の分化の観点から理解することを目的とした。

[1-2]研究の方法・経過

前年度の共同研究をさらに発展させるため、オンラインディスカッションを含む緊密な連携を取りつつ、必要な追加実験を行った。1 細

胞解析技術は発展途上にあり、実施やデータの解析には専門の技能や経験が求められる。一方、解析結果の解釈にはこれまでに蓄積されてきた知見が重要となる。長年にわたり mTEC 研究を牽引されてきた松本教授との共同研究は「胸腺上皮細胞を形成するサブポピュレーションの解析」の遂行に必須であったと考える。1 細胞マルチオミクス解析についての論文を共同執筆中であり、近日中の投稿予定である。

また、主な発表論文等に記載の通り、共同研究中の連携は本課題にとどまらず、令和4年度の共同研究もきわめて有意義な機会であったと考える。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

mTEC を構成する各サブポピュレーションを明らかにするとともに、それぞれに異なる遺伝子発現パターンの詳細を明らかにすることができた。転写因子 AIRE は遺伝子発現を直接誘導するとともに、サブポピュレーションの誘導を通じて胸腺上皮細胞における遺伝子発現を制御していることが明らかになった。特に AIRE が直接誘導すると考えられた遺伝子発現は特異な発現パターンを示し、各細胞間で異なる遺伝子群がランダムに誘導されているものの、これらの発現レベルは同等のレベルであり、様々な PTA に対して負の選択が均一に実行されるメカニズムを形成していると推察された。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

リンパ球の負の選択は自己免疫寛容が成立する上で重要なプロセスであり、その異常は自己免疫疾患を惹起しうる。本共同研究の結果は負の選択の根本的メカニズムである PTA 遺伝子発現が mTEC の分化と密接に関連していることとともに、AIRE による遺伝子発現制御の特異性を明らかにするものであった。これらの成果は、自己免疫疾患の原因究明にも進展をもたらすものと期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

1) Ryuichiro Miyazawa, Jun-ichi Nagao, Ken-ichi Arita-Morioka, Minoru Matsumoto, Junko Morimoto, Masaki Yoshida, Takeshi

Oya, Koichi Tsuneyama, Hideyuki Yoshida, Yoshihiko Tanaka and Mitsuru Matsumoto. Dispensable Role of Aire in CD11c+ Conventional Dendritic Cells for Antigen Presentation and Shaping the Transcriptome. Immunohorizons 7(1):140-15, 2023.

2)

[3-2] 学会発表

1) 吉田 英行. mTECs, peripheral tissue specific antigens, and beyond. 第 51 回 日本免疫学会学術集会, 熊本、12 月 7 日、2023 年

[3-3] 成果資料等

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

本共同研究は、最新のプロファイリング技術と免疫学研究の連携の有用性を示すものであった。松本教授は本年度で退官され、本共同研究は終了となるが、本共同研究で得られた知見は早期に論文として発表し、今後の免疫学研究へとつなげていくことが肝要と考える。