

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02640

研究課題名(和文) 胸腺ハッサル小体の発生と機能および異常制御による自己寛容破綻の分子機構

研究課題名(英文) Understanding the role of Hassall's body abnormalities in the breakdown of self-tolerance

研究代表者

濱崎 洋子 (Hamazaki, Yoko)

京都大学・iPS細胞研究所・教授

研究者番号：10362477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：胸腺髄質は、中枢性自己寛容の成立に関わる領域である。髄質内で特徴的な角化した構造体「ハッサル小体」(HC)を構成する胸腺髄質上皮細胞を純化し、その遺伝子発現を解析したところ、HC構成上皮細胞は恒常的に細胞老化を来し、CXCL5やIL-1ファミリーなどの炎症性分子を高発現していることが明らかになった。CXCL5受容体を発現する好中球をdepletionすると、胸腺内pDCの活性化とI型IFNの産生が抑制されたことから、SASPの一環として産生されるCXCL5に反応して胸腺内好中球がリクルート・活性化され、活性化好中球が胸腺内pDCの活性化を誘導する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HCを構成する髄質上皮細胞を純化し、その遺伝子発現の特徴を明らかにすることで、長らく組織学定義にとどまっていた胸腺髄質のHCを分子レベルで定義することができた。今後、HCの過形成や低形成が胸腺髄質機能の異常制御や中枢性自己寛容の破綻に果たす役割を理解することで、自己免疫疾患発症メカニズムの一端が明らかになることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The thymic medulla is an anatomical region involved in establishing central self-tolerance. Hassall corpuscle (HC) is a characteristic keratinized structure within the thymic medulla; however, the role of HC on central tolerance is not well understood. In this study, we performed gene expression analysis of purified HC-constituting medullary thymic epithelial cells (mTEC). We revealed that HC-mTEC undergo cellular senescence in a steady state and express high levels of inflammatory molecules such as CXCL5 and IL-1 family members. Depletion of neutrophils, which express the CXCL5 receptor, suppresses the activation of pDCs in the thymic medulla. These results suggest that neutrophils are recruited and activated in response to CXCL5 produced as part of SASP from HC mTECs, and activated neutrophils may induce pDCs activation in the thymic medulla. In summary, we succeeded in defining HC constitutive mTEC at the molecular level.

研究分野：免疫学

キーワード：胸腺 自己寛容 ハッサル小体

## 1. 研究開始当初の背景

胸腺組織は、免疫システムの司令塔とよばれる T 細胞の発生と分化選択に必須のリンパ器官であり、「胸腺上皮細胞」が主たる支持（ストロマ）細胞として機能すると共に、三次元の網目構造を形成して組織の骨格を形成する。胸腺は皮質・髄質の 2 領域に大別されるが、皮質領域では多様性を有する T 細胞抗原受容体（TCR）を発現する T 細胞集団が形成されると共に、自己 MHC（主要組織適合遺伝子複合体）に反応性を有する T 細胞（すなわち自己 MHC に提示された抗原を認識して免疫反応を起こすことができる T 細胞）が選ばれる（正の選択）。正の選択に成功した T 細胞は髄質に移動し、自己に反応する TCR を発現する T 細胞はアポトーシスにより死に至る（負の選択）。同時に、一部は自己応答や過剰な免疫応答を抑制する制御性 T 細胞（Treg）に分化する。こうした過程を支持することで、胸腺髄質上皮細胞は、自己寛容の成立に必須の役割を果たす。

髄質領域には「ハッサル小体」(HC)と呼ばれる、角化した髄質上皮細胞の凝集塊からなる特徴的な構造物がある。通常「角化」は、体表面の物理的保護のために表皮ケラチノサイトの最終分化の過程で起こると考えられており、バリアとしての役割を持たない胸腺上皮細胞が角化する必要性和その機構、そしてそもそも HC という構造物が形成される免疫学的意味については長らく不明のままである。胸腺髄質上皮細胞の機能そのものも近年まで不明であったが、ヒト遺伝性自己免疫疾患 APECED の責任遺伝子として 1997 年に同定された *AIRE* 遺伝子が、髄質上皮にほぼ選択的に発現すること、インスリンやアセチルコリンレセプターなど自己免疫疾患の標的抗原を含む本来胸腺に存在しない様々な自己抗原を発現することで、これら抗原に反応性を持つ T 細胞の除去に寄与することが示された。それ以降、胸腺髄質上皮細胞の発生や機能に関する分子細胞学的解析が急速に進んだが、髄質上皮が角化して形成される HC が着目されることはなかった。その理由の一つに、ヒトに比べてマウスでは HC が目立たず、解析できなかったことが挙げられる。しかしながら、ケラチノサイトの角化・分化マーカー（クローディン、インボルクリンなど）の発現を指標にすることにより、近年マウスでも HC の同定が可能になった。また重要なことに、*Aire* ノックアウト (KO) マウスにおいて HC 様構造が消失すること、髄質上皮の墓場と呼ばれてきたハッサル小体は、必ずしも加齢に伴い形成される構造物ではなく、胎児期からすでに存在することも明らかになってきた。さらに、ヒト個体間においてかなり heterogeneity があり、全身性エリテマトーデス (SLE) や重症筋無力症などの自己免疫疾患で HC の過形成が認められるとの報告もあることから、HC が *Aire* 依存性に自己寛容の成立に何らかの役割を果たす可能性が、近年改めて注目されるようになってきた。

## 2. 研究の目的

以上の背景のもと本研究では、組織学分野における古くからの大きな謎のひとつである HC を分子細胞学的に同定すると共に、その形成機構と機能、HC の異常と自己寛容の異常との関連性を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

上皮細胞本来の細胞生物学的・組織学的定義は、上下の極性を持ち細胞シートを形成して体内外のバリアとして機能することであるが、胸腺組織の上皮細胞はこうした定義から外れた、T 細胞分化支持に特化した特殊な上皮である。その特殊性ゆえ、上皮細胞生物学者の研究対象になることもなく、免疫学者は主に T 細胞側に着目するという状況が続いてきた。申請者は、上皮細胞間のバリアに重要な役割を果たすタイトジャンクション (TJ) の研究に携わった経験を生かし、胸腺ストロマが“上皮細胞”であることに改めて着目し、様々な上皮特異的分子プローブとフローサイトメトリを用いて胸腺組織の解析に取り組んできた。本研究は、その実績と昨今の胸腺髄質上皮研究の進展、そして角化現象というケラチノサイトとの共通性・相違点に着目するという独自の視点に立脚し、以下のように HC の純化および遺伝子レベルの解析を通じて、その発生と機能の解明を目指した。

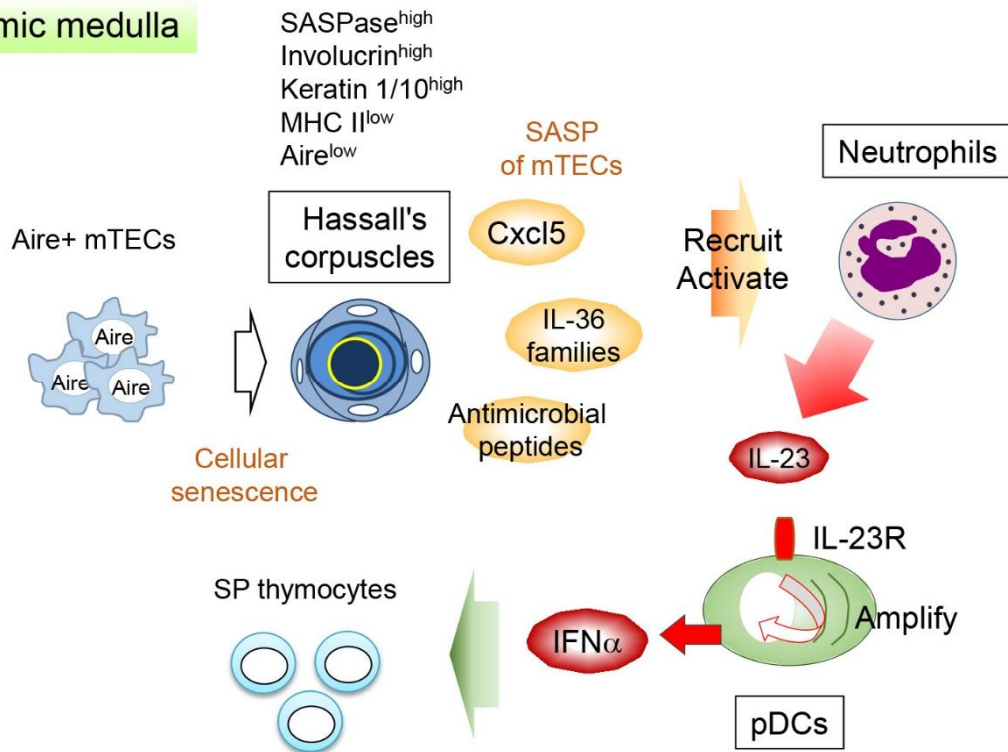
- 1) 表皮角化細胞の分子マーカーのレポーターマウスを用いて、HC を構成する胸腺髄質上皮細胞を純化し、その遺伝子発現の特徴を明らかにする。
- 2) HC において高発現する免疫シグナル分子（ケモカイン、サイトカインなど）を同定し、胸腺上皮特異的に欠失したマウスを作製、またはケモカイン等に反応する細胞を抗体等で除去し、その表現型を解析することにより、HC の免疫学的機能の解明を行う。

## 4. 研究成果

胸腺組織は T 細胞の産生に特化した臓器であり、胸腺上皮細胞が T 細胞分化選択の主要な支持細胞（ストロマ細胞）として機能する。胸腺髄質領域は、T 細胞の自己寛容（自己を攻撃しな

いよう保証すること)に関わる領域であるが、髄質領域で最も特徴的な角化した構造体「ハッサル小体」(HC)の形成機構とその意義についてはよく理解されていない。HCは通常表皮ケラチノサイトに特徴的な角化が顕著なことから、“死につつある胸腺髄質上皮細胞の凝集塊”と長らく考えられてきたが、自己寛容の成立に必須の役割を果たす核内因子AIREに依存して形成されることが明らかになり、改めて注目が集まっている。本研究では、表皮角化細胞の分子マーカーのレポーターマウスを用いて、HCを構成する胸腺髄質上皮細胞を純化し、遺伝子の網羅的発現解析を行った。その結果、HCを形成する髄質上皮細胞は、恒常的に細胞老化を来していることCXCL5やIL-1ファミリーなどの炎症性分子を高発現していることが明らかになった。また、HC低形成のマウスでは髄質上皮におけるこれらの分子の発現が低下していた。CXCL5に反応すると想定されるCXCL5受容体を発現する好中球をdepletionすると、pDCの活性化とtypeI IFNの発現が抑制されたことから、SASPの一環としてHC構成髄質上皮から産生されるCXCL5に反応して胸腺内好中球がリクルート・活性化され、活性化した好中球が胸腺内pDC活性化をもたらす可能性が示唆された。以上、長らく組織学定義にとどまっていたHCを構成する髄質上皮細胞を、分子細胞レベルで定義するとともに、その過形成や低形成が髄質機能の異常制御と自己応答の破綻につながりうる可能性を提示した。

### Thymic medulla



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Sekai Miho, Wang Jianwei, Minato Nagahiro, Hamazaki Yoko	4. 巻 467
2. 論文標題 An improved clonogenic culture method for thymic epithelial cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Immunological Methods	6. 最初と最後の頁 29 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jim.2019.02.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Imai Takahiko, Tanaka Hiroki, Hamazaki Yoko, Minato Nagahiro	4. 巻 110
2. 論文標題 Rap1 signal modulators control the maintenance of hematopoietic progenitors in bone marrow and adult long term hematopoiesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1317 ~ 1330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13974	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sekai Miho, Wang Jianwei, Hamazaki Yoko	4. 巻 2048
2. 論文標題 Clonogenic Culture of Mouse Thymic Epithelial Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 143 ~ 153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9728-2_15	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 KIKUCHI SHOJIRO, NOGUCHI KAZUMA, WAKAI KEIKO, HAMAZAKI YOKO, TOZAWA KATSUYUKI, JOMORI TAKAHITO, SASAKO MITSURU, MIWA HIROTO	4. 巻 39
2. 論文標題 Propagermanium Induces NK Cell Maturation and Tends to Prolong Overall Survival of Patients With Refractory Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4687 ~ 4698
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13651	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Li Hongtu, Neelankal John Abraham, Nagatake Takahiro, Hamazaki Yoko, Jiang Fang Xu	4. 巻 10
2. 論文標題 Claudin 4 in pancreatic cells is involved in regulating the functional state of adult islets	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 28 ~ 40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12735	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sekai Miho, Wang Jianwei, Hamazaki Yoko	4. 巻 2048
2. 論文標題 Clonogenic Culture of Mouse Thymic Epithelial Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 143 ~ 153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9728-2_15	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Jianwei, Sekai Miho, Matsui Takeshi, Fujii Yosuke, Matsumoto Mitsuru, Takeuchi Osamu, Minato Nagahiro, Hamazaki Yoko	4. 巻 31
2. 論文標題 Hassall's corpuscles with cellular-senescence features maintain IFN production through neutrophils and pDC activation in the thymus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 127 ~ 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxy073	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Konishi Yoshinobu, Terai Kenta, Furuta Yasuhide, Kiyonari Hiroshi, Abe Takaya, Ueda Yoshihiro, Kinashi Tatsuo, Hamazaki Yoko, Takaori-Kondo Akifumi, Matsuda Michiyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Live-Cell FRET Imaging Reveals a Role of Extracellular Signal-Regulated Kinase Activity Dynamics in Thymocyte Motility	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 98 ~ 113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2018.11.025	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Aiko, Takaori-Kondo Akifumi, Minato Nagahiro, Hamazaki Yoko	4. 巻 48
2. 論文標題 CXCR3high CD8+ T cells with na?ve phenotype and high capacity for IFN- production are generated during homeostatic T-cell proliferation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1663 ~ 1678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/eji.201747431	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計22件 (うち招待講演 22件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Yoko Hamazaki
2. 発表標題 T cell aging due to thymic involution: role in immunosenescence and possible interventions
3. 学会等名 France - Japan Symposium "Implications of Senescence in Age Related Disorders : Towards Healthy Aging" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 T細胞の発生と機能、そして老化
3. 学会等名 2019年度市民セミナー 第35回西宮市ライフサイエンスセミナー 総合テーマ「免疫のライフサイエンス～最近の話題と免疫疾患～」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 中学時代から京都大学iPS細胞研究所(CiRA)まで
3. 学会等名 JST H31女子中高生理系進路選択支援プログラム「輝け未来の私!山陰ガールズプロジェクト」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 Road to the rejuvenation and reconstitution of the thymic microenvironment
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会 国際シンポジウム Lympho-hematopoiesis and its niche microenvironments オーバービュートーク (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 Impacts of thymic involution on T cell aging and immunosenescence
3. 学会等名 RIKEN Aging Project Meeting 2020 招待講演 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱崎洋子
2. 発表標題 胸腺退縮とT細胞老化
3. 学会等名 第51回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱崎洋子
2. 発表標題 免疫システムの形成と破綻そして再構築 - T細胞とその産生臓器 胸腺組織を中心に
3. 学会等名 大阪市立大学 セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱崎洋子
2. 発表標題 自己と非自己を見分ける免疫の仕組みと加齢変化 - T細胞とその産生臓器 胸腺を中心に
3. 学会等名 京都大学丸の内セミナー（第99回）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱崎洋子
2. 発表標題 胸腺退縮と免疫老化
3. 学会等名 千里ライフサイエンスセミナーM1「老化メカニズムと疾患制御」（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱崎洋子
2. 発表標題 胸腺退縮とT細胞老化
3. 学会等名 第18回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム 免疫老化の最前線（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoko Hamazaki
2. 発表標題 Impacts of thymic involution on T cell aging and immunosenescence
3. 学会等名 RIKEN Aging Project Meeting 2020（招待講演）
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 T細胞老化と胸腺退縮
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会 シンポジウム 老化機構の解明と制御を目指して- 炎症との接点から考える- (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 免疫応答 ウイルスから老化まで T細胞を中心に
3. 学会等名 日本抗加齢医学会 専門医・指導士認定委員会講習会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoko Hamazaki
2. 発表標題 T cell aging due to thymic involution
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会 国際シンポジウム T cell aging and exhaustion: from a perspective of metabolism/細胞の老化と疲弊: 代謝制御の観点から (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoko Hamazaki
2. 発表標題 The Impact of Aging on SARS-CoV-2 Reactive T Cells
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Lab meeting COVID/SARS CoV2 Rapid Research Reports #5 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 T細胞の加齢変化とその意義
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会 シンポジウム「老化機構の解明と制御を介して 免疫と幹細胞の話題を中心に」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 T細胞老化と胸腺退縮
3. 学会等名 第54回日本眼炎症学会・第63回日本コンタクトレンズ学会総会 合同シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 免疫の老化：メカニズムの理解と健康長寿へのチャレンジ
3. 学会等名 第8回京都大学 稲盛財団合同 京都賞シンポジウム 免疫系による個体統御(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 濱崎 洋子
2. 発表標題 免疫の老化と再生医学
3. 学会等名 東京都港区麻布赤坂歯科医師会・CIRA共催シンポジウム 再生医学が未来を拓く ～歯の細胞とiPS細胞の可能性～(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoko Hamazaki
2. 発表標題 In vitro development and maturation of human thymic epithelial cells from iPSCs
3. 学会等名 Regeneration and Immunity: from development to Therapy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoko Hamazaki
2. 発表標題 Age-related and individual heterogeneity of immune responses to SARS-CoV-2 mRNA vaccine
3. 学会等名 OIST-Kyoto University Joint workshop Challenge in Biomedical Complexity (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoko Hamazaki
2. 発表標題 Age-related and individual heterogeneity of immune responses to SARS-CoV-2 mRNA vaccine
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会 国際シンポジウム 老化と免疫 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都大学医学研究科 免疫生物学  
[https://www.med.kyoto-u.ac.jp/research/field/doctoral\\_course/r-186](https://www.med.kyoto-u.ac.jp/research/field/doctoral_course/r-186)  
 京都大学iPS細胞研究所 未来生命科学開拓部門  
[https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/hamazaki\\_summary.html](https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/hamazaki_summary.html)  
 京都大学iPS細胞研究所 未来生命科学開拓部門 濱崎研究室  
<https://hmy.cira.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------