

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H02630

研究課題名(和文) 胸腺における「正の選択」の本質を問う

研究課題名(英文) Positive selection of T cells in the thymic cortex

研究代表者

高濱 洋介 (TAKAHAMA, Yousuke)

徳島大学・先端酵素学研究所(プロテオ)・特命教授

研究者番号：20183858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,300,000円

研究成果の概要(和文)：上皮細胞系特異的サイクリンD1強制発現マウスを利用することで、胸腺プロテアソームの存在が胸腺皮質上皮細胞のトランスクリプトームとプロテオームにどのような統合的影響を与えるかを解析し、胸腺プロテアソームは、胸腺皮質上皮細胞内でのプロテアソーム総量を高い特異性にて制御する一方で、ストレス応答やオートファジーを含む細胞内シグナルプロセスに包括的に関与していないことを明らかにした。その結果、胸腺プロテアソームがMHC会合ペプチドの産生を介してCD8陽性T細胞の「正の選択」を担っていることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、生命の頑強性と適応性を裏付ける獲得免疫システムを特徴づける本質の理解、とりわけ免疫学の中核的重要課題「正の選択とは何か」に関して従来の理解を大きく超えた進展をもたらし、学術の進展に寄与した。その結果、新たな免疫制御方法の可能性を示唆することによって、T細胞の分化制御に基づく新規の疾患治療法の更なる開発に向けて従来にない新技術を与える可能性を提示した。

研究成果の概要(英文)：The thymic function to produce self-protective and self-tolerant T cells is chiefly mediated by cortical thymic epithelial cells (cTECs) and medullary TECs (mTECs). Because of their limited cellularity, however, the biochemical characterization of TECs, including the proteomic profiling of cTECs and mTECs, has remained unestablished. Utilizing genetically modified mice that carry enlarged but functional thymuses, here we show a combination of proteomic and transcriptomic profiles for cTECs and mTECs, which identified signature molecules that characterize a developmental and functional contrast between cTECs and mTECs. Our results reveal a highly specific impact of the thymoproteasome on proteasome subunit composition in cTECs and provide an integrated trans-omics platform for further exploration of thymus biology.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫学 Tリンパ球 胸腺 正の選択 レパトア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体の自己を認識することで個体を防御する免疫システムは、すべての生物の生存維持に不可欠である。なかでも自己と非自己の識別を担うT細胞の抗原認識特異性レパトア確立は、ヒトを含む脊椎動物の生存と健康に必須であり、その不全は難治性の免疫疾患につながる。私たちは、生命システムの頑強性と適応性の原理解明と免疫制御による根本的な疾患治療法の開発に近づくことを目指して、胸腺微小環境におけるT細胞のレパトア形成の分子本態解明を目的とする研究を進めてきた。

免疫システムの自己・非自己識別を保証するT細胞のレパトアがどのような分子機構によって形成されているかは、基礎生物学としても臨床医学としても重要であり、多くの科学者がT細胞の生死選択を担うシグナル伝達機構の解明に向けた研究を進めてきた。そのなかで私たちも独自の貢献をしてきた。一方、胸腺の微小環境がどのようにT細胞のレパトア選択を担っているのかの研究は比較的最近始動された研究であり、私たちも研究領域の開拓に尽力してきた。具体的には、胸腺髄質におけるT細胞の自己寛容確立に、胸腺髄質上皮細胞の産生するCCR7リガンドによる皮質T細胞の誘引とXCL1による樹状細胞の誘引が協調的に必要であることを明らかにし、自己寛容確立を担う胸腺髄質上皮細胞の増殖と分化を制御する因子としてRANKLを同定した。また、胸腺皮質上皮細胞に特異的に発現されるプロテアソーム構成鎖5tを同定し、

5tを含む胸腺プロテアソームが有用CD8陽性T細胞の選択に必要なことを明らかにした。これらの成果によって、胸腺におけるT細胞レパトア形成は、皮質における有用T細胞の選択「正の選択」と、ひきつづいて髄質に移動して起こる自己寛容の確立から構成される、細胞運命の多段階分岐制御であるとのパラダイム形成に寄与してきた。また、胸腺プロテアソームの同定と発現機能解析は、免疫学の未解決重大疑問のひとつ「正の選択とは何か」に関して、これまでの理解を超越した新たなコンセプトを与えうる研究へと発展してきた。

2. 研究の目的

胸腺は、免疫システムの司令塔として自己と非自己の識別を担うT細胞を分化させるとともに、産生するT細胞の抗原認識特異性が自己生体に有用でしかも寛容になるように選択する免疫器官である。私たちはこれまでに、胸腺皮質上皮細胞に特異的に発現され、生体防御に有用なCD8陽性T細胞の選択に必要な「胸腺プロテアソーム」とその構成鎖5tを同定し、その機能と発現の研究を進めてきた。そのなかで最近、胸腺プロテアソームを発現する皮質上皮細胞による「正の選択」は、CD8陽性T細胞の有用レパトアを選別するのみならず、抗原受容体に対する親和性に応じて、選別するT細胞の機能的有用性を至適化することを明らかにした。これらの成果は、免疫学の未解決重大疑問のひとつ「正の選択とは何か」に対して、「正の選択はT細胞機能を至適化する」という新コンセプトを提示した。そこで本研究では、胸腺プロテアソーム依存性に機能至適化されたT細胞と胸腺プロテアソーム不在で機能至適化されなかったT細胞を対象に、感染・移植・がんに対する免疫応答と免疫記憶の時空間的動態の相違を比較解析することで、正の選択による機能的至適化が生体にとってどのような意義をもつか解明するとともに、シグナル伝達分子の量と修飾状態を包括的に比較解析することで、正の選択によるT細胞機能至適化の分子実体を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、胸腺皮質上皮細胞依存性「正の選択」によるT細胞機能至適化という新事象に焦点を定めて研究を推進することで、免疫システムにとっての「正の選択」の本質解明を目指した。

具体的には、単一 TCR 発現トランスジェニック Rag2 欠損マウスを 5t 欠損マウスと交配することで、同一 TCR を発現しながらも、胸腺プロテアソーム依存性に機能至適化された T 細胞と、胸腺プロテアソーム不在下で機能至適化されなかった T 細胞の分化を誘導した。そのうえで、トランスジェニック TCR が特異的に認識する抗原分子を発現するウイルス、細胞内寄生細菌、アロ移植組織、がん細胞等に対する免疫応答と免疫記憶の質とマグニチュードを比較解析することで、T 細胞の機能を至適化する「正の選択」プロセスが免疫システムによる生体防御にどのように貢献するのか解析した。また、同一 TCR を発現しながら胸腺プロテアソーム依存性に機能至適化された T 細胞と胸腺プロテアソーム不在下で機能至適化されなかった T 細胞を対象に、シグナル伝達分子の量と修飾状態について、CD5 はじめ T 細胞抗原受容体シグナル調節分子に視点を置いて包括的に解析を進めることで、胸腺プロテアソーム依存性「正の選択」による T 細胞機能至適化の分子実体解明を目指した。

4 . 研究成果

(1) 正の選択の生体防御における役割

Rag2 欠損マウスに交配した OT-I-TCR トランスジェニックマウス由来のモノクローナル TCR 発現 CD8 陽性 T 細胞を対象に、感染応答を模倣した免疫応答における正の選択による機能的至適化の意義の解析を実施し、胸腺プロテアソーム依存性または不在下に選択された T 細胞はそれぞれ、抗原刺激の様態に応じて発現されるサイトカイン等の応答分子プロファイルが異なることを明らかにした。また、種々のがん細胞に対する CD8 陽性 T 細胞依存性の免疫応答計測法を確立し、胸腺プロテアソーム依存性または不在下に選択された T 細胞は、いくつかのがん細胞に対する生体抵抗性に差違をもたらすことを見出した。

(2) 正の選択による T 細胞機能至適化の分子実体解析

同一 TCR を発現しながら胸腺プロテアソーム依存性に機能至適化された T 細胞と胸腺プロテアソーム不在下で機能至適化されなかった T 細胞を対象に、シグナル伝達分子の量と修飾状態について、CD5, CD8, CD69 など既知の T 細胞抗原受容体シグナル調節分子の発現量と細胞内局在の包括的解析を進めた。また、上皮細胞系特異的サイクリン D1 強制発現マウスを利用することで、胸腺プロテアソームの存在が胸腺皮質上皮細胞のトランスクリプトームとプロテオームにどのような統合的影響を与えるかを解析し、胸腺プロテアソームは、胸腺皮質上皮細胞内でのプロテアソーム総量を高い特異性にて制御する一方で、ストレス応答やオートファジーを含む細胞内シグナルプロセスに包括的に関与していないことを明らかにした。その結果、胸腺プロテアソームが MHC 会合ペプチドの産生を介して CD8 陽性 T 細胞の「正の選択」を担っていることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 21件/うち国際共著 11件/うちオープンアクセス 20件）

1. 著者名 Khanom Umme Shahina, Ohigashi Izumi, Fujimori Sayumi, Kondo Kenta, Takada Kensuke, Takahama Yousuke	4. 巻 203
2. 論文標題 TCR Affinity for In Vivo Peptide-Induced Thymic Positive Selection Fine-Tunes TCR Responsiveness of Peripheral CD8+ T Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 881 ~ 887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1900097	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 Ohigashi Izumi, Tanaka Yu, Kondo Kenta, Fujimori Sayumi, Kondo Hiroyuki, Palin Amy C., Hoffmann Victoria, Kozai Mina, Matsushita Yosuke, Uda Shinsuke, Motosugi Ryo, Hamazaki Jun, Kubota Hiroyuki, Murata Shigeo, Tanaka Keiji, Katagiri Toyomas, Kosako Hidetaka, Takahama Yousuke	4. 巻 29
2. 論文標題 Trans-omics Impact of Thymoproteasome in Cortical Thymic Epithelial Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2901 ~ 2916.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.10.079	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 Kondo Hiroyuki, Matsumura Takafumi, Kaneko Mari, Inoue Kenichi, Kosako Hidetaka, Ikawa Masahito, Takahama Yousuke, Ohigashi Izumi	4. 巻 295
2. 論文標題 PITHD1 is a proteasome-interacting protein essential for male fertilization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 1658 ~ 1672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.011144	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 Takahama Yousuke, Ohigashi Izumi, Murata Shigeo, Tanaka Keiji	4. 巻 71
2. 論文標題 Thymoproteasome and peptidic self	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunogenetics	6. 最初と最後の頁 217 ~ 221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00251-018-1081-3	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 Kondo Kenta, Ohigashi Izumi, Takahama Yousuke	4. 巻 31
2. 論文標題 Thymus machinery for T-cell selection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 119 ~ 125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxy081	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 Murata Shigeo, Takahama Yousuke, Kasahara Masanori, Tanaka Keiji	4. 巻 19
2. 論文標題 The immunoproteasome and thymoproteasome: functions, evolution and human disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 923 ~ 931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-018-0186-z	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 Kozai M, Kubo Y, Katakai T, Kondo H, Kiyonari H, Schaeuble K, Luther SA, Ishimaru N, Ohigashi I, Takahama Y.	4. 巻 214
2. 論文標題 Essential role of CCL21 in establishment of central self-tolerance in T cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 1925-1935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20161864	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 Ohigashi I, Ohte Y, Setoh K, Nakase H, Maekawa A, Kiyonari H, Hamazaki Y, Sekai M, Sudo T, Tabara Y, Sawai H, Omae Y, Yuliwulandari R, Tanaka Y, Mizokami M, Inoue H, Kasahara M, Minato N, Tokunaga K, Tanaka K, Matsuda F, Murata S, Takahama Y.	4. 巻 2
2. 論文標題 A human PSMB11 variant affects thymoproteasome processing and CD8+ T cell production.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 JCI Insight.	6. 最初と最後の頁 93664
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.93664	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 Takahama Y, Ohigashi I, Baik S, Anderson G.	4. 巻 17
2. 論文標題 Generation of diversity in thymic epithelial cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Rev Immunol.	6. 最初と最後の頁 295-305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nri.2017.12	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 Kondo K, Takada K, Takahama Y.	4. 巻 46
2. 論文標題 Antigen processing and presentation in the thymus: Implications for T cell repertoire selection.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Curr Op Immunol.	6. 最初と最後の頁 53-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.coi.2017.03.014	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 Sakata M, Ohigashi I, Takahama Y.	4. 巻 200
2. 論文標題 Cellularity of thymic epithelial cells in the postnatal mouse.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 1382-1388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1701235	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 Mayer CE, Zuklys S, Zhanybekova S, Ohigashi I, Teh HY, Sansom SN, Shikama-Dorn N, Hafen K, Macaulay IC, Deadman ME, Ponting CP, Takahama Y, Hollander GA.	4. 巻 46
2. 論文標題 Dynamic spatio-temporal contribution of single 5t+ cortical epithelial precursors to the thymus medulla.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Eur J Immunol.	6. 最初と最後の頁 846-856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/eji.201545995	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 Ohigashi I, Kozai M, Takahama Y.	4. 巻 271
2. 論文標題 Development and developmental potential of cortical thymic epithelial cells.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Immunol Rev.	6. 最初と最後の頁 10-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/imr.12404	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 Uddin MM, Ohigashi I, Motosugi R, Nakayama T, Sakata M, Hamazaki J, Nishito Y, Rode I, Tanaka K, Takemoto T, Murata S, Takahama Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 Foxn1- 5t transcriptional axis controls CD8+ T cell production in the thymus.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 14419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncomms14419	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 Takada K, Kondo K, Takahama Y.	4. 巻 198
2. 論文標題 Generation of peptides that promote positive selection in the thymus.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 2215-2222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1601862	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 -

〔学会発表〕 計48件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 18件)

1. 発表者名 高濱洋介
2. 発表標題 Thymoproteasome-dependent positive selection of CD8 T cells is exclusively mediated by cortical thymic epithelial cells without additional thymic antigen-presenting cells
3. 学会等名 EMBO Workshop ThymE: T cell and thymus biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高濱洋介
2. 発表標題 Thymus machinery for T cell production and selection.
3. 学会等名 FIMSA 2018 Congress. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高濱洋介
2. 発表標題 The role of thymic cortical epithelial cells in positive selection of CD8 T cells
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高濱洋介
2. 発表標題 Mechanisms for positive selection of CD8+ T cells
3. 学会等名 2017 FIMSA Advanced Course (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高濱洋介
2. 発表標題 免疫システムのかなめ「胸腺」の形成と機能
3. 学会等名 日本比較免疫学会 第29回学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高濱洋介
2. 発表標題 How the thymic medulla attracts thymocytes for the establishment of self-tolerance
3. 学会等名 NCI Thymus Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 渡邊武、高濱洋介	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 200
3. 書名 Synthetic Immunology	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>徳島大学 先端酵素学研究所 免疫系発生学分野 ホームページ http://www.genome.tokushima-u.ac.jp/dei/</p>

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
研究分担者	大東 いずみ (OHIGASHI Izumi) (00596588)	徳島大学・先端酵素学研究所(プロテオ)・准教授 (16101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	高田 健介 (TAKADA Kensuke) (40570073)	北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授 (10101)	