

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：16101

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2012～2016

課題番号：24111001

研究課題名(和文)免疫四次元空間ダイナミクス

研究課題名(英文)Analysis and Synthesis of Multidimensional Immune Organ Network

研究代表者

高濱 洋介(TAKAHAMA, Yousuke)

徳島大学・先端酵素学研究所・教授

研究者番号：20183858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 26,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、血液系細胞に注目した従来の免疫学研究では未解明であった「免疫の場」に視点をひろげ、場を含めた「免疫空間」の四次元的な形成・連携・攪乱の機構解明と再構築をめざした。そのため総括班は、研究活動が活発かつ効率的に進むよう視点共有を図り研究方針を企画調整するとともに、必要な関連技術や実験材料を共有できるよう研究支援し助言と評価を行った。また、班会議、シンポジウム、研究技術講習会の企画運営などを通して班員間の情報交換、視点共有と科学者コミュニティとの連携強化を図った。更に、各種科学コミュニケーション活動などを通して、研究領域の社会への定着と次世代研究者の育成を図った。

研究成果の概要(英文)：The findings include that (1) Foxc1 is a critical regulator of haematopoietic stem cell niche formation, (2) medullary thymic epithelial stem cells maintain a functional thymus to ensure lifelong central T cell tolerance, (3) TCR affinity for thymoproteasome-dependent positively selecting peptides conditions antigen responsiveness in CD8+ T cells, and (4) fibroblastic reticular cell-derived lysophosphatidic acid regulates T-cell motility within the lymph nodes. It was also found that (5) the transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction, (6) lysosomal sorting of amyloid-beta by the SORLA receptor is impaired by a familial Alzheimer's disease mutation, (7) a CD153+CD4+ T follicular cell population with cell-senescence features plays a crucial role in lupus pathogenesis via osteopontin production, and (8) gel-trapped lymphorganogenic chemokines trigger artificial tertiary lymphoid organs and mount adaptive immune responses in vivo.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫学 ストローマ細胞 免疫の場 リンパ器官 免疫空間

1. 研究開始当初の背景

免疫学研究は、生化学、分子生物学、ゲノム科学、発生工学、臨床医学などの進歩を積極的に取り入れ、急速に進展してきた。特に、リンパ球をはじめとする血液系細胞の分化とそれらが協調的に担う免疫応答の機構に関する分子生物学的解明において、医学生物学を牽引する優れた成果を挙げてきた。一方、免疫現象は、骨髄・胸腺・二次リンパ組織(リンパ節・脾臓)といったリンパ器官を主たる「場」として逐次的に引き起こされる四次元時空間事象である。血液系細胞は異なるリンパ器官を巡って産生・選別・活性化・維持されるため、リンパ器官が全身性のネットワークを形成し互いに連携することは、免疫システムの統御に不可欠である。それゆえ、免疫システムの全容解明と縦横な制御には、血液系細胞を対象とした研究のみならず、リンパ器官を主とする「免疫の場」とそれらのネットワークからなる「免疫空間」の本態解明もまた重要である。しかし、血液系細胞に関する分子細胞理解が高度に成熟してきたのに対して、免疫空間の本態解明に向けた研究は、リンパ器官を構築するストローマ(間質)細胞(上皮細胞、内皮細胞、線維芽細胞、細網細胞など)の同定・分類・精製の技術的困難さなどから、進展が遅れていた。

2. 研究の目的

免疫細胞の分化と免疫応答は、全身に配置された多様なリンパ器官を主な「場」とし、これらの場が血液系細胞等を介した高次の機能的ネットワークを形成することではじめて成立するダイナミックな事象である。本研究は、免疫学に加え、発生生物学、構造生物学、血液学など多様な背景から際立った成果を挙げてきた研究者が結集し、血液系細胞に注目していた従来の免疫学研究では未解明であった「場」に視点をひろげ、免疫の場を含めた「免疫空間」の四次元的な形成・連携・攪乱の機構解明と再構築をめざした。また、そのため、(A01) 免疫空間の形成と機能、(A02) 免疫空間の連携と動態、(A03) 免疫空間の攪乱と再構築、の3項目による研究を設定した。

3. 研究の方法

新学術領域「免疫四次元空間ダイナミクス」の総括班は、領域全体の研究活動が活発かつ効率的に進むように研究の視点共有を図り、研究方針を企画・調整するとともに、必要な関連技術や実験材料を共有できるように研究支援し、班全体の活動について助言と評価を行った。また、班会議とシンポジウムの企画運営とインターネットブログの利用などを通して班員間の情報交換、視点共有と科学者コミュニティとの連携強化を図り、

研究技術講習会を開催した。更に、ウェブサイトや各種科学コミュニケーション活動への参加を通して、研究領域の社会への定着と次世代研究者の育成を図った。

4. 研究成果

(1) 班会議での議論 研究の主体は、個々の独立した研究者による自由で闊達な研究活動である。この認識を共有したうえで班会議を年一度以上の頻度で開催し、率直で建設的な議論を大いに交わすことで、研究班としての視点共有を図りつつ班員相互の情報交換を行い、とりわけ若手研究者の研究推進を支援した。また、必要に応じて研究方針の修正支援を図った。

(2) 研究技術・材料の共有 領域研究をともに推進する班員とりわけ若手研究者の研究活動を研究技術面でも支援すべく、必要な関連技術共有を進めた。具体的には、電子顕微鏡イメージング、生体内イメージング、数理モデル解析、組織再構築工学、免疫系ヒト化マウス、に関する技術講習会を、それぞれの専門家の総括班員を講師として順次開催した。また、研究班で新たに独自に作製した遺伝子改変マウスや抗体など実験材料について班会議等で共有を奨励し、多くの共同研究を産み出した。

(3) 考察と議論の「場」の提供 班会議に加えて、国際シンポジウムを合計4回(国際T細胞ワークショップ2回、Synthetic Immunology Workshop1回、次世代国際シンポジウム1回)開催した。いずれのシンポジウムも極めて盛況であった。次世代国際シンポジウムはとりわけ、若手班員の自主企画であり、若手による若手のための議論の場として本研究領域の次世代への継承と定着のために資するものであったと考える。また、日本免疫学会・日本発生生物学会・日本細胞生物学会にて、それぞれシンポジウムを共催し、新学術領域「配偶子産生制御」班との二班合同ワークショップ「ニッチの謎を議論する」を開催した。本学術領域の周辺領域への展開と相互情報交換の場をさまざまなかたちで提供することで、更なる研究連携と研究展開の促進を図った。

(4) 若手研究者育成 若手研究者の育成を目的に、公募班員の参入のあった平成25年度から4年間にわたって毎年夏期に合宿形式の若手研究者研修会(サマースクール)を開催した。深く考察と論議を重ねる研究発表、若手研究者が自ら選んだ研究者による講演、緊密で自由な情報交換など、相互に切磋琢磨する場として、いずれもたいへん好評であった。また、若手研究者の育成を目的に、総括班員かつ計画研究分担者の石川(自身も若手)を中心に、若手研究者による若手研究者

のための「次世代国際シンポジウム」を開催した。約100名参加を得、参加者からたいへんな好評を得た。更に、新たに他機関で研究室をスタートアップした班員を対象に、班研究に有効活用される実験動物の移動に必要な経費を支援する「プロモーション支援事業」を2件実施した。以上の取組の成果として、班員から新任教授7名と研究所PI2名を輩出、准教授への昇任4名など、多数の若手研究者の昇進・就職が実現した。

(5) 当初予期されなかった問題への対応
平成28年4月に発生した熊本地震によって、本研究の研究者のうち公募研究の門松毅が被災した。研究活動に必須の多くの研究機器が使用不能な状態となり、研究の遂行に必要な試薬類の多くが失われた。そこで総括班として、被災によって失われた本研究の遂行に必要な試薬や材料の購入費用を支援した。その結果、当初計画に沿って、アンジオポエチン様分子ANGPTL2を介した免疫細胞とストローマ細胞との細胞間相互作用に関する研究が推進された。また、平成27年度から2年間の計画で開始された第2期公募研究課題のひとつを担う竹ヶ原が、平成28年度から米国ペンシルバニア大学にSenior Research Investigatorとして異動し、領域研究最終年度の平成28年度における研究費交付を辞退した。そこで領域代表者は連絡を継続し研究の視点共有を図った。その結果、破骨細胞に発現される新規膜分子IgSF11が細胞間接着分子であること、細胞内領域を介してインテグリンシグナルを制御することが明らかにされ、本領域研究に即した研究が進展された。

(6) 中間評価に伴う審査への対応
計画研究の「リンパ器官形成の分子機構と制御」と「免疫組織の新規構築による疾患制御のための技術開発」について、「研究経費に相応しい成果の発表に関してこの段階では十分とは言えないが、本領域全体における当該研究計画の重要性及び研究の進展は認められるため、論文としての研究成果の発表に向け、今後2年間で着実な成果を上げることを期待したい。」との指摘を受けた。いずれの計画研究についても、最終年度までには研究に大きな進展が得られ、論文としての研究成果発表も活発に実施し、最終的には、当初期待された以上の成果をあげることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計419件)

A01 免疫空間の形成と機能

Kozai M, Kubo Y, Katakai T, Kondo H, Kiyonari H, Schaeuble K, Luther SA, Ishimaru N, Ohigashi I, Takahama Y.

Essential role of CCL21 in establishment of central self-tolerance in T cells. *Journal of Experimental Medicine*. In press (2017) 査読有

Shimoto M, Sugiyama T, Nagasawa T. Numerous niches for hematopoietic stem cells remain empty during homeostasis. *Blood*. 129:2124-2131 (2017) 査読有
DOI: 10.1182/blood-2016-09-740563

Uddin MM, Ohigashi I, Motosugi R, Nakayama T, Sakata M, Hamazaki J, Nishito Y, Rode I, Tanaka K, Takemoto T, Murata S, Takahama Y. Foxn1-beta5t transcriptional axis controls CD8+ T cell production in the thymus. *Nature Communications*. 8:14419 (2017) 査読有
DOI: 10.1038/ncomms14419

Takeda A, Kobayashi D, Aoi K, Sasaki N, Sugiura Y, Igarashi H, Tohya K, Inoue A, Hata E, Akahoshi N, Hayasaka H, Kikuta J, Scandella E, Ludewig B, Ishii S, Aoki J, Suematsu M, Ishii M, Takeda K, Jalkanen S, Miyasaka M, Umemoto E. Fibroblastic reticular cell-derived lysophosphatidic acid regulates confined intranodal T-cell motility. *eLife*. 5:e10561 (2016) 査読有
DOI: 10.7554/eLife.10561

Chen Q, Takada R, Noda C, Kobayashi S, Takada S. Different populations of Wnt-containing vesicles are individually released from polarized epithelial cells. *Scientific Reports*. 6:35562 (2016) 査読有
DOI: 10.1038/srep35562

Takada K, Van Laethem F, Xing Y, Akane K, Suzuki H, Murata S, Tanaka K, Jameson SC, Singer A, Takahama Y. TCR affinity for thymoproteasome-dependent positively selecting peptides conditions antigen responsiveness in CD8+ T cells. *Nature Immunology*. 16:1069-1076 (2015) 査読有
DOI: 10.1038/ni.3237

Okubo T, Takada S. Pharyngeal arch deficiencies affect taste bud development in the circumvallate papilla with aberrant glossopharyngeal nerve formation. *Developmental Dynamics*. 244:874-887 (2015) 査読有
DOI: 10.1002/dvdy.24289

Ohigashi I, Zuklys S, Sakata M, Mayer

C, Hamazaki Y, Minato N, Hollander GA, Takahama Y.

Adult thymic medullary epithelium is maintained and regenerated by lineage-restricted cells rather than bipotent progenitors.

Cell Reports. 13:1432-1443 (2015) 査読有

DOI: 10.1016/j.celrep.2015.10.012

Omatsu Y, Seike M, Sugiyama T, Kume T, Nagasawa T.

Foxc1 is a critical regulator of haematopoietic stem/progenitor cell niche formation.

Nature. 508:536-540 (2014) 査読有

DOI: 10.1038/nature13071

Ohigashi I, Zuklys S, Sakata M, Mayer C, Zhanybekova S, Murata S, Tanaka K, Hollander GA, Takahama Y.

Aire-expressing thymic medullary epithelial cells originate from beta5t-expressing progenitor cells.

Proceedings of National Academy of Sciences USA. 110:9885-9890 (2013) 査読有

DOI: 10.1073/pnas.1301799110

Nakagawa Y, Ohigashi I, Nitta T, Sakata M, Tanaka K, Murata S, Kanagawa O, Takahama Y.

Thymic nurse cells provide microenvironment for secondary TCR rearrangement in cortical thymocytes.

Proceedings of National Academy of Sciences USA. 109:20572-20577 (2012) 査読有

DOI: 10.1073/pnas.1213069109

A02 免疫空間の連携と動態

Matoba K, Mihara E, Tamura-Kawakami K, Miyazaki N, Maeda S, Hirai H, Thompson S, Iwasaki K, Takagi J.

Conformational freedom of the LRP6 ectodomain is regulated by N-glycosylation and the binding of the Wnt antagonist Dkk1.

Cell Reports. 18:32-40 (2017) 査読有

DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.017

Yamamura K, Urano T, Shiraishi A, Tanaka Y, Ushijima M, Nakahara T, Watanabe M, Kido-Nakahara M, Tsuge I, Furue M, Fukui Y.

The transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction.

Nature Communications. 8:13946 (2017) 査読有

DOI: 10.1038/ncomms13946.

Mihara E, Hirai H, Yamamoto H, Tamura-Kawakami K, Matano M, Kikuchi A, Sato T, Takagi J.

Active and water-soluble form of lipidated Wnt protein is maintained by a serum glycoprotein afamin/a-albumin. eLife. 5:e11621 (2016) 査読有

DOI: 10.7554/eLife.11621

Ikebuchi R, Teraguchi S, Vandenbon A, Honda T, Shand FH, Nakanishi Y, Watanabe T, Tomura M.

A rare subset of skin-tropic regulatory T cells expressing IL10/Gzmb inhibits the cutaneous immune response.

Scientific Reports. 6:35002 (2016) 査読有

DOI: 10.1038/srep35002

Yanagihara T, Sanematsu F, Sato T, Urano T, Duan X, Tomino T, Harada Y, Watanabe M, Wang Y, Tanaka Y, Nakanishi Y, Suyama M, Fukui Y.

Intronic regulation of Aire expression by Jmjd6 for self-tolerance induction in the thymus.

Nature Communications. 6:8820 (2015) 査読有

DOI: 10.1038/ncomms9820

Kitago Y, Nagae M, Nakata Z, Yagi-Utsumi M, Takagi-Niidome S, Mihara E, Nogi T, Kato K, Takagi J. Structural basis for amyloidogenic peptide recognition by sorLA.

Nature Structural and Molecular Biology. 22:199-206 (2015) 査読有

DOI: 10.1038/nsmb.2954

Ogawa K, Tanaka Y, Urano T, Duan X, Harada Y, Sanematsu F, Yamamura K, Terasawa M, Nishikimi A, Côté JF, Fukui Y.

DOCK5 functions as a key signaling adaptor that links Fc RI signals to microtubule dynamics during mast cell degranulation.

Journal of Experimental Medicine. 211:1407-1419 (2014) 査読有

DOI: 10.1084/jem.20131926

Caglayan S, Takagi-Niidome S, Liao F, Carlo A-S, Schmidt V, Burgert T, Kitago Y, Füchtbauer E-M, Füchtbauer A, Holtzman DM, Takagi J, Wilnow TE.

Lysosomal sorting of amyloid- by the SORLA receptor is impaired by a familial Alzheimer's disease mutation.

Science Translational Medicine.

6:223ra20 (2014) 査読有

DOI: 10.1126/scitranslmed.3007747

Harada Y, Tanaka Y, Terasawa M, Pieczyk M, Habiro K, Katakai T, Hanawa-Suetsugu K, Kukimoto-Niino M, Nishizaki T, Shirouzu M, Duan X, Urano T, Nishikimi A, Sanematsu F, Yokoyama S, Stein JV, Kinashi T, Fukui Y.

DOCK8 is a Cdc42 activator critical for interstitial dendritic cell migration during immune responses.
Blood. 119: 4451-4461 (2012) 査読有
DOI: 10.1182/blood-2012-01-407098

A03 免疫空間の攪乱と再構築

Tan JK, Watanabe T.
Stromal cell subsets directing neonatal spleen regeneration.
Scientific Reports. 7:40401 (2017) 査読有
DOI: 10.1038/srep40401

Najima Y, Tomizawa-Murasawa M, Saito Y, Watanabe T, Ono R, Ochi T, Suzuki N, Fujiwara H, Ohara O, Shultz LD, Yasukawa M, Ishikawa F.
Induction of WT1-specific human CD8+ T cells from human HSCs in HLA class I Tg NSG mice.
Blood. 127:722-734 (2016) 査読有
DOI: 10.1182/blood-2014-10-604777

Kobayashi Y, Watanabe T.
Gel-trapped lymphorganogenic chemokines trigger artificial tertiary lymphoid organs and mount adaptive immune responses in vivo.
Frontiers in Immunology. 7:316 (2016) 査読有
DOI: 10.3389/fimmu.2016.00316

Doi K, Imai T, Kressler C, Yagita H, Agata Y, Vooijs M, Hamazaki Y, Inoue J, Minato N.
Crucial role of the Rap G protein signal in Notch activation and leukemogenicity of T-cell acute lymphoblastic leukemia.
Scientific Reports. 5:7978 (2015) 査読有
DOI: 10.1038/srep07978

Tahir S, Fukushima Y, Sakamoto K, Sato K, Fujita H, Inoue J, Uede T, Hamazaki Y, Hattori M, Minato N.
A CD153+CD4+ T follicular cell population with cell-senescence features plays a crucial role in lupus pathogenesis via osteopontin production.
Journal of Immunology. 2015 Jun 15;194(12):5725-5735 (2015) 査読有
DOI: 10.4049/jimmunol.1500319

Sekai M, Hamazaki Y, Minato N.
Medullary thymic epithelial stem cells maintain a functional thymus to ensure lifelong central T cell tolerance.
Immunity. 41:753-761 (2014) 査読有
DOI: 10.1016/j.immuni.2014.10.011

Tan J, Watanabe T.
Murine spleen tissue regeneration from

neonatal spleen capsule requires lymphotoxin priming of stromal cells.
Journal of Immunology. 193:1194-1203 (2014) 査読有
DOI: 10.4049/jimmunol.1302115

Saito Y, Yuki H, Kuratani M, Hashizume Y, Takagi S, Honma T, Tanaka A, Shirouzu M, Mikuni J, Handa N, Ogahara I, Sone A, Najima Y, Tomabechi Y, Wakiyama M, Uchida N, Tomizawa-Murasawa M, Kaneko A, Tanaka S, Suzuki N, Kajita H, Aoki Y, Ohara O, Shultz LD, Fukami T, Goto T, Taniguchi S, Yokoyama S, Ishikawa F.
A pyrrolo-pyrimidine derivative targets human primary AML stem cells in vivo.
Science Translational Medicine. 5:181ra52 1-15 (2013) 査読有
DOI: 10.1126/scitranslmed.3004387

Takagi S, Saito Y, Hijikata A, Tanaka S, Watanabe T, Hasegawa T, Mochizuki S, Kunisawa J, Kiyono H, Koseki H, Ohara O, Saito T, Taniguchi S, Shultz LD, Ishikawa F.
Membrane-bound human SCF/KL promotes in vivo human hematopoietic engraftment and myeloid differentiation.
Blood. 119:2768-2777 (2012) 査読有
DOI: 10.1182/blood-2011-05-353201

[学会発表](招待講演と基調講演のみで121件)

Yousuke Takahama Thymus-dependent positive selection of T cells. NCI Symposium on Frontiers in Basic Immunology (国際学会) 2015年10月8日 National Institutes of Health (アメリカ) [招待講演]

Junichi Takagi Resolution, dynamics, and heterogeneity - In what detail do we need to know protein structures for answering biological questions? Gordon Research Conference on X-ray Science (国際学会) 2013年8月7日 Stonehill Colledge (アメリカ) [招待講演]

[図書](計5件)

Synthetic Immunology. [1-200 pages] Springer ISBN 978-4-43-156025-8 (2016) Editors: Watanabe T, Takahama Y. [渡邊と高濱による編集]
Encyclopedia of Immunobiology. [1-3126 pages] Elsevir ISBN 9780-12-374279-7 (2016)
Editors: Ratcliffe M. and 16 editors including Miyasaka M. [宮坂らによる編集]
Chronic Inflammation. [1-702 pages]

Springer ISBN 9784-43-156068-5 (2016)
Editors: Miyasaka M, Takatsu K. [宮坂らによる編集]
Thymic development and selection of T lymphocytes. [1-132 pages] Springer ISBN 9783-64-240252-4 (2014)
Editors: Boehm T, Takahama Y. [高濱らによる編集]

[その他]

報道

- 正の選択によるT細胞教育の発見(高濱)に関する報道
2015年08月29日 毎日新聞; 2015年08月26日 NHK ニュース
- アミロイドベータ結合タンパク質の構造決定(高木)に関する報道
2015年02月03日 日経新聞・日刊工業新聞・NHK ニュース
- 自己免疫疾患防ぐ胸腺上皮幹細胞の同定(湊)に関する報道
2014年11月14日 朝日新聞・毎日新聞・読売新聞・産経新聞・日本経済新聞・日刊工業新聞
- DOCK5によるアレルギー制御機構解明(福井)に関する報道
2014年6月27日 科学新聞; 2014年6月11日 日刊工業新聞; 2014年6月10日 毎日新聞・NHK ニュース
- 骨髄ニッチを形成するFoxc1同定(長澤)に関する報道
2014年3月3日 読売新聞・毎日新聞・日刊工業新聞
- アルツハイマー病原因物質の蓄積防御機構発見(高木)に関する報道
2014年2月14日 毎日新聞; 2014年2月13日 朝日新聞・読売新聞・産経新聞・NHK ニュース

科学コミュニケーション活動

(講演会)

- 国立大学共同利用共同研究拠点協議会主催 一般向け講演会「知の拠点セミナー」講演(高濱)
2016年9月17日(京都大学東京オフィス)
参加者約60名

(イベント)

- 日本免疫学会主催 一般向けイベント「免疫ふしぎ未来」講演・展示(高濱)
2015年8月9日・2014年8月10日・2013年8月11日・2012年8月19日(日本科学未来館)参加者各約2000名

- 日本分子生物学会主催 一般向けイベント「2050年シンポジウム」出演(高濱)
2013年12月6日(神戸ポートピアホール)
参加者約1000名; 2014年1月12日&19日(BSフジ「ガリレオX」放送)

(テレビ番組)

- NHKスペシャル「人体 ミクロの大冒険」取材協力(高濱、湊)
2014年4月6日放送

ウェブサイト

- 「免疫四次元空間ダイナミクス」
<http://www.genome.tokushima-u.ac.jp/ion/index.html>
- オンラインニュースレター
<http://www.genome.tokushima-u.ac.jp/ion/newsletter/index.html>
- 班員ブログ
<http://asmion-blog.org>

6. 研究組織

(1)研究代表者

高濱 洋介(TAKAHAMA, Yousuke)
徳島大学・先端酵素学研究所・教授
研究者番号: 20183858

(2)研究分担者

高田 慎治(TAKADA, Shinji)
自然科学研究機構・基礎生物学研究所・教授
研究者番号: 60206753

長澤 丘司(NAGASAWA, Takashi)
大阪大学・生命機能研究科・教授
研究者番号: 80281690

宮坂 昌之(MIYASAKA, Masayuki)
大阪大学・未来戦略機構・名誉教授
研究者番号: 50064613

高木 淳一(TAKAGI, Junichi)
大阪大学・蛋白質研究所・教授
研究者番号: 90212000

福井 宣規(FUKUI, Yoshinori)
九州大学・生体防御医学研究所・教授
研究者番号: 60243961

湊 長博(MINATO, Nagahiro)
京都大学・医学研究科・特命教授
研究者番号: 40137716

渡邊 武(WATANABE, Takeshi)
公益財団法人田附興風会・医学研究所・特任研究指導者
研究者番号: 40028684