

令和 3 年 4 月 15 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02431

研究課題名(和文) 胸腺T細胞における正負の選択を決定する情報伝達回路の情報理論を用いた同定

研究課題名(英文) Deciphering positive and negative selection in thymocyte from information theoretic approach

研究代表者

宇田 新介 (Uda, Shinsuke)

九州大学・生体防御医学研究所・准教授

研究者番号：20599609

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T細胞において、1細胞レベルでシグナル伝達分子を測定および定量し、情報量を用いた解析に必要なデータセットを取得した。情報量による解析では大きなサンプルサイズが要求されるため、1時刻あたり6000細胞を測定している。情報量による解析を行った結果、S6のリン酸化における情報伝達のダイナミクスが他のシグナル分子と比べて特徴的であることが示唆された。各シグナル分子の情報伝達に使われる通信路の違いを定量的に可視化する手法を開発して適用したところ、S6の通信路の性質が他のシグナル分子に比べて異なることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胸腺T細胞の正負の選択におけるシグナル伝達の情報理論的解析はなく、生物学的にも情報伝達の全貌は未解明のままである。本研究により、情報量という定量的尺度を導入した解析によって、新たな知見が得られる可能性は高い。特に、通信路の観点からのシグナル伝達系の解析はほとんどなく、通信路の違いの可視化は本研究の実験系だけでなく、一般の系にも適用可能で広く応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We measured and acquired the data set to analyze signal transduction in thymocyte at single cell level by information theory. The data set is composed of 6000 cells per time point, because the analysis base on information theory requires a large sample size. The result suggests that dynamics of information transmission of S6 is specific compared to another signaling molecules. We developed the quantitative visualization method of communication channel of signaling molecules and applied to the data set. We found that the communication channel of S6 was different from another signaling molecules.

研究分野：情報科学

キーワード：情報理論 システム生物学 胸腺T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

近年、細胞内シグナル伝達の情報伝達の仕組みを解明する新たなアプローチとしてシャノンの情報理論が適用されるようになり、様々な系への展開が期待されている。一方で、獲得免疫の構築に必須である胸腺 T 細胞の「正負の選択」では、シグナル伝達が重要な役目を担う回路として機能することが知られているにもかかわらず、その情報伝達の仕組みは不明である。獲得免疫の中心的役割を果たす胸腺 T 細胞は、「正負の選択」と呼ばれる選択機構を経て成熟し、胸腺 T 細胞が T 細胞抗原レセプター (TCR) で抗原を認識した際に、その親和性の違いによって、分化・増殖するか (正の選択) もしくはアポトーシスに至るか (負の選択) のどちらかに運命が決定される。すなわち、胸腺 T 細胞のシグナル伝達は、TCR による抗原の親和性というアナログな情報を生死という 2 状態のデジタルな情報へと正確に変換するシステムを有すると考えられる。

## 2. 研究の目的

これまで胸腺細胞の正負の選択は TCR シグナル伝達のシグナル強度により決定されるモデルが検討されてきたことを踏まえ、胸腺細胞を用いて TCR シグナル伝達の強度の情報に加え相互情報量を算出する実験系を構築し、TCR シグナル伝達分子の特徴を相互情報量を基に解析を行ってきた。マウス胸腺細胞に抗 CD3 $\epsilon$ 抗体刺激を加え TCR シグナル伝達を活性化し、相互情報量をそれぞれの情報伝達経路に対し算出したところ、翻訳関連分子の制御が TCR シグナル伝達では特徴的な動態を示すことが明らかとなった。そこでより詳細に翻訳関連分子および翻訳制御を解析するために pmTOR, peIF4E, pS6, pS6K の量およびタンパク質のターンオーバーを 1 細胞レベルで解析する実験系を構築する。その上で、情報伝達と翻訳制御との関連を情報量的観点から解析し、両者の定量的な関係を明らかとする。

## 3. 研究の方法

1 細胞レベルで定量されたシグナル伝達データ (t=0, 1, 2.5, 5, 10, 20 (min), 各時刻で約 6000 細胞) を用いて、CD3 を入力として下流の各分子への情報伝達を相互情報量により定量する。また、通信路である条件付き分布によって、情報伝達の性質を定量的に記述し、違いを適切に可視化する。

データの取得については、マウスより胸腺細胞およびマウス胸腺細胞由来の培養細胞である DPK 細胞を用いて、抗 CD3 $\epsilon$  抗体などにより TCR シグナル伝達を活性化させる。その後、時系列 (10 時点: 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40, 60 分) にサンプルを回収し、ホルマリンで固定する。固定した細胞に対し、細胞内染色法 (ICS 法) を用いて細胞内のシグナル伝達分子などを標識抗体により染色し、1 細胞レベルでそれぞれの分子の存在量を定量する。また、メチオニンアナログである Puromycin を短時間細胞に取り込ませ、FITC-抗 Puromycin 抗体により染色することで 1 細胞レベルでタンパク質全体のターンオーバーを定量する。

## 4. 研究成果

シグナル伝達データから情報量の解析を行った結果、平均時系列では特徴的な挙動はみられないが (図 1)、相互情報量では S6 のリン酸化が特徴的な挙動を示すことが示唆されている (図 2)。この結果を踏まえ、通信路の違いを可視化して定量的に調べる手法の開発を行った (論文投稿準備中)。開発手法の適用により、S6 の通信路が他のシグナル分子と比べて特徴的であることがわかった。

翻訳制御との関連を解析するため、新たに以下 2 点の実験系の構築が達成された (論文投稿準備中)。

### 1) 翻訳関連分子のシグナル伝達の 1 細胞解析

情報量の解析より、タンパク質合成速度の制御に関わる分子である S6 のリン酸化が特徴的な動きを示すことが明らかになっている。したがって、翻訳に関わるシグナル伝達分子 (pmTOR, peIF4E, pS6, pS6K) を新たに解析対象に加え、刺激後の時系列データを取得した。

### 2) タンパク質のターンオーバーの 1 細胞解析

S6 の情報伝達における通信路の解析結果を踏まえ、1 細胞レベルでタンパク質の合成速度を見る実験系を構築することで情報伝達と翻訳制御の関係が明らかとするデータ取得が見込まれる。そのために Puromycin ラベルによるタンパク質のターンオーバーを定量する実験系を構築した。特に TCR シグナル伝達が非常に速い応答を示すため、ラベル時間とラベル濃度により最適化を行った (図 3)。

現在、これらの実験系を用いてデータを追加で取得し、通信路の性質と翻訳制御との関連を解析している。

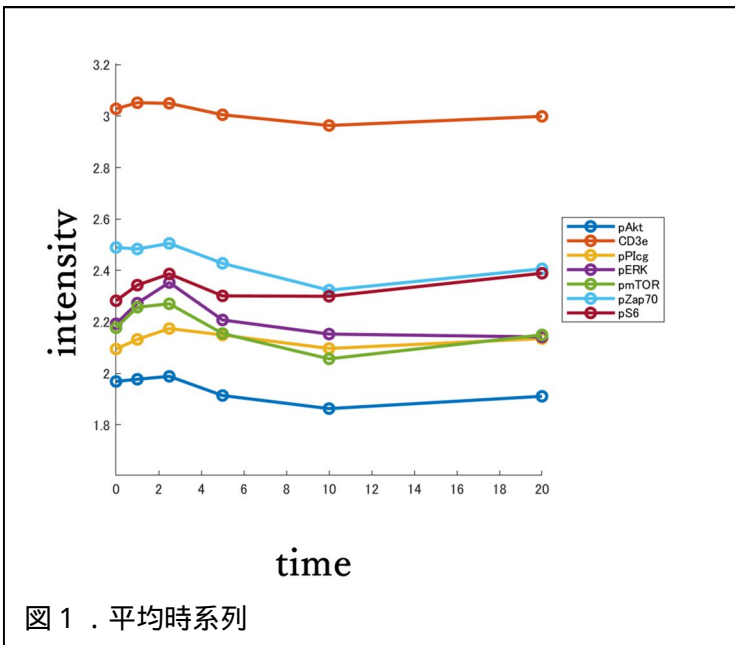


図1. 平均時系列

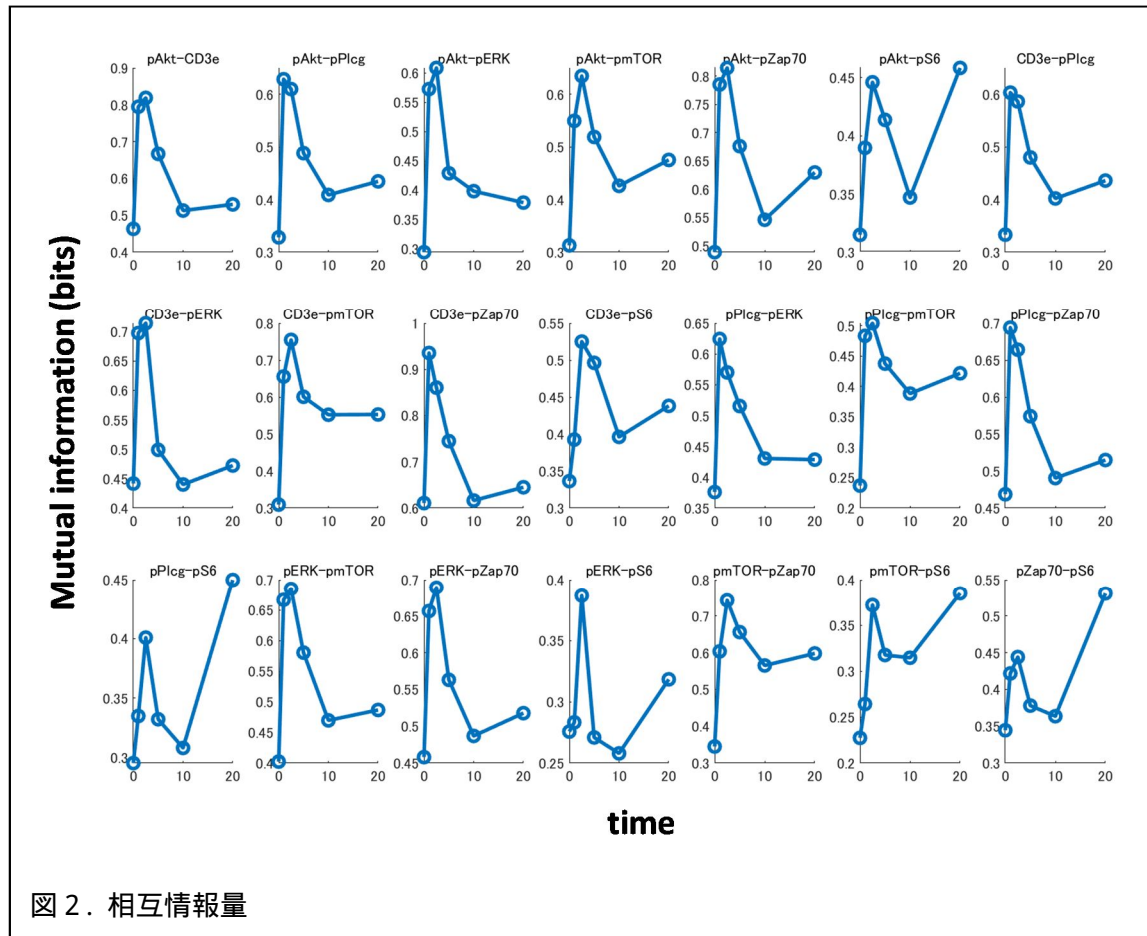


図2. 相互情報量

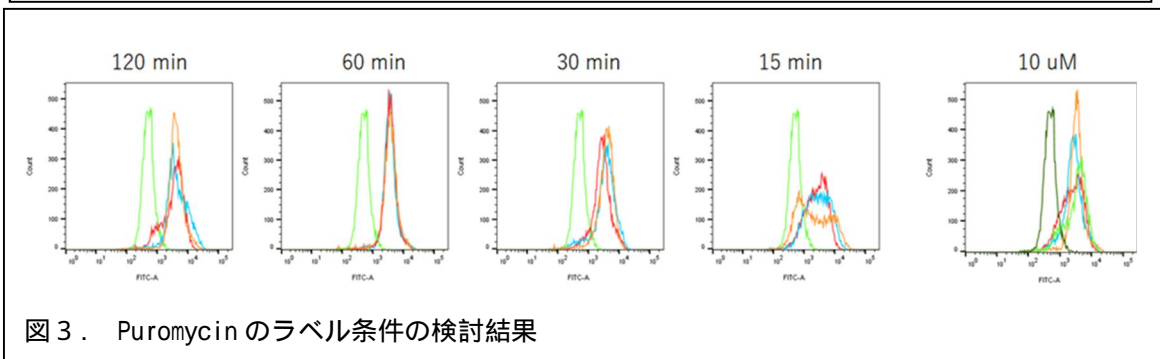


図3. Puromycinのラベル条件の検討結果

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5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 3件）

1. 著者名 Shinsuke Uda	4. 巻 -
2. 論文標題 Application of information theory in systems biology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophys Rev	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12551-020-00665-w	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 Toyomasu, 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 Kawata Kentaro, Yugi Katsuyuki, Hatano Atsushi, Kokaji Toshiya, Tomizawa Yoko, Fujii Masashi, Uda Shinsuke, Kubota Hiroyuki, Matsumoto Masaki, Nakayama Keiichi I., Kuroda Shinya	4. 巻 -
2. 論文標題 Reconstruction of global regulatory network from signaling to cellular functions using phosphoproteomic data	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12655	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 Kokaji T., Hatano A., Ito Y., Yugi K., Eto M., Morita K., Ohno S., Fujii M., Hironaka K., Egami R., Terakawa A., Tsuchiya T., Ozaki H., Inoue H., Uda S., Kubota H., Suzuki Y., Ikeda K., Arita, M., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Hirayama, A., Soga, T., Kuroda, S.	4. 巻 13
2. 論文標題 Transomics analysis reveals allosteric and gene regulation axes for altered hepatic glucose-responsive metabolism in obesity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 eaaz1236 ~ 1236
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/scisignal.aaz1236	査読の有無 有
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 Wada Takumi, Hironaka Ken-ichi, Wataya Mitsutaka, Fujii Masashi, Eto Miki, Uda Shinsuke, Hoshino Daisuke, Kunida Katsuyuki, Inoue Haruki, Kubota Hiroyuki, Takizawa Tsuguto, Karasawa Yasuaki, Nakatomi Hirofumi, Saito Nobuhito, Hamaguchi Hiroki, Furuichi Yasuro, Manabe Yasuko, Fujii Nobuharu L., Kuroda Shinya	4. 巻 32
2. 論文標題 Single-Cell Information Analysis Reveals That Skeletal Muscles Incorporate Cell-to-Cell Variability as Information Not Noise	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108051 ~ 108051
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108051	査読の有無 有
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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Yuki Ito, Shinsuke Uda, Toshiya Kokaji, Akiyoshi Hirayama, Tomoyoshi Soga, Yutaka Suzuki, Shinya Kuroda and Hiroyuki Kubota
2. 発表標題 Comparison of hepatic metabolome and transcriptome responses to oral glucose tolerance test between normal and obese mice by information theoretic approach
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Ito, Shinsuke Uda, Toshiya Kokaji, Akiyoshi Hirayama, Tomoyoshi Soga, Yutaka Suzuki, Shinya Kuroda and Hiroyuki Kubota
2. 発表標題 Comparison of hepatic responses to glucose perturbation between normal and obese mice using edge ontology
3. 学会等名 Fusion of Mathematics and Biology
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	幡野 敦 (Hatano Atsushi)  (30755533)	新潟大学・医歯学系・助教   (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	比嘉 網己  (Higa Tsunaki)  (60826238)	九州大学・生体防御医学研究所・学術研究員    (17102)	

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