

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15461

研究課題名（和文）初期T前駆細胞に由来する胸腺内樹状細胞が果たす役割の解明

研究課題名（英文）Study of the thymic dendritic cells derived from early T-cell progenitors

研究代表者

大塚 亮 (Otsuka, Ryo)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・客員研究員

研究者番号：50853165

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：胸腺は、抗原提示細胞によるT細胞の選択を介して、個体免疫寛容の確立に重要な役割を担っている。胸腺内に存在しT細胞の元となる初期T前駆細胞は、T細胞のみならず樹状細胞などの抗原提示細胞を生成する能力があることが知られている。一方で、このような抗原提示細胞が胸腺内で担っている役割については不明である。

本研究ではこのような初期T前駆細胞について独自の実験手法を確立し、樹状細胞等の抗原提示細胞の生成を介してT細胞の負の選択に寄与すること、また個体の免疫寛容の成立に寄与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究では、「初期T前駆細胞は骨髄系細胞を作製しうるか」、「どのような環境でそれが起きるか」という命題に重点が置かれてきた。本研究は、初期T前駆細胞から分化した細胞が「T細胞の選択に寄与しているのか」、「T細胞の選択において特徴的な機能を有しているか」という疑問の解明が目的であり、先行研究から得られてきた知見に基づいて、実際の生体胸腺内での機能とその重要性を見出した。

研究成果の概要（英文）：Thymus plays an essential role in establishing immunological self-tolerance through the positive and negative selections of the developing T cells by antigen-presenting cells. Early T-cell progenitors are known to produce antigen-presenting cells, such as dendritic cells in the thymus. However, the functions of T-progenitor-derived antigen-presenting cells remain understudied.

In this study, we established a new experimental model to investigate the function of early T-cell progenitors. Also, we revealed that early T-cell progenitors contribute to the negative selection of self-reactive T cells through the generation of antigen-presenting cells and to the establishment of systemic immunological tolerance.

研究分野：T細胞

キーワード：T細胞分化 胸腺 樹状細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

T細胞は胸腺内で分化し、選択され、成熟し、末梢へと放出されるが、この「選択」の役割を胸腺内で果たすのが、抗原提示細胞である。その主体である胸腺上皮細胞は、様々な自己抗原をT細胞に提示することで自己に反応し免疫応答を引き起こしうる細胞を排除する「負の選択」に関わることがよく知られている。加えて、胸腺内の樹状細胞(DC: dendritic cell)など血液細胞系統の抗原提示細胞においても「負の選択」への寄与が明らかになってきている(Klein L, Nat Rev Immunol, 2014)。通常DCはミエロイド(骨髄系)前駆細胞に由来すると考えられているが、胸腺に移入した1つの初期T前駆細胞(ETP: early thymic progenitor)はT細胞のみならずDCを含む抗原提示細胞を生成する能力も持つことが明らかにされている(Wada H, Nature, 2004; Łyszkiewicz M, Blood, 2015)。したがって胸腺内には、「ETP」または「ミエロイド前駆細胞」という少なくとも2種類の前駆細胞に由来するDCの存在が予想される。

「負の選択」に関わる細胞といえば、胸腺上皮細胞が最もよく知られており、免疫寛容の成立に重要な役割を果たしていることは疑いがない。一方で、同じ上皮細胞種であっても一部のサブセットは特徴的な遺伝子発現を示し、特定の分子に対する免疫寛容の成立に寄与しているという報告がある(Miller, Nature, 2018)。胸腺内DCの機能を語る上で、その由来に関してはこれまで鑑みられていなかったため、胸腺内に存在するETP由来DCの機能については着目されてこなかった。さらに、これまでの知見では胸腺内に存在するDCの由来がETPであるか否かを区別することができていない。以上のことから、ETPに由来する抗原提示細胞、特にDCに着目し、胸腺内での表現型や働きを詳細に解析するというテーマを見出した。すなわち本研究課題の核心をなす学術的な問いは、「ETP由来DCは、T細胞の選択を通じて免疫寛容の成立に関与する、特異的な機能を有しているか」である。

2. 研究の目的

本研究では、ETP由来DCについて「1. T細胞の負の選択に寄与するか」、「2. 個体の免疫寛容の成立に寄与するか」を明らかにし、網羅的遺伝子・分子発現解析を用いて「3. ミエロイド前駆細胞由来樹状細胞とは異なる特異的な機能の有無」を明らかにすることを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) T細胞の負の選択に寄与するかの検討

血液系細胞を除去したB6胎仔胸腺組織をBALB/cまたはB6 ETPと共培養し、胎仔胸腺内でETPの分化を促し、再構成させる。このとき生成されたT細胞の受容体レパトアを比較することでETPが負の選択に寄与するかを評価する。

(2) 個体の免疫寛容の成立に寄与するかの検討

BALB/c胎仔胸腺をB6 ETPで再構成した後にBALB/cヌードマウスへ移植し、末梢に十分な成熟T細胞が確認できた後(約6週間)に、B6皮膚の移植を行う。また、ミエロイド細胞への分化能を失ったT前駆細胞を用いて同様の実験を行い、皮膚移植の結果を評価する。

(3) ミエロイド前駆細胞由来樹状細胞とは異なる特異的な機能を有するかの検討

T前駆細胞を欠損するHuman CD3eトランスジェニックマウスと野生型マウスの骨髄をレシピエントの野生型マウスへ移植し、生成された胸腺内ミエロイド細胞を分取しscRNA-sequencingを用いて細胞集団を網羅的に解析する。

4. 研究成果

(1) T細胞の負の選択に寄与するかの検討

BALB/c ETP由来樹状細胞が存在する環境では、B6の場合と比べて、特定のT細胞受容体を有するT細胞の割当が有意に小さいという結果を得た。また同様の結果はシングルセルソーティングによって分取した1つのETPを用いたときにも見られた。一方で、この結果はすでに樹状細胞などのミエロイド細胞への分化を失った段階のT前駆細胞では得られなかった。また、ETPから分化誘導した抗原提示細胞は、T細胞の負の選択に寄与することをin vitroの系においても認められた。これらの結果は、ETPが生成するミエロイド細胞がT細胞の選択に寄与することを示唆し

ている。

(2) 個体の免疫寛容の成立に寄与するかの検討

B6 ETP を用いて再構成した BALB/c 胎仔胸腺を BALB/c nu/nu マウスの腎被膜下へ移植した後に皮膚移植を行ったところ、B6 の皮膚は長期生着し、第三者 (C3H) の皮膚は初期に拒絶されるという結果を得た。すなわち ETP は T 細胞の選択を通して個体の免疫寛容に寄与するという示唆が得られた。

(3) ミエロイド前駆細胞由来樹状細胞とは異なる特異的な機能を有するかの検討

胸腺内ミエロイド細胞の scRNA-seq 解析の結果、古典的樹状細胞については T 前駆細胞を欠損する Human CD3e トランスジェニックマウスと野生型マウスともにほぼ同様の分布を示しており、有意な差を認めなかった。一方で、scRNA-seq 解析の結果から古典的樹状細胞のみならず、形質細胞用樹状細胞の一部も T 前駆細胞から生成される可能性を示すデータを得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Haruka Wada, Ryo Otsuka, Ken-ichiro Seino
2. 発表標題 Early T cell progenitor-derived antigen-presenting cells contribute to T cell repertoire selection in the thymus
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------