

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

2020 年 4 月 27 日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 京都大学 iPS細胞研究所

職 名 特定拠点助教

氏 名 米谷 耕平

助 成 の 種 類	令和元年度 ・ 研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究課題名	ネオ・セルフを創り出す胸腺髄質上皮細胞を規定するマスター遺伝子の同定			
上記以外で助成金を 充当した 研究内容	胸腺上皮細胞誘導系と多様なレパトアを持つT細胞分化培養系の確立			
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名)			
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等) なし			
成果の概要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)			
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000 円		
	使用した助成金額	1,000,000 円		
	返納すべき助成金額	0 円		
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		実験試薬(抗体、培地等)	546,524	
		実験動物購入費	76,450	
		学会参加費、国内旅費	120,320	
【使用見込】				
実験試薬(抗体、培地等)	256,706			
当財団の助成に ついて	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 科研費が不採択だったため、研究費が不足しておりましたが、本助成により研究を進めることができました。また、得られた予備データを元に申請した科研費が本年度は採択されましたが、執行までの数ヶ月間を本助成により進めることができます。このような柔軟な対応を認めていただける研究費は貴重ですので今後も御支援を継続いただけますようお願い申し上げます。			

成果の概要 / 米谷耕平

研究の目的

免疫は病原体やがん細胞などを生体から排除し、生体を防御する機構である。免疫細胞の一種 T 細胞は、ウイルス感染細胞やがん細胞を直接殺傷し、生体から除去する細胞である。T 細胞はまた、サイトカインなどを分泌し、他の免疫細胞のはたらきを制御する機能も持つ。T 細胞の分化は胸腺で行われるが、そこでは様々な抗原に対応できる T 細胞プールを作り出すとともに、自己を攻撃する T 細胞を除去する（負の選択という）ことが行われている。この T 細胞の分化には、胸腺上皮細胞と呼ばれるストロマ細胞との相互作用が必須である。胸腺上皮細胞は大まかには、皮質部に存在する胸腺皮質上皮細胞と、髄質領域に存在する胸腺髄質上皮細胞の 2 種類のサブセットに分けられる。負の選択は主に髄質領域で胸腺髄質上皮細胞によって担われる。負の選択では、胸腺髄質上皮細胞に発現する核内因子 AIRE により本来胸腺では発現しない自己の抗原を異所性に発現することで、末梢組織で自己を攻撃する T 細胞を除去している。このように、胸腺髄質上皮細胞そのものの機能についてはよく知られているが、胸腺髄質上皮細胞がどのようにして分化するのか、とりわけ胸腺皮質上皮細胞と胸腺髄質上皮細胞の分岐点、胸腺髄質上皮細胞のマスター転写因子というものは知られていない。そこで、本課題では胸腺髄質上皮細胞の分化を誘導する転写因子の同定を目指す。

研究の成果

申請者の所属する研究室では、これまでに胸腺髄質上皮前駆細胞・幹細胞の同定に成功している。また、胸腺髄質上皮細胞と胸腺皮質上皮細胞の分岐はマウスでは胎生 13 日前後で起きると考えられている。そこで、胎齢 13.5 日、14.5 日のマウス胎児から胸腺を摘出し、酵素処理により単一細胞に分離した。細胞は血球細胞が発現している CD45、Ter119 と胸腺上皮細胞が発現している EpCAM (CD326) などを用いて染色した。その後、セルソーターにて胸腺髄質上皮前駆細胞と考えられる細胞とそれ以外の胸腺上皮細胞を単離した。採取した細胞から RNA を抽出し、RNA-seq 法にて発現 RNA のプロファイルを得た。得られたデータをバイオインフォマティクス的手法により解析し、胸腺髄質上皮細胞で特異的に発現量が高い遺伝子を抽出した。ここで得られた候補遺伝子の一つは遺伝子欠損マウスがすでに樹立されていたので導入し、解析を試みた。該当遺伝子欠損マウスの胎児胸腺を採取し、フローサイトメトリーおよび免疫組織化学染色法にて胸腺髄質領域および胸腺髄質上皮細胞の存在を確認した。その結果、この遺伝子欠損マウスでも対照群と同等の髄質領域、胸腺髄質上皮細胞が確認された。以上の結果から、今回解析を試みた候補遺伝子は胸腺髄質上皮細胞のマスター遺伝子とは考えられなかった。

今後の展望

今後、他の候補遺伝子の遺伝子欠損マウスを作製し、胸腺髄質上皮細胞の分化決定因子であるかどうかの評価を継続する予定である。また、当該遺伝子が同定できた場合、その機能を検証するために、本助成金により樹立を目指している胸腺上皮細胞誘導系において当該遺伝子を発現させ、胸腺髄質上皮細胞への誘導が可能かどうか確認することを計画している。また、今回検証した候補遺伝子は胸腺髄質上皮細胞のマスター遺伝子ではなかったが、胸腺髄質上皮細胞での発現は高いため、胸腺髄質上皮細胞で機能的に重要なはたらきを担っている可能性がある。その場合、胸腺で生成されたT細胞の質が変化している可能性があり、この点にも着目して解析を進めたい。