

国際共同研究事業
スイスとの国際共同研究プログラム
平成30年度実施報告書

平成31年4月2日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者

所属機関・部局 徳島大学・先端酵素学研究所

職・氏名 (ふりがな) 特命教授・高濱 洋介
たかはま ようすけ

1. 事業名 国際共同研究事業スイスとの国際共同研究プログラム
2. 研究課題名 (和文) 胸腺上皮細胞の分化と機能を裏付ける転写エピゲノム分子機構の研究
(英文) Transcriptional control and Epigenetic Mechanisms of Thymic Epithelial
Cell Development and Function
3. 共同研究実施期間 (全採用期間)
平成 29年1月1日 ~ 平成 31年12月31日 (3年0ヶ月)
4. 研究参加者
(1) 日本側参加者 4名 (2) スイス側参加者 3名
5. 主要な物品購入状況 (単価 (一品又は一組) 若しくは一式の価格が 50 万円以上のものを購入した場合は記載)

物品名	仕様 型・性能等	数量	単価(円)	金額(円)	設置研究機関名	備考

備考：本事業の委託費と他の経費とを合算使用する際は、合算使用した旨を備考欄に記載した上で、金額は本事業の委託費によるもののみ計上してください。

8. 研究実施状況

※ 申請書の内容及び当該年度実施計画書の「5. 本年度実施計画の概要」と対応させつつ、当該年度の研究の実施状況を簡潔に日本語にて記入してください。

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 細胞分化を支持する胸腺上皮細胞の分化機構を明らかにすべく、本年度は (1) 皮髄共通前駆細胞から皮質上皮細胞と髄質上皮細胞への分岐制御を担う転写制御分子の発見を目指すとともに、胸腺上皮細胞の機能に関わる分子機構および細胞機構を解明するために (2) T 細胞の自己免疫寛容確立に重要な胸腺髄質上皮細胞分子 CCL21Ser の新規機能の解明と、(3) Foxn1 依存性の $\beta 5t$ 遺伝子発現を制御するエピジェネティック機構の解析を行った。

(1) 皮質上皮細胞と髄質上皮細胞への分岐制御を担う転写制御分子の発見に関する研究

皮質上皮細胞と髄質上皮細胞での遺伝子発現を比較したマイクロレイ解析結果、および、皮髄共通前駆細胞および髄質に系列決定したばかりの細胞での遺伝子発現解析結果から、発現差違のある転写関連分子を抽出した。その中からすでに欠損マウスが作製されている 10 遺伝子について胸腺を入手し、皮髄構造、および、機能タンパクの発現について検討した。その結果、いずれの欠損胸腺も皮髄共通前駆細胞から皮質・髄質上皮細胞への分岐は正常であったが、皮質上皮細胞と皮髄共通前駆細胞での発現が高い転写因子のひとつを欠損する胸腺は、正常胸腺に比べると組織の大きさが小さく、CD8 陽性 T 細胞数が減少していた。このことから、皮質上皮細胞での当該転写因子の発現は CD8 陽性 T 細胞の正常な産生に関与していることが示唆された。また、欠損マウスが作製されていない分子の中で、皮質上皮細胞および皮髄共通前駆細胞での発現が極めて高い転写活性化補助分子が上皮細胞分岐制御を含む上皮細胞での機能を明らかにするために、CRISPR/Cas9 法による当該分子の欠損マウスを作製した。現在、これらのマウスの形質解析を推進し、皮質上皮細胞と髄質上皮細胞の分岐制御を担う分子の発見に至るか検証を進めている。

(2) T 細胞の自己免疫寛容確立に重要な胸腺髄質上皮細胞分子 CCL21Ser の新規機能の解明

ケモカイン受容体 CCR7 のリガンド CCL19、CCL21Ser、CCL21Leu は、いずれも胸腺では髄質上皮細胞で高発現される。これまでに我々は、CCR7 欠損マウスや *Cc119* と CCL21Ser をコードする *Cc121a* の両遺伝子座を欠失する *plt/plt* マウスの解析から、CCR7 を介したシグナルは胸腺で分化途上にある T 細胞の皮質から髄質への移動を制御し、自己免疫寛容確立に重要であることを明らかにしてきた。また、昨年度までの本研究によって、CCL21Ser は胸腺での T 細胞移動を制御することにより T 細胞の自己免疫寛容確立に非冗長な役割を果たしており、他のリガンドは CCL21Ser 欠損時にその機能を補完しないことを明らかにしてきた。本年度は更に、CCL21Ser は樹状細胞前駆細胞の胸腺内への移住を担うことによって、胸腺髄質における樹状細胞依存性の T 細胞自己寛容確立に貢献することを見出した。これらの結果は米国科学雑誌 *Journal of Immunology* に掲載された (Cosway, et al. 2018)。

(3) Foxn1 依存性の $\beta 5t$ 遺伝子発現を制御するエピジェネティック機構の解析

我々は最近、胸腺プロテアソームの皮質上皮細胞特異的構成鎖 $\beta 5t$ 遺伝子の発現が転写因子 Foxn1 の直接ターゲットとして制御されることを明らかにしている。そこで、Foxn1 依存性の $\beta 5t$ 遺伝子発現について、マウス個体レベルでの免疫システム形成の観点から生理的意義の研究を進めている。具体的には、 $\beta 5t$ 遺伝子座上流ゲノム領域に、 $\beta 5t$ 発現に必要な Foxn1 結合配列を同定している。一方、Foxn1 は皮質上皮細胞と髄質上皮細胞の両方で発現しているにもかかわらず、 $\beta 5t$ は皮質上皮細胞のみに発現されている。そこで、クロマチン免疫沈降法によって、皮質上皮細胞と髄質上皮細胞それぞれのクロマチン当該配列への Foxn1 結合を調べたところ、皮質上皮細胞のみで Foxn1 の結合が認められ、髄質上皮細胞では Foxn1 結合が観察されなかった。このことは、当該ゲノム配列のクロマチン構造が皮質上皮細胞と髄質上皮細胞では異なり、Foxn1 タンパク質の当該配列への結合がエピジェネティックに制御される機構が存在することが明らかになった。これらの結果をうけて現在、当該 $\beta 5t$ 遺伝子座上流ゲノム領域を対象に、クロマチン構造が皮質上皮細胞と髄質上皮細胞のあいだでどのように異なるのか、エピジェネティック分子機構の解析を進めている。

9. 研究発表（平成30年度の研究成果）

【雑誌論文】 計（6）件 うち査読付論文 計（6）件

通 番	共著の 有無*	著 者 名	論 文 標 題			
				Takahama Y, <u>Ohigashi I</u> , Murata S, Tanaka K.	Thymoproteasome and peptidic self.	
①		雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
		Immunogenetics	有	71	2 0 1 9	217-221
②		著 者 名	論 文 標 題			
		Kasahara M, Flajnik MF, <u>Takahama Y</u> .	Biology, evolution, and history of antigen processing and presentation.			
		雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
		Immunogenetics	有	71	2 0 1 9	137-139
③		著 者 名	論 文 標 題			
		Kondo K, <u>Ohigashi I</u> , <u>Takahama Y</u> .	Thymus machinery for T-cell selection.			
		雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
		International Immunology	有	31	2 0 1 9	119-125
④		著 者 名	論 文 標 題			
		Takeuchi A, Ozawa M, Kanda Y, Kozai M, <u>Ohigashi I</u> , Kurosawa Y, Rahman MA, Kawamura T, Shichida Y, Umemoto E, Miyasaka M, Ludwig B, <u>Takahama Y</u> , Nagasawa T, Kataikai T.	A distinct subset of fibroblastic stromal cells constitutes the cortex-medulla boundary subcompartment of the lymph node.			
		雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
		Frontiers in Immunology	有	9	2 0 1 8	2196
⑤		著 者 名	論 文 標 題			
		Murata S, <u>Takahama Y</u> , Kasahara M, Tanaka K.	The immunoproteasome and thymoproteasome: Function, evolution, and human disease.			
		雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
		Nature Immunology	有	19	2 0 1 8	923-931
⑥		著 者 名	論 文 標 題			
		Cosway EJ, <u>Ohigashi I</u> , Schauble K, Parnell SM, Jenkinson WE, Luther S, <u>Takahama Y</u> , Anderson G.	Formation of the intrathymic dendritic cell pool requires CCL21-mediated recruitment of CCR7+ progenitors to the thymus.			
		雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
		The Journal of Immunology	有	201	2 0 1 8	516-523

〔学会発表〕計（ 5 ）件 うち招待講演 計（ 3 ）件

通番	発表者名	発表標 題		
①	Fujimori S.	Enforced activation of β -catenin signaling in mouse thymic epithelial cells induces thymic dysplasia		
	学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
	第41回日本分子生物学会年会	2018年11月28日	神奈川県横浜市（パシフィコ横浜）	
②	発表者名	発 表 標 題		
	Takahama Y.	The role of thymic cortical epithelial cells in positive selection of CD8 T cells		
	学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第41回日本分子生物学会年会	2018年11月29日	神奈川県横浜市（パシフィコ横浜）		
③	発表者名	発 表 標 題		
	Takahama Y.	The role of the thymus cortex In T cell development and selection.		
	学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
Symposium on Lymphoid Tissue Microenvironment and Immune Cell Trafficking.	2018年10月16日	中国 北京		
④	発表者名	発 表 標 題		
	Takahama Y.	Thymus machinery for T cell production and selection.		
	学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
FIMSA 2018 Congress.	2018年11月11日	タイ バンコク		
⑤	発表者名	発 表 標 題		
	大東 いずみ	T細胞の自己免疫寛容確立におけるCCL21の役割		
	学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第 28 回 Kyoto T Cell Conference	2018年6月15日	京都府京都市（京都大学）		

〔図 書〕 計（ ）件

通番	共著の有無*	著 者 名	出 版 社		
		書 名	発 行 年	総ページ数	
①					

* 相手国研究代表者との共著がある場合は○、相手国研究代表者との共著であり論文内に事業名を明記している場合は◎と記入した上で、明記されている箇所（頁、巻頭、巻末等）を記入。

* 足りない場合は適宜行を追加して下さい。

1. この報告書は、最終年度を除く毎年度提出してください。
2. 本会の事業報告等に記載するための適当な写真がありましたら、説明を付して添付してください。
3. この報告書の1.～5. 及び8.～9. は、本共同研究の成果として本会ホームページに掲載するほか、報告書全てを閲覧用に公開します。また、この報告書を本会の事業報告として刊行する場合、内容に影響しない範囲で修正を行うことがあります。