

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28年度実施計画書

平成29年 1月 1日

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 <sup>(ふりがな)</sup> 教授・高濱 洋介

1. 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

2. 共同研究実施期間

平成29年1月1日 ～ 平成31年12月31日(3年0ヶ月)

(注) 本計画書は、受託機関を通して電子データにて提出してください。

## 5. 本年度実施計画の概要

- ※ 申請書の内容を踏まえて、日本語にて記入してください。
- ※ 経費との関連がわかるように具体的に記入してください。

胸腺は、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細胞を分化させるとともに、産生するT細胞の抗原認識特異性レパトア（レパートリー）が自己生体に有用でしかも寛容になるように選択する免疫器官である。T細胞の「レパトア選択」は、胸腺皮質上皮細胞による「正の選択」を介した有用レパトアの選別と、胸腺髄質上皮細胞と樹状細胞の連携による「負の選択」を介した有害レパトアの排除および「制御性T細胞の生成」による自己寛容導入を通して確立される。これら胸腺内T細胞レパトア選択の各プロセスに必須の役割を果たす皮質上皮細胞と髄質上皮細胞は、いずれも第三咽頭嚢の内胚葉上皮に由来し、転写因子 Foxn1 に依存して分化する。しかし、胸腺上皮細胞の分化機構のうち、皮質上皮細胞と髄質上皮細胞への分岐機構および系列決定後の維持機構については、これまで殆ど理解されていない。そこで本研究では、胸腺上皮細胞の皮質と髄質への分岐（皮髄分岐）と系列維持を担う転写制御とエピジェネティック機構に焦点を絞り、長年に亘って胸腺上皮細胞の分化と機能について共同研究を進めてきたスイス側研究者との緊密な共同研究を推進していくことによって解明を目指す。本共同研究の成果は、自己と非自己を識別し外来非自己のみを攻撃するという、私たち人類が地球上にて健康に生きていくために不可欠の免疫システムの根幹的性状の形成と維持の機構解明に貢献する。

本研究の具体的な研究計画は次の3点である。

**Specific Aim 1:** 独自の新手法により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を精製し、各細胞群で発現差違のある転写関連分子を対象に遺伝子欠損マウスでの胸腺の皮髄形成を系統的に解析することにより、皮髄分岐の鍵となる転写制御分子の発見をめざす。

**Specific Aim 2:** 胸腺プロテアソームの皮質上皮細胞特異的構成鎖  $\beta 5t$  遺伝子が転写因子 Foxn1 の直接ターゲットであるとの新知見をもとに、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解明を図る。

**Specific Aim 3:** 胸腺上皮細胞特異的に Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2) を欠損する遺伝子改変マウスでみられる髄質上皮細胞の成体期における維持異常と異常新生について解析を進め、髄質上皮細胞維持のエピジェネティック機構の解明に迫る。

以上の研究を進めることで、免疫システムの根幹的性状の形成と維持の機構解明に貢献する。将来的には難治性免疫疾患の病態解明と治療法開発に向けて貢献することが展望される。

平成28年度は、これら3点について、それぞれ研究に着手する。本年度の直接経費計上との関連で、具体的に次の通り研究を開始する。

まず、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を精製し、各細胞群で発現差違のある転写関連分子の抽出を推進し、抽出された候補分子について遺伝子欠損マウスでの胸腺皮髄形成の系統的解析を開始する。また、Foxn1 依存性の  $\beta 5t$  遺伝子発現解析を進める。これらの実験を行うためには、標識抗体や酵素など試薬経費に月額15万円、プラスチック器具等の実験器具経費に月額10万円、それに実験動物マウスの購入経費に月額10万円が必要であり、その合計として消耗品費は3ヶ月間で105万円必要になる。

旅費としては、研究代表者を含む日本側研究チームの3名が、来日する Hollander 博士と共同研究の情報共有と打合せを行うことを予定しているため国内旅費18万円が必要となる。また、研究代表者はバーゼル大学を訪問する予定があり外国旅費として49万2千円必要である。

謝金としては、本研究の遂行に必須の実験を実施するためのフルタイム実験補助者1名の雇用が必須であり、3ヶ月間で105万円（雇用関連諸経費を含む月額35万円）の計上が必要である。また、本研究を遂行するために必須のマウスの飼育には、学内共同マウス飼育室への経費支払いが必須であり、マウス飼育料として月額3万5千円、3ヶ月間で10万5千円必要である。

6. 本年度経費総額\* 3,900 千円

\* 研究経費（直接経費）と間接経費の合計を記入して下さい。

(単位：千円)

研究経費（直接経費）							間接経費
設備備品費	消耗品費	旅費等		人件費・謝金等	その他経費	外国旅費・人件費・謝金等に係る消費税*	
		国内旅費	外国旅費				
0	1,050	180	492	1,050	105	123	900

\* 外国旅費・人件費・謝金等に係る消費税を本経費から支出しない場合は、その理由等を「外国旅費・人件費・謝金等に係る消費税」欄に記入してください。

\* 委託費の上限は申請額に基づき、研究経費（直接経費）1,000万円以内/年（かつ3,000万円/全研究期間）に対し、30%の間接経費を加えた額とします（ただし平成28年度のみ）。

翌年度所要見込額	翌々年度所要見込額	3年度後所要見込額	左の欄は該当する場合のみ記入してください。 (単位：千円)
11,000	11,000	7,700	

\* 上の欄は該当する場合のみ記入してください。(単位：千円)

\* 委託費の上限は申請額に基づき、研究経費（直接経費）1,000万円以内/年（かつ3,000万円/全研究期間）に研究経費に対し10%以内の事務委託手数料を加えた額

研究計画全体必要額	2年度目以降の場合は、前年度までの執行済額も含めて記載してください。 (単位：千円)
33,600	

\* 研究計画全体必要額の上限は申請書記載の額とします。

7. 設備備品費、消耗品費、人件費・謝金等、その他経費

	細 目	金 額 (単位：千円)	積 算 内 訳
設 備 備 品 費			
	計	0	
消 耗 品 費	試薬	450	分子生物学実験用酵素、蛍光標識抗体、培養液等（月額 150 x 3ヶ月）
	実験用器具	300	プラスチックチューブ、チップ（月額 100 x 3ヶ月）
	マウス	300	（単価 1,500 x 10 匹 + 単価 8,500 x 10 匹 = 月額 100 x 3ヶ月）
	計	1,050	
人 件 費 ・ 謝 金 等	技術補佐員雇用	1,050	（月額 350 x 3ヶ月）
	計	1,050	
そ の 他 経 費	マウス飼育室使用経費	105	（月額 35 x 3ヶ月）
	計	105	

備考：

- ① 細目は設備備品費、消耗品費、人件費・謝金等、その他経費（「通信費（切手・電話等）」「運搬費」「印刷費」等（手引 8-8 参照）の別に記入してください。
- ② 設備備品費、消耗品費、人件費・謝金等、については、「積算内訳」の欄に品名または人物名、単価および数量を明記してください。

8. 交流計画

(a) 日本側参加者（代表者を含む）の国内出張計画

出張者 (氏名)	出発地 (都市名)	用務先 (都市名)	旅行期間*	用 務 (用務先・用務内容)	経費負担**
高濱洋介	徳島	東京	3月頃、2日間	学術集会出席・研究発表	有
大東いずみ	徳島	東京	3月頃、2日間	学術集会出席・研究発表	有
近藤健太	徳島	東京	3月頃、2日間	学術集会出席・研究発表	有

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」

\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

(b) 日本側参加者（代表者を含む）のスイスへの渡航計画

出張者 (氏名)	出発地	用務先 (都市名)	旅行期間*	用 務 (用務先・用務内容)	経費負担**
高濱洋介	徳島	スイス	2月頃、6日間	Basel 大学・共同研究打合せ	有

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」

\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

(c) 日本側参加者（代表者を含む）のスイス以外の国への渡航計画\*

出張者 (氏名)	出発地	用務先 (国名・都市 名)	旅行期間**	用 務 (用務先・用務内容)	経費負担***

\* 外国出張の渡航先は原則としてスイスのみとします。ただし、当該共同研究の研究成果発表を目的とする学会等への出席や、フィールドワーク等で当該第三国へ行くことが必須である研究上の理由がある場合に限り、スイス以外の国を訪問することが可能です。

\*\* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」

\*\*\* 本経費使用予定の有無を記入すること

(d) スイス側研究者の来日計画

出張者 (氏名)	用務先	旅行期間*	用 務 (用務先・用務内容)
Georg Hollander	京都	3月頃、7日間	学術集会出席、共同研究打合せ

\* 旅行期間の欄の記入例：「6月頃、10日間」