

令和4年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		T 前駆細胞由来樹状細胞サブセットに関する解析		
新規・継続の別		新規・継続		
研究代表者	所属	公益財団法人かずさ DNA 研究所 ゲノム事業推進部 遺伝子構造解析グループ	40 歳 以下○	35 歳 以下○
	職名・氏名	グループ長・長谷川嘉則		
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属			
	職名・氏名			
	所属			
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名	教授・清野研一郎		
概要 (100～150 字程度)		T 前駆細胞が樹状細胞を生成することは知られてはいた。しかし、T 細胞選択にかかわる胸腺内樹状細胞は漫然と循環モノサイト由来樹状細胞と考えられていた経緯や、cirDC と ptDC を区別する方法も存在しなかった経緯もあり、ptDC の役割に関する解析は全くなされてこなかった。清野教授らの作製した血液キメラマウスの胸腺細胞に対し 1 細胞解析技術を用いた解析を適用することで、ptDC の役割を明らかにできる可能性がある。		
研究目的 (300 字程度)		清野らは、T 細胞しか生成しないと長年に渡って考えられていた胸腺内 T 前駆細胞が胸腺内で抗原提示細胞 (APC) であるマクロファージ (Mφ) や樹状細胞 (DC) をも生成するという発見をしている (Wada et al, Nature 2008、未発表含む)。また、胸腺内に存在する Mφ や DC 等の APC は循環血液中に存在するものが胸腺内に流入し定着すると考えられていたが、胸腺内 Mφ、DC の約 30% が T 前駆細胞に由来することも明らかにした (未発表)。T 前駆細胞に由来する DC (ptDC) についてその由来から機能を推察すると、ptDC は胸腺内に入った後に DC に分化するので主として自己抗原を抗原提示し、自己寛容の獲得に寄与する可能性がある。しかし、ptDC の機能は全く解明されていない。 本研究では、ptDC を同定可能とする血液キメラマウスを作製し (作製済み)、胸腺内 DC のうち特に ptDC に着目した解析を実施し、ptDC が自己免疫寛容の構築に寄与するかを解析する。また ptDC 及び T 細胞/T 前駆細胞の 1 細胞 RNA 発現解析を行い、どのような分子機構で自己免疫寛容の構築を可能にしているかを解析する。		
研究内容・成果 (1000 字程度・Web 会議の回数)		胸腺における免疫寛容構築の機序として、T 細胞の負の選択、制御性 T 細胞の生成が挙げられる。申請者らはこれまでに T 前駆細胞		

も記載)	胞由来樹状細胞（ptDC）は負の選択に寄与していることを明らかにした。本研究では ptDC が制御性 T 細胞の生成を誘導し、免疫寛容構築に寄与するかを解析したい。 申請者は、ptDC は独特な分化経路を経て生成することから、cirDC とは異なり何らかの特有の機能・存在意義を有しているのではないかと着想した。 ptDC の特徴を明らかにする目的で single cell RNA sequence 解析を実施した。ptDC を循環血に由来する DC（cirDC）同定するため、以下のマウスモデルを考案・作製した。 B6 マウス（CD45.2 を発現、H-2b）をレシピエントとし、hCD3e Tg マウス(T 前駆細胞を欠損、CD45.2 を発現、H-2k)と CD45.1-B6 マウス（CD45.1 を発現するコンジェニックマウス、H-2b。骨髓移植の影響を考慮するため、レシピエントとは異なるマーカーをもつ B6 を利用）の骨髓を混合して移植した。 尚、hCD3e Tg マウス（MGI: J:101977）は T 細胞を胸腺に入る前の分化段階で欠損するという表現型をもつ。即ち、hCD3e Tg マウスの胸腺内 DC は全て循環血由来のもの（cirDC）であり、T 前駆細胞由来 DC（ptDC）は存在しない(T 前駆細胞を欠損するため)。尚、この三者の血液細胞は、CD45.1/CD45.2、H-2b/H-2k の発現で区別可能である。 骨髓移植後、定常状態となったところで、レシピエント胸腺から胸腺内 DC を回収し、Single cell RNA sequence 解析を実施した。この解析により、ptDC が同定された。 Web 会議は 1 回開催した。
成果	【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと 【新聞報道】