

研究区分：重点研究（ユニット研究）

胸腺髄質上皮前駆細胞の分化に関わる胸腺細胞因子と髄質上皮細胞の分化の解明

研究代表者：糸井マナミ【医学教育研究センター、免疫・微生物】

共同研究者：千葉章太【医学教育研究センター、免疫・微生物】

【目的】胸腺は T 細胞分化の場であり、胸腺上皮細胞は T 細胞分化に必要なシグナルを提供する。胸腺上皮細胞の機能に関わる分子背景については、近年、T 細胞初期分化に関わる DLL4, SCF, CCL25 や正の選択に関わる $\beta 5t$ 、組織特異的抗原に対する自己寛容形成に関わる Aire が同定されてきているが十分に明らかにされていない。また、胸腺皮質および髄質上皮細胞は共通の前駆細胞からそれぞれの系列へと分化するが、その詳細についても十分に解明されていない。胸腺上皮細胞の分化・成熟には胸腺内で分化する T 系細胞との相互作用が必要である。昨年までの学内研究助成研究において、我々は、胸腺内に T 系細胞が無いために胸腺形成に異常がある huCD3 ϵ -tg26 (eTg) マウスを用いた解析を行い、eTg マウス胸腺において、胸腺細胞因子非依存的に RANK 陽性髄質上皮前駆細胞が形成されること、髄質上皮前駆細胞の分化において LT β R シグナルと RANK シグナルは異なる機能分子発現を誘導することを明らかにした。また、eTg 胎仔胸腺では、髄質上皮前駆細胞が胸腺細胞シグナルを一切受けずに未分化な状態で維持されていることが示唆されている。そこで、本研究では、eTg マウス胎仔胸腺の器官培養系を用いて、LT β R および RANK シグナルの胸腺上皮細胞分化への作用をさらに詳細に検討することにより、上皮細胞分化とその調節機構の解明を試みた。

【結果と考察】これまでの我々の解析より、胸腺細胞の無い eTg マウスの胎生 14 日胎仔胸腺の器官培養系に TNFR ファミリーリガンドの RANKL または LT β R 刺激型抗体の添加により髄質上皮細胞の異なる分化が誘導されることが示唆されている。そこで、RANKL または LT β R 抗体に反応する上皮前駆細胞の胸腺内分布領域を特定するために、BrdU 取り込みを指標として増殖細胞を検出した。その結果、RANKL および LT β R 抗体添加群の両群で、皮質および髄質上皮細胞マーカーの発現境界領域で細胞増殖の増加が見られた。さらに、LT β R 刺激抗体の添加群では皮質上皮細胞マーカー発現領域での細胞増殖にも増加が見られた。このことより、RANK および LT β R シグナルによって増殖する髄質上皮前駆細胞が皮質・髄質境界領域に存在すること、さらに、LT β R シグナルは皮質上皮細胞の分化・増殖にも関わる可能性が考えられた。そこで、eTg マウスの胎仔胸腺の器官培養を用いて RANKL および LT β R 抗体添加による胸腺皮質および髄質上皮細胞の機能分子発現への作用を定量的 PCR により比較検討した (図 1)。昨年の報告の通り、RANKL を添加した場合、Aire の発現誘導と RANK の発現増強が見られ、CCL19 や CCL21 の発現は影響されなかった。LT β R 刺激型抗体の添加では、RANK および CCL19 の発現増加が認

められた。RANKL および LT β R 抗体の同時添加で、Aire、RANK および CCL19 は相加的な発現増強が見られ、CCL21 の発現増強は相乗的であった。さらに、LT β R 抗体の添加群では、胸腺皮質上皮細胞の機能分子である CathepsinL、Prss16、 $\beta 5t$ 、DLL4、IL7、CCL25 および CXCL12 の発現が増強された。この発現増強作用は RANKL の同時添加で抑制された。このことから、LT β R シグナルは髄質上皮細胞だけでなく皮質上皮細胞の分化・増殖にも関わることを示唆された。LT β R の胸腺内の発現分布を免疫組織化学にて検討したところ、LT β R は胸腺の keratin8 陽性の皮質上皮細胞にも広く発現していることが確認された (図 2)。これらのことより、TNF スーパーファミリー受容体である LT β R および RANK シグナルが胸腺皮質・髄質共通前駆細胞からの系列分化の過程に関わることを示唆された。

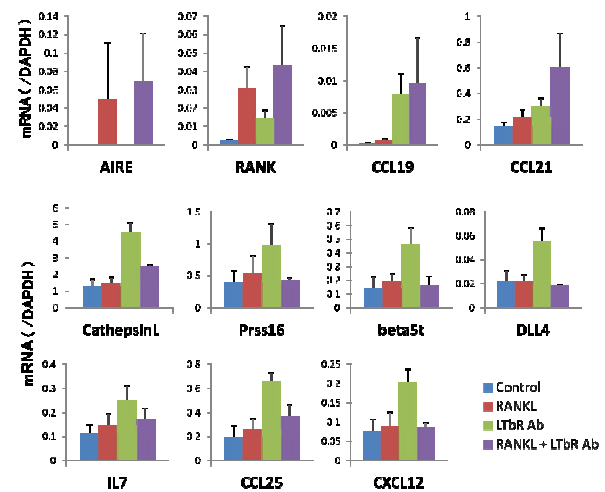
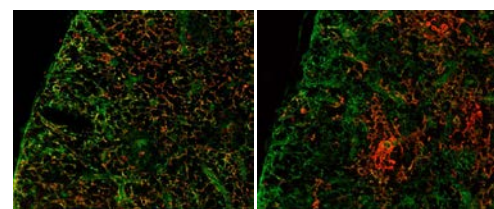


図 1. 器官培養系における胸腺上皮細胞機能分子発現

図 2. LT β R の胸腺内発現

【論文及び学会発表】

・Itoi M, Chiba S and Amagai T.: Generation of RANK positive thymic medullary epithelial progenitors does not require interaction with developing thymocytes. The 6th International Workshop of Kyoto T Cell Conference 2013. 6:48. 2013. Kyoto. (2013.6.3-7)