

令和元年度 学内研究助成 成果報告

研究区分：若手研究

「Foxn1 により調節される胸腺上皮細胞の分化及び機能に重要な分子の解析」

千葉 章太【医学教育研究センター・免疫微生物】

[背景と目的]

1次リンパ器官である胸腺は、T細胞分化の場であり、生体防御系において中心的な役割を果たす器官である。胸腺微小環境を構築するストローマ細胞の主な構成成分は上皮細胞である。胸腺上皮細胞は、T細胞分化に必要な機能分子を発現し、胸腺細胞に分化シグナルを提供している。Foxn1は、胸腺上皮細胞に発現し、胸腺上皮細胞の分化に必須の役割を果たす転写因子である。本研究室では、これまでに胸腺上皮細胞の初期分化段階における機能分子発現と増殖に Foxn1 が重要であることを示した。しかし、胸腺上皮細胞の分化、増殖や機能分子の発現調節における Foxn1 の役割は、一部しか解っていない。また、胸腺上皮細胞において Foxn1 の標的遺伝子や、Foxn1 による発現調節メカニズムは、まったく解っていない。そこで本研究では、まず、胸腺上皮細胞の初期分化段階における Foxn1 の標的遺伝子を明らかにすることを旨とする。

[方法と結果]

これまでに、胎生12日目の正常マウスおよびヌードマウスの胸腺原基から抽出した total RNA をもとに合成した cDNA をサンプルとして、DNA マイクロアレイによる解析を行った。その解析結果から Foxn1 により直接調節を受ける候補遺伝子を選抜した。さらに、定量的 PCR による確認を行い、6つの遺伝子がマイクロアレイの結果と同様にヌードマウス胸腺原基において発現量の減少が認められた(図1)。また、*in situ* ハイブリダイゼーションの結果、geneC および geneE は、胎生14日目の正常型マウスにおいて、アンチセンスプローブを用いたサンプルに濃い染色が見られ、胸腺において発現しているようにみられた(図2、右・矢印)。

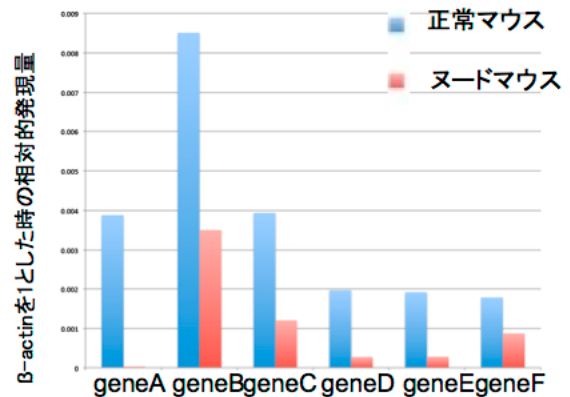
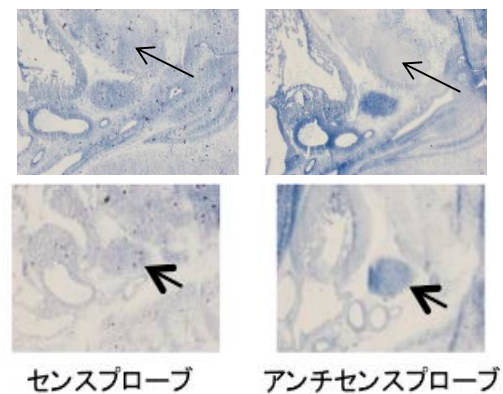


図1 定量的 PCR による候補遺伝子の発現量の比較

図2 *in situ* ハイブリダイゼーションの結果。

矢印は胸腺を示す。

免疫組織染色法による候補遺伝子の解析

そこで、各候補遺伝子に対するタンパク質分子を認識する特異的抗体を用いて、免疫組織染色を行い、正常マウスにおける胸腺原基および胸腺内での発現の有無を確認した。

その結果、geneE から翻訳されるタンパク質分子は、正常マウスにおいて、Ed12 の胸腺原基および、Ed14 の胸腺において発現していることが確認された(図3)。

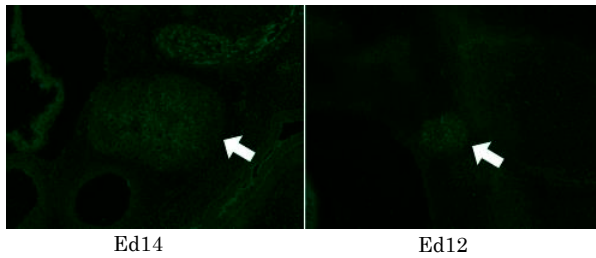


図3) 免疫組織染色の結果

野生型マウスの胎生 14 日目の胸腺および胎生 12 日目の胸腺原基において、geneE がコードするタンパク質の発現が確認された (矢印)。

[考察]

DNA マイクロアレイのデータから選抜した *Foxn1* 標的候補遺伝子のうち、胎生 12 日目のヌードマウス胸腺原基で発現量が減少していた遺伝子についてそれらをコードしているタンパク質に対する特異的抗体を用いて免疫組織染色による解析を行なった結果、geneE がコードしているタンパク質分子は、野生型マウスにおいて胎生 12 日目の胸腺原基および、胎生 14 日目の胸腺において発現していることを確認した。今後は、胎生 12 日目のヌードマウス胸腺原基での発現の有無を確認する。また、これらの発現が胸腺上皮細胞での発現であるかどうかの確認も行う。