

課題名(タイトル): 胸腺構成細胞の遺伝子発現解析

利用者氏名: ○秋山 泰身(1)、関 崇生(1)、宮尾 貴久(1)、宮内 真紀(1)、秋山 伸子(2)

理研における所属研究室名:

(1) 生命医科学研究センター 免疫恒常性研究チーム

(2) 生命医科学研究センター 疾患遺伝研究チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

リンパ組織の一つである胸腺は、免疫応答に重要な T リンパ球(T細胞)を産生する組織である。胸腺でT細胞が産生する際、自己の組織に应答する T 細胞が、一定頻度で生じるが、それらの多くは胸腺内で除去される。この機構が不全になると、自己免疫疾患の発症原因になることが知られている。

この自己免疫疾患の発症抑制機構に、胸腺の上皮系細胞(胸腺上皮細胞)が重要であることが知られている。胸腺上皮細胞は、胸腺内での局在により、髄質上皮細胞と皮質上皮細胞に大きく分類されるが、髄質上皮細胞は、皮質上皮細胞に比べて、さらに高いヘテロジェナイティを持つと考えられている。すなわち、髄質上皮細胞は1種類の細胞の集団ではなく、異なる遺伝子発現プロファイルを持つ複数の細胞の集団である可能性が高い。

研究代表者らは、髄質上皮細胞の高いヘテロジェナイティは、胸腺上皮細胞が自己免疫疾患の発症を抑制する上で、重要であるとの仮説を立てた。しかしながら、実際にどの程度のヘテロジェナイティを持つのか、いまだに不明な部分が多く、その決定が必要と考えた。

本研究は、胸腺上皮細胞のヘテロジェナイティを調べるために、1細胞ごとに遺伝子発現のプロファイルを決定的にすることを目的としている。

2. 具体的な利用内容、計算方法

野生型マウス由来の胸腺上皮細胞を、10x Chromium システムにより1細胞ごとに分離し、次世代シーケンズ解析して得たリードを、FASTQ 形式ファイルとして HOKUSAI のフロントエンドサーバーに移動させた。また 10 x Genomics 社の解析ソフト Cell Ranger 2.2.0 Gene Expression をダウンロード後、HOKUSAI のフロントエンドサーバーにインストールした。超並列演算システムあるいは大容量演算システムを利用して、Cell Ranger 2.2.0 を実行し、上記 FASTQ ファイル形式の遺伝子リードを、マウスゲノム配列 mm10 にマッピングした。続いて遺伝子リードに含まれるバーコード情報を用いて、細胞ごとの遺伝子発現プロファイルと遺伝子発現量を決定した。次に Cell Ranger を実行後に得られ

たファイルを解析し、細胞のクラスターを決定した。

3. 結果

最初に Cell Ranger 2.2.0 を HOKUSAI で実行可能か検討した。その結果、HOKUSAI で実行することにより、迅速に解析を行うことができた。また、その解析結果は、他のコンピューターを用いて行なったものと全く同じであった。ついで、他の胸腺上皮細胞のサンプルについて、同じ方法で解析を行なった。その結果、胸腺上皮細胞は、遺伝子発現により 10 以上のクラスターに分類可能であることが判明した。

4. まとめ

これまで胸腺上皮細胞は、主に 4 つの細胞集団に分類されると考えられていたが、本研究により、さらに多くの集団に分類されることが証明された。また HOKUSAI により同時実行することで、短時間に多くのサンプルを解析可能となった。

5. 今後の計画・展望

今後は、様々な遺伝子欠損マウスの胸腺上皮細胞について、平成 30 年度と同様な解析を行い、各々の細胞クラスターに及ぼす影響を検証する。一方で、遺伝子の欠損が細胞クラスターに与える影響と、欠損マウスで起きる自己免疫の有無から、胸腺上皮細胞の高いヘテロジェナイティが自己免疫疾患の発症抑制に重要であるのか、検討を行う予定である。

また、胸腺上皮細胞以外の細胞についても、同様な解析によりヘテロジェナイティを決定することで、1つの組織を構成する細胞の多様性と生命現象の関連について知見が得られると予想している。

6. 利用がなかった場合の理由

該当しない。