

プロジェクト名(タイトル):

胸腺上皮細胞のシングルセル解析

利用者氏名:

○秋山 泰身

理研における所属研究室名:

生命医科学研究センター 免疫恒常性研究チーム

1. 本プロジェクトの研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

胸腺髄質上皮細胞 (mTEC) は、胸腺における T 細胞自己寛容の誘導に必須である。mTEC は数千の組織特異的抗原 (TSA) を異所性に発現し、この発現は転写因子 AIRE によって制御されている。TSA は直接または間接的に発達中の T 細胞に提示され、TSA を高い親和性で認識した T 細胞はアポトーシスまたは制御性 T 細胞に変化し、結果として自己免疫疾患の発症を抑制する。これまでの研究により、胎児期の胸腺器官形成過程における mTEC の分化の過程とそのメカニズムが示唆されてきた。さらに、いくつかの先行研究では、成体胸腺における mTEC のターンオーバーは恒常的であり、その期間はおよそ 2 週間であると報告された。しかしながら、成体において mTEC の維持を行うための細胞メカニズムは不明であった。本課題はシングルセル遺伝子発現解析とクロマチン構造解析を利用して、その機構を解明することを目的とした。

2. 具体的な利用内容、計算方法

シングルセル RNA シークエンス解析 (scRNA-seq) およびシングルセル ATAC (Assay for Transposase-Accessible Chromatin Sequencing) シークエンス解析 (scATAC-seq) のために、10x 社の Cell ranger をインストールし、それらを用いて次世代シークエンスのデータ解析を行った。

3. 結果

TEC の不均一性と分化動態を明らかにするために、マウス TEC の液滴ベースの scRNA-seq と scATAC-seq を実施した。HOKUSAI にインストールした Cell ranger および Cell ranger ATAC により、シークエンスデータをマウスゲノム DNA へのマッピングし、細胞バーコードを利用して、1 細胞ごとに遺伝子発現およびクロマチンオープン領域を決定した。データの統合的解析により、Aire+ mTEC は、異なる遺伝子発現プロファイルとクロマチンアクセス性を有する少なくとも 2 つのクラ

スターに分離していることが示された。これらの Aire+ mTEC クラスターの 1 つは、細胞周期関連遺伝子の高発現を示し、一過性の増殖する細胞クラスターの存在が示唆された。

これらの細胞を細胞周期を目安にマウス胸腺から分取、単離し、AIRE を発現する mTEC に分化することを、胸腺再構成実験により確かめた。

4. まとめ

scRNA-seq と scATAC-seq の統合的解析により、Aire と共刺激分子 CD80 を高発現し (Aire+CD80hi)、特徴的なクロマチン構造を有する増殖性 mTECs の存在が示された。さらに、これらを単離して解析することで、増殖性 Aire+CD80hi mTEC は、Aire 依存性 TSA をほとんど発現せず、増殖した後に TSA を高く発現する細胞周期休止型の Aire+CD80hi mTEC に変換することが判明した。以上の結果から、生後胸腺の Aire+mTEC 分化過程における一過性増殖型の Aire+mTEC 前駆体の存在を証明した。

5. 今後の計画・展望

成体における mTEC の恒常性異常は、胸腺腫、自己免疫、その他の疾患を引き起こす可能性がある。本課題は、一過性増殖型の Aire+mTEC 前駆体の存在を実証したが、増殖性の前駆細胞を供給する幹細胞の同定が今後の課題となる。それらを含めて、TEC の分化と維持の分子メカニズムをさらに解明することは、これらの胸腺関連疾患に対する新しい治療法の開発に有用な知見をもたらすと予想している。

2022年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

Title: Integrative analysis of scRNA-seq and scATAC-seq revealed transit-amplifying thymic epithelial cells expressing autoimmune regulator.

Authors: Miyao T, Miyauchi M, Kelly ST, Terooatea TW, Ishikawa T, Oh E, Hirai S, Horie K, Takakura Y, Ohki H, Hayama M, Maruyama Y, Seki T, Ishii H, Yabukami H, Yoshida M, Inoue A, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Muratani M, Minoda A, Akiyama N, Akiyama T.

Elife. 2022 May 17;11:e73998. doi: 10.7554/eLife.73998.

【会議の予稿集】

なし

【口頭発表】

なし

【ポスター発表】

なし

【その他(著書、プレスリリースなど)】

なし