

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

がん治療では、化学療法や放射線照射などの細胞還元療法が頻繁に用いられる。放射線照射は胸腺の急性退縮を引き起こすことが知られている。放射線による胸腺の退縮は、主に CD4+CD8+未熟 T 細胞を中心とする胸腺細胞の激しい急性減少に起因する。胸腺細胞に加え、胸腺 T 細胞の分化や選別に重要な胸腺上皮細胞も照射の影響を受ける。この胸腺機能低下の後、胸腺細胞も TEC も恒常的に回復することが知られている。胸腺上皮細胞の放射線からの回復、及びその結果としての胸腺器官の回復に関する研究がいくつか報告されている。一方、シングルセル RNA シーケンス解析 (scRNA-seq) を用いた最近の研究から、ヒトおよびマウスにおいて TEC の高度な不均一性が明らかになった。しかしながら、胸腺上皮細胞の不均一性と個々の表現型に対する放射線の影響は完全には明らかにされていない。そこで本研究では、半致死量の放射線を全身に照射したマウス胸腺について、胸腺上皮細胞の scRNA-seq 解析を行った。

2. 具体的な利用内容、計算方法

3匹のマウスから定常状態の胸腺または照射後の胸腺の細胞懸濁液を調製してプールした。細胞懸濁液を Chromium 装置 (10× Genomics) にロードし、シングルセルエマルジョンを作成した。シングルセル RNA シーケンスライブラリーは、Chromium Single-Cell 3' Reagent Kit v3 Chemistry を用いて調製し、ライブラリーのペアエンドシーケンスは Illumina HiSeq2000 で行った。出力された FASTQ ファイルは Fastp パッケージで処理され、デマルチプレックスされ、Cell Ranger v5.0.1 で mm10 参照ゲノムにアライメントされた。Fastp と Cell Ranger パッケージを HOKUSAI スーパーコンピューター上で行った。

3. 結果

計算は円滑に行われ、シングルセル遺伝子発現データ解析の結果(図)、照射 15 日後に胸腺髄質上皮細胞の「遺伝子発現に重要な制御因子である AIRE を発現する胸腺髄

質上皮細胞の頻度が減少することが示された。対照的に、AIRE 発現胸腺髄質上皮細胞の前駆細胞である Transit amplifying 胸腺上皮細胞 (TA-mTEC) と、ケモカイン Ccl21a を発現 mTEC はあまり影響を受けなかった。scRNA-seq データの擬似時間解析と BrdU 崩壊速度論的解析は、Aire+胸腺髄質上皮細胞の寿命は影響を受けないが、その分化は照射により遅延する可能性を示唆した。さらに、scRNA-seq から、TSA 発現レベルの低下に加え、Ccl25 と TSA を高発現する胸腺髄質上皮細胞サブセットの選択的減少が示唆された。

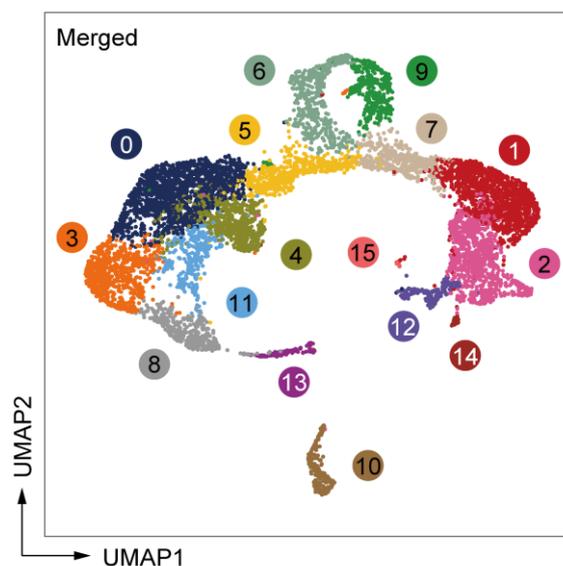


図. 胸腺上皮細胞のシングルセル解析結果を UMAP 次元で示した。

4. まとめ

本研究は、放射線照射が mTECs の性質および不均一性に影響を及ぼすことを示唆しており、その結果、胸腺の自己寛容機構が破壊され、自己免疫疾患のリスクが高まる可能性がある。

5. 今後の計画・展望

今後は、上記の仮説をさらに検証することで、放射線照射やその他の胸腺障害による自己免疫疾患の発症リスク増大の根底にある新たなメカニズムの発見が期待できる。

2023 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

Acute irradiation causes a long-term disturbance in the heterogeneity and gene expression profile of medullary thymic epithelial cells

Kenta Horie, Kano Namiki, Kyouhei Kinoshita, Maki Miyauchi, Tatsuya Ishikawa, Mio Hayama, Yuya Maruyama, Naho Hagiwara, Takahisa Miyao, Shigeo Murata, Tetsuya J Kobayashi, Nobuko Akiyama, and Taishin Akiyama

Frontiers in Immunology, in press <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1186154>

【会議の予稿集】。

【口頭発表】

【ポスター発表】

【その他(著書、プレスリリースなど)】