

## 山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関 山梨大学 大学院総合研究部 解剖学講座細胞生物学教室

---

職名・氏名 久富 理 ④

---

## 1 研究テーマ

一次繊毛を介した胸腺器官形成と T 細胞分化メカニズムの解明

## 2 研究の目的

胸腺は、ヘルパーT細胞 (CD4 陽性) や細胞障害性 T 細胞 (CD8 陽性) など、細胞性免疫に働く T 細胞の分化が行われる唯一の器官であるが、その組織形成メカニズムには未だ不明な点が多い。一方、一次繊毛は、多様な細胞間情報を受容するアンテナとして働く毛状の細胞小器官であり、これまでに発生や生理機能に重要な役割を担うことが明らかになってきているが、免疫機能における役割については未だ不明である。

そこで本研究では、胸腺の器官形成、および T 細胞の分化における一次繊毛の役割を明らかにすることを目的として、胸腺組織の主成分である胸腺上皮細胞の一次繊毛を特異的に欠損させたマウスを用いて、マウス表現型、胸腺の組織構築、T 細胞分化について解析した。

## 3 研究の方法

胸腺上皮細胞の一次繊毛の形成を特異的に欠損させるため、一次繊毛の形成に必須な遺伝子 *Ift88* に *flox* を挿入した遺伝子改変マウス (*Ift88-flox*) と、胸腺の器官形成に重要な転写因子 *Foxn1* プロモーターで組換え酵素 *Cre* を駆動するトランスジェニックマウス

(*Foxn1-Cre*) とを交配させて、胸腺上皮細胞の *Ift88* が特異的に欠損するコンディショナルノックアウトマウス (以下 *Ift88-cKO* マウス) を作製した。*Ift88-cKO* マウスの胸腺組織において、一次繊毛の欠損を確認した後、マウス/胸腺の外観、フローサイトメトリーを用いた T 細胞分化、胸腺組織における T 細胞分化や細胞間シグナル伝達に関わる特定分子の局在について調べた。

## 4 研究の成果

### ① *Ift88-cKO* マウスにおける胸腺上皮細胞の一次繊毛の欠損の確認：

上記の方法によって作製した *Ift88* コンディショナルノックアウトマウス (以下 *Ift88-cKO* マウス) は、胸腺組織において *Ift88* の発現がほとんど認められず、また、一次繊毛がノックアウトしていないマウス (以下 *control*) と比べて有意に減少していることがわかった。したがって、*Ift88-cKO* マウスは胸腺上皮細胞の一次繊毛が欠損していることが確認できた。

## 留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

② Ift88-cKO マウスにおける胸腺の外観と T 細胞分化の異常の解析：

新生児マウスと生後 3 週齢における胸腺の外観を観察したところ、特に大きな異常は見られなかった。また、胸腺内の T 細胞の分化について、CD4・CD8 の両方を発現しない「ダブルネガティブ (以下 DN)」、両方発現する「ダブルポジティブ (以下 DP)」、CD4 あるいは CD8 の片方を発現する「シングルポジティブ (以下、CD4-SP/CD8-SP)」の 4 つのステージの分化の割合、頻度を解析したところ、各分化のステージの割合、細胞数において、いずれも有意な増加・減少は見られなかった。

③ Ift88-cKO マウスにおける胸腺上皮細胞と T 細胞との接触面の構造解析：

これまでに、研究代表者は、胸腺の髄質において、胸腺上皮細胞と未分化 T 細胞との接触面に形成されるリング構造「胸腺シナプス」を発見している。そこで、Ift88-cKO マウスにおける胸腺シナプスの形態解析を行ったところ、Ift88-cKO マウスでは、リング構造が不完全になる形態の頻度が control と比べて増加していた。また、免疫シナプスの形成には中心体の局在も重要であることが知られている。そこで、胸腺シナプスにおける中心体の局在について調べたところ、Ift88-cKO マウスでは、胸腺シナプス上の中心体の局在が有意に減少していた。

## 5 今後の展望

現在までのところ、胸腺上皮細胞の一次繊毛の欠損は、胸腺の組織形成や胸腺内の T 細胞分化に明らかな影響は見られなかったが、胸腺髄質で見られる胸腺シナプスの形成異常を引き起こすことが示された。このことは、一次繊毛が胸腺髄質における T 細胞の自己寛容の獲得など制御する可能性を示している。これらの点について更に理解を深めるため、以下の 2 点に着目して、免疫機能における一次繊毛の役割について追求していく。

- ① 胸腺髄質における T 細胞の分化過程に、一次繊毛が関与するか否かを検証する。具体的には胸腺髄質における CD4-SP (ヘルパー T 細胞) から末梢において免疫応答の主力となるエフェクター T 細胞や、免疫応答を抑制する働きを担う制御性 T 細胞への分化と一次繊毛の関係を解析する。Ift88-cKO マウスと control マウスとの免疫機能比較を行い、分化異常の有無に着目する。
- ② 免疫自己寛容が破綻すると、末梢の各器官にリンパ球が浸潤し、自己免疫性疾患を引き起こすことが知られている。そこで Ift88-cKO マウスにおいて、肺や関節、腺組織、粘膜、皮膚などにおいて、リンパ球の浸潤が見られるか否かを、まずは組織学的手法を用いて調べる。

## 6 研究成果の発信方法 (予定を含む)

本研究の成果は次頁の学会、研究会で発表を行った。また、論文発表に向けて現在投稿準備中である。

### 留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

1. 久富 理, 穂積 勝人, 野中 茂紀, 竹田 扇  
「胸腺上皮細胞の一次繊毛と免疫機能」(口頭発表)  
第10回繊毛研究会(東京農工大学), 2019. 11. 25, 26.
2. 久富 理  
「胸腺の機能における一次繊毛の役割」(ポスター発表)  
第2回日本医学会連合 Rising Star リトリート(淡路夢舞台), 2020. 3. 1, 2.  
※開催延期(代替日未定)
3. 久富 理, 穂積 勝人, 野中 茂紀, 竹田 扇  
「胸腺上皮細胞の一次繊毛が担う免疫機能の役割」(ポスター発表)  
第125回日本解剖学会(山口, 宇部市), 2020. 3. 25-27.  
※開催中止(誌上開催)

#### 留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。