

# 免疫細胞の分化過程を分子レベルで解明するための データ基盤を構築

～プロテオゲノミクスによる大規模データ基盤を整備～

令和5年2月3日

公益財団法人 かずさDNA研究所

かずさDNA研究所は、mRNAとタンパク質の大規模解析を同時に行うことによって（プロテオゲノミクス）、免疫細胞の分化過程を分子レベルで解明するためのデータ基盤を構築しました。

免疫には、「自然免疫」と「獲得免疫」の2種類があります。外界からの異物に対して、まずはマクロファージなどの自然免疫系が働き、その後、リンパ球のT細胞やB細胞が関与する獲得免疫系が働きます。このうち、CD4<sup>+</sup>T細胞と呼ばれるT細胞には複数の種類（サブセット）が存在し、抗ウイルス反応やアレルギー応答、自己免疫疾患などに重要な働きをしています。このようなサブセットの分化には多くの因子が関与しており、新たな因子を見つけるための研究が国内外で精力的に進められています。

かずさDNA研究所では、これまで別々に行われてきたmRNAとタンパク質を同時に分析することによって（プロテオゲノミクス）、CD4<sup>+</sup>T細胞が分化する過程で現れる10,000種以上のmRNA、8,000種以上のタンパク質を検出しました。そして、これをもとに免疫細胞が分化する過程で働く多種多様なmRNAやタンパク質を評価するためのデータ基盤（免疫ゲノミクス基盤）を構築しました。今後、この免疫ゲノミクス基盤が、創薬や治療法開発に必要な重要な情報を提供することが期待されます。

研究成果は国際学術雑誌DNA Researchにおいて、1月30日にオンライン公開されました。

**論文タイトル** : Characterization of proteogenomic signatures of differentiation of CD4<sup>+</sup> T cell subsets

**著者** : Toshio Kanno, Ryo Konno, Keisuke Miyako, Takahiro Nakajima, Satoru Yokoyama, Shigemi Sasamoto, Hikari K. Asou, Junichiro Ohzeki, Yusuke Kawashima, Yoshinori Hasegawa, Osamu Ohara and Yusuke Endo

**掲載誌** : DNA Research

**DOI**: <https://doi.org/10.1093/dnares/dsac054>

## 1. 背景

---

CD4<sup>+</sup>T 細胞は、獲得免疫応答<sup>\*1</sup>の中樞を担う司令塔としてはたらき、様々な活性化 T 細胞サブセット (Th1、Th2、Th17、制御性 T 細胞=iTreg) へと分化することで、抗ウイルス反応やアレルギー応答、自己免疫疾患などの病態形成・制御に関与します。CD4<sup>+</sup>T 細胞は、外来性の異物を認識する TCR 受容体<sup>\*2</sup>により活性化し、また環境中に存在するサイトカイン<sup>\*3</sup>の種類により、どのようなタイプの活性化 T 細胞サブセットへと分化するかが決まります。

これまでの免疫学研究により、活性化 T 細胞サブセットへの分化に不可欠なサイトカインや転写因子群が同定され、病態の形成における活性化 T 細胞サブセットの重要性が明らかになってきました。これら特定のサイトカインや転写因子群に着目した研究が数多く行われる一方で、CD4<sup>+</sup>T 細胞の活性化により mRNA<sup>\*4</sup>/タンパク質の発現がどのように変化するかについては不明なままでした。

そこで、活性化 T 細胞サブセットの分化・誘導に関与する TCR 受容体やサイトカイン刺激が、mRNA /タンパク質の発現へ与える影響を網羅的に解析しました。

## 2. 研究成果の概要

---

- ① 活性化 T 細胞サブセットでの mRNA /タンパク質の変化、すなわち、プロテオゲノミクス<sup>\*5</sup>の変化を評価するために、次世代シーケンサー<sup>\*6</sup>および精密質量分析器<sup>\*7</sup>による高深度マルチオミクス解析<sup>\*8</sup>を行いました。TCR 受容体の活性化や様々な組み合わせのサイトカイン刺激により、静止期にあるナイーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞を活性化 T 細胞サブセットに分化させ、mRNA/タンパク質の発現変動を解析しました (図 1)。
- ② これまでの解析では、分析深度を上げるためにサンプルの分割や分画化を行っていましたが、計測法の継続的な改良により、分画なしのサンプルから高深度の mRNA /タンパク質の発現解析を行うことに成功し、大規模なデータを取得することができました (mRNA : 10,000 以上、タンパク質 : 8,000 以上)。また、サンプルの分割や分画化の作業を省略したことにより、サンプル調製によって生じる偏りがなくなり、細胞内の状態をより正確に反映したデータを得ることができました。今後、同様の手法で得られた定量データについても (偏りがなく) 相互の比較検討が可能になり、貴重な免疫ゲノミクスの基盤として活用できます。
- ③ 詳細な解析により、ナイーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞が活性化 T 細胞サブセットへ分化する際に

は、サイトカインよりも TCR 受容体の影響が大きく、およそ半数の mRNA とタンパク質の発現が TCR 受容体の刺激により変化することがわかりました。また、同じ遺伝子由来の mRNA とタンパク質の発現は、必ずしも同じように変化するわけではなく、むしろ低い相関関係にありました。このことは、mRNA/タンパク質を同時に解析するプロテオゲノミクス解析でなければ、正確に細胞内の環境を理解できないことを示しています。

- ④ 抗ウイルス反応やアレルギー応答に関与する Th1 細胞、Th2 細胞は、類似したプロテオゲノミクスプロファイルを持っていることがわかりました。一方で、自己免疫疾患の形成に関与する Th17 細胞と制御性 T 細胞は、ユニークな mRNA/タンパク質発現プロファイルを示しました。
- ⑤ 得られたプロテオゲノミクスデータセットはデータベースにて公開しています（下記 URL）。このデータベースは、活性化 T 細胞サブセットの分化誘導を担う分子メカニズムを理解し、創薬や疾患発症機構を解析するための、ユニークで不可欠なリソースとなります。

RNA : <https://0-www-ncbi-nlm-nih-gov.brum.beds.ac.uk/geo/query/acc.cgi?acc=GSE210222>

タンパク質 : <https://repository.jpostdb.org/entry/JPST001817>

### 3. 将来の波及効果

---

これまで CD4<sup>+</sup>T 細胞依存的な免疫応答の研究は、活性化 T 細胞サブセットへの分化に不可欠なサイトカインや転写因子が発見されることで発展してきました。このデータセットは、既存の分子やその関連分子の枠組みを超えて、これまで着目されていなかった T 細胞分化の制御分子の発見に繋がると期待されます。

本研究は、日本学術振興会の新学術領域研究（研究領域提案型）：18H04665、基盤研究 B：20H03455、挑戦的研究（萌芽）：20K21618、研究活動スタート支援：21K20766、若手研究：21K15476、22K15502 の助成を受けて実施しました。

## 用語解説

---

- \*1 獲得免疫応答：有害な病原体から生体を防護するために、生体には自然免疫応答と獲得免疫応答の2つのシステムが備わっている。自然免疫応答は、侵入後数時間で活性化され、抗ウイルス性 I 型インターフェロンの産生や侵入した異物の貪食（どんしょく）を行う。獲得免疫応答は、活性化に数日かかるが、特定の病原体を認識することでより強力に病原体の排除を行う。また一度体内に侵入した病原体を記憶することで、二度目以降に同じ病原体へ感染した際に、より迅速に病原体の排除を行うことができる。
- \*2 TCR 受容体：獲得免疫応答（上記）にある、特定の病原体を認識して活性化するのに必要な T 細胞に発現するタンパク質。自然界に存在する多種多様な病原性の抗原を認識できるよう、理論上は、 $10^{18}$ （=100 京/けい）種類もの TCR 受容体が存在しうる。
- \*3 サイトカイン：細胞の増殖や分化、活性化など様々な細胞間情報の伝達に作用する液性のタンパク質。
- \*4 mRNA：タンパク質の設計図である DNA に保持されている情報が mRNA へとコピーされ、その後 mRNA の情報をもとにタンパク質が合成される。
- \*5 プロテオゲノミクス：細胞などの試料中に存在する情報を網羅的に解析する手法を「オミックス解析」と呼ぶ。オミックス解析には、タンパク質の情報に関するプロテオミクス解析、遺伝子の情報に関するゲノミクス解析やトランスクリプトミクス解析、脂質や糖、アミノ酸などの情報に関するメタボロミクス解析がある。これらの手法のうち、タンパク質と遺伝子の情報を組み合わせた解析をプロテオゲノミクス解析と呼ぶ。
- \*6 次世代シーケンサー：この十数年の間に急速に広まった、生物の設計図となる DNA 配列を高速で読み出す装置。DNA 配列を読み出す能力が従来の装置よりも桁違いに多いため、解析に要する時間やコストを大幅に短縮することができる。
- \*7 質量分析器：タンパク質を構成する分子の重さの違いにより、試料中に存在するタンパク質の定性・定量的な解析を行う装置。
- \*8 マルチオミックス解析：\*5 に示した「オミックス解析」に関して、複数の手法を組み合わせた解析を総称して「マルチオミックス解析」と呼ぶ。

参考となる図や写真

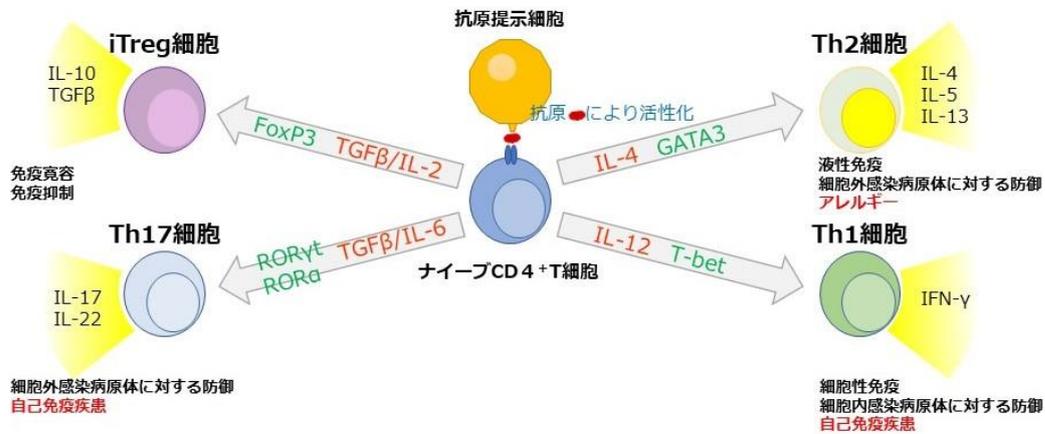


図1：T細胞の分化と免疫応答・疾患

ナイーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞は、抗原提示細胞が提示する抗原によって活性化され、周囲の環境中にあるサイトカイン (IL-2/IL-4 など) や転写因子 (GATA3/T-bet など) 他の影響によりさまざまな種類のヘルパーT細胞 (Th1/Th2/Th17/iTreg=制御性T細胞) へと分化する。

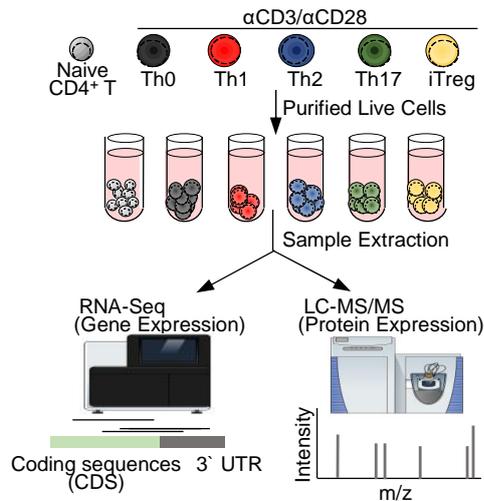


図2：活性化T細胞サブセットのマルチオミクス解析  
ナイーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞と活性化T細胞サブセットを次世代シーケンサーおよび精密質量分析器で解析することにより、mRNA/タンパク質の網羅的な発現解析を行った。Th0 細胞は比較用のコントロール。