

胸腺上皮細胞の動態： 胎生期での発生，成体での維持，加齢に伴う退縮

藤森さゆ美 大東いずみ

胸腺上皮細胞は、非自己に応答し、自己に寛容な T 細胞レパトア形成をにやう胸腺微小環境を構築する主要な細胞である。胸腺上皮細胞は、それぞれ皮質と髄質の微小環境を構成する胸腺皮質上皮細胞と胸腺髄質上皮細胞に分類され、これらの上皮細胞は、胎生期に、内胚葉由来の上皮共通前駆細胞から分化する。近年、胸腺上皮細胞の分化と維持、および、胸腺退縮における胸腺上皮細胞の変化について、そのメカニズムが明らかにされつつある。そこで本稿では、これらの胸腺上皮細胞の動態について、最新の知見を紹介する。

はじめに

胸腺上皮細胞(thymic epithelial cell: TEC)は、胸腺において T 細胞の分化・成熟を支持する重要な役割を果たす。TEC は、胸腺皮質上皮細胞(cortical TEC: cTEC)と胸腺髄質上皮細胞(medullary TEC: mTEC)に大別され、それぞれが発現する固有の分子集団を介して骨髄由来のリンパ系前駆細胞と相互作用し、非自己に応答し、自己に寛容な T 細胞レパトア形成をにやう。胸腺内での分布やはたらきが異なるこれら TEC の亜集団は、胎生期において、内胚葉由来の前駆細胞から分化し、上皮ネットワークを形成して、T 細胞分化に最適な胸腺微小環境を構築する。cTEC や mTEC の分化異常や機能低下は、外来抗原や自己抗原に対する応答性の変化をもたらし、免疫系疾

患の発症につながるため、多様な TEC で構成される胸腺微小環境は、生後においても適切に維持される必要がある。本稿では、T 細胞の産生をにやう TEC が、胎生期から生後にかけてどのように分化・成熟し、成体で維持され、機能的な胸腺微小環境を保持するかについて、また胸腺退縮における変化について、最新の知見と私たちの研究から得られた研究成果を交えて紹介する。

1. TEC の発生と分化・成熟(図 1)

胸腺の発生は胎生中期に開始される。マウスでは胎生 11 日目ごろに、第 3 咽頭嚢の内胚葉由来の上皮の一部において、転写因子 forkhead box protein N1 (Foxn1) の発現を指標とする TEC が発生し、胎生 12 日目ごろには、cTEC と mTEC の特徴を有する細胞が検出される。cTEC と mTEC は共通の胸腺上皮前駆細胞から分化し、その分化は Foxn1 によって制御される¹⁾。胎生期の TEC は、CD205 や胸腺プロテアソーム構成鎖 $\beta 5t$ など、cTEC 分子を発現する細胞が大部分を占めるが、CD205 陽性胎仔 TEC を用いた再凝集胸腺器官培養や $\beta 5t$ 発現細胞の細胞系譜解析から、これらの

【キーワード】
胸腺上皮細胞
胸腺退縮
 $\beta 5t$

FUJIMORI Sayumi, OHIGASHI Izumi/徳島大学先端酵素学研究所免疫系発生学分野

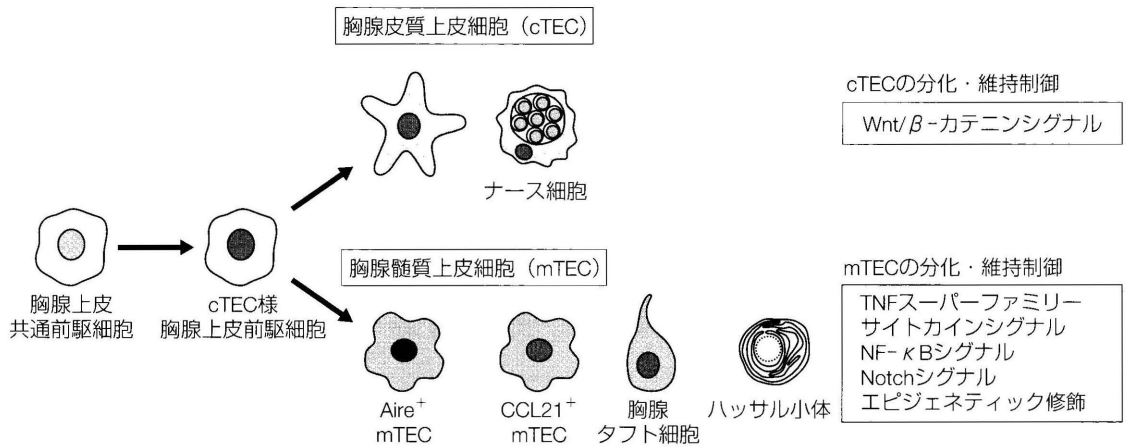


図1. 胸腺上皮細胞の分化

細胞が、mTEC への分化能を有する前駆細胞活性を含むことが明らかにされた²⁾。また、私たちがおこなった、時期特異的な $\beta 5t$ 発現細胞の細胞系譜解析から、生後の胸腺に存在する mTEC は、胎生期から新生仔期に $\beta 5t$ を発現した前駆細胞由来の mTEC 系列細胞によって維持されることが明らかになった³⁾。実際、T 細胞の免疫寛容性獲得をになう mTEC を特異的に産生する幹細胞が同定されており、mTEC の分化障害により自己免疫炎症を発症するマウス胸腺に mTEC 幹細胞を移入すると、機能的な mTEC が生成される⁴⁾。Foxn1 欠損胸腺では、cTEC も mTEC も検出されないが、mTEC 幹細胞は検出されるため、この幹細胞の発生は Foxn1 非依存的であることが考えられる⁵⁾。

mTEC の分化や維持を制御する分子メカニズムについては研究が進んでおり、腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor: TNF) スーパーファミリー サイトカインシグナルや、核内因子 κB (nuclear factor- κB : NF- κB) シグナルの関与が知られている⁵⁾⁶⁾。また、最近の研究から、Notch シグナルが TEC 特異的に分化する前駆細胞の産生と維持、また、mTEC への分化に必要であることが明らかにされ、Notch シグナルが mTEC の運命決

定に関与する可能性が示唆されている⁷⁾⁸⁾。さらに、転写抑制型のヒストン修飾である H3K27 のトリメチル化を誘導する polycomb repressive complex 2 (PRC2) の機能を TEC 特異的に阻害したマウスでは、胸腺が低形成を呈し、出生以降に成熟 mTEC の数が著減する⁹⁾。また、タンパクのプロセシングや抗原提示に関与する分子など、TEC における転写プロファイルが変容し、TCR レパトアの多様性が低下することから、生後の TEC の分化と機能は、エピジェネティックな遺伝子発現制御の影響を受けることが示された⁹⁾。

一方で、cTEC の分化や維持には、未熟 T 細胞との相互作用が重要であることが古くから知られているが、それをつかさどる分子メカニズムは明らかにされていない。しかし、Wnt/ β -カテニンシグナル経路の主要なメディエーターである β -カテニンを Foxn1 発現マウス上皮細胞で欠損させた場合、胸腺構造に影響はないが、新生仔期に cTEC の数が減少し、胸腺細胞数が低下することが報告されている¹⁰⁾。また、Foxn1 発現細胞で β -カテニンの機能を亢進させた場合には、cTEC および mTEC の分化障害が生じる¹⁰⁾¹¹⁾。これらの結果から、Wnt/ β -カテニンシグナルは、cTEC と mTEC の分化には必須ではないが、そのシグナル

強度が、TECの特性やcTECの数を規定することが示唆される。Foxn1発現細胞での β -カテニン欠損は、胸腺外の上皮細胞への影響により生後まもなく死に至るため、生後の胸腺機能におけるWnt/ β -カテニンシグナル経路の役割は明らかにされていない。現在私たちは、 β 5t-Creマウス²⁾を利用することにより、生後も生存可能なTEC特異的な β -カテニン欠損マウスを作製し、生後のcTECの維持に対するWnt/ β -カテニンシグナル伝達制御の役割について詳細な解析を進めている。

TECは胎生期に活発に増殖するが、生後は、その増殖速度が低下する¹²⁾。胎生期から生後のさまざまな時期のTECを対象としたトランスクリプトーム解析においても、細胞増殖に関与する分子群を含め、TECの転写プログラムは胎生期と生後では異なることが報告されている¹³⁾。それによると、胎生期や新生仔期のTECは、生後のTECと比較すると転写因子Mycの活性が高く、Mycの活性に依存して細胞増殖率やリボソーム生合成率が高い。また、Foxn1発現細胞でMycを強制的に発現させると、胎生期特有の転写プログラムが長期間維持され、胸腺サイズと胸腺細胞数が増加することから、Mycは胎生期の急速な胸腺の発達を支えるTECの主要な制御因子であると考えられる。

2. 成体におけるTECの維持機構

成体マウスの胸腺を構成するcTECとmTECは、ケモカイン、サイトカイン、共刺激分子、抗原提示分子、転写因子など、多種多様な分子の発現の差異により細分化される不均一な細胞集団である。最近のシングルセル解析においても、成体における胸腺は、遺伝子発現パターンの異なる多様なcTECおよびmTECの亜集団から構成されることが示されており、AireやCCL21を発現するmTEC亜集団に加え、消化管上皮細胞でも検出されるタフト細胞など、新たなmTEC亜集団も同定されている^{14)~17)}。分子発現の違いだけでなく、

構造的な特徴にもとづき、CD4⁺CD8⁺胸腺細胞を内包するcTEC系列のナース細胞¹⁸⁾¹⁹⁾や、表皮細胞マーカーを発現する角化したmTEC系列のハッサル小体が同定されており、TECが、分子特性、機能特性、構造的特性において、高い不均一性を有することが示されている²⁰⁾²¹⁾。

マウスでは、成熟mTECの寿命は2週間程度と高いターンオーバー速度を示し²²⁾、これらは、mTEC系列の前駆細胞から供給されると考えられる²⁾。実際に、MHCIIを低頻度に発現するmTECのうちCD24を発現する亜集団は、成熟mTECへと分化する前駆細胞活性を有することが報告されている²³⁾。しかし、成体胸腺には、cTECとmTECへの二分化能を有する前駆細胞が存在する可能性も示唆されている^{24)~26)}。また、最近の報告では、生後のTECの数は、TEC前駆細胞の維持に必要なBMP4シグナルと、TECの成熟に必要なアクチビンAシグナルのバランスにより維持されていることや、生後のcTECは、SCA1とMHCIIを低頻度に発現するcTEC前駆細胞により供給される可能性も示唆されている²⁷⁾。

3. 胸腺退縮におけるTECの役割

胸腺は、最も早く加齢の影響を受ける器官として知られており、性成熟期以降、加齢に伴い胸腺サイズの減少や胸腺で産生される胸腺細胞数が徐々に減少する。この胸腺退縮とよばれる現象は、獲得免疫応答の低下や、自己免疫応答の増大など、加齢に伴う免疫能力の低下と深く関与し、おもにTECの機能低下に起因すると考えられる。去勢による性ホルモンの除去により、胸腺のT細胞数が一過性に増加することから²⁸⁾、胸腺退縮には、性成熟期以降に増加するアンドロゲンなどの性ホルモンを介する経路が部分的に関与すると考えられるが、性ホルモンの産生が低下した後でも胸腺退縮が認められることから、胸腺退縮には、ほかに基軸となるシグナル経路が存在すると考えられる。成体胸腺では、老齢期にかけてFoxn1を発現する

TECの数が減少することや²⁹⁾³⁰⁾, Foxn1をケラチン-14プロモーターの制御下で過剰発現させた場合には、加齢による胸腺機能の低下が抑制されることから³¹⁾, Foxn1の発現制御が胸腺退縮の誘導に関与する可能性が示唆されている。また、胎生期に急激に低下するMyc活性が、成体期から老齢期にかけてさらに緩やかな速度で低下し続けることが示されており、胸腺退縮時の胸腺サイズの減少に寄与していると推察される¹³⁾。胸腺サイズの低下には、加齢に伴うTECの数の減少¹²⁾のほか、cTECの形態変化が関与する可能性も示唆されている³²⁾。また、最近のシングルセル解析から、加齢の主要な標的は、胸腺上皮前駆細胞であることが明らかになってきている³³⁾。TECに焦点を当てた、今後の胸腺退縮現象の理解と胸腺退縮メカニズムの解明により、加齢に伴い増加する自己免疫疾患に対し、TECを標的とした新たな治療戦略の開発が期待できる。

おわりに

TECは、胸腺細胞の分化・成熟をサポートする不均一な細胞集団である。cTECとmTECの多様な亜集団の細胞特性は少しずつ解明されつつあるが、TECの系列決定を制御する分子ははまだ同定されておらず、TECの発生過程については、未解明な部分が多い。また、成体胸腺のcTECおよびmTECを供給する胸腺上皮前駆細胞については、成体特有の胸腺上皮共通前駆細胞が存在する可能性や、単一系列への分化能を有する胸腺上皮前駆細胞が存在する可能性が示唆されているが、統一した見解が得られておらず、議論の余地がある。今後の解析により、個々のTEC亜集団の機能解析や、細胞系譜解析が進み、細胞表面マーカーにもとづいたこれまでの解析から同定された細胞集団との関連性が明らかにされることにより、胎生期から老齢期にかけて多様なTEC亜集団の協調的なはたらきにより維持される胸腺機能の理解がさらに深まることが期待される。

謝辞

本稿の執筆にあたりご助言をいただきました高濱洋介先生(NIH 国立がん研究所)に深謝致します。

文献

- 1) Žuklys S *et al*: Foxn1 regulates key target genes essential for T cell development in postnatal thymic epithelial cells. *Nat Immunol* **17**: 1206-1215, 2016
- 2) Ohigashi I *et al*: Aire-expressing thymic medullary epithelial cells originate from beta5t-expressing progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**: 9885-9890, 2013
- 3) Ohigashi I *et al*: Adult thymic medullary epithelium is maintained and regenerated by lineage-restricted cells rather than bipotent progenitors. *Cell Rep* **13**: 1432-1443, 2015
- 4) Sekai M *et al*: Medullary thymic epithelial stem cells maintain a functional thymus to ensure life-long central T cell tolerance. *Immunity* **41**: 753-761, 2014
- 5) Baik S *et al*: Relb acts downstream of medullary thymic epithelial stem cells and is essential for the emergence of RANK+ medullary epithelial progenitors. *Eur J Immunol* **46**: 857-862, 2016
- 6) Akiyama T *et al*: The tumor necrosis factor family receptors RANK and CD40 cooperatively establish the thymic medullary microenvironment and self-tolerance. *Immunity* **29**: 423-437, 2008
- 7) Li J *et al*: NOTCH1 signaling establishes the medullary thymic epithelial cell progenitor pool during mouse fetal development. *Development* **147**: dev178988, 2020
- 8) Liu D *et al*: Canonical Notch signaling controls the early thymic epithelial progenitor cell state and emergence of the medullary epithelial lineage in fetal thymus development. *Development* **147**: dev178582, 2020
- 9) Barthlott T *et al*: Indispensable epigenetic control of thymic epithelial cell development and function by polycomb repressive complex 2. *Nat Commun* **12**: 3933, 2021
- 10) Swann JB *et al*: Elevated levels of Wnt signaling

- disrupt thymus morphogenesis and function. *Sci Rep* **7** : 785, 2017
- 11) Zuklys S *et al* : Stabilized beta-catenin in thymic epithelial cells blocks thymus development and function. *J Immunol* **182** : 2997-3007, 2009
 - 12) Gray DH *et al* : Developmental kinetics, turnover, and stimulatory capacity of thymic epithelial cells. *Blood* **108** : 3777-3785, 2006
 - 13) Cowan JE *et al* : Myc controls a distinct transcriptional program in fetal thymic epithelial cells that determines thymus growth. *Nat Commun* **10** : 5498, 2019
 - 14) Bornstein C *et al* : Single-cell mapping of the thymic stroma identifies IL-25-producing tuft epithelial cells. *Nature* **559** : 622-626, 2018
 - 15) Miller CN *et al* : Thymic tuft cells promote an IL-4-enriched medulla and shape thymocyte development. *Nature* **559** : 627-631, 2018
 - 16) Park JE *et al* : A cell atlas of human thymic development defines T cell repertoire formation. *Science* **367** : eaay3224, 2020
 - 17) Bautista JL *et al* : Single-cell transcriptional profiling of human thymic stroma uncovers novel cellular heterogeneity in the thymic medulla. *Nat Commun* **12** : 1096, 2021
 - 18) Wekerle H *et al* : Thymic nurse cells-Ia-bearing epithelium involved in T-lymphocyte differentiation? *Nature* **283** : 402-404, 1980
 - 19) Nakagawa Y *et al* : Thymic nurse cells provide microenvironment for secondary T cell receptor *a* rearrangement in cortical thymocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* **109** : 20572-20577, 2012
 - 20) Takahama *et al* : Generation of diversity in thymic epithelial cells. *Nat Rev Immunol* **17** : 295-305, 2017
 - 21) Kadouri N *et al* : Thymic epithelial cell heterogeneity : TEC by TEC. *Nat Rev Immunol* **20** : 239-253, 2020
 - 22) Gray D *et al* : Proliferative arrest and rapid turnover of thymic epithelial cells expressing Aire. *J Exp Med* **204** : 2521-2528, 2007
 - 23) Ferreirinha P *et al* : A novel method to identify Post-Aire stages of medullary thymic epithelial cell differentiation. *Eur J Immunol* **51** : 311-318, 2021
 - 24) Ulyanchenko S *et al* : Identification of a bipotent epithelial progenitor population in the adult thymus. *Cell Rep* **14** : 2819-2832, 2016
 - 25) Wong K *et al* : Multilineage potential and self-renewal define an epithelial progenitor cell population in the adult thymus. *Cell Rep* **8** : 1198-1209, 2014
 - 26) Ucar A *et al* : Adult thymus contains FoxN1-epithelial stem cells that are bipotent for medullary and cortical thymic epithelial lineages. *Immunity* **41** : 257-269, 2014
 - 27) Lepletier A *et al* : Interplay between follistatin, activin A, and BMP4 signaling regulates postnatal thymic epithelial progenitor cell differentiation during aging. *Cell Rep* **27** : 3887-3901, 2019
 - 28) Dudakov JA *et al* : Sex steroid ablation enhances hematopoietic recovery following cytotoxic anti-neoplastic therapy in aged mice. *J Immunol* **183** : 7084-7094, 2009
 - 29) Ortman CL *et al* : Molecular characterization of the mouse involuted thymus : aberrations in expression of transcription regulators in thymocyte and epithelial compartments. *Int Immunol* **14** : 813-822, 2002
 - 30) Itoi M *et al* : Expression of Dll4 and CCL25 in Foxn1-negative epithelial cells in the post-natal thymus. *Int Immunol* **19** : 127-132, 2007
 - 31) Zook EC *et al* : Overexpression of Foxn1 attenuates age-associated thymic involution and prevents the expansion of peripheral CD4 memory T cells. *Blood* **118** : 5723-5731, 2011
 - 32) Venables T *et al* : Dynamic changes in epithelial cell morphology control thymic organ size during atrophy and regeneration. *Nat Commun* **10** : 4402, 2019
 - 33) Baran-Gale J *et al* : Ageing compromises mouse thymus function and remodels epithelial cell differentiation. *Elife* **9** : e56221, 2020