

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		胸腺上皮細胞分岐を制御する分子機構の研究			
研究テーマ (欧文) AZ		The molecular mechanism regulating the differentiation of thymic epithelial cells			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)オオヒガシ	名)イズミ	研究期間 B	2017 ~ 2019 年
	漢字 CB	大東	いずみ	報告年度 YR	2019 年
	ローマ字 CZ	Ohigashi	Izumi	研究機関名	徳島大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		徳島大学先端酵素学研究所 准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>非自己に応答し、自己に寛容な T 細胞を産生する胸腺の機能は、胸腺皮質上皮細胞(cortical TEC, cTEC)と胸腺髄質上皮細胞 (medullary TEC, mTEC)が担う。cTEC と mTEC は、共通の上皮前駆細胞から分化するが、その分岐を制御するメカニズムは明らかになっていない。近年、TECを対象とした網羅的なトランスクリプトーム解析から、新たな TEC の機能的多様性が明らかにされつつある。一方、十分な数の TEC を調製することが困難であるため、多数の細胞を必要とするプロテオーム解析は行われておらず、TECのタンパクプロファイルは確立されていない。そこで我々は、TECの分岐を制御する分子機構探索に向けてのプラットフォームを整備するために、TEC 前駆細胞の増殖充進により胸腺過形成を呈する遺伝子改変マウスを用い、cTEC と mTEC および、CD8T 細胞の正の選択に必須な胸腺プロテアソームの構成鎖である beta5t を欠損したマウスの cTEC を対象としたプロテオーム解析とトランスクリプトーム解析を行なった。プロテオーム、および、トランスクリプトームプロファイルは、cTEC と mTEC では対照的な相違を示すのに対し、beta5t 欠損 cTEC はコントロール cTEC に酷似していた。しかし、cTEC における beta5t 欠損は多くのプロテアソーム構成鎖タンパクの特異的な量的低下をもたらすことが明らかになった。また、トランスクリプトーム、および、プロテオームプロファイルを統合したトランスオミクスプロファイルでは、cTEC と mTEC の間で発現差分が大きく、且つ、胸腺での機能が明らかにされていない分子が検出された。この TEC を対象としたトランスオミクスプロファイルは、機能的な胸腺構築を制御するメカニズムの解明に向けて、有用なリソースを提供しうると考えられる (Ohigashi, et al. Cell Rep. 2019)。私達は、このトランスオミクスプロファイルを基に、TEC での機能が明らかにされていない転写制御分子に注目し、この分子を欠損するマウスの作製を進めている。先行実験において、欠損マウスの胸腺は低形成を呈し、TEC の成熟に異常を来すとの結果を得ており、当該分子が TEC の分化と分岐に及ぼす影響についての研究を進めている。</p> <p>また私達は、トランスオミクスプロファイルから、cTEC で発現が高いものの、その機能が明らかにされていない PITHD1 に注目した。PITHD1 は、プロテアソームに結合しうる PITH ドメインを有するものの、生体内での機能やプロテアソームへの結合能は明らかにされていない。そこで私達はまず、PITHD1 の胸腺で発現するプロテアソームへの会合能を免疫沈降法で検討した。その結果、PITHD1 は cTEC 特異的な胸腺プロテアソームだけでなく、免疫プロテアソームを含む胸腺内のプロテアソームには会合しないことが明らかになった。また、PITHD1 欠損マウスの胸腺での TEC と T 細胞の分化は正常であり、PITHD1 欠損は TEC の分化と機能に大きな影響を及ぼさないことが明らかになった。一方で、PITHD1 欠損オスマウスが不妊であることに気がついたため、精子を解析したところ、PITHD1 欠損マウスの精子は形態と運動能に異常を来していた。また、PITHD1 は精巣の伸長精子細胞で発現しており、精巣内免疫プロテアソームに会合した。さらに、PITHD1 欠損マウスでは、伸長精子細胞におけるプロテアソーム活性が低下しており、精子の生殖機能獲得に関与するタンパクの量が低下していた。これらの結果から、PITHD1 は雄性生殖機能に重要なプロテアソーム会合分子であることが明らかになった (Kondo, et al. J Biol Chem. 2020)。</p>					
キーワード FA	胸腺	胸腺上皮細胞	プロテアソーム		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）										
雑誌	論文標題 ^{GB}	Trans-omics impact of thymoproteasome in cortical thymic epithelial cells								
	著者名 ^{GA}	Ohigashi, et al.	雑誌名 ^{GC}	Cell Reports						
	ページ ^{GF}	2901~2916	発行年 ^{GE}	2	0	1	9	巻号 ^{GD}	29	
雑誌	論文標題 ^{GB}	PITHD1 is a proteasome-interacting protein essential for male fertilization								
	著者名 ^{GA}	Kondo, et al.	雑誌名 ^{GC}	Journal of Biological Chemistry						
	ページ ^{GF}	1658~1672	発行年 ^{GE}	2	0	2	0	巻号 ^{GD}	295	
雑誌	論文標題 ^{GB}									
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}							
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		

欧文概要^{EZ}

The thymic function to produce self-protective and self-tolerant T cells is chiefly mediated by cortical thymic epithelial cells (cTECs) and medullary TECs (mTECs). cTECs and mTECs are derived from common TEC progenitors. However, the molecular mechanism regulating the TEC bifurcation is unknown. Transcriptomic analyses of TECs have highlighted a rich diversity in functional TEC subpopulations. However, because of their limited cellularity, the biochemical characterization of TECs has remained unestablished. To provide trans-omics platform for exploration of molecules responsible for TEC bifurcation, we used genetically modified mice that carry enlarged but functional thymuses for proteomic analysis of cTECs and mTECs, and of beta5t-deficient cTECs which lack thymoproteasome essential for the positive selection of CD8T cells in the thymus. A combination of proteomic and transcriptomic profiles for cTECs and mTECs identified signature molecules that characterize a developmental and functional contrast between cTECs and mTECs, and that provide a useful resource for further exploring the biology of cTECs and mTECs. We also found a highly specific impact of the thymoproteasome on proteasome subunit composition in cTECs, rather than a pervasive effect on cTEC functions.

Further, by using our trans-omics data of TECs, we explored molecule whose function in the thymus is unknown. We found PITHD1, which has a PITH-domain possibly interacting with proteasome, was highly expressed in cTECs. However, it was unknown whether PITHD1 can actually bind to proteasomes and what it does in vivo. We found that PITHD1 was not associated with thymoproteasomes, and PITHD1-KO mice exhibited no detectable defects in the thymus. However, we unexpectedly found that PITHD1-KO mice exhibited severe male infertility accompanied with morphological abnormalities and impaired motility of spermatozoa. We also found that PITHD1 was expressed in elongated spermatid and associated with immunoproteasome in the testis. Furthermore, PITHD1 deficiency reduced proteasome activity in the testis and altered the amount of proteins important for fertilization capability by the sperm. Collectively, our results identify PITHD1 as a novel proteasome-interacting protein that plays a nonredundant role in the male reproductive system.