

No.	25-3180	
Project Title	構成的手法による免疫細胞ダイレクトリプログラミング因子のunbiasedな同定	
Principal Investigator	Yutaro Kumagai (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology・主任研究員)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Kenta Nakai (The Institute OF Medical Science, The University Of Tokyo・Professor)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（年次終了）

研究計画・研究内容

申請者は4つの転写因子を導入することで線維芽細胞からCD45+ CD11b+ MHC-II+ CD11c+のcDC2様細胞を高効率に誘導できることを発見した。2024年度までの医科研共同研究を含めた研究により、ダイレクトリプログラミングにより作製されるこの細胞が線維芽細胞ではなく樹状細胞にはある機能、すなわちTLR7, TLR9等の核酸受容体を介した核酸に対するIL-12産生などの応答、抗原依存的T細胞の活性化、生体内における抗原依存的免疫応答の惹起とその結果としての抗腫瘍免疫応答の誘導、などを持つことが明らかとなった。

本申請はこの結果に着想を得て、線維芽細胞を任意の免疫細胞へと転換を行う因子をランダムスクリーニングによって探索することを目指したものである。本計画では特にNK細胞を含む自然リンパ球(ILC)をターゲットとし、(1)ダイレクトリプログラミング因子候補の同定、(2)因子のランダムスクリーニングと確認、(3)作製される細胞の機能解析、の3点を行うことを計画した。

申請者は自然リンパ球(ILC)の遺伝子発現データを申請者が開発した解析手法BootCellNet2 (Kumagai, PLOS Comp Biol, 2024)によって解析し、ILC表現型を誘導する候補となる転写因子を70個ほど同定した。これらの因子を含むレンチウイルスベクターライブラリを作製し、ヒト線維芽細胞株MRC5に感染させたところ、低頻度(<0.01%)にCD45陽性NKp46陽性細胞を得た。これらをFACSで回収し、scRNA-seqによって表現型を調べ、かつレンチウイルスベクターに含まれる各転写因子に対応するバーコード配列を次世代シーケンサーによって得ることで、TFと表現型の対応付けを行った。来年度に向け、より多数のNK細胞/ILC様の細胞を得てTFの組み合わせと表現型の対応づけの統計的解析を行っていく予定である。

一方、解析手法のアップデートも行っている。BootCellNet2の枠組みを拡張し、細胞間相互作用や空間トランスクリプトームの解析を行うことができるパイプラインRCPCを開発している。空間トランスクリプトームデータを利用することで、重要な細胞間相互作用を転写因子の制御ネットワークに組み込んだmulticellular gene regulatory networkを推定し、かつ細胞間相互作用の空間分布、重要な転写因子の空間分布を推定できることを示した。本手法は、空間細胞間相互作用が重要な細胞分化の誘導にも応用することを計画している。