

氏名	あ だち さと こ 安 達 里 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 1881 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Three distinctive steps in Peyer's patch formation of murine embryo (マウス胚において観察される、三段階のパイエル板形成期に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 日 合 弘 教 授 塩 田 浩 平 教 授 西 川 伸 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

パイエル板は腸管付属リンパ組織の一つであり、その特殊化された上皮細胞によって腸内抗原を取り込み、抗原特異的な IgA 抗体陽性 B 細胞の分化を促進する働きをもつ。これまでにパイエル板の機能については比較的良好に研究されてきたが、その発生過程についてはほとんど明らかではない。その一つの理由として、新生仔期および胎仔期のマウス腸管ではパイエル板を肉眼で観察することができないため、その位置を特定することが困難であるという点があげられる。この問題を解決するため、パイエル板に発現していると予想される分子 (VCAM-1, Ia, IL-7R, CD4, CD3, B220) に対する抗体を用いて、これら幼若期のマウス腸管に対してホルマウント免疫染色を行った。これによって腸管にはパイエル板様の集塊が染め出されたが、用いる抗体によってこの集塊の出現時期は異なっていた。VCAM-1 は最も早く胎生15日からみとめられ、ついで17日には IL-7R, CD4 が、18日には CD3, B220 が検出された。これらの結果から、パイエル板の形成期は少なくとも3段階に分類されることが予想された。形態学的解析により、VCAM-1 を発現している細胞はストローマ様の外見を呈しており、血球系の細胞とは区別されることが明らかになった。従って、まずパイエル板が形成される場での VCAM-1 の発現があり (第1段階)、そこへ Ia, IL-7R, CD4 陽性の血球系細胞の集積が起こり (第2段階)、最後に CD3, B220 陽性細胞が出現 (第3段階) するが、これは第2段階で集積した細胞が成熟した結果、あるいは他の場所から新たに移動してきた結果によるものと考えられる。

また、この実験の過程において、パイエル板様の集塊の出現には一定の法則性があることが観察された。即ち、どの抗体を使用しても、最初に検出される集塊は必ず十二指腸に近い上部腸管に1~2個出現し、その後下部腸管へと数を増やしながらかつていく形式をとり、最終的な数は腸管全体で8個から9個程度にまで増えた。また、この現象は腸管の部位における形態の変化としても観察された。胎生18日の腸管を抗 IL-7R 抗体で染色した結果によると、上部腸管ではリンパ濾胞様の構造が観察されるのに対し、そ

れより下部ではまだ発達途上にあることを示すより繊細な構造が観察された。このことから、単に集塊の出現時期だけではなく、パイエル板の発達そのものも上から下へ進行することが示唆された。

一方、パイエル板の発達を間接的に考察する目的で、同じ方法によりミュータントマウスの解析を行った。パイエル板およびリンパ節欠損マウスとして知られる *aly/aly* マウスでは、第1段階である VCAM-1 の発現からみとめられなかった。成熟リンパ球を欠損する SCID マウスにおいては VCAM-1 の発現には異常がなく、第2段階の IL-7R 陽性細胞も弱いながらみとめられた。しかし、第3段階の CD3 および B220 陽性細胞は検出することができなかった。このことから、少なくともパイエル板形成の第1段階および第2段階は成熟リンパ球には依存することなく進行することが明らかになった。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、ホールマウント免疫染色法を用いて胎児期および新生児期のマウス腸管におけるパイエル板の発生過程を追跡したものである。その結果、胎生15日における VCAM-1 の発現、17日目における IL-7R, CD4, Ia 陽性細胞の集積、18日目における CD3, B220 陽性細胞の出現を観察することができた。これらの結果から、パイエル板の形成期は少なくとも三段階に分類されることが予想された。また、この実験の過程において、パイエル板の発生は、上部腸管から下部腸管へと進行していくという、一定の法則性があることが示された。更に、パイエル板を欠損する *aly/aly* マウスおよび成熟リンパ球を欠損する SCID マウスを解析したことにより、*aly/aly* マウスにおけるパイエル板形成は全段階が検出されず、SCID マウスにおいては第一段階および第二段階までは進行することが明らかになった。

以上の研究は、これまでに報告のなかったマウス胎生期におけるパイエル板の発生を仔細に解析し、しかもそこに段階性が観察されることを明らかにしたものであり、今後の分子レベルでの解析に重要な手がかりを与えた。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成9年2月4日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。