

氏 名	ほん だ けん や 本 田 賢 也
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2364 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 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	Molecular basis for hematopoietic/mesenchymal interaction during initiation of Peyer's patch organogenesis (パイエル板初期発生に必須である血球細胞と間葉系細胞との相互作用の研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 桂 義 元 教 授 中 畑 龍 俊 教 授 西 川 伸 一

論 文 内 容 の 要 旨

様々なサイトカインとその受容体の遺伝子欠損マウスにおいて末梢リンパ組織の発生が障害されることが報告されている。消化管リンパ組織のパイエル板（以下 PP）に関して言えば、interleukin-7 receptor (IL-7R), lymphotoxin- β receptor (LT β R), CXC chemokine receptor 5 (CXCR5) という 3 種類のレセプターを介するシグナルが重要であると報告されている。しかしながら、それらが発生のどの段階に関わっているか殆ど分かっていなかった。本論文では、発生段階の PP 原基に集積する CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞（血球系細胞）及び VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞（間葉系細胞）に注目し、これら 2 種類の細胞間の相互作用に上記の分子が必要であると仮説を立て、個々の細胞ごとに詳細に検討した。

CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞は、胎生15日では腸管全体にまばらに存在するが、胎生16日から PP 原基への集積が認められるようになる。CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞の PP への集積にはケモカイン受容体 CXCR5 が関与していると考えた。単離した CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞は、CXCR5 を発現しており、実際 CXCR5 のリガンドである BLC に対し *in vitro* で遊走を示した。ではどの細胞が BLC を発現するのかを次に検討した。組織学的検討から、CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞が胎生15日から胎生16日にかけて PP 原基への集積するのとはほぼ同時期の変化として、VCAM-1 および ICAM-1 陽性細胞が認められる。この VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞は CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞と PP 原基において隣接して存在しており、VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞が BLC 発現細胞である可能性が示唆された。このことを証明するため、FACS により VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞の単離を試みた。胎児腸管をコラジェナーゼなどの酵素処理すると、VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞を全腸管細胞の約0.5%の割合で認めた。また VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞は、PP の欠損するマウスには認められず、確かに PP 原基の細胞であると確認できた。そして BLC は、単離した VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞において強い発現を認めた。以上より CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞は VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞において作られた BLC に応答し、非常に効果的にその場へ遊走して PP 形成に関わると考えられた。

次に、PP 原基に集積した CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞は、PP 原基でこういった機能を果たすかを検討した。胎児腸管の CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞を単離し、IL7 存在下及び非存在下で培養した後、lymphotoxin (LT) の発現を FACS にて検討した。IL7 存在下において LT の発現誘導が観察され、この誘導は IL7R に対する機能阻害、抗体処理によって阻害された。従って IL7R からのシグナルによって CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞は LT を発現すると考えられた。以上より CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞は BLC に応答し、その場へ遊走して IL7 の刺激を受け、LT を発現することで PP 発生を促すと考えられた。

最後に、以上のことが *in vivo* で実際に起こっているかどうかを確認するため、LT β R の decoy (LT β R-Fc キメラ蛋白) 或いは IL7R 抗体を胎児に投与するという阻害実験を試みた。どちらを投与した場合においても、PP 発生も阻害された。そのとき、PP 原基において LT の発現は認められなくなり CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞の集積も認められなくなった。さらに VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞は消失し、PP での BLC の発現も認められなくなった。従ってはじめに示した 3 種類の受容体を介するシグナルは互いに影響しあっており、それは CD3-CD4⁺IL7R⁺ 細胞と VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞間の相互作用

用において使われていると考えられた。

上皮／間充織相互作用は、器官形成においてよく知られたメカニズムであるが、末梢リンパ組織発生においては、新たなメカニズム即ち、血球／間充織相互作用が存在すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

末梢リンパ組織の発生にはいろいろのサイトカインが関与することが知られている。消化管リンパ組織のパイエル板に関しては、interleukin-7 receptor (IL-7R), lymphotoxin- β receptor (LT β R) および CXC chemokine receptor 5 (CXCR5) を介するシグナルが重要であることが報告されている。しかしながら、それらが発生のどの段階に関わっているかは殆ど明らかにされていなかった。本研究では、発生段階のパイエル板原基に集積する CD3⁺CD4⁺IL7R⁺ 細胞（血球索細胞）と VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞（間葉系細胞）に着目し、これら2種類の細胞間の相互作用に上記の分子が必要であると仮説を立てて、検討している。

in vitro の実験によって、CD3⁺CD4⁺IL7R⁺ 細胞のパイエル板への集積にはケモカイン受容体 CXCR5 が関与している事、VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞が BLC 発現細胞である事、また IL7R からのシグナルによって CD3⁺CD4⁺IL7R⁺ 細胞は lymphotoxin を発現する事を明らかにした。さらに、抗体あるいは阻害蛋白を投与する in vivo の実験によって、パイエル板の形成には CD3⁺CD4⁺IL7R⁺ 細胞と VCAM-1⁺ICAM-1⁺ 細胞の相互作用が必要であることを明らかにした。

上皮－間充織相互作用は器官形成においてよく知られたメカニズムであるが、本研究によって末梢リンパ組織発生においては新たなメカニズムすなわち、血球－間充織相互作用が存在すると考えられた。

以上の研究は、末梢リンパ組織の発生機序の解明に貢献し、免疫学、発生学に寄与するところ示多い。従って、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13年2月19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。