

課題番号 35

3D 可視化解析システムを駆使した加齢に伴う パイエル板の形態変化に関する組織学的研究

[1] 組織

代表者：野地 智法

(東北大学大学院農学研究科)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

古川 睦実

(東北大学大学院農学研究科)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

腸内の免疫・微生物環境に与える加齢の影響は大きく、そのことは、腸管での免疫誘導を目的とした高齢者用ワクチンや、腸内の微生物環境の向上を目的とした高齢者用プロバイオティクス開発が容易でない一つの要因である。申請者はこれまで、加齢医学研究所が有する組織イメージング技術（共焦点レーザー顕微鏡および3D可視化解析システムAmira）を駆使し、腸管での免疫誘導および、腸内微生物との共存関係の構築に重要な役割を有するパイエル板（腸管に存在する二次リンパ組織）の3D立体構築技術を確立することで、若齢時と加齢時のパイエル板の構造を比較することに成功してきた（図1）。

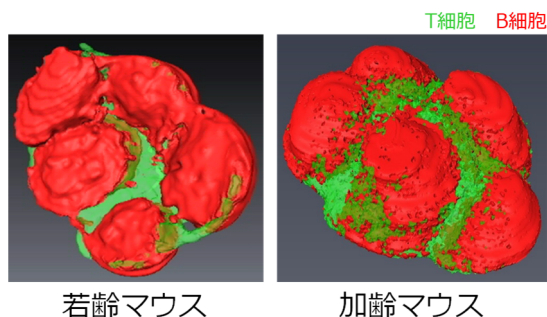


図1：パイエル板の3D立体構築

今年度の研究では、確立した組織学的解析技術を駆使することで、家畜（ブタ）の腸管関連リンパ組織の形態形成機序を明らかにすることを目的とした研究を実施した。

具体的には、胎齢76, 91, 110日目および出生9日目のブタの回腸を採取し、腸管関連リンパ組織の代表格であるパイエル板（集合リンパ小節）の形態形成機序を、HE染色を施すことで、組織学的に解析した。また、パイエル板に発達するT細胞領域およびB細胞領域の形成過程を明らかにすべく、T細胞を検出するための抗CD3抗体およびB細胞を検出するための抗CD20抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った。加えて、T細胞およびB細胞の細胞遊走に関わるケモカイン（CCL19/CCL21およびCXCL13）の発現を、定量的PCRにより評価した。なお、本課題は加齢医学研究所教授の小笠原康悦先生（生体防御学）が受入教員として参画し、メール等を介した研究打ち合わせを通して、免疫学的観点からの研究アドバイスをを行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

妊娠期間が114日間であるブタの回腸におけるパイエル板の形態形成を組織学的に解析したところ、胎齢76日目（E76）の胎仔の回腸には、顕著なリンパ球集積が認められなかったのに対し、胎齢91日目（E91）になると、粘膜下組織に発達過程のリンパ濾胞が広範囲に確認された。その後、胎齢110日目（E110）になると、その構造は明瞭化し、出生9日目（D9）になると、さらに発達することが示された（図2）。

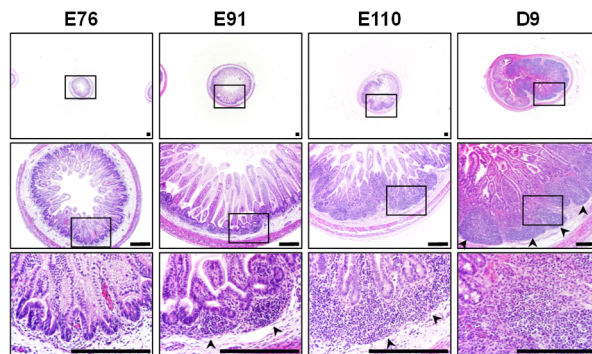


図2：ブタ回腸パイエル板の形態形成

また、細胞遊走に関わるケモカインの発現変動を解析した結果、CCL19は胎齢91日目から徐々に増加し、またCXCL13は胎齢110日目に急激に増加すること

が示され、T細胞およびB細胞集積に関わるケモカインの発現時期には、時間差が認められた。

次に回腸パイエル板内へのT細胞およびB細胞の細胞遊走に加え、T細胞領域およびB細胞領域形成を免疫組織化学により解析したところ、胎齢76日目(E76)の回腸にはT細胞およびB細胞は殆ど検出されなかったのに対し、胎齢91日目(E91)になると、HE染色で存在が明らかとなったリンパ濾胞内に、T細胞およびB細胞の双方が集積していることが示された。胎齢110日目(E110)になると、濾胞内に多数のB細胞が集まり、またその周囲にT細胞が多数集積していることが示され、明瞭なT細胞領域およびB細胞領域の形成が確認された。また、それらの領域は、出生後さらに発達していた。回腸パイエル板内のT細胞とB細胞の割合は、E91ではT細胞優位であったのに対し、E110以降ではB細胞優位に変わっていた。これらの結果は、上述したケモカイン発現と矛盾のないものであった(図3)。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、家畜(ブタ)の粘膜組織に備わる免疫臓器の形態形成機序が明らかとなり、幼若期の家畜を健全に育成するための免疫強化ポイントが明らかとなった。幼若期の家畜が引き起こす感染症が原因の経済損失は甚大であることから、本研究によって得られた研究成果が獣医・畜産領域にもたらすインパクトは、非常に大きかった。令和3年度の東北大学加齢医学研究所共同利用・共同研究としても、分担者(古川睦実)が申請した関連課題を採択して頂いており、家畜を対象とした粘膜免疫学の発展につながる研究成果の蓄積が、今後も期待される。

[4] 成果資料

本共同研究成果は、以下の論文として、国際科学誌に発表した。

Furukawa M, Ito S, Suzuki S, Fuchimoto D, Onishi A, Niimi K, Usami K, Wu G, Bazer FW, **Ogasawara K**, Watanabe K, Aso H, **Nochi T**. Organogenesis of ileal Peyer's patches is initiated prenatally and accelerated postnatally with comprehensible proliferation of B cells in pigs. *Front. Immunol.*, 11: 604674, 2020

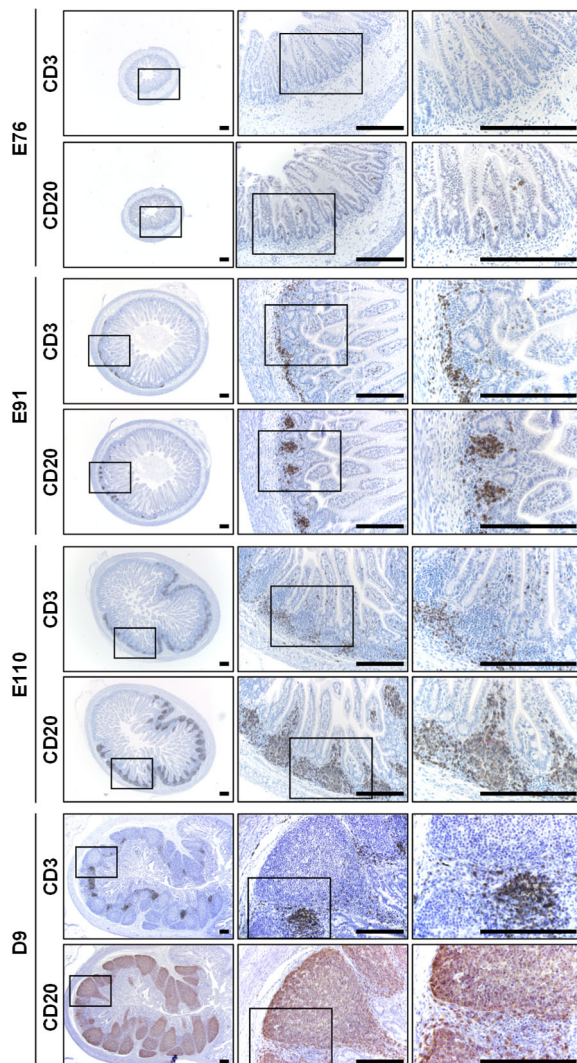


図3：ブタ回腸パイエル板におけるT・B細胞局在