

加齢に伴う家畜のパイエル板の構造変化の三次元的解析

[1] 組織

代表者：古川 睦実

(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：

野地 智法 (東北大学大学院農学研究科)

平川 良太 (東北大学大学院農学研究科)

勅使河原 杏莉 (東北大学大学院農学研究科)

岡田 拓歩 (東北大学大学院農学研究科)

久松 基史 (東北大学大学院農学研究科)

研究費：共通研究施設利用費 13万円

[2] 研究経過

腸管免疫は、腸内の環境を良好に保つだけでなく、腸管免疫によって誘導された免疫細胞は、身体に存在する様々な粘膜臓器へと遊走することで、粘膜面において外来抗原から身体を防除している。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、腸管免疫臓器の3D立体構築技術を確立することで、腸管免疫臓器の発達を定量化することに成功してきた。

今年度は、加齢やライフサイクルに伴う腸管免疫の発達・減衰を明確することを目的とした研究を実施した。

本研究では研究開始当初は、ブタのパイエル板を解析する予定であったが、腸管組織のサイズが大きく、解析が用意ではないことから、ニワトリを用いた解析を行った。具体的には、7、21、35、50日齢（出荷日齢）のニワトリから腸管免疫の中核である盲腸扁桃を採材し、B細胞を認識するAnti-Bu1抗体およびT細胞を認識するAnti-CD3抗体を用いた免疫組織化学染

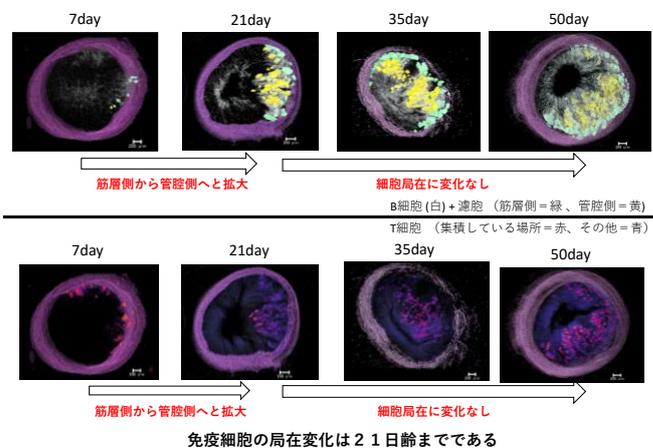
色を行った。さらに、組織染色画像を3D解析ソフトウェアAmiraによる3次元的解析に供し、B細胞が集積する濾胞構造について定量的解析を行った。なお、本課題は加齢医学研究所教授の小笠原康悦先生（生体防御学）が受入教員として参画し、メール等を介した研究打ち合わせを通して、免疫学観点からの研究アドバイスを行っていただいた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

Amiraを用いたニワトリの盲腸扁桃の立体再構築から、ニワトリ盲腸扁桃における濾胞形成およびT細胞の集積は7日齢ごろに開始し、その形成はまず筋層側で生じていることが明らかとなった。そして、それらは21日齢になると、管腔側まで拡大しており、それ以降は日齢に伴う変化は見られなかった（図1）。

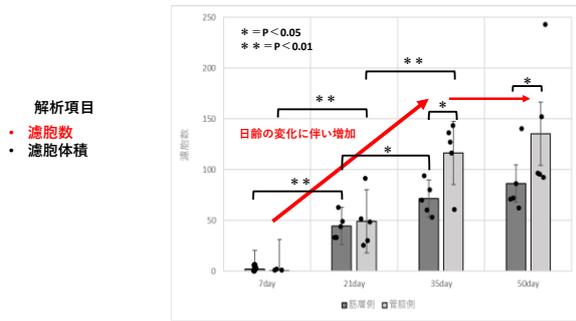
結果① 免疫細胞の局在変化の3次元的解析



さらに、B細胞濾胞構造の定量的解析を行った結果、濾胞数は筋層側・管腔側ともに、35日齢までは日齢の変化に伴い増加しており、その後は一定であった。また、濾胞体積は最小のものと最大のものとでは、100倍以上も差があることが明らかとなった。また、その平均は35日齢までは日齢に伴い増加していた。一方、50日齢では一定以上の大きさの濾胞数が著しく減少しており、濾胞はある一定のサイズを保つようにプログラムしていることが示唆された。

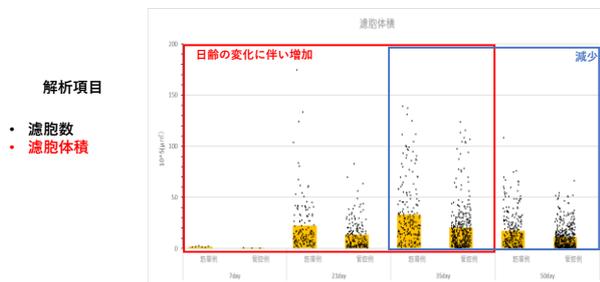
これらの結果は、結果は二次元の組織切片画像からでは得ることが不可能であった情報であり、本研究を通した3次元立体構築により、初めて明らかになった結果である。

結果② B細胞濾胞構造の定量的解析



免疫細胞の局在変化と同様に、濾胞の形成は7～21日齢の間に急激に行われ、35日齢まで続く

結果② B細胞濾胞構造の定量的解析



濾胞体積の増大も7～21日齢で顕著である一方で35～50日齢では体積は減少する

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、成長に伴う盲腸扁桃内の濾胞との形態形成には、成長につれて拡大し、その後、分裂することで、一定のサイズを保ちながら免疫機能を果たしていることが明らかとなった。これまで、畜産分野における免疫学的評価は、免疫成分や免疫細胞数に着眼しておこなわれてきた。しかしながら、本研究により、免疫臓器の組織構造を臓器レベルで解析することが可能となり、それらの発達時期に応じた、アプローチの必要が示唆された。さらに、免疫組織学染色とアザン染色等を組み合わせ、Amira に供することにより、組織構造と、免疫細胞の局在・集積の動態をより詳細に解析することが可能である。

代表者（古川睦実）が申請した関連課題はまた、令和5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、採択して頂いており、Amira を用いた三次元立体構築による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

現在、Amira を用いた免疫臓器の3D可視化に関する論文を作成中であることから、直接的な成果論文（原著論文）は無いが、以下のシンポジウムで口頭発表を行っている。

1. Anri Teshigahara、Morphological analysis of