



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Studies on Particle Uptake Mechanism in Newborn Bovine Ileum(内容の要旨(Summary))
Author(s)	SEIN LWIN
Report No.(Doctoral Degree)	博士(獣医学) 甲第306号
Issue Date	2010-03-15
Type	博士論文
Version	
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/33618

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（本（国）籍）	SEIN LWIN（ミャンマー連邦）
主指導教員名	岐阜大学 教授 石黒直隆
学位の種類	博士（獣医）
学位記番号	獣医博甲第306号
学位授与年月日	平成22年3月15日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	Studies on Particle Uptake Mechanism in Newborn Bovine Ileum (新生牛の回腸での物質取り込み機構に関する研究)
審査委員	主査 岐阜大学 教授 阿閉泰郎 副査 帯広畜産大学 教授 北村延夫 副査 岩手大学 教授 谷口和之 副査 東京農工大学 教授 本多英一 副査 岐阜大学 教授 石黒直隆

論文の内容の要旨

小腸の回腸遠位部のパイエル板は必要な栄養素を吸収するだけでなく、病原体が侵入する主要なポイントである。そのうえ、パイエル板の上皮細胞は主要な防衛バリアであり、病原体に対する初期の免疫応答を開始させるいくつかの免疫細胞が関与している。従って、多くの研究ではパイエル板からの初期の物質取り込みや物質の輸送に関与している免疫細胞の応答に焦点を絞り調べてきた。プリオン病の場合は、予防と治療の新しい戦略開発のため腸管における初期の病原性あるいはメカニズムを調べる研究が重要と考えられる。しかし、牛回腸での物質取り込みについて定量的に調べた研究は今まで行われていない。さらに、牛回腸遠位部での初期の物質取り込みに関与している免疫細胞の研究は少ない。本研究では、腸管の初期の物質取り込み機構に関与している免疫細胞と新生牛の回腸遠位部の取り込みを調べるため、病原体ではない物質を用いて研究を行った。

第一章では、牛回腸遠位部と空腸のパイエル板の物質取り込み機構と輸送に関して解析した。子牛のパイエル板での様々なサイズの物質の取り込みと輸送パターンを検討するために、新生牛4頭と2ヶ月齢牛2頭の腸管にループを作製した。墨, fluorescein isothiocyanate (FITC)標識 latex, FITC 標識 dextran, 牛血清, リコンビナントマウスプリオン蛋白質(rMPPrP)などを腸管ループに接種した。新生牛は投与後3, 6, 9, 24時間, 2ヶ月齢牛の場合24時間後に採取し, 組織学と免疫組織化学方法を用いて物質取り込みを検討した。WinRoof ソフトウェアを用いて物質取り込みの定量をシグナルインテンシティで示した。新生牛の回腸遠位部での取り込みは2ヶ月齢牛と比べ, シグナルインテンシティがより多かった。新生牛の回腸遠位部では墨, FITC 標識 latex, rMPPrP の取り込みは投与後6時間がピークだった。それ以降取り込みは少なくなった。さらに, 取り込みは腸管の部位と物質の大きさにより異なった。血流を介した墨, FITC 標識 latex, FITC 標識 dextran

の輸送が認められ、それらの物質が新生牛の腸間膜リンパ節と肝臓に認められた。rMPPrPは新生牛の回腸遠位部のパイエル板の濾胞間に多く見られ、投与後6時間が取り込みのピークだった。

第二章では、墨を投与した新生牛と2ヶ月齢牛の回腸遠位部のパイエル板の中の免疫細胞の分布を検討した。新生牛のパイエル板からのrMPPrPの初期の取り込みと輸送に関与している免疫細胞のタイプを、CD11c, CD14, CD68, CD172a, CD21の抗体を用いて検討した。CD11c⁺, CD14⁺, CD68⁺, CD172a⁺, CD21⁺の免疫細胞は新生牛と2ヶ月齢牛のパイエル板の絨毛, ドーム, 濾胞間と濾胞内などのコンパートメントに広く分布することが明らかとなった。その免疫細胞の中でCD11c⁺, CD14⁺, CD172a⁺, CD21⁺のドームにおける分布は2ヶ月齢牛と比べ、新生牛でより多かった。rMPPrPを含むCD11c⁺樹状細胞, CD14⁺, CD172a⁺, CD68⁺マクロファージ細胞, CD21⁺濾胞樹状細胞はドームと濾胞内のコンパートメントに主に認められた。rMPPrPを含むCD11c⁺, CD14⁺, CD68⁺, CD172a⁺細胞は絨毛コンパートメントに認められた。濾胞間ではrMPPrPを含むCD11c⁺とCD172a⁺細胞のみが認められた。また、rMPPrPを含むCD172a⁺とCD68⁺tingible bodyマクロファージは濾胞内に主に認められた。従って、rMPPrPの輸送の経路は、樹状細胞がrMPPrPをプライマリーエントリーサイトから取り込み濾胞間からリンパ節に輸送する経路と、マクロファージが取り込み濾胞内に輸送する経路の二つが存在すると考えられた。

本研究で用いた物質は病原性を示す蛋白質ではない。しかし、本研究の結果は牛モデルを用いてパイエル板の取り込みと輸送に関与する免疫細胞の機能について示した。病原体を用いた解析と比べ、病原体ではない物質を用いた解析は取り扱いが容易で、より詳細な解析が可能であり、プリオン病研究の有用なモデルになると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

ウシ小腸の回腸遠位部のパイエル板は、栄養の吸収部であるとともに、腸管免疫において重要な役割を果たす組織である。ウシ回腸遠位部は、牛海綿状脳症(BSE)のプリオンの取り込み部位とされ、腸管の組織内に取り込まれたプリオンが、増幅して神経系に移行する部位ではないかと考えられている。しかし、ウシ回腸での外来抗原の取り込みに関して定量的に解析したデータは少なく、また、初期の取りこみに関与する免疫系細胞についての解析も少ない。そこで、申請者はウシ小腸での外来抗原の取り込みを定量的に明らかにすることを目的に、ウシに腸管ループを作製して病原性の少ない数種の物質を投与し、小腸での物質の取り込み能を解析した。また、申請者はウシ回腸での物質取り込みに関与する免疫系細胞についても解析した。

第一章では、新生牛の腸管ループに墨, fluorescein isothiocyanate(FITC)標識 latex, FITC 標識 dextran, 血清およびリコンビナントマウスプリオン蛋白質(rMPPrP)を投与後、経時的に腸管ループを採取して免疫組織化学的に取り込み能を解析した。その結果、新生牛の取り込み能は2ヶ月齢のウシに比べて旺盛であり、投与後6時間が最も旺盛であった。また、腸管から取り込まれた墨やFITC標識 dextranは、腸間膜リンパ節と肝臓に蓄積していた。

第二章では、腸管ループにrMPPrPを投与し、腸管での取り込みと輸送に関与する免疫系細胞を各種CD抗体にて解析した。CD11c⁺, CD14⁺, CD68⁺, CD172a⁺, CD21⁺陽性細胞は、新生牛と2ヶ月齢牛の回腸パイエル板の絨毛, ドーム, 濾胞間と濾胞内などのコンパートメントに広く分布することを明らかにした。rMPPrPを含むCD11c⁺とCD14⁺樹状細胞, CD172a⁺とCD68⁺マクロファージおよびCD21⁺濾胞樹状細胞は、ドームと濾胞内に検出された。一方、濾胞間ではCD11c⁺とCD172a⁺細胞のみがrMPPrPを保有していた。また、rMPPrPを含むCD172a⁺とCD68⁺tingible bodyマクロファージは濾胞内に認められた。これらの解析から、樹状細胞がrMPPrPを濾胞間からリンパ組織に輸送すること、また、マクロファージが濾胞内に輸送することを明らかにした。

本研究では、ウシ腸管での物質の取り込み機構を経時的に解明すると共に、パイエル板内に取り込まれたrMPPrPが各種免疫系細胞により運ばれる実態を明らかにした。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Uptake and transport of foreign particles in Peyer's patches of both distal ileum and jejunum of calves
著 者 名 : Sein Lwin, Inoshima, Y., Ueno, H. and Ishiguro, N.
学術雑誌名 : Cell and Tissue Research
巻・号・頁・発行年 : 337 (1) : 125-135, 2009
- 2) 題 目 : Immune cell types involved in early uptake and transport of recombinant mouse prion protein in Peyer's patches of calves
著 者 名 : Sein Lwin, Inoshima, Y., Atoji, Y., Ueno, H. and Ishiguro, N.
学術雑誌名 : Cell and Tissue Research
巻・号・頁・発行年 : 338 (3) : 343-354, 2009