The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Thymic Nurse Cells as the Site of Thymocyte Apoptosis and Apoptotic Cell Clearance in the Thymus of Cyclophosphamide-Treated Mice
Author(s)	平峯, 千春
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41020
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【 16 】

氏　　名	平　峯　千　春（ひら みね ち はる）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　13292　号
学位授与年月日	平成 9 年 5 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Thymic Nurse Cells as the Site of Thymocyte Apoptosis and Apoptotic Cell Clearance in the Thymus of Cyclophosphamide-Treated Mice **(シクロホスファミド投与マウスの胸腺におけるＴ細胞のアポトーシスの生成と消化の場としての胸腺ナース細胞)**
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 宮坂 昌之 (副査) 教 授 濱岡 利之　教 授 平野 俊夫

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

未熟な胸腺Ｔ細胞は，胸腺微小環境内での正・負の選択やＴ細胞レセプター遺伝子の再構成の過程で数%だけが生き残り，大部分は胸腺内でアポトーシスによって消滅するものと考えられているが，その機構に関しては明らかではない。一方，胸腺ナース細胞（TNC）は，多数の生きた胸腺リンパ球を包み込み in vitro で特異な球状形態を示す胸腺上皮細胞（ナーシング胸腺上皮細胞）に対して，あるいはこのようなリンパ球と上皮細胞からなるリンパ球包入球状体全体に対して名付けられたもので，未熟な胸腺Ｔ細胞の分化・成熟の場として注目されてきた。正常マウス胸腺から樹立したナーシング胸腺上皮細胞/TNC 株には，未熟胸腺リンパ球の分化・増殖・成熟のみならず，アポトーシス誘導能があることを認めている。本研究では，胸腺内に生じる多数のアポトーシスＴ細胞が如何にして処理されるかを明らかにする目的で，シクロホスファミド(CY)投与により胸腺Ｔ細胞のアポトーシスが増強された状態での胸腺組織について電子顕微鏡による検索を行った。

[方法ならびに成績]

1．CY を大量（200 mg/kg）に 1 回腹腔内投与された正常 BALB/c マウス（8 週齢，♂）の胸腺では，皮質の著しい狭小化と胸腺リンパ球数の激減がみられた。胸腺リンパ球のフローサイトメトリー解析を行ったところ，最も減少が著しいのは $CD3^-$，$CD4^+CD8^+$T 細胞で，CY 投与48h 後に最低値を示し，2 週間後にほぼ正常値まで回復した。

2．CY 投与 8 ～20h の胸腺組織には，1 ～ 2 個の生きた成熟リンパ球と多数のアポトーシスリンパ球やアポトーシス小体，および消化過程にある変性アポトーシス細胞を包含する TNC 様構造が多数出現した。これらのほとんどは上皮細胞由来であったが，約 5 %はマクロファージ(Mφ)由来で，Mφ の中にも TNC 様の形態を示すものが認められた。胸腺組織からトリプシンと EDTA 処理により in vitro に取り出した TNC においても同様の結果であった。CY 投与により胸腺リンパ球に DNA 断片化が生じていることは，胸腺リンパ球から抽出した DNA の電気泳動および in situ nick translation 法により確認した。

3．上皮細胞由来の TNC 様構造は胸腺被膜直下，皮質外層，皮質血管周囲および髄質の一部に存在しており，Mφ 由

来のものは皮質全体に散在していた。また，1～2個の生きたリンパ球の他はほとんどがアポトーシス細胞からなるTNC様構造と，ほとんどが生きたリンパ球からなるものとが存在し，TNC内でのアポトーシスの生成には同調性がみられた。

4．CY投与24h後には増加していたアポトーシス細胞のほとんどが消失し正常胸腺組織と同程度となったが，ナーシング胸腺上皮細胞の細胞質内には大小の空胞が多数みられ，空胞は次第に小型化した。ナーシング胸腺上皮細胞のリソソームはMφに較べると小型で目立たないが，包含している胸腺リンパ球にアポトーシスが出現しはじめると，リソソームの数が増加し，酸性ホスファターゼ活性を示すファゴリソソーム形成が認められた。このことは，ナーシング胸腺上皮細胞にアポトーシスリンパ球を消化する能力があることを示すものである。代表的なリソソーム酵素である酸性ホスファターゼ活性は，Gomori法を用いた電顕観察により検出した。

5．CY投与4h前後には，TNC単位のアポトーシスはほとんど認められず，TNCの外に生じたアポトーシス細胞はナーシングMφよりは小型の，貪食専門のMφによって貪食され，皮質全体に散在性に存在していた。

6．Mφの場合はアポトーシス細胞を完全に消化し，後に残余小体も空胞も残さないが，ナーシング胸腺上皮細胞には残余小体を含む1～1.5 μmの小空胞(分泌顆粒とは異なる)が残った。これは，正常の胸腺皮質上皮およびin vitroに取り出したTNCに典型的な，由来不明の構造としてこれまでに報告されてきたものに相当すると思われる。

[総括]

上皮細胞由来TNC/ナーシング胸腺上皮細胞は未熟な胸腺リンパ球を包み込んで保育するという従来のナーシング機能と同時に，アポトーシス胸腺リンパ球の生成と消化の場としての機能を有していた。これまで，Mφのみによって貪食されると考えられていた胸腺内のアポトーシスリンパ球が，TNC内に生じたものはナーシング胸腺上皮細胞(一部はナーシングMφ)によって，TNC外に生じたものは貪食専門のMφによって十分に消化され得ることが明らかとなった。本研究は，CY投与が胸腺$CD4^+CD8^+$T細胞にアポトーシスを誘導し得ることも明らかにした。

論文審査の結果の要旨

胸腺内ではT細胞の分化・成熟過程で未熟な胸腺T細胞の大部分がアポトーシスによって消滅するものと考えられているが，その処理機構に関しては明らかにされていない。本研究は，胸腺内に生じる多数のアポトーシスT細胞が，如何にして処理されるかを明らかにする目的で，シクロホスファミド投与により胸腺T細胞のアポトーシスが増強された状態でのマウス胸腺組織について検索を行ったものである。その結果，胸腺上皮細胞由来のナース細胞(TNC)/ナーシング胸腺上皮細胞が未熟な胸腺リンパ球を包み込んで分化・成熟させるという従来のナーシング機能と同時に，アポトーシス胸腺リンパ球の生成と消化の場としての機能を有していること，マクロファージ(Mφ)の中にも数は少ないがナース細胞様の形態と機能を有するもの(ナーシングMφ)が存在することを見い出した。これまで，Mφのみによって貪食されると考えられていた胸腺内のアポトーシスリンパ球が，ナース細胞内に生じたものはナーシング胸腺上皮細胞(一部はナーシングMφ)によって，ナース細胞外に生じたものは貪食専門のMφによって十分に消化され得ることが明らかとなった。また，これまで，由来不明とされていたTNCおよび胸腺皮質上皮に特徴的な高電子密度物質を含む小空胞が，アポトーシス細胞消化後のものであること，さらにシクロホスファミド投与が胸腺$CD4^+$ $CD8^+$T細胞にアポトーシスを誘導し得ることも明らかにしており，本研究は学位に値すると考える。