

Title	Characteristics of Claudin Expression in Follicle-Associated Epithelium of Peyer's Patches : Preferential Localization of Claudin-4 at the Apex of the Dome Region
Author(s)	玉川, 浩司
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45248
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	たまがわひろし 玉川浩司
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 18104 号
学位授与年月日	平成 15 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Characteristics of Claudin Expression in Follicle-Associated Epithelium of Peyer's Patches ; Preferential Localization of Claudin-4 at the Apex of the Dome Region (パイエル板濾胞上皮におけるクローディン発現の特徴 : ドーム頂部におけるクローディン 4 の好発現)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉 (副査) 教授 高井 義美 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

[目 的]

パイエル板をはじめとする gut associate lymphoreticular tissue (GALT) は腸管からの抗原取り込み、抗原提示と IgA 産生にかかわる器官である。パイエル板のドームは絨毛上皮とは若干性質の異なる一層の上皮 (follicle associated epithelium ; FAE) で被覆されている。また上皮は一般に外来抗原や細菌の侵入を防ぐための防御機構を有している。その一つが tight junction、adherens junction、desmosome からなる細胞間接着機構である。その中で最も管腔側に存在する tight junction は occludin、数種の claudin と junctional adhesion molecule (JAM) といった膜貫通蛋白から構成されることが同定された。

本研究ではパイエル板上皮に着目し、抗原取り込み能を有することより絨毛上皮に比して上皮間接着機構に相違があるのではとの仮説のもと、tight junction の構成蛋白の観点から特異性を検討すべく解析を行った。

[方法ならびに成績]

1) マウス腸管絨毛上皮における claudin の発現パターン

まず C57BL/6 マウスを対象とし、腸管における claudin の発現とその局在を確認した。マウス腸管の凍結切片を作成、免疫染色には一次抗体としてマウスの claudin-2、-3、-4 に対するポリクローナル抗体、および occludin に対するモノクローナル抗体を、また二次抗体として anti-rabbit IgG 抗体を用い、レーザー顕微鏡にて観察した。マウスの小腸の絨毛上皮においては claudin-2、-3、-4、occludin の発現を認めたが、その局在に相違を認めた。すなわち claudin-2 は絨毛の crypt に限局して発現を認めた。claudin-3 は絨毛上皮全体に発現、claudin-4 は絨毛の先端、しかも一部の tip に全周性の発現を認めた。occludin は claudin-3 と同様、上皮全般に発現を認めた。これらの発現パターンは大腸上皮においても同様に認められた。

2) マウス FAE における claudin の発現パターン

次に C57BL/6 マウスの FAE における claudin の発現とその局在を確認した。claudin-2 は、FAE では発現を認めず、claudin-3 は絨毛上皮と同様、FAE においても一様に発現を認めた。一方 claudin-4 は FAE に広範に発現を認め、しかも上皮の基底膜側にも発現を認めた。occludin は claudin-3 と同様、FAE 全般に発現を認めた。

これらの免疫染色所見を遺伝子レベルにおいても確認した。FAE と絨毛上皮の tip 側および crypt 側の 3 箇所から上皮細胞を分離、mRNA を抽出した。RT-PCR 法にて occludin、claudin-4 の発現を確認したが、絨毛上皮 crypt 側に比して FAE と絨毛上皮の tip では claudin-4 の強発現を認めた。

claudin-4 が絨毛の先端にのみ発現していることより apoptosis との関与が疑われ、マウス小腸において TUNEL 染色を施行し、claudin-4 との染色パターンを比較検討した。一部の絨毛上皮先端とパイエル板ドーム部において TUNEL 陽性細胞を認め、claudin-4 の発現部位に相当していた。

3) パイエル板欠損マウスの腸上皮における claudin 発現パターン

最後にパイエル板欠損マウスにおける絨毛上皮の claudin 発現パターンを検索した。パイエル板欠損マウスとして LT- α 欠損マウス、aly/aly マウス、C γ 欠損マウスを用い、claudin-2、-3、-4 と occludin の発現を免疫染色法にて検索した。その結果、いずれのパイエル板欠損マウスにおいても野生型と同様の発現パターンを示した。さらに空腸上部、回腸下部のパイエル板好発部位を詳細に検索したが、特異な発現パターンは認めなかった。

[総 括]

マウス腸管においては claudin-3、occludin が絨毛上皮全般に発現しているのに対し、claudin-2 は crypt 側のみに発現、claudin-4 は一部の絨毛先端に不規則な発現を認めた。

FAE でも claudin-3、occludin は FAE 全般に認められたが、crypt 側の claudin-2 の無発現と頂部の claudin-4 の好発現が認められた。特に claudin-4 は FAE に広く強発現を認めた。また、claudin-4 の発現部位は TUNEL 陽性細胞の存在と相同性を認めた。パイエル板欠損マウスの腸管においては、野生型と同様の claudin 発現パターンを認めた。

以上、パイエル板をはじめとする GALT の FAE における tight junction 構成蛋白の特徴として claudin-4 の好発現を認めた。

論文審査の結果の要旨

炎症性腸疾患をはじめ、腸内の細菌や抗原が発病に関与すると考えられる疾患が存在し、腸上皮の構造には解明すべき点が多い。特に免疫誘導器官のパイエル板は抗原摂取能を有しており、絨毛上皮とは異なる構造を持つ可能性がある。本研究では上皮細胞間隙に存在するタイトジャンクションに着目し、その構造構成蛋白の観点からパイエル板上皮の特徴を捉えることを目的とした。

マウス腸管上皮に発現するクロードイン 2、3、4、オクルディンに関する免疫組織学的検索を行った。いずれの蛋白も絨毛上皮、パイエル板上皮で発現を認めたが、最も顕著な相違はパイエル板上皮におけるクロードイン 4 の広範かつ強発現という点であった。またパイエル板上皮では基底膜側にもクロードイン 4 の発現を認めた。以上よりクロードイン 4 はマウスパイエル板上皮に好発現しており、絨毛上皮と異なるタイトジャンクション構造を有する可能性が示された。

本研究は、今まで知見が得られていなかったパイエル板上皮の特徴を、タイトジャンクションの構成蛋白の点で明らかにした。これは腸上皮の構造解明、さらには炎症性腸疾患などの発病機序の解明につながる可能性を持ち、学位授与に値するものと考えられる。