

IIB-29

マウスリンパ器官における Glutamate Decarboxylase の発現に関する検討—特に、胸腺において

前村 憲太郎¹⁾、柳川 右千夫²⁾、小幡 邦彦³⁾、平田 一郎、川上 研⁴⁾、渡辺 正仁¹⁾

¹⁾大阪医科大学 第二解剖学、²⁾群馬大学大学院医学系研究科脳神経発達統制学講座／科学技術振興機構 SORST、³⁾理化学研究所 脳科学総合研究センター神経回路メカニズム研究グループ、⁴⁾大阪医科大学 第二内科

【目的】Glutamate Decarboxylase (GAD)は、脳における主要な抑制性神経伝達物質である GABA をグルタミン酸から生成する酵素である。しかしながら、GAD は神経組織のみならず膵臓、精巣などの特定の末梢組織に特異的に発現している。特に膵臓のβ細胞に発現している GAD は I 型糖尿病のターゲット分子の一つにもなっている。近年、これら組織特異的抗原は胸腺において異所性に抗原提示細胞で転写・発現されることにより免疫寛容が誘導され、自己反応性リンパ球が排除されていると考えられている。しかしながら、現在のところ、胸腺において自己抗原を表出する抗原提示細胞の細胞種が何であるかに関して統一見解が得られていない。そこで今回我々は、GAD67-GFP ノックインマウスを使用して、胸腺における GAD 発現細胞の同定を行った。また末梢リンパ器官に関しても検討を行った。

【方法】ノックインマウスの胸腺および末梢リンパ組織(脾臓、腸間膜リンパ節、パイエル板)の凍結切片および分離細胞を用い免疫組織学的に検討した。胸腺由来細胞の免疫染色は、anti-IA/IE、樹状細胞のマーカーとして anti-CD205、anti-CD11c、マクロファージのマーカーとして F4/80、anti-Ly-6G (Gr-1)、anti-CD11b、B 細胞マーカーとして anti-CD45R/B220、上皮細胞のマーカーとしては anti-cytokeratin、UEA-I レクチンを使用した。

【結果】GFP 発現細胞は、胸腺および末梢リンパ器官に観察された。胸腺においては、GFP 発現細胞は髄質に局限しており、そのほとんどが免疫組織学的に MHC-class II 抗原⁺、CD205⁻、CD11c⁻、F4/80⁻、Ly-6G⁻、CD11b⁻、CD45R/B220⁻、cytokeratin⁺、UEA-I レクチン⁺の上皮細胞であった。

【考察】自己抗原の一つである GAD67は、胸腺においては、抗原提示細胞の一つである胸腺髄質上皮細胞で発現されており、そこで T 細胞の negative selection が行われているのではないかと示唆された。

IIB-30

N-methyl-N-nitrosourea(MNU)誘発眼病変の長期観察

三木 克朗 塚本 麗子 義澤 克彦 松岡 洋一郎
四方 伸明 螺良 愛郎

関西医科大学 病理学第二

【目的】N-methyl-N-nitrosourea(MNU)は、ラットの網膜視細胞ならびに水晶体上皮細胞に標的をもち、各の視細胞変性症や白内障を惹起することが知られている。しかし、長期における形態学的、組織化学的観察は未だなされていない。そこで、雌 Lewis ラットを用いて MNU 投与30週におよぶ長期観察を行った。

【方法】50日齢雌 Lewis ラットに 50mg/kg・MNU を単回腹腔内投与し、30 週後(生後260日齢)に屠殺し、眼球を摘出し、1眼をメタカルン固定、他眼をホルマリン固定して、HE 染色とともに TUNEL 染色や Vimentin、Glial acidic fibrillary protein(GFAP)や Actin 染色を行い評価した。

【結果】網膜後極部では視細胞の消失にとどまらず、網膜内層の神経細胞の脱落が認められ、障害は網膜辺縁部に波及していたが、毛様体近傍では正常網膜形態をとどめる個体もみられた。網膜後極部では、神経細胞核の消滅が顕著で、TUNEL 陽性を呈する細胞はみられず、Vimentin やGFAP陽性細胞で置換されていた。一方水晶体の白濁は肉眼的に一部の個体で経過中に認識され、組織学的には成熟白内障を呈していたが、肉眼的に正常とみられた個体でも、皮質に局限する水晶体繊維の膨化と Actin 陽性所見が見られた。

【考察】MNU誘発網膜変性症は視細胞アポトーシスに起因し、50mg/kg・MNU の単回投与後35日では網膜内層には変化をみないが、210日におよぶ長期観察では二次的に網膜内層の変化をみる事が判明した。幼若動物は、MNU 誘発白内障に対して感受性が高く、30日の経過で病像の完成をみるが、成熟動物では長期を要したが、程度の差はあれ、白内障の誘発をみた。

【結論】50日齢のラットに 50mg/kg・MNUを単回投与すると、210日後では網膜変性症ならびに白内障をみた。ヒト疾患の解析に有用なモデルと考える。