



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	RANKL regulates the differentiation of microfold cells in mouse nasopharynx-associated lymphoid tissue(NALT) [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	武藤, 麻未
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12148号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62050
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mami_Mutoh_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 武藤 麻未

主査 教授 飯田順一郎
審査担当者 副査 教授 網塚 憲生
副査 教授 進藤 正信
副査 教授 岩永 敏彦 （医学研究科）

学 位 論 文 題 名

RANKL regulates the differentiation of microfold cells in mouse nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT)

(RANKL はマウス鼻咽頭関連リンパ組織の M 細胞分化を調節する)

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

口腔・鼻腔は外界とつながる体内への物質の主要な導入部である。特に鼻腔は鼻孔近傍のごく一部が皮膚から連続する厚い重層扁平上皮で守られているものの、その奥は単層の多列繊毛上皮で形成され、微生物などの異物に対して弱い構造をとる。そのため、ヒトではワルダイエル咽頭輪というリンパ性器官が口腔・鼻腔を取り囲むように配置され、免疫システムが発達している部位である。

口呼吸をほとんど行わないマウスでは、口蓋と舌にリンパ小節は認められず、鼻腔奥に一對のリンパ濾胞が存在しているのみである。この部位は鼻咽頭関連リンパ組織 Nasal-Associated Lymphoid Tissues (NALT) と呼ばれる。NALT は口腔・鼻腔からの感染に対する免疫応答の中心的な役割を果たすことから、ワルダイエル咽頭輪に相当する器官であると考えられている。NALT を覆う濾胞被蓋上皮には Microfold 細胞 (M 細胞) と呼ばれる特殊な上皮細胞が存在し、管腔内抗原の取り込みはこの細胞を通じて行われている。M 細胞は鼻腔内の抗原に最初に接触し体内へと取り込む細胞である。ここ数年の研究で NALT と類似した器官である腸管パイエル板の M 細胞の解析が進んでいるが、NALT M 細胞の研究はほとんど行われていない。以上のような背景から、申請者は頭頸部における粘膜免疫応答機構の理解を深めることを目的として、NALT M 細胞の解剖学的形態、発現分子、分化制御機構の解析を行った。

申請者は本研究に 7 週令～20 週令の BALB/c 系統の雄マウスを使用し、初めに組織化学的解析、すなわち、免疫染色法、*in situ* hybridization (ISH) 法、免疫電子顕

顕微鏡法，走査電子顕微鏡法を用いることで NALT 濾胞上皮の性状解析を行った．その結果，濾胞上皮には GP2, Tnfaip2, Spi-B 抗体で染色される細胞が存在しており，この細胞は古典的なパイエル板 M 細胞マーカーである UEA-1 レクチンと反応した．濾胞上皮の GP2 陽性細胞は腸管パイエル板 M 細胞の形態的な特長を有していることが電子顕微鏡，走査顕微鏡観察から明らかになった．

つづいて，蛍光ポリスチレンビーズを点鼻し，GP2 陽性細胞が鼻腔内の蛍光ビーズを取り込む能力を持っていることを示した．これらの解析から，申請者はこの細胞が腸管 M 細胞に相当する NALT M 細胞であると結論づけた．

申請者は NALT の詳細な免疫組織化学解析によって，濾胞上皮に RANK が発現していること，またリガンド RANKL を濾胞上皮下のストローマ細胞が発現していることを明らかにしている．これは RANKL-RANK シグナルが NALT M 細胞の分化の制御に働くことを示唆している．この仮説を証明するために，申請者は大腸菌で精製したリコンビナント RANKL の腹腔内投与によって NALT M 細胞の増加を確認している．

以上の成果は，NALT M 細胞がパイエル板 M 細胞と基本的性質を同一とすることを示した初めての研究成果である．さらに，NALT M 細胞のマーカーとして GP2 と Tnfaip2 が有用であることを示している．一方で RANK の発現は鼻腔では M 細胞に局限しており，上皮全体で発現している腸管とは異なっていた．RANKL 投与マウスでは腸管上皮全体にわたって M 細胞の誘導が認められるのに対して，鼻腔では M 細胞の誘導は NALT 濾胞上皮に局限し，他の鼻腔上皮には認められない．これは，連続している NALT 濾胞上皮と周辺の鼻腔上皮は性質が異なることを示している．腸管上皮幹細胞は絨毛上皮と濾胞上皮の両方が RANKL 存在下で M 細胞へと分化する能力を持っているが，鼻腔上皮では RANKL に応答するのは濾胞上皮の幹細胞だけである可能性を示唆している．

引き続き論文内容及び関連事項について，以下の項目を中心に質疑応答がなされた．

- (1) M 細胞特有の形態についての詳細
- (2) NALT リンパ濾胞の基本的性質についての最近の知見
- (3) GP2 Tnfaip2 UEA-1 RelB Spi-B の免疫染色結果並びに各分子の機能について
- (4) M 細胞のトランスサイトシス経路について
- (5) RANKL-RANK による M 細胞分化に対する考察

これらの質問に対して，申請者は適切な説明によって回答し，本研究の内容を中心とした専門分野はもとより，関連分野について十分な理解と学識を有していることが確認された．

本研究は，NALT M 細胞の発現分子解析，分化機構を明らかにした初の報告であり高く評価された．本研究の内容は，歯科医学の発展に十分に貢献するものであり，審査担当者全員は，学位申請者が博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認めた．