

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860495

研究課題名(和文) ストレス性の胸腺退縮剖検例における胸腺ストローマ細胞の分子生物学的な変化

研究課題名(英文) Molecular biological approach to thymic stromal cell in involuted thymus

## 研究代表者

阿部 俊太郎 (Shuntaro, Abe)

大阪医科大学・医学部・助教

研究者番号：80335116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：法医剖検例から得られたストレス性退縮胸腺とコントロール胸腺に、レプチンレセプター抗体とインターロイキン7レセプター抗体を使用した免疫染色を実施して比較した。実験結果について、ストレス群別に解析を行ったが、明らかなストレス源による差は検出できなかった。しかしながら、本研究から得られた成果は胸腺におけるハッサル小体の機能解析やストレス性退縮胸腺における線維化の機序の解明に役立つ可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Immunostaining for leptin receptor and interleukin-7 receptor were performed in involuted thymus obtained from forensic autopsy. However, differences in cause of stress between involuted and control thymus were not detected. However, result of this research may be useful for elucidation of Hassall's corpuscle function and cause of fibril formation at stress induced involuted thymus.

研究分野：法医学

キーワード：胸腺 ストレス 児童虐待

## 1. 研究開始当初の背景

胸腺は急性のストレスに鋭敏に反応して急性退縮を起こす。法医学の領域では小児における胸腺退縮の所見は虐待を含む強いストレスを示唆する痕跡として重要視されているが、退縮の指標はもっぱら肉眼所見と胸腺重量に基づいており、解剖結果から生前に加わったストレスについての具体的な情報はほとんど得られない。その一方で児童虐待、高齢者虐待などの問題がクローズアップされ、加えられたストレスの程度、種類、期間などを判断するためには法医解剖で得られる試料を科学的に分析しなければならない。その分析手法として分子生物学的アプローチが有用と考えた。

## 2. 研究の目的

急性の胸腺退縮は重症感染症、薬物、飢餓、HIV 感染、虐待などの様々なストレスによって生じる。ストレスによる胸腺の急性退縮はストレス刺激によって副腎からグルココルチコイド (GC) が大量かつ継続的に分泌され、GC が皮質胸腺細胞に作用してアポトーシスを誘発して起こる。しかしアポトーシスを起こした皮質胸腺細胞は胸腺マクロファージによって速やかに取り除かれるので、皮質胸腺細胞からストレスの痕跡を直接的に検索することは困難である。そこで、本研究では胸腺網内系を形成し、GC による直接的なアポトーシスの対象とならない胸腺ストローマ細胞を対象に選び、これを分子生物学的に解析してストレスの程度、種類、期間などを判断できないかと考えた。

## 3. 研究の方法

### (1) ストレスモデル動物を用いた予備実験の実施

飢餓ストレスモデルマウスおよび拘束ストレスモデルマウスから得られた胸腺組織に GC レセプター、レプチンレセプター、interleukin-7 (IL-7) レセプターなどの免疫染色を実施した。結果を画像解析して髄質・

皮質比、細胞密度などを定量化した。定量化したデータは統計的に解析を行った。

### (2) 法医剖検例の解析

剖検に際して凍結胸腺とホルマリン固定胸腺を採取し、これらの胸腺組織に対してレプチンレセプター、IL-7 レセプターの免疫染色を実施した。結果を画像解析して髄質・皮質比、細胞密度などを定量化した。コントロール群と退縮胸腺群に分けて定量化したデータは統計的に解析を行った。同時に退縮胸腺群では記録から事例の調査を行い児童虐待、高齢者虐待、飢餓、長期入院、感染症などのストレス源による違い、暴露期間による違いなどによって分類して比較した。

レプチンレセプターの免疫染色を行った事例については血中レプチンの濃度を測定し、胸腺所見と比較した。

研究は全て施設内の倫理委員会などの各種委員会に申請し、承認を得て研究を実施した。

## 4. 研究成果

### (1) 動物実験の実施

動物実験の結果を検討したところ、飢餓ストレスモデルマウスおよび拘束ストレスモデルマウスの間でこれらの所見に明らかな差は認められなかった。しかしながら、レプチンレセプターと IL-7 レセプターの免疫染色の結果を検討したところ、それぞれのレセプターを発現する胸腺ストローマ細胞の分布に興味深い結果を呈したので、これらの 2 分子を対象として引き続いて実験を行った。

### (2) 法医剖検例における検討

退縮胸腺を認めた群と退縮を認めなかった群の 2 群に分けて以下の検討を行った。

レプチンレセプターの免疫染色の結果、退縮胸腺についても非退縮胸腺についても胸腺髄質のハッサル小体に高度な発現が認められた。このほかに胸腺髄質と胸腺皮質の上皮細胞にも陽性を示す細胞が散在していた。測定が可能な事例については血中レプチン濃度を測定して胸腺所見と比較検討を行っ

た。これまでに死後血から血中レプチン濃度を測定・評価した報告はなく、多数の事例で血中レプチン濃度を測定して死後変化の検討などを行った。成人例で血中レプチン濃度は女性が高く、皮下脂肪量に相関したことから、血中のレプチン濃度の意義を考える場合には脂肪量と性別による補正を必要とすると考えられた。補正を加えた血中レプチン濃度と胸腺中のレプチンレセプター陽性胸腺ストローマ細胞との関連を調査したが、有意な結果は得られなかった。一方、小児例で血中レプチン濃度は高い傾向が認められたが、小児例の集積が不十分で検討が出来なかった。

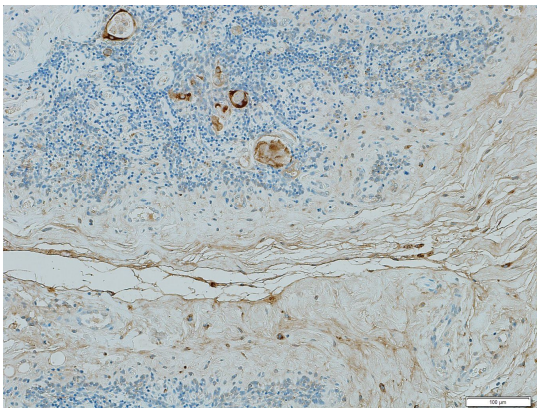


図 1. 退縮胸腺におけるレプチンレセプター陽性細胞の分布

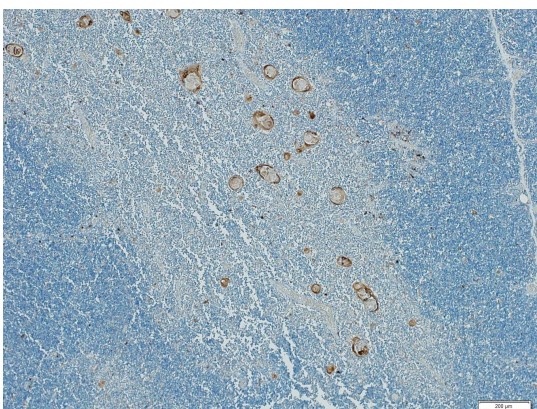


図 2. 非退縮胸腺におけるレプチンレセプター陽性細胞の分布

IL-7 レセプターの免疫染色の結果、染色に陽性を示す胸腺ストローマ細胞の分布は特徴的だった。ストレス性退縮胸腺では胸腺細

胞のアポトーシスによる減少だけでなく、高度な線維化を認める。これは加齢による胸腺の生理的退縮と比較して特徴的な変化であるが、非退縮胸腺では主に皮質に散在していた陽性細胞が、退縮群では線維化組織の内部に多数分布していた。

実験結果について、ストレス群別に解析を行ったが、レプチンレセプター、IL-7 レセプター陽性胸腺ストローマ細胞の解析結果から明らかなストレス源による差は認められなかった。特に小児虐待、高齢者虐待の事例は例数が少ないことから検討が困難だった。

レプチンレセプター免疫染色は、これまで機能が不明であったハッサル小体に発現が認められ、ハッサル小体の機能の解明に資する可能性がある。また、IL-7 レセプター抗体陽性胸腺ストローマ細胞の分布には特徴的な所見が認められ、退縮胸腺における IL-7 レセプター抗体陽性胸腺ストローマ細胞には一定の役割あるものと思われた。

今後は退縮胸腺においてその他の分子についても検討を行いたいと考えている。また、今回の成果から得られた情報を基にして、ストレス性退縮胸腺に認められる線維化の機序の解明やハッサル小体の機能解析も行いたいと考えている。

研究の一部は第 100 次日本法医学会総会（東京）で発表を行い、現在論文としてとりまとめを行っている。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Abe S, Hasegawa I, Vogel H, Heinemann A, Suzuki K, Püschel K. Evaluation of thymic volume by postmortem computed tomography. Leg Med. 査読有. 17(4): 251-4. 2015

Abe S, Okada Y, Sato T, Suzuki K. Multiple infectious pseudoaneurysms:

An autopsy case. Leg Med. 査読有 .  
17(6): 512-20. 2015. doi:  
10.1016/j.legalmed.2015.10.011  
Sato T, Zaitzu K, Tsuboi K, Nomura M,  
Kusano M, Shima N, Abe S, Ishii A,  
Tsuchihashi H, Suzuki K. A  
preliminary study on postmortem  
interval estimation of suffocated  
rats by GC-MS/MS-based plasma  
metabolic profiling. Anal Bioanal  
Chem. 査読有 .407(13): 3659-65. 2015.  
Sato T, Tsuboi K, Nomura M, Iwata M,  
Abe S, Tamura A, Tsuchihashi H, Nishio  
H, Suzuki K. Traumatic basal  
subarachnoid hemorrhage suspected to  
have been caused by contrecoup  
cerebellar contusions: a case report.  
Leg Med. 査読有 . 16(2): 92-4. 2014.

[学会発表](計 10 件)

阿部 俊太郎, 佐藤 貴子, 齊藤 高志,  
野村 和克, 坪井 健人, 岩田 美佐, 鈴  
木 廣一. 特異な冠状動脈狭窄性病変を  
認めた乳児の 1 剖検例. 第 62 回日本法  
医学会学術近畿地方集会. 2015 年 11 月  
14 日. 京都府京都市.  
阿部 俊太郎, 佐藤 貴子, 野村 和克,  
坪井 健人, 岩田 美佐, 田村 明敬, 土  
橋 均, 鈴木 廣一. 多発性仮性動脈瘤  
の 1 剖検例. 第 99 回日本法医学会総会.  
2015 年 6 月 10 日. 高知県高知市.  
井上 顕, 福永 龍繁, 阿部 俊太郎, 那  
谷 雅之. 自殺率と関連要因の有無につ  
いての考察-三重県津市における経済因  
子の中から. 第 99 回日本法医学会総会.  
2015 年 6 月 10 日. 高知県高知市.  
佐藤 貴子 財津 桂, 坪井 健人, 野村  
和克, 岩田 美佐, 志摩 典明, 阿部 俊  
太郎, 石井 晃, 土橋 均, 鈴木 廣一.  
ラット熱中症モデルにおけるメタボロ  
ミクス解析. 第 99 回日本法医学会総会.

2015 年 6 月 10 日. 高知県高知市.  
阿部 俊太郎, 土橋 均, 志摩 典明, 松  
田 駿太郎, 片木 宗弘, 野村 和克, 坪  
井 健人, 岩田 美佐, 田村 明敬, 佐藤  
貴子, 鈴木 廣一. 死亡の経緯に危険ド  
ラッグの関与が疑われた 1 剖検例. 第  
61 回日本法医学会学術近畿地方集会.  
2014 年 11 月 8 日. 兵庫県西宮市.  
太田 千智, 佐藤 貴子, 阿部 俊太郎,  
野村 和克, 坪井 健人, 岩田 美佐, 田  
村 明敬, 土橋 均, 鈴木 廣一. 閉塞性  
睡眠時無呼吸が疑われた突然死の一例.  
第 61 回日本法医学会学術近畿地方集会.  
2014 年 11 月 8 日. 兵庫県西宮市.  
柏井 彩, 佐藤 貴子, 阿部 俊太郎, 野  
村 和克, 坪井 健人, 岩田 美佐, 田村  
明敬, 土橋 均, 鈴木 廣一. ハンドル損  
傷による特異な形態を示した腓外傷の  
一例. 第 61 回日本法医学会学術近畿地  
方集会. 2014 年 11 月 8 日. 兵庫県西宮  
市.  
Abe S, Sato T, Nomura M, Tsuboi K,  
Iwata M, Tamura A, Tsuchihashi H,  
Suzuki K. Coronary sudden death of a  
young man caused by heterozygous  
familial hypercholesterolemia. 9th  
International Symposium on Advances  
in Legal Medicine (ISALM). 2014/6/16.  
Fukuoka Japan.  
Sato T, Zaitzu K, Tsuboi K, Nomura M,  
Shima N, Iwata M, Abe S, Ishii A,  
Tsuchihashi H, Suzuki K. Postmortem  
interval estimation of suffocated  
rates by plasma metabolic profiling.  
9th International Symposium on  
Advances in Legal Medicine (ISALM).  
2014/6/16. Fukuoka Japan.  
阿部 俊太郎, 佐藤 貴子, 野村 和克,  
坪井 健人, 岩田 美佐, 田村 明敬, 土  
橋 均, 鈴木 廣一. 胃内容の分析結果が

ら服用した市販医薬品の銘柄を推定で  
きた急性薬物中毒死の1例．第62回日  
本法医学会学術近畿地方集会．2013年  
11月16日．大阪府大阪狭山市．

〔図書〕(計0件): なし

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕: なし

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

阿部俊太郎 (SHUNTARO, Abe)

大阪医科大学・医学部・助教

研究者番号: 80335116

(2)研究分担者: なし

(3)連携研究者: なし