

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860488

研究課題名(和文) 胸腺ハッサル氏小体は、ストレス状態持続期間推定の指標の一つとなる

研究課題名(英文) Thymus Hassall Mr. bodies, is one of the indicators of stress state duration estimation

研究代表者

古川 智之(Furukawa, Satoshi)

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60422888

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)：正常胸腺や異所性胸腺、親子、虐待を受け死亡した小児についてその形態、免疫組織学的染色を施行した。異所性胸腺にもハッサル小体が存在し、その形態は正常胸腺と形態は似かよっていた。胸腺の形態は4種類に分類でき、親子の胸腺を検索したところハッサル小体の形態には遺伝性があり、虐待その他ストレス環境下では胸腺髄質でハッサル小体が増加することが判明した。免疫組織学的染色ではハッサル小体はリンパ組織増生あるいは血管新生に影響を及ぼしている可能性を示唆した。ハッサル小体はT細胞活性抑制に保護的に働くと考えられ、胸腺はストレス反応に重要な臓器であることがわかった。またそれは異所性であっても同様と考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the morphology and antibody reactivity in the thymus and Hassall's corpuscles obtained from individuals containing mother and daughters, abused children, persons with ectopic thymus. Results indicated that the thymuses from intra-thyroidal and cervical ectopic thymuses contained Hassall's corpuscles and the morphology of Hassall's corpuscles resemble to that in the normal positioned thymuses. And we also indicate that morphology of Hassall's corpuscles may be hereditary and the number of Hassall's corpuscles increase in medulla of the thymus from children who died due to abuse or accident in the situations of increasing steroid hormone and in hormone treatment. Using immunohistochemical study we showed that Hassall's corpuscles work as lymphangiogenic and/or angiogenic factor source. Hassall's corpuscles might have protective system to avoid the attack by T cells. That indicate that the thymus are useful organ to estimate stress situation in practices.

研究分野：法医学

キーワード：虐待 ハッサル小体 ストレス

1. 研究開始当初の背景

生体は外界からの様々なストレス刺激に対し、損傷を防御し、生存を計るストレス適応機構を持ち、一方で、ストレスを被った細胞に積極的に細胞死を誘導するシグナル伝達機構[細胞死誘導シグナル]の両方を兼ね備えている。この相反する応答を、刺激の種類、持続時間や強弱に応じて使い分け、細胞運命を制御している。細胞がストレスを受けると、「ストレス顆粒」が細胞内構造物質として形成されることが報告されている。ストレス顆粒が形成されると、ハウスキープ遺伝子等の mRNA が顆粒内に取り込まれ、一部のタンパク質への翻訳が一時的に停止し、細胞がストレスから回復すると数分で顆粒は消失し、翻訳が回復することが知られてきた。一過性の翻訳抑制は、更なる細胞障害を回避するストレス適応機構と考えられている。

2. 研究の目的

虐待通報数は毎年増加し、減少する兆しさ見え見えない。我々の教室においても、県と大学との委託契約で、虐待児の生体鑑定を実施している。また、残念なことに、毎年、虐待に基づく死亡例があることも事実である。解剖例で、司法当局からの質問事項の一つに『虐待の持続期間』がある。各所に見られる損傷の治癒状態等から、持続期間の推定を試みてはいるが、新旧の損傷があり、治癒損傷が混在すると、推定が困難となる場合があり得る。胸腺と各臓器の動きの関係、ストレス下で生じている細胞内の Signal transduction pathways, gene regulation, cell proliferation に焦点をあて、胸腺存在するハッサル小体の形態学的変化や免疫組織化学的变化が、虐待持続期間推定根拠の一つとなれば、今後の鑑定業務に寄与するところが大きい。

3. 研究の方法

ハッサル小体の機能を探るため、まず、胸腺の解剖学的特性から検討を行う。胸腺は、胎生期には、Fourth pouch に存在し、順次、頸部から胸腔に下降してくるとされている。この間に、甲状腺に取り込まれる例も稀ではあるが存在する。このような例を数例、解剖時に経験している。この甲状腺内に取り込まれた胸腺の形態と通常部位に位置する胸腺とを形態学的あるいは免疫組織化学的に比べる。胸腺ハッサル小体は、様々な刺激や加齢に伴いその形態を変化させているように見受けられる。そのメカニズムは未だ知られていない。ハッサル小体の T 細胞分化の統合指揮と

いう役割から、ストレスに対応し、T 細胞の分化を促すが、様々な抗原に対応する T 細胞分化が生じるため、ハッサル小体が、逆に、T 細胞からの攻撃を受け、自己防御機構を備えているのではないかという仮説のもとに、ハッサル小体の防御機構を明らかにする。糖鎖抗原は、唾液腺・胃粘膜をはじめ、外界と接する可能性のある部位に存在しており、何らかの攻撃からの防御に関連していると思われる。そのため、ハッサル小体に発現されている糖鎖抗原と細胞攻撃の結果が残されると推定した補体関連抗原との関連を検討する。また、様々なストレスに対応するハッサル小体の動きを検討するため、Wnt 関連遺伝子、その他の抗原に対する抗体 (RBM3、CIRBP、e-NOs、SIRT1、HIF1、HSP70、Ngb 等) による免疫染色を行うとともに、RNA の発現も検討する。

4. 研究成果

胸腺は視床下部ホルモン、副腎皮質ホルモン、ステロイド、甲状腺ホルモンの影響を受けるのではなく、胸腺及びハッサル小体の形態は遺伝性があるとした。またハッサル小体の形態は4種類に分類することができる。そのうちモザイクタイプのハッサル小体を CC9 抗体で染色し 3D イメージでその形態を立体構築した。虐待その他ストレス環境下ではハッサル小体は胸腺の髄質で増加し石灰化することがわかった。さらに強いストレス環境下では胸腺組織、リンパ節とも萎縮を認めた。

Zn²⁺-glycoprotein, fibronectin などの抗原は過去の研究報告から胸腺に発現していたが、今回 RBM3、CIRBP、e-NO、SIRT1、HIF1、HSP70、Ngb などの抗体を用いて免疫組織学的染色を行った。グルコルチコイド受容体抗体はハッサル小体の上皮、髄質の樹状細胞および胸腺皮質に発現した。グルコルチコイドは胸腺のアポトーシスを誘導するもので胸腺の成長過程に関連する。しかしながらグルコルチコイド受容体発現は正常 T 細胞分化には必ずしも必要ではなく、むしろグルコルチコイドは胸腺内で上皮細胞変性とハッサル小体の形成を制御していると考えられた。MUC4 抗体はハッサル小体の上皮細胞において強く発現し、未熟なものから成熟したもの、変性の過程にあるものまで示すことができた。CC9 抗体は変性したハッサル小体に発現し、主に形態がモザイクタイプで未熟よりも成熟したハッサル小体に強く発現した。ハッサル小体は樹状細胞を構築し、CD4⁺CD25⁺制御 T 細胞の誘導に加え、外的物質やハッサル小体中存在する形成物を攻撃する分化した T 細胞とその分泌物質を誘導するとされる。MUC4 は細胞間連絡、免疫抑制、発現誘導、腫瘍細胞上皮発現、

毒性リンパ組織や NK 細胞などの細胞毒性免疫細胞の抑制といった生物学的役割を担う。ハッサル小体の MUC4 抗原の発現はハッサル小体に対する T 細胞の攻撃を保護していると考えられる。ハッサル小体はその役割を終了した際、ハッサル小体の変性が開始され、ハッサル小体内で T 細胞と補体形成過程が進行すると思われる。さらに我々は e-NOs, VEGF, COX-2 抗体がハッサル小体と脂肪組織に発現することを示した。脂肪組織は生物学的に意義がないものと考えていたが、これらの発現はハッサル小体の間質リンパ性蛋白 (TSLP) 活動に関連し、胸腺脂肪組織を保護していると考えられる。これらの抗原は血管新生を誘導するとされる。VEGF-A と VEGF-B の発現は血管新生を促進し、VEGF-C と VEGF-D はリンパ組織増生因子である。COX-2 は血管新生を促進し、VEGF 発現を制御する。ハッサル小体は胸腺内において CD4⁺CD25⁺ に制御される T 細胞の分化を誘導し、間質リンパ性蛋白 (TSLP) の分泌も担っていると考えられる。石灰化したハッサル小体の割合はストレス環境の程度を示唆する。ハッサル小体は正常位置にある胸腺および異所性胸腺においても T 細胞活性抑制に保護的に働くと考えられ、生物学的にも免疫学的に重要であることがわかった。

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 1 件)

Satoshi Furukawa, Satomu Morita, Lisa Wingenfeld, Wakoto Matsuda, Tokiko Nakagawa, Ikuo Sakaguchi, Akari Takaya, Katsuji Nishi.
Immunohistochemical staining of the brain tissue obtained from a man with multiple focal brain infarctions and different staging. Anil Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology. Vol15 2014.
http://www.anilaggrawal.com/ij/vol_015_no_001/papers/paper002.html

[学会発表](計 5 件)

S. Furukawa.
Usefulness of forensic practice of the hassall's corpuscles in the thymus and intra-thyroidal ectopic thymus to estimate stress situation. 22nd International "Stress and Behavior" Neuroscience and Biopsychiatry Conference. 2015 May 16-19
St-Petersburg, Russia.

Satoshi Furukawa. Satomu Morita, Akari Takaya, Tokiko Nakagawa, Lisa Wingenfeld, Katsuji Nishi.
Histochemical and morphological characteristics of the Hassall's corpuscles with calcification. European congress of internal medicine. Prague. Czech Republic 2013,10/2-5.

Satoshi Furukawa, Satomu Morita, Akari Takaya, Lisa Wingenfeld and Katsuji Nishi
Encouragement of learning the medicine to specify the cause of death and child abuse in view of the pathological findings of the Hassall's corpuscles in the thymus. 4th Czech-Slovak Congress of Forensic Medicine with international attendance 2014 5/15-5/16
Prague, Czech Republic

Satoshi Furukawa, Satomu Morita, Lisa Wingenfeld, Katsuji Nishi
Re-assessment and application of forensic practice of the Hassall's corpuscles. An immunological study The Annual Congress of The International Association of Law and Forensic Science (IALFS) 2014,4/1-4/3
Dubai

Satoshi Furukawa. Satomu Morita, Akari Takaya, Tokiko Nakagawa, Lisa Wingenfeld, Katsuji Nishi.
Histochemical and morphological characteristics of the Hassall's corpuscles in the ectopic intrathyroidal thymus. The 11th Indo Pacific Association of Law, Medicine and Science Congress 2013,10/5-10/10
Kuala Lumpur, Malaysia.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]
出願状況(計 0 件)

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古川 智之 (FURUKAWA Satoshi)
滋賀医科大学・医学部・准教授
研究者番号：60422888

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：