

(26)

氏名(生年月日)	ウツ 内 海 裕 美
本 籍	
学位の種類	医学博士
学位授与の番号	乙第1190号
学位授与の日付	平成3年6月21日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文の題目	ラット脳発達過程における細胞内レチノイン酸結合蛋白の局在
論文審査委員	(主査)教授 福山 幸夫 (副査)教授 串田つゆ香, 武田 佳彦

論 文 内 容 の 要 旨

目的

レチノイン酸の生体内での生理作用は不明であったが、近年、内因性モルフォジェン(形態形成因子)として、ニワトリ発生初期の肢芽形成および中枢神経形成に深く関与していることが明らかにされた。

本研究は、脳レチノイン酸結合蛋白(CRABP)を精製し、ラット脳発達過程におけるCRABPの発現量と局在を明らかにし、脳形成におけるレチノイン酸の生理的意義を解明することを目的として、実施した。

方法

実験動物には、胎生17・19日、生後0・5・10・15・20各日、Wistar系成熟ラットを用いた。

まずブタ脳より、CRABPを精製し、ブタ脳CRABPに対するウサギ抗血清より抗CRABP抗体を得た。

抗CRABP抗体を用いたイムノプロットを行い、各発達段階の脳でのCRABPの発現量を検討した。CRABPの局在は、各発達段階脳のパラフィン包埋切片に、抗CRABP抗体による免疫化学染色を施行して検討した。

更に、胎仔脳線条体からの培養神経細胞およびヒト神経芽細胞腫IMR-32の培養細胞に同様の免疫化学染色を施行し検討を加えた。

結果ならびに考察

1) 精製したCRABPは、外胚葉由来細胞にみられるCRABPタイプIであり、更に作製した抗CRABP抗体はCRABPに高い特異性を示した。

2) ラット脳発達過程におけるCRABPの局在と量的変化

CRABPは胎仔脳で強く発現し、発達につれて減弱し、生後20日以降検出されなかった。発達に伴うCRABP陽性細胞出現度の変化は、扁桃体、線条体、脈絡叢において顕著であり、胎生期または生後数日のみが陽性であった。このことよりCRABPは胎仔期に多く出現し、特に脳基底核の発達と密接な関係を有することが示唆された。

3) IMR-32ヒト神経芽細胞は、不均一な3種類のCRABP陽性細胞からなっており、強陽性を示した線維芽細胞タイプの単一コロニーの染色結果も、CRABP強陽性細胞と弱陽性細胞とが混在していた。これらのことより、CRABPは細胞の形態やタイプに依存するのではなく、むしろ細胞周期や細胞の分化状態と深く関連することが示唆された。

また、細胞のなかには、核周辺のみが強くCRABP陽性のものもあり、これは、CRABPがレチノイン酸を核へ運ぶことにより、核内受容体を介して細胞周期や分化状態に影響を与えていることを示唆する。

結語

ラット脳発達過程において著しい変化を示すCRABPタイプIは、神経細胞の細胞周期や分化状態と関連するものであり、脳発達過程では、レチノイン酸はCRABPを介して、終脳より線条体と扁桃体への神経形成に関与している可能性が考えられた。

論文審査の要旨

ビタミン A の誘導体であるレチノイン酸は、内因性形態形成因子として、生体の発生過程に重要な役割を果たすことが知られるようになったが、その中枢神経発生における役割の詳細はなお不明である。

著者内海は、ブタ脳より細胞内レチノイン酸結合蛋白 (CRABP) を精製、それがタイプ I の CRABP であることを証明した。さらに抗 CRABP 抗体を作製して、未熟ラット脳内の CRABP の局在を免疫組織化学的に検討した結果、レチノイン酸は基底核、特に胎生期の扁桃核に高密度に分布し、発達に伴って稀薄化、消失することを見出した。学術上価値ある研究と認める。

主論文公表誌

ラット脳発達過程における細胞内レチノイン酸結合蛋白の局在

東京女子医科大学雑誌 第60巻 第9号
837-846頁 (平成2年9月25日発行)

副論文公表誌

- 1) The expression of retinoic acid receptor in the chick limb bud during early developmental stages (ニワトリ肢芽早期発達段階におけるレチノイン酸受容体の発現). *Proceedings of The Japan Academy* 65 (8) : 191-194 (1989) Momoi T, Momoi M, Kumagai H, Utsumi H, Miyagawa-Tomita S, Takao A
- 2) Ca-hopatenate 服薬患児に見られる急性脳症に関する臨床生化学的検討。脳と発達 17 (5) : 38-42(1985)泉 達郎, 内海裕美, 大澤真木子, 福山幸夫
- 3) 男児の神経性食欲不振症に関する一考察。東女医大誌 57 (増) : 514-519 (1987) 原 仁, 内海裕美, 石崎朝世, 石渡昌子, 福山幸夫
- 4) West 症候群の ACTH 療法とサイトメガロウイルス感染症。東女医大誌 56 (7) : 539-546(1986)梶山 通, 内海裕美, 前田恭宏, 福山幸夫
- 5) 原因不明の再発性無菌性髄膜炎の一例—特に Mollaret 髄膜炎との異同について—。日小児会誌 87 (9) : 1565-1574 (1983) 佐々木剛一, 内海裕美, 新井敏彦, 福山幸夫, 小林 寿
- 6) 経過中, 敗血症, 肝性クル病, 腹壁膿瘍を合併した先天性胆道閉鎖症の 1 例。小児科診療 44 (12) : 2107-2113 (1981) 原美智子, 池谷紀代子, 竹重博子, 内海裕美, 新井ゆみ, 大澤真木子