

氏 名 (本 籍) 多 鹿 三和子 (兵庫県)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第478号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Neuronal intermediate filament profile in the developing rat retina  
(ラットの網膜における中間径フィラメントの発現)

審 査 委 員 主 査 教 授 永 田 啓

副 査 教 授 堀 池 喜 八 郎

副 査 教 授 松 浦 博

## 論文内容要旨

*整理番号	481	(よりがな) 氏名	(たじか みわこ) 多鹿 三和子
学位論文題目	Neuronal intermediate filament profile in the developing rat retina (ラットの網膜における中間径フィラメントの発現)		
<p>[目的] 網膜は他の中枢神経組織と異なり原始的なシステムである視細胞を含んでいる。また、レンズ・網膜・虹彩を有する眼球という形態も脊椎動物特有のものではなく神経管を持たない無脊椎動物にも見られる。これらのことは、視覚器の進化の過程が、中枢神経の中でも特異なものであることを意味する。</p> <p>本研究は、網膜という特殊な中枢神経組織において、中間径フィラメントの発現様式の特徴を明らかにすることを目的とした。</p> <p>網膜内中間径フィラメントに関するこれまでの報告で、<math>\alpha</math>-インターネキシンは成熟網膜の外網状層および神経線維層に発現することが知られているが、ペリフェリンに関してはモノクローナル抗体による免疫組織化学染色の報告が1報あるのみである。本報ではペリフェリンmRNAのラット網膜における局在を明らかにし免疫染色の結果とあわせて解析した。さらに発生段階のラットにおけるペリフェリン、<math>\alpha</math>-インターネキシン、ニューロフィラメントの発現を調べ、網膜における神経組織形成の特徴について考察した。</p> <p>[方法] <b>対象:</b>成体ラット(8~15週齢雄, Wister rat およびACI black rat・CLEA JAPAN INC.)の摘出眼球より網膜・脈絡膜・強膜組織片を得た。また胎仔ラットは妊娠ラット(Wister rat)から胎齢13, 15, 17, 19日のものを得た。これらをホルマリンで固定した。成体組織の一部は未固定のままOCT compoundとともに凍結包埋した。</p> <p><b>免疫組織化学染色:</b>神経組織の中間径線維であるニューロフィラメント、<math>\alpha</math>-インターネキシン、ペリフェリンに対するモノクローナル抗体および<math>\alpha</math>-インターネキシンポリクローナル抗体を用いた。</p> <p><b>in situ hybridization法:</b>ラットよりペリフェリンmRNAを精製しこれよりジゴキシンゲン標識RNAプローブを合成した。これにより成体網膜のペリフェリン分布を調べた。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、  
2千字程度でタイプ等で印字すること。  
2. ※印の欄には記入しないこと。

[結果] 成体：ペリフェリンは神経繊維層において陽性であり、またペリフェリンmRNAは神経節細胞に認められた。 $\alpha$ -インターネキシン陽性線維は外網状層の内顆粒層直下で水平方向に伸びていた。神経線維層においては抗原賦活化の条件によって $\alpha$ -インターネキシンの染色性が異なっており、染色性の減弱が示唆された。

胎仔：網膜内層の分化の早期（胎齢13、15日）からペリフェリンと $\alpha$ -インターネキシンを共発現する細胞集団が出現し、これらが神経節細胞に成熟していく過程が観察された。これに対して $\alpha$ -インターネキシンのみ陽性の細胞の発生は遅れて開始され（胎齢17日以降）、これらはペリフェリンを発現することなく水平細胞はじめ神経節細胞以外の神経細胞に分化した。

[考察] ペリフェリンはタイプⅢの中間径フィラメントであり、そもそも末梢神経に発現するものとされていたが、近年、発生途上の中枢神経、あるいは神経管由来の中枢神経組織に分布することが示されつつある。本報ではまずこのペリフェリンが網膜内において神経節細胞に分布していることが確かめられた。

神経節細胞と視細胞は下等動物にも見られる光受容の基本要素であるが、両者の間でネットワークをなす網状層の分化は高等動物にのみ見られるのでこの網状層は系統発生的にかなり後になって分化した細胞群と考えられる。胎仔で観察された中間径フィラメントの2種の発現様式は、この系統発生上の差異を反映していると考えられた。

また神経線維層において $\alpha$ -インターネキシンの染色性が弱いことから、成熟に伴ってその発現量が低下していくと考えられた。

[結論] 網膜では神経細胞の発生に2つの異なったプロセスがあり、両者では発生過程における中間径フィラメントの発現様式が異なっていることが判明した。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	481	氏名	多鹿 三和子
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>成熟した中枢神経に分布する中間径線維は主としてTypeⅣであり、系統発生的に最も古いとされるTypeⅢの中間径線維すなわちペリフェリンの発現は稀である。一方、脊椎動物の網膜は神経管由来であるが、そこには下等動物が有する視細胞・神経節細胞も含まれており、特異な中枢神経組織であると考えられる。</p> <p>これまでに神経節細胞内のペリフェリンの存在は免疫組織化学法で示されていた。本研究ではこれをin situ hybridization法にて証明し、さらにTypeⅢおよびTypeⅣの中間径線維の発生過程における変化を免疫組織化学法で調べた。本研究は、網膜内に中間径線維の発現時期および局在の異なる2つの発生様式が存在することを見いだした。この成果は、神経性腫瘍において腫瘍細胞の分化の方向を判定していく上で役立つとともに網膜・視神経系の発生異常の過程を理解する上での基礎データになるものである。従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成16年2月4日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められた。</p>			
(平成16年2月18日)			