

Title	Three-dimensional image analysis of migration patterns of mouse neural crest cells using new monoclonal antibody (4E9R)
Author(s)	久保田, 幸彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3128854">https://doi.org/10.11501/3128854</a>
DOI	10.11501/3128854
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	久保田 幸彦
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 12954 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学位論文名	Three-dimensional image analysis of migration patterns of mouse neural crest cells using new monoclonal antibody(4E9R) (単クローン抗体(4E9R)を用いたマウス神経冠細胞移動パターンの3次元画像解析)
論文審査委員	(主査) 教授 常木和日子  (副査) 教授 近藤 寿人 教授 中西 康夫 教授 小倉 明彦

#### 論文内容の要旨

神経冠は、脊椎動物固有の胚組織であり胚発生において神経管の背側より出現し、腹部方向へ規則的移動を行った後、末梢神経系の細胞・色素細胞等の多様な細胞種に分化する。すなわち、神経冠細胞の移動は、脊椎動物の体制構築にきわめて重要な発生現象である。そこで神経冠細胞の移動に関わる遺伝子の突然変異体が多数存在し発生遺伝学的研究の格好の材料であるマウスを用い、今までほとんど知見が得られていないマウス神経冠細胞の移動パターンを詳細に解析した。

マウスを材料とするにあたり最大の問題は、マウス神経冠細胞を胚内で特異的に識別する有効なマーカーが今まで存在しなかった点にある。そこで本研究では、マウス神経冠細胞を識別可能な単クローン抗体の作成を試み、ラット抗マウス単クローン抗体4E9Rの作成に成功した(Kubota et al.,1996)。マウス神経冠細胞の移動期において解析を行った結果、4E9Rは、頭部および胴部において神経冠細胞をその移動初期から識別することが判明した。さらにマウス神経冠細胞の初代培養系を用いて4E9Rが識別する抗原の性質を検討した結果、中間径フィラメント系にその抗原が存在することがわかった。そこで、神経冠細胞での発現が示されている中間径フィラメント・ビメンチンと4E9R抗原の胚内分布および神経冠細胞内分布を比較した結果、4E9R抗原は、その発現がマウス神経冠細胞を含む数種の細胞種に限定されたビメンチンに密接に関連した抗原であることが示唆された。

4E9Rを用いた間接蛍光抗体法と画像解析の手法とを併用して、硬節内におけるマウス胴部神経冠細胞の移動パターンを3次元的に解析した。その結果、1硬節内に神経冠細胞の移動パターンの異なる3つの領域が胚の前後軸に沿って存在することが判明した。すなわち、(1)硬節の最も前側に位置するA-R領域：この領域には、2つの神経冠細胞の移動経路－硬節の神経管側の移動経路(ventromedial pathway)及び硬節の真皮筋節側の移動経路(ventrolateral pathway)－が存在する、(2)A-R領域の後ろに続くA-C領域：この領域には、ventromedial pathwayのみしか存在しない、(3)硬節の最も後側に位置し神経冠細胞の移動経路が存在しないPo領域の3つの領域であり、これらの領域の大きさは神経冠細胞の移動期において規則的に変化することがわかった。

次に、神経冠細胞の移動パターン形成における各種細胞外基質成分の役割を調べるために、4E9Rと細胞外基質成分に対する抗体とを用いた多重免疫染色を行った。その結果、コンドロイチン硫酸の硬節内分布の規則的変化が神経冠細胞の移動パターン形成に密接に関連していることが示唆された。またテネインは、その神経冠細胞の移動における役割について多くの論議が存在する細胞外基質成分である。テネイン欠損突然異体マウスを用いた本研究の結果

果は、テネイシンは、神経冠細胞の移動パターン形成に直接関与することはない事を示す。

#### 論文審査の結果の要旨

神経冠細胞の移動パターンは、脊椎動物の体制構築に重要な役割を担っている。久保田幸彦君はマウスの神経冠細胞を識別する単クローン抗体の作成に成功し、またこの抗体、および細胞外基質であるコンドロイチン硫酸とテネイシンの抗体を用い、一節レベルにおけるこれらの抗原の分布の相関を三次元画像解析のテクニックを駆使して詳細に明らかにした。これらの研究成果は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。