

Title	体外培養法による鶏胚終脳組織の形成機構の解明
Author(s)	石井, 一宏
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29103
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 2 】

氏名・(本籍)	石 井 一 宏 いし い かず ひろ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1 1 1 7 号
学位授与の日付	昭 和 4 2 年 3 月 2 8 日
学位授与の要件	理 学 研 究 科 生 理 学 専 攻 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
学位論文題目	体 外 培 養 法 に よ る 鶏 胚 終 脳 組 織 の 形 成 機 構 の 解 明
論文審査委員	(主査) 教 授 吉 川 秀 男 (副査) 教 授 佐 藤 盤 根 教 授 本 城 市 次 郎

論 文 内 容 の 要 旨

個体の発生過程を扱う発生学において重要な課題の一つは、各器官を構成する組織の形成機構の解明である。最近、細胞接触の観点からこの課題に接近しつつある。その成果は

- (1) 胚組織細胞は自己認識能をもつこと。
- (2) 分化した細胞ほど接着能は小さいこと。

の二つの点である。これら二つの現象がどのような機構により起こるのかは、まだ充分に分っていない。

他方、組織培養法の一つ、単層培養法の進歩により体外培養の場に於いて発生過程にみられる細胞の分化現象を再現させ、その機構を解析してゆこうとする機運が高まっている。

このように細胞接触の問題が焦点となり、細胞接着の機構および細胞接着の結果、細胞の生理的機能が如何に影響されるか等が重要な問題となってきた。

本論文は体外培養法により単離された終脳細胞の組織再構成能、他の組織に対する誘導能および細胞接着性について研究したものである。

(1) 5日目～13日目鶏胚を用いて終脳細胞および中脳細胞の接着能を旋回培養法により調べた。両脳細胞ともに若い胚の細胞ほど大きな細胞塊を形成した。すなわち、若い胚の組織細胞ほど接着力は強いと考えられる。また、中脳は終脳より細胞接着力が時期的に早く低下した。形態学的観察により、中脳は終脳よりも形態形成が早く完了することが知られている。以上のことから、脳組織においては分化した細胞ほど接着力が小さいことが分った。

(2) 終脳および神経網膜は神経胚期に前脳域の背域および腹域より形成される。すなわち、発生起源は近い。また、両組織ともに、主要構成細胞は神経細胞および神経膠細胞である。両組織の単離細胞が混合培養された。両種の細胞からなる細胞塊は同心円状の組織構成を示した。すなわち、両組

織細胞は相互に自己認識能をもっている。

(1) (2) の結果から推測して、細胞のもつ自己認識能は細胞接着力の違いによる現象であることを結論した。

(3) 終脳又は神経網膜細胞と皮膚細胞とが混合培養された。両組織細胞では互に細胞選別能をもつことが分った。さらに、皮膚細胞は単独で培養されると、数個の表皮細胞の細胞塊が真皮細胞の細胞塊内に散存する組織構造を示した。それに反し、皮膚細胞が、終脳または神経網膜細胞と混合培養されると、表皮細胞および真皮細胞はそれぞれ単独の細胞塊を形成することが分った。このことは細胞接着性が外部（培養）条件により変化することを示していると考えられる。なお、表皮細胞の集団が示すケラチン様構造の形成と環境との関係についても調べられた。

(4) 終脳または神経網膜細胞と漿尿膜 (CAM) 細胞とが混合培養された。両組織の間でも細胞選別が起こった。なお CAM の外胚葉性細胞が示すケラチン様構造の形成に関係する要因についても分析が行なわれた。

(1), (2), (4) の結果から CAM の外胚葉性細胞が終脳の原基の外胚葉性細胞と同じであると仮定すれば、未分化細胞ほど接着力が大きいと結論しうようである。

以上の実験から、細胞の接着性は細胞内の要因と細胞外の要因により決定されることが分った。そこでこの両要因の作用機序を解析するために静置培養法を用いての実験が行なわれた。

(5) 単離された 7.5 日目胚の終脳細胞は、無血清培養液中では細胞単独で、または小さな細胞塊を形成してガラス面に附着した。その際、細胞の形状は球形に近い。そこへ血清を添加すると、ガラスに附着していた細胞はガラスから離反し、細胞どうしが接着して大きな細胞塊を形成した。その後、細胞塊はガラスに附着し、さらに培養すると単層となった。単層を構成する細胞は扁平な形状を示した。

終脳細胞は、血清の存在しない培養液中ではガラスに対して強い接着性を示し、血清の存在する培養液中では細胞に対して強い接着性を示した。そこで血清が細胞の接着性にどのように関与しているかを調べた。

細胞塊はガラスに附着後、単層を形成した。血清を新たに入れ換えても単層の状態には何ら影響しなかった。これは細胞内要因の関与を示している。

終脳細胞の単層形成過程は、細胞表面の構造が動的に変化し、それが細胞の接着性の種々な現象に結果していることを示していると考えられる。

(6) 以上の結果を要約する。

(I) 終脳細胞は外胚葉細胞から分化するに従い、その接着性が低下する。

(II) 終脳細胞の接着性は細胞内外の要因により決定される。

(III) 漿尿膜の外胚葉細胞は終脳細胞との混合培養によりケラチン様構造を形成した。

論文の審査結果の要旨

石井一宏君の論文は鶏胚の脳細胞をトリプシンで単細胞状態とし、体外培養法によりそれが再び集合する状態およびガラス面への接着条件を追求し、組織形成の機構を論じたものである。

すでに同君および諸外国における多くの研究者によってトリプシンで単離された細胞は各組織によって自己認識能をもつ、つまり同種のものには接着し易いことおよび分化した細胞ほど接着能の小さいことが知られている。しかしこれらの現象の機構についてはまだ十分に解明されていない。

同君は5～13日目の鶏胚より終脳細胞および中脳細胞をトリプシンで単細胞状態とし、それらの細胞の接着能を旋回培養法によって調査した。その結果両種脳細胞共若い胚の細胞ほど大きな集合塊を形成することを認めた。

次に終脳および神経網膜の単離細胞をつくり、両者を混合して旋回培養を行なった結果、同種の細胞はそれぞれ自己と同じもの同士で接着することを認めた。これらの結果から同君は細胞のもつ自己認識能は細胞接着力の相違によるものであると推論した。

また終脳或いは神経網膜細胞と皮膚細胞を混合培養すると、元来皮膚細胞のみの培養では表皮細胞が真皮細胞の中に混在するような集合塊をつくるに対し、混合培養では表皮細胞と真皮細胞がそれぞれ独立の細胞塊を形成することを知った。このことは細胞接着能が外部（培養）条件によって変化するものと考えられる。これと同様の現象が終脳または神経網膜細胞と漿尿膜細胞を混合培養したときにも認められた。

以上の実験は同種或いは異種の細胞同士の接着能に関するものであるが、同君はさらに単離された終脳細胞とガラス面との接着についても実験を行なっている。たとえば無血清培養液中では細胞は単独或いは小さな細胞塊を形成してガラス面に附着するが、培養液中に血清を加えるとガラス面に附着している細胞はそこから遊離し、今度は細胞同士が接着して大きな細胞塊を形成する。しかしその後再びガラス面に接着し単層を形成するようになる。この事実は培養液中に血清を添加することによって細胞表面の構造に変化をもたらしたものと考えられる。そこで同君はこの現象に対して組織をトリプシンで処理する際、単細胞の膜面にある程度の損傷がおこるが、それに血清を加えることにより部分的に機能を回復するものとの仮説を提唱している。

以上石井君の論文は体外培養法による単離細胞同士の接着性およびガラス面への接着性に対し、多くの新しい知見を加え実験発生学上に大いに貢献したもので、参考論文と考えあわせ、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。