



Title	Studies of molecules inhibiting cell adhesion in the central ner-vous system
Author(s)	渡邊, 栄治
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37296
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・（本籍）	わた 渡	なべ 邊	えい 栄	じ 治
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	9 7 7 8	号	
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 26 日			
学位授与の要件	基礎工学研究科 物理系専攻			
	学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	Studies of molecules inhibiting cell adhesion in the central nervous system (中枢神経系における細胞接着抑制分子の研究)			
論文審査委員	(主査)			
	教授 村上富士夫			
	(副査)			
	教授 葛西 道生	教授 柳田 敏雄		

論文内容の要旨

脳におけるシナプス形成やニューロンの突起伸長には、細胞膜表面にある分子を介する細胞間の相互作用が極めて重要な役割をすると考えられている。本研究では、このような分子をモノクローナル抗体法と新しく開発したバイオアッセイ法の 2 種類の方法によって探索した。

モノクローナル抗体は、サル大脳を免疫原にし、間接蛍光抗体法によって検索したところ、大脳皮質の一部の神経細胞の周囲を染色する抗体 473 が得られた。抗体 473 の抗原分子は、生後 4 週以降の成熟した脳に発現し、また免疫電顕の観察から神経細胞の外側に局在していることが認められた。これらの結果は抗原分子が成熟脳で細胞間の相互作用に関与していることを示唆している。また染色像は、コンドロイチナーゼ ABC 処理によって消失することから、抗原原子はコンドロイチン硫酸鎖を持つプロテオグリカン様分子であることが示唆された。近年この種のプロテオグリカンは神経細胞の接着や軸索伸長に抑制的に働くことが報告されており、抗体 473 の抗原分子もシナプス形成などに抑制的に働いている可能性が考えらえる。

次に、脳内で細胞間相互作用に関与している分子を機能面から探索するために、新しいバイオアッセイ法の開発を行った。この方法は、脳凍結組織切片を細胞培養の基質として用いることで、脳組織の構造を破壊することなく細胞と基質間の相互作用の観察を可能にしたものである。そこで神経細胞を成熟したラット中枢神経系の切片上で培養したところ、細胞は灰白質に選択的に接着し、その白質には接着しなかった。生後直後の脳、カエルの脳、末梢神経組織の切片上では全ての領域で細胞接着が観察された。これらの結果は、中枢白質への細胞接着の起こりにくさは、中枢神経系特有の生体内での軸索伸長の起こりにくさに対応していることを示唆している。また白質の切片や膜分画は、灰白質の切片や膜分

画への細胞接着を阻害したことから、白質には細胞接着抑制因子が局在していることが示された。さらにこの因子を部分精製したところ、比較的低分子量のタンパク質と脂質の複合体であることが示唆された。

以上2種類の方法で得られた結果を考察すると、成熟脳においては抑制的な細胞間相互作用が、シナプス形成や軸索伸長の制御にとって重要であると思われる。

論文審査の結果の要旨

本論文は、成熟した中枢神経系において働く細胞間相互作用の分子機構を解明することを目標に、モノクロナル抗体法と新たに開発したバイオアッセイ法を用いることによって、そのような相互作用に関与している分子を検索し、解析した研究をまとめたものである。その主な成果を要約すると以下の通りである。

- (1) サル大脳を免疫原にして、中枢神経系の一部の神経細胞の周囲を顆粒状に染色する新しいタイプのモノクロナル抗体を得ている。組織切片の染色像から抗原分子は成熟した脳に特異的に発現していること、また免疫電顕像から抗原分子が神経細胞の外側に局在していることを明らかにしている。さらにコンドロイチナーゼABC処理によって切片の染色像が消失することから、抗原分子がコンドロイチン硫酸鎖を持つプロテオグリカン、あるいはそれに関連した分子であることを明らかにしている。近年この種のプロテオグリカンは細胞接着や軸索の伸長を阻害する働きを持つことが示されており、今回発見された神経細胞表面のプロテオグリカンも細胞周囲に存在する軸索終末などに対して何らかの抑制的な相互作用をしているとの議論を展開している。
- (2) 脳組織の構造を破壊することなく脳組織内の生理活性分子を捉えるために、クライオスタットで作製した脳組織切片を細胞培養の基質に用いるバイオアッセイ法の開発を試みている。そのようなバイオアッセイ法を利用した結果、培養した細胞が中枢神経系の灰白質へ選択的に接着することを発見している。また、この選択的な接着性は成熟した哺乳類の中枢神経系に限られ、末梢神経系、幼弱期の中枢神経系あるいは両生類の中枢神経系では観察されないことを示し、細胞接着の有無と生体内での軸索伸長の可否との関連性を議論している。さらに灰白質への細胞接着は白質によって阻害されることを示し、灰白質への選択的な細胞接着の分子メカニズムは中枢神経系の白質に局在する細胞接着抑制因子によることを明らかにしている。最後にこの白質の抑制因子の部分精製を試みており、抑制因子は疎水性の強い比較的低分子量の分子であることを示唆している。

以上のように、本論文はモノクロナル抗体法とバイオアッセイ法という2種類の違った方法の特徴をそれぞれ活かして用いることで、成熟した中枢神経系における“細胞接着抑制”という新しいタイプの細胞間相互作用を明らかにしたものであり、これらの成果は神経生物学のみならず細胞生物学などの広い分野にわたってその発展に寄与するところが大きい。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。