

Title	Localization of bcl-2, bax and bcl-x mRNAs in the developing inner ear of the mouse.
Author(s)	石井, 伸子
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40044">https://hdl.handle.net/11094/40044</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

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

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

Osaka University

氏名	石井伸子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第12967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 医学研究科生理系専攻
学位論文名	Localization of bcl-2, bax and bcl-x mRNAs in the developing inner ear of the mouse. (発達過程のマウス内耳における bcl-2, bax, bcl-x 遺伝子の発現)
論文審査委員	(主査) 教授 遠山 正彌  (副査) 教授 久保 武 教授 辻本 賀英

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

哺乳類の内耳は胎生期から生後にかけて分化を続け、その複雑な構造の完成と、その後の維持に対しては、現在、神経成長因子を始めとするいくつかの調節因子の関与が明らかにされている。本研究では、ヒト濾胞性リンパ腫における転座点近傍に位置し、アポトーシスを抑制する遺伝子として注目されてきた bcl-2 と、これとホモロジーを有し、アポトーシスを促進する bax、同じく抑制する bcl-x の、内耳における役割を解明する一助として、胎生13日から生後6週目までのマウス内耳におけるこれらの mRNA の発現分布を、In situ hybridization (ISH) 法にて検討した。

#### 【方法】

実験動物として ICR マウスを用いた。胎生13, 15, 17, 19日齢のマウスについては内耳を含む頭部の厚さ 16  $\mu$ m の矢状断新鮮凍結切片を作成した。生後1, 7, 10日, 2週, 6週齢のマウスについては、4% paraformaldehyde による灌流固定の後、内耳を含む頭部を、8% EDTA と 4% paraformaldehyde による3日から10日間の骨脱灰処理後、凍結切片を作成した。bcl-2, bax, bcl-x の mRNA の可視化には、合成 cRNA プローブを用いた ISH 法を行った。また、内耳構造の同定のため上記の切片についてサイオニン染色を施し、明視野顕微鏡にて観察した。

#### 【成績】

内耳各部位における三種の遺伝子の発現は以下の通りであった。

- 1) 内耳感覚上皮では、胎生13日の時点では bcl-2, bax, bcl-x mRNA のいずれも検出できなかった。胎生15日目以降で、bcl-2 のみが発現し始め、胎生19日目までにピークとなり、生後は漸減し、生後10日目では消失する。一方 bax 及び bcl-x は胎生期の感覚上皮には発現せず、生後1日目から10日目に弱い発現を示した。コルチ氏器では胎生13日頃から生後10日頃にかけての、特に周生期を中心に、内耳感覚上皮の有毛細胞と支持細胞への盛んな分化が起こっており、この時期と全く相関して、bcl-2 の強い発現が見られることは、細胞分化の過程に bcl-2 が関与していることを示す。
- 2) ラセン神経節では生後1日目で三種の遺伝子の発現はすでに見られており、いずれも生後14日目まで漸増を続け、

生後6週を過ぎても高いレベルで発現は持続する。このラセン神経節では胎生13日頃にはすでに細胞分裂が進み、その後は分化過程にある感覚上皮および前庭に対して神経支配を続けるが、この時期に相関して三種の遺伝子の発現が増強し、分化終了後もその発現は維持されている。

3) 非神経細胞である血管条にも生後1日目から5日目までのごく早期に一過性に、*bcl-2* 遺伝子は発現する。*bax* 及び *bcl-x* の発現は *bcl-2* の発現より、やや強いものややはり生後早期のみに限られており、血管条の分化にもなって発現することがわかった。

#### 【総括】

1) 感覚上皮では *bcl-2* mRNA は胎生15日に発現し、19日にピークとなり以後減少し生後10日目では認められない。この事実は胎生期から周生期にかけての分化中の感覚上皮が細胞死に陥ることを *bcl-2* により防いでいる可能性が高い。また、*bax*, *bcl-x* が共に逆に生後の感覚上皮に発現する事実はこれらの両者が互いに関連を持ちつつ関与しているものと思われる。

2) ラセン神経節では *bcl-2*, *bax*, *bcl-x* の発現パターンは類似しており、ラセン神経節の細胞分化や維持にこれら三種が関与している可能性が示される。

3) 血管条においても *bcl-2*, *bax*, *bcl-x* は一過性に周生期に発現した。この事実はこれらの遺伝子が非神経細胞の生存と死にも関与していることを示す。

#### 論文審査の結果の要旨

*BCL-2* 遺伝子は、神経系をはじめとする様々な臓器の発生と分化に関与する細胞死抑制遺伝子として注目されてきたが、更に近年、*BAX*, *BCL-X* をはじめとするファミリー遺伝子が次々と同定され、細胞分化のメカニズムの解明が進められている。

本研究では、*BCL-2* 遺伝子と、これと逆の機能を有する *BAX*、細胞死抑制機能を有するが *BCL-2* とは多くの臓器で相補的な発現を見る *BCL-X* について、哺乳類の内耳という感覚器官の複雑な発達過程における、各々の遺伝子発現を *In situ hybridization* にて検討した。

結果、胎生期から生後にかけての内耳感覚上皮の分化期には *BCL-2* 遺伝子が優位に発現しており、分化終了後の神経節には三種ともが強く発現していた。また、生後も分化を繰り返す非神経細胞の血管条においてもこれらの遺伝子が共存し、その維持に関与していることを証明した。以上は未だ明らかでない *BCL-2* ファミリーの機能解析に寄与するものとして大変興味深い報告であると同時に、内耳神経の変性疾患や、先天性異常の成因に関する遺伝子学的解明に重要な示唆を与える知見であり、学位を授与するに値すると考える。