



Title	Expression of gicerin and NCAM-H during inner ear development and hair cell regeneration in the chick
Author(s)	梶川, 泰
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40702">https://hdl.handle.net/11094/40702</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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	梶川泰
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第13760号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Expression of gicerin and NCAM-H during inner ear development and hair cell regeneration in the chick (鳥類聴器の発生または再生過程における接着因子 Gicerin と NCAM-H の経時的発現と局在)
論文審査委員	(主査) 教授 久保 武  (副査) 教授 米田 悅啓 教授 遠山 正彌

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

聴器は高度に分化し複雑な形態を有した感覚器で、音波によって作り出された機械的エネルギーを電気的なエネルギーに変換する働きを持っている。近年の研究で、聴器の発生過程では種々の接着因子が発現し、これらの因子がその複雑な形態の形成に深く関与していることが示唆されてきた。さらに、鳥類では音響外傷などで障害を受けた聴覚上皮が再生し機能することが知られているが、再生のメカニズムについては不明な点が多く、また、その再生過程で関与する接着因子も知られていない。

ところで Gicerin と NCAM-H は Immunoglobulin superfamily に属する接着因子である。これらは発生期の CNS で一時的に発現し神経線維の伸長や細胞の移動の促進などの機能を持つことが知られている。本研究では、これらの 2 つの接着因子が聴器の形成にどのように関与するかを知るために、発生及び再生聴器での Gicerin と NCAM-H の発現と局在を免疫組織学的手法を用いて経時的に観察した。

#### 【方法ならびに成績】

Hamburger and Hamilton 分類で stage24(E4), stage29(E6), stage34(E8), stage38(E12), stage43(E16) の鶏卵胚を灌流固定した。音響負荷として 1500Hz 純音、120dB SPL の強大音響を 48 時間与えた。終了後 1 日目、3 日目、14 日目にヒヨコを灌流固定し、対照群と比較した。固定後、内耳を取り出し凍結切片を作成した。作成した凍結切片に抗 Gicerin ウサギ・ポリクローナル抗体を用い間接蛍光抗体法で免疫染色を行った。また、抗 NCAM-H マウス・モノクローナル抗体を用い ABC 法で免疫染色を行った。

Gicerin は発生初期～中期 (stage24～stage34) で、聴覚上皮と聴神経節に発現していた。しかし、聴覚上皮に未分化な short hair cell が確認される時期 (stage38) になると聴覚上皮での Gicerin の発現が減少し始め、孵化とともに発現が認められなくなった。また、聴神経節でも聴覚上皮にやや遅れて Gicerin の発現は減少し始め、孵化とともに消失した。再生聴覚上皮でも音響外傷後 12 時間から 1 日目で音響外傷を受けた部分に強く Gicerin が再発現していたが、未分化な short hair cell が現れる音響外傷後 3 日目になるとその発現が低下した。さらに聴覚上皮が完全に再生する音響外傷後 14 日目には発現は孵化直後と同レベルにまで低下した。

NCAM-H は発生初期に神経節の出現と共に神経節細胞にその発現を認めた。発生中期には聴覚上皮中に侵入した

求心系神経線維にも局在し、さらにシナプスが形成されている有毛細胞の底部付近で強い陽性反応が認められた。シナプス付近や神経線維での NCAM-H の局在は発生後期に聴器の成熟と共に消失したが、孵化後も神経節細胞の細胞膜に NCAM-H の発現は続いている。音響外傷後の再生には NCAM-H の再発現は認められなかった。

### 【総括】

Gicerin は聴器の発生期において聴神経節の神経線維の伸長に関する可能性が示唆され、さらに、発生期、再生期を通して未熟な上皮細胞に発現することから、これらの分化、増殖において何らかの形で関与することが示唆された。一方、NCAM-H は発生期において求心系の神経線維の伸長やシナプス形成に重要な働きをする可能性と、孵化後の聴覚情報処理にも関与する可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

聴器は複雑な形態を有した感覚器である。近年、聴器の発生過程では種々の接着因子がその形態の形成に深く関与していることが示唆されてきた。また、鳥類では音響外傷などで障害を受けた聴覚上皮が再生し機能することが知られているが、再生のメカニズムについては不明な点が多い。

本研究では、鳥類聴器の発生及び再生における接着因子 Gicerin と NCAM-H の役割について研究した。Gicerin は聴器の発生期、再生期の双方で未熟な聴覚上皮細胞で発現し、short hair cell の分化とともに消失した。また、聴神経節細胞体で発生期にのみ局在し、神経節の成熟とともに消失した。NCAM-H は発生期で聴神経節細胞体とその神経線維に分布し、さらに有毛細胞とのシナプス形成部にも局在を認めた。神経線維やシナプス形成部での NCAM-H の局在はそれらの成熟とともに消失したが、孵化後も一部の神経節細胞体の細胞膜に NCAM-H の局在は残った。尚、音響外傷後の再生期には NCAM-H の分布に変化は認められなかった。

本研究により、再生時に聴覚上皮細胞に再発現する接着因子を初めて明らかにし、再生聴器における神経回路再生のメカニズムは発生時の神経回路形成とは異なることを示すのに成功した。以上のように、本研究は聴器再生の研究において新しい第一歩を標したものであり、学位に値するものと認める。