

氏名(本籍)	きた 北	むら 村	くに 邦	お 夫(京都府)
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	博	乙	第	444号
学位授与年月日	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
審査研究科	生物科学研究科			
学位論文題目	Studies on Extracellular Matrix in the Formation of Chick Embryo Feather Germ (ニワトリ胚羽毛原基の形態形成における細胞外物質の研究)			
主査	筑波大学教授	理学博士	岡田	益吉
副査	筑波大学教授	理学博士	渡邊	浩
副査	筑波大学教授	理学博士	平林	民雄
副査	筑波大学教授	理学博士	堀	輝三

論文の要旨

ニワトリ胚の発生において、羽毛は一層の細胞より成る表皮とその直下に接する真皮との相互作用により形成される。まず表皮の一部が肥厚してプラコードと呼ばれる構造を作り、次いでその下に真皮細胞が集合して塊状となる。この真皮細胞の集団を表皮が包み込み羽毛原基が形成される。羽毛原基は形態形成を行なって、羽毛芽、羽毛フィラメントと変形し、ついに羽毛と成る。この際の細胞集団の動態はこれらの細胞とこれを取り囲む微小環境との相互作用に依存していると考えられ、これに関わる分子機構を明らかにするために、これまでにもコラーゲンやフィブロネクチンなどの細胞間物質の役割が研究されてきた。本研究に於いては細胞外物質のもう一つの重要成分であるプロテオグリカンに注目し、これをニワトリ胚の背部皮膚から抽出精製して同定し、さらに羽毛形成過程に於けるそれらの組織内分布の時間的空間的变化を追跡し、その結果からこれら細胞外物質の機能を表皮と真皮との相互作用という観点から考察した。

まず受精後8日目の胚の背部皮膚を ^{35}S -硫酸で標識し、これからプロテオグリカンを抽出精製した。分析の結果、このプロテオグリカンは大きさの異なる2種のプロテオコンドロイチン硫酸および1種のプロテオヘパラン硫酸から構成されていることが判明した。次に、この3種の分子の中の主成分である分子量の小さいプロテオコンドロイチン硫酸に対して単クローン抗体を調整し、これが抗原として用いたプロテオコンドロイチン硫酸とのみ反応し、他の細胞外物質とは全く反応しないことを厳密に検証した後、この特異抗体を用いて羽毛原基の発生過程におけるプロテオコン

ドロイチン硫酸の分布変化を組織レベルで精密に記載解析した。まず、発生初期には表皮と真皮、及び両者に挟まれて存在する基底膜の三者に一様に分布しているが、プラコード形成期に入るとまず表皮から消失し、ついでその直下の基底膜及び真皮からも消失する。プラコードの直下に集合した細胞群からはプロテオコンドロイチン硫酸が全く検出出来なくなった後においても、これを取り囲む周辺の細胞には多量に存在することが検出され、その分布は組織の形態形成活性の分布と完全に逆の傾向を示した。³⁵S—硫酸を用いたパルス—チェイス実験を試みた結果プロテオコンドロイチン硫酸が消失する部域ではこれが合成されないのではなく、その代謝速度が合成速度より速いことがわかった。さらに、³Hプロリンを用いた標識実験及び抗コラーゲン抗体を用いた免疫沈降実験を行なったところ、表皮のコラーゲンI型の合成と分布も、プロテオコンドロイチン硫酸に於てみられたのと類似の傾向を示すことが観察された。即ち、プロテオグリカン硫酸やコラーゲンI型が多量に存在する表皮では形態形成が不活発であるが、表皮のプラコード領域ではこれらが減少し、またプラコードを裏打ちする真皮細胞塊でもやや遅れてこれらの成分は減少する。これらの結果を総合すると、細胞間物質の消長に関しては、影響が表皮から真皮に及ぶように見え、また細胞間物質の分布に変化の起こる領域は形態形成の活発な領域と強い相関を示す。本研究で扱った細胞間物質の厳密な機能はまだ明確ではないがこれらの合成と消失は、羽毛形成にとって必須の条件である表皮と真皮の相互作用という生物学的現象の、物質レベルの現れであることは明らかであり、発生過程における組織、あるいは細胞間の相互作用を分子レベルで解明する糸口となり得ると考えられる。

審 査 の 要 旨

胚発生における器官の形成は、細胞の運命決定、原基の形成、特定細胞の分化の3段階に分けて考えることが出来る。本研究はこのうち原基形成以後の過程を、皮膚の組織に存在するプロテオグリカンの分布とその消長を捕らえることにより精密に研究したもので、その結果、羽毛形成に必要な表皮・真皮間の複雑な相互作用の表徴の一つを細胞間物質の代謝速度の増加が合成速度を陵駕するという単純な図式で表現することが出来ることを示し、器官原基の分化過程に於ける物質レベルの変化に重要な示唆を与えるとともに、器官分化一般を分子レベルで研究する際の一つの方向を指示したものとして重要であり、発生学への重要な貢献として高く評価できる。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。