氏名	劉（リュウ） 驍（ショウ）
学位(専攻分野)	博士（医学）
学位記番号	医博第2089号
学位授与の日付	平成11年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Developmental changes in the subcellular localization of R-cadherin in chick retinal pigment epithelium （鶏胚網膜色素上皮発生におけるR－カドヘリンの局在変化）
論文調査委員	（主査） 教授 月田承一郎　教授 野田　亮　教授 本田孔士

論文内容の要旨

細胞接着分子のひとつであるカドヘリンは，細胞間の接着に関与するカルシウム依存性の接着分子である。カドヘリンには多くのサブタイプが知られているが，そのうちR-カドヘリンは網膜の形態形成に関わるカドヘリンサブタイプと考えられている。本研究は，網膜の形態形成におけるR-カドヘリンの役割を明らかにするために，ニワトリ胚網膜色素上皮における局在を電顕免疫組織化学的に調べた。

ニワトリ（白色レグホン）の孵卵6，8，10，12，13，16日の鶏胚と孵化1日の雛から網膜を摘出して，3.5%パラホルムアルデヒトと2.5%グルタルアルデヒドの混合液で固定し，網膜色素上皮の発生に伴う形態形成を電子顕微鏡で観察し，次に同じ時期のものを3.5%パラホルムアルデヒトと0.05%タンニン酸混合液で固定して，20μmのクリオスタット切片を作成して，R-カドヘリンの免疫染色を行った。一次抗体として抗R-カドヘリンモノクローナル抗体MRCD-5，また二次抗体としてTRITC（tetramethylrhodamine isothiocyanate）標識抗IgGを用いてそれぞれ免疫蛍光法で染色し，蛍光顕微鏡及び共焦点レーザー顕微鏡で観察を行った。また二次抗体に1nm金コロイド標識抗体を用い，それに銀増感法を併用することによって微細構造上のR-カドヘリンの局在を調べた。

R-カドヘリンは孵卵6日から網膜色素上皮細胞に現われ，12-13日にピークに達し，16日からは減少し，孵化前には消失した。孵卵6日では未発達な接着帯（zonula adherens）の形成がみられたが，R-カドヘリンは，そのような接着帯に限局せず，細胞の接着面全体に一様に発現していた。孵卵16日には，主に網膜色素上皮細胞の尖端部分の発達した接着帯に局在していた。金コロイド免疫電顕法によって，発生早期に接着帯及びそれ以外の細胞膜に沿って点状に金コロイドの沈着がみられた。発生後期には，良く発達した接着帯，すなわち細胞膜の高電子密度の部位に限局して金コロイドの沈着が多く見られた。細胞質中には金コロイドの沈着は認められなかった。

以上により，R-カドヘリンは，鶏胚網膜の形態形成に伴って網膜色素上皮に限局して発現されることが分かった。R-カドヘリンが網膜色素上皮細胞同士の接着面にのみに発現して，基底膜との接着面である細胞基底部や，他の細胞とはっきりした接着を示さない尖端部には発現されないという所見はカドヘリンの一般的な性質を良く表わしている。また発生初期には接着装置以外の形質膜にもびまん性にR-カドヘリンが発現することは興味深い事実である。すなわちカドヘリンは接着装置以外の形質膜にすでに発現されており，この時期は細胞の接着装置という形をとらないで接着機能に関与するものと考えられる。発生が進むにつつれて，接着帯が発達すると，カドヘリンは接着帯に組み込まれることによって，さらに強固で安定した接着機能を発揮するものと考えられる。一方，R-カドヘリンが孵卵16日以後は減少し，孵化後には完全に消失するという現象は，網膜色素上皮の接着に関わる分子がR-カドヘリンから他の接着分子へと変換されることを示すもので，接着帯が発生段階によってその接着分子をかえていくことを示唆するものである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

鶏胚網膜色素上皮の発生過程におけるR-カドヘリンの局在を免疫細胞組織化学的に検索し，以下の結果を得た。

R-カドヘリンは孵卵６日から網膜色素上皮細胞に現れ，12-13日でピークに達した後，16日から減少し，孵化前には消失した。発生初期に接着帯に限局せず，細胞の接着面全体に一様に発現し，カドヘリンの一般的なホモフィリックな結合性質を示していると考えられた。発生後期には，主に細胞の尖端部分の発達した接着帯に限局して発現し，接着帯の形成と維持に重要な役割を果たすことが明らかになった。一方，R-カドヘリンが孵化後に完全に消失するという現象は，網膜色素上皮の接着に関わる分子がR-カドヘリンから他の接着分子へと変換されることを示すもので，接着帯が発生段階によって接着分子をかえていくことを示唆するものである。

以上の研究は網膜の形態形成におけるR-カドヘリンの局在と機能の解明に貢献し，細胞生物学，発生形態学及び眼科学の発展に寄与するところが多いo

したがって，本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，本学位授与申請者は，平成11年１月18日実施の論文内容とそれに関連した研究分野の試問を受け，合格と認められたものである。