



## ラット胎児、新生児における脈絡叢の分化とNa<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> - ATPase, Alkaline Phosphatase および Keratinの局在

|       |                                                                                                                 |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2014-10-27<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 柴田, 太一郎<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/954">http://hdl.handle.net/10271/954</a>                                   |

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

|       |                                                                                                |         |             |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-------------|
| 学位記番号 | 医博第 101号                                                                                       | 学位授与年月日 | 平成 3年 3月26日 |
| 氏 名   | 柴 田 太一郎                                                                                        |         |             |
| 論文題目  | ラット胎児、新生児における脈絡叢の分化と $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATPase、Alkaline Phosphatase および Keratin の局在 |         |             |

医学博士 柴田 太一郎

論文題目

ラット胎児、新生児における脈絡叢の分化と $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  -ATPase, Alkaline PhosphataseおよびKeratinの局在

論文の内容の要旨

(はじめに)

髄液産生量の少なくとも70-80%が $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  -ATPase (ATPase) に依存していると言われるが、この酵素に対する従来の抗体は凍結切片を必要としたために、胎児脳組織を詳細に検討することは不可能であった。本研究ではアルコール固定・パラフィン切片に適用可能な抗体を用いて、これまで確定されていなかった脈絡叢からの髄液産生の開始時期について検討した。

(検索対象と方法)

動物: DA (RT-1<sup>a</sup>) ラットを用い、妊娠14日以降21日まで各胎齢を胎児期、出生日より連日生後7日までを新生児期、生後8日と14日を乳幼児期とした。12週齢の雄成ラットの脈絡叢および小腸を陽性対照とした。

組織染色法: 3 $\mu$ の薄切切片を作製し、HE染色、PAS染色、および免疫染色を施した。免疫染色はウサギで作製した抗 ATPase  $\alpha$ -サブユニット部分ペプチド抗体、市販の抗小腸性 alkaline phosphataseウサギ IgGおよび抗 keratin(56KD + 64KD)ウサギIgGを一次抗体とし、Histofine SAB POキット (生化学工業) を用いてストレプトアビジン-ビオチン法を行い、3, 3'-diaminobenzidineで発色させた。

(結果)

ATPaseは胎生14日で第四脳室ependymal roof plate上皮の髄液腔側表面および胎生16日で側脳室脈絡叢上皮腔側表面に認められた。以後は第四脳室、側脳室ともに脈絡叢先端部ほど強く陽性、側脳室脈絡叢よりは第四脳室脈絡叢に強く陽性となり、胎齢の進行とともに反応が増強した。ただし胎生21日以降には側脳室脈絡叢と第四脳室のそれにおいて反応の程度に差がほとんどなかった。小腸性alkaline phosphatase (ALP)は胎生15日の両脳室脈絡叢先端部の上皮基底部に初めて認められ、以後脈絡叢先端部から根部に向かって上皮の底面および側面(細胞間)に陽性となった。keratinは胎生期脈絡叢上皮では細胞辺縁部に陽性、脳室上衣では胎生期に陰性、生後8日で連続的に陽性になった。生後14日には成ラット同様脈絡叢上皮の細胞質のほぼ全体がALPおよびkeratin陽性になった。

(考察)

胎生15日以降第四脳室脈絡叢先端部の上皮を形成する胎生14日のependymal roof plateおよび胎生16日の側脳室脈絡叢上皮に見たように、ATPaseは脈絡叢形成初期から現れ、以後漸次増強した。明瞭なATPase陽性像が出現したのは発生当初の脳室上衣が偽重層から単層立方の脈絡叢上皮に移行した時期にあたる。したがって脈絡叢は発生当初から髄液産生器官であり、ラット脈絡叢では胎生14日前後から髄液の産生が始まると考えられる。従来から側脳室脈絡叢は第四脳室脈絡叢に比し成熟動物型の単層立方上皮への移行が遅いので、髄液産生開始も遅れるであろうと推測されてきた。今回の両脳室におけるATPaseの染色結果はこの推測を裏付けるものである。

脈絡叢上皮におけるATPaseの陽性度・分布様式がほぼ成ラットのそれに達するのが生後8日であったこと、胎生期に陰性であった脳室上衣のkeratinが胎児期の胚芽層の消失と一致して出生後8日において脳室全周にわたって陽性となったこと、ALPが成ラット同様に脈絡叢上皮の細胞質全体に陽性になるのが生後14日であったことを総合して、髄液産生機構の完成は生後14日前後と推測した。

## 論文審査の結果の要旨

本研究ではラットの脈絡叢の分化と髄液産生機構の発達過程を検討した。アルコール固定、パラフィン切片に適用可能な $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase, (ATPase) に対する抗体を用いて、これまで確定されていなかった脈絡叢からの髄液産生の開始時期について検討した。また、ケラチンや小腸性alkaline phosphatase (ALP) に対する抗体を用いて免疫染色し、脈絡叢の分化・発達の過程を研究した。

- 1) ATPase免疫活性は胎生14日で第四脳室のependymal roof plate上皮の髄液腔側の表面に認められた。側脳室ではやや遅れて、胎生16日になって脈絡叢上皮の髄液腔側の表面に観察された。以後、第四脳室や側脳室の脈絡叢とも先端部での反応は強く、根部ではやや弱い（第四脳室の脈絡叢での反応はより強い）。ただし、胎生21日以降になると、その反応の程度の差は両脳室ではほとんどなかった。
- 2) 胎生15日、小腸性ALP免疫活性は両脳室とも脈絡叢の先端部の上皮細胞に出現し、以後脈絡叢の根部に向って陽性になった。初めは上皮細胞の基底部のみに認められたが、のちにその側面も陽性になった。生後14日になると、成ラットの脈絡叢上皮と同様、その細胞質のほぼ全体にALP免疫活性が陽性になった。
- 3) 胎生期には脳室上衣はケラチン反応陰性であるが、脈絡叢上皮では細胞辺縁部が陽性である。生後14日になると、成ラットの脈絡叢上皮と同様、その細胞質のほぼ全体にケラチン反応陽性になった。脳室上衣の細胞質も陽性になった。
- 4) 胎生14日、第四脳室のependymal roof plate上皮は単層である。しかし、側脳室の脈絡叢の上皮は偽重層である。胎生16日では側脳室の脈絡叢の上皮は高さを減じ、胎生17日では先端部から中央部にかけて単層立方体となっている。

ATPase免疫活性は脈絡叢形成初期（脳室上衣が偽重層から単層立方上皮に移行した時期）から現れ、以後漸次増加した。したがって、脈絡叢は発生当初から髄液産生器官であると思われる。側脳室脈絡叢の上皮が単層立方上皮に移行するのが第四脳室のそれより遅れることと今回の両脳室でのATPase免疫活性の染色結果は興味深い。脈絡叢上皮におけるATPase免疫活性の陽性度や分布様式がほぼ成ラットのそれに達するのは生後8日であること、脳室上衣のケラチンが脳室全周にわたって陽性になったのは生後8日であること、ALP免疫活性が成ラット同様に脈絡叢上皮の細胞質全体に陽性になるのが生後14日であることを総合して、髄液産生機構の完成は生後14日前後と推測した。

また、発表に際し、次のような質疑が行われた。

- 1) 胎児期の脳脊髄液の組成はどうなっているのか。
- 2) 脈絡叢の構造はどのようになっているのか。
- 3) どのようにして丈の高い細胞が低くなって立方状になるのか。
- 4) 脈絡叢上皮細胞の表面の突起を何というのか。
- 5) 小腸性 alkaline phosphataseやケラチンなどの働きは。
- 6) PAS陽性物質はどのようなところに認められたか。

以上の点について、申請者の応答は概ね適切であった。

審議の結果、本審査委員会は本論文が学位授与に値する十分な内容を備えているものと全員一致で判定した。

|         |    |     |         |    |         |
|---------|----|-----|---------|----|---------|
| 論文審査担当者 | 主査 | 教授  | 川 名 悦 郎 |    |         |
|         | 副査 | 教授  | 藤 田 道 也 | 副査 | 教授      |
|         |    |     |         | 教授 | 森 田 之 大 |
|         | 副査 | 助教授 | 平 光 忠 久 | 副査 | 講師      |
|         |    |     |         |    | 下 山 一 郎 |