

氏 名 (本 籍)	やま 山	ざき 崎	まさ 正	ひろ 博
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医	第	7 8 7	号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和	4 8 年	2 月	2 1 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当			
最 終 学 歴	昭 和 3 8 年 3 月 東 北 大 学 理 学 部 生 物 学 科 卒 業			
学 位 論 文 題 目	初 期 鶏 胚 に お け る 酵 素 組 織 化 学 的 研 究			

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 森

富 教 授 山 本 敏 行

教 授 石 井 敏 弘

論文内容要旨

実験発生学の分野において、これまでRawles, Rudnick, Sprattらに代表される多くの研究者が、主として鶏胚で、腸胚形成期を中心とした初期胚における、種々の予定器官域の位置の決定と、それぞれを区別する試みを行って来た。最近では、Rosenquist, DeHaanらは予定心臓域についての詳細な報告を行っている。一方、胚の微小部分の化学的特性を理解する目的で、組織化学的手技が発生学の分野でも、しばしば適用されて来た。鶏胚についても、多くの酵素組織化学的研究がなされて来たが、その多くは特定器官あるいは組織についてのものであり、器官形成以前の初期胚を扱ったものは少い。初期鶏胚における、特に脱水素酵素系を対象とした研究は、Sprattの短報を除きほとんど見られない。本研究はHamburger-Hamilton stage (H·H) 3-9の初期鶏胚を用い、次の主として糖代謝系に関与する5種の酵素活性の、発生に伴う3胚葉の分化過程における分布と消長を明らかにし、これらを前記の多くの予定器官域との関連において考察する目的で行われた。観察の対象とされた酵素はsuccinate dehydrogenase (SDH), lactate dehydrogenase (LDH), α -glycerophosphate dehydrogenase (α GPDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH)およびaldolase (ALD)である。酵素活性の検出には、Newの初期鶏胚の*in vitro*培養法を応用した。これらの胚につき、弱拡大下で、胚全体の反応像を観察し、次で胚の連続切片を組織学的に観察し、次の結果を得た：予定心臓域についての多くの研究者による配置図は、大筋においては互いに一致しており、H·H期3以前の胚についても、同域と見られる部位が記載されている。本研究においては、H·H期5に初めて、これと相同と見做し得る範囲の中胚葉細胞群がALD活性と、著しく高いSDH活性を示した。これらの分布範囲をこれまでの予定心臓域配置図と対比する時、SDH域はRawlesの描く頭突起外側の高さで、明域のほぼ全体に広がる楕円形の範囲とよく一致するが、その外後方の一部では、活性は明瞭に低い。この部分は、Rosenquistのいう側板中胚葉となる部分にはほぼ該当する。しかしSDH域は、Rosenquist and DeHaanの示す予定心臓域を越えて、なお広く内外側に及んでいる。一方ALD域はむしろ、彼らの示す範囲とよく一致する。H·H期6以後においては、彼らの示す範囲と比較的よく一致して、 α GPDH次でLDH、最も遅れてG6PDHの活性が新たに検出された。SDH, ALDも含めたそれぞれの酵素活性の現われ方はかなり急激である。Orts-Llorcaは心臓形成中胚葉の形態形成には、遅くもH·H期4⁺から、内胚葉の誘導作用が必要であることを指摘したが、ここで見られた心臓形成中胚葉が、時間を追って新たな化学的特性を獲得することにも関係があるか否かは重要な問題である。一方、SDH活性が心臓形成中胚葉に特に強く現われることは、この部位でミトコンドリア活性が

高いことを示しているといえ、Ebertらが指摘した電子伝達系の阻害剤であるAntimycin Aの初期鶏胚の予定心臓域に及ぼす顕著な形態的障害もよく理解出来る。Ebertらはまた、解糖阻止剤としての弗化ソーダが同様に心臓形成中胚葉に強い障害を起すことから、心臓原基の発達は解糖機能に依存しているとのSprattの見解を支持しており、ここで得られた心臓形成中胚葉に早くから存在するALD活性も、この部位の解糖作用を示すものとして両者と一致する。原始線条域における数種の酵素活性の分布は注目に値する。即ちSDH活性はその部分のepiblastに均等に分布しているのに対し、ALDのそれは胚盤の後方約1/4に局限する。これはepiblastの頭一尾軸に沿う分化の点での不均一性を示すものといえる。更に陥入mesoblast部分には、一層複雑な不均一性が見られる。即ち、浅・中層大部分のmesoblastはSDH活性を示すが、深層では外側へは余り広がらないG6PDH活性を示す細胞群、最深層では内胚葉の直上で、原始線条の外側縁を越えて外側へ広がる強いLDH活性を示す細胞群が主体となっている。原始線条の後方では、ALD活性の強い細胞が、最上層のepiblastに限られて存在する。これらの事実は、陥入部分のepiblastとmesoblastに、酵素活性の点で、従っておそらく細胞の分化という点での不均一性があることを示す。これまでの多くの研究によれば、この部位はepiblastに一定の配列を示す多くの予定器官原基が将来の定められた位置へ移動してゆく際の通過路であり、従ってこの部の細胞は、将来の器官形成能という点で、時間的、空間的に不均一である。本研究で得られた酵素活性の不均一性はその一面を表わすものといえよう。上記の所見以外にも、時期的および位置的にそれぞれの酵素の活性が特定の消長および分布を示すのが一般的であった。原始結節域には、SDH活性が全期を通じて見られたのに対してLDH、G6PDHはほとんど陰性であり、αGPDHは一定しない。ALD活性はH・H期4-6に一時消える。神経性構造にはLDH、G6PDH以外の酵素活性が見られたが、これらは主として神経板或は神経隆起に強く、神経隆起が合さるに伴い反応は減ずる。また神経性構造の形成に伴い、この高さの明域の外胚葉でαGPDH活性が低下するのが見られた。体節にはG6PDHを除く4種の酵素活性が見られた。中でもLDH活性はその腹側の、主として後に椎板となるべき部分に偏って存在する。この酵素活性は側板中胚葉においてはその臓側葉に認められ、ほとんど陰性に近い胚外中胚葉は明瞭に区別し得る。前腸の形成に伴い、この内胚葉上皮の活性が高まるのが、ALD、G6PDH以外の酵素で見られ、このとき、腹側上皮の反応が背側のより更に強いのが一般的であった。これらの所見はいづれも、形態的には未分化の構造内での化学的特性の分化を示すものと考えられるが、なおこれらを直ちに個々の器官原基と対比させて解釈することは困難である。

審査結果の要旨

この研究では、Hamburger-Hamilton (H-H) stage 3-9 (孵卵 12-33 時間) のニワトリ胚における succinate dehydrogenase (SDH), lactate dehydrogenase (LDH), α -glycerophosphate dehydrogenase (α GPDH), glucose-6-dehydrogenase (G6PDH) および aldolase (ALD) の活性を、それぞれの基質、必要な補酵素および Nitro Bluetetrazolium を含む液に New の *in vitro* 培養法に準じて胚盤を浸漬する方法で検出し、さらにそれらの胚盤を連続切片に作製して、細部に亘る観察を行なっている。発生に伴う分化の機構を、ヒトや動物の胚の組織化学的観察を通して解明しようとする試みは少なくないが、この研究の特色は、解糖にかかわりをもつ上記の諸酵素の分布と、実験発生学的に初期の胚盤上に想定されてきた種々の予定器官域との対比が試みられた点にある。そのような点で注目すべき結果は、予定心臓域の中胚葉および原始線条部における陥入中胚葉の酵素活性に関するものである。

予定心臓域に当る中胚葉では、H-H stage 5 から、強い SDH および ALD 活性がみられその活性域のその後の発育に伴う前腸門外方への集約も、心臓形成中胚葉について既知の動きとよく一致した。SDH と ALD の活性域は、中央部では互に重なりながら、そのひろがりはかなり異なり、特に ALD 活性域は、Rosenquist らが詳しい解析の結果示した心臓形成中胚葉域とかなりによく一致した。

原始線条部には、発育段階により、また、頭尾軸に沿った部位により差はあるが、多くの酵素の活性がこの部に集中的に検出された。かつ、横断切片での観察は、この部の諸酵素の活性は、最表層の epiblast から最深層の hypoblast に向けて、それぞれ異なる勾配を持つ分布を示した。このような原始線条部 mesoblast の著しい heterogeneity は今まで明瞭な記載はなく、この部が胚盤の epiblast が陥入し、中胚葉として展開する際の集約的な通路であることを考えると、極めて重要な指摘である。

以上のほか、原始結節、体節、神経隆起、頭突起等の、観察期間内に形成される原始器官のそれぞれについても、酵素活性の分布と消長が細述された。

これらの諸所見の多くは新しい知見であるばかりでなく、器官形成期に先立つ特定の細胞群の分化を酵素活性の発現としてとらえたものであって、分化機構の解明に資するところが少なくない。従って、学位を授与するに価するものと考えられる。