

氏名	いのうえ ただのり 井上 忠典
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第200号
学位授与年月日	平成16年 1月 7日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	胎生期ラットの皮膚神経の形態発生の経時的観察 —特に68kD神経細線維、神経成長因子、神経成長因子受容体 に対する免疫組織化学的及び電子顕微鏡的検討—
学位論文審査委員	(主査) 三原 基之 (副査) 大浜 栄作 井上 貴央

## 学位論文の内容の要旨

著者は胎生期ラットの神経線維が抗68kD神経細線維抗体で大変良く染色されることを見いだした。そこで、この抗体を用いて胎生期ラットの皮膚神経の形態発生の経時的観察を試み、同時に神経成長因子および神経成長因子受容体を免疫組織化学的に検討し、電子顕微鏡的観察も行ったので、その結果を報告する。

### 方法

材料：受精後21日で出産するDA/Slcラットの胎仔背部皮膚を用いた。予備実験で用いた抗68kD神経細線維(NF68)抗体、抗プロテイン・ジーン・プロダクト9.5抗体、抗ニューロン特異的エノラーゼ抗体のうち、抗NF68抗体が最も反応性が高いことを確認した。本実験では、胎生11日から出産日までの採取皮膚が3分割され以下の如く処理された。

組織学：第一分割試料は10%ホルマリン液で固定され、パラフィン包埋後、切片はヘマトキシリン・エオジン(H. E.)染色された。

免疫組織化学：第二分割試料は凍結切片が作られ、抗NF68抗体、抗神経成長因子(NGF)抗体、抗神経成長因子受容体(NGFR)p75抗体、抗trk A抗体が一次抗体として使用された。

電子顕微鏡学：第三分割試料は細切され、グルタルアルデヒドとオスミウム酸で固定され、エポン812に包埋され、超薄切片は酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色後、透過型電子顕微鏡で観察された。

### 結果

組織学的所見：胎生15日で表皮の一部に中間細胞が初めて認められた。胎生16日では1~2個の中間細胞よりなる中間細胞層が形成された。胎生17日で有棘細胞、顆粒細胞が現れ、胎生19日で角質細胞がみられた。

免疫組織化学的所見：NF68：胎生13日までは、NF68陽性線維は表皮下には少なく、稀に表皮内に認められた。胎生14日では表皮内および表皮下で多数のNF68陽性線維が認められたが、胎生16日ではNF68

陽性線維は完全に消失していた。胎生19日以後、NF68陽性線維は少数ながら表皮内および表皮下真皮で認められた。

NGF：胎生14日までは、ほとんど認められなかったが、胎生15日より表皮中間細胞で発現し、胎生17日以後では基底層を除く表皮全層で強く発現した。

NGFR：表皮および真皮の構成細胞および組織はいずれも免疫染色されなかった。

電子顕微鏡的所見：胎生13日までは真皮に未成熟の軸索よりなる軸索束が認められた。軸索原形質は多数の微小管や神経細線維で充たされていたが、この所見は胎生期間中みられた。胎生16、17日では、相当数の軸索に著しい変性像が認められた。

## 考 察

本研究では胎生14日にNF68陽性線維が表皮内および表皮下で最も多く分布し、胎生16日ではこれらが完全に消失し、以後成熟ラットの表皮内及び表皮下神経線維の分布に近づいていった。NGFは表皮でのみ発現された。しかし表皮基底細胞では発現されず、中間細胞、有棘細胞、顆粒細胞で非常に強く発現された。NGFRは表皮および真皮のいずれでも発現されなかった。以上の所見よりNF68陽性線維の分布密度と表皮のNGFの発現の様態は相関していないといえる。本研究ではNGFRの発現が神経線維で全く認められなかったので、胎仔ラットの皮膚神経は表皮細胞で産生されるNGFの影響を受けていないといえるであろう。

## 結 論

DA/Slcラットの胎仔皮膚では妊娠中間期より少し遅れて皮膚神経の分布密度が最も高くなり、以後、急激に減少し、出産日までに再び増加に転じ、成熟ラットの分布密度になることが示された。一方、表皮におけるNGFの発現は基底細胞を除く表皮全層で強く発現され、これは胎生期ラット皮膚では皮膚神経の分布にNGFが直接的影響を及ぼさないことを意味する。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は胎生期 DA/Slc ラットの背部皮膚を用いて、抗 68kD 神経細線維抗体、抗神経成長因子抗体、抗神経成長因子受容体抗体を用いて胎生 11 日から出産日まで経時的に、皮膚末梢神経と表皮での NGF の発現を観察したものである。その結果、胎生 14 日で神経線維が表皮内および表皮下真皮内で最も多く出現するが、胎生 16 日では急激に減少し、それ以後の皮膚神経の基本的分布様態はほぼ同じで成熟ラットの分布様態へ移行するものであった。一方、表皮における NGF の発現は胎生 14 日まではほとんど認められなかったが、胎生 15 日より表皮中間細胞で発現し、胎生 17 日以後では基底層を除く表皮全層で強く発現していることが確かめられた。これらの結果は胎生期ラット皮膚では皮膚神経の分布に NGF が直接的影響を及ぼさないことを意味する。本論文の内容は、胎生期ラットにおける皮膚末梢神経の発生の動態並びにその発生動態と表皮 NGF との関係に関する新知見を示したものであり、皮膚神経学の分野で明らかに学術水準を高めたものと認める。