

甲状腺ホルモン低下処理した次世代マウス小脳顆粒細胞の分化・発達遅滞と T4 添加による回復

永田功^{1,3}、木村一黒田純子^{1,3}、黒田洋一郎^{2,3}

1 都神経研・脳構造 2 都神経研・分子神経生物 3 CREST 科学技術振興事業団

マウスの小脳顆粒細胞は胎生期に発生し出生直後から生後約 2 週間までの比較的短い期間に、前駆細胞の再増殖、突起の伸長を伴う神経細胞への分化、複雑な細胞移動を伴った高度な細胞分化過程を経て成熟する。これらの過程に甲状腺ホルモンが重要な役割をしていると考えられているが、詳細はまだよくわかっていない。われわれは、これまでに確立した顆粒細胞の分化・発達過程を部分的に再現できる microexplant culture 系¹⁾や、その簡便法を用いて前駆細胞の増殖・突起の伸長、細胞移動、グリアの進展などを解析した。甲状腺ホルモンを低下させるために、妊娠 14 日マウスにヨード欠乏飼料とプロピルチオウラシル含有飲料水を与えて、甲状腺ホルモン低下マウスを作製した。生後 3~4 日マウスで、この小脳皮質を細切し、これをラミニン基質に静置し、甲状腺ホルモンとして T4 を 0.1~100nM 添加した無血清合成培地で 1~4 日培養し、微小な組織片からの突起の伸長や細胞の移動距離などを解析した。その結果、前駆細胞の増殖は T4 の影響をほとんど受けなかったが、突起の伸長、細胞移動、細胞凝集およびグリアの進展は、比較的低濃度(1~10nM)で促進された。このように、胎生期及び出生後早期に低甲状腺ホルモン下で飼育したマウスの小脳を用いることにより、T4 の添加が顆粒細胞の分化・発達の遅れを部分的に回復できることを *in vitro* で確認した。この培養系は比較的短期間に添加物質の影響を調べることができる利点があり、我々は現在この培養系を用いて代表的な内分泌かく乱物質の影響を調べている。

Effects of thyroid hormone (T4) on development of cerebellar granule cells in cerebellar microexplant cultures

Isao Nagata^{1,3}, Junko Kimura-Kuroda^{1,3}, Yoichiro Kuroda^{2,3}

1 Department of Brain Structure, Tokyo Metro. Inst. for Neurosci., 2 Department of Molecular and Cellular Neurobiology, Tokyo Metro. Inst. for Neurosci., 3 CREST, JST

To determine the effect of thyroid hormone on cerebellar granule cell neurons, we made hypothyroid mice from the embryonic day 14, in which intrinsic thyroid hormones were minimized, took cerebella at the postnatal day 3-4, cut into small tissues and cultured in a serum-free medium free of bovine serum albumin for several days. In this microexplant culture system, precursor cells of the neurons proliferated, differentiated into mature granule cells after showing a unique migratory behavior for several days¹⁾. Addition of a low concentration of thyroid hormone T4 to this or modified cultures resulted a significant increase of neuronal cell migration promoting each step of the differentiation and glial extension. Such effects were sensitive to a low dose (1-10 nM). We are now investigating the effect of some environmental chemicals on the development of granule cells using these culture systems.

1) Nagata & Nakatsuji (1990) Granule cell behavior on laminin in cerebellar microexplant cultures. *Dev Brain Res.*, 52, 63-73