

細胞の分化を鋭敏に反映する細胞膜糖鎖と中間径フィラメントタンパク質

岡山市北区庭瀬42-45

岩月宏彦

Carbohydrates on the cell surface and
intermediate filament proteins sensitively reflect the cell differentiation

Hirohiko IWATSUKI

Niwase 42-45, Kitaku, Okayama 701-0153, Japan

概 要

細胞は細胞種、機能状態や成熟程度などの自己情報を他の細胞に知らせている。この時利用されるのが細胞膜表面の糖鎖である。細胞が分化する時、形態が変化する直前に細胞膜の糖鎖組成が変化し始める。それより早く細胞の分化開始を我々に教えてくれるものがある。細胞骨格の中間径フィラメントである。細胞の分化の方向が決定した時点でこのフィラメントのタンパク質組成が変化し始める。細胞膜や細胞の形態と機能はその後しばらくしてから変化を開始する。この論文では我々が行ってきた研究を基に、細胞分化を鋭敏に反映する細胞膜の糖組成変化と中間径フィラメントの構成タンパク質の変化を紹介する。

キーワード：細胞分化, 細胞膜, 糖鎖, 細胞骨格, 中間径フィラメント, 幹細胞

Abstract

Cells inform other cells of their information providing details, such as cell type, functional conditions and developmental stage. This communication mechanism depends on oligosaccharide chains on the cell surface. The composition of the oligosaccharide chains begins to change immediately before the morphological change of the cell in the area of cell differentiation. Intermediate filaments inform us of the beginning of cell differentiation earlier than the oligosaccharide chains do. When the cell differentiation process begins, the protein composition of intermediate filaments is changed. Afterward, the composition of the oligosaccharides subsequently begins to change. This review, based on our research, introduces the changing of oligosaccharides on the cell surface and the intermediate filaments in the cytoplasm to clearly reflect the cell differentiation.

Key words: Cell differentiation, Cell membrane, Oligosaccharide, Cytoskeleton,
Intermediate filament, Stem cell

1. 緒言

細胞膜は脂質、タンパク質と糖の3要素で構成される。脂質二重層の中にタンパク質が散在し、脂質とタンパク質の外表面に糖鎖が結合している(図1)。糖は多数のヒドロキシ基が全て結合に関与できるため、枝分かれし、複雑な構造を作り出す¹⁾。さらに糖の種類も多数存在するため、糖鎖の種類は実に膨大なものとなる。このため、主に糖鎖が細胞間での詳しい情報伝達を担っている²⁾。

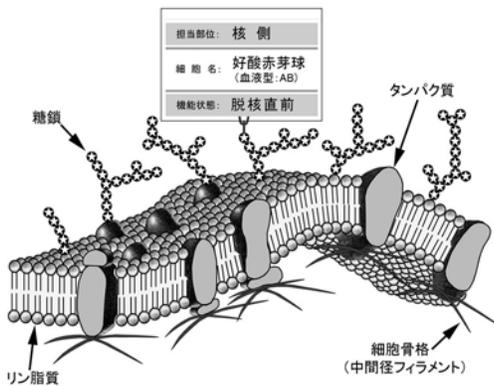


図1 細胞膜を構成する脂質(主にリン脂質)、タンパク質と糖。糖鎖は脂質とタンパク質の外表面に結合する。タンパク質の内表面には細胞骨格である中間径フィラメントが結合するが、特定部位ではアクチンフィラメントも結合する。

一方、細胞内に網目を形成している細胞骨格は中間径フィラメント、アクチンフィラメント

と微小管の3要素で構成される。アクチンフィラメントはGアクチンで、微小管は α チューブリンと β チューブリンで構成されるが、中間径フィラメントを構成するタンパク質は現在6グループ、約70種類が同定されている³⁾(表1)。更に、ケラチンフィラメントなど、多数の中間径フィラメントはこれらのタンパク質のヘテロダイマーが単位となって形成されるため⁴⁾、その種類は膨大となる。中間径フィラメントの構成タンパク質は細胞分化のプログラムが開始すると同時に変化を開始する⁵⁻¹⁰⁾。このため、中間径フィラメントは器官形成や疾病の時に、細胞分化を最も鋭敏に反映するマーカーとなる。

2. 細胞分化と細胞膜

細胞膜の糖鎖は1980年代になってやっと注目されるようになった。最初は糖組織化学と酵素消化法を組み合わせた方法で検出していたが、1982年頃から糖残基を特異的に認識するレクチン¹¹⁾の利用が可能となり、その後、細胞膜糖の研究が急速に発展した。細胞膜の糖鎖は細胞分化が開始すると同時に変化し始める。細胞分化を鋭敏に反映する現象は特に肺胞上皮の発生時¹²⁾と脱分化時¹³⁾、および胎児造血での赤芽球の脱核時¹⁴⁾に認められた。

表1 中間径フィラメントタンパク質

Type I :	ケラチン9~28(サイトケラチン), ケラチン31~40(ヘアケラチン)
Type II :	ケラチン1~8とケラチン71~80(サイトケラチン), ケラチン81~86(ヘアケラチン)
Type III :	デスミン, ビメンチン, ペリフェリン, グリア線維酸性タンパク質(GFAP), シンコイリン
Type IV :	ニューロフィラメントタンパク質(NF)-L, NF-M, NF-H, α インターネクシン, α シネミン, β シネミン, ネスチン
Type V :	ラミンA, ラミンA Δ 10, ラミンC1, ラミンC2, ラミンB1, ラミンB2, ラミンB3
Type VI :	CP49(ファキニン), フィレンシン(CP115)

a. 肺胞上皮細胞と細胞膜

成獣の肺胞上皮は扁平な I 型細胞と立方形の II 型細胞で構成されるが、表 2 に示されるように、それらの細胞表面の糖組成は異なる^{15,16)}。I 型細胞と II 型細胞への分化では、下記のように、発生に伴う細胞分化と傷害に伴う脱分化でそれを鋭敏に反映するマーカーが異なる。発生に伴う分化では SBA レクチンの結合性が¹²⁾、傷害時の脱分化では RCA-I レクチンの結合性が¹³⁾ それらを特に鋭敏に反映する。

ラットの肺胞上皮は胎生 16 日では円柱細胞であるが、胎生 19 日には立方細胞となる。その後、I 型細胞と II 型細胞への分化が開始し、出生時には成獣と同じ形態を示す¹²⁾。表 2 に示すように、分化開始直前の胎生 19 日の未分化立方細胞

でもすでに SBA の結合性に変化が認められ、15% の未分化立方細胞で SBA レクチンが結合しない。胎生 20 日の分化開始直後では、全ての未熟 II 型細胞に SBA レクチンが結合しない。しかし、他の糖の変化は徐々に進行する。

マウスに butylated hydroxytoluene (BHT) を投与すると肺胞上皮の I 型細胞だけが壊死する。その後、II 型細胞が増殖し、投与後 5 日目にはそれらの一部から I 型細胞が再生し始め、投与後 12 日目には正常な肺胞上皮が再生する¹⁷⁾。表 3 に示すように、BHT 投与後 5 日目の、形態的に I 型細胞への分化の開始が認められる立方細胞で、すでに RCA-I レクチンが多量に結合する。しかし、他の糖の変化は徐々に進行する。

表 2 発生に伴うラット肺胞上皮細胞の細胞膜表面の糖の量的変化

Age	Cell	硫酸化糖 (HID,metCI)	Man, Glc (ConA)	GalNAc (SBA)	β Gal (RCA-I)
胎生 16 日	円柱細胞	+	++	+	+++
胎生 19 日	立方細胞	+	++/+	+/-	+++
胎生 20 日	I 型細胞	+/-	++	+	+++
	II 型細胞	+	++/+	-	++
生後 0 日	I 型細胞	+/-	++	+	+++
	II 型細胞	+	+	-	-
生後 5 日 ～成獣	I 型細胞	-	++	+	+++
	II 型細胞	+	+	-	+

Man; mannose, Glc; Glucose, GalNAc; N-acetylgalactosamine, Gal; Galactose, HID; High iron diamine staining, metCI; Dialyzed colloidal iron staining after mild methylation.

表 3 脱分化に伴うマウス肺胞上皮細胞の細胞膜表面の糖の量的変化

BHT 投与後		硫酸化糖 (HID,metCI)	Man, Glc (ConA)	GalNAc (SBA)	β Gal (RCA-I)
0 日	正常 I 型細胞	-	++	+++	+++
	正常 II 型細胞	+	+	-	+
5 日	I 型への移行細胞	+	+	-	+++
8 日	I 型への移行細胞	+	+	+	+++
12 日	再生 I 型細胞	+/-	+	+	+++
26 日	再生 I 型細胞	-	++	+++	+++

b. 赤芽球の脱核と細胞膜

胎生初期の原始赤血球は卵黄囊由来で、核を有する。肝臓造血が開始すると、卵黄囊での造血は止み、原始赤血球はアポトーシスに陥る¹⁴⁾。肝臓造血が始まると、類洞内を遊走するマクロファージの一部が類洞壁に定着し、クッパー細胞に分化し、残りの一部は肝細胞索内に入し、赤芽球島中心細胞に分化する¹⁸⁾。これらのマクロファージはアポトーシスに陥った原始赤血球と、肝臓造血で赤芽球から放出された核を盛んに貪食する¹⁹⁾。これらのマクロファージは貪食対象を血球表面のシアル酸の解離程度で識別する¹⁴⁾。

シアル酸は現在Nアセチルノイラミン酸など15種類が同定されている²⁰⁾。図2に示すように、若い原始赤血球の細胞膜表面には多量のNアセチルノイラミン酸が存在する。原始赤血球がアポトーシスに陥ると、細胞膜の糖鎖末端のNアセチルノイラミン酸が外れ、マクロファージに貪食される。一方、肝臓造血での赤血球形成では好塩基赤芽球のステージで細胞膜表面のシアル酸はNアセチルノイラミン酸から他の種類に変化する。しかし、この変化にはマクロファ-

ジは反応しない。脱核直前の好酸赤芽球のステージで、核が細胞質の一方に偏在すると、核の周囲の細胞膜では糖鎖末端のシアル酸が解離する。このため、脱核後、シアル酸の乏しい細胞膜で囲まれた放出核はマクロファージに貪食されるが、シアル酸の豊富な細胞膜を有する赤血球は貪食されない。

3. 細胞分化と中間径フィラメント

図3に示すように、中間径フィラメントタンパク質はhead, rod とtailの三つのドメインで構成される³⁾。中間径フィラメントタンパク質は現在6グループ70種類以上が同定されているが(表1)、これらのうちラミンのtailドメインだけに核内在シグナルがあるため、ラミンは全ての細胞の核内に、核ラミンと呼ばれる中間径フィラメント網工を形成する²¹⁾。中間径フィラメントはダイナミックな性質を有し、リン酸化により容易に脱重合し、脱リン酸化により再重合する²²⁾。それは特にビメンチン²³⁾やケラチン^{20²⁴⁾}で顕著である。

中間径フィラメントは、極性のない細胞の細胞質では核周囲と、そこから細胞辺縁部に放射

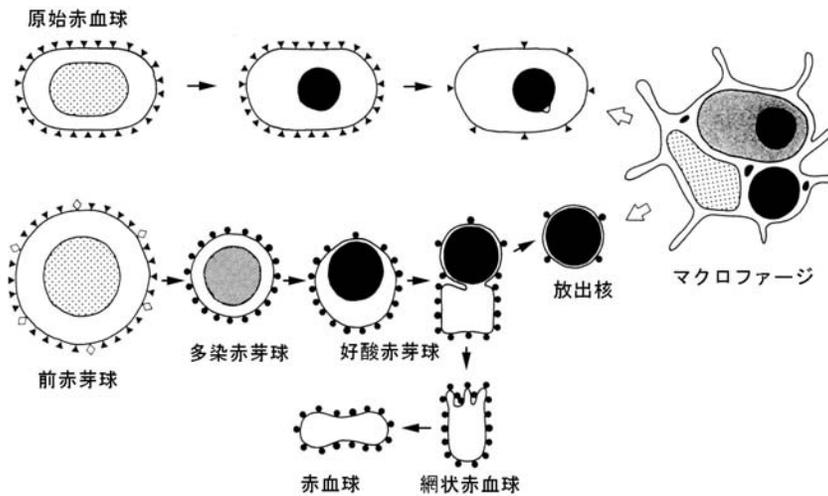


図2 マウス胎児造血での赤血球系細胞の細胞膜表面のシアル酸の変化。細胞膜表面のシアル酸量の減少がマクロファージの貪食対象と成る。▼：Nアセチルノイラミン酸，●：Nアセチルノイラミン酸以外のシアル酸，◇：Nアセチルガラクトサミン

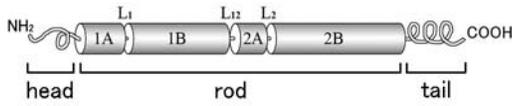


図3 中間径フィラメントタンパク質：N末端のheadドメイン，中央部のrodドメインと，C末端のtailドメインからなる。このうち， α ヘリックスのrodドメインは非ヘリックス領域L1，L12とL2により1A，1B，2Aと2Bセグメントに分割される。ラミン以外の全ての中間径フィラメントタンパク質のrodドメインはサイズとアミノ酸配列が同じである。一方，headとtailドメインは各タンパク質によりそのサイズとアミノ酸配列が大きく異なる。

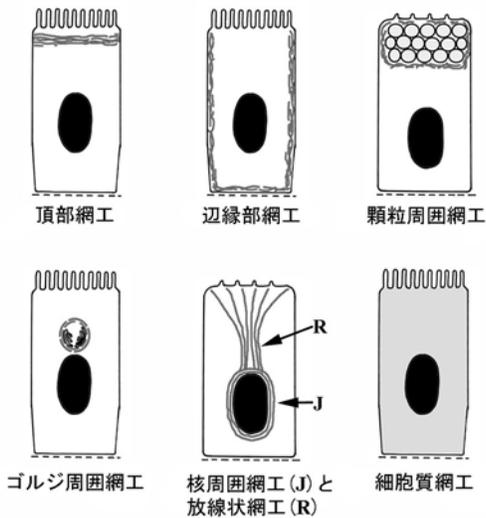


図4 極性を有する細胞の細胞質に存在する7種類の間径フィラメント網工。灰色の線が中間径フィラメント網工を示す。詳細な各網工の構造と機能は文献28を参照されたい。

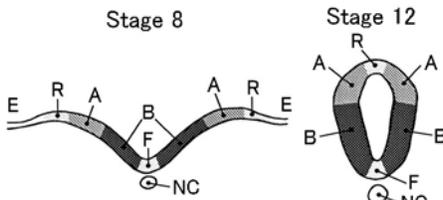


図5 Stage 8の鶏胚の神経板とStage 12の神経管における，神経上皮でのビメンチンの発現。図の点の密度はビメンチン発現量の差を表し，将来知覚性の翼板を形成する領域(A)は少量の，運動性の基板を形成する領域(B)は多量のビメンチンを発現するが，蓋板(R)と底板(F)となる領域ではビメンチンはほとんど発現しない。NC：脊索，E：皮膚性外胚葉。

状にのびる2種類の網工を形成する²⁵⁾。極性を有する細胞の細胞質には図4に示すように7種類の間径フィラメント網工が存在する^{24,26-28)}。各網工の機能は総説²⁸⁾に記している。各網工は細胞の機能発現に最も適した中間径フィラメントで構成され，その構成タンパク質は細胞分化のプログラムが開始すると同時に変化を開始する。一般にタンパク質発現の早期発見にはmRNAの検出がよく利用される。しかし，中間径フィラメントタンパク質の場合はmRNAの半減期が極めて短い為，直接タンパク質を検出する方法がとられる。例えば，マウス線維芽細胞のビメンチンmRNAの半減期は約6時間だが，形成されたビメンチンは細胞が死ぬまで維持される²⁹⁾。細胞分化を鋭敏に反映する現象は特に眼胞上皮⁵⁾や神経上皮^{6,7)}の分化時に認められた。さらに，中間径フィラメントをマーカーとして末梢神経系の幹細胞¹⁰⁾や小腸の絨毛上皮の分化過程も解明できた^{24,30,31)}。

a. 神経上皮の分化とビメンチン

中枢神経系の発生は神経板の形成に始まる。神経板はやがて神経溝を形成し，神経管となる。その後，神経管の背側部の神経上皮からは知覚性の翼板のニューロンが，腹側部からは運動性の基板のニューロンが発生する³²⁾。神経上皮細胞の細胞質網工はネスチンで形成されるが，ほかに，細胞基底部と核の間にビメンチンが放線状網工を形成し始める。図5に示すように，神経板が形成されると，将来，知覚性領域となる神経上皮と，運動性領域となる神経上皮とが分化しはじめ，それぞれのビメンチンの発現量が異なる^{6,7)}。

眼球形成は前脳胞の側方への突出，すなわち眼胞の形成に始まる。次いで，眼胞は陥入し，二重壁の眼杯となる。図6に示すように，ビメンチンをマーカーとすると眼胞のステージですでに上皮では将来網膜視部，網膜盲部と色素上

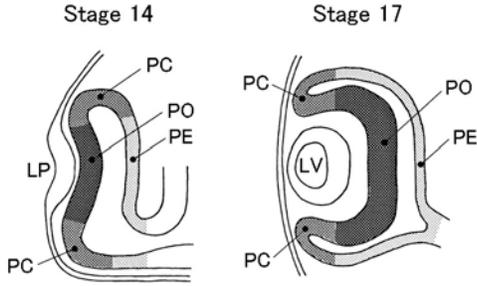


図6 Stage 14の鶏胚の眼胞上皮とStage 17の眼杯上皮におけるビメンチンの発現。図の点の密度はビメンチン発現量の差を表し、将来、網膜視部を形成する領域 (PO) は多量の、毛様体上皮と虹彩上皮を形成する領域 (PC) は中程度の、色素上皮を形成する領域 (PE) では少量のビメンチンを発現する。LP: 水晶体板, LV: 水晶体胞。

皮になる領域が区別される⁵⁾。将来網膜視部になる上皮細胞では多量のビメンチンが放線状網工として発現するが、網膜盲部、すなわち毛様体上皮と虹彩上皮になる細胞では中程度のビメンチンが、色素上皮になる細胞では少量のビメンチンしか発現しない。

b. 末梢神経系の幹細胞の分化とケラチン

中枢神経系の神経幹細胞は同定されていたが³³⁾、末梢神経系のそれはまだ同定されていなかった。我々は中間径フィラメントをマーカーとして脊髄神経節の神経幹細胞の同定に成功した¹⁰⁾。図7に示すように、脊髄神経節の幹細胞には胎児性幹細胞と生後の幹細胞の2種類が存在する。脊髄神経節は神経堤に由来するが、遊走中の神経堤は重合-脱重合が容易に起こるビメンチンが細胞質網工を形成する³⁴⁾。神経堤から脊髄神経節細胞への分化が開始すると胎児性の神経幹細胞が出現し、その細胞質網工はネスチンが形成する。この胎児性の神経幹細胞からニューロン、グリア細胞とともに生後の神経幹細胞が発生する。生後の神経幹細胞の細胞質網工はネスチンの他にケラチン、ニューロフィラメント、GFAPの4種類の間径フィラメントで形成される。出生後、これらの細胞からニューロンが分化すると、細胞質網工はニューロフィラメントで形成されるが、未熟なニューロンのゴルジ周囲網工は一過性にこれら4種類の間径フィラメントで形成される¹⁰⁾。脊髄神経節での

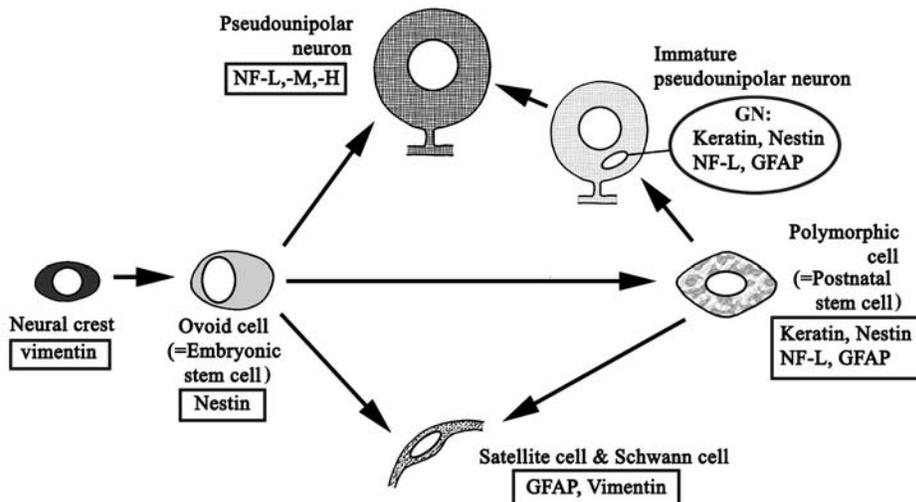


図7 脊髄神経節の2種類の幹細胞。神経堤細胞からネスチンを発現する卵円形の胎児性幹細胞が分化する。この細胞からはニューロフィラメント (NF) 陽性の偽単極ニューロン、GFAP陽性のグリア細胞、とともに生後の幹細胞が分化する。生後の幹細胞の細胞質網工はネスチン、ケラチン、ニューロフィラメントとGFAPの4種類の間径フィラメントが形成する。生後、この細胞が偽単極ニューロンに分化すると一過性にゴルジ周囲網工 (GN) をこれら4種類の間径フィラメントが形成する。

ニューロン発生では双極ニューロンから偽単極ニューロンへと形態変化するが、面白いことに、この時に一過性に重合-脱重合が容易なビメンチンが細胞質網工として再発現する³⁴⁾。

c. 小腸の絨毛上皮細胞の分化と中間径フィラメント

小腸の上皮細胞の多能性幹細胞は陰窩基底部に存在する³⁵⁾。その細胞から吸収細胞、杯細胞、内分泌細胞、M細胞やパネート細胞等が発生する³⁶⁾。

1) 吸収細胞の分化：陰窩基底部分化した吸収細胞の前駆細胞は陰窩を上行し、陰窩上端で未熟な吸収細胞となり、絨毛を上行する過程で成熟し、絨毛中央部でそれを完了する³⁷⁾。表4に示されるように吸収細胞には頂部網工、ゴルジ周囲網工と細胞質網工が顕著に検出されるが、それらの網工を構成するフィラメントはゴルジ体などの細胞小器官の発達に伴い補強される。更に、絨毛先端の剥離直前の吸収細胞では剥離を容易に行うために、細胞-細胞間連結を担う頂部網工と細胞の形態維持を担う細胞質網工に、リン酸化の影響を受けやすいケラチン20が加わる³¹⁾。

2) 杯細胞と胃腸内分泌細胞の分化：ウサギでは消化器系の外分泌細胞と内分泌細胞でリン

酸化-脱リン酸化の影響を受けやすいケラチン20が特異的に発現する²⁴⁾。しかし、それが形成する網工は外分泌細胞と内分泌細胞で異なる。外分泌細胞である小腸の杯細胞ではケラチン20が辺縁部網工と顆粒周囲網工を形成する。両網工は分泌機能に応じて形態を大きく変化するために、ケラチン20が選択されたと考えられる。胃腸内分泌細胞では核周囲網工と放線状網工をケラチン20が形成する。放線状網工は受容体の多い自由表面を覆う細胞膜と核の間に形成されている。これらは細胞内シグナル伝達を担っていると考えられる。

3) M細胞の分化：小腸のパイエル板を被う上皮には粘膜免疫を担当するM細胞が存在する³⁸⁾。上皮細胞の中間径フィラメントは一般にケラチンだが、ウサギのM細胞にはケラチンの他にビメンチンが特異的に発現する^{39,40)}。M細胞はパイエル板特有の上皮細胞とされていたが、我々は小腸の絨毛上皮にもM細胞が少数散在することを明らかにした³⁰⁾。M細胞は陰窩の前駆細胞ですでにビメンチンを発現する。M細胞でのビメンチンは核周囲網工とともに、リンパ球に接する細胞膜と核の間に放線状網工を形成する。ビメンチンは重合-脱重合を容易に繰り返すため、シグナル伝達に関与するこれらの網工の形成にビメンチンが選択されたと思われる。

表4 ウサギの小腸の吸収細胞の分化・成熟に伴う中間径フィラメント網工の組成変化

網工	前駆細胞	未熟細胞	成熟細胞	剥離直前の細胞
頂部網工	ケラチン 5/18	ケラチン 5/18	ケラチン 5/18	ケラチン 5/18 +ケラチン 20
ゴルジ周囲網工	ケラチン 8/14	ケラチン 8/14 ^{*1}	ケラチン 8/14 ^{*1} +ケラチン 7/17	ケラチン 8/14 ^{*1} +ケラチン 7/17
細胞質網工		ケラチン 7/17	ケラチン 7/17 +ケラチン 5/18	ケラチン 7/17 +ケラチン 5/18 +ケラチン 20

*1 吸収細胞に分化するとゴルジ周囲網工には補強のためアクチンフィラメントが加わる。

4. 結語

細胞の分化の方向が決定すると、すぐに細胞の機能変化に対応できるように中間径フィラメントが変化する。その後、細胞膜糖や細胞小器官が変化し、次いで、細胞の形態と機能が変化する。このため、中間径フィラメントタンパク質や細胞膜糖を検査することにより、器官形成時や疾病時に起こる細胞分化をいち早く知ることができる。現在、中間径フィラメントタンパク質の検出が、様々な疾病の開始をいち早く知するための有力な武器と成りつつある。

謝辞

長年にわたり、私がこのような研究を行う事ができましたのは、偏に大倉卓治名誉教授、佐々木和信教授、樋田一徳教授をはじめ、川崎医科大学解剖学教室の皆様と組織電子顕微鏡センターの皆様のご協力とご支援の賜です。皆様に心から感謝いたします。

参考文献

- 1) Varki, A : Historical Background and Overview. *In* Essentials of Glycobiology. (Varki A, Cummings R, Esko J, et al eds). New York, USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1999, pp1-15
- 2) Varki A : Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology* 3: 97-130, 1993
- 3) Human intermediate filament database : <http://www.interfil.org> (2010.9.26)
- 4) Godsel LM, Hobbs RP, Green KJ : Intermediate filament assembly: dynamics to disease. *Trends Cell Biol* 18:28-37, 2008
- 5) Iwatsuki H, Sasaki K, Suda M, *et al*: Vimentin intermediate filament protein as differentiation marker of optic vesicle epithelium in the chick embryo. *Acta Histochem.* 101: 369-382, 1999
- 6) Iwatsuki, H. (1999) Vimentin intermediate filaments: Function and implication in cell differentiation. (Review) *Kawasaki Med J* 25: 39-58, 1999
- 7) 熊野一郎, 岩月宏彦, 須田満寿美, 他: 鶏胚脊髄における神経上皮細胞の分化とビメンチン. *解剖誌* 74: 317-323, 1999
- 8) Ku N-O, Zhou X, Toivola DM, *et al* : The cytoskeleton of digestive epithelia in health and disease. *Am J Physiol* 277: G1108-G1137, 1999
- 9) 熊野一郎, 岩月宏彦, 佐々木和信, 他: 鶏胚頸髄のニューロン発生における神経上皮細胞内中間径フィラメントの変化. *解剖誌* 76: 483-490, 2001
- 10) Iwatsuki H, Suda M : Transient expression of keratin during neuronal development in the adult rabbit spinal ganglion. *Anat Sci Int* 85: 46-55, 2010
- 11) Sharon N : Lectins: carbohydrate-specific reagents and biological recognition molecules. *J Biol Chem* 282:2753-2764, 2007
- 12) Iwatsuki H, Sasaki K, Suda M, *et al* : Cell differentiation of alveolar epithelium in the developing rat lung: ultrahistochemical studies of glycoconjugates on the epithelial cell surface. *Histochemistry* 100:331-340, 1993
- 13) Iwatsuki H : Changes in complex carbohydrates on the surface of regenerating alveolar type I cells during morphological differentiation in mouse lung. *Proc. 11th Int Cong Electron Microscopy.*1986, pp2745-2746
- 14) Iwatsuki H, Sasaki K, Suda M, *et al* : Membrane-bound glycoconjugates of fetal mouse erythropoietic cells with special reference to phagocytosis by hepatic macrophages. *Histochem Cell Biol* 104:277-286, 1995
- 15) Iwatsuki H : Ultrahistochemical study of

- mucopolysaccharide at the surface of the alveolar epithelium in a rat lung. *Acta Histochem Cytochem* 13:646-659, 1980
- 16) Iwatsuki H : Glycoconjugates on the surface of the pulmonary epithelial cells in surfactant free rat lungs. *Kawasaki Med J* 18:11-24, 1992
 - 17) Hirai KI, Witschi H, C[] MG : Electron microscopy of butylated hydroxytoluene-induced lung damage in mice. *Exp Mol Pathol* 27:295-308, 1977
 - 18) Iwatsuki H, Sasaki K., Suda M, *et al.* : Origin of the central cells of erythroblastic islands in fetal mouse liver: ultrahistochemical studies of membrane-bound glycoconjugates. *Histochem Cell Biol* 107:459-468, 1997
 - 19) Sasaki K, Iwatsuki H, Suda M, *et al.* : Scavenger macrophages and central macrophages of erythroblastic islands in liver hemopoiesis of the fetal and early postnatal mouse: a semithin light- and electron-microscopic study. *Acta Anat* 147:75-82, 1993
 - 20) Angata T, Varki A : Chemical diversity in the sialic acids and related alpha-keto acids: an evolutionary perspective. *Chem Rev* 102:439-469, 2002
 - 21) Loewinger L, McKeon F : Mutations in the nuclear lamin proteins resulting in their aberrant assembly in the cytoplasm. *EMBO J* 7: 2301-2309, 1988
 - 22) Hyder CL, Pallari HM, Kochin V, *et al.* : Providing cellular signposts: post-translational modifications of intermediate filaments. *FEBS Lett* 582: 2140-2148, 2008
 - 23) Lai YK, Lee WC, Chen KD : Vimentin serves as a phosphate sink during the apparent activation of protein kinases by okadaic acid in mammalian cells. *J Cell Biochem* 53:161-168, 1993
 - 24) Iwatsuki H, Suda M : Keratin 20 Expressed in the Endocrine and Exocrine Cells of the Rabbit Duodenum. *Acta Histochem Cytochem* 40:123-130, 2007
 - 25) Goldman R, Goldman A, Green K, *et al.* : Intermediate filaments: possible functions as cytoskeletal connecting links between the nucleus and the cell surface. *Ann NY Acad Sci* 455: 1-17, 1985
 - 26) 小川千鶴, 岩月宏彦, 佐々木和信, 他 : ウサギ顎下腺の導管上皮細胞におけるケラチンフィラメント-免疫組織ならびに超微免疫組織化学的観察- 解剖誌 76: 389-398, 2001
 - 27) Ogawa C, Iwatsuki H, Suda M, *et al.* : Golgi-associated filament networks in duct epithelial cells of rabbit submandibular glands: immunohistochemical light and electron microscopic studies. *Histochem Cell Biol* 118: 35-40, 2002
 - 28) Iwatsuki H, Suda M : Seven kinds of intermediate filament networks in the cytoplasm of polarized cells: Structure and function. (Review) *Acta Histochem Cytochem* 43: 19-31, 2010
 - 29) Coleman TR, Lazarides E : Continuous growth of vimentin filaments in mouse fibroblasts. *J Cell Sci* 103: 689-698, 1992
 - 30) Iwatsuki H, Ogawa C, Suda M : Vimentin-positive cells in the villus epithelium of the rabbit small intestine. *Histochem Cell Biol* 117: 363-370, 2002
 - 31) Iwatsuki H, Suda M : Maturation of Three Kinds of Keratin Networks in the Absorptive Cells of Rabbit Duodenum. *Acta Histochem Cytochem* 38:237-245, 2005
 - 32) Schoenwolf GC, Smith JL : Mechanisms of neurulation: traditional viewpoint and recent advances. *Development* 109:243-270, 1990
 - 33) Ma DK, Bonaguidi MA, Ming GL, *et al.* : Adult

neural stem cells in the mammalian central nervous system. *Cell Res* 19:672-682, 2009

- 34) Kumano I, Iwatsuki H, Sasaki K : Ganglion cell differentiation and intermediate filaments in the cervical dorsal root ganglion of the chick embryo. *Kawasaki Med J* 28:57-69, 2002
- 35) Karam SM : Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut. *Front Biosci* 4:D286-298, 1999
- 36) Weiser MM, Walters JR, Wilson JR : Intestinal cell membranes. *Int Rev Cytol* 101; 1-57, 1986
- 37) Freeman TC : Parallel patterns of cell-specific gene expression during enterocyte differentiation and maturation in the small intestine of the rabbit. *Differentiation* 59:179-192, 1995
- 38) Owen RL : Sequential uptake of horseradish peroxidase by lymphoid follicle epithelium of Peyer's patches in the normal unobstructed mouse intestine: an ultrastructural study. *Gastroenterology* 72:440-451, 1977
- 39) Gebert A, Hach G, Bartels H : Co-localization of vimentin and cytokeratins in M-cells of rabbit gut-associated lymphoid tissue (GALT). *Cell Tissue Res* 269:331-340, 1992
- 40) Jepson MA, Mason CM, Bennett MK, *et al.* : Co-expression of vimentin and cytokeratins in M cells of rabbit intestinal lymphoid follicle-associated epithelium. *Histochem J* 24:33-39, 1992