

무미 양서류 *Xenopus laevis*의 Cranial Myotomes Degeneration에 대한 면역 세포학적 연구

이상훈 · 이진표 · 정해문

서울대학교 사범대학 생물교육과

무미 양서류배발생중에 근절 예정 부위의 최전방에 나타나는 cranial myotome인 W, X, Y, Z는 후기 배 발생중에 "reduction"을 나타내는 특이한 체절이다.

Cranial myotome이 programmed autonomous death를 수행하는지 또는 otic vesicle과 같은 주위 조직의 영향에 의해 reduction을 일으키는지에 대한 가설을 검증하기 위해 *Xenopus*를 재료로 하여 수술적인 면과 조직이식을 통한 발생학적 실험을 수행하였다. 먼저 주위의 otic vesicle을 제거하여도 W, X, Y, Z degeneration에는 아무런 영향도 없었으며 otic vesicle을 체절을 따라 새로운 지역으로 이식하여도 그 부위에서 체절이 사라지는 현상이 유도되지 않았다. 한편, WXYZ형성 예정지역을 trunk somite 부위로 이식한 결과 원래대로 reduction을 나타내었고 trunk somite 형성조직을 WXYZ 부위로 이식하여도 원래의 운명대로 분화하였다. 따라서 cranial myotome은 근육이 분절되는 발생시기에 도달하면 주위의 조직에 상관없이 예정된 운명에 따라 자동적으로 소멸되는 것으로 결론지을 수 있다.

KEY WORDS: Autonomous cell death, Cranial myotomes, *Xenopus laevis*

척추동물에 있어서 체절 형성 과정은 (somitogenesis) 축 형성의 중요한 형태 형성 과정이다 (for reviews, Bellairs *et al.*, 1986; Keynes and Stern, 1988). 양서류의 체절은 초기 embryo에서 나타나는 가장 큰 단일조직이고 조직이식 실험이 용이하며 cDNA나 단일항체(MoAbs) 등의 생화학적 marker의 사용이 가능하기 때문에 초기 기관의 발생 연구에 좋은 system으로 연구되어 왔다 (Malacinski *et al.*, 1989). 체절은 sclerotome, myotome, dermatome 3개의 성분으로 구성되는데 양서류의 경우 myotome이 초기 체절의 주요 구성 성분이다 (Hamilton, 1969; Kielbowna, 1981; Youn and Malacinski, 1981 a and b).

무미 양서류인 *Xenopus*의 경우 체절이 형성하는 중배엽 조직군은 낭배후기 또는 초기 신경관 형성

시기에 archenteron roof 위에 위치하고 neural fold 단계(stage 17)에서 체절의 segmentation이 머리에서 꼬리 방향으로 진행되는데 이들 근절 조직은 근육과 연결조직으로 분화된다. 처음에 축을 따라 수직으로 놓여있던 근절세포군은 일정한 크기의 구획마다 90°회전을 하여 체축과 나란히 배열하게 되는데(Hamilton, 1969), 근절은 모두 단핵의 세포들로 구성되며 체절 하나에 각각의 세포들은 앞끝에서 뒤끝까지 들어서게 된다(Youn and Malacinski, 1981a).

양서류의 체절 형성은 다른 척추동물과 마찬가지로 후두부에서 시작되는데(Jarvik, 1980) 특히 *Xenopus*와 같은 무미 양서류는 W, X, Y, Z로 표시되는 4개의 cranial myotome을 갖는다(Edgeworth, 1935). WXYZ myotome은 근육으로 분화한 후 stage 27(tailbud)부터 stage 47(feeding tadpole)까지 머리에서 꼬리 방향으로 순차적으로 사라지며 (Edgeworth, 1935; Regal and Epstein,

본 연구는 학술진흥재단의 지원하에 이루어진 것임.

1972) 이들이 사라진 부위는 parachordal cartilage로 채워진다. 또한 WXYZ외에 첫번째 trunk somite인 S₁도 stage 48에서 사라진다. 현재까지 cranial myotome(WXYZ)의 reduction을 결정하는 요소 및 그 운명이 결정되는 시기에 관해서 두 가지 가설이 제시되었다. 그 하나의 설은 WXYZ의 reduction이 청포(otic vesicle)와 같은 주위조직의 상호 작용에 의해 영향을 받는다는 주장이고 (Elsdale *et al.*, 1976), 이에 맞선 다른 주장으로 WXYZ의 reduction이 주위 조직의 영향을 받지 않고 자발적으로 일어나도록 유전적으로 이미 program되어 있다는 "cell autonomous model"이 제시되었다(Deuchar and Burgess, 1967).

이에 본 연구는 *Xenopus* embryo를 재료로 하여 서술적인 관찰과 아울러 조직이식 실험을 통한 발생학적인 연구를 수행하여 위의 두 가지 가설을 검증하고자 하였다. 즉, 청포(otic vesicle primordium)의 제거 및 trunk somite 부위로의 이식 실험을 수행하여 WXYZ degeneration에 미치는 otic vesicle의 영향 가능성을 검증하였고 이와 병행하여 WXYZ부위와 trunk myotome간의 상호 교환 이식실험을 수행하여 이들의 운명이 결정되는 시기를 확인하였다. 또한 체절형성 예정지역의 조직 배양을 통해 WXYZ가 *in vivo*에서와 마찬가지로 reduction을 기치는지를 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에서는 아프리카산 무미 양서류인 *Xenopus laevis*를 사용하였으며 암수에 human chorionic gonadotropin (Sigma)을 근육에 주사한 후 (♂150 I.U., ♀350 I.U.) 수정란과 embryo를 채취하였다. embryo는 10% Steinberg 용액에서 배양하였으며 발생단계는 Nieuwkoop과 Faber의 방법을(1967) 따랐다.

조직 이식

WXYZ degeneration을 결정하는 요소 및 그 운명이 결정되는 시기를 확인하고자 Fig. 1에서의와

같이 조직 이식을 수행하였다. Embryo는 chemical dejelly (2.78% cystein-HCl, pH 7.8) 과정을 거친 후 애리한 forceps으로 vitelline membrane을 벗겼다. 조직 이식은 1.2% agar로 덮힌 Petri dish에서 Ca⁺⁺, Mg⁺⁺이 포함되어 있지 않은 100% Steinberg용액에서 수행하였다. 모든 용액은 멸균한 후 일정농도의 항생물질(penicillin, streptomycin, gentamycin)을 첨가하였고 이상의 실험은 clean bench에서 수행하였다.

조직 배양

여러 발생단계에서(stage 13-20) neural tissue와 증배암 조직을 분리하여 1.3% agar가 덮힌 멸균된 Petri dish에 조직을 놓고 cover glass에 vaselline을 바른 후 조직위에 놓아서 sandwich 형태를 만들어 조직을 눌러 주었다. 조직 배양액은 1% fetal bovine serum(FBS)을 첨가한 Danilchik's solution을 사용하였고, 조직은 24°C incubator 속에 넣어 배양하였다.

Whole-mount immunocytology

Whole-mount immunocytology는 간접 면역 세포화학 방법을 수정한 것으로 동전과 같은 방법으로 수행하였다(Neff *et al.*, 1989). 먼저 embryo를 absolute methanol (-20°C)에서 하루동안 고정시킨 후 ethanol series로 30분간 처리한다. Embryo를 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 2시간 동안 씻어주고 3% bovine serum albumin(BSA)로 4시간 동안 처리한 후 12-18시간 동안 1차 항체(HUC 1-1, MF-20)를 반응시킨다(Lessard *et al.*, 1984; Bader *et al.*, 1982). 이어 PBS와 BSA를 마찬가지로 처리한 후 2차 항체(FITC conjugate, Sigma)를 반응시키고 modified gel mounting medium (Heimer and Taylor, 1974)으로 mounting한 후 4°C 냉장고에서 보관한다. 형광 현미경은 Nikon세함을 사용하였고 Tri-X Pan (400) film으로 촬영하였다.

Hoechst Staining

Otic vesicle의 위치를 보다 선명하게 관찰하기 위하여 면역 세포학적 과정 중 secondary Ab 처

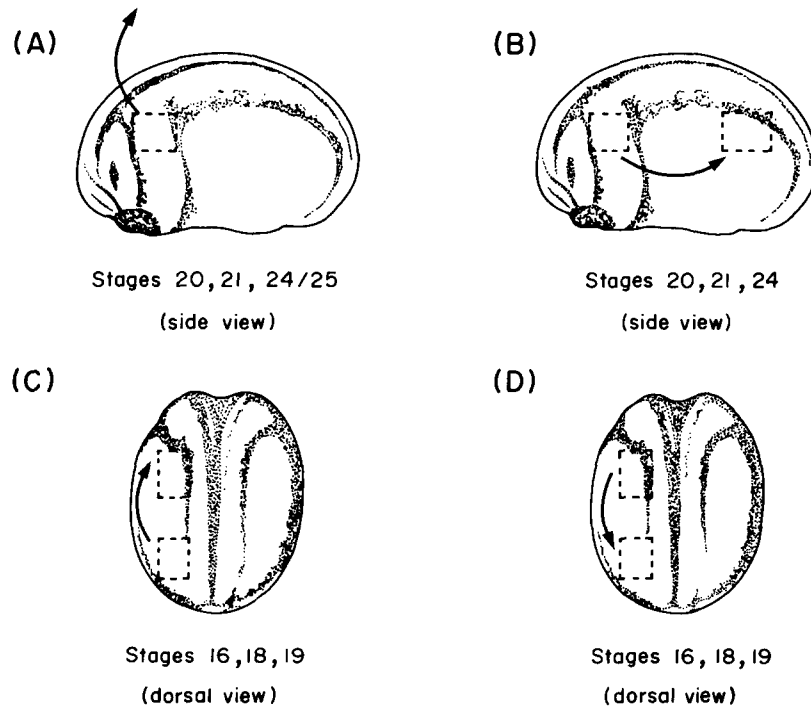


Fig. 1. Experimental design for surgical operations. (A) Removal of otic vesicle primordium: Presumptive otic vesicle was removed at various stages (stage 20-25) and the fate of WXYZ was examined at stages 42-46. (B) Graft of otic vesicle: Otic vesicle was transplanted to the trunk somite region and the effect on the underlying somites was examined at stages 42-46. (C)(D) Exchanges of anterior and posterior somite region: Graft WXYZ primordium to trunk region and trunk myotome primordium to WXYZ region were undertaken and the differentiation patterns were examined at stages 36 or 45-46.

리과징이 끝나기 1시간 전에 $1 \mu\text{g/ml}$ Hoechst stain (Sigma)으로 처리한다.

결 과

1. 발생시기에 따른 *cranial myotome(WXYZ)*의 소멸

근육의 actin과 myosin에 대한 단일항체를 사용한 간접면역 세포학적 방법을 이용하여 *cranial myotome(WXYZ)*을 관찰하였다. *Cranial myotome*은 청포(otic vesicle)의 밑에 위치하고 있으며 이들은 *trunk myotome*보다 크기가 훨씬 작으며 머리에 가까울수록 점차로 그 폭이 감소하였다(Fig. 2A). *Cranial myotome*의 reduction은 주로 후기 배 발생동안 진행되었는데 특히 tail-

bud단계(stage 27)부터 feeding tadpole단계(stage 47)까지 머리에서 꼬리의 방향으로 순차적으로 사라졌다(Table 1). 또 이들은 reduction을 기치기 전인 stage 26시기에 functional muscle로 분화하는 최초의 조직이기도 하다(Blackshaw and Warner, 1976). Figure 2A는 stage 36의 *Xenopus* embryo를 나타낸 것으로 가장 앞쪽의 W는 이미 사라졌고 degenerating X, Y, Z와 S_1 및 intact trunk somite를 볼 수 있었다. Figure 2B는 stage 36의 embryo를 25-100 μm 두께로 자른 표본으로 degenerating myocytes는 각각의 myotome 사이에 일정치 않게 뭉튼 형태로 흩어져 있다. Trunk somite인 S_2 는 근육 섬유질의 횡분들이 제대로 형성되어 있는 반면에 *cranial myotome*은 점차 세포들이 떨어져 나가면서 근육섬유의 횡분도 손상을 받았음을 알 수 있었다.

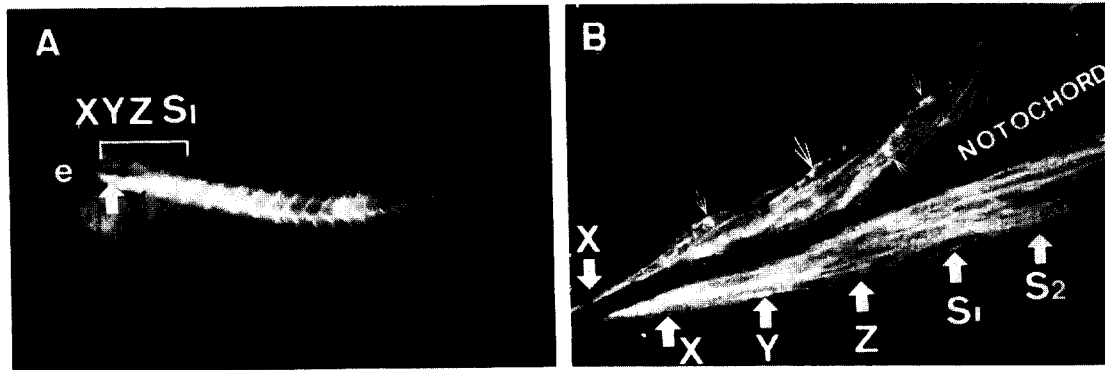


Fig. 2. Localization of cranial myotomes W, X, Y and Z. (A) Cranial myotomes X, Y, Z and the 1st trunk somite (S₁) were identified by muscle specific anti-actin MoAb (HUC 1-1) at a stage 36 embryo using indirect whole-mount immunocytology (W disappeared) (27X). Arrow indicates the otic vesicle. Abbreviation: e = eye. (B) The coronal section of (A). Note degenerating X, Y, Z and S₁ (W disappeared) and degenerated myocytes (small arrows). S₂ indicate the trunk somite S₂ (96X).

Table 1. Sequence of degenerating myotomes in *Xenopus laevis*.

Myotomes	Somite designation	Stages when myotomes disintegrate/disappear
Cranial myotomes	W	27
	X	myotomes that disappear before metamorphosis
	Y	42
	Z	44
Trunk myotomes	S ₁	47
	S ₂ —S ₁₃	48
Tail myotomes	S ₁₄ —S ₄₅	myotomes that are retained during metamorphosis
		myotomes that degenerate during metamorphosis
		66
		58

2. Otic vesicle의 제거

Myotome degeneration이 일어나기 전의 여러 발생단계(stage 20-25)에서 otic vesicle의 예상지역을 제거한 후(Fig. 1A) stage 42-46 시기에 고정하여 WXYZ degeneration 여부를 조사하였다 (Table 2). Figure 3의 A와 B는 otic vesicle이 제거된 embryo를 Hoechst stain과 myosin에 대한 단일항체인 MF-20를 처리하여 관찰한 것이다. Table 2와 Figure 3의 A와 B의 결과는 otic vesicle이 제거되었음에도 불구하고 발생이 진행되면서 WXYZ는 원래의 운명대로 reduction을 거침을 보여준다.

Table 2. Surgical removal of otic vesicle

Stage	Number of total operations	Result Somite pattern of operated region*
20	25	WXYZ degeneration (100%)
21	20	WXYZ degeneration (100%)
24	13	WXYZ degeneration (100%)
24/25	10	WXYZ degeneration (100%)

*scored at stage 42-46.

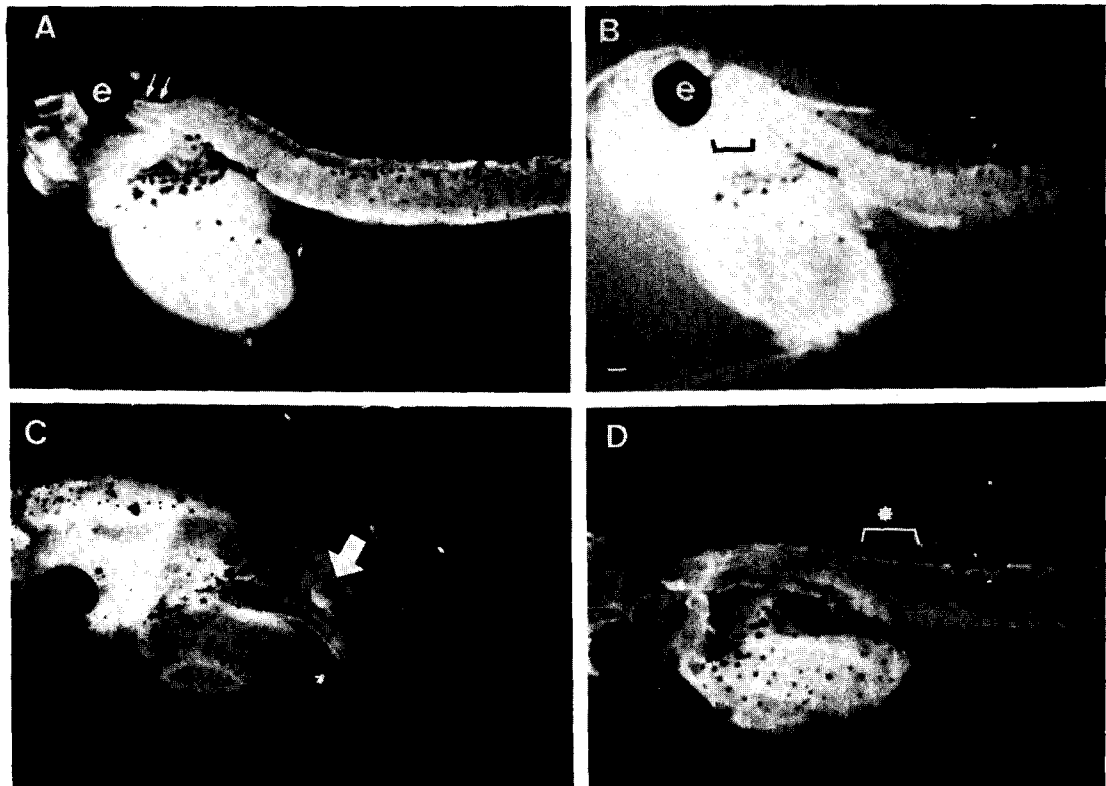


Fig. 3. Removal of the otic vesicle and graft of otic vesicle to the trunk somite region. (A) Whole-mount immunocytochemistry with muscle specific anti-myosin MoAb (MF-20) in the left operated side (27X). That left otic vesicle was removed at stage 25. The morphology of the degenerating cranial myotomes (double arrows) are not affected by the absence of an otic vesicle. (B) Hoechst stain of (A) (operated side). Note the absence of an otic vesicle (bracket)(27X). (C) Hoechst stain of a stage 46(tadpole) embryo. The left otic vesicle primordium was grafted to the trunk somite region at stage 25. Arrow indicates the otic vesicle in the posterior trunk region (27X). (D) Whole-mount immunocytochemistry with MF-20 of (C) (27X). Grafted otic vesicle did not cause localized degeneration of trunk myotomes (bracket with asterisk). Abbreviation: e = eye.

3. Otic vesicle의 trunk somite region으로의 이식

여러 발생 단계에서(stage 20-24) otic vesicle의 예정지역을 trunk somite region으로 이식하였다(Fig. 1B, Table 3). Fig. 3의 C와 D는 trunk somite region으로 이식된 otic vesicle을 Hoechst stain과 MF-20로 처리한 것이다. Table 3과 Fig. 3의 C와 D의 결과를 통해 otic vesicle이 이식된 부위의 trunk somite가 otic vesicle의 영향을 받지 않고 원래의 pattern대로 분화함을 알 수 있다.

Table 3. Grafts of otic vesicle to trunk somite region

Stage	Number of total operations	Result Somite pattern of operated side*
20	6	normal trunk somite pattern (100%)
21	8	normal trunk somite pattern (100%)
24	10	normal trunk somite pattern (100%)

*scored at stage 42-46.

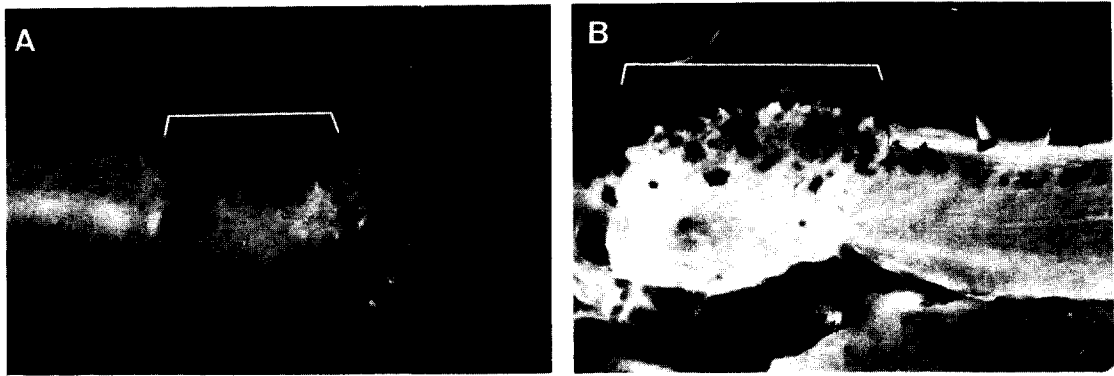


Fig. 4. Exchange of anterior and posterior somite forming region. (A) Whole-mount immunocytology with HUC 1-1 of stage 36 embryo. The presegmented cranial myotome region of stage 16 donor was transplanted to the trunk somite region (bracket)(96X). (B) Unsegmented trunk myotome region of stage 16 donor was transplanted to the cranial myotome region (bracket). Note the absence of reduction (96X).

Table 4. Exchange of anterior and posterior somite forming regions.

Stage	Number of total operations		Result
	posterior to anterior	anterior to posterior	
16	7	8	Somite pattern of operated region* normal autonomous differentiation (100%)
18	13	10	normal autonomous differentiation (100%)
19	6	4	normal autonomous differentiation (100%)
22	16	17	normal autonomous differentiation (100%) normal autonomous differentiation (100%)

*examined at stage 36 or 45/46.

4. Anterior somite 예정지역과 posterior somite 예정지역의 교환이식

Anterior somite 예정지역과 posterior somite 예정지역을 상호 교환 이식한 후 actin에 대한 단일항체 (HUC 1-1)를 처리하여 관찰하였다 (Table 4). 체절이 형성되기 이전에 WXYZ 예정지역을 trunk somite 형성지역으로 이식한 결과, 위치가 바깥에도 불구하고 원래의 분화 양상에 따라 reduction을 거침을 알 수 있었다(Fig. 4A). 또한 trunk somite 형성 지역을 WXYZ 예정지역으로 이식한 결과 trunk somite의 크기와 모양을 그대로 유지하였다(Fig. 4B). 따라서 체절 형성 예정 조직은 체절이 형성되기 이전에 이미 자발적인 분화 능력을 유전적으로 부여받았음을 알 수 있다.

5. 체절 형성 예정 조직의 배양

조직 배양의 목적은 다음의 두가지로 첫째는 체절이 형성되기 이전의 단계(stage 13-16)에서 분리 배양하여 *in vivo*와 마찬가지로 체절을 얻는 것이고, 둘째는 배양시 형성된 WXYZ 부위가 주위 조직의 영향을 완전히 배제한 환경하에서 *in vivo*에서와 마찬가지로 degeneration을 거치는가를 확인하는 것이다. 그 결과 여러 발생 단계에서 (stage 13-21) 분리 배양시킨 체절 예정 조직이 체절이 형성되기 이전에 이미 분화 능력을 부여 받았으며 *in vivo*에서와 마찬가지로 WXYZ reduction을 거침을 알 수 있었다(Table 5, Fig. 5).

Table 5. Culture of presumptive somitic tissue

Stage	Number of total operations	Results	WXYZ degeneration*
13	6	6 not segmented	
14/15	49	40 with 9-10 segmentation, 9 not segmented	not observed (disintegrated)
16	15	13 with 10-11 segmentation, 2 not segmented	not observed (disintegrated)
17**	33	normal segmentation	Yes
18/19	29	normal segmentation	Yes
20/21	17	normal segmentation	Yes

*examined when the control reaches stage 42-46.

**At stage 17, the 1st segmentation occurs.

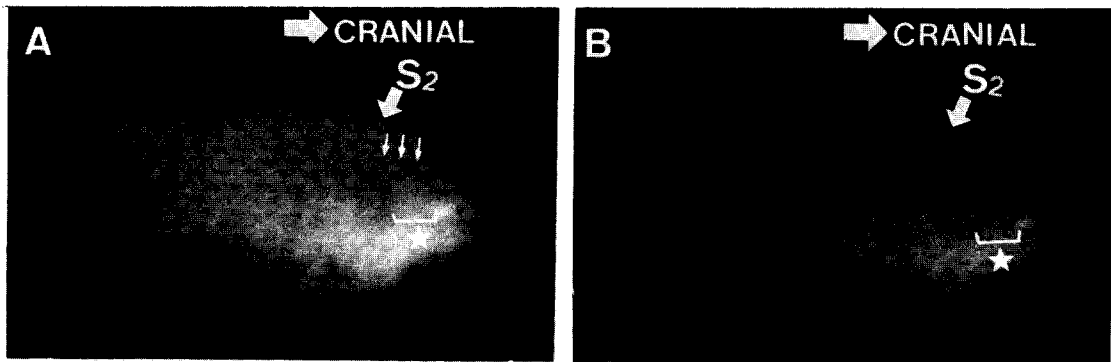


Fig. 5. Culture of presumptive somitic tissue. (A) The presumptive somitic tissue was isolated at stage 17, cultured in Danilichik's solution, and examined 5 days after when the control embryo reach stage 41/42. Note the degenerating cranial myotomes (Y, Z, and S₁) (bracket with aster). Arrows indicate the intersomitic borders. S₂ indicates the trunk somite S₂ (30X). (B) The cranial myotomes disappear 6 days after when the control reach stage 45/46 (bracket with aster)(30X).

고찰

양서류의 체절 형성 과정은 매우 규칙적이며 체절의 형태가 다른 종과 근본적으로 같으므로 척추동물의 형태 형성과정의 연구에 대한 좋은 모델로 연구되어 왔다. 그러나 각 종마다 갖는 특이성으로 인해 초기 발생 중의 분화 과정에 대한 비교 연구 또한 활발하게 수행되었다(Malacinski *et al.*, 1989; Smith and Malacinski, 1983; Kielbowna, 1981; Smit, 1953).

본 연구에서는 *Xenopus laevis*에서 WXYZ의 reduction이 발생초기에 결정되어 있다는 "cell autonomous model" (Deuchar and Burgess, 1976)과 otic vesicle과 같은 주위 조직의 상호 작용에 의해 결정된다는 Elsdale 등 (1976)의 가설을 조직의 제거와 이식 및 조직배양 실험을 통해 검증하였다. Otic vesicle의 예정지역을 제거한 결과 otic vesicle이 없음에도 불구하고 발생이 진행되면서 WXYZ는 예정대로 사라짐을 알 수 있었다. 또한 otic vesicle을 trunk somite region으로 조직이식한 결과 otic vesicle이 새로 이식된 지역

의 somite reduction을 초래하지 않았다. 따라서 otic vesicle과 같은 주위조직이 WXYZ degeneration과 무관함을 입증하였다. 위의 결과를 토대로 cranial myotome reduction의 운명이 결정되는 시기를 확인하기 위하여 체절이 형성되기 이전에 anterior somite 형성지역과 posterior somite 형성지역을 상호 교환이식하였다. 그 결과 체절을 형성하는 중배엽 조직은 stage 16 (neural fold stage)에 이미 분화 능력을 부여받았음을 알 수 있었다. 또한 체절이 형성되기 전에(stage 13-16) 체절형성 예정 조직을 배양한 결과 10개 정도의 체절이 자발적으로 형성되었으며 시간이 경과하면서 WXYZ가 *in vivo*에서와 마찬가지로 사라지는 것이 관찰되었다. 그러나 조직 배양시에 체절의 segment line이 선명하지 않아 앞으로 조직학적 방법 또는 actin / myosin에 대한 단일 항체 처리를 통해 보다 정확한 화증을 얻을 필요가 있다.

척추 동물의 발생과정에서 cell death는 단순히 조직이나 기관의 파괴가 아니라 성장과 분화의 관점에서 볼 때 대단히 중요한 의미를 내포한다. 그 이유는 cell death가 정상적인 조직 기관등의 크기나 형태를 조절하는 중요한 요소로 작용하기 때문이다. Glucksman (1950)과 Saunders (1966)는 척추동물의 발생과정중에 나타나는 수많은 cell death의 예를 보고하면서 그 현상을 규명하려는 이론을 제시하였다. 유미 양서류의 낭배 운동중 외배엽에서 세포들이 무작위로 떨어져 나오는데 (Imoh, 1986) 이들 necrotic cell은 비교적 크기가 일정하며 수십개에서 수천개의 세포가 불규칙하게 할당하부로 떨어져서 점차 사라진다. 그러나 발생 기간중에 일어나는 대부분의 cell death는 매우 규칙적으로 일어나며 세포, 조직, 기관의 제거 뿐만 아니라 새로운 분화를 위해 작용하는 것이 일반적이다. 양서류의 꼬리쪽 체절은 posterior neural plate tissue에서 기원하며(Bijtel, 1936) 특히 thyroid hormone은 올챙이의 tail regression을 촉진시켜 주는데 이는 thyroid hormone에 의해 유도되어 합성된 새로운 단백질에 의해 조절됨이 밝혀졌다(Smith and Tata, 1976). 성장과 분화를 조절하는 hormone과 cell death를 유발하는 hormone은 실제로 동일하지만 target organ의 성질에 따라 작용 양식이 다르게 된다. 즉 미리 de-

generation의 운명을 갖는 세포나 조직이 hormone의 영향을 받게되면 cell death가 일어난다. 본 연구에서 밝혀진 *Xenopus*의 cranial myotome의 경우 cell death를 조절할 것으로 예상되는 hydrolytic enzyme의 작용 여부와 다른 hormone과의 상호 작용에 관해서는 밝혀진 바가 없다. 또한 cell death가 일어나는 부위에서 macrophage의 작용 및 그에 따른 hydrolytic enzyme의 활성의 증가에 관한 증거는 현재까지는 없으므로 앞으로 해결되어야 할 과제이다. 발생초기에 규칙적인 cell death 현상의 존재는 이들이 유전자의 작용에 의해 조절됨을 의미한다.

따라서 *Xenopus*의 cranial myotome의 autonomous cell death를 조절하는 유전자의 발견, 유전자의 작용시기 및 외부 자극에 의한 유전자 활동의 조절 등에 관한 연구가 진행되어 유전자 수준에서 autonomous cell death 현상의 규명이 요구된다.

인용문헌

- Bader, D., T. Masaki, and D. A. Fischman, 1982. Immunohistochemical analysis of myosin heavy chain during avian myogenesis *in vivo* and *in vitro*. *J. Cell Biol.* **90**: 763-770.
- Bellairs, R., D. A. Ede, and J. W. Lash, 1986. Somites in Developing Embryos, Plenum Press, New York.
- Bijtel, H. J. 1936. Die Mesodermbildungspotenzen der hinteren Medullarplattenbezirke bei *Ambystoma mexicanum* in bezug auf die Schwanzbildung. *Wilhelm roux. Arch.* **134**: 262-282.
- Blackshaw, S. E. and A. E. Warner, 1976. Low resistance junctions between mesoderm cells during development of trunk somites. *J. Physiol.* **225**: 209-230.
- Chamberlain, J. S., S. G. Grant, A. A. Reeves, L. J. Mullins, D. A. Stephenson, E. P. Hoffman, A. P. Monaco, L. M. Kunke, C. T. Caskey, and V. M. Chapman, 1987. Regional localization of the murine duchenne muscular dystrophy gene on the mouse X chromosome. *Som. Cell Mol. Gen.* **13**: 671-678.
- Deuchar, E. M. and A. M. C. Burgess, 1976. Somite segmentation in amphibian embryos: Is there a transmitted control mechanism. *J. Embryol. exp. Morph.* **17**: 349-358.
- Edgeworth, F. H., 1935. The Cranial Muscles of Vertebrates, The University Press, Cambridge (England).

- Elsdale, T., M. Pearson, and M. Whitehead, 1976. Abnormalities in somite segmentation following heat shock in *Xenopus* embryos. *J. Embryol. exp. Morph.* **35**: 625–635.
- Glucksman, A., 1950. Cell deaths in normal vertebrate ontogeny. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.* **26**: 59–86.
- Hamilton, L., 1969. The formation of somites in *Xenopus*. *J. Embryol. exp. Morph.* **22**: 253–264.
- Heimer, S. V. and C. E. D. Taylor, 1974. Improved mountant for immunofluorescence preparations. *J. Clin. Pathol.* **27**: 254–256.
- Imoh, H., 1986. Cell death and normal gastrulation in the newt, *Cynops pyrrhogaster*. *Cell Diff.* **19**: 35–42.
- Jarvik, E., 1980. Basic Structure and Evolution of Vertebrates, Academic Press, New York.
- Keynes, R. J. and C. D. Stern, 1984. Segmentatin in vertebrate nervous system. *Nature* **310**: 786–789.
- Kielbowna, L., 1981. The formation of somites and early myotomal myogenesis in *Xenopus laevis*, *Bombina variegata*, and *Pleobotates fuscus*. *J. Embryol. exp. Morph.* **64**: 295–304.
- Lessard, J. L., C. Edelbrock, D. Caulton, D. Lund, and F. Dingle, 1984. Monoclonal Antibodies to Arterial Actions, In: International Cell Biology Congress. Academic Press, Japan, Inc., Tokyo, pp. 515a.
- Malacinski, G. M., A. W. Neff, G. Radice, and H. M. Chung, 1989. Amphibian somite development: Contrasts of morphogenetic and molecular differentiation patterns between the laboratory archetype species *Xenopus* (anuran) and axolotl (urodele). *Zool. Sci.* **6**: 1–14.
- Neff, A. W., G. M. Malacinski, and H. M. Chung, 1989. Amphibian (urodele) myotomes display transitory anterior/posterior and medial/lateral differentiation patterns. *Dev. Biol.* **132**: 529–543.
- Nieuwkoop, P. and J. Faber, 1967. Normal Tables of *Xenopus laevis* (Daudin), 2nd, ed., North-Hollan, Amsterdam.
- Regel, E. D. and S. M. Epstein, 1972. Segmentation of interauricular skull region in anura. *Zoologisheki Zhurnal* **51**: 1517–1528.
- Saunders, J. W. Jr. 1966. Death in embryonic systems. *Science* **154**: 6504–612.
- Smit, A. L., 1953. The ontogenesis of the vertebral column of *Xenopus laevis* (Daudin) with special reference of the skull. *Ann. Univ. Stellenbosch.* **29A**: 79–136.
- Smith, K. B. and J. R. Tata, 1976. Cell death: Are new proteins synthesized during hormone-induced tadpole tail regression. *Exp. Cell Res.* **100**: 129–146.
- Youn, B. W. and G. M. Malacinski, 1981a. Somitogenesis in the amphibian *Xenopus laevis*: Scanning electron microscopic analysis of intrasomitic cellular arrangements during somite rotation. *J. Embryol. exp. Morph.* **64**: 23–43.
- Youn, B. W. and G. M. Malacinski, 1981b. Comparative analysis of amphibian somite morphogenesis: Cell rearrangement patterns during rosette formation and myoblast fusion. *J. Embryol. exp. Morph.* **66**: 1–26.

(Accepted November 4, 1989).

Immunocytological Studies for the Degeneration of Cranial Myotomes in *Xenopus laevis*

Sang Hoon Lee, Jean Pyo Lee and Hae Moon Chung (Dept. of Biology Education, Seoul National University, Seoul 151–742, Korea)

In *Xenopus laevis* the cranial myotomes, W, X, Y and Z represent transient embryo-specific structures since they undergo "reduction" in the later stage of development.

An extensive set of experimental studies was undertaken in order to discriminate whether the cranial myotomes perform a programmed autonomous death or "reduction" by the influence from surrounding tissue such as otic vesicle. Removal of the neighboring otic vesicle did not affect WXYZ degeneration. Grafting the otic vesicle to novel site along the somite file did not induce local myotome degeneration. When anterior-most somitic primordia were relocated to the trunk somite region, they underwent reduction eventually. Likewise, with the transplantation of posterior somite forming region into the anterior, autonomous differentiation patterns were observed. And the culture of presumptive somitic tissue revealed that WXYZ might degenerate like *in vivo*. It is therefore concluded that the cranial myotomes of *Xenopus laevis* exhibit an autonomous cell death during later embryogenesis.