

Title	L-細胞の細胞質顆粒に関する研究
Author(s)	生方, 厚
Citation	大阪大学, 1968, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29415">https://hdl.handle.net/11094/29415</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	生	方	厚
	うぶ	かた	あつし
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	1 3 2 2	号
学位授与の日付	昭和 43 年 1 月 27 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
学位論文名	L-細胞の細胞質顆粒に関する研究		
論文審査委員	(主査)		
	教授	小浜	基次
	(副査)		
	教授	清水	信夫 教授 浜 清

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

De DUVE (1955) らによって公表された lysosome は生化学的概念に基づく細胞質顆粒であり、あらゆる脊椎動物細胞に含まれるといわれている。この研究は L-細胞に含まれる細胞質顆粒と lysosome との類似性を形態学的立場から検討することを目的としたものである。

#### 〔実験方法〕

第 1 報では、GOMORI 法 (1952) による酸性フォスファターゼ活性 (AP 活性) の localization におよぼす基質液浸漬時間および基質液の新鮮度の影響について調べた。細胞は成牛血清を 10% の割合に加えた YLH 液を用い、大型培養角ビン内のカバースリップ上に静置的に培養した。

第 2 報では、第 1 報と同様な培養法を用い、第 1 報において検出された酸性フォスターゼ活性部位 (AP 顆粒に相当) を positive contrast の位相差鏡下で living state にて観察して同定した。また AP 顆粒と脂質顆粒との細胞学的異同を細胞化学的に、位相差鏡的に調べた。

第 3 報では、AP 顆粒の形成と培養条件について位相差鏡的に追求した。一部の培養において AP 活性との関係を細胞化学的 (GOMORI 法、ただし基質は P-ニトロフェニールリン酸ソーダを使用) に調べ、さらに高濃度血清培地 (50-80%) における培養を、perfusion chamber を用いて位相差鏡的に映画撮影し、AP 顆粒形成の過程を観察した。

培養液の種類：1) 血清をそれぞれ 25, 50, 70% の割合に加えた YLH および EAGLE L 液。2) PVP を 0.05, 4% の各割合に加えた同液。3) 透析血清を含む同液。4) 血清限外液を含む同液。5) 結晶蛋白質 (アルブミン, グロブリン, ヘモグロビン) を種々の濃度に加えた同液。上記各培地は実験に当たってはいずれも pH7.4~7.6 に補整した。6) 低 pH50% 血清 YLH 液 (実験時 pH7.0)。

### 〔実験成績〕

10%血清培養の AP 活性検出の至適基質液浸漬時間は新鮮液で約 90分、古い液ではこれよりはるかに長時間を要する。AP 活性は細胞質において顆粒状に認められる。これらの活性部位は糸粒体、脂質顆粒、液胞ではなく、上記培養の位相差鏡下で認められる約  $0.6\mu$ 、時としてそれ以上の大きさの medium dense granules (MD 顆粒) に一致する。小型の MD 顆粒 (約  $0.3\mu$ ) の AP 活性の有無を決定することは技術的に困難である。MD 顆粒は通常、juxtannuclear zone に密集するが、その他の hyaloplasm にもしばしば認められる。YLH および EAGLE L 液における血清の割合を増加すると (50~80%) 数時間から24時間で大部分の細胞において約  $0.3\mu$  の小型 MD 顆粒の他に約  $0.6\sim 2\mu$  以上にも選する大型 MD 顆粒すなわち AP 顆粒を多数認める。透析血清は同様な効果を示すが結晶蛋白質は大型 MD 顆粒の形成を促進しない。小型 MD 顆粒はどんな培養条件でも常に存在する。低濃度血清培地 (2.5%)、無血清培地 (PVP)、血清限外液培地では大型 MD 顆粒を認めない。低 pH 培地は AP 顆粒の形成を促進しないが、脂質顆粒の増多が著しい。AP 活性の細胞化学的分析の結果、50%血清培養は2.5%血清培養および0.05% PVP 培養に比較して著しい活性増大を認める。

perfusion chamber における培養では、実験開始後、数時間で液胞の増多を認める。位相差鏡映画撮影によれば、液胞は細胞膜下で pinocytosis により形成され、hyaloplasm を通って juxtannuclear zone に到達することが観察される。次いでこれらの液胞は位相差を増大して灰白色を呈するようになりまもなく黒灰色の AP 顆粒 (大型 MD 顆粒) に転ずる。液胞が細胞膜下で形成されてから、AP 顆粒形成までの所用時間は、通常、約0.5時間から2時間である。

### 〔総括〕

(1) 血清培地における L-細胞には細胞化学的に酸性フォスファターゼ陽性の細胞質顆粒 (AP 顆粒) が存在する。AP 顆粒は位相差鏡下で認められる大型の MD 顆粒に相当する。lysosome 類似の顆粒として、このほかに小型の MD 顆粒がある。この顆粒は常在性でいかなる培養条件下でも認められる。

(2) AP 顆粒は細胞化学的に、位相差鏡的に脂質顆粒と異なる。

(3) AP 顆粒の形成は培地に含まれる血清の影響を受ける。血清の割合が多ければ多いほど、AP 顆粒の形成は促進される。無血清培地 (PVP 培地) では AP 顆粒の形成を認めない。

(4) AP 顆粒の形成は培地の pH の影響を受ける。低 pH (7.0) ではたとえ高濃度血清培地でも AP 顆粒の形成をみない。

(5) 位相差鏡による連続観察の結果、AP 顆粒は pinocytosis により形成された液胞を母体として形成されることが明らかとなった。

(6) AP 顆粒形成に対する responsible factor は血清コロイドに存在する。血清蛋白 (アルブミン、グロブリンなど) は pinocytosis を誘発する作用を有する。しかしこれらの蛋白のみの存在では AP 顆粒の形成は行なわれない。AP 顆粒形成には血清コロイド部分に含まれる他物質の存在が必要であると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

この研究は L-細胞に含まれる細胞質顆粒と lysosome との類似性を、形態学的立場から検討しつつ、該顆粒の形成過程を perfusion chamber を用いて位相差鏡下で追究したもので、次のような実験成績を得ている。

L-細胞に現われる lysosome 類似の細胞質顆粒は、形態学的に 2つのパターンを有するものと思われる。1つは小型で大きさ約  $0.3\mu$ 、常在性である。他は大型の顆粒で大きさ  $2\mu$  以上にも達し、血清を含む培地、特にそれを高濃度を含む場合、著しい頻度で発現する。これらの大型顆粒は位相差鏡連続観察の結果、pinocytosis vacuole を母体として形成されることが明らかである。血清培地において、pinocytosis を誘発する効果物質は、アルブミン、グロブリンなどの血清蛋白であるらしい。しかし種々実験の結果、大型顆粒の形成には、血清コロイド部分に含まれる他物質の存在が必要であると推察している。