OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	シナプス小胞分画のアセチルコリン放出に対する細胞内因子の検討
Author(s)	畑, 文明
Citation	大阪大学, 1975, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31397
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【7】

氏名・(本籍)	畑（はた） 文明（ふみあき）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第3446号
学位授与の日付	昭和50年8月21日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**シナプス小胞分画のアセチルコリン放出に対する細胞内因子の検討**
論文審査委員	(主査) 教授 吉田 博 (副査) 教授 佐野 勇　教授 和田 博

論文内容の要旨

〔目　的〕

末梢神経系のみならず中枢神経系においても，神経刺激伝達物質としてのアセチルコリン(ACh)の役割が重要視されている。近年，脳組織をホモゲナイズし細分画することにより，AChの量子的放出と密接に関連していると考えられる神経終末のシナプス小胞を得ることができるようになった。著者は，このシナプス小胞からのACh放出について検討し，刺激伝達におけるACh放出と，シナプス小胞の役割を解明する手がかりを得，またACh放出の調節とその物質的基礎を明らかにしようとした。

〔方法ならびに成績〕

ラット全脳を用い，Whittaker らの方法に順じて，各 Subcellular 分画を得た。粗ミトコンドリア分画を低張処理することにより，神経終末を破壊させ，未破壊の神経終末やミトコンドリア等を除いた後，100,000×g で超遠心分離することにより，その沈査に粗シナプス小胞分画を得た。またこの上清を細胞上清として用いた。

ACh遊離量は，インキュベイション後各サンプルの残存ACh量を bioassay により測定し，インキュベイトしない対象との差をもって表した。

粗シナプス小胞分画からのACh遊離は，ATP, $MgCl_2$ 各 2mM 添加により促進されるが，さらに細胞上清を添加することにより促進された。ATP, Mg^{++} の効果は，EGTA により影響されなかったが，細胞上清の効果は EGTA 添加により失活した。Ca^{++} や細胞上清単独では効果がなく，細胞上清の効果発現には，ATP, Mg^{++} および Ca^{++} の共存が必須条件であり，Ca^{++} の至適濃度はおよそ 10^{-4}Mであった。

セルロース膜で透析すると，細胞上清中の有効成分は透析され，外液中に認められた。この外液の

効果は，単独では効果がなくATP, Mg^{++}, Ca^{++}の共存を必要とし，EGTA添加により失活した。またコロジオン膜をも通過し，限外沪過膜UM10を通過したが，限外沪過膜UM05は通過しなかった。

トリプシン，α-キモトリプシンとのプレインキュベイションにより，細胞上清中の有効成分は影響されなかったが，カルボキシペプチダーゼ・Aにより失活した。

10^{-6}M c-AMP, 10^{-5}M c-GMP, 5×10^{-3}～10^{-4}Mコルヒチン，8×10^{-5}～10^{-5}Mビンブラスチンは検討した範囲内において，ATP, Mg^{++}, Ca^{++}, 細胞上清の効果には何ら影響がなかった。

〔総　括〕

1．ラット脳より得た粗シナプス小胞分画を用い，これらのACh遊離に対する，諸種細胞内因子の影響を検討し，Ca^{++}に依存したACh遊離を起すに必要な因子の存在を見出した。2．粗ミトコンドリア分画を低張処理することにより得られる細胞上清が，ATP, Mg^{++}共存下にACh遊離を促進させることが分った。3．この細胞上清の効果には，Ca^{++}の共存が必須条件であることが分り，至適濃度はおよそ10^{-4}Mであった。4．細胞上清中の有効成分は，セルロース膜，コロジオン膜，限外沪過膜UM10を通過するが，限外沪過膜UM05を通過せず，またトリプシン，α-キモトリプシンによって影響されないが，カルボキシペプチターゼ・Aにより失活される比較的低分子のものであることが分った。5．c-AMP, c-GMP, コルヒチン，ビンブラスチンは今回の実験範囲内においては無効だった。

論文の審査結果の要旨

神経末端からAChなど刺激伝達物質が放出されるには，神経末端でCa^{++}が流入し，細胞内のCa^{++}濃度の高くなることを引き金として，シナプス小胞中のAchが放出されるのではないかと考えられているが，その実験的根拠は乏しい。本論文はシナプス小胞から低濃度のCa^{++}濃度に依存してAChが放出される条件を検討し，ATP, Mg^{++}と共に細胞質中に存在するペプタイド様の因子が必要であることを見出したもので，独創性が高く，充分学位論文に値するものと考える。