OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	ラット再生肝に於ける核小体形成の変動について
Author(s)	高塚, 雄一
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32002
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【13】

氏名・(本籍)	高塚雄一
学位の種類	医学博士
学位記番号	第3996号
学位授与の日付	昭和52年6月10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	ラット再生肝に於ける核小体形成の変動について
論文審査委員	(主査) 教授 神前五郎 (副査) 教授 坂本幸哉　教授 北川正保

論文内容の要旨

〔目　的〕

癌細胞や胎児肝などの分裂増殖の盛んな細胞では，核あたりの核小体数は減少するが，その容量は，増大する傾向にある。

細胞周期の面からは再生肝で経時的に観察したところ，DNA合成の準備期（G_1期）に上述の様な核小体の変動が認められた。

そこで，この様な再生肝の大きな核小体の組成を生化学的に検索する事より，その形成機構を細胞周期の面より検討した。

〔方法及び成績〕

Donryu系雄ラット生後9～10週令を用い，Higgins & Andersonの方法に従い，肝の約$\frac{2}{3}$を切除し，再生肝を作った。

① 肝部分切除後の核小体数の変動

核あたりの核小体数は，核をChauveauらの方法で単離後，Azur Cで染色し光学顕微鏡下に観察した。

通常，成熟ラット肝細胞核は数個（3.1± 0.4）の小さな核小体を有するが，再生肝で経時的に観察したところ，2回のDNA合成のピークに先んじて，可逆的に核小体数の減少とその巨大化が認められ，従って細胞増殖と，このような核小体の変動は，非常に密接な関係にある事が明らかとなった。

② 再生肝・核小体中のRNA，及びDNA含量

ラット再生肝で前述の核小体の変動が最も著明なのは，肝部分切除後17～18時間目で，この時期はRNA合成も非常に盛んである。

そこで，この時期の肝細胞核より超音波処理により核小体を得，東らの“大きさの差による核小体の分画法”（Exptl. Cell Res,. 93, 299, 1975）を用い，大きな核小体の組成を調べると，小さなものと比べ，RNA含量の増加と共に，DNA含量も約3倍に増加していた。

③再生肝・核小体中のリボソーム・シストロン（ribosome cistron;rDNA）量

次に，再生肝の大きな核小体に於ける，この様なDNA含量の増加に関して，rDNA量との関係を検討した。

再生肝の大・小の核小体よりDNAを抽出し，membrane filter 法を用い，^{32}Pでラベルした28 SrRNAとDNA－RNA hybridization を行い，それぞれのDNAに対するrDNAの百分率を調べると，大きな核小体のrDNAの百分率は決して小さな核小体のそれよりは低くはならなかった。

この事実より，再生肝の大きな核小体でのDNA含量の増加は，決してrDNAを含む核小体オルガナイザー（NORs）と無関係の部位のDNAが巻き込まれたのではなく，NORs及びそれに非常に近接した部位のクロマチンが増加した為と考えられる。

そこで，各々のDNA含量を加味して，実際のrDNA量を算出すると，再生肝の大きな核小体では，小さなものの数倍のrDNA量を有しており，核あたりの核小体数の減少は十二分に代償されている事がわかった。

④正常肝，及び再生肝の核に於けるリボゾーム・シストロン（rDNA）量

再生肝の大きな核小体でのrDNAの増加に関して，rDNAの増巾（amplification）の可能性を検討する目的で，再生肝と正常肝の核DNAに対するrDNAの百分率をDNA－RNA hybridization より求めると，それぞれ 0.034%と 0.032%であり，両者間に何ら有意の差はなかった。

従って，再生肝の核では，特にrDNAが欠損したり，Xenopus laevis の卵母細胞の様にrDNAのみが特異的に増巾している事は無かった。

⑤核小体DNAへの〔^{3}H〕－Thymidine の取り込み

更にrDNAの増巾の可能性を，核小体DNAへのラベルした前駆体（〔^{3}H〕－Thymidine）の取り込みの差異より検討した。

再生肝としては前述の核小体の変動が著明で，しかも核のDNA複製期（25～30時間）に入っていない肝部分切除後12時間目を用いた。

再生肝のDNA複製期に於ける核DNAあたりの比活性と比べ，核小体のそれは約$\frac{1}{20}$と非常に低い値ではあるが，正常肝と再生肝では特に顕著な差は認められず，また再生肝の大きな核小体に於いても，著明な比活性の増加はなく，この事実からも少くとも肝部分切除後12時間目の核小体では，rDNAの増巾は起っていない事は明確である。

〔総　括〕

ラット再生肝に於いて，DNA合成に先んじて，可逆的に核あたりの核小体数の減少と，その巨大

化が発現することをみつけた。

この様な大きな核小体では，小さなものとくらべ，RNA含量の増加と共にDNA含量も約3倍に増加していたが，これは核小体オルガナイザー以外の部分のクロマチンの増加によるのではない事，更に核小体オルガナイザーの部分のみの増巾の結果でもない事が判った。

従って，巨大化したのは数個の核小体オルガナイザーの部分が1カ所に寄り集まり，1つの大きな核小体を形成している可能性—“fusion” of NORs —が強い。

論文の審査結果の要旨

本研究は盛んに増殖をしている細胞に於ける核小体の形成機構の特異性を分子生物学的レベルで検討したものである。

癌細胞や胎児組織では，核の中に大きな核小体が認められることが多いが，核あたりの核小体の数は少ない傾向にある。 その形成機構を細胞周期と関連して分析するため，ラット再生肝を用いて経時的に検討したところ，DNA合成の開始と，この様な核小体の変化とは密接な関係にあること，その変化は可逆的であること，および大きな核小体は小さな核小体となるべきクロマチンが2～3個分一個処に集って一つの大きな核小体を形成しているという作業仮説を支持する結果をDNA量およびリボソーム，シストロン量の分析より得た。核小体の形成機構を動的にDNAレベルで検討したのは，本研究が最初であり，細胞分化の立場からみても極めて重要な意味をもつものと考えられる。

したがって，本論文は医学博士の学位を授与するに値するものと認める。