

Title	鶏胚皮膚発生過程におけるムコ多糖およびコラーゲン合成の変動
Author(s)	中村, 俊孝
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32544">https://hdl.handle.net/11094/32544</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

[27]

氏名・(本籍)	<sup>なか</sup> 中 <sup>むら</sup> 村 <sup>とし</sup> 俊 <sup>たか</sup> 孝
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4819 号
学位授与の日付	昭和 55 年 2 月 22 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	鶏胚皮膚発生過程におけるムコ多糖およびコラーゲン合成の変動
論文審査委員	(主査) 教授 佐野 栄春 (副査) 教授 藪内 百治 教授 坂本 幸哉

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

発生過程に伴って結合織高分子成分であるムコ多糖およびコラーゲン成分に急速な組替えが起ることが知られており、このことは組織特有のマトリックス構造が形成される上で重要な意義を持つと考えられている。本研究は、発生過程でのムコ多糖およびコラーゲン成分組替えの機序を検討することを目的とし、鶏胚皮膚の発生に伴うムコ多糖およびコラーゲン合成能の変動を調べた。今回は特に合成されるムコ多糖成分およびコラーゲン分子種(型)の多様性に注目し、さらに両成分の合成能の関係、合成能と皮膚沈着量との関係についても検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

8日から20日の孵化鶏卵および孵化後2日の鶏を各stageで、7~35匹用い、背部より皮膚片を無菌的に採取し細切後、<sup>3</sup>H-glucosamineあるいは<sup>3</sup>H-prolineを含むmodified Krebs II medium中で37℃、8時間incubateし、ムコ多糖あるいはコラーゲン合成能の測定に用いた。各stageの皮膚沈着ムコ多糖量、およびコラーゲンの指標としてhydroxyproline量を測定した。

#### 1) ムコ多糖合成の変動

<sup>3</sup>H-glucosamine存在下でincubateした皮膚片を脱脂後mediumと共にアルカリ処理、プロナーゼ消化を行い、回収したムコ多糖画分より二次元アセテート膜電気泳動法で各成分を分離、固定し、各成分中の放射活性を測定した。成績はいずれのstageにおいてもヒアルロン酸(HA)、デルマトン硫酸(DS)、コンドロイチン硫酸(CS)、ヘパラン硫酸(HS)の合成が認められ、14日から16日にかけていずれも増加した。逆にこの時期では皮膚沈着HA、CS量は減少傾向を示すことから、ムコ多糖合

成系だけでなく分解系酵素活性の増加が示唆された。皮膚沈着DS量は12日以降増加を示すことから、各ムコ多糖成分の代謝回転速度に相異があるものと考えられる。皮膚沈着HA量は18日まで減少するが、孵化前後の時期では逆に沈着量、合成量ともに著しく増加し、孵化に際してHAが個体の水分保持の役割を果すものと考えられる。

## 2) コラーゲン合成の変動

$^3\text{H}$ -proline 存在下で incubate した皮膚片を medium 中で homogenize し、一部を分取し free の  $^3\text{H}$ -proline を除いた後、精製バクテリアコラーゼ消化を行い総コラーゲン合成量を測定した。合成されたコラーゲン分子種の多様性を検討するため、コラーゲンをペプシンおよび 0.4M 磷酸緩衝液 pH 6.8, (1 M グルコースを含む) で可溶化し、回収コラーゲン画分を中性で 1.5M, 2.5M およびその上清画分に食塩分別沈澱した。それぞれの画分について SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行いフルオログラフィーにより合成されたコラーゲンの亜成分 ( $\alpha$ 鎖) の同定と放射活性の測定を行った。成績は総コラーゲン合成量は14日から16日にかけて急激に増加し、皮膚沈着量は14日以降著しい増加を示した。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動のパターンから、いずれの stage においても 1.5 M NaCl 沈澱画分にⅢ型コラーゲン、2.5M NaCl 沈澱画分にはⅠ型コラーゲンの合成が認められた。2.5M NaCl 上清画分には  $\alpha$ 鎖の他に  $\beta$ と  $\alpha_1$ (Ⅰ) の領域に2本のペプチド鎖が認められ、これらは精製バクテリアコラーゲナーゼで消化されることから合成されたコラーゲン成分と判明し、それぞれを X, Y 鎖と名づけた。また、16日以降では 2.5M NaCl 上清画分に  $\alpha_1$ (Ⅰ) の合成は認められるが  $\alpha_2$  は認められないこと、およびいずれの stage においても全画分中の  $\alpha_1/\alpha_2$  の合成比が 2.7~3.5 であること (Ⅰ型では 2.3) から、 $[\alpha_1(Ⅰ)]_3$  の合成も認められた。合成されたコラーゲンのうちⅠ型の占める割合はいずれの stage でも 68~85% であったが、Ⅲ型合成は17日から孵化前後の時期にかけて急激に増加し (8.6%)、皮膚沈着コラーゲン量の増加と対応する傾向を示した。X, Y 鎖 (1~6%),  $\alpha_1(Ⅰ)$  trimer については発生過程を通じて特定の傾向は認めなかった。

### 〔総括〕

- ① いずれの stage においてもムコ多糖では HA, DS, CS, HS の合成が認められ、14日から16日にかけていずれも増加し、同時期にコラーゲン合成も増加していた。組織沈着量との比較から、この時期に皮膚結合組織高分子成分の急速な remodelling が行われていることが推察される。HA は合成、沈着量とも孵化前後の時期に著しく増加していた。
- ② いずれの stage においてもコラーゲンではⅠ型、Ⅲ型、X, Y 鎖,  $\alpha_1(Ⅰ)$  trimer の合成が認められ、鶏胚皮膚におけるコラーゲン合成の多様性が示された。Ⅲ型コラーゲン合成は17日以降急激に増加し、皮膚沈着コラーゲン量の増加と対応する傾向を示した。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は鶏胚皮膚発生に伴う結合組織高分子成分、ムコ多糖およびコラーゲンの合成能と皮膚沈着

量の変動を検討した。その結果、14日から16日にかけてムコ多糖とコラーゲン成分は急速なリモデリングを行っていることを見だし、デルマトン硫酸とコラーゲンは密接に関連していることを明らかにした。また、孵化前後の時期にⅢ型コラーゲンおよびヒアルロン酸の合成能が増加することを見だした。以上は皮膚発生過程における結合織高分子成分の組替え機序を解明する観点から有意義な研究であると認められる。