

Title	マウスの卵管上皮細胞, 下垂体前葉細胞, 副腎髄質細胞および甲状腺濾胞上皮細胞の細胞膜および細胞内膜におけるコレステロールの局在についてのフリーズ・レプリカ像による観察
Author(s)	松田, 博
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34749
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏名・(本籍)	まつ 松	だ 田	ひろし 博
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	6 5 2 9	号
学位授与の日付	昭和 59 年 5 月 7 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	マウスの卵管上皮細胞, 下垂体前葉細胞, 副腎髓質細胞および甲状腺濾胞上皮細胞の細胞膜および細胞内膜におけるコレステロールの局在についてのフリーズ・レプリカ像による観察		
論文審査委員	(主査)		
	教授	藤田 尚男	
	(副査)		
教授	塩谷弥兵衛	教授	橋本 一成

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

生体膜に分布するコレステロールの量は、膜の流動性、透過性、電気抵抗等の種々の性質に影響を与えていることが知られている。コレステロールの細胞膜および細胞内膜における分布を超微形態学的に検索した研究は極めて少ない。ポリエン系の抗生物質である filipin は膜のコレステロールと 1 : 1 の量比で結合して特有な複合体を形成し、フリーズ・レプリカ像によりその分布の観察が可能なが近年明らかになった。本研究はこの方法を用いて、マウスの卵管上皮および各種の腺組織の分泌細胞におけるコレステロールの局在を超微形態学的に調べ、コレステロールと分泌機能との関連を検討したものである。

(方法ならびに結果)

(方法) 生後 8 - 12 週のマウスの卵管, 下垂体, 副腎, 甲状腺を使用した。甲状腺は 2 単位/匹の TSH を投与して 15 分, 30 分, 45 分の群と無処置の対象群について採取した。各動物を 2 % グルタルアルデヒド固定液で左心室より灌流固定を行い、臓器を摘出し十分に細切して 1 時間同液で固定した後、0.02 - 0.05 % filipin 溶液(固定液あるいは緩衝液に溶解)に 24 時間浸漬した。その後は通常の方法によってフリーズ・レプリカを作成した。また、一部の試料は 1 % オスミウム酸による後固定の後にエボン包埋、超薄切片を作成し透過型電子顕微鏡にて観察した。

(結果) フィリピン処理によって膜内のコレステロールはこれと結合し、そのフリーズ・レプリカ像では切断された膜上に直径 25 ~ 30 nm の protuberances あるいは pits を形成しているのがわかる。これがフィリピン・ステロール複合体であり、この複合体の分布密度は膜のコレステロール含量をあらわすとい

う。超薄切片像では、複合体の形成された生体膜はその三層構造を失って不明瞭となるか、あるいはジグザグ状のしわを呈する。

一般的な原則として、どの細胞でも細胞膜（形質膜）にはフィリピン・ステロール複合体が豊富に形成される。P面とE面では複合体の分布に差を認めない。外分泌細胞、内分泌細胞を問わず、分泌顆粒の限界膜には多くの複合体が生じる。細胞内膜系では、核膜（内膜、外膜とも）、ミトコンドリア膜（内膜、外膜とも）、およびゴルジ装置の膜にはほとんど複合体を認めない。但し、ゴルジ装置のトランス側の層板ではやや多くの複合体が形成される傾向にある。この結果を表に示す。

コレステロールの分布	
◦ 細胞膜	卍～卍
◦ 分泌顆粒限界膜	卍
◦ 甲状腺濾胞上皮細胞の再吸収コロイド滴の限界膜	卍
◦ 核膜（内膜・外膜）	～+
◦ ミトコンドリア膜（内膜・外膜）	～+
◦ 粗面小胞体膜	～+
◦ Golgi装置の膜	{ cis側 -～+ trans側 +

卵管上皮では、繊毛の基部のciliary necklaceの部に複合体を欠く。どの細胞間でも閉鎖帯（zonula occludens, strandの平行なものと網状なものの2種がみられる）の領域および接着斑（macula adherens）と考えられる側面細胞膜の円形の領域では複合体を欠く。また、まれに側面細胞膜にみられるsmall pitには複合体は存在しない。

下垂体前葉細胞では、分泌顆粒放出直後に表面細胞膜に観察されるcoated pitの膜には複合体形成を欠く。なお、この部位は膜内粒子の集合している場所である。細胞質内に存在するcoated vesicleやcoated granuleの限界膜も複合体を欠く。

甲状腺濾胞上皮細胞では、TSH処理によって増加したmicropinocytosisのinitial site（膜内粒子の集合したsmall pit）の部には複合体形成を認めない。一方、再吸収コロイド滴の限界膜には多数の複合体が形成される。

（総括）

1. 分泌顆粒や再吸収コロイド滴の限界膜のように物質をpackし輸送すること以外に比較的無機能と考えられる膜では複合体がよく形成され、コレステロールが豊富である。
2. 細胞内膜系では、ミトコンドリア、粗面小胞体、ゴルジ装置のほとんどの層板は複合体に乏しい。膜系の機能特に酵素機能の活発であると考えられるこれらの部位では比較的膜内粒子が豊富であり、一方コレステロールは少ない。
3. 閉鎖帯および接着斑のような膜の流動性が乏しいと考えられる部位では、複合体の形成を欠く。
4. ciliary necklaceの部に複合体を欠如するが、このことはこの部が繊毛の支持や運動に関連して有する活発な機能と関係があると推測される。

5. 甲状腺の濾胞腔に面した細胞膜においてコロイド再吸収に際して生ずる micropinocytosis の initial site (膜内粒子が集合している) の small pit の膜には複合体を欠如する。

論文の審査結果の要旨

フィリピン浸漬・フリーズレプリカ法を用いて下垂体前葉, 甲状腺, 膵外分泌腺, 卵管などの腺細胞の細胞膜および細胞内膜におけるコレステロールの分布を, 超微構造的に検索した結果, これらの細胞に共通して, (1)核膜, 粗面小胞体膜, ミトコンドリア膜 (内膜, 外膜とも), ゴルジ膜に少く, 分泌顆粒限界膜, 細胞膜に大量に分布すること, (2)物をとりこむ際に生ずる被覆小胞の膜には膜内の蛋白粒子が集合し, コレステロールを欠くこと, (3)閉鎖帯, デスモゾーム, ギャップ結合の部位には, フィリピン・ステロール複合体を欠くことが明らかにされた。

これらの結果は腺細胞におけるコレステロールの分布を形態学的に示したもので学位論文に値するものと認める。