



Title	ラット下垂体前葉細胞の細胞骨格についての微細形態学的・細胞化学的研究
Author(s)	千田, 隆夫
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36790
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

氏名・(本籍)	せん 田 隆 夫
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8907 号
学位授与の日付	平成元年12月13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	ラット下垂体前葉細胞の細胞骨格についての微細形態学的・細胞化学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 藤田 尚男 (副査) 教授 祖父江憲治 教授 橋本 一成

論文内容の要旨

〔目的〕

ラットの下垂体前葉細胞を用いて次の2つの問題を追求することとする。

- (1) タンパク分泌細胞には核、細胞内小器官（粗面小胞体、ゴルジ装置、ミトコンドリアなど）、多数の分泌果粒が存在する。このような細胞内膜性構造物と細胞骨格の関係を追求した。
- (2) タンパク分泌細胞において、粗面小胞体—ゴルジ装置系で合成された分泌物は分泌果粒として細胞膜に向かって輸送され、開口分泌によって細胞外へ放出される。分泌果粒の細胞内輸送や開口分泌と細胞骨格の関係を形態学的に明らかにし、これらの機能に対する細胞骨格の役割を追求した。

〔方法ならびに成績〕

- (1) ラットの下垂体前葉を無処理のまま、あるいは細胞内の可溶性タンパクを除去して細胞骨格の観察を容易にするため0.1%サポニン（または0.5%トリトンX）で処理して、急速凍結ディープエッティング法を行い透過電顕で観察した。前葉細胞には核、細胞内小器官、多数の分泌果粒がみられ、それらの膜性構造物の周囲の細胞質基質には細いフィラメントが複雑に分枝吻合した網工が観察された。分泌果粒の限界膜の外側には多数のフィラメントがほぼ放射状に結合していた。また、核膜外葉の外側、粗面小胞体・ゴルジ装置・ミトコンドリアなどの細胞内小器官の膜の外側、及び細胞膜の内側に多数の細いフィラメントが結合していた。そしてこれらの細いフィラメントは近接する分泌果粒や細胞内小器官を連結していた。細胞膜とその直下に存在する分泌果粒の限界膜の間にもフィラメントによる架橋があった。ゴルジ装置を構成する数層のゴルジ層板間に架橋フィラメントが認められた。また、ゴルジ層板腔、粗面小胞体腔、及び核膜腔には向かい合う2枚の膜の間を架橋するフィラメント様構

造が見られた。微細管とそれに近接する分泌果粒の限界膜の間にも短いフィラメントによる連結があった。以上のように、下垂体前葉細胞内のすべての分泌果粒や細胞内小器官に細いフィラメントが結合しており、これらのフィラメントを介してすべての分泌果粒や細胞内小器官はお互いに連結し合っていた。これらのフィラメントを詳細に観察すると、分泌果粒同士を連結する細いフィラメントの一部はその表面に 5 nm 間隔のしま模様が認められた。これはアクチンフィラメントに特有な構造であり、分泌果粒同士を連結する細いフィラメントの少なくとも一部はアクチンフィラメントであると言える。

(2) サポニンやトリトン X で処理したラットの下垂体前葉細胞を走査電顕で観察した。前葉細胞の分泌果粒は、近接する他の分泌果粒、細胞内小器官、核膜、微細管及び細胞膜と細いフィラメントによって連結していた。

(3) サポニンやトリトン X で処理したラットの下垂体前葉細胞を超薄切片法で観察した。前葉細胞内の分泌果粒と、近接する他の分泌果粒、細胞内小器官、核膜、微細管及び細胞膜との間に線維状の架橋構造が認められた。

(4) 光顯的免疫組織化学法 (F I T C 法) によって、ラットの下垂体前葉細胞におけるアクチンの局在を検索した。前葉細胞の細胞膜直下の細胞質にアクチンに対する強い陽性反応が認められた。その他の細胞質領域は弱い陽性反応を示した。

(5) 電顕的免疫細胞化学法 (コロイド金法) によって、ラットの下垂体前葉細胞におけるアクチンの局在を検索した。前葉細胞の細胞膜直下の細胞質にアクチンの局在を示す金粒子が多数認められた。また、分泌果粒の周囲や分泌果粒同士の間にもかなりの金粒子が見られた。

(6) サポニンで処理したラットの下垂体前葉をヘビーメロミオシン (HMM) で処理して超薄切片法で観察した。アクチンフィラメントは HMM に修飾されて矢尻状ないしはけば状を呈する性質がある。HMM で修飾されたアクチンフィラメントは主に前葉細胞の細胞膜直下に分布していた。多数のアクチンフィラメントが束をなして細胞膜直下を走っているところもあった。分泌果粒はこのアクチンフィラメントの豊富な層の下に位置する場合と、この層より更に表層、即ち細胞膜の直下に存在する場合とがあった。開口分泌による分泌果粒の放出の像は後者の場合には時々見られたが、前者の場合には見られなかった。アクチンフィラメントはその他の細胞質領域にも見られ、分泌果粒の周囲を走るアクチンフィラメントのうちあるものは分泌果粒の限界膜に突きささるように結合していた。

[総括]

(1) ラットの下垂体前葉細胞内のすべての分泌果粒や細胞内小器官及び核膜、細胞膜に細いフィラメントが結合しており、それらのフィラメントを介して上記のすべての膜性構造物はお互いに連結し合っていた。これらのフィラメントは分泌果粒や細胞内小器官の特有な形状を維持し、細胞内の位置や配列を規定していると考えられる。

(2) 分泌果粒に結合するフィラメント、あるいは分泌果粒同士を連結するフィラメントのうち少なくとも一部はアクチンフィラメントであることが明らかになった。分泌果粒に結合する細いフィラメント (アクチンフィラメントを含む) や微細管は、分泌果粒の細胞内輸送に重要な役割を果していると考えられる。

(3) 細胞膜直下に存在する豊富なアクチンフィラメントの層は分泌果粒の細胞膜への接近を調節しており、その層を通過して細胞膜直下に到達した分泌果粒のみが開口分泌によって放出されるようだ。その際、細胞膜とその直下の分泌果粒の限界膜を架橋するフィラメントが両者の膜の融合に何らかの役割を演じていると思われる。

論文の審査結果の要旨

著者は急速凍結エッチング法、免疫細胞化学法、その他の組織化学的諸方法を用いて、下垂体前葉細胞の細胞骨格の分布とその分泌機能に果たす役割を追求した。

- 1) 細胞内小器官や分泌果粒は数多くのフィラメントと連結しており、またゴルジ装置や小胞体内腔には腔内フィラメントが存し、その位置や形態の保持に役割を果たしていることが示された。
- 2) 分泌果粒と微細管の間をフィラメントが架橋していることを示し、この系が分泌物の輸送に関与することを推測した。
- 3) 分泌果粒同士、分泌果粒と細胞膜の間にもフィラメントの架橋があることを示し、その一部はアクチンであり、分泌果粒放出の barrier の役目を持つことの可能性を推測した。

著者の研究は医学博士に充分値するものと認める。