

氏名（本籍）	あき	やま	とよ	こ	子（埼玉県）
学位の種類	理	学	博	士	
学位記番号	博	乙	第	365	号
学位授与年月日	昭	和	62	年	3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当				
審査研究科	生物科学研究科				
学位論文題目	Studies on the Mechanism of Pigment Translocation in Fish Chromatophores (魚類色素細胞の色素顆粒運動機構に関する研究)				
主査	筑波大学教授	理学博士	渡	邊	良雄
副査	筑波大学教授	理学博士	平	林	民雄
副査	筑波大学教授	理学博士	岡	田	益吉
副査	筑波大学教授	理学博士	洪	谷	達明

論 文 の 要 旨

魚類における急激な体色変化は、体表にある色素細胞中の色素顆粒の凝集あるいは拡散によって惹起される。この顆粒の運動は刺激・興奮の伝達による細胞運動の代表的例であり、その機構解析は分子生物学の重要な課題の一つである。これまでの色素顆粒運動機構の研究では微小管の関与に力点が置かれてきたが不明確な点が多かった。

著者は、この色素顆粒運動には細胞基質の流動が伴われるという知見を基礎に、色素細胞内の顆粒運動にアクチンが関与することを推測し、種々の検討を試み、この運動機構にはアクチンが主要素として関与しているという新しい知見を得た。以下にその成果を述べる。

- (1) ソードテイル赤色素胞を用いて、細胞全体の顆粒運動の特性を顕微測光法で定量化し、凝集及び拡散という二つの反応過程は異なる機構により制御されていることを推測した。また、単一色素顆粒の運動解析でも同様な結果を得た。さらにまた、色素顆粒運動には細胞形状の変化が伴われることを走査電顕で明らかにした。即ち、色素拡散状態の細胞では平坦な形状を示すが、色素凝集に伴い細胞中心部が半球状に盛り上がり周辺部はごく薄い膜状に変化することをみいだした。この知見は、色素凝集時に色素顆粒と共に細胞基質が流動するため、アクチンの関与があることを示唆した。

- (2) アクチン機能の阻害剤であるサイトカラシンB処理で色素顆粒の凝集・拡散が共に阻害された。一方、微小管機能の阻害剤であるコルヒチンでは、凝集に遅延がみられるが完全阻害は起らず、微小管の役割は限定されたものであることが判った。上記の結果から、アクチンの関与は重要であることが強く示唆されたので、二つの方法で色素胞に於けるアクチンの存在を証明した。一つは、二次元電気泳動でアクチンの存在を示した。第二は魚類(コイ)の骨格筋よりアクチンを精製し、抗体をウサギで調整し、この抗体がソードテイル骨格筋アクチン・線維芽細胞アクチン及び色素胞のアクチンと反応することで示した。
- (3) 上記抗体を用いて、間接蛍光抗体法と免疫電顕法の二つの検索から色素顆粒運動に於けるアクチンの細胞内分布の変化を検討した。その結果、アクチンは色素凝集塊の周囲をとりまき、凝集後の細胞突起内に平行配列したアクチン繊維が観察され、運動への関与が強く示唆された。
- (4) 色素顆粒運動へのアクチンの関与を直接証明するためアクチン抗体を色素胞細胞に微量注入する実験により、色素の凝集・拡散が共に強く阻害されることを証明した。また、アクチンのG・F転換を阻害するファロイジンやD N ase Iの注入効果は不完全阻害しか示さぬことから、G・F転換が本質でないと結論した。
- (5) 色素顆粒運動がアクチン繊維による細胞基質の流動に起因することを更に示すため、外來性顆粒として流動パラフィンを微量注入し凝集・拡散時の流動を観察したところ、色素顆粒と同様に受動的に動くことを明らかにした。
- (6) 腫瘍性色素胞の運動変異株を用いて、色素顆粒運動を示すクローンと示さないクローンとのアクチン isoform を検討したところ、色素顆粒運動の発現にともない β 型に加えて γ 型及び α 型が出現することが明らかになった。

審 査 の 要 旨

著者は色素顆粒運動の駆動系について、数々の実験を試み、この駆動系は従来主役であるとみなされていた微小管系ではなく、アクチンが主要素として関与している事を明確にした。特に基礎的な方法による解析から始めて、次々に高度な手法を用いてアクチンの関与を証明し、さらにそれを証拠だてた研究を進めたことは、研究者としての力量を十分に測り知ることができる。また、著者の業績はこの分野の将来の発展に大きな貢献をもたらすものとして高く評価される。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。