

氏 名 藤 岡 厚 子
ふじ おか あつ こ
 学位の種類 医 学 博 士
 学位記番号 論 医 博 第 806 号
 学位授与の日付 昭 和 54 年 7 月 23 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 Ultracytochemistry of the cell membrane
 (細胞膜の超微細胞化学)

論文調査委員 (主 査)
 教 授 翠 川 修 教 授 小 川 和 朗 教 授 市 川 康 夫

論 文 内 容 の 要 旨

細胞膜は、超薄切片上では、通常三層構造として認められるが、これらの構造が、細胞膜のいかなる化学成分と対応するかは明らかでない。本研究では、膜の微細構造と巨分子構造を対応させるべく、超微細胞化学的方法を用いて、細胞膜の機能基の検出を試みた。

(1) ハイドロキノン (HQ)-テトラニトロブルー-テトラゾリウム (TNBT) 法によるウサギ赤血球膜内アミノ基の検出

未固定あるいは2%グルタルアルデヒド (GLA) で固定した赤血球を HQ-TNBT 液に37℃で30分から一晩浸漬し、反応を行った。未固定の場合は、反応後 GLA で固定した。通常オスミウムによる後固定は行わなかった。反応産物 (ホルマザン) は、pH 6.5~7.0 の浸漬液で浸漬された試料で得られ、細胞膜部位に1~数列に並ぶ、直径3.0~9.0nmの小球として認められた。これらの小球は赤血球膜直下に存在する PTA 陽性帯のすぐ外側、即ち、細胞膜内に分布するものと思われる。又、小球が数列に並ぶ部位は、切片が幾分斜めに切られた部位に相当し、実際には、小球は一列に並ぶことが、傾斜装置利用により判明した。検出された小球状アミノ基の化学的性質は、その膜内局在およびプロテアーゼ処理で消失し、ホスホリパーゼ処理や抽出実験後残存することから考えると、蛋白質由来、恐らくは球状蛋白質を示すものと思われる。以上の所見は、近年フリーズ・フラクチャー法により認められている膜内粒子、および膜の流動モザイクモデルと関連して興味深い。

(2) 小腸微絨毛膜のリンタングステン酸 (PTA) 染色

染色はネコ小腸エポソ包埋超薄切片上で行った。金メッシュに載せた超薄切片は、通常 PTA 染色に先立って、過蟻酸 (PE)、過酸化水素 (PO) あるいは過沃素酸 (PA) で30分酸化あるいは漂白され、その後いろいろな溶液に溶かした PTA 液で30分染色された。一般に、PFP (再蒸溜水あるいは塩酸に溶かした PTA を用いる)、POP (前に同じ)、PAP (クロム酸液に溶かした PTA) 反応がよい染色性を示した。しかし、これら三つの方法のうち、PFP 法が最も安定したよい結果をもたらした。PFP 反応陽性部位は、吸収上皮の外皮、頂上部および側面部の細胞膜、頂上部小胞、ゴルジ装置成熟面、ライソ

ゾーム、杯細胞の酵素原顆粒、毛細血管内皮細胞および基底顆粒細胞の顆粒、細胞線維、膠原線維、基底膜であった。更に興味深いことに、細胞膜で、単位膜様構造に加えて、膜を横切る高電子密度の構造が、梯子様に観察された。この膜を横切る PFP 陽性物質の化学的性質を明らかにする為に、いろいろな固定剤で固定した試料、いろいろな酵素で消化あるいは有機溶媒で抽出した試料、およびいろいろなモデルサンプルなどを用いて、PFP 反応を行った。これらの結果、観察された梯子様構造は、リン脂質あるいは糖脂質であることが強く示唆された。過蟻酸はエチレン結合と反応することが知られており、恐らく、不飽和脂肪酸を有するリン脂質あるいは糖脂質が関係しているのであろう。更に今回行った PFP, POP, PAP 反応は、凡てエポソ切片上で容易に行われうるが、中でも反応の再現性からして、PFP 反応が光顕における PAS 反応に代る、電顕の為の方法として有用であろう。

以上二つの実験において、細胞膜内機能基の検出を *in situ* で試みた。構造的多様性を有する細胞膜の巨分子構造解明の為に、細胞化学的方法是資する所が大きいと思われる。

論文審査の結果の要旨

細胞膜の微細構造とその巨分子構造とを対応させるべく、超微細胞化学的方法を用いて機能基の検出を試みた。

(1) ハイドロキノン (HQ)-テトラニトロブルー-テトラゾリウム (TNBT) 法によるウサギ赤血球膜内アミノ基の検出

反応産物は直径 3.0~9.0 nm の小球として認められ、赤血球膜内に一列に配列することがわかった。検出されたこれらのアミノ基は蛋白質由来と考えられ、恐らく膜内に分布する球状蛋白質を示すものと思われる。

(2) 小腸微絨毛膜のリンタングステン酸 (PTA) 染色

主として過蟻酸-PTA (PFP) 反応を用いた。PFP 陽性部位は、光顕における PAS 陽性部位にはほぼ一致し、PAS 反応に代えて、電顕用に容易に用いる染色法として有用である。更に興味深いことに、微絨毛膜内に、膜を横切る梯子様構造が観察された。

これは、不飽和結合を有するリン脂質あるいは糖脂質に由来することが強く示唆される。以上の細胞化学的研究は、構造的多様性を有する細胞膜の巨分子構造解明に寄与するところが多い。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。