

氏名	岡田泰伸 おかだやすのぶ
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第863号
学位授与の日付	昭和56年1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	Phagocytic Activity and Hyperpolarizing Responses in L-Strain Fibroblasts (線維芽L細胞の食作用と過分極性膜応答)

論文調査委員 (主査) 教授 久野 宗 教授 荒木辰之助 教授 佐々木和夫

### 論文内容の要旨

マウス由来の培養線維芽細胞(L細胞)は、電氣的・機械的・化学的刺激に対して一過性の過分極性膜応答(振幅約25mV)を示し適当な条件下ではこの膜応答を自発的に繰り返えし、膜電位振動(周期約4回/分)を示す。これらの過分極膜応答のイオン機構については、我々の研究により次の点が明らかにされて来た。即ち、刺激により又は自発的に細胞内Caイオン濃度が一過性に上昇し、それにより形質膜のいわゆるCa<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> conductance系が刺激され一過性の過分極が発生する。しかしながらこの過分極性膜応答をトリガーする所の細胞内Caイオンが、細胞内小器官及び細胞外液のいずれから由来して来たものであるかについては明らかでなく、更にこの過分極性膜応答・自発膜電位振動がいかなる生理的機能に関係しているかについても明らかではなかった。これらの点を明らかにするための第一歩として今回電気生理学的検討に加えて細胞生理学的検討を行った。

L細胞は培養中に活発な食作用を示す事が観察されて来た。この食作用の定量的測定を行うために、直径0.8μmのラテックス・ビーズを用いた。これらのビーズを直接細胞表面に与えてもL細胞は殆んど食食しなかったが、ポリ・リジンで表面をコートするとすばやくこれらを細胞表面に吸着させること、又、ビーズ表面を紫外線照射処理することによりこれらを活発に摂取するようになる事が、位相差及び走査電子顕微鏡下での観察から明らかとなった。

かくしてポリ・リジン処理ビーズで食作用の吸着相の、紫外線処理ビーズで摂取相の定量的解析が可能となった。これらを用いての実験結果より摂取相の方が吸着相に比しより著しく温度・代謝エネルギー・マイクロフィラメント系に依存している事が示された。これらいずれのビーズを細胞膜表面に投与しても何らの膜電位変化も引起さなかったが、これらのビーズを吸着も摂取もしない少数の細胞からは、静止膜電位は正常であるにもかかわらず、過分極性膜応答・自発膜電位振動は得られなかった。

又、これら膜応答は、低温・代謝阻害剤・サイトカリンBにより抑制された。以上の事実は、これら過分極性膜応答が食作用に、そしてその内の特に摂取相に深い関係を持っている事を示唆している。食作

用は、静止膜電位を過分極させる細胞外高濃度 Ca イオンにより著明に増大し、過分極性膜応答を抑制する細胞外高濃度 Mg イオンにより抑制された。この事は、膜応答時の膜電位変化（過分極）自身が食作用に関係する事を疑わせる。しかし Ca 同様に静止膜電位を過分極させる Sr, Mn イオンによっても、又静止膜電位のみならず膜応答時の過分極レベルをも脱分極させる細胞外高濃度 K イオンによっても食作用は有意に影響されず、膜応答時の電位レベル変化以外のファクターが食作用に関係するものと考えられる。又、細胞膜の Ca チャンネルの阻害剤 (verapamil) により膜応答も食作用も著しく抑制された。これらの結果から、(1)過分極性膜応答発生をトリIGGERする細胞内 Ca は細胞外に由来する事、(2)この膜応答時の Ca 流入が、おそらくマイクロフィラメント系を介して、食食活動を賦活する事が結論された。

#### 論文審査の結果の要旨

マウスの培養線維芽 L 細胞は非興奮性細胞であるが、自発的あるいは種々の刺激に応じて過分極反応を示すことが知られている。本研究は、この過分極性反応に関与するイオン機構と、その食作用との関連を明らかにすることを目的とした。過分極性反応は  $K^+$  の透過性の上昇に伴って発生したが、 $Ca^{++}$  チャンネルを阻止する verapamil により消失した。しかし、その条件下においても、 $Ca^{++}$  の細胞内注入により反応を再び誘発することができた。したがって、外液の  $Ca^{++}$  の細胞内侵入による  $K^+$  の透過性の上昇が過分極性反応を発生すると結論される。L 細胞の食作用能はレテックス・ビーズを用いて定量化した。種々の条件下で、食作用能は細胞の過分極性反応と密接な平行関係を示した。また、食作用の活動性はマイクロフィラメントに依存するが、微小管の存在を必要としないことが見いだされた。これ等の結果は、細胞運動の基本的機構に新しい知見を加えるものである。

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。