

氏 名	浜 田 義 雄 はま だ よし お
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 552 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学位論文題目	細胞培養下におけるラット水晶体上皮細胞の分化とクリスタリン合成

論文調査委員 (主 査) 教 授 岡 田 節 人 教 授 小 関 治 男 教 授 柳 田 充 弘

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトを含めて哺乳動物のレンズは、電気泳動的に区分される α -, β -, γ -クリスタリンとよぶ3つのグループのクリスタリン・タンパクを主成分としている。形態的にはレンズは、未分化のレンズ上皮という部分と、分化して著しく細長くなったレンズ繊維とよぶ部分とに大別できる。これら2つの部分の細胞のいずれもが、これら3つのグループのクリスタリンの全部を等しく含んでいるか、或は、 γ -クリスタリンはレンズ繊維にだけ存在する、いわば分化のマーカとなるタンパクである否かの決定が試みられた。

このため、ラットのレンズの上皮と繊維のそれぞれのホモジネートを SDS-ゲル電気泳動にかけて、それらのタンパク組成の詳細を比較した。一方、 α -クリスタリン、 γ -クリスタリンを精製して、電気泳動における易動度を確め、さらにこれらに対する抗血清を準備して、これらのクリスタリン・タンパクを確実に同定することを試みた。その結果、 α -クリスタリンはレンズ上皮にもレンズ繊維にも等しく含有されているが、 γ -クリスタリンはレンズ繊維に多量にあり、レンズ上皮にはごく微量に含まれる。しかし、この微量に上皮に含まれる γ -クリスタリンが試料中へのコンタミネーションによるか否かを確認する必要がある。

そのために、新生児ラットの眼を組織切片とし、抗 γ -クリスタリン血清を用いて蛍光抗体法によって観察した。その結果は γ -クリスタリンはレンズ繊維にのみ存在し、レンズ上皮には存在しないことが判った。また、レンズ上皮の細胞を試験管内で培養すると、ごく短時間の間で γ -クリスタリンは、SDS 電気泳動によって認められなくなる。

以上の結果を総合して、 γ -クリスタリンはレンズ上皮には存在せず、分化したレンズ繊維にのみ存在するもので、分化のマーカ・タンパクとなり得る、と結論した。過去の研究で、 γ -クリスタリンがレンズ上皮にも存在するという報告がかなりあるが、これらはいずれも、試料中への不純物の混入によるものである。

レンズ上皮を細胞培養すると、細胞は著しく増殖する。そして、 γ -クリスタリンの量も著しく減少す

る。やがて数日後には、培養された細胞のかなりのものに、 α -クリスタリンの再出現がみられるようになる。そして、 α -クリスタリンをもった細胞の多くは、 γ -クリスタリンの合成を開始し、試験管内でレンズ繊維の分化が認められるようになる。つまり、細胞培養の条件で、細胞の脱分化→分化が起こり得る。

いくらかの細胞は α -クリスタリンを失なったまま、分化しない。このような細胞の培養を続けると、一年以上も経ってから急に増殖能を獲得し、試験管内の培養で永続的に増殖を続ける細胞株を4つ樹立することに成功している。これら4つの株細胞の性質が詳細に研究されている。このうちの2つは、染色体構成から2倍体であり、他の2つは4倍体である。形態的にはそれぞれ、かなりの差がある。にも拘らず、これらの株細胞は、レンズ上皮に特有なタンパクの一つであって、申請者が β u-クリスタリンと名付けた分子の合成を続けている。従って、これらの株細胞は、株化された後といえども、元のレンズ上皮としての性格を部分的には保有していることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

高等動物のレンズは、クリスタリンと総称される、極めて特異的なタンパクを主成分としていて、細胞化の研究においては古くから好適な材料として知られ、多くの研究がある。基本的な問題の中で未解決なものは、レンズ上皮とレンズ繊維とのクリスタリン組成は質的には同一のものなのか、或は、上皮→繊維という細胞分化の過程において、繊維特異的ともいふべき新しいタンパクの合成があるのかどうか、というものである。

申請者は、ラットのレンズを材料としてこの問題の解決をはかった。そのために、申請者は SDS 電気泳動、免疫化学、免疫組織学、組織培養などの多岐にわたる方法を、有機的に総合して駆使し問題の解決によく成功した。その結果、クリスタリンと総称されるタンパクのうち、 γ -クリスタリンはレンズ繊維に特異的に存在し、上皮→繊維の分化において初めて出現することを明示し得た。これによって、現在までかなり混乱のあった見解に一つの完全な結着をつけることに成功した。申請者の研究は、多くの研究技術を適切、かつ総合的に駆使して、しかもそれぞれの技術の信頼度は十分に高いものがある。

申請者は、 γ -クリスタリンをレンズ繊維のマーカー・タンパクとして、試験管内に培養されたレンズ上皮の細胞分化を研究した。これによって、培養されたレンズ上皮細胞も、このような実験条件下でレンズ繊維への分化が可能であることを証明することができた。

また、長期培養に成功し株細胞を樹立するのに成功している。細胞研究に株細胞の使用が有効であることはいふまでもない。しかし、現在まではレンズ細胞の株細胞はごく少数しか知られていなかった。申請者は樹立した4つの株細胞の性質を詳細に記述している。特に、これらの株細胞が Bu-クリスタリンと申請者が命名した、レンズ上皮特異的なタンパクを含んでいることは重要な知見である。これによって、これら株細胞が確かにレンズ上皮由来のものであると同定できるのである。

以上述べた通り、申請者の研究はレンズ細胞の分化に基本的に貢献するものであって、理学博士の学位論文として価値あるものと認める。