

氏 名	高 橋 敬
	たか はし けい
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 252 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 5 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 動 物 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Some Aspects of the Mode of Action of the Aggregation promoting Factor contained in the conditioned Medium (コンデিশヨニングファクター及び二価陽イオンの細胞凝集作用機構の解析)

(主 査)
論文調査委員 教 授 岡 田 節 人 教 授 竹 内 郁 夫 教 授 白 上 謙 一

論 文 内 容 の 要 旨

この論文は多細胞生物の細胞が、ひとたび各個の細胞にばらばらにされた後、再集合する現象に効果のある因子の作用機構を研究したものである。

材料として、ニワトリ11日目胚の肺を培養してえた繊維芽細胞を使用する。この細胞を液体培地を用いてフラスコに移し、このフラスコを一定の回転数で回転させると、細胞同志が衝突するが、細胞表面の強い粘着性のために、ひとたび相接した細胞はそのままに結合し、漸次大きな集合体を作るようになる。この論文では、まずこのような集合の程度を量的に表現するため、一定の時間経過中で起こる、フラスコ内の全粒子数（単一細胞プラス集合体の総数）を測定した。そして、ある一定時間における全粒子数をいくらかの異なった実験条件下で測定することによって、集合の程度を量的に示すことに成功した。

一方、旋回培養中の培地に、予め多数の細胞の培養に使用した培養液（これを CM とよぶ）中には、集合を促進させる因子が含まれている。この因子は、かなり巨大な分子の働きであることも明らかにされている（参考論文1および2）。この分子は細胞にどのような生理的变化をもたらすことによって、集合を促進させるように働くのであろうか？

申請者は、このような働きのある CM 中の因子は、細胞の表面に吸着して、細胞表面の電荷を変化させるのではないかと仮定して、これを検証する実験を行なった。それには、まず細胞を CM 中で数時間培養して、CM 中の因子を細胞表面に吸着せしめた後、コロイド滴定法によって、細胞表面の電荷の測定を試みたのである。これには細胞を陽性コロイドである protamine sulfate を含む液中に10分間おき、細胞を除いた後で、どれだけの量の protamine sulfate が残存しているかを、酸性コロイドである polyvinyl sulfate を、どれだけの量加えるかによって中和されるかをみた。すなわち、残存した protamine sulfate 量が少ない程、細胞表面には陽性コロイドが多量に吸着されており、つまり表面の負電荷は高いのである。

本論文では、この方法が目的のために簡便で、かつ十分な精度をもって駆使された。その結果、CM 中の集合促進因子を吸着した細胞表面は、明らかに無処理の細胞表面に比べて、負電荷が高くなっている

ことが示された。しかし、理論的には負電荷の高くなった細胞表面間では、お互いの反撥が強くなるはずであって、CM 因子によって集合が促進されるという事実とは全く矛盾する。この点は、次に行なわれた2価陽イオンの細胞集合に対する影響をみる実験の結果で克服されている。すなわち、CM 因子による細胞集合の促進という事実は、培地中にカルシウムの存在する場合においてのみ認められるのである。カルシウム・イオンの欠損下では、CM 因子で処理された細胞と、無処理の細胞との間には集合についてちがいはないのである。

以上の結果から、次のように結論されている。CM 中の因子は細胞表面に吸着し、細胞表面の負電荷を高める。この時一定濃度のカルシウム・イオンが存在すれば、このような細胞表面ではかえって電荷の逆転が起こることになって、その結果、細胞の集合過程は促進されるのである。

論文審査の結果の要旨

多細胞動物の細胞は、ひとたび実験的に単一細胞にバラバラにされても、再集合する性質をもっている。この性質は単細胞生物の細胞には、決してみられないもので、多細胞性の細胞に固有なものである。この性質は生物の形態形成の極めて基本的なものであり、細胞集合に関する研究は多くの注目を集めている。しかし、今までの研究の多くは形態学的なものである。ところが、本論文は集合に関連のある細胞表面の生理的な変化を追求したもので、その点まず注目されるものである。

この論文では、集合を促進させる因子が、条件づけられた培地中に存在することを明らかにした。そして、このような集合促進因子が細胞表面に吸着された場合に、負電荷を高めるような変化を誘導すること、そして、このような表面をもった細胞が、カルシウム・イオンの存在下におかれた場合、このイオンとの interaction の結果集合促進が起こることを、極めて合理的に説明した。これらの発見は、いずれも新しいものである。

この論文では、このような結果を導くにあたって、二つの重要な方法を導入している。その一つは、時間的に一つのシステム内の全粒子数を測定することによって、集合の程度をよく量的に表現しえたことである。第二はコロイド滴定法を細胞研究に導入したことである。この方法は元来、コロイド粒子の電荷の測定に用いられたものであるが、本研究ではこの方法が細胞表面の電荷の測定に駆使されている。この方法は、従来、細胞表面の電荷測定に用いられた細胞電気泳動によるものよりは簡便な面があり、再現性、正確度においても充分使用にたえるものであることが示されている。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。