

## IIB-27

硝酸銀によるラットマスト細胞株 RBL-2H3 細胞の形態変化は、硝酸銀の刺激を継続的に必要とする

大田 方人<sup>1)</sup>、金平 克史<sup>2)</sup>、渡邊 聡子<sup>1)</sup>、  
窪田 宜之<sup>1)</sup>、神尾 次彦<sup>3)</sup>

(独)農業・生物系特定産業技術研究機構 動物衛生研究所<sup>1</sup> 免疫研究部 応用免疫研究室、<sup>2</sup> 感染症研究部 原虫病研究室、<sup>3</sup> 疫学研究部 上席研究官

【目的】10 種類以上の金属が、金属過敏症や金属アレルギーを引き起こすことが知られているが、近年、銀イオンが histamine の分泌を促すことが明らかになりつつある。我々は、硝酸銀がマスト細胞株に形態変化を引き起こすことを前学会で報告したが、この変化機構の解明を試みた。

【方法】ラットマスト細胞株 RBL-2H3 細胞をプラスチック上に吸着培養し、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 不含緩衝液で洗浄後に、硝酸銀(Ag)を含む緩衝液を加えた。緩衝液を置換して一度加えた Ag を除去するか、または、2-mercaptoethanol (2-ME)を加え、倒立顕微鏡を用いて観察し、それぞれの影響を調べた。

【結果】Ag 添加後 10 分以内に形態変化は開始し、また、30 分までは顕著に変化が進行し、30 分以降はそれ以前に比して進行を認めにくくなった。Ag 除去または 2-ME 添加のいずれでも、形態変化の進行は停止した。Ag 添加から Ag 除去または 2-ME 添加までの間隔が長いほど形態の変化は著しく、一度形態変化を生じた細胞はもとの形態に復帰しなかった。

【考察】Ag 除去と 2-ME 添加による効果が同様であったことは、この反応が銀イオンによることを支持する結果と考えられた。Ag との処理時間に応じて変化が進行し、Ag 除去または 2-ME 添加により停止したことは、この反応は硝酸銀の刺激を継続的に必要とするものであることを示し、また、形態変化が細胞内の刺激伝達系を介さない可能性もあることを示唆するものと考えられた。

## IIB-28

ラット精子形成過程におけるヒストンH1の動態 —免疫電顕的分析—

ハラグチ M. セリナ、横田貞記

山梨大学大学院医学工学研究部細胞生物学

【目的】精子核のDNAを効率よく折りたたむのに使われている多くのヒストンは、精子形成の後期に移行タンパク質を経てプロタミンに置き換えられる。ラットではこれまで他の精巣特異的ヒストンと共にヒストンH1 (H1)も取り除かれるとされていた。しかし、われわれはH1特異的抗体を用いた免疫染色によって、H1が常時精子形成細胞核に存在することを明らかにした。そこで、今回は精子形成過程における精子形成細胞核のH1の動態を通常および定量的免疫電顕法で検討した。

【方法】ラット(250g体重)の精巣を取り出し、氷冷した固定液(4%パラホルムアルデヒド+ 0.2%グルタルアルデヒド+ 0.1M HEPES-KOH緩衝液, pH 7.4)で細切し、1時間固定した。精巣上体尾部から採取した精子も同様に固定した。−20℃で型通り脱水した後、LRWhiteおよびエポンに包埋した。光顕用には、エポン包埋試料の準超薄切片を脱エポン後、酵素抗体法でH1を染色した。電顕用には、LRWhite包埋試料の超薄切片を抗体とプロテインA-金(15nm)で可視化した。各分化段階にある細胞(10枚)の核の面積を計測し、そこに分布する金粒子を数え、標識密度(金粒子数/平方ミクロン)を計算した。

【結果】光顕的には、H1を示す染色はすべての精子形成細胞の核に見られた。分裂染色体は特に強く染色された。電顕的には、H1シグナルは異染色質に一致して局在したが、正染色質と核小体にはなかった。濃縮の始まった核では、シグナルは電子密度の高い核質に見られた。ステップ9から現れる余分な核膜に囲まれた核領域は陰性であった。精巣上体精子の核も強く染色された。定量的には、精祖細胞が比較的強く標識され、その後分化が進むに連れて標識密度は減少し、ステップ9まで低いレベルにあった。しかしステップ 10 から標識密度は急速に増加し、ステップ 16 で最も高くなり、以後少し減少したが、高いレベルに保たれ、精巣上体精子核でもそのレベルは維持された。

【考察】酵素抗体法でH1はすべての精子形成細胞および成熟精子に染色された。これは、H1は他のヒストン群と違ってプロタミンに置き換えられず、成熟精子の核に留まることを示す。定量免疫電顕的には、H1は精祖細胞から徐々に減少し、ステップ10から急激に増加し、成熟精子まで高い濃度で検出された。これは、H1はプロタミンと共に精子の核濃縮に関与し、そのまま卵に持ち込まれることを示す。