

P1-73

粗面小胞体の増生を観る一形態計測法を用いた小胞体膜とリボソームの動態解析

仁平 美果¹, 渡辺 淳², 山田 久夫¹

¹関西医科大学解剖学第一講座, ²関西医科大学大学情報センター

哺乳類に phenobarbital (PB) を投与すると、肝細胞において PB 誘導型小胞体膜タンパク (CYP2B1/2 など) が誘導されるとともに、滑面小胞体が増生することが知られている。我々は、最近、形態計測法を用い、PB 投与によって肝細胞の粗面小胞体が、小管状の滑面小胞体とともに増生する事を見出した。この結果は、PB の投与が肝細胞で小胞体膜の増生を引き起こすだけでなく、小胞体膜に結合するリボソームの動態とも密接に関与している可能性を示す。しかしながら、小胞体の形態およびその細胞内におけるダイナミックスについては、現在、形態学的なアプローチを用いて解析する以外に良い方法がなく、小胞体の構造とリボソームの結合の関係はあきらかでない。そこで、PB 投与前後におけるラット肝細胞の粗面小胞体と滑面小胞体の分布と三次元的構造との関係を、同一肝小葉内の中心静脈周囲部、門脈域周辺部および両者の中間に位置する肝細胞の各々において、電顕を用いて調べた。PB 投与によって増加した粗面小胞体に結合しているリボソームの密度は、対照群と比較してほとんど変化しなかった。電顕形態計測法で求めた粗面小胞体の表面積が約 2 倍に増加していることから、PB 投与による粗面小胞体の増生は、膜自体が増加しているだけでなく、膜結合リボソームも増加することが示された。このことは、PB 投与によって起こる CYP 等の特定の膜タンパク合成亢進と関係すると予測される。また、層板状小胞体と管状小胞体の移行部の管状小胞体へのリボソームの結合が PB 投与後の肝細胞において高頻度に認められるようになったが、大部分の管状小胞体は、PB 投与前と同様にリボソームが付着していない滑面小胞体であった。これらのことから、肝細胞小胞体膜へのリボソームの結合は小胞体の高次構造を決定する因子と関与する可能性は大きいが、形成された小胞体の高次構造自体が直接の要因ではない事が示唆される。

P1-74

電顕ラジオオートグラフィー による加齢マウス肝細胞の糸粒体内巨大分子合成に関する定量的解析

永田 哲士¹, 亀谷 清和²

¹信州大学医学部解剖、信州医療福祉専門学校解剖, ²信州大学ヒト環境科学研究支援センター機器分析部門

正常マウス肝臓の巨大分子合成の加齢に伴う変化を明らかにするため、30 群 90 匹の ddY 系マウスを、胎生 19 日、生後 1、3、9、14 日、1、2、6 ヶ月、1、2 年の各群同腹 3 匹ずつの 30 群のマウスを 10 群ずつ 3 組に分け、それぞれ ³H-thymidine, ³H-uridine, ³H-leucine を腹腔内注射して 1 時間後に、緩衝 2.5% G 液で灌流固定し、肝臓組織を同液及び Os 液で重固定、樹脂包埋して 0.2μm の準超薄切片を作製し、Konica NR-H2 乳剤を用いて電顕ラジオオートグラフィーを行い、JEM-4000EX を使用し、高電圧 (400kV) で観察した。

その結果、肝細胞の DNA 合成を示す ³H-TdR による核の銀粒子は S 期の細胞のみに観察されたが、糸粒体の標識は S 期以外の細胞にも観察された。RNA 合成を示す ³H-UdR による銀粒子と蛋白質合成を示す ³H-Leu の標識はすべての細胞の核と細胞質に観察されたが、糸粒体の標識もすべての細胞に観察された。1 核肝細胞断面 1 個当りの糸粒体数を計数すると、胎生期から加齢により増加し、生後 6 ヶ月で最大値に達し、2 年で減少した。³H-TdR, ³H-UdR, ³H-Leu による標識糸粒体数は、胎生期が最低で加齢により漸増し、それぞれ生後 14 日 (DNA) から 1 ヶ月 (RNA)、6 ヶ月 (蛋白質) で最大値に達し、以後 1 年から 2 年まで減少した。1 核細胞と 2 核細胞の間には、各時期の細胞 1 個当たりの糸粒体数は 2 核細胞で多かったが、標識率には有為差はなかった。以上の結果から、核酸、蛋白質等巨大分子合成の加齢に伴う変化は周生期が最低で、加齢に伴い増加し、生後 2 週から 6 ヶ月で最大値に達し、その後加齢に伴い減少するが、最大値に達する時期にはずれがあり、DNA が最も早く (2 週)、次いで RNA (1 ヶ月)、最後が蛋白質 (6 ヶ月) であることが明らかとなった。