

鶏胚網膜色素上皮の脱色と 2, 3 の nucleotides の作用について

竹内よし子, 梶島孝雄 (名大・理・生物)

Effects of some nucleotides on depigmentation process of embryonic chick pigment retina cultured *in vitro*

YOSHIKO TAKEUCHI, TAKAO KAJISHIMA

鶏胚網膜色素上皮細胞は細胞内に多数のメラニン顆粒を含むが, *in vitro* の培養下でこれらの顆粒は消失してしまう。Whittaker (1963, 1968) はその原因として細胞分裂による細胞当たりのメラニン量の稀釈と, 培養下で合成される mRNA と tyrosinase 用の mRNA 間で競合がおこり tyrosinase 合成が阻害されることをあげている。Takeuchi *et al.*

(1973) は脱色中の培養細胞を電顕的に観察し, 脱色の主因の一つは既存のメラニン顆粒が自己崩壊をおこして消失することを明らかにした。メラニン顆粒の自己崩壊は actinomycin D 処理で抑制されるため, 崩壊開始には RNA 合成系の関与が考えられているが (Takeuchi *et al.*, 1975), 脱色の機構については未だ疑問点も多い。そこで, いろいろな動植物細胞で分化への関連が報告されている cAMP を鶏 6 日胚の網膜色素細胞に作用させて培養し, メラニン顆粒に及ぼす影響を電顕的に観察した。細胞は Eagle の MEM, 牛胎児血清, 抗生物質に 10^{-5} ~ 10^{-2} M の DBcAMP を加えた培養液中で 37°C で培養された。 10^{-4} M 以上では培養 1 日, 5 日の細胞のメラニン顆粒の崩壊は抑制され, 顆粒形成が促進された。 10^{-3} M theophylline 処理でも同様の結果であった。 10^{-3} M の 5'-AMP ではメラニン顆粒は形成されるが顆粒崩壊は抑制されず, 10^{-3} M の cGMP 投与では顆粒形成も顆粒崩壊の抑制も観察されなかった。

DBcAMP のメラニン顆粒崩壊抑制及び顆粒形成作用がどのような機構によるのか, また培養下でおこるメラニン顆粒崩壊及び消失が実際に cAMP の細胞内濃度に関係するかどうかは今後の研究課題である。

ニワトリ胚網膜色素細胞の再着色におよぼす SBA の影響について

梶島孝雄, 竹内よし子 (名大・理・生物), 及川胤昭 (山形大・理・生物)

Inhibitory effect of SBA on remelanization of depigmented embryonic chick pigment retina

TAKAO KAJISHIMA, YOSHIKO K. TAKEUCHI, TANEAKI OIKAWA

メラニン合成を行いつつある孵卵 7~8 日目のニワトリ胚から網膜色素上皮をとり出し, 単一細胞に解離した後単層培養に移すと, 細胞質内のメラノゾームは消失し, 透明な表皮性細胞となって増殖を開始する。然し細胞数が増加し, 相互に癒着するようになると再び増殖率は低下し, メラノゾームの形成を再開する。脱色が完了した培養 5 日目から, Reitherman *et al.* ('74) の変法により大豆から抽出・精製した血球凝集素 Soybean-agglutinin (SBA) を $50-10\mu\text{g}$ 含んだ培養液 (90% MEM+10% FCS) に移すと増殖はほぼ正常に進行し細胞相互が癒着した状態で増殖を停止する。然しその後メラノゾームの形成はみられず一ヶ月以上同一の状態を維持する。この細胞を正常培養液で継代培養すると, 再び再着色がみられた。一方解離直後メラノゾームを持った細胞を SBA を含む培養液で培養すると脱色は顕著に阻害され, それ等の細胞は分裂増殖後, 着色したコロニーを形成する。対照の SBA を含まない培養液で培養した細胞や, SBA と競合する糖の 1 つである D-Galactose を加えた SBA 培養液で培養した細胞では何れの阻害作用もみられなかった。このように SBA はニワトリ胚網膜色素細胞の培養下でみられる脱色 (脱分化) と再着色 (分化) を阻害することが明らかになった。血球凝集素は各種動物細胞の表面膜と特異的に結合してその物理化学的性質を変化させることが知られており, 上記の現象もそうした機作にもとづくものと考えられる。猶 SBA によりメラノゾーム形成を阻害された細胞では着色細胞でみられるコラーゲンの合成も阻害されることから, コラーゲン合成とメラノゾーム形成との間の関係を解析する手段として有効であろう。