

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

(Striated microfilament bundles attaching to the plasma membrane of
cytoplasmic bridges connecting spermatogenic cells in the black snail,
Semisulcospira libertina (Mollusca, Mesogastropoda).

(カワニナ造精細胞の細胞質橋形質膜に付着する横紋マイクロフィラメント束)

氏 名 大倉 信彦 

〔目的〕

カワニナを含むほとんど全ての動物において、細胞質橋と呼ばれる細胞質の連結装置が、一群の造精細胞を繋いでいる。これまでの研究によると、1)細胞質橋形質膜直下に、膜を裏打ちする高電子密度層の存在することや、2)橋形質膜は、膜内粒子とコレステロールを共に欠く、特殊な細胞膜であることが、形態学的に示されている。この様な細胞質橋は多数の精子を同時に分化させる、同調性をもたらすと考えられているが、橋の役割については不明な点が多く残されている。

我々は、細胞質橋の役割を明らかにする一助として、橋形質膜と裏打ち構造に注目して、特異的な構造を明らかにする事を試みてきた。本論文において、カワニナ造精細胞の細胞質橋形質膜に付着する、新奇な横紋マイクロフィラメント束が初めて記載された。

〔材料と方法〕

宜野湾市の用水路で採集したカワニナを

材料として、形態学的な検索を行った。

透過型電子顕微鏡法：カワニナの精巣組織片は、通常の方法で化学固定・エポン包埋後、超薄切された。超薄切片は、定法通り酢酸ウラニルとクエン酸鉛で染色後、透過型電子顕微鏡で観察された。

ファロイジン細胞化学：精巣組織片は、4℃の0.1%サポニンと1%界面活性剤 Nonidet P-40 (NP-40)を含む生理的塩類溶液中で2-4時間処理された。この溶液に含まれるサポニンは、コレステロール含量が多い、細胞質橋以外の細胞膜を細片化するため、また NP-40 は、細片化された膜と細胞質ゾルを抽出するために加えられた。抽出処理された精巣組織片は、パラフォルムアルデヒド固定後、凍結切片にされた。切片は1μMローダミン標識ファロイジンで30分間染色後、共焦点レーザー顕微鏡で観察された。

[結果]

従来知られていない、横紋を持った細胞内

線維束がカワニナ造精細胞の細胞質橋形質膜に付着していることを見出した。線維束の形質膜への付着は横紋のレベルでおこり、横紋の周期は約 200 nm であった。この線維束は線毛基部の根小毛に形態が一見類似するが、この横紋の周期は根小毛のそれとは全く異なり、また、この線維束と中心体との関連も見出されなかった。F-アクチンに特異的なファロイジン染色によって、約 200 nm 周期の横紋を持つ細胞内線維束が観察された。これらの結果から、この横紋線維束はアクチンを含むマイクロフィラメントと、それらを横断するように束ねるクロスリンカーとから構成されることが示唆される。

このマイクロフィラメント束は、種々の造精細胞間に観察された細胞質橋の約 5% で認められた。従って、このフィラメント束は、常に存在するのではなく、精子形成の特定の時期に出現することが推測された。

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	大倉信彦
論文審査委員	平成 17年 12月 22日		
	主査教授	岩政輝男	岩政印
	副査教授	澤口昭一	澤印
	副査教授	牧野 毅	牧野印
(論文題目)			
Striated microfilament bundles attaching to the plasma membrane of cytoplasmic bridges connecting spermatogenic cells in the black snail, <i>Semisulcospira libertina</i> (Mollusca, Mesogastropoda)			
(論文審査結果の要旨)			
上記の論文に関して、その研究に至る背景と目的、研究の内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
動物では、不完全な細胞質分裂の結果生じた細胞質橋 (cytoplasmic bridge, CB と略称する) という細胞の連結装置が、造精細胞を連結している。このCBの中を同調シグナル分子が通過し、隣接する細胞に到達することによって、CBで連結された一群の細胞集団が同調的に分化し、多数の精子を供給するという考えは、一般的に受け入れられている。しかし、CBの持つ細胞学的な機能については不明な点が多く残されている。また、ヒト精巣でこのCBが機能不全を起こすと、大頭精子 (macrocephalic sperm) や多鞭毛精子が形成され、男性不妊が起こることが知られている。この様に、CBは細胞学的・生殖生物学的な課題だけではなく、男性不妊の治療と関連する課題を含んだ構造である。			
本研究に用いられた巻き貝カワニナのCBについては、本論文提出者らによって既に、1) CBの形質膜がコレステロールを欠く特異的な膜ドメインから成ることが明らかにされ、2) 形質膜のこの性質を利用してCBだけを分離し、分離したCBを立体的に観察する方法 (表面レプリカ法) が確立されている。単離したCBの表面レ			

ブリカ観察から、CB膜に接着する線維構造の存在が予測され、その様な構造を明らかにすることを目的に形態学的な検索を行った。その結果、CB形質膜に付着する新たな線維構造を見出し、その詳細を述べたのが本論文である。

2. 研究の内容

超薄切片法、およびF-アクチンを特異的に染色するファロイジン細胞化学などの方法を用いて、次のような観察結果を得た。1) カワニナ造精細胞のCB形質膜に付着する横紋を持った細胞内線維束を見出した。2) 線維束の膜への付着は横紋のレベルで起こっていた。3) 横紋の周期は約200nmであった。4) 線維束にはF-アクチンが含まれていた。5) 線維束は、精祖細胞、精母細胞、精子細胞のCBで観察され、観察頻度は3.9～5.6%であった。6) 二つのCBを連絡する線維束が観察された。

これらの観察に基づき、次のように考察した。1) この横紋線維束はCBの形の維持・調節や、CB間の距離の維持・調節など、CBが連結している細胞集団全体の形に関わる何らかの役割を持つ可能性がある。これらの役割と関連して、線維は収縮能を持つ可能性が高い。2) CBが同調シグナル分子だけでなく、小器官レベルの物質を通過させるとすれば、F-アクチンを含むこの横紋線維はV型ミオシンの様な小器官輸送モーターの通路として働く可能性がある。3) この横紋線維束は精子形成の特定の時期に出現することが推測される。4) この様な横紋線維束は、超微形態的にも、F-アクチンを含み横紋の繰り返しパターンを持つ細胞内線維としても、従来知られていない新しいものである。

3. 研究成果の意義と学術的水準

CB膜に付着する、従来知られていない新しい細胞内線維を記載し、その成分の一部を明らかにし、その機能を考察した本研究論文は、細胞学や生殖生物学に貢献する新しい情報を含んでいる。また、大頭精子・多鞭毛精子型男性不妊症の治療に貢献しうる展開が将来期待できる。これらの成果は国際的に評価できるものである。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
 - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。