

5) 生体組織の機能保持メカニズムの解明—軟体動物
表皮色素胞の運動能持続と ATP 合成活性の追跡—

研究代表者 加藤 早苗

【研究の背景と目的】

個体の死後においても末梢組織機能が持続する現象は、哺乳動物を含む多細胞生物に共通して見られる。本研究では末梢組織の細胞運動に着目してその死後変化を追跡し、運動能維持に効果的な組織保存条件を検討し、末梢組織における機能保持メカニズムを解明しようとして試みた。

軟体動物頭足類スルメイカ外套膜表皮に存在する色素胞は刺激に応答して拡大収縮運動をする。その一連の動きはコンマ数秒～数秒と速く(図1)、神経伝達物質を添加した溶液に浸漬することで制御可能で、膜処理など組織や細胞に負荷をかけるような特殊な方法の必要がないことから、研究材料として用いた。

これまで行ってきた基礎的研究により、外套膜表皮の色素胞運動を死後数十時間持続できる保存条件を見出している。本研究では、ATP 合成系の活性を追跡し、色素胞運動能持続性との関係を明らかにしようとした。

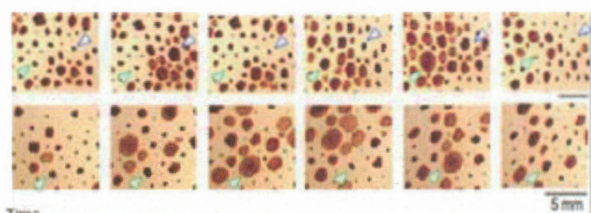


図1 スルメイカ外套膜表皮色素胞運動。各々の色素胞がコンマ数秒～数秒で拡大収縮している。△マークで示したのは同一の色素胞。

【研究方法】

神経切断により即殺したスルメイカ *Todarodes pacificus* の外套膜表皮を、海洋生物用リンゲル液に浸漬し、5℃で保存した。

浸漬保存液から経時的に取り出した外套膜および剥離表皮をリンゲル液で満たしたチャンパーに入れ、CCD カメラを搭載した実態顕微鏡下にセットし、色素胞運動を撮影し、画像解析した。運動刺激となるグルタミン酸(L-Glu)やGABAは各々リンゲル液に添加、pH7.0に調製してチャンパー溶液とし、これら薬剤に

対する反応性を検討した。

また、外套膜表皮のホモジェネートを調製・分画し、膜画分の呼吸鎖酵素活性を測定した。

【研究結果及び考察】

外套膜表皮をリンゲル液に浸漬保存したところ、保存36時間までは表皮色素胞は活発な拡大収縮運動が観察されたが、それ以降は動きが鈍化する傾向にあった。表皮中の呼吸鎖(電子伝達系)酵素のうち、特に complex I に焦点を絞って活性測定を行ったところ、保存30時間までは初期値と同レベルの活性を維持していたが、それ以降は活性低下する傾向にあった(図2)。この残存活性が40%を下回る表皮試料では運動能を保持した色素胞は2割に満たず、complex I の活性低下と運動能消失に相関があると考えられた。

次いで、神経伝達物質による色素胞運動誘発実験を行った。L-Glu を添加したチャンパー溶液に表皮試料を浸漬すると、色素胞は拡張し(図3A左)、表皮の有色面積(CI)が増加した。続いてL-Gluの代わりにGABAを添加したチャンパー溶液に浸漬したところ、L-Gluによって拡張した色素胞は収縮し、CIも低値に戻った(図3A右、3B)。一方、電子伝達系阻害剤に数時間浸漬してATPを枯渇させた表皮を試料として用いたところ、L-Gluによって色素胞は拡張するもの

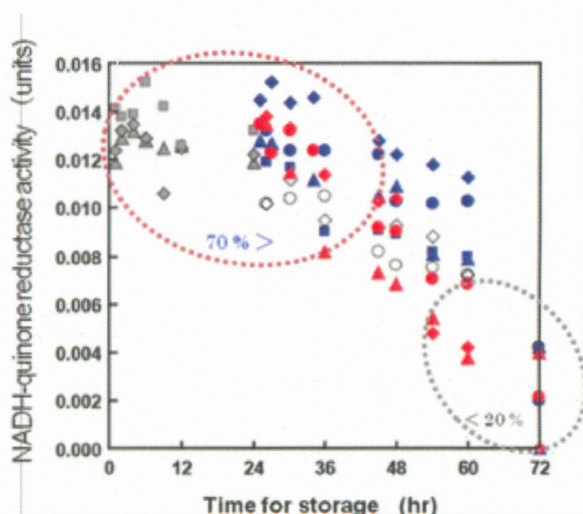


図2 表皮保存中の呼吸鎖酵素活性変化。赤点線で示した範囲の表皮試料においては70%以上の色素胞が運動能を持続し、一方グレー点線で示した範囲の試料においては20%以下の色素胞しか運動能を保持していなかった。

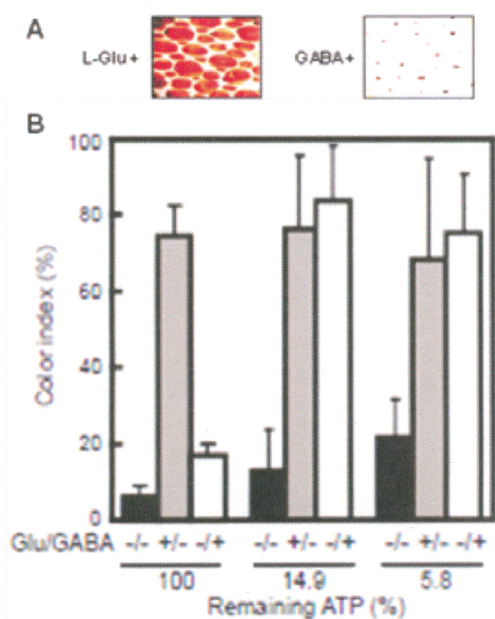


図3 表皮組織中のATP合成阻害が色素胞運動に及ぼす影響。

- A. 色素胞はL-Gluにより拡張し、GABAにより収縮した。
- B. 呼吸阻害剤添加によりATP量が低下した表皮の色素胞はL-Gluにより拡張するものの、GABAによる収縮は阻害された。

の、GABA溶液に浸漬しても拡張した色素胞が収縮することはなかった。

以上より、ATPは色素胞収縮に必須であると結論し、組織中のATPが枯渇すると拡大→収縮の運動ステップが阻害させるため、収縮の繰り返し運動が阻害されると結論した。

【謝 辞】

平成21年度 旭川医科大学独創性のある生命科学研究に採択して頂いたことに感謝致します。本研究の遂行に多大なる御協力を頂いた北海道立工業技術センター 研究開発部 木下 康宣 博士、吉岡 武也 博士に深謝致します。