

学位論文審査の結果の要旨

氏名	SUKUMAR CHANDRA NOSKOR
審査委員	<p>主査 松野 焯 (印)</p> <p>副査 秋吉 英雄 (印)</p> <p>副査 古賀 大三 (印)</p> <p>副査 猪原節之介 (印)</p> <p>副査 山野 好章 (印)</p>
題目	<p>A fundamental study on the “catch mechanism” of a sea cucumber body wall using the glycerinated model (グリセリンモデルを使用したナマコ体壁キャッチ機構の基礎的研究)</p>
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>本論文は、ナマコ体壁の結合組織の示す特異的な機能の解明を試みた意欲的な論文である。ナマコ体壁は大部分が結合組織で、結合組織は細胞外成分である膠原繊維やプロテオグリカンなどの糖蛋白質が複雑にからみ合ったネットワークで構成されている。このネットワークの間には神経細胞、神経分泌細胞、血管、筋肉などが分布している。このような形態のナマコ体壁は自由に硬さを変え、長時間にわたって硬い状態を保持することができ、この特異的な機能は結合組織の「キャッチ機構」として知られている。「キャッチ機構」に強い影響を与えるイオンは Ca^{2+} と K^{+} で、Ca^{2+} は体壁を硬くし、K^{+} は柔らかくすることが実験的に確かめられている。しかし、生の材料では神経細胞やその他の細胞の働きによって、外から与えたイオンが「キャッチ機構」を発揮する部位に直接に影響を与えるのかどうか判断することは困難である。</p> <p>このような現状から、本論文では 50%グリセリンで処理したナマコ体壁のグリセリンモデルがイオン環境によって硬さを変えるのかどうかを検討している。電子顕微鏡で観察すると、グリセリンモデルの微細構造は細胞外成分については生のサンプルと同様な構造を示したが、細胞成分はすべて破壊されていた。したがって、このモデルを使用すれば、外部から与えたイオンは細胞成分の影響を受けることなく、キャッチを起こすと考えられる細胞外成分に直接に影響を与えることができると考えられた。イオンの影響の検出には、特殊な計測装置を設計した。この装置は一定の加重で材料を伸長させながら、イオンの影響による伸長の度合いを検出する装置で、結果はペンレコーダーで記録した。サンプルが伸びやすくなるとペンレコーダーでのカーブは急激な下降を示し、伸びにくくなると水平に近いカーブとなる。</p> <p>生理的なテストで、グリセリンモデルのサンプルは 10mM 以上の濃度の EDTA 溶液では伸長を示した。そこで 10mM EDTA 溶液はこのサンプル内に残存している Ca^{2+} を除去するための最低の濃度のキレート剤溶液であると考えた。次に、このモデルに対する Ca^{2+} の影響について検討した。その結果、10mM CaCl_2 溶液中ではサンプルの伸長は止まり、1mM CaCl_2 溶液はサンプルの伸長を止めなかった。次に EDTA 溶液、CaCl_2 溶液で処理を加えたサンプルの膠原繊維束内の膠原繊維の分布密度を計測すると、1mM CaCl_2 溶液処理と 10mM CaCl_2 溶液処理のサンプルでは、ともに 10mM EDTA 溶液処理のサンプルと比べて約 1.7 倍の密度で膠原繊維が稠密に分布していた。結果として、①ナマコ体壁のグリセリンモデルでは外部から与えたイオンは直接に「キャッチ機構」の主要部位に作用する、②使用した計測装置はサンプルの柔軟度を正確に計測することができる、③10mM CaCl_2 溶液はナマコ体壁グリセリンモデルを硬くする、という結論を得た。</p>	

生きているナマコ体壁では、キャッチ状態を解除する機構が働いて、体壁は柔らかくなる。上記の実験では EDTA を Ca^{2+} のキレート剤として使用し、体壁グリセリンモデルを柔らかくすることができたが、ナマコの体内で EDTA が合成されるとは考えられず、他のイオンが Ca^{2+} と拮抗的に働いて体壁を柔らかくする機構が想像される。そこで、本論文の後半では、まず Na^{+} のナマコ体壁グリセリンモデルへの影響を調べた。人工海水でよく洗ったモデルのサンプルを $150\text{mM} \rightarrow 100\text{mM} \rightarrow 50\text{mM} \rightarrow 10\text{mM} \rightarrow 150\text{mM}$ NaCl 溶液で処理すると、 10mM NaCl 溶液はサンプルを伸長させなかったが、他の溶液は、ほぼ濃度に応じた伸長をさせた。したがって、ナマコ体壁グリセリンモデルは最低濃度 50mM NaCl で柔らかくなることが明らかとなった。また、これらのサンプルは 50mM NaCl 溶液で伸長、 10mM CaCl_2 溶液で伸長が止まり、つづいての 50mM NaCl 溶液で伸長した。この反応は、一見、 Na^{+} と Ca^{2+} が競合的にサンプルを柔らかくしたり、硬くしたりしているように見える。しかし、 Na^{+} と Ca^{2+} の共存下での Ca^{2+} の影響は微弱で、サンプルを硬くするには Na^{+} が積極的に減少する必要があるように思われる。今後の研究に期待する部分が多いが、グリセリンモデルが Na^{+} と Ca^{2+} のコントロールで柔らかくなったり硬くなったりすることは新しい知見であるといえる。

以上のように、本論文は生理学の面及び微細構造の面からナマコ体壁のキャッチ機構の解明を目指し、基本的な新知見を得ている。これらの新知見は海産動物の示す同様の機能解明の糸口となりうるものと評価され、博士（農学）の学位論文に値するものである事を認める。