

29【P2】Ⅲ-255

2光子励起法を用いた副腎髄質における促進的逐次開口放出機構の解析

○岸本 拓哉¹, 木村 良一², 劉 テイテイ¹, 河西 春郎¹(¹生理研,²弘前大学医)

【目的】神経や内分泌細胞におけるカルシウム依存性開口放出機構は、細胞内の深部にある分泌小胞が細胞膜への動員され、融合準備状態になってはじめて融合することができると考えられている。ところが、細胞深部にある小胞は従来の方法では可視化できなかった。そこで、2光子励起顕微鏡の深部到達性と同時多重染色性を生かした2次元蛍光相互関係法を用いて開口放出を可視化し、分泌小胞の融合様式と融合準備状態について検討を行った。

【方法】生体組織に近い状態の豚副腎髄質細胞の細胞塊を調整し、水溶性ポーラーレーサである Sulforhodamin B (SRB) を用いて分泌小胞の融合を2光子励起顕微鏡によって可視化した。また、分子の大きさが 10kDa (6nm)、70kDa (12nm)、500kDa (20nm) である蛍光標識 dextran と SRB を用いて、小胞の開口放出時に形成される融合細孔を通過可能な分子の大きさから、融合細孔の大きさを測定した。

【結果および考察】副腎髄質細胞において、細胞深部における小胞が頻繁に逐次開口放出を起こすことを明らかにした。この逐次開口放出においては、融合細孔が 20nm 以下に制御されており、小胞内のゲルが細胞外に出ることができず、小胞内でゲルが膨潤することによって、小胞の分泌が増強されていることがわかった。また、細胞表層部における開口放出と細胞深部における開口放出の融合速度が同じであったことから、細胞表層部と細胞深部における小胞は共に融合準備状態であると考えられた。このように、神経内分泌細胞では、逐次開口放出機構と融合細孔の制御により、細胞深部の小胞の動員を効率的に促進し、短時間に大量の分泌を可能にしていることがわかった。