

ID-29

抗破骨細胞モノクローン抗体による認識抗原の細胞内局在

長濱信一, 格谷義徳, 大橋弘嗣, 嶋崎昌義,
(大阪市立大学医学部 第二病理)
小川裕三, 八木俊雄
(大阪大学歯学部 口腔病理)

我々は、以前に、産卵期成鶏のmedullary boneを用いて、破骨細胞の特異的マーカーとして、モノクローン抗体を作製し得た。この抗体は破骨細胞のみに反応を示し、他の血球や網内系細胞とのcross-reactionは認められなかった。そこで、この抗体の認識する抗原の局在を知るため、電顕的検索を行った。抗破骨細胞抗体に対する反応性は、脱灰操作により損なわれるため、試料としてmedullary boneのstamp標本及び、分離破骨細胞を用いた。stamp標本は、風乾後、4%PFAを用いて5分間固定後、一次抗体とovernight incubateし、順次、peroxidase標識二次抗体と反応、DABにより発色、後固定、脱水、樹脂包埋した。一部は膜可溶化のため0.5%Triton X-100にて処理した。破骨細胞の分離はナイロンメッシュを用いた濾過法により行い、遠沈したpelletを一次抗体と4℃、3時間反応後、4%PFA, 0.1%グルタルアルデヒドにて固定し、その後は同様に、二次抗体と反応、発色、後固定、脱水、樹脂包埋した。

染色性は主に細胞膜上に認められ、それは特にruffled border周辺に集中しているようであった。また膜可溶化後の標本では、細胞内vesicleに染色性を認めた。

ID-30

開口分泌にともなう形質膜膜タンパクの動態

佐原紀行、鈴木和夫

(松本歯大・口腔解剖第2)

ラット耳下腺腺房細胞を分泌刺激し、開口分泌におけるluminal membraneの膜タンパク質の動態をDipeptidyl peptidase (DPP)IVをマーカーとして用い免疫電顕的に検討した。

分泌刺激前の腺細胞では、DPPIVはluminal membraneに特異的に局在し、顆粒膜には反応は認められなかった。しかし、分泌刺激後、luminal membraneに次々に融合開口した顆粒膜にはDPPIV陽性反応が出現した。分泌刺激後30分以上をすぎると、ほとんどの顆粒は放出され、腺腔は著しく拡張する。この時期には、DPPIVは拡張した腺腔を形成するluminal membraneに一様に分布していた。すべての顆粒が放出され、いわゆる余剰膜の処理過程時には、luminal membraneに多数のDPPIV陽性のpit, tubule状の構造物が観察された。また、細胞質内の様々な形態のtubule, vacuoleおよびlysosomeなどもDPPIV陽性であったが、Golgi槽には反応が認められなかった。

以上の結果より、開口分泌にともないある種の形質膜膜タンパクは、顆粒膜に移動し、余剰膜処理過程ではこれらの膜タンパクは顆粒膜とmixされた状態で細胞内に取り込まれ、一部はlysosomeにより水解され、一部は形質膜にもどり再利用される可能性が考えられた。