

IB-7

壁細胞における酸分泌と膜移行変化

津山 新一郎、前菌 理恵、村田 長芳

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科
細胞生物構造学

胃底腺壁細胞は腺峡部の細胞増殖帯で細胞分裂し腺の上方および下方の二方向に移動しながら分化する。その結果、胃小窩から胃底腺底部迄広く分布する。超微構造的には細胞内分泌細管と小管小胞を特徴とし、酸分泌の機能状態によりその形態を大きく変える細胞である。しかし、酸分泌機能は全体一様な分泌能を示すのではなく腺頸部付近の分泌能が高いとされている。顕微鏡的にプロトンポンプ H^+K^+ -ATPase を免疫染色してみると、腺全体の壁細胞が染まる。ところがエズリン、アクチン等に対し免疫染色を行なうとむしろ腺上部付近に陽性染色が多く見られる。そこで自由給食ないし絶食したラットおよび酸分泌促進剤あるいは抑制剤を投与したラットから急速凍結・凍結置換、パラフィン包埋試料を作製し、形態変化の観察とプロトンポンプ、エズリン、アクチンの変動等の比較観察を行なった。また電顕レベルでも高圧凍結・凍結置換、樹脂包埋したブロックから超薄切片を作製し、免疫染色の結果を比較検討した。

【材料・方法】ウイスター系ラットを自由給食と絶食またはヒスタミンないしシメチジンを投与、麻酔下に胃試料を採取した。顕微鏡的にはプロパン急速凍結、グルタルアルデヒドを含むアセトンで凍結置換、パラフィンブロックを作製した。電顕的には高圧凍結後、グルタルアルデヒドないしオスミウムを含むアセトンでそれぞれ凍結置換、Lowicryl K4M および Epon 樹脂ブロックを作製した。免疫組織化学染色はビオチン・ストレプトアビジン法、免疫金法により H^+K^+ -ATPase の抗 α および β サブユニット抗体、抗エズリン抗体、抗アクチン抗体、標識ファロイジン等により行なった。

【結果・検討】自由給食群と絶食群に各々シメチジンおよびヒスタミンを投与すると胃内腔の pH は 6.3, 1.2, 7.0, 1.4 となり胃底腺の生理状態を表していると思われた。 H^+K^+ -ATPase の抗 α および β サブユニット抗体染色では腺全域の壁細胞に強く、抗リン酸化エズリン抗体は腺上部の細胞に強い陽性を示した。電顕レベルのアクチンの分布は給食群で細胞内分泌細管膜下に強い反応が見られた。壁細胞の細胞間差、局在部位差が示唆された。ヒスタミン刺激では細胞内分泌細管は拡大、小管小胞は極度に減少し、細胞内分泌細管の微絨毛基部に 5 層膜構造等もみられた。シメチジン抑制では細胞内分泌細管は縮小、小管小胞が増大した。多胞小体も抗 H^+K^+ -ATPase 抗体染色で小体腔内の小胞に陽性を示した。刺激ないし抑制処理群における結果は生理的な給食と絶食状態ではあまり観察されず壁細胞の分泌膜相互移行の急激な応答像とも考えられた。

IB-8

凍結技法を応用したラット単離胃粘膜モデルにおける酸分泌回復期壁細胞の動態解析

澤口 朗¹⁾、青山典世^{1,2)}、菅沼龍夫¹⁾宮崎大学医学部¹⁾解剖学講座超微形態科学分野、²⁾内科学第一講座

【目的】胃底腺壁細胞は酸分泌刺激を受けると、プロトンポンプを有する細管小胞が頂上膜に移行して、著明な形態変化を呈することが知られている。しかし、酸分泌期から休止期へ移行する回復期壁細胞の実験モデルは少なく、その動態については不明な点が多い。我々は独自に開発した単離胃粘膜モデルを用いて、再現性の高い回復期壁細胞の実験モデル確立に成功し、回復期壁細胞の形態変化やプロトンポンプの局在変化を解析した。

【方法】24 時間絶食後のラットに 1 時間再摂食させて胃酸分泌を刺激した後、深麻酔下で PBS に続いて組織培養液を灌流後、摘出した胃を二枚刃で細長く切り出し、さらに一枚刃で 1.5-2.0 mm の長さの細切して単離胃粘膜を作製した。この単離胃粘膜をシメチジン (H_2 -blocker) 含有培養液中 (37°C) で 5 - 120 分間処理後、イソペンタン/プロパン凍結 (顕微鏡用) または高圧凍結 (電顕用) を施して観察試料を作製した。

【結果と考察】プロトンポンプの局在を免疫組織化学的に解析した結果、頂上膜付近に集積していた陽性反応が、回復期の時間経過とともに細胞内へ移行することが明らかとなった。電顕レベルでは、回復期 5 分後の壁細胞には発達した細胞内分泌細管がみられ、酸分泌時特有の形態が観察されたが、回復期 60 分後には微絨毛内のアクチン線維が解離し、細胞内分泌細管の内腔が膨化した微絨毛で埋めつくされる様子が観察された。さらに回復期 90 分後には抗プロトンポンプ抗体で標識される同心円状の膜構造が壁細胞内に観察され、回復期 120 分後には膜構造物を含んだ多数のライソゾームが観察されるなど、回復期におけるアクティブな膜取り込みとその処理を示唆する観察所見が得られた。このラット単離胃粘膜モデルでは副細胞や主細胞などの形態も良好に保たれており、胃粘膜研究の新たな実験モデルとしてのさらなる応用が期待される。