

Title	Electron Microscopic Identification of Histidine Decarboxylase Containing Endocrine Cells of the Rat Gastric Mucosa , An Immunohistochemical Analysis.
Author(s)	窪田, 博明
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37655
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"＞ 大阪大学の博士論文について ＜/a＞ をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	窪 田 博 明 (福岡県)
博士の専攻分野 の 名 称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 0 1 4 号
学位授与年月日	平成 4 年 2 月 4 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Electron Microscopic Identification of Histidine Decarboxylase Containing Endocrine Cells of the Rat Gastric Mucosa, An Immunohistochemical Analysis. (ラット胃粘膜におけるヒスチジン脱炭酸酵素含有細胞の電子顕微鏡による検索)
論文審査委員	(主査) 教 授 和田 博 (副査) 教 授 遠山 正弥 教 授 三木 直正

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

胃粘膜内での内因性ヒスタミンは、主として非肥満細胞に由来し胃液分泌に重要な役割を成していることが多くの研究により示唆された。胃粘膜におけるヒスタミンの局在は o-phthalaldehyde (OPA) やオートラジオグラフ法を用いた組織学的手法によっても報告され、さらに密度勾配による細胞分離法による同定により Enterochromaffin like cell (ECL細胞) がヒスタミンを含有しているのではないかと推測された。

しかしながら、OPAを用いた方法ではその特異性に問題があり、さらに電顕による検討が不可能であること、また放射性標識では細胞内での識別が不明瞭であることなどからヒスタミンあるいはその合成酵素の胃粘膜固有層における細胞内局在を直接的に証明されていなかった。

そこで、胃粘膜におけるヒスタミン含有細胞の局在を、ヒスタミンの合成酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) を精製し、その抗体を作成し免疫組織学的手法を用いることにより同定した。

〔方法ならびに成績〕

- 1) HDCの精製；妊娠18～20日のラット胎児肝臓よりHDCを約3,000倍に精製し、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動でほぼ単一の標品を得た。
- 2) 抗HDC抗体の作成；100 µgの精製HDCをAdjuvant peptide, Freund's complete adjuvantおよび Freund's incomplete adjuvant を用いて家兎に免疫し、得られた血清よりIgG分画を調整して抗HDC抗体を得た。この抗体は、Ouchterlonyの二重拡散沈降法で、ラット胎児肝臓、胃、脳の

HDCと一本の同一沈降線を形成し、抗体による三種HDCの活性阻害曲線は、相同で1 pmole /minのHDC活性を50%阻害するのに必要なIgGの蛋白量は約10 μgであった。またこの抗体は、ラット各臓器のドーパ脱炭酸酵素の活性を阻害しなかった。

3) 光学顕微鏡による検索；Zamboni 固定液にて還流固定を行ったラット胃粘膜組織の凍結切片を用いペルオキシダーゼ抗ペルオキシダーゼ（PAP）法にて免疫組織学的検討を行った。その結果、胃粘膜胃底腺領域の胃固有腺の基底部位に抗HDC抗体免疫反応細胞が認められ、他の胃固有腺の部位や幽門部、噴門部には認められなかった。免疫反応細胞は、隣接した主細胞より小さく好銀性であった。

4) 電子顕微鏡による検索；免疫学的電子顕微鏡標本作成にあたっては、Somogyiらの方法に従い固定したラット胃粘膜の薄切切片を用いPAP法にて免疫染色を行い、ジアミノベンチジンで発色させた後OsO₄で処置し免疫学的電子顕微鏡検索を行った。

その結果、抗HDC抗体免疫反応細胞はその微細構造からECL細胞と同定された。また、主細胞やA細胞では抗体反応物質が認められなかった。

さらにこの抗体反応物質はECL細胞の細胞質に拡散して分布し、更にリボゾームや小胞体および分泌小胞の膜表面にも観察され、抗HDC抗体陽性ECL細胞は分泌腺の基底膜と密接なつながりを持つことが示唆された。

〔総括〕

ラット胎児肝臓よりヒスチジン脱炭酸酵素を精製し、抗HDC抗体を作成してラット胃の抗HDC抗体免疫反応細胞を検索した。胃粘膜内でのヒスタミンは胃粘膜胃底腺領域の腺底部のECL細胞で合成されることが明確になり、さらに微細構造に関する検索知見は酸分泌におけるヒスタミン含有細胞の機能的役割との関連性を示唆するものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、胃酸分泌に重要な役割を果している内因性ヒスタミンが、胃粘膜のいかなる部位に存在しているかを調べる目的で行なわれた。まずヒスタミンの生合成酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素（HDC）の精製を行ない、その特異的抗体を作成した。次に、その抗体を用い免疫組織学的方法（光学顕微鏡、電子顕微鏡検索）によりHDCが胃粘膜胃底腺領域の腺胃部のECL細胞に局在することを明らかとした。また、その微細構造に関する知見から生成されたヒスタミンは、分泌顆粒に貯蔵され分泌腺に分泌されたり、あるいは胃粘膜固有層に放出したりして、胃液分泌に重要な役割を果すことが示唆された。

本研究は、胃におけるヒスタミンの機能の解明上、基礎となる研究であり、学位論文に値するものである。