

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21790185

研究課題名(和文)胃底腺壁細胞における胃酸分泌反復機構の解明をめざした細胞膜動態研究

研究課題名(英文) Morphological study on the cell membrane kinetics in gastric parietal cells associated with gastric acid secretion.

研究代表者

澤口 朗 (SAWAGUCHI AKIRA)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：30336292

研究成果の概要(和文): 胃酸分泌に与る胃底腺壁細胞が生理的条件の変化に応じて示す著明な膜動態と形態変化の解明は胃粘膜傷害の予防や治療に繋がるものと期待されている。本研究では独自に開発した実験モデルをもとに、詳細な超微形態観察と免疫組織化学的検索を実施した結果、オ-トファゴソーム形成に与る特異蛋白である LC3 陽性の多重膜構造が酸分泌後復帰過程にある壁細胞に多数観察され、酸分泌の役目を終えたプロトンポンプの回収・処理にオ-トファジーが関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文): To elucidate a functional transformation of gastric parietal cells, we have newly developed an isolated rat gastric mucosa model whose parietal cells exhibited a reverting process from the active to resting state of acid secretion. Immunohistochemistry of H⁺/K⁺-ATPase demonstrated a progressive translocation of H⁺/K⁺-ATPase from the apical to the cytoplasmic region. In the reverting process, the apical membranes were internalized into the cytoplasm forming unique penta-laminar membranes which were labeled for autophagosome-marker LC3. This finding suggested an association of autophagy with the reverting process in the gastric parietal cell.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：解剖学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般(含 組織学・発生学)

キーワード：高圧凍結技法、胃底腺、超微形態、壁細胞、プロトンポンプ、単離胃粘膜、回復期

1. 研究開始当初の背景

胃酸分泌に与る胃底腺壁細胞は、摂食後の酸分泌状態と食間の休止状態を繰り返すが、こ

のうち休止状態から酸分泌状態へ移行する「酸分泌刺激時」の壁細胞動態については、1980年代の初代培養壁細胞や単離胃底腺な

どの実験モデル確立以来、数多くの知見が集められてきた。一方、酸分泌状態から休止状態へ移行する「酸分泌後回復過程」の壁細胞動態は再現性の高い実験モデルがなく不明な点が多く残されていた。

2. 研究の目的

本研究は「摂食後の酸分泌状態から休止状態に戻る胃底腺壁細胞が細胞膜とそれに付随するプロトンポンプをいかにして更新するか」という未解明かつ重要な課題の全容解明を目的とする。

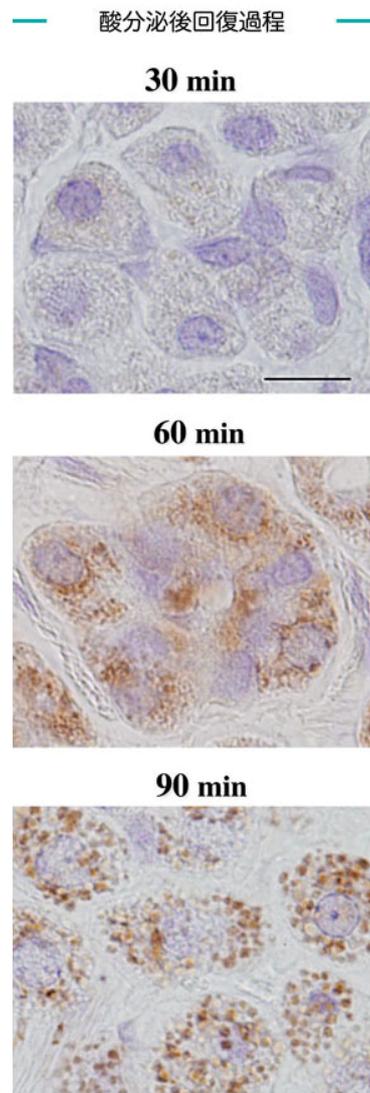
3. 研究の方法

独自に開発したラット単離胃粘膜「酸分泌後回復過程」モデルを実験材料とし、微細形態や生体内物質の保持に優れる高圧凍結技法による試料作製とそれに続く透過型・走査型電子顕微鏡観察によって、本研究の基盤となる多重膜構造の形成過程をはじめとする細胞膜動態を超微形態学的に明らかにする。さらにモノクロナール抗体を用いた免疫組織化学的解析や生化学的解析によって細胞膜動態に関連する蛋白発現の有無を明らかにする。

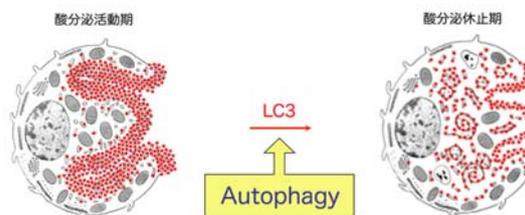
4. 研究成果

ラット単離胃粘膜「酸分泌後回復過程」実験モデルをもとに詳細な超微形態観察と免疫組織化学的検索を実施した結果、オートファゴソーム形成に与る特異蛋白である LC3 陽性の多重膜構造が酸分泌後回復過程にある壁細胞に多数観察され(図1)、酸分泌の役目

を終えたプロトンポンプの処理にオートファジーが関与することが示唆された(図2)。



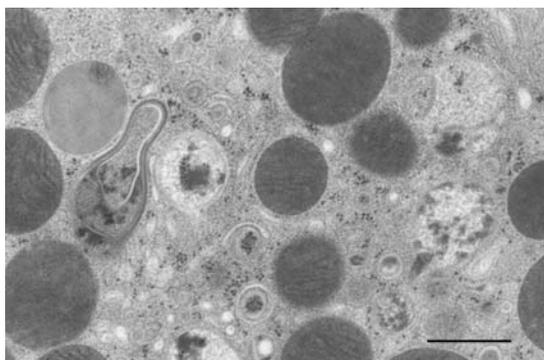
< 図1. 抗 LC3 免疫組織化学 >



< 図2. オートファジーによる膜回収仮説 >

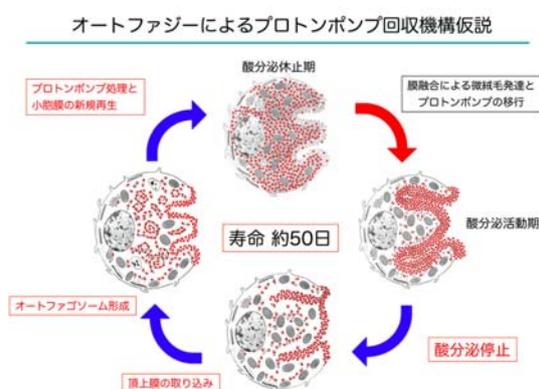
また回復過程の進行に伴う細胞膜動態の

定量化を目的とした画像解析を実施した結果、1)活動期から休止期に移行するにつれて頂上膜が著減する、2)細胞内に取り込んだ頂上膜を処理するエンドソーム/ライソゾームや Multivesicular body が増加する(図3)



<図3. 酸分泌後回復期 105 分後の壁細胞 >

3)プロトンポンプを有する細管小胞が貯留して次の酸分泌に備える、といった経過が定量形態学的に明らかとなった。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

1. Aoyama, F., Sawaguchi, A.: Functional transformation of gastric parietal cells and intracellular trafficking of ion channels/transporters in the apical

canalicular membrane associated with acid secretion. 査読有

Biol Pharm Bull, in press

2. 澤口 朗、豊嶋 典世: 高压凍結技法による胃粘膜の超微形態研究 査読無
顕微鏡 45(2): 130-132 (2010)

[学会発表](計5件)

1. Sawaguchi, A.: Exfoliation of parietal cells at gastric pits associated with acid secretion in vitro
The 36th International Congress of Physiological Sciences, 2009年7月27日 Kyoto, Japan

2. 澤口 朗、豊嶋典世: 高压凍結技法の基礎とIn vitro病態解析
第41回日本臨床分子形態学会学術集会、2009年9月4日 神戸

3. 豊嶋典世、井手惣幸、澤口 朗: ラット消化管におけるゴーヤ種子由来レクチン結合部位に関する組織化学的研究
第65回日本解剖学会九州支部学術集会、2009年11月7日 沖縄

4. 澤口 朗、豊嶋典世: 凍結技法の優れた形態保持による胃酸分泌膜動態に関する機能形態学的研究
第115回日本解剖学会全国学術集会、2010年3月29日 盛岡

5. Sawaguchi, A., Toyoshima, F.: Morphometrical analysis of ultrastructural transformation in gastric parietal cells reverting from the active to the resting state processed by high-pressure freezing.

Annual Meeting of American Association
of Anatomists at Experimental Biology
2010. 2010年4月26日 Anaheim, USA

(2)研究分担者

〔図書〕(計1件)

1. Sawaguchi, A.: Immunoelectron
microscopy of cryofixed freeze
substituted mammalian tissue culture
cells. In. Immuno-electron Microscopy:
Methods and Protocols.
Methods in Molecular Biology.
657: 181-190, 2010
Ed. Steven D. Schwartzbach and Tetsuaki
Osafune.

研究者番号:

(3)連携研究者

研究者番号:

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

澤口 朗 (SAWAGUCHI AKIRA)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号: 30336292