

氏名(本籍)	長田 健 (滋賀県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士(論文)第296号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成14年6月5日
学位論文題目	Intracellular localization of serotonin in mast cells of the colon in normal and colitis rats (健常ラットと結腸炎ラットの結腸における肥満細胞のセロトニン細胞内局在)

審査委員	主査 教授	遠山 育夫
	副査 教授	竹内 義博
	副査 教授	岡部 英俊

論文内容要旨

【目的】

粘膜型及び結合組織型肥満細胞におけるセロトニンの細胞内局在を、炎症状態及び健常状態において観察する。

【方法】

健常なウイスターラット及びデキストラン硫酸塩(DSS)によって腸炎を惹起したウイスターラットの結腸を採取し、免疫組織化学法を用いてDAB反応によってセロトニン(5-HT)を染色した。染色された肥満細胞を含む腸管粘膜固有層及び粘膜下層の一部を採取し、post-embeddingイムノゴールド反応によって5-HTと反応させた。電子顕微鏡下に5-HTの肥満細胞内局在を観察した。コンピューターによる画像解析ソフトウェア(NIH-image 1.62t)を用いて、細胞質及び分泌顆粒の面積を測定し、細胞質及び分泌顆粒における単位面積当たりの5-HT抗体陽性の金コロイドの数を測定し、健常状態及び炎症状態で比較した。

【結果】

健常状態の粘膜型肥満細胞では円形で電子密度の様に高い分泌顆粒を認めた。炎症状態では電子密度にばらつきがみられ、空胞化したものも認められた。5-HT局在を示す金コロイドは、健常状態、炎症状態ともに細胞質には少なく、分泌顆粒に多く分布していた。その密度は、分泌顆粒においては有意に炎症状態の方が高かったが、細胞質においては健常状態と炎症状態の間で有意差は認められなかった。

健常状態の結合組織型肥満細胞では電子密度の低い卵型の分泌顆粒を認めた。炎症状態では電子密度の高い円形の分泌顆粒を認めた。健常状態では金コロイドは細胞全体に分布し、特に分泌顆粒に多く分布するという事はなかった。炎症状態においては細胞質にも多く金コロイドが分布していたが、分泌顆粒上により多くの金コロイドが集中していた。金コロイドの密度は、粘膜型と同様、分泌顆粒においては有意に炎症状態の方が高かったが、細胞質においては有意差は認められなかった。

【考察】

本研究の結果、健常状態及び炎症状態での粘膜型及び結合組織型肥満細胞における5-HTの細胞内局在が明らかになった。5-HTの細胞内局在は両者の間で違いがあった。すなわち、健常ラットの粘膜型肥満細胞では、5-HT陽性のコロイド粒子は主に分泌顆粒に認められたのに対し、結合組織型肥満細胞では、分泌顆粒よりも細胞質に多く認められた。炎症ラットでは、分泌顆粒におけるコロイド粒子密度

が粘膜型・結合組織型肥満細胞ともに、健常群に比べ有意に増加した。

分泌顆粒上に金コロイドの増加を認めた理由としては、以下の三つの可能性が考えられる；1)5-HT生産の増加 2)5-HT放出の減少 3)5-HT取り込みの増加。今回の実験と同様に処理したラットの結腸において、炎症状態では粘膜及び粘膜下層に含有される5-HT量の著明な増加を認めたことから、この三つの中では、5-HT生産の増加が最も考えられるが、他の2つの可能性も否定できない。

炎症状態では、粘膜型及び結合組織型肥満細胞の間で、形態学的特徴と5-HT細胞内局在に大きな違いを認めた。粘膜型肥満細胞では、炎症状態では空胞化し分泌顆粒が増加したが、5-HTの細胞内局在には、健常状態のものと同様に細胞質に少なく分泌顆粒に多く存在していた。一方、結合組織型肥満細胞では、分泌顆粒のみならず、細胞質にも5-HTが局在していた。炎症状態では電子密度の高い分泌顆粒が増加し、健常状態のものとは違って、分泌顆粒上に著明な5-HTの分布が見られた。この違いは、5-HTの分泌様式の違いを反映している可能性がある。結合組織型肥満細胞において、細胞質にも多くの5-HTの分布が見られることから、分泌顆粒に貯蔵されている5-HTは一旦細胞質に放出されてから、透出分泌によって細胞から分泌されるのかもしれない。

脱顆粒を伴わない5-HTの肥満細胞からの放出は遅延型過敏反応においても認められている。5-HTは毛細血管の内皮細胞に働き、マクロファージの血管から組織への浸潤を促す。今回の研究における結腸炎においても、5-HTは血管内皮の透過性を高め、炎症細胞の遊走を促す役割を担っていたかもしれない。

更に、今回の研究において、核の上にも5-HTの分布が見られた。エンテロクロマフィン細胞においても同様の報告があるが、これは、一旦細胞質に放出された5-HTが、核膜孔を通して核内へ拡散したからかもしれない。

【結論】

今回の研究では、粘膜型及び結合組織型肥満細胞における、炎症状態及び健常状態での5-HTの細胞内局在の違いを示した。粘膜型肥満細胞においては5-HTは分泌顆粒内に集中しているのに対して、結合組織型肥満細胞においては、細胞全体に分布していた。このように5-HTの細胞内局在に差があるのは、粘膜型及び結合組織型肥満細胞がそれぞれ違った様式で5-HTを放出しているからかもしれない。すなわち、粘膜型肥満細胞は脱顆粒によって5-HTを分泌するのに対し、結合組織型肥満細胞は透出分泌によって分泌するのかもしれない。

論文審査の結果の要旨

近年、皮膚のアレルギー反応の誘発に肥満細胞が分泌するセロトニンが重要な働きをすることが指摘されている。これまで肥満細胞におけるヒスタミンについてはよく研究されてきたが、セロトニンについては、その細胞内局在を含めて詳細は不明である。本研究は、肥満細胞が豊富に存在する腸管に注目し、健常および結腸炎ラット結腸におけるセロトニンの肥満細胞内局在を電子顕微鏡で検討したものである。その結果、

- 1) 健常ラットの粘膜型肥満細胞では、セロトニン抗体陽性のコロイド粒子は主に分泌顆粒に認められたのに対し、結合組織型肥満細胞では、分泌顆粒よりも細胞質のほうに多く認められた。
- 2) 分泌顆粒におけるコロイド粒子密度は、粘膜型・結合組織型肥満細胞ともに、健常群に比べて炎症群で有意に高かった。

本研究は肥満細胞におけるセロトニン細胞内局在を電子顕微鏡下に初めて明らかにしたものであり、博士（医学）の学位授与に値するものと認める。

なお、本学位申請者は平成14年5月23日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。