

ウシにおける分泌型炭酸脱水酵素 (CA-VI) の 組織局在について

Immunohistolocalization of the secretory carbonic anhydrase isozyme (CA-VI) in cattles.

浅利昌男

獣医学部

Masao Asari

School of Veterinary Medicine

Abstract. In the present study, I firstly demonstrated immunohistochemical expressions of secretory carbonic anhydrase (CA-VI) isozyme in bovine tissues, such as forestomach (rumen reticulum, omasum and abomasum), small and large intestine liver, pancreas and major salivary glands. In this study, CA-VI was detected in basal layer epithelial cells of esophageal and forestomach stratified epithelium, in mucous cells of upper glandular region of large intestine, in serous acinar cells of the parotid gland, in serous demilune cells and some ductal liner cells of mandibular, monostomatic sublingual and esophageal glands. These immunohistolocalizations suggested that bovine CA-VI plays various roles in pH regulation, maintenance of ion and fluid balance in the lumen, and cell proliferation in the alimentary tract.

【目的】

CA-VIは、炭酸脱水酵素アイソザイムの中で唯一の分泌型CAであり、唾液に存在するアイソザイムとして羊の耳下腺および唾液から分離された (Fernley et al., 1979)。その後CA-VIは、ラット (Feldstein and Silverman, 1984; Ogawa et al., 1992)、ヒト (Kadoya et al., 1987; Murakami and Sly, 1987; Parkkila et al., 1990; Ogawa et al., 1993)、ウシ (Asari et al., 2000) の唾液からも分離されている。洪 (1992)、Ogawa (1992) らによるラット、ヒトの唾液腺における電顕免疫組織化学的研究の結果、CA-VIは漿液腺細胞の分泌顆粒と細胞質基質および導管内容物中に局在することが明らかにされた。唾液腺でのCA-VIの生理的な役割は明らかではないが、唾液中の重炭酸塩の量の維持に特別な役割を果たしていると考え

えられている。

CAはアイソザイムの違いにより生体内の分布に差異が認められるが、種々のアイソザイムが臓器・組織のどの部位に存在するかということが、その機能の解明への重要な情報になると考えられる。

本研究は、CA-VIに関して唾液腺以外の消化器系器官についても注目し、ウシのCA-VIに対する特異抗血清を用いて、消化器系器官におけるCA-VIの局在を免疫組織化学的に検討したものである。

【方法】

〔材料〕

6頭の健康な牛から耳下腺、下顎腺、舌下腺、食道前庭、第一胃、第二胃、第三胃、第四胃 (胃底腺部、幽門腺部)、十二指腸 (近位、遠位)、空腸、回腸、盲腸、結腸ラセンワナ、直腸、肝臓、脾臓およ

び舌（有郭乳頭・エブネル腺）を各々3個体分採取した。

〔方法〕

採取した組織は直ちにブアン液で浸漬固定した後、常法通りパラフィン包埋し、3 μ mの組織切片を作製した。得られた組織切片に対し、HE染色と免疫組織化学的染色（間接法）を行った。

〔抗血清〕

本実験で用いた抗ウシCA-VI抗血清は、麻布大学獣医学部、西田利穂先生より提供を受けた。

【結果と考察】

耳下腺：腺房細胞（漿液性）が陽性。

下顎腺：漿液性半月が陽性。

線条導管上皮，小葉間導管上皮は陽性（heterogeneity）。

舌下腺：下顎腺と同様。

食道前庭：粘膜上皮と筋層が陽性。

特に粘膜上皮は基底側が好染。

食道腺の漿液性半月は弱い陽性（個体差あり）。

食道腺の導管上皮は漿液性半月が陽性を示した個体においてのみ陽性。

第一胃：粘膜上皮と筋層が陽性。

特に粘膜上皮は基底側が好染。

第二胃：粘膜上皮は陽性（特に基底側が好染）。

筋層は陽性を示した個体と陰性を示した個体あり。

第三胃：第一胃と同様。

第四胃

胃底腺部：表面上皮細胞，主細胞，壁細胞，筋層は陽性。

幽門腺部：表面上皮細胞，粘膜筋板，筋層は陽性。

十二指腸

近位：吸収上皮細胞，粘膜筋板，筋層が陽性。

十二指腸腺は個体によって部分的に陽性。

遠位：吸収上皮細胞と十二指腸腺は陽性（個体差あり）。

粘膜筋板，筋層は部分的に陽性。

空腸：吸収上皮細胞は個体によってわずかに陽性。

筋層は陽性。

回腸：吸収上皮細胞は陽性（個体差あり）。

粘膜筋板，筋層は陽性。

盲腸：吸収上皮細胞，粘膜筋板，筋層は陽性。

結腸ラセンワナ：盲腸と同様。

肝臓：小葉間胆管上皮が陽性。

膵臓：内分泌部，外分泌部ともに陰性。

舌（有郭乳頭）：粘膜上皮（特に基底側が好染），筋層は陽性。

エブネル腺の腺房細胞（漿液性）は弱い陽性（個体差あり）。

エブネル腺の導管上皮は腺房細胞が陽性を示した個体においてのみ陽性。

今回の結果から唾液腺において見られたCA-VIは漿液性細胞中の酵素原顆粒に局在し，口腔内や胃内のpHを調節する緩衝用酵素として機能していると思われた。また，導管上皮細胞からもCA-VIは分泌され，導管を通過する腺終末部分分泌物に対するイオン交換や物質の吸収や分泌といった働きも行っていることが推測される。食道前庭部の粘膜上皮では，管腔内の緩衝作用に関与している。

食道前庭部の粘膜上皮や第一胃，第二胃，第三胃の重層扁平上皮に見られたCA-VIは，重炭酸イオンを供給することにより，食道内および胃内pHを維持に関与していることが想像される。一方，第四胃では，表面上皮細胞から粘液とともに高濃度の重炭酸イオンを含む漿液を分泌し，胃粘膜表面の保護および壁細胞内で水分子を分解して水素イオンを細胞外に供給することで，塩酸産生の過程に関与していることが示唆される。大腸の吸収上皮細胞では，揮発性脂肪酸の産生により低下する管腔内のpHを維持するために必要な重炭酸イオンを供給している一方で，電解質の吸収にも関与していることが伺われる。

従来，唾液腺や乳腺などの外分泌腺などに特異的に存在すると思われていた分泌型炭酸脱水酵素は，今回のウシの消化器系組織におけるCA-VIの検索では，唾液腺から前胃や結腸粘膜上皮までは幅広い局在が確かめられた。これらのことからCA-VIはウシの消化器系器官では広く存在し，消化や吸収機能に関わる管腔内環境の維持に大きな役割を果たしていると考えられた。

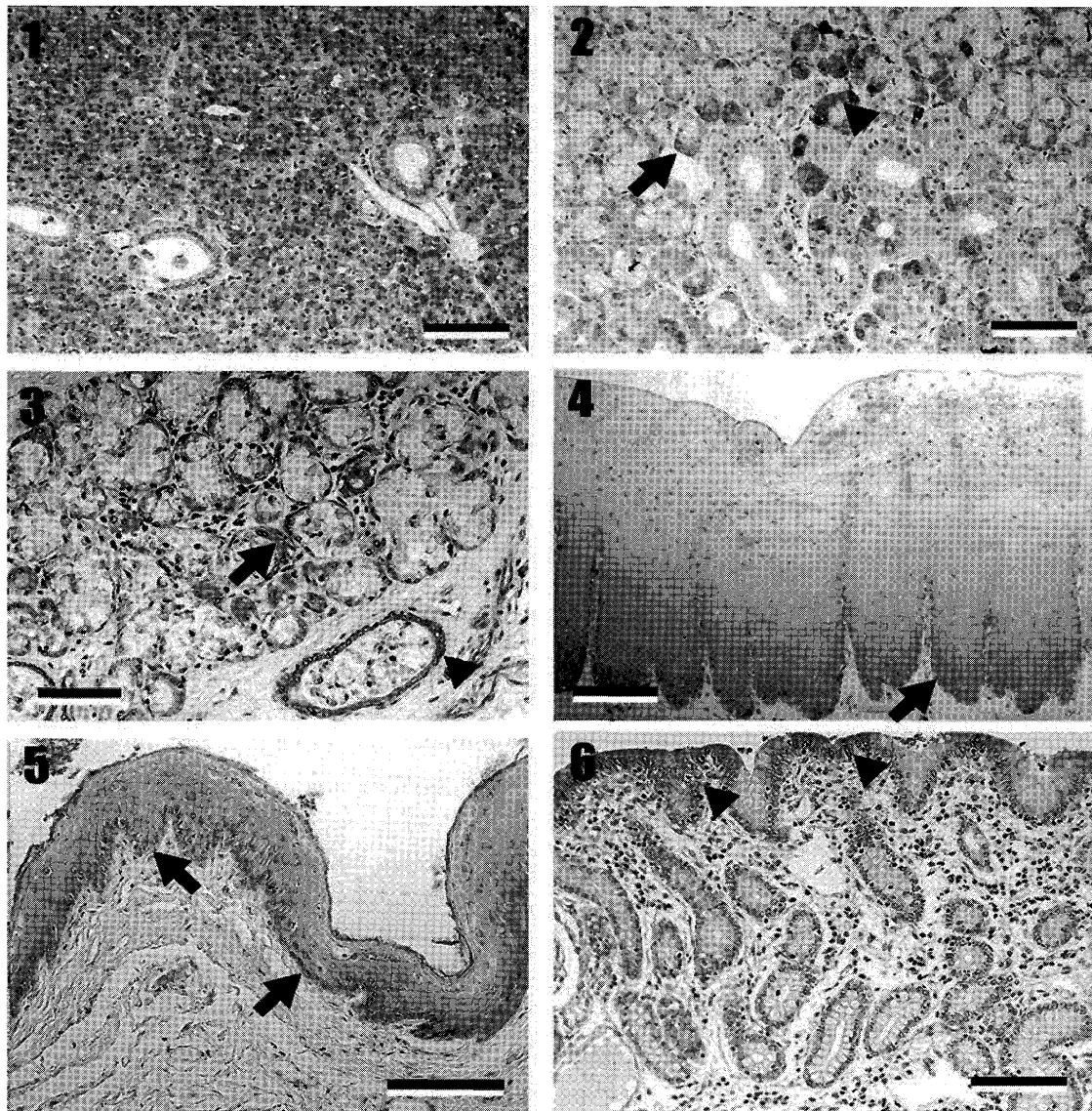


Fig.1. Immunoreactivity to the anti-bovine CA-VI antibody in the parotid glands. CA-VI was detected at the serous acinar cells. Bar: 50 μ m.

Fig.2. Immunoreactivity to the anti-bovine CA-VI antibody in the mandibular glands. The serous demilune cells (arrow) and some heterogeneous immunopositive patterned cells of duct (arrowhead) were positive to the anti-bovine CA-VI antibody. Bar: 50 μ m.

Fig.3. Immunoreactivity to the anti-bovine CA-VI antibody in the esophagus. CA-VI was detected at the serous demilune cells (arrow) and the ductal epithelial cells (arrowhead) of the esophageal glands. Bar: 100 μ m.

Fig.4. Immunoreactivity to the anti-bovine CA-VI antibody in the esophagus. Arrow shows that the anti-bovine CA-VI was detected at the stratified squamous epithelial cells at the lower region of the esophageal epithelium. Bar: 100 μ m.

Fig.5. Immunoreactivity to the anti-bovine CA-VI antibody in the rumen. Arrows show that the anti-bovine CA-VI was detected at the stratified squamous epithelial cells at the lower region of the ruminal epithelium. Bar: 100 μ m.

Fig.6. Immunoreactivity to the anti-bovine CA-VI antibody in the colon. Arrowheads show that the epithelial cells at the upper region of the colon were indicated strong positive immunoreactions against the anti-bovine CA-VI antibody. Bar: 100 μ m.

【要約】

ウシの消化器官における分泌型炭酸脱水酵素 (CA-VI) の組織局在を明らかにする目的で、抗ウシ CA-VI 血清を用いて消化器官各部組織について免疫組織化学的手法により調べた。その結果 CA-VI は食道粘膜上皮および前胃部粘膜上皮の重層扁平上皮の基底細胞、大腸各部の腸腺上部上皮、耳下腺漿液細胞、下顎腺の漿液性半月細胞と導管系上皮、単孔舌下腺および食道腺上皮細胞にその存在を示す免疫反応が見られた。これらの免疫組織化学的組織局在の結果はウシでは CA-VI は例えば、口腔、食道腔を初めとする消化管腔などの消化管領域での、pH 調節、イオンや体液のイオンバランスの維持、あるいは細胞増殖における調節作用の役割を果たしていると考えられた。

【参考文献】

- Asari, M., K. Miura, N. Ichihara, T. Nishita and H. Amasaki 2000: Distribution of carbonic anhydrase isozyme VI in the developing bovine parotid gland. *Cells Tissues Organs* 167, 18-24.
- Feldstein, J. B. and D. N. Silverman 1984: Purification and characterization of carbonic anhydrase from the saliva of the rat. *J. Biol. Chem.* 259, 5447-5453.
- Fernley, R. T., R. D. Wright and J. P. Coghlan 1979: A novel carbonic anhydrase from the ovine parotid gland. *FEBS Lett.* 105, 299-302.
- Kadoya, Y. T., H. Kuwahara, M. Shimazaki, Y. Ogawa and T. Yagi 1987: Isolation of a novel carbonic anhydrase from human saliva and immunohistochemical demonstration of its related isozymes in salivary gland. *Osaka City Med. J.* 33, 99-109.
- 洪 性修 (1992) 炭酸脱水酵素アイソザイム VI および II のヒト唾液腺における免疫組織化学的研究: 阪大歯学雑誌, 37(2), 457-474
- Murakami, H. and W. S. Sly 1987: Purification and characterization of human salivary carbonic anhydrase. *J. Biol. Chem.* 262, 1382-1388.
- Ogawa, Y., C.-K. Chang, H. Murakami, S.-S. Hong, S. Toyosawa and T. Yagi 1992: Immunoelectron microscopy of carbonic anhydrase isozyme VI in rat submandibular gland: Comparison with isozymes I and II. *J. Histochem. Cytochem.* 40, 807-817.
- Ogawa, Y., S.-S. Hong, S. Toyosawa, H. Kuwahara, M. Shimazaki and T. Yagi 1993: Immunoelectron microscopy of carbonic anhydrase isozyme VI in human submandibular gland: Comparison with isozymes I and II. *J. Histochem. Cytochem.* 41, 343-351.
- Parkkila, S., K. Kaunisto, L. Rajaniemi, T. Kumpulainen, K. Jokinen and H. Rajaniemi 1990: Immunohistochemical localization of carbonic anhydrase isozymes VI, II, and I in human parotid and submandibular glands. *J. Histochem. Cytochem.* 38, 941-947.