

学位研究紹介

破骨細胞のゴルジ体に関する微細構造学的・細胞化学的研究

Ultrastructural and Cytochemical Study of Golgi Apparatus of Osteoclast.

新潟大学歯科部口腔外科学第一講座
泉 直也

First Department of Oral and maxillofacial surgery, Niigata University, School of Dentistry

Naoya Izumi

破骨細胞は、小胞体、ゴルジ体をへて形成された骨基質分解酵素を小胞輸送により特殊に分化した波状縁から分泌し、骨基質を分解、吸収する細胞で、骨吸収の中心的役割を果たしている。この様な破骨細胞の骨吸収機能は、小胞輸送関連タンパク質や細胞骨格などの相互作用により営まれていることが推測される。しかしながら、破骨細胞の細胞内小胞輸送機構に関して形態学的に明確に示した報告は乏しく、本質的には未だ未解決のままである。本研究は、破骨細胞の細胞内小胞輸送機構を解明する一環として、その中心的役割を果たすゴルジ体に着目し、その形態変化が骨吸収機能に及ぼす影響を骨形成細胞である骨芽細胞と比較することにより微細構造学的、細胞化学的に解析した。

材料として、3週齢のウィスター系雄ラットの脛骨を用いた。粗面小胞体からゴルジ体への輸送を阻害するブレフェルジン A(BFA) (2 mg/kg), およびライソゾームへの選別など種々の膜輸送の調節に関わっているホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (PI3-キナーゼ) の特異的阻害剤であるワートマニン (WT) (0.1mg/kg) を頸静脈より静注し、30分後に屠殺した。固定、脱灰後、樹脂に包埋し脛骨の破骨細胞と骨芽細胞の微細構造の変化を観察した。また、ラットゴルジ関連364kD タンパク (GCP364)をゴルジ体のマーカーとして用い、その局在変化を免疫細胞化学的に観察した。さらに、酸性ホスファターゼ (ACPase) 活性の局在変化を酵素細胞化学的に検索し、波状縁の形態変化とゴルジ体との関係については、波状縁の膜を認識するピーナッツアグリチニン (PNA) を用いたレクチン細胞化学的観察により検討した。

対照群の破骨細胞を電顕にて観察すると、骨基質に面して良く発達した波状縁が認められ、ゴルジ体は核周囲を取り囲んで局在していた。ゴルジ体と波状縁の間には小胞やしばしば不定形の内容物を含んだ、大小さまざま

の空胞が観察された。PNA 反応は波状縁および付近の空胞にその局在が認められた。GCP364の免疫反応は、核周囲をリング状に取り巻いてほぼ連続的に局在しているのが認められ、電顕でのゴルジ体の分布と同様であった。また、おのこののゴルジ体は3から4層の扁平嚢を有するゴルジ層板からなり、周囲には多数の小胞が認められ、特に核と反対側のトランス面付近には被覆小胞が多数観察された。さらに、骨基質分解酵素の一つである ACPase の活性局在は、波状縁部位と考えられる骨基質に面して強い局在を認めた。

BFA 投与により破骨細胞は、PNA 陽性の波状縁膜の減少あるいは消失で特徴付けられ、骨基質側の細胞質に存在する小胞や空胞は対照群と比較して減少する傾向が認められた。ゴルジ体はゴルジ層板が消失し、小胞および小管状構造物の集積として観察され、対照群でトランス面に認められた被覆小胞はほとんどみられなかった。GCP364の局在は核周囲に観察されたものの散在的かつ断続的に弱い反応として認められた。これらの結果は、BFA の作用でゴルジ体の構造が崩壊し、ゴルジ体から波状縁への膜輸送が阻害されたためと考えられる。ACPase 活性の局在は、その極性を失い瀰漫性に細胞質中に認められ、かつ反応は減弱傾向を示した。電顕的には、減少したライソゾーム顆粒に ACPase 活性の局在が認められた。このことは、ゴルジ体からライソゾームや波状縁などの標的部位への ACPase の輸送が阻害された結果と思われる。一方、BFA 投与後の骨芽細胞においては、ゴルジ層板、ゴルジ空胞、分泌顆粒はほとんど消失し、小胞および小管状の構造物の集塊として観察され、

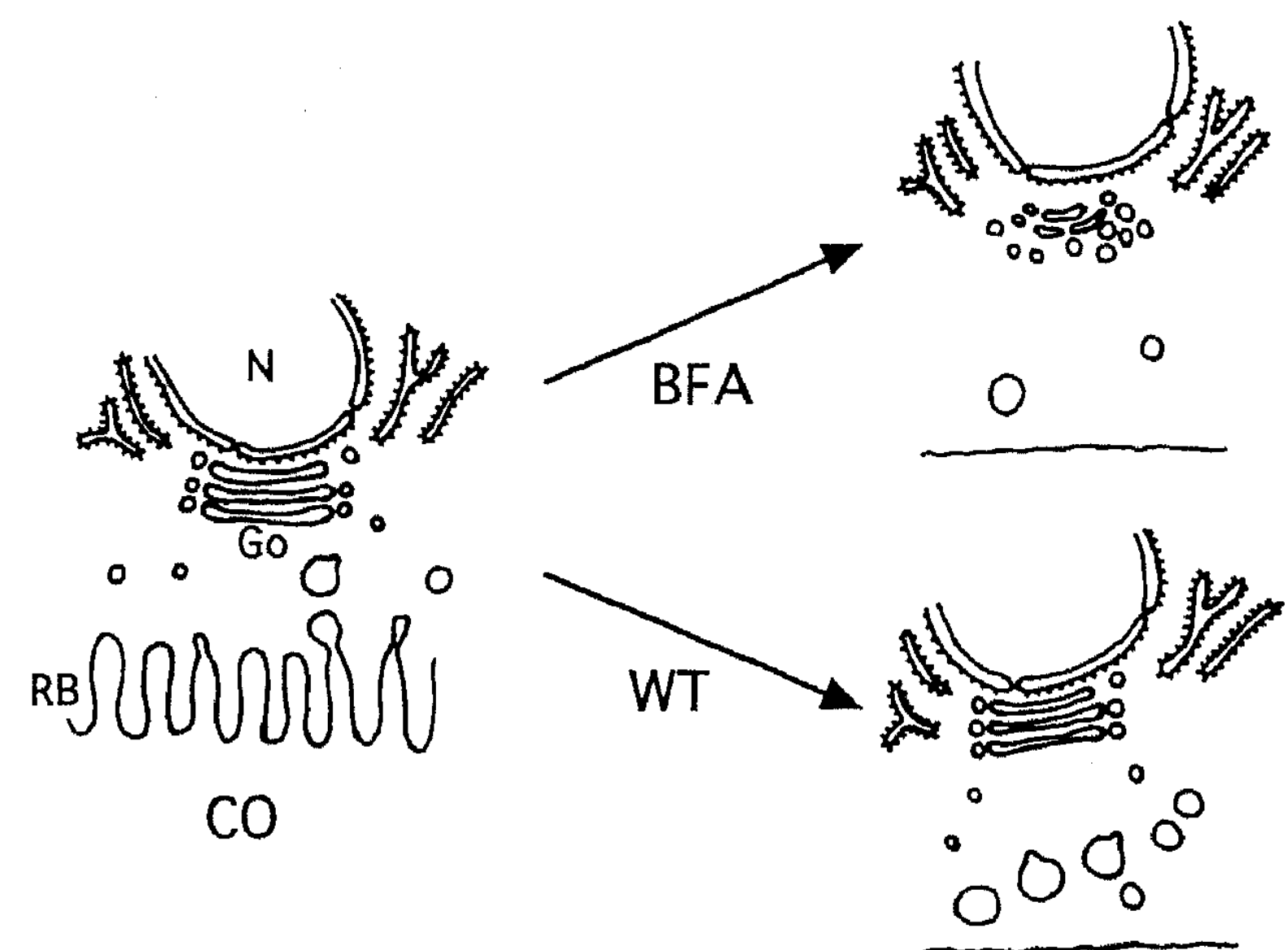


図 ブレフェルジン A (BFA), ワートマニン (WT) 投与後の破骨細胞の変化を示す模式図。CO(対照群の破骨細胞), N(核), Go(ゴルジ体), RB(波状縁)

一方、粗面小胞体は拡張傾向を示した。この結果はBFAの作用で粗面小胞体でのタンパク合成とそのゴルジ体への輸送のバランスが崩れ、粗面小胞体内に骨基質タンパクが蓄積したためと考えられる。

WT投与後の破骨細胞は、ゴルジ層板の数や形態は対照群と比較して顕著な相違は見られなかったが、細胞質全体に大小さまざまな小胞や空胞が多数出現し、それらはゴルジ体周辺にも集積していた。これらの結果、WTは破骨細胞のゴルジ体の微細構造には影響を及ぼさず、ゴルジ体からの膜輸送を阻害している可能性が示唆される。また、ACPase活性の局在は、細胞内での極性が失われ、増加した小胞や空胞に活性局在が認められた。さらに、PNA陽性の波状縁膜はほぼ完全に消失する傾向を示し、相対的に増加した大型の空胞膜にPNA反応が認められた。これらは、WTの作用でゴルジ体からの

ACPaseの吸収窩への分泌が阻害されたとともに、波状縁膜の前駆体が波状縁に輸送される前に細胞内で癒合し空胞化したか、あるいは波状縁膜が細胞内に取り込まれ互いに癒合した結果である可能性を示唆している。なお、WT投与による骨芽細胞の形態は対照群と比較して変化は認められなかった。

以上の結果より、破骨細胞のゴルジ体は骨基質分解酵素の修飾、選別と骨基質への分泌に関与するとともに、波状縁膜の供給に重要な役割を果たしていることが形態学的に明らかとなった。また、破骨細胞におけるPI3-キナーゼは、ゴルジ体から波状縁への骨基質分解酵素の輸送、分泌および波状縁の構造の維持に関与していることが形態学的にも示唆された。

〔なお、本学位研究は口腔解剖学第一講座にて行なった。〕