

DISTRIBUTION OF SIALIC ACIDS ON THE RAT NASAL MUCOSA

Kawasaki Kaoru, Iwano Tadashi, Kinoshita Takuya
Ushiro Kouichi, Yamashita Toshio and Kumazawa Tadami

Department of Otolaryngology, Kansai medical Univ.

Glycoconjugates are thought to play an important role in mucociliary defense system of the upper respiratory airway, although its detailed mechanisms is not fully understood.

Carbohydrate chains of the airway mucous glycoprotein are composed of 5 kinds of sugar residues, that is, L-fucose, D-galactose, N-acetylglucosamine, N-acetylgalactosamine and sialic acid. In these sugar residues, sialic acid seems to have some special functions because it locates at terminal position in carbohydrate chains. In this study we visualized the ultrastruc-

tural distribution of sialic acids on the rat nasal mucosa using Limax Flavus Agglutine (LFA).

LFA binding site distributed on the cilia of the ciliated cells and on the luminal surface of the goblet cells. Secretory granules of the goblet cells could be divided into three types, electron dense electron lucent and mixed types, and LFA bound on the every kinds of secretory granule of the goblet cells. In the submucosal glands mucous glands showed positive staining, but serous glands showed no staining.

鼻粘膜におけるシアル酸の局在

川崎 薫 岩野 正 木下 卓也
牛呂 公一 山下 敏夫 熊澤 忠躬

関西医科大学耳鼻咽喉科学教室

はじめに

複合糖質は、糖タンパク、糖脂質およびプロテオグリカンの総称であり、生体内に広く分布し、数々の生体反応において重要な役割を果たしている。一方、上気道粘膜上皮は主に繊毛上皮と無繊毛上皮より構成され、その表面は二重構造を持つ粘液層でおおわれている。すなわちゲル層である外層粘液とゾル層である繊毛間液であるが、これらの粘液層を

形成する気道粘液糖蛋白の糖鎖は1~20個の糖残基より形成されており五種類(フコース・ガラクトース・N-アセチルガラクトサミン・N-アセチルグルコサミン・シアル酸)の糖残基を含んでいることが知られている。そして糖鎖の末端はシアル酸かフコースのいずれかであり、其の比S/F値が粘液の物理学的性状や生物学的機能と密接に関連している。⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾

これらのムコ多糖類の粘膜上皮における分布についてはいくつかの報告があるが、⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾その詳細は不明である。

今回、我々は、シアル酸にきわめて特異的に反応するレクチンであるLFAによるレクチン組織化学を用いて粘膜上皮に分布するシアル酸の局在を検討した。

方 法

SD Ratをエーテル麻酔、心臓より1%グルタルアルデヒドにて10分間灌流固定を行なった。後鼻甲介より鼻粘膜を採取し、細片化後に後固定を行い100mM NH₄Clにてアルデヒド基をブロックした。

さらに-20℃にて脱水、続いてLR whiteに包埋、超薄切片を作製した。同切片上にて100 μg/mlの濃度でシアル酸ときわめて特異的に反応するレクチンであるLFAと60分間反応させ洗浄後Fetuin Gold Complexと反応させ電顕(日立HU-12)にて観察した。

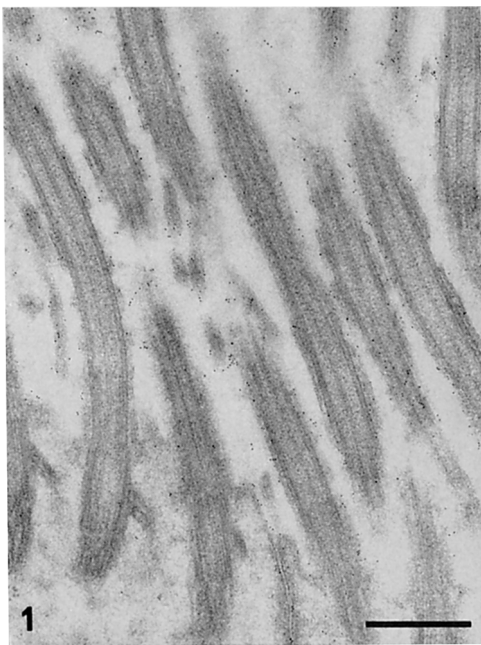


Fig. 1. The luminal surface of the ciliated cells. Many gold particles were distributed along the plasma membrane of the cilia. Bar=0.5 μm.

結 果

鼻粘膜を構成する繊毛上皮細胞の繊毛細胞膜にそって多数の金粒子が認められた (Fig. 1)。

鼻粘膜上皮における杯細胞の分泌顆粒はその電子密度によつて3種類に分類することができた。すなわち電子密度の高い分泌顆粒 (electron dense type)、電子密度の低い分泌顆粒 (electron lucent type) 及び両者の混合型であり (mixed type)、3種類全ての分泌顆粒に同様の密度でLFAの結合部分を認めた (Fig. 2 electron dense type)。

また、杯細胞の管腔面にも同様に金粒子の付着が認められた (Fig. 2)。

鼻粘膜上皮下に存在する分泌腺は粘膜腺と漿液腺に大別できる。粘膜腺の分泌顆粒には多数の金粒子の付着が認められた (Fig. 3)

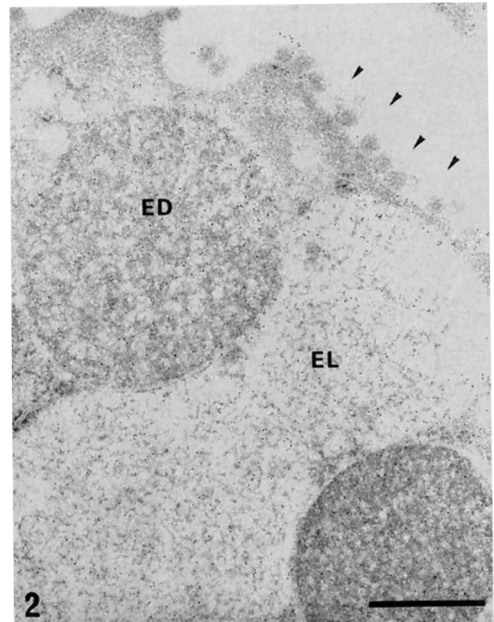


Fig. 2. The luminal surface of the goblet cells. Numerous amount of gold particles were located both in the electron dense(ED) and in the electron lucent(EL)secretory granules. The luminal membrane of the goblet cells showed also a dense labeling of gold particles (arrow heads). Bar=0.5 μm.

漿液腺の分泌顆粒ではコントロールレベルの金粒子の付着しか認められなかった。

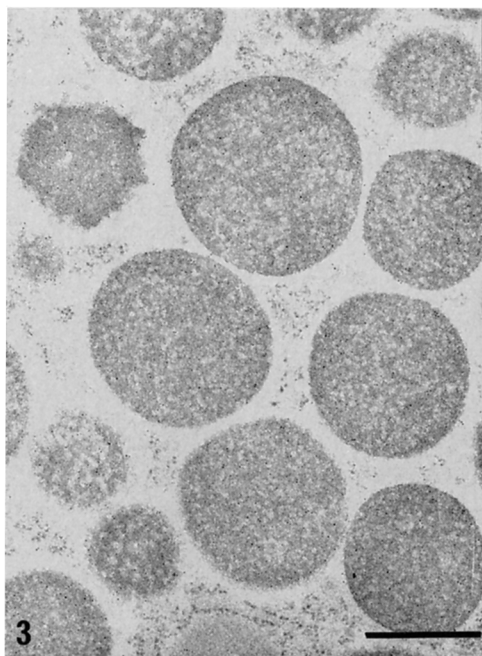


Fig. 3. The secretory granules in the submucosal mucous gland. Many gold particles were located in the secretory granules. Bar=0.5 μ m.

考 察

ラット鼻粘膜構成細胞におけるシアル酸の分布をレクチン組織化学を用いて解析した。鼻粘膜を構成する繊毛上皮の繊毛部分、杯細胞の分泌顆粒、粘膜下分泌腺のうち粘液腺に多量のシアル酸の局在が認められた。これらの結果より気道粘膜に含まれるシアル酸は杯細胞及び粘膜下分泌腺の粘液腺より主に分泌されると推測される。また、繊毛細胞の繊毛部分にも多数のシアル酸の存在が証明されたが、これらの機能として繊毛の形態維持あるいは繊毛における物質輸送と密接に関連していると考えられる。

今回は正常鼻粘膜上皮のみであるが病的粘膜についても今後さらに検討していきたい。

参 考 文 献

1. 堀田恭子 粘液糖タンパク質の生化学医学のあゆみ 144. 783~787 1988
2. Lopez-Vidriero MT; Reid T ; Bronchial mucus in health and disease Br Mr Bull 34 ; 63-74 1978
3. Redi L ; Clamp JR ; The bronchial and histochemical nomenclature of mucus Br Mr Bull 34 ; 5-8 1078
4. Mazzuca M ; Roche AC ; Lhermitte M ; Roussel P ; Limulus Polyphemus Lectin Site in Human Bronchial Mucus J. Histochem. Cytochem. 1977 25 470-473
5. Spicer SS. Mochizuki I ; Setser ME ; Martinez JR ; Complex Carbohydrates of Rat Tracheobronchial Surface Epithelium Visualized Ultrastructure Am. J. Anat. 1980 158 93-109
6. Thate LG ; Spicer SS ; Spock A; Histology Ultrastructure and Carbohydrate Cytochemistry of Surface Glandular Epithelium of Human Nasal Mucosa Am. J. Anat. 1981 162 243-263

質 疑 応 答

質問 中井義明（大阪市大）

繊毛表面のシアル酸（金粒子）は腺細胞や分泌腺より分泌されたものが定着したものか、或いは繊毛細胞から出現したものでしょうか。

応答 岩野正（関西医大）

繊毛細胞の繊毛部分のシアル酸は繊毛細胞自身により合成されていると考えている。この部分のシアル酸が繊毛輸送機構とどのように関連するかは今後の課題と思われる。