

ラット小腸小皮縁のフォスファターゼ反応について

京都大学結核胸部疾患研究所 細胞化学部

大川 欣一

福島県立医科大学 解剖学教室

菅井 尚則

小腸上皮細胞の自由縁には小皮縁と呼ばれる構造が認められ、電子顕微鏡下に観察するとほぼ等大かつ等長の原形質の指状突起、即ち微絨毛が密集している部分であることが知られている^{1,2)}。各突起は上皮細胞の細胞膜で被覆されているので、その自由表面積はいちじるしく増大する結果となり、物質の吸収という機能面と密接にかかわる分化した構造である。この部分に関しても種々のフォスファターゼ反応が組織化学的に検討が加えられて来ている^{3~5)}。しかし、肝、腎、小腸、臍上体などの各臓器組織における各種フォスファターゼ反応に対する有機溶媒処理の影響を検討した結果、小腸小皮縁における ATPase 等の特異的フォスファターゼ活性の局在について疑義が生じ、その解明を目的として実験を行い、成果を得たので報告する。

実験動物は成熟 Wistar 系雄ラットで、小腸を主とした観察材料としたが、ときには肝、腎、臍上体についても観察した。検討を加えた酵素類は、(1) アルカリ性フォスファターゼ (AlPase)、(2) アデノシントリフォスファターゼ (ATPase)、(3) チアミンピロフォスファターゼ (TPPase) の三種類である。AlPase 活性阻害剤としては L-phenylalanine 及び L-cysteine の二種類を単独で、あるいは同時に使用した。

基質として β -グリセロリン酸、アデノシン三リン酸あるいはチアミンピロリン酸のいずれを使用

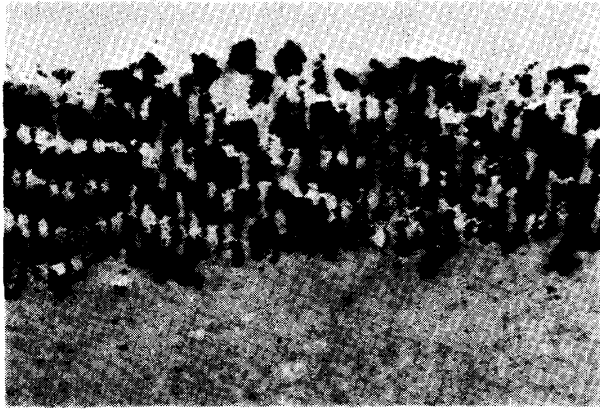
しても小腸小皮縁に明瞭な反応をうる。これら各々の反応に対する AlPase 活性阻害剤の影響は次の如くである。 β -グリセロリン酸を基質とした場合の小腸小皮縁の反応は L-phenylalanine (50 mM, 100 mM) で殆んど阻害されないが、腎尿細管刷子縁の反応は少々減少する。L-cysteine (5 mM, 10 mM) は本反応を強く阻害する。L-phenylalanine の所見は渡辺等のそれとは一致しない^{5,6)}。L-phenylalanine (50 mM) と L-cysteine (5 mM) を同時に使用すると本反応は阻害をうける。アデノシン三リン酸を基質とした場合の小腸小皮縁の反応は L-phenylalanine (50 mM, 100 mM) によって殆んど影響をうけず、細胆管における反応も変化しない。L-cysteine (5 mM, 10 mM) は本反応を強く阻害するが、細胆管における反応は逆に増強される。L-phenylalanine (50 mM) と L-cysteine (5 mM) を同時に使用した場合にも小皮縁における反応は強く阻害される。チアミンピロリン酸を基質として使用した場合の小皮縁の反応は L-phenylalanine (50 mM, 100 mM) では殆んど変化せず、L-cysteine (5 mM, 10 mM) では強い阻害をうけた。臍上体における反応は逆に L-cysteine で増強された。L-phenylalanine と L-cysteine とを同時に使用した場合も L-cysteine 単独の場合と同様の所見であった。L-phenylalanine も 5°C, 5 分間の反応という条件下では阻害効果があることが示されている^{7,8)}。本実験で得られた所見は小腸小皮縁に

おけるフォスファターゼ反応の解釈については極めて慎重でなければならないことを示している。即ち、小腸小皮縁における ATPase 及び TPPase など特異的フォスファターゼの局在が諸家により報じられているが⁹⁻¹¹⁾、ATP 及び TPP など基質とした場合の小腸小皮縁における反応が夫々 AlPase 活性阻害剤である L-cysteine などにより阻害される事実は諸家の報告に重大な疑義を提起するものである。現時点において我々は以下の如く結論する。即ち、小腸小皮縁には組織化学的ないし細胞化学的に検出する ATPase 及び TPPase は存在しないか、または、存在するとしても極めて微弱なものである。従って、ATP あるいは TPP を基質とした場合の小腸小皮縁における反応は殆んどすべて同部の AlPase 活性に由来するものである。

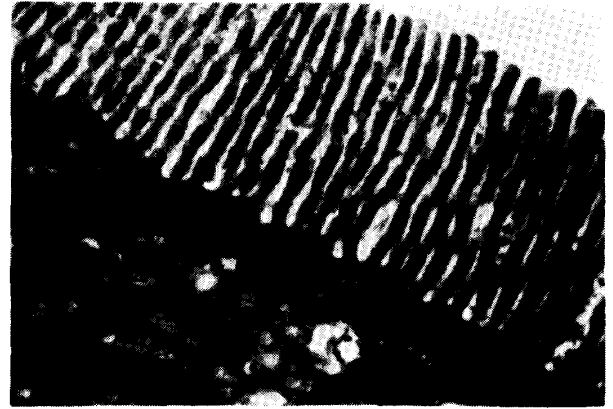
小腸小皮縁におけるフォスファターゼ反応の特異性については現在以上のように結論されるが、微妙かつ、重要な問題であるので、更に実験をつづける計画である。

文 献

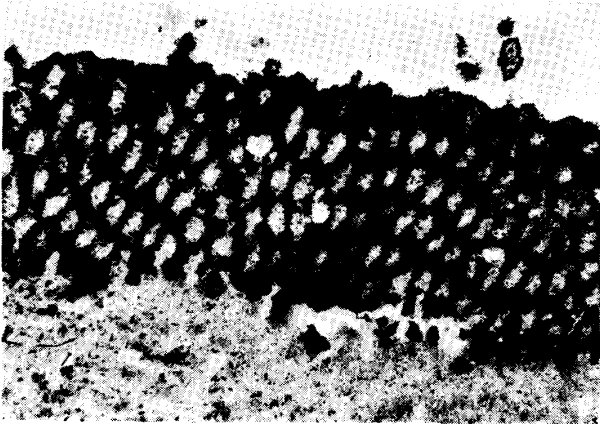
- 1) A. L. Brown: Microvilli of the human jejunal epithelial cell. *J. Cell Biol.*, 12: 623-627, 1972.
- 2) S. Ito: The enteric surface coat on cat intestinal microvilli. *J. Cell Biol.*, 27: 475-491, 1965.
- 3) J. Hugon and M. Borgers: Ultrastructural localization of alkaline phosphatase activity in the absorbing cells of the duodenum of mouse. *J. Histochem. Cytochem.*, 14: 629-640, 1966.
- 4) J. Hugon and M. Borgers: Submicroscopic localization of the alkaline phosphatase activity in the duodenum of the rat. *Exptl. Cell Res.*, 45: 698-792, 1967.
- 5) 渡辺慶一: 小腸アルカリフォスファターゼに関する酵素組織化学的研究, L-フェニールアラニンによる抑制作用とその機序について. *慶応医学*, 43: 591~602, 昭41.
- 6) K. Watanabe and W. H. Fishman: Application of the stereospecific inhibitor L-phenylalanine to the enzymorphology of intestinal alkaline phosphatase. *J. Histochem. Cytochem.*, 12: 252-260, 1964.
- 7) J. Hugon and M. Borgere: Fine structural localization of acid and alkaline phosphatase activities in the absorbing cells of the duodenum of rodents. *Histochemie*, 12: 42-66, 1968.
- 8) 菅井尚則, 大川欣一: ダイコクネズミ小腸小皮縁のアルカリ性フォスファターゼに対する有機溶媒処理および阻害剤の影響. *医学と生物学*, 85: 209~212, 1972.
- 9) C. T. Ashworth, F. J. Luibel and S. C. Stewart: The fine structural localization of adenosine triphosphatase in the small intestine, kidney, and liver of the rat. *J. Cell Biol.*, 17: 1-18, 1963.
- 10) 小田塚三, 関 周司: 小腸上皮細胞微絨毛膜の分子構造と生化学的機能—基本粒子を中心として. *J. Elect. Microscop.*, 154: 210-217, 1965.
- 11) T. Saito and K. Ogawa: Electron cytochemical examination of the thiamine pyrophosphatase activity in the intestine of the rat. *Arch. Histol. Jap.*, 27: 473-484, 1966.



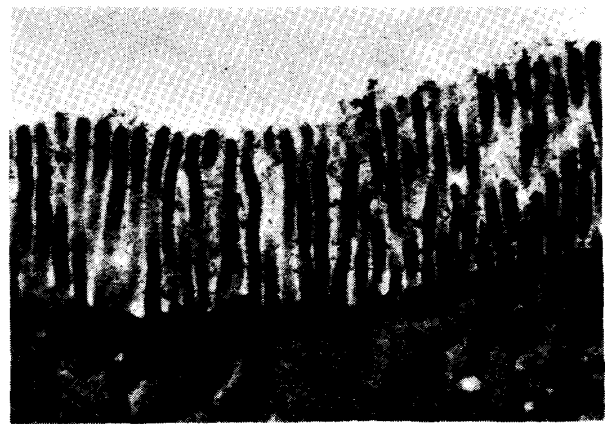
β -Gp を使用した小腸小皮縁の反応



β -Gp を使用し, cysteine により反応が陰性化した所見



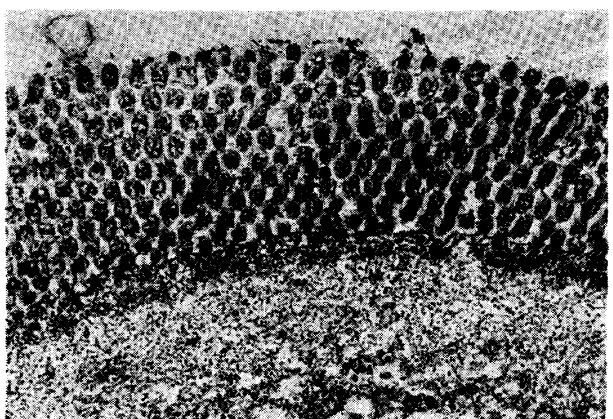
ATP を使用した小腸小皮縁の反応



ATP を使用し, cysteine により反応が陰性化した所見



TPP を使用した小腸小皮縁の反応



TPP を使用し, cysteine により反応が陰性化した所見