

2. レクチンを用いた PAS 陽性顆粒の免疫組織学的検討

老化促進モデルマウス (SAM) ではその老化とともに、海馬を中心とした脳内に PAS 陽性顆粒 (PPGS) と呼ばれる微細顆粒状物が高頻度に見られるようになる¹⁾。その PPGS は学習障害とも関係が深いことが知られている。しかしその本体は未だ不明な点が多い。我々は、糖に特異的であるレクチンを用いて免疫組織学的検討を行った。

材料および方法

材料は動物実験施設との共同研究により継代維持している SAMP1TA/Ngs のうち、10ヶ月齢以上の雌雄を用いた。屠殺後、脳をすばやく取り出し、海馬を含む約 6 μ m の凍結切片を作成した。ペルオキシダーゼで標識された10種類のレクチン (E.Y.ラボラトリーズ社) を用いた (表1)。レクチン用に使用した切片に隣接した切片を PAS 染色することにより、両者の比較と PPGS の同定を行った。クロロホルム・メタノール (2 : 1) 溶液を用いた脂質除去処理 (50°C で20分間) 後、同様の検討を加えた。またレクチンを用いた反応を検討した後に、同一切片に PAS 染色を施して、重染色標本でも検討した。

結果および考察

PAS 染色を施すと PPGS は 1~5 μ の類円形赤紫色顆粒の集簇像として認められた。脂質除去処理後でも PPGS は同様の形態像として確認できたが、ミエリンの部分は色調の消失がみられた。このことは PPGS が糖脂質ではなく、糖蛋白、またはプロテオグリカンであることを示唆している。

10種類のレクチンを用いた組織学的検討では、Con A レクチン、WGA レクチンなどには PPGS は陰性で、GS-II レクチンを用いた場合にのみ陽性所見を得た。同一切片での PAS 重染色にて、両者が同じ顆粒を認識していることを確認した。

PPGS の組成については、ラミニンに関連した蛋白であるとの報告²⁾があるし、また MAO-B の酵素活性がみられるとの報告³⁾がある。ところで、GS-II レクチンは主に α - and β -GlcNAc に糖特異性があり、PPGS に陰性の Con A レクチンは α -GlcNAc に、WGA レクチンは β -GlcNAc に糖特異性があることが知られている。すなわち、GS-II レクチンが認識しているのはなんらかの「修飾された GlcNAc」である可能性がある。

以上のことより、PPGS は末端部になんらかの「修飾された GlcNAc」を持つ糖蛋白、またはプロテオグリカンであろう。今後、VFA (Vicia faba) レクチンや STA (Soianum tuberosum) レクチンなどの GlcNAc に特異的なレクチンを用いて、より正確に末端糖の構造を絞り込む必要がある。また、PPGS の分子量測定などの生化学的検討が望まれる。

参考文献

- 1) Akiyama H. *et al.* (1986) *Acta Neuropathol* 72 : 124-129.
- 2) Ingram D. K. *et al.* (1994) *The SAM Model of Senescence*. Takeda T. (ed.), Elsevier Science B.V., pp. 73-82.
- 3) Nakamura N. *et al.* (1994) *The SAM Model of Senescence*. Takeda T. (ed.), Elsevier Science B.V., pp. 367-370.

表 1. 免疫組織学的検索に用いたレクチン

レクチン	糖特異性
Con A Jack bean	α -D-mannopyranoside, α -D-glucopyranoside
DBA Dolichos biflorus	Methyl-2-acetamido-2-deoxy-D-galactose
SBA Glycine max ; Soy bean	α -or β -D-GalNac > α -D-galactose
WGA Tritium vulgaris (wheat germ)	NAc-(β ₁₋₄)-D-Glucosamide, or N,N'-diacetyl-chitobiose
UEA-I Ulex europaeus ; Gorse seed	α -L-fucose
PNA Arachis hypogaea	Gal- β -(1-3)-GalNac and related sugars
GS-I Griffonia simplicifolia	α -D-Galactose
GS-II Griffonia simplicifolia	α -and β -D-linked 2-acetamide-2-deoxy-D-Glucose
BPA Bauhinia purpurea	2-Acetamido-2-deoxy-D-galactose
MPA Maclura pomifera ; Osage Orange seed	α -D-Galactopyranoside