

早稲田大学審査学位論文(博士)

博士(人間科学)学位論文

カハールの介在細胞の微細形態学的同定

2000年1月

早稲田大学大学院人間科学研究科

堀口 和秀

①

博士（人間科学）学位論文

カハールの介在細胞の微細形態学的同定

2000年1月

早稲田大学大学院人間科学研究科

堀口 和秀

指導教授 小室輝昌

目次

	頁
緒言	1
1. カハールの介在細胞	1
1.1. 消化管運動とカハールの介在細胞	1
1.2. ICCの細胞学的議論の展開	2
1.3. ICCの機能に関する研究	4
2. Kit受容体型チロシンキナーゼ	5
2.1. W及びSl 突然変異マウス	5
2.2. c-KitとICC	6
3. 線維芽細胞様細胞	6
4. 研究の目的	7
材料及び方法	9
1. 材料	9
2. 免疫組織化学	9
3. 電子顕微鏡的手法	10
4. モンタージュ写真による細胞数の計測	10
結果	11
研究I ; 正常及びWs/Ws ラット小腸における観察	11
1.1. 小腸筋層の構造	11
1.2. c-Kit免疫組織化学	11
1.3. アウエルバッハ神経叢部の間質性細胞	11

1.4. 深部筋神経叢部の間質性細胞	13
研究II ; 正常及びW/W ^V マウス小腸における観察	14
2.1. 筋層の構造	14
2.2. アウエルバッハ神経叢部の間質性細胞	14
2.3. 深部筋神経叢部の間質性細胞	15
研究III ; 正常マウス胃幽門前庭部における観察	16
3.1. アウエルバッハ神経叢部の間質性細胞	16
3.2. 輪層筋層内の間質性細胞	16
考察	18
1. c-Kit発現細胞の微細形態学的同定	18
2. ICCの器官特異性について	21
3. ICCの分化・成熟におけるKit-SCF系の役割	23
4. 消化管運動調節機構における線維芽細胞様細胞の役割	26
まとめ	28
引用文献	30
付図説明	38

緒言

1. カハールの介在細胞

1.1. 消化管運動とカハールの介在細胞

個体の生命維持に不可欠な消化吸収活動は、消化管筋層の調和のとれた運動によって助けられ、効率的に遂行される。中でも、食物塊が口側から肛門側へ一方向性に規則正しく輸送される機構については、早くから関心が払われ、消化管運動生理の重要な研究課題であった。

BaylissとStarling (1899) はイヌ小腸を用いた研究から、小腸内の食塊輸送に与かる蠕動運動は、消化管筋層に内在するアウエルバッハ神経叢 (Auerbach's plexus ; 筋層間神経叢 myenteric plexus ともいう) による反射運動であることを示した。食塊によって刺激を受けた部位の口側に筋の興奮、肛門側に筋運動抑制が起こるのを観察し、これが食塊輸送の原理であると考え、この現象を腸管の法則 (the law of the intestine) と呼んだ。消化管壁に内在する神経叢の非常によく発達した構造や機能に着目したLangley (1921) は、交感・副交感神経系から独立させ、第3のカテゴリー、腸管神経系 (enteric nervous system) と呼ぶべきであると提言した。腸管神経系に関しては、近年の免疫組織化学的研究の発展により、その内部に存在する複雑な反射経路が次第に明らかにされつつある (Costa et al., 1987を参照)。

消化管運動における神経性調節の研究が進む一方で、1960年代後半から70年代にかけての広範な電気生理学的研究から、消化管筋層には、その運動の律動性を司る非神経性のペースメーカーが存在すると考えられるようになってきた。消化管筋層の電位変化を記録すると、消化管の部位や動物種によって違いはあるが、概ね毎分数回から十数回程度のゆっくりとした、規則的な脱分極活動が得られる。この電気活動はslow wave (緩徐波 ; Bortoff 1965, 1976) と呼ばれ、消化管運動のペースメーカー電位として現在も広く受け

入れられている。このslow waveは、テトロドトキシンやアトロピン等、各種神経遮断剤存在下でも阻害されないことから (Liu et al., 1969)、その発生は非神経性であり、筋原性と考えられた (Bortoff 1965, 1972; Connor et al., 1977)。また、小腸では、slow waveは二層に剥離した縦走筋のみの標本からは正常に記録されるが、輪走筋からは検出されないことから、小腸のslow wave発生源は縦走筋であると考えられた。しかしながら、結腸においては、slow waveは縦走筋ではなく輪走筋の標本から記録され (Christensen et al., 1969)、両者の間の矛盾は説明されなかった (Bortoff 1972を参照)。

その後、1980年代に入り、Thuneberg (1982) により、カハールの介在細胞 (interstitial cells of Cajal; ICC) が消化管運動のペースメーカー、乃至は刺激伝達機構として働く、という仮説が提唱され、注目を集めるようになった。

1.2. ICCの細胞学的議論の展開

前世紀末から今世紀初頭にかけて、スペインの神経形態学者Cajal (1883, 1911) は、カエルや家兎、モルモットの腸管において、数本の一次突起をもつ、紡錘形ないしは星形の小さな細胞による網状構造を記載した。彼自身はこの細胞を“*cellules interstitielles*”あるいは“*neurones sympathiques interstitiels*”と名付けているが、後年、彼の名を冠してinterstitial cells of Cajalと呼ばれるようになった。Cajal自身は、その命名から分かるとおり、この細胞を神経性のものとして捉えた。当時、神経細胞に特異的な染色法と考えられていた鍍銀法 (Golgi法) やEhrlichのメチレン青染色によって染め出されることや、神経叢を思わせる細胞性網状構造、及び細胞の形状などから、ICCが神経細胞であるとする組織学者は多かった (例えば、La Villa 1897, 1898; Boeke 1935, 1940; Jabonero 1965など)。また、それとは別に、ICCは自律神経終末部のシュワン細胞性網状構造 (Schwann plasmodium) であるとする考えもあった (Lawrentjew 1926)。数多くの研究者がICCの本態に関して組織学的考察を行ったが (Thuneberg 1982を参

照)、解像力の限界もあって結論の出ぬまま電子顕微鏡的観察の時代に入った。

ICCについて初めて電子顕微鏡的研究を行ったRichardson (1958) は、家兎小腸アウエルバッハ神経叢部において、神経束に付随して長い突起を伸ばす星型の細胞を記載した。この細胞は、基底膜を欠き、神経細胞やシュワン細胞と区別される結合組織性の細胞と考えられた。また、ヒキガエルの腸(小腸・大腸)筋層においても、微細構造上、線維芽細胞やマクロファージに似た、基底膜を欠く結合組織性細胞が記載され、Cajalの原図に示された細胞に相当するものと推察された(Roger & Burnstock 1966)。一方、ImaizumiとHama (1969) は、インコ砂囊において、神経束に近接し、平滑筋との間にgap junctionを形成する、基底膜をもった間質性細胞を記載した。彼らはこの細胞が、平滑筋に由来する細胞である可能性が高いと考えた。Yamamoto (1977) はマウス及びコウモリの小腸の観察を通して、ICCは未熟な平滑筋であると考えた。ICCが微細構造上、平滑筋に近い特徴を有することは、以後、Fausone-Pellegriniら (1977) やRumessenら (1982) によっても支持された。

しかしながら、Taylorら (1977) が、ネコ結腸において、輪走筋層と縦走筋層間を電氣的に繋ぐという役割を示唆した細胞は、微細構造上、線維芽細胞に類似した細胞であり、Komuroが家兎結腸 (1982) 及びラット小腸 (1989) アウエルバッハ神経叢部において記載したICCは、典型的な線維芽細胞様の特徴をもった細胞であり、平滑筋と小さなgap junctionを形成する点以外は何ら平滑筋様の特徴を示さない細胞であった。また、この他にもICCの微細形態に関する報告は数多く提出されているが(後述)、観察された消化管の部位や動物種に起因すると思われる差異も大きく(Christensen 1992; Rumessen 1994; Komuro et al., 1996)、ICCの細胞学的同定についての議論はCajal以後一世紀を経た現在においても多くの問題を残している。

1.3. ICCの機能に関する研究

このようにICCの本態に関する純粋に細胞学的な議論が展開される中、前述したように、Thuneberg (1982) は、その機能的側面に着目し、ICCが消化管運動ペースメーカー乃至は刺激伝達機構として働くという仮説を提唱したが、これは以後の生理学的研究の大きな契機となった。Suzukiら (1986) はネコ小腸剥離筋層標本を用い、(1) slow waveの振幅は両筋層間の部位で最大である、(2) ICCの付着していない筋層からはslow waveは得られない、(3) それに対して、ICCが残存している筋層からはslow waveが得られる、ということを示した。また、Haraら (1986) も、ヒトを含む数種の動物の小腸を用いて同様の結果を得た。

結腸のペースメーカーは、小腸とは異なり輪走筋最内層に存在することが知られていたが (Christensen et al., 1969)、この部位には神経節細胞を伴わない神経叢 (筋層下神経叢 submuscular plexus; SMP) があり、これに付随するICCはICC-SMPと呼ばれる。Barajas-Lópezら (1989) はイヌ結腸の輪走筋最内層に微小電極を刺し、slow waveを得た後にメチレン青を注入した標本を作製し、slow waveの発生源の電子顕微鏡観察による同定を試みた。LiuとHuizinga (1993) はイヌ結腸について、剥離筋層標本を用いた電気生理学的実験を行った。彼らは、縦走筋、アウエルバッハ神経叢、ICC-SMPを剥離した、輪走筋のみの標本からはslow waveが得られない一方、剥離したICC-SMPのネットワークからはslow waveの得られることを示した。またLiuら (1994) は、イヌ結腸ICC-SMPにメチレン青を選択的に取り込ませた後、強い光を照射することによってICC-SMPが障害され、結果としてslow waveが消失することを示した。

これらの生理学的研究は、全体としてICCが消化管ペースメーカー細胞であるとする仮説を支持する傾向にあったが、メチレン青のICCに対する特異性には疑問が残り (Thuneberg 1982)、また、物理的剥離標本を用いた実験でのICCの存否には確実性の欠けるところから、ICCの確かな同定やペースメーカー説の証明には、ICCに対する真に

特異的な標識法の開発が待ち望まれる状態にあった。

2. Kit受容体型チロシンキナーゼ

2.1. W及びSI突然変異マウス

マウスの突然変異のうちで比較的初期に見つかったものに優性白斑がある。第5染色体上にマップされたW遺伝子座に突然変異を1個もつヘテロマウスでは、腹部と頭部に色素細胞の欠如した白斑を有する。一方、W突然変異遺伝子がホモになったW/Wマウスは、高度の貧血により胎生期に死ぬか、生まれたとしても早期に死に至る。また、W遺伝子は神経冠由来の色素細胞や造血細胞のみならず、生殖細胞や肥満細胞の分化・増殖にも関与していることが明らかとなり、さらに、第10染色体上のSI遺伝子の突然変異マウスも同様の症状を示すことが分かった (Russell 1979を参照)。この点に関して、古典的な脊髄移植実験 (McCulloch et al., 1964; Bernstein 1970) から、W突然変異では色素細胞・造血細胞・生殖細胞・肥満細胞の側に分化障害の原因があるが、SI突然変異ではこれらを支持する細胞側に欠陥があるためにこれらの分化障害が生じる、ということが明らかとなってきた。

さらに1988年、これらの遺伝子座の分子レベルでの解析を行なった2つの研究グループから、W、SI遺伝子座にはそれぞれ受容体型チロシンキナーゼのc-Kitと、そのリガンドである成長因子のSteel factor (またはstem cell factor; SCF) がコードされていることが明らかにされ (Chabot et al., 1988; Geissler et al., 1988)、白斑マウスの生物学的意味が解明された。そして1990年代になり、これらの突然変異動物において、消化管のペースメーカー機構に欠陥があり、正常な蠕動運動が行われないことが知られるようになったのである。

2.2. *c-Kit*とICC

Kit signalingの阻害により消化管運動に異常のおこることを始めて報告したのは Maedaら (1992) である。彼女らは、出生直後の正常マウスに*c-Kit*の抗体であるACK2を腹腔内投与することにより、筋層内に存在する*c-Kit*陽性細胞の正常な発達が阻害され、消化管運動に障害の見られることを報告した。さらにその後、突然変異動物を用いた実験により、*W/W^v* マウス (Ward et al., 1994; Huizinga et al., 1995)や、*Sl/Sl^d* マウス (Ward et al., 1995) の小腸では、メチレン青に染まるアウエルバッハ神経叢部のICC (ICC-AP) が消失し、正常なslow waveが記録されないことが明らかとなった。ここで、実験に用いられる*W* 及び*Sl*突然変異マウスについて説明すると、*c-Kit*の機能を完全に失った、*W*遺伝子のホモ接合体である*W/W* マウスは致死性であり、SCFが完全に欠損した*Sl/Sl*マウスも同様である。しかしながら、それぞれについて、一部の機能を残す*W^v* (Nocka et al., 1990) や*Sl^d* (Brannan et al., 1991; Flanagan et al., 1991) とのヘテロ接合体である*W/W^v* や*Sl/Sl^d* マウスは致死性ではなく、これらが実験に用いられている。

これらの研究により*c-Kit*発現細胞が小腸ペースメーカーであることが示され、その細胞がICCに相当することが推定された。*c-Kit*発現細胞の微細構造上の特徴、真にカハールの観察した細胞に相当するか否かの問題については不明な点を残したままであったが、*c-Kit*のICCに対する特異的標識の可能性は、ICCの同定における*c-kit*突然変異動物の有用性を強く意味するものであった。

3. 線維芽細胞様細胞

消化管筋層には、ICC以外にも数種類の間質性細胞が存在する。中でも、微細構造上、典型的な線維芽細胞様の特徴を示す細胞については、これまで殆ど関心の払われるこ

とがなく、その生物学的意義も不明のまま残されている。

これらのいわゆる線維芽細胞様細胞 (fibroblast-like cell) はマウス小腸 (Thunberg 1982; Rumessen et al., 1982)、イヌ食道下部及び結腸 (Berezin et al., 1990, 1994)、ヒト小腸及び結腸 (Fausone-Pellegrini & Cortesini 1983, 1984; Fausone-Pellegrini et al., 1990; Rumessen et al., 1992, 1993 a,b) など、多くの動物種の様々な部位で記載されている。しかしながら、これらの研究では、線維芽細胞様細胞と平滑筋との間に特殊な接着装置は観察されておらず、これらの細胞と消化管運動調節機構との関連については言及されていない。

一方、著者の所属する研究室ではこれまで、モルモット (Zhou & Komuro 1992 a,b) 及びラット (Komuro & Seki 1995) の小腸において線維芽細胞様細胞が平滑筋との間に小さなgap junctionを形成することを報告し、消化管運動調節機構への関与を示唆してきた。

上記の点は、消化管運動を考察する上で重要な問題を含んでいると思われるが、これらの観察間の矛盾が、単に種差に起因するものか否かは不明である。我々の仮説をより一般化して考察するためには、幅広い動物種の、消化管の様々な部位における観察が不可欠であるが、特に、多くの研究で使用されているにも拘わらず、同細胞に接着装置の報告されていないマウスでの再吟味は、この問題の解決にあたる第一歩となろう。また、この観点からも、時として線維芽細胞様細胞との識別に疑義の生じやすいICC-APの消失する *c-kit* 突然変異動物を用いることにより、ICCと線維芽細胞様細胞との識別がより完全なものになることが期待される。

4. 研究の目的

上述のような背景をふまえ、本研究では消化管筋層の間質性細胞、特にICCの細胞学的本態とその機能的意義を解明するため、以下の実験を行った。

(1) *c-kit* 遺伝子のチロシンキナーゼ領域に12塩基分の欠失を有する (Tsujiura et al., 1991) *Ws/Ws* 突然変異ラット及びその同腹正常 (+/+) ラットの小腸を用いた ICC の比較研究。 *Ws/Ws* ラットでは小腸の律動的な運動が障害され、 *c-kit* mRNA 発現細胞が著しく減少することが報告されているが (Isozaki et al., 1995)、その微細形態学的検討はなされていない。この実験は、“*c-kit* 発現細胞 = ICC = 消化管ペースメーカー” の仮説の検証を目的とする。

更に、ICC の細胞学的同定の際に問題となる種特異性、及び器官特異性の問題の検証のため、

(2) *W/W^v* マウス及び同系正常 (+/+) マウス小腸の ICC の検索。

(3) +/+ マウス胃幽門前庭部 (antrum) の ICC の検索。

を併せ行なった。また、これらの観察を通して、

(4) 線維芽細胞様細胞の、特に細胞間接着装置に注目した比較形態学的検索を行ない、これらの細胞の機能的意味についても考察した。

材料及び方法

(1) 材料

ラット：4-8週齢の*c-kit* 突然変異 (*Ws/Ws*) ラット及び同腹正常 (+/+) ラットの近位空腸を用いた。尚、ラットは大阪大学医学部病理学教室より提供を受けた。

マウス：5-8週齢の*c-kit* 突然変異 (*W/W^v*) マウス及び同系正常 (+/+) マウス (日本エスエルシーより購入) の近位空腸及び胃幽門前庭部を用いた。

(2) 免疫組織化学

*Ws/Ws*及び+/+ラットよりエーテル麻酔下に近位空腸を摘出し、燐酸緩衝生理食塩水 (PBS) にて内腔を洗滌した後、ただちにOCT compound (Tissue Tek) に包埋し、液体窒素中で急速凍結させた。Microm HM505E型クライオスタットにより10 μ m厚の凍結切片を作成し、ゼラチンコートをしたスライドガラスに貼り付け、1時間風乾し、アセトンで固定した (室温、10分)。PBSにて洗滌後、非特異反応を防ぐため、試料を4%ブロックエース液 (大日本製薬) に浸漬した (室温、20分)。次に、試料を10%アジ化ナトリウムを含むPBSで50倍に希釈した抗ヒト*c-Kit* receptor抗体 (Santa Cruz Biotechnology, ウサギ ポリクローナル) に反応させた (4°C、一昼夜)。PBSにて洗滌後、PBSにて50倍に希釈したペルオキシダーゼ標識ウサギIgGブタポリクローナル抗体 (DAKO) を反応させた (4°C、一昼夜) 後、4-chloro-1-naphthol (Sigma) 6mg及び30% H_2O_2 8 μ lを含む50mlの0.1M Tris-HCl溶液にて発色し、水溶性封入剤 (マウントクイック、大同産業) にて封入し、光学顕微鏡による観察を行なった。

対照群として、上記の手順において一次抗体または二次抗体を除いて反応を行なったが、これらの試料では、陽性反応は検出されなかった。

(3) 電子顕微鏡的手法

各動物よりエーテル麻酔下に摘出した組織を、空腸は腸間膜附着部、胃は小湾側に沿って切開し、中等度に伸展した状態にピンでとめた後、0.1M 磷酸緩衝液 (pH 7.3) で緩衝した4%パラホルムアルデヒド・3%グルタルアルデヒドを含む固定液に浸漬して固定を行なった。10分後、2×3mm程の小片に細切し、同固定液で更に固定を行なった (4℃、2時間)。次いで、試料を同緩衝液で洗滌し、1%四酸化オスミウム (OsO₄) 液にて4℃、2時間後固定、蒸留水による洗滌を経て、飽和酢酸ウラニル水溶液でブロック染色を行なった (室温、一昼夜)。エタノール上昇系列で脱水後、酸化プロピレンに置換し、試料をエポキシ樹脂に包埋した。Reichert超ミクロトームにより厚さ0.3μmの準超薄切片を作成し、スライドガラスに載せ、0.5%トルイジン青染色液にて染色、光学顕微鏡にて必要部位を確認しながら、実体顕微鏡下にブロックを精密トリミングした。同ミクロトームにより厚さ50nmの超薄切片を作成し、グリッドに載せて、酢酸ウラニル、クエン酸鉛による電子染色を施した後、日本電子JEM1200-EX II型電子顕微鏡により観察を行なった。

(4) モンタージュ写真による細胞数の計測

間質性細胞の細胞数を計測するため、アウエルバッハ神経叢部の電子顕微鏡写真によるモンタージュを作成した。+/+ラット及びWs/Wsラットよりそれぞれ試料を無作為に抽出し、原倍率3000-5000倍の電子顕微鏡写真を最終倍率7000-12000倍に焼き付け、モンタージュ写真上で核を含む細胞断面のみの間質性細胞の細胞数を計測した。

結果

研究I：正常及びWs/Wsラット小腸における観察

1.1. 小腸筋層の構造

小腸壁は管腔側より粘膜、粘膜下結合組織、筋層及び漿膜よりなり、筋層は、腸管を輪状に取り巻く内側の輪走筋層と、長軸に沿って走る外側の縦走筋層とから構成される。両筋層の間には、神経節とこれを連絡する神経線維からなるアウエルバッハ神経叢が存在する(図1)。また、輪走筋最内層の1~2細胞層と、それより外側の輪走筋層との間には、周囲の筋と平行して走る神経線維網があり、深部筋神経叢(deep muscular plexus; DMP)と呼ばれる(図1)。

1.2. c-Kit免疫組織化学

c-Kit免疫染色により、+/+ラットではアウエルバッハ部、及び深部筋神経叢部にそれぞれ強い陽性反応が認められた(図2)。一方、Ws/Wsラットでは、どちらの部位にも陽性反応は観察されなかった(図3)。

1.3. アウエルバッハ神経叢部の間質性細胞

+/+ラット：+/+ラットのアウエルバッハ神経叢周囲には豊富な間質性細胞が認められ、その長い細胞突起により、神経節は通常、ほぼ連続的に囲まれて観察された(図4)。神経節周囲及び両筋層間の結合組織中には、微細構造上の特徴により、二型の間質性細胞、すなわちICC-APと線維芽細胞様細胞が識別された。

ICC-APは、周囲の平滑筋細胞より細胞質の電子密度が低く、ミトコンドリアを多量にもつことを特徴とする(図5)。核の異型染色質は比較的少なく、核周囲部に限局する。細胞質にはよく発達した滑面小胞体やゴルジ装置のほか粗面小胞体も認められる。細

胞膜にカベオレ（通常、平滑筋の細胞膜に多く存在する小陥凹）は殆ど無く、基底膜も認められない。微小管や中間径フィラメント、アクチンフィラメントは豊富に存在するが、ミオシンフィラメントは認められない。細胞体からは細長い突起が伸長し、その先端で同種細胞間にgap junctionを形成する（図5挿入図）。

線維芽細胞様細胞は、微細構造上、典型的な線維芽細胞様の特徴を示す細胞（図6）である。核の周辺には厚い異型染色質の集積がみられる。細胞質には粗面小胞体が豊富で、その内腔は開大し、中等度の電子密度をもった物質で満たされている。細胞質の電子密度は平滑筋に比しやや高く、核周辺の細胞質にはミトコンドリアやゴルジ装置が観察される。細胞膜に基底膜やカベオレは認められない。周囲の平滑筋との間には小さなgap junctionを形成する（図6挿入図）。

Ws/Wsラット：Ws/Wsラットでは、両筋層間の間質性細胞とその突起は非常に少なく、神経節周囲の間質性細胞の鞘状の構造は認められない（図7）。二型の間質性細胞のうち、線維芽細胞様細胞については、+/+ラットと同様の頻度で観察されたが（図8）、これらの細胞には、一個の線維芽細胞様細胞が輪走・縦走両筋層の平滑筋細胞との間に小さなgap junctionを形成している像も観察された（図8挿入図）。

一方、ICC-APは、Ws/Wsラットでは顕著に減少していた。アウエルバッハ神経叢部のモニタージュ写真により細胞数の計測を行なったところ、+/+ラットでは横断された輪走筋細胞468あたり、線維芽細胞様細胞は16個、ICC-APは21個であるのに対し、Ws/Wsラットでは、輪走筋細胞573に対して、線維芽細胞様細胞は23個あるのに対し、ICC-APは僅か2個であった（表1）。

表1. ラット小腸アウエルバッハ神経叢部の間質性細胞数の比較

	cross-sectioned muscle cells	ICC-AP	fibroblast-like cells
+/+	468	21	16
Ws/Ws	573	2	23

1.4. 深部筋神経叢部の間質性細胞

深部筋神経叢の領域においても、微細構造上、二型の間質性細胞、すなわちICC-DMPと線維芽細胞様細胞が識別された。しかしながら、アウエルバッハ神経叢部と異なり、この部の間質性細胞は、+/+及びWs/Wsラットの両群において全く同様に観察されたので、以下にはWs/Wsラットにおける存在を証明する観察所見のみについて記載することとする。

ICC-DMP (図9) は、多数の大きなgap junctionを同種細胞間 (図9, 11) 及び平滑筋細胞 (図10) との間に形成することで特徴づけられる細胞である。輪走筋の走行と平行する細長い細胞体を有し、長円形の核周囲部には異型染色質が限局する。細胞質の電子密度は周囲の平滑筋よりもやや低く、細胞質中にはミトコンドリアが豊富で、ゴルジ装置や粗面小胞体も比較的良好に発達している。微小管や中間径フィラメントは豊富に観察される。ICC-APとは異なり細胞膜には連続した基底膜や多くのカベオレが認められる (図10)。細胞体や突起は、シナプス小胞を多数含む軸索膨大部と高頻度に密接する (図

11)。

深部筋神経叢部の線維芽細胞様細胞 (図12) は、アウエルバッハ部のものと同様、細胞質の電子密度のやや高い、粗面小胞体のよく発達した細胞である。細胞質にはゴルジ装置やミトコンドリアも観察される。カベオレや基底膜は認められない。しばしば、これらの細胞と近接して深部筋神経叢の神経束が存在する (図12)。また、周囲の平滑筋との間には小さなgap junctionを形成する (図12挿入図)。

研究II：正常及びW/W^Vマウス小腸における観察

2.1. 筋層の構造

マウス小腸筋層もラットと同様、内輪・外縦の平滑筋層よりなり、両筋層間にはアウエルバッハ神経叢が、輪走筋最内層側には深部筋神経叢が存在する (図13)。ラットの場合と同様、この二つの神経叢に付随して、それぞれ二型の間質性細胞が認められた。

2.2. アウエルバッハ神経叢部の間質性細胞

+/+マウス：ICC-APの細胞質は、通常、平滑筋よりも電子密度が低く、多数のミトコンドリアを有することで特徴づけられる (図14)。細胞体にはゴルジ装置や粗面小胞体に加え、滑面小胞体もよく発達している。核における異型染色質の集積は辺縁部に限局し、明調な長円形の核には核小体が明瞭である。基底膜は認められないが、カベオレはしばしば観察される (図15)。細胞体より伸長分枝する細い細胞質突起は、その先端で同種細胞間にgap junctionを形成する (図15, 16)。また、シナプス小胞を多数含んだ軸索膨大部と密接する像も観察される (図17)。

W/W^Vマウス：ICC-APは観察されなかった。

一方、線維芽細胞様細胞 (図18) は+/+マウスとW/W^Vマウスとの間に差はなく、

同様に認められた。これらは、開大した内腔に中等度の電子密度を有する物質を含む粗面小胞体のよく発達した細胞である。細胞質の電子密度は周囲の平滑筋に比べてやや高く、核には異型染色質が顕著である。細胞質中にはゴルジ装置やミトコンドリアも認められる。細胞膜に基底膜やカベオレは認められない。しばしば、これらの細胞に近接して神経束が認められる。また、周囲の平滑筋との間に小さなgap junctionを形成する像が観察される(図18)。ラット小腸アウエルバッハ部の線維芽細胞様細胞と同様、一つの線維芽細胞様細胞が、輪走・縦走両層の平滑筋とgap junctionを形成する像も観察された(図18)。

2.3. 深部筋神経叢部の間質性細胞

深部筋神経叢部の間質性細胞については、ラットと同様に、+/+マウスとW/W^Vマウスの間で細胞の分布、構造に違いは認められなかった。

ICC-DMPは通常、平滑筋よりも低い電子密度を示し、同種細胞間(図19, 20)、及び平滑筋細胞(図20 21)との間に大きなgap junctionを多数形成することで特徴づけられる。細胞全体に豊富な細胞小器官が散在し、突起の比較的先端部でもミトコンドリア等が認められる。細胞膜にはカベオレが多数存在し(図19)、基底膜も連続して観察される。細胞体の長軸は、輪走筋の長軸にほぼ平行する。また、この細胞は、深部筋神経叢の神経束に付随して観察されるのが常であり、シナプス小胞を多数含んだ軸索膨大部とは高頻度に密接する(図22)。

深部筋神経叢部においても、微細構造上、アウエルバッハ部の線維芽細胞様細胞と同じ特徴を示す細胞が認められる(図23)。また、この部位においても、平滑筋細胞との間に小さなgap junctionを形成する像が観察された(図23挿入図)。

研究III：正常マウス胃幽門前庭部における観察

マウス胃（幽門前庭部）においても、小腸と同様、アウエルバッハ神経叢部にICCと線維芽細胞様細胞の二型の間質性細胞が観察された。一方、胃には小腸の深部筋神経叢や結腸の筋層下神経叢に相当する神経叢は無く、輪走筋層には散在性に神経要素が見られるのみであり、これに付随して、輪走筋層内の二型の間質性細胞も散在性に認められた。

3.1. アウエルバッハ神経叢部の間質性細胞

マウス胃のICC-AP（図24, 25）は、細胞質の電子密度が平滑筋と同じかやや高く、細胞膜には、カベオレ、基底膜共に認められる点で特徴づけられる（図26）。多数のミトコンドリア、ゴルジ装置、粗面小胞体も観察される。細胞骨格としては中間径フィラメントが豊富で、特に突起の部分には顕著である（図28）。また、細胞体部（図24, 25）や突起の先端（図24, 28）で同種細胞間にgap junctionを形成するが、その頻度は、前述の小腸のICC-APよりも高い。細胞の全体的な特徴は、小腸のICCに比べ、より平滑筋に近いといえる。また、シナプス小胞を多数含む軸索膨大部に密接する像も観察された（図27）。

この部位においても、粗面小胞体のよく発達した、典型的な線維芽細胞様の特徴を有する細胞が識別された（図25）。細胞質の電子密度は、ICC-APの電子密度が高い分、それよりは幾分低めに観察される。尚、この部位でも、平滑筋細胞とのあいだに小さなgap junctionを形成する像が認められた（図25挿入図）。

3.2. 輪走筋層内の間質性細胞

輪走筋（circular muscle）層内に存在するICC（ICC-CM）は、この部位を走行する神経束に付随して観察される、電子密度のやや低い細胞である（図30）。同種細胞間（図29）、及び平滑筋（図30）との間に大きなgap junctionを多数形成することで特徴

づけられる。細胞質中にはミトコンドリア、ゴルジ装置、粗面小胞体及び滑面小胞体が豊富であり、突起の部分にも細胞小器官が見い出される。また、中間径フィラメントも豊富である（図29）。細胞膜にはカベオレが認められ、基底膜も観察される。

この部位にもICCとは容易に識別される、典型的な線維芽細胞様の特徴を有する細胞が存在する（図31）。ここでも、他の部位の線維芽細胞様細胞と同様に、平滑筋細胞との間に小さなgap junctionを形成する像が観察された（図31挿入図）。

考察

1. *c-kit* 発現細胞の微細形態学的同定

c-kit に突然変異を有し、消化管運動に異常の見られる *Ws/Ws* ラットおよび *W/W^V* マウスでは、それらの同腹正常ラット（マウス）の小腸アウエルバッハ神経叢部に観察される二型の間質性細胞の中、ミトコンドリアを豊富に含み、同種細胞間に大きな gap junction を形成する細胞が顕著に減少することが本研究によって明らかとなった。これまで、マウスにおける *c-Kit* receptor の阻害実験や（Torihashi et al., 1995）、*W/W^V* マウス（Ward et al., 1994; Huizinga et al., 1995; Malysz et al., 1996）、*Sl/Sl^d* マウス（Ward et al., 1995; Mikkelsen et al., 1998）では、メチレン青に染まる ICC-AP 細胞網の欠損と slow wave の消失が認められていることから、この細胞が、slow wave を発生する *c-kit* expressing cell であり、ICC-AP に相当するものと同定した。自発的電位変化を恒常的に発生するペースメーカー細胞ではエネルギーの十分な供給が要求されることは推測に難くないが、ICC-AP の豊富なミトコンドリアの存在はその機能を裏付けるものであろう。また、gap junction は、全体として調和のとれた運動を実現するために不可欠な細胞間連絡路と考えられる。

小腸 ICC-AP は、これまでヒトを含む数種の動物において記載されてきたが（表 2）、動物種間で異なる特徴を示し、マウス（Thuneberg 1982）やヒト（Faussone-Pellegrini & Cortesini 1983; Rumessen & Thuneberg 1991）の ICC-AP には細胞膜にカベオレや基底膜の存在が報告される一方、ラット（Komuro 1989; 本研究）やモルモット（Komuro & Zhou 1996）にはどちらも認められていない。カベオレや基底膜は平滑筋細胞（共に存在）と線維芽細胞（通常、どちらも存在しない）を識別する重要な細胞学的特徴であると考えられてきたこともあり、上記のような動物種間での矛盾は、

表2. 小腸ICC-APの微細構造の比較

Species	BL	Cv	Mt	IF	GJ	NC
Mouse ¹	+	++	++	++	+	+
Rat ^{2,3}	-	-	++	+	+	-
Guinea-pig ⁴	-	-	++	++	+	+
Dog ⁵	+	++	++	+	+	+
Human ⁶	+	++	++	++	-	++

++: abundant, distinct +: present -: absent /: no description

BL: basal lamina, Cv: caveolae, Mt: mitochondria, IF: intermediate filament, GJ: gap junction, NC: close contact with nerve

1: Thuneberg 1982, 2: Komuro 1989, 3: Horiguchi & Komuro 1998, 4: Komuro & Zhou 1996, 5: Daniel et al., 1998, 6: Rumessen & Thuneberg 1991

ICC-APの細胞学的同定に関して、大きな混乱を与えてきた。本研究においては、c-Kitを特異標識として利用することにより、微細構造のみによるICC同定の議論に一つの解答を与え、マウス、ラットの小腸ICC-APに見られたカベオレの有無の差は種差によるものであることを明確に示したと言えよう。

ところで、深部筋神経叢部には二型の間質性細胞が、正常およびc-kit 突然変異動物どちらにおいても変わりなく観察されたが、正常動物でc-Kit免疫染色陽性の、この部位に固有の細胞は、大きなgap junctionを形成し、基底膜やカベオレを持つ細胞であるところから、この細胞がICC-DMPに相当するものと推定した。同様の観察はW/W^Vマウス

(Malysz et al., 1996)、Sl/Sl^dマウス (Ward et al., 1995) でも報告されており、正常な消化管運動の障害されたこれらの突然変異動物においてもICC-DMPは正常に存在する

ことから、ICC-DMPはペースメーカー機能には関与しないものと考えられる。ICC-DMPは豊富な神経支配を受け、同種細胞間、及び平滑筋細胞との間に大きなgap junctionを多数形成することから (Rumessen et al., 1982; Zhou & Komuro 1992 a, b; Komuro & Seki 1995) 、おそらくは Thuneberg (1982) の示唆するように、神経と筋の間をつなぐ刺激伝達機構として機能するものであろう。

ICCが神経と効果器の間に介在して刺激伝達に寄与するという考えは、元来Cajal (1911) によって示唆されたものであるが、上記の微細構造上の特徴に加え、これを更に支持する報告が提出され始めている。モルモットICC-DMPについて、Portburyら (1996) は、これらがtachykininの受容体として知られるニューロキニン1 (NK₁) 受容体を発現することを報告しており、Tomaら (1999) はこれらがNitric Oxide (NO) 陽性線維と近接することを報告している。

ICC-DMPの微細構造上の特徴に関しては表3に示してあるが、いずれの動物においても、大きなgap junctionを多数形成することに加え、カベオレ、基底膜を共にもつなど、一様にICC-APよりも平滑筋に近い特徴を有するといえる。しかしながら、ICC-DMPにおいても種差は報告されており、イヌでは太い (ミオシン型) フィラメントの存在が報告されている一方 (Torihashi et al., 1993) 、本研究を含めて他の動物種では観察されていない。また、モルモット (Zhou & Komuro 1992 a, b) のICC-DMPには、微細構造上二型のsubtypeが推定されており、その内の一型は多量のグリコゲンを含むことが観察されている。尚、ICC-DMPのsubtypeの可能性については、ラットにおいても推定されているが (Seki & Komuro 1998) 、報告が限られていることから、極めて興味深い点を含んでいるものの、一般化するには今後の幅広い観察が必要と思われる。

表3. 小腸ICC-DMPの微細構造の比較

Species	BL	Cv	Mt	IF	GJ	NC
Mouse ¹	++	++	++	+	++	++
Rat ^{2,3}	++	++	++	+	++	++
Guinea-pig ^{4,5}	++	++	++	++	++	++
Dog ⁶	+	++	++	++	++	++
Human ⁷	++	++	++	++	++	++

表中の略語と記号については表2に同じ

1: Rumessen et al., 1982, 2: Komuro & Seki 1995, 3: Horiguchi & Komuro 1998, 4: Zhou & Komuro 1992 a, 5: Zhou & Komuro 1992 b, 6: Torihashi et al., 1993, 7: Rumessen et al. 1992

2. ICCの器官特異性について

ICCの細胞学的同定の際に問題となる点については、動物種差に加えて、消化管の異なる部位に存在するICCの形態学的な差異があげられる。本研究においても、同一の動物種（マウス）の小腸と胃のICC-APでは異なる微細構造を示し、後者では多くのカベオレや基底膜、非常に発達した中間径フィラメントをもち、より平滑筋に近い特徴を有していることが明らかとなった。小腸と同様、胃においてもslow waveが記録され、ICC-APがその発生源、すなわちペースメーカーと推察されているが（Dickens et al., 1999; Ördög et al., 1999）、ペースメーカーとして同一の機能を有するICC-APが、小腸と胃で形態学的差を示すことは両器官の運動の違いを反映するものと考えられ、注目に値する。

胃のICC-APについては、ヒト（Faussone-Pellegrini et al., 1989）、ラット（石

川 1999)、モルモット (Komuro 1999) において報告されているが、マウスとの相違点を挙げると、ラットやモルモットの胃ICC-APでは基底膜を欠き、ヒトでは基底膜は有するが、gap junctionは形成しないという。

一方、マウス胃、輪走筋層内のICC (ICC-CM) については、NO作動性神経からの入力を筋へ伝えるneuromediatorとしての機能が示唆されており (Burns et al., 1996; Ward et al., 1998)、機能的には、小腸のICC-DMPに相当する細胞と考えられている。胃ICC-CMについては、イヌ (Daniel et al., 1984, 1989)、ヒト (Faussone-Pellegrini et al., 1989)、ラット (Ishikawa et al., 1997) 及びモルモット (Komuro 1999) などの報告がある。これらは、gap junctionを多数形成し、神経束と密接して観察される細胞であるという共通点を有しているが、各々の種特異性・器官特異性を論ずるには、更なる検索を必要とするものと思われる。

さて、ここで小腸と並びICCの研究が進んでいる結腸について言及したい。結腸ではICCはアウエルバッハ神経叢部、輪走筋層内に加えて、筋層下神経叢 (submuscular plexus; SMP) に付随して存在する (ICC-SMP)。各器官におけるICCの分布については図32に示す。

胃や小腸と異なり、結腸においては輪走筋最内層部にペースメーカーが存在することが早くから示唆されており (Christensen et al., 1969)、ここに見られるICC-SMPがペースメーカー細胞であると考えられてきた (Berezin et al., 1988; Du & Conklin 1989; Conklin & Du 1990; Serio et al., 1991; Liu et al., 1992, 1993)。微細構造的には、ICC-SMPはカベオレや基底膜を有し、同種細胞間及び平滑筋との間に多数のgap junctionを形成するなど、小腸ICC-DMPと同様、平滑筋に近い特徴を有するとみられる (Faussone-Pellegrini 1985; Berezin et al., 1988; Ishikawa & Komuro 1996)。

一方、結腸のICC-APについては、家兔 (Komuro 1982)、マウス (Faussone-Pellegrini 1987 a)、イヌ (Berezin et al., 1990; Torihashi et al., 1994)、ヒト

(Fausson-Pellegrini et al., 1990)、モルモット (Komuro 1999) で記載されているが、動物種差が大きい。家兎の結腸ICC-APは基底膜・カベオレ共に欠き、粗面小胞体によく発達した、微細構造上、線維芽細胞に酷似した細胞である。マウスやヒトの結腸ICC-APはカベオレは存在するが基底膜を欠いている。一方イヌ結腸では、カベオレ・基底膜両方の存在が報告されている。これら結腸ICC-APの機能については、二次的なペースメーカーとしての役割が示唆されている (Smith et al., 1987; Barajas-López et al., 1989)。

結腸のICC-CMに関しては、ヒト (Rumessen et al., 1993 b) やラット (石川と小室 1998)、モルモット (Komuro 1999) で報告されており、神経束と高頻度に密接し、平滑筋細胞との間にgap junctionを多数形成することから、小腸のICC-DMPや胃のICC-CMと同様に、神経と筋の間をつなぐ、刺激伝達機構として働いていると思われる。

3. ICCの分化・成熟におけるKit-SCF系の役割

Maedaら (1992) は、Balb/cマウスに生後0日から8日目まで1日おきにc-Kitの抗体 (ACK2) を腹腔内投与 (一回100 μ g以上) するとICCが出現しないことを観察し、ICCの生後発生にc-Kitが重要な役割を果たすことを示唆した。一方、Bernexら (1996) は、c-kit遺伝子にlacZ遺伝子を組み込むことによりc-Kitの機能を失ったトランスジェニックマウス (*wlacZ/wlacZ*) においても、胎生期ではこの遺伝子を発現する細胞が正常に存在する (lacZ遺伝子の発現は β ガラクトシダーゼ組織化学により同定される) ことを報告し、この結果から、ICCの胚発生においてはKit signalingは重要ではないと結論した。これに対し、Wardら (1999) は、成熟マウスの小腸において、長期 (35日間) にわたってKit signalingが阻害されるとICCが消失することを示し、成熟後のICCの表現型の維持にもKit signalingが関与していることを示唆した。以上の報告から、ICCのc-Kitに依存する期間の問題は、胎生期から成熟後までに拡大して考える必要があるものと推定さ

れるが、この点については、今後、更なる検討を要するものと思われる。

また、ICCのc-Kit依存性については、その細胞発生の時期的問題に加えて、分布する組織部位による相違が考えられる。本研究において、*Ws/Ws*ラットや*W/W^V*マウスの小腸ICC-APは消失するが、ICC-DMPは正常に存在することが示された。このことは、小腸のICC-DMPの分化・成熟におけるc-Kit依存度は無いか低いことを示唆している。石川と小室（1998）は、*Ws/Ws*ラットの結腸において、ICC-CMとICC-APは消失するが、ICC-SMPは正常に存在することを示した。*W/W^V*マウスの胃では、ICC-CMは消失しICC-APは残存することが報告されているが（Burns et al., 1996; Ward et al., 1998）、*Ws/Ws*ラットの胃では、ICC-CM、ICC-AP共に消失する、という（石川1999）。これらの報告は図32に模式的に示してあるが、消化管の部位によるICCのc-Kit依存度の違いは非常に興味ある問題であり、その生物学的意義の解明は今後の大きな課題であろう。

ところで、ICCの発生学的研究における重要な問題は、その細胞学的起源である。緒言に述べたように、古くは、ICCを神経細胞ないしはシュワン細胞と考える研究者が多かったが、その後の電子顕微鏡的観察では、ICCを“結合組織性細胞”ないしは平滑筋に近い細胞として考えるものがほとんどであり、非神経性の細胞とする考えが大勢を占めてきた。しかしながら、ICCは、シュワン細胞と同様S-100蛋白を含む、グリア性の細胞であると主張する報告もあり（Kobayashi et al., 1986）、ICCの神経-非神経性両説をめぐる議論は、ごく最近まで続いてきたとあってよい。この点に関し、Lecoinら（1996）は、ウズラとニワトリのキメラを用いて、鳥類のc-Kit発現細胞が神経堤由来ではないことを示した。また、Youngら（1996）は、神経堤が遊走してくる前に摘出され、腎被膜下で器官培養されたマウス無神経節腸管においてもc-Kit発現細胞は正常に分化することを示し、哺乳類でもICCが神経堤由来ではないことを示した。

それでは、ICCは、非神経性のいかなる細胞に近縁の細胞であろうか？ 前述

(「1. c-kit発現細胞の微細形態学的同定」の項) したように、ICC-DMPが微細形態上、平滑筋に極めて近い特徴を有していることは広く受け入れられつつある一方、ICC-APは、基底膜を欠き、カベオレも顕著ではなく、より線維芽細胞に近い特徴を有しているといえよう。このことから、小腸ICC-DMPは平滑筋に近縁の細胞であり、ICC-APは線維芽細胞に近縁の細胞であるとも可能である。しかしながら、両者は微細構造上、ミトコンドリアを豊富にもち、ゴルジ装置や滑面小胞体などの細胞小器官が充実している点で共通し、細胞質突起を伸長し、大きなgap junctionを形成することでも一致する。さらに、その依存度に差はあるが、いずれもc-Kitを発現するという共通点を併わせもっている。これらの共通点を考慮に入れると、むしろ両者は同じ細胞型に属するものと見做すべきものと思われる。

この点において、両者の形態学的差異を、その細胞分化の時期の差に依存したものと考えることはできないであろうか。両者が平滑筋と共通の間葉系細胞に由来し、ICC-APは発生の早い段階で平滑筋から分化し、ICC-DMPはより発生の進んだ段階で平滑筋から分化すると想定する時、後者が平滑筋により近い特徴を多く有することは充分考えられよう。このことは、ICC-DMPは出生直後では極めて未分化な状態であるのに対し、ICC-APは出生直後でもある程度成熟個体のものに近い形態を示すという、マウス小腸の研究 (Faussone-Pellegrini 1984, 1985) とも符合する。また、両生類のウシガエル *Rana catesbeiana* の十二指腸には、微細構造上ICC-APに相当する細胞は存在するが、ICC-DMPにあたる細胞は認められない (堀口, 未発表) ことから、ICC-DMPは系統発生的にも新しい細胞であると推定される。更に、最近の、c-Kitを標識として用いたマウス小腸の発生学的研究 (Torihashi et al., 1997) では、胎生12.5日で、将来縦走筋となる細胞層にc-Kitが発現し、これらのうち、神経節 (消化管筋層におけるSCF産生源の一つと考えられる) に面した細胞はそのままc-Kitを発現し続けICC-APとなり、それ以外のもはc-Kitを発現しなくなり、縦走筋へと分化することが示されている。未だICC-DMP

の細胞分化過程を示す研究には乏しいが、同様の研究を通して、多様な特徴を示す異なる細胞型のICCが一元的、統一的に理解される時を期待したい。

4. 消化管運動調節機構における線維芽細胞様細胞の役割

本研究では、観察を行った各部位において、ICCとは別に、典型的な線維芽細胞様の微細構造を示す細胞が識別された。また、これらの細胞は、今回検索した全ての部位において、平滑筋細胞との間に小さなgap junctionを形成していた。線維芽細胞様細胞と平滑筋との間のgap junctionについては、これまでラット小腸 (Komuro 1989; Komuro & Seki 1995)、モルモット小腸 (Zhou & Komuro 1992 a, b) 及びラット胃 (Ishikawa et al., 1997) において記載されてきたが、マウスにおいてはこうした構造の存在は否定的であった (Thuneberg 1982; Rumessen et al., 1982)。本研究の結果は、マウスにおける従来の報告を修正し、線維芽細胞様細胞-平滑筋細胞間のgap junctionの存在の一般化を強く指示するものと考えられる。

ここで、これらのgap junctionの同定の問題について言及しておきたい。線維芽細胞様細胞の形成するgap junctionは通常、極めて小さいため、それらは、gap junctionの微細形態学的な同定基準である、2-3nmの細胞間隙を有する典型的な7層構造 (Bennett et al., 1991) を呈さないことも多い。また、gap junctionの同定には、しばしば凍結切断法が用いられ、gap junctionチャネルを形成するコネクソン粒子の集積として捉えられるが、散在する細胞の同定とgap junction部位の同定を同時に必要とする本課題のような問題の解決には適さない。

一方、哺乳類におけるgap junction以外の細胞間接着装置は、大別すると次の二種類に分けられる。1つは隣接細胞の細胞膜の外葉同士が密着する結合様式 (閉鎖結合 *zonula occludense* または *tight junction*) であり、もう1つは、15~20nmの細胞間隙を有する結合様式 (接着帯 *zonula adherense*, 接着斑 *macula adherense*, 化学シナプ

ス chemical synapse) である。線維芽細胞様細胞と平滑筋細胞との間の結合は非常に小さく、電子顕微鏡切片においては点状にしか見えないこともしばしばであるが、その細胞間隙は明らかに15~20nmよりは小さく、せいぜい数nmである。今日の細胞学的常識に照らし合わせたとき、これらの構造はgap junctionであると考えるのがもっとも妥当であろう。

さて、線維芽細胞様細胞は神経線維に近接して観察されることが多く、シナプス小胞を多数含む軸索膨大部との間にシナプス様の構造を作ることも報告されている (Zhou & Komuro 1992 b)。線維芽細胞様細胞は、神経刺激を平滑筋に伝えるmediatorとして、小腸ICC-DMPや胃ICC-CMとは異なる経路を与えているのかもしれない。この点に関して、ICCが消化管の部位や動物種によって微細形態学的に差異を示すのに対し (Fausone-Pellegrini 1987 b; Thuneberg 1989; Christensen 1992; Komuro et al., 1996)、線維芽細胞様細胞は、存在部位や種差によらずほぼ一定の構造を示すことに注意したい。線維芽細胞様細胞は、消化管運動調節機構において、ICCよりも基本的な役割を果たしているのではないだろうか。

ところで、腸管の輪走筋層と縦走筋層は電氣的に協調していることが知られているが (Smith et al., 1987)、両筋層間を連結する機構については明らかになっていない。本研究では、ラット及びマウスの小腸において、1つの線維芽細胞様細胞が輪走・縦走両筋層の平滑筋との間にgap junctionを形成している像が示されたが、これは両筋層間の電氣的連結を説明するのに適した構造と考えられる。消化管運動調節機構における線維芽細胞様細胞の役割については不明な点が多いが、その機能の解明には、本研究で与えられた形態学的基盤に基づいた生理・薬理学的研究が必要であると思われる。

まとめ

近年、消化管運動調節機構への関与が示唆され注目を集めるようになったICCについては、これまで多くの動物種において記載がなされてきたが、その微細形態学的同定に関しては研究者間で一致した見解が得られてこなかった。本研究では、消化管運動に異常が見られ、ICC-APの欠失することが示唆されている*c-kit* 突然変異ラットと同腹正常ラットの比較により、小腸ICC-APの微細構造が明瞭に示された。更に、本研究の結果から、小腸においてはICC-APが*c-kit* 発現細胞であり、ペースメーカー機能を有することが推定された。一方、*c-kit* 突然変異動物においてもICC-DMPは正常に存在することも示され、ICCの発生・分化における*c-kit* 依存性に差があることも明かとなった。小腸運動に異常の見られる*c-kit* 突然変異動物においてもICC-DMPは正常に存在することから、これらの細胞がペースメーカー機能を有するとは考えにくいだが、その微細構造上の特徴からICC-DMPは神経と筋の間を繋ぐ刺激伝達機構として働くことが示唆された。ICCのneuromediatorとしての機能は、元来Cajalによって示唆されたものであるが、形態学的研究に加え、近年の生理・薬理学的研究の進展により再評価されてきている (Sanders 1996; Huizinga et al., 1997)。

また、本研究では、マウス小腸及び胃における検索により、ICCの種差及び消化管の部位による差が確認された。とりわけ、小腸と胃のICC-AP間では、同一動物種においても、基底膜やカベオレ、細胞質の電子密度、gap junctionの形成頻度など、差異の大きいことが明らかとなった。こうした微細構造上の差異は、運動様式の違いを反映したものと考えられるが、興味深い問題である。

更に、今回観察を行ったすべての部位において、ICCとは別に、典型的な線維芽細胞様の微細構造を示す細胞が識別された。これらの細胞は平滑筋との間に小さなgap junctionを形成しており、消化管運動の調節に関与していることが示唆された。従来の細

胞学的常識では、線維芽細胞がgap junctionを形成するとは考えられておらず、消化管運動調節機構への関与については否定的な報告も多いが、その一方で、線維芽細胞は身体の様々な組織において幅広い機能を有する細胞に分化する可能性を有することが提唱されている (Komuro 1990)。消化管筋層における線維芽細胞様細胞の役割については不明な点が多く、その機能の解明には今後更なる検索が必要であると考えている。

引用文献

- Barajas-López C, Berezin I, Daniel EE, Huizinga JD (1989) Pacemaker activity recorded in interstitial cells of Cajal of the gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 257: C830-C835
- Bayliss WM, Starling EH (1899) The movements and innervation of the small intestine. *J Physiol* 24: 99-143
- Bennett MV, Barrio LC, Bargiello TA, Spray DC, Herzberg E, Sáez C (1991) Gap junctions: new tools, new answers, new questions. *Neuron* 6: 305-320.
- Berezin I, Huizinga JD, Daniel EE (1988) Interstitial cells of Cajal in the canine colon: A special communication network at the inner border of the circular muscle. *J Comp Neurol* 273: 42-51
- Berezin I, Huizinga JD, Daniel EE (1990) Structural characterization of interstitial cells of Cajal in myenteric plexus and muscle layers of canine colon. *Can J Physiol Pharmacol* 68: 1419-1431
- Berezin I, Daniel EE, Huizinga JD (1994) Ultrastructure of interstitial cells of Cajal in the canine distal esophagus. *Can J Physiol Pharmacol* 72: 1049-1059
- Bernex F, De Sepulveda P, Kress C, Elbaz C, Delouis C, Panthier JJ (1996) Spatial and temporal patterns of *c-kit*-expressing cells in *WlacZ/+* and *WlacZ/WlacZ* mouse embryos. *Development* 122: 3023-3033
- Bernstein SE (1970) Tissue transplantation as an analytic and therapeutic tool in hereditary anemias. *Am J Surg* 119: 448-451
- Boeke J (1935) Innervationsstudien. VII. Der sympathische Darmplexus (Plexus entericus) von *Amphioxus lanceolatus* und die Bedeutung der „interstitiellen Zellen“ und der Synapsen für den sympathischen Grundplexus. *Z Mikrosk Anat Forsch* 38: 554-593
- Boeke J (1940) *Problem of Nervous Anatomy*. Oxford Univ Press, London, pp1-164
- Bortoff A (1965) Electrical transmission of slow waves from longitudinal to circular intestinal muscle. *Am J Physiol* 209: 1254-1260
- Bortoff A (1972) Digestion: motility. *Ann Rev Physiol* 34: 261-290
- Bortoff A (1976) Myogenic control of intestinal motility. *Physiol Rev* 56: 418-434
- Brannan CI, Lyman SD, Williams DE, Eisenman J, Anderson DM, Cosman D, Bedell MA, Jenkins NA, Copeland NG (1991) Steel-Dickie mutation encodes *c-kit* ligand lacking transmembrane and cytoplasmic domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 4671-4674
- Burns AJ, Lomax AEJ, Torihashi S, Sanders KM, Ward SM (1996) Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 12008-12013

- Cajal SR (1893) Sur les ganglions et plexus nerveux de l'intestin. *Compt Rend Soc Biol Paris* 45: 217-223
- Cajal SR (1911) *Histologie du systeme nerveux de l'homme et des vertebres. Tome 2* Paris Maloine
- Chabot B, Stephenson DA, Chapman VM, Besmer P, Bernstein A (1988) The proto-oncogene *c-kit* encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse *W* locus. *Nature* 335: 88-89
- Christensen J (1992) A commentary on the morphological identification of interstitial cells of Cajal in the gut. *J Auton Nerv Syst* 37: 75-88
- Christensen J, Caprilli R, Lund G (1969) Electrical slow waves in circular muscle of cat colon. *Am J Physiol* 217: 665-689
- Conklin JL, Du C (1990) Pathways of slow-wave propagation in proximal colon of cats. *Am J Physiol* 258: G894-G903
- Conner JA, Kleulen D, Prosser CL, Weigel R (1977) Interaction between longitudinal and circular muscle in intestine of cat. *J Physiol* 273: 665-689
- Costa M, Furness JB, Llewellyn-Smith I (1987) Histochemistry of the enteric nervous system. In: Johnson LR (ed) *Physiology of the gastrointestinal tract*, second edition, Raven Press, New York, PP 1-40
- Daniel EE, Sakai Y, Fox JET, Posey-Daniel V (1984) Structural basis for function of circular muscle of canine corpus. *Can J Physiol Pharmacol* 62: 1304-1314
- Daniel EE, Berezin I, Allescher HD, Manaka H, Posey-Daniel V (1989) Morphology of the canine pyloric sphincter in relation to function. *Can J Physiol Pharmacol* 67: 1560-1573
- Daniel EE, Wang YF, Cayabyab FS (1998) Role of gap junctions in structural arrangements of interstitial cells of Cajal and canine ileal smooth muscle. *Am J Physiol* 274: G1125-G1141
- Dickens EJ, Hirst GDS, Tomita T (1999) Identification of rhythmically active cells in guinea-pig stomach. *J Physiol* 514: 515-531
- Du C, Conklin JL (1989) Origin of slow waves in the isolated proximal colon of the cat. *J Auton Nerv Syst* 28: 167-178.
- Faussone-Pellegrini MS (1984) Morphogenesis of the special circular muscle layer and of the interstitial cells of Cajal related to the plexus muscularis profundus of mouse intestinal muscle coat An EM study. *Anat Embryol* 169: 151-158.
- Faussone-Pellegrini MS (1985) Cytodifferentiation of the interstitial cells of Cajal related to the myenteric plexus of mouse intestinal muscle coat. An EM study from fetal to adult life. *Anat Embryol* 171: 163-169

- Faussone-Pellegrini MS (1987a) Cytodifferentiation of the interstitial cells of Cajal of mouse colonic circular muscle layer. An EM study from fetal to adult life. *Acta Anat* 128: 98-109
- Faussone-Pellegrini MS (1987b) Comparative study of interstitial cells of Cajal. *Acta Anat* 130: 109-126
- Faussone-Pellegrini MS, Cortesini C (1983) Some ultrastructural features of the muscular coat of human small intestine. *Acta Anat* 115: 47-68
- Faussone-Pellegrini MS, Cortesini C (1984) Ultrastructural peculiarities of the inner portion of the circular layer of colon. I. Research in the human. *Acta Anat* 120: 185-189
- Faussone-Pellegrini MS, Cortesini C, Romagnoli P (1977) Sull'ultrastrutture della tunica muscolare della porzione cardiaca dell'esofago e dello stomaco umano con particolare riferimento alle cosiddette cellule interstiziali di Cajal. *Arch Ital Anat Embriol* 82: 157-177
- Faussone-Pellegrini MS, Pantalone D, Cortesini C (1989) An ultrastructural study of the interstitial cells of Cajal of the human stomach. *J Submicrosc Cytol Pathol* 21: 439-460
- Faussone-Pellegrini MS, Pantalone D, Cortesini C (1990) Smooth muscle cells, interstitial cells of Cajal and myenteric plexus interrelationships in the human colon. *Acta Anat* 139: 31-44
- Flanagan JG, Chan DC, Leder P (1991) Transmembrane form of the kit ligand growth factor is determined by alternate splicing and is missing in the *Sld* mutant. *Cell* 64: 1025-1035
- Geissler EN, Ryan MA, Houseman DE (1988) The dominant white spotting (*W*) locus of the mouse encodes the *c-kit* proto-oncogene. *Cell* 55: 185-192
- Hara Y, Kubota M, Szurszewski JH (1986) Electrophysiology of smooth muscle of the small intestine of some mammals. *J Physiol* 372: 501-520
- Horiguchi K, Komuro T (1998) Ultrastructural characterization of interstitial cells of Cajal in the rat small intestine using control and *Ws/Ws* mutant rats. *Cell Tissue Res* 293 :277-284
- Huizinga JD, Thuneberg L, Klüppel M, Malysz J, Mikkelsen HB, Bernstein A (1995) *W/kit* gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature* 373: 341-349
- Huizinga JD, Thuneberg L, Vanderwinden JM, Rumessen JJ (1997) Interstitial cells of Cajal as targets for pharmacological intervention in gastrointestinal motor disorders. *Trends Pharmacol Sci* 18: 393-403
- Imaizumi M, Hama K (1969) An electron microscopic study on the interstitial cells of the gizzard in the love-bird (*Uroloncha domestica*). *Z Zellforsch* 97: 351-357
- 石川浩一 (1999) カハールの介在細胞の細胞組織学的検討. 博士 (人間科学) 学位論文. 早稲田大学大学院人間科学研究科

- Ishikawa K, Komuro T (1996) Characterization of the interstitial cells associated with the submuscular plexus of the guinea-pig colon. *Anat Embryol* 194: 49-55
- 石川浩一, 小室輝昌 (1998) 消化管運動調節にかかわる*c-kit*発現細胞の細胞学的特性.
-Ws/Ws突然変異ラットを用いた研究- ヒューマンサイエンス 11: 65-72
- Ishikawa K, Komuro T, Hirota S, Kitamura Y (1997) Ultrastructural identification of the *c-kit*-expressing interstitial cells in the rat stomach: a comparison of control and *Ws/Ws* mutant rats. *Cell Tissue Res* 289: 137-143
- Isozaki K, Hirota S, Nakama A, Miyagawa J, Shinomura Y, Xu Z, Nomura S, Kitamura Y (1995) Disturbed intestinal movement, bile reflux to the stomach, and deficiency of *c-kit*-expressing cells in *Ws/Ws* mutant rats. *Gastroenterology* 109: 456-464
- Jabonero V (1965) Mikrophotographische Darstellung der wirklichen interstitiellen Zellen von Cajal. *Acta Neuroveg* 27: 496-510
- Kobayashi S, Suzuki M, Endo T, Tsuji S, Daniel EE (1986) Framework of the enteric nerve plexuses: an immunocytochemical study in the guinea pig jejunum using an antiserum to S-100 protein. *Arch Histol Jpn* 49: 159-188
- Komuro T (1982) The interstitial cells in the colon of the rabbit: scanning and transmission electron microscopy. *Cell Tissue Res* 222: 41-51
- Komuro T (1989) Three-dimensional observation of the fibroblast-like cells associated with the rat myenteric plexus, with special reference to the interstitial cells of Cajal. *Cell Tissue Res* 255: 343-351
- Komuro T (1990) Re-evaluation of fibroblasts and fibroblast-like cells. *Anat Embryol* 182: 130-112
- Komuro T (1999) Comparative morphology of interstitial cells of Cajal. *Mikrosc Res Tech* (in press)
- Komuro T, Seki K (1995) Fine structural study of interstitial cells associated with the deep muscular plexus of the rat small intestine, with special reference to the intestinal pacemaker cells. *Cell Tissue Res* 282: 129-134
- Komuro T, Zhou DS (1996) Anti-*c-kit* protein immunoreactive cells corresponding to the interstitial cells of Cajal in the guinea-pig small intestine. *J Auton Nerv Syst* 61: 169-174
- Komuro T, Tokui K, Zhou DS (1996) Identification of the interstitial cells of Cajal. *Histol Histopathol* 11: 769-786
- Langley JN (1921) *The autonomic nervous system*. W. Heffer & Sons, Cambridge
- La Villa J (1897) Estructura de los ganglios intestinales. *Rev Trimestr Micrograf* 2: 187-192
- La Villa J (1898) Estructura de los ganglios intestinales. *Rev Trimestr Micrograf* 3: 1-13

- Lawrentjew (1926) Über die Verbreitung der nervösen Elemente Ceinschließlich der "interstitiellen Zellen" (Cajals) in der glatten Muskulatur, ihre Endigungsweise in den glatten Muskelzellen. *Z Mikrosk Anat Forsch* 6: 467-488
- Lecoin L, Gabella G, Le Douarin N (1996) Origin of the *c-kit*-positive interstitial cells in the avian bowel. *Development* 122: 725-733
- Liu J, Prosser CL, Job DD (1969) Ionic dependence of slow waves and spikes in intestinal muscle. *Am J Physiol* 217: 1542-1547
- Liu LWC, Huizinga JD (1993) Electrical coupling of circular muscle to longitudinal muscle and interstitial cells of Cajal in canine colon. *J Physiol* 470: 445-461
- Liu LWC, Daniel EE, Huizinga JD (1992) Excitability of canine colon circular muscle disconnected from the network of interstitial cells of Cajal. *Can J Physiol Pharmacol* 70: 289-295
- Liu LWC, Thuneberg L, Daniel EE, Huizinga JD (1993) Selective accumulation of methylene blue by interstitial cells of Cajal in canine colon. *Am J Physiol* 264: G64-G73
- Liu LWC, Thuneberg L, Huizinga JD (1994) Selective lesioning of interstitial cells of Cajal by methylene blue and light leads to loss of slow waves. *Am J Physiol* 266: G485-G496.
- Maeda H, Yamagata A, Nishikawa S, Yoshinaga K, Kobayashi S, Nishi K, Nishikawa S (1992) Requirement of *c-kit* for development of intestinal pacemaker system. *Development* 116: 369-375
- Malysz J, Thuneberg L, Mikkelsen HB, Huizinga JD (1996) Action potential generation in the small intestine of *W* mutant mice that lack interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol* 271: G387-G399
- McCulloch EA, Siminovitch L, Till JE, Russell ES, Bernstein SE (1964) The cellular basis of the genetically determined hemopoietic defect in anemic mice of genotype *Sl/Sl^d*. *Blood* 26: 399-410
- Mikkelsen HB, Malysz J, Huizinga JD, Thuneberg L (1998) Action potential generation, Kit receptor immunohistochemistry and morphology of *steel-Dickie (Sl/Sl^d)* mutant mouse small intestine. *Neurogastroenterol Mot* 10: 11-26
- Nocka K, Tan JC, Chiu TY, Ray P, Traktman P, Besmer P (1990) Molecular basis of dominant negative and loss of function mutations at the murine *c-kit*/white spotting locus: *W³⁷*, *W^v*, *W⁴¹* and *W*. *EMBO Journal* 9: 1805-1813
- Ördög T, Ward SM, Sanders KM (1999) Interstitial cells of Cajal generate electrical slow waves in the murine stomach. *J Physiol* 518: 257-269

- Portbury AL, Furness JB, Young HM, Southwell BR, Vigna SR (1996) Localization of NK1 receptor immunoreactivity to neurons and interstitial cells of the guinea-pig gastrointestinal tract. *J Comp Neurol* 367: 342-351
- Richardson KC (1958) Electronmicroscopic observations on Auerbach's plexus in the rabbit, with special reference to the problem of smooth muscle innervation. *Am J Anat* 103: 99-135
- Rogers DC, Burnstock G (1966) The interstitial cell and its place in the concept of the autonomic ground plexus. *J Comp Neurol* 126: 255-284
- Rumessen JJ (1994) Identification of interstitial cells of Cajal. Significance for studies of human small intestine and colon. *Dan Med Bull* 41: 275-293
- Rumessen JJ, Thuneberg L (1991) Interstitial cells of Cajal in human small intestine. Ultrastructural identification and organization between the main smooth muscle layers. *Gastroenterology* 100: 1417-1431
- Rumessen JJ, Thuneberg L, Mikkelsen HB (1982) Plexus muscularis profundus and associated interstitial cells. II. Ultrastructural studies of mouse small intestine. *Anat Rec* 203: 129-146
- Rumessen JJ, Mikkelsen HB, Thuneberg L (1992) Ultrastructure of interstitial cells of Cajal associated with deep muscular plexus of human small intestine. *Gastroenterology* 102: 56-68
- Rumessen JJ, Mikkelsen HB, Qvørtrup K, Thuneberg L (1993 a) Ultrastructure of interstitial cells of Cajal in circular muscle of human small intestine. *Gastroenterology* 104: 343-350
- Rumessen JJ, Peters S, Thuneberg L (1993 b) Light- and electron microscopical studies of interstitial cells of Cajal and muscle cells at the submucosal border of human colon. *Lab Invest* 68: 481-495
- Russell ES (1979) Hereditary anemias of the mouse: a new tool for geneticists. *Adv Gen* 20: 357-459
- Sanders KM (1996) A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 111: 492-515
- Seki K, Komuro T (1998) Further observation of the gap junction-rich cells in the deep muscular plexus of the rat small intestine. *Anat Embryol* 197: 135-141
- Serio R, Barajas-López C, Daniel EE, Berezin I, Huizinga JD (1991) Slow-wave activity in colon: role of network of submucosal interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol* 260: G636-G645
- Smith TK, Reed JB, Sanders KM (1987) Origin and propagation of electrical slow waves in circular muscle of the canine proximal colon. *Am J Physiol* 252: C290-C299
- Suzuki N, Prosser CL, Dahms V (1986) Boundary cells between longitudinal and circular layers: essential for electrical slow waves in cat intestine. *Am J Physiol* 250: G287-G294
- Taylor AB, Kreulen D, Prosser CL (1977) Electron microscopy of the connective tissues between

- longitudinal and circular muscle of small intestine of cat. *Am J Anat* 150: 427-442
- Thuneberg L (1982) Interstitial cells of Cajal: intestinal pacemaker cells? *Adv Anat Embryol Cell Biol* 71: 1-130
- Thuneberg L (1989) Interstitial cells of Cajal. In Wood JD. (ed) *Handbook of physiology. The gastrointestinal system, Vol. 1*, Bethesda, MD, American Physiological Society, pp 349-386
- Toma H, Nakamura K, Emson PC, Kawabuchi M (1999) Immunohistochemical distribution of c-Kit-positive cells and nitric oxide synthase-positive nerves in the guinea-pig intestine. *J Auton Nerv Syst* 75: 93-99
- Torihashi S, Kobayashi S, Gerthoffer WT, Sanders KM (1993) Interstitial cells in deep muscular plexus of canine small intestine may be specialized smooth muscle cells. *Am J Physiol* 265: G638-G645
- Torihashi S, Gerthoffer WT, Kobayashi S, Sanders KM (1994) Identification and classification of interstitial cells in the canine proximal colon by ultrastructure and immunocytochemistry. *Histochemistry* 101: 169-183
- Torihashi S, Ward SM, Nishikawa S, Nishi K, Kobayashi S, Sanders KM (1995) *c-kit* dependent development of interstitial cells and electrical activity in the murine gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res* 280: 97-111
- Torihashi S, Ward SM, Sanders KM (1997) Development of *c-kit*-positive cells and the onset of electrical rhythmicity in murine small intestine. *Gastroenterology* 112: 144-155
- Tsujimura T, Hirota S, Nomura S, Niwa Y, Yamazaki M, Tono T, Morii E, Kim HM, Kondo K, Nishimune Y, Kitamura Y (1991) Characterization of *Ws* mutant allele of rats: a 12-base deletion in tyrosine kinase domain of *c-kit* gene. *Blood* 78: 1942-1946
- Ward SM, Burns AJ, Torihashi S, Sanders KM (1994) Mutation of the proto-oncogene *c-kit* blocks development of interstitial cells and electrical rhythmicity in murine intestine. *J Physiol* 480: 91-97
- Ward SM, Burns AJ, Torihashi S, Harney SC, Sanders KM (1995) Impaired development of interstitial cells and intestinal electrical rhythmicity in *steel* mutants. *Am J Physiol* 269: C1577-C1585
- Ward SM, Morris G, Reese L, Wang XY, Sanders KM (1998) Interstitial cells of Cajal mediate enteric inhibitory neurotransmission in the lower esophageal and pyloric sphincters. *Gastroenterology* 115: 314-329
- Ward SM, Brennan MF, Jackson VM, Sanders KM (1999) Role of PI3-kinase in the development of interstitial cells and pacemaking in murine gastrointestinal smooth muscle. *J Physiol* 516: 835-846

- Yamamoto M (1977) Electron microscopic studies on the innervation of the smooth muscle and the interstitial cell of Cajal in the small intestine of the mouse and bat. *Arch Histol Jpn* 40: 171-201
- Young HM, Ciampoli D, Southwell BR, Newgreen DF (1996) Origin of interstitial cells of Cajal in the mouse intestine. *Dev Biol* 180: 97-107
- Zhou DS, Komuro T (1992a) Interstitial cells associated with the deep muscular plexus of the guinea-pig small intestine, with special reference to the interstitial cells of Cajal. *Cell Tissue Res* 268: 205-216
- Zhou DS, Komuro T (1992b) The cellular network of interstitial cells associated with the deep muscular plexus of the guinea pig small intestine. *Anat Embryol* 186: 519-527

附図説明

- 図1. ラット小腸筋層縦断面の光学顕微鏡像。輪走筋層 (CM) と縦走筋層 (LM) の間にアウエルバッハ神経節 (MG) が認められる。矢頭は深部筋神経叢の位置を示す。トルイジン青染色。×980
- 図2. 抗c-Kit抗体免疫染色による+/+ラット小腸縦断像。陽性反応はアウエルバッハ神経叢領域 (矢印) と深部筋神経叢領域 (矢頭) に観察される。×320
- 図3. 抗c-Kit抗体免疫染色によるWs/Wsラット小腸縦断像。アウエルバッハ神経叢領域 (矢印) 及び深部筋神経叢領域 (矢頭) いずれにも陽性反応は認められない。×320
- 図4. +/+ラット小腸アウエルバッハ神経節 (MG) の電子顕微鏡像。神経節は間質性細胞とその突起 (矢印) によってほぼ連続的に周囲を取り囲まれている。×6,900
- 図5. +/+ラット小腸のICC-AP (IC)。細胞質の電子密度は周囲の平滑筋より低く、豊富なミトコンドリアによって特徴づけられる。×13,100 挿入図: ICC-APの突起間に形成されたgap junction。×55,800
- 図6. +/+ラット小腸アウエルバッハ神経叢部の線維芽細胞様細胞 (FL)。細胞質にはよく発達した粗面小胞体が認められる。矢印は平滑筋細胞とのgap junctionを示す。×20,400 挿入図: 矢印で示したgap junctionの拡大図。×84,000
- 図7. Ws/Wsラット小腸のアウエルバッハ神経節 (MG)。神経節周囲の間質性細胞やその突起は著しく疎である。×11,800
- 図8. Ws/Wsラット小腸アウエルバッハ神経叢部の線維芽細胞様細胞 (FL)。矢印はこの細胞と輪走筋との間に形成されたgap junctionを、二頭矢印は縦走筋との間に形成されたgap junctionを示す。×10,900 挿入図: 矢印 (左) 及び二頭矢印 (右) で示したgap junctionの拡大図。×68,000

- 図9. *Ws/Ws*ラット小腸のICC-DMP (IC)。細胞膜にはカベオレ (矢頭) が認められる。矢印は同種細胞間に形成されたgap junctionを示す。Nは神経束。×20,600
- 図10. ICC-DMPの突起。細胞膜表面にはカベオレ, 基底膜 (矢頭) が明瞭に認められる。矢印は平滑筋との間に形成されたgap junctionを示す。×57,600
- 図11. ICC-DMPに密接する軸索膨大部 (N)。膜の内側には, シナプス前膜のactive zoneに類似した電子密度の高い沈着 (矢頭) が認められる。矢印はICC-DMP同士の間で形成されたgap junctionを示す。×36,000
- 図12. *Ws/Ws*ラット小腸深部筋神経叢部の線維芽細胞様細胞 (FL)。核周辺の乏しい細胞質にも, 内腔の開大した粗面小胞体が認められる。矢印は平滑筋との間に形成されたgap junctionを示す。Nは神経束。×15,300 挿入図: 矢印で示したgap junctionの拡大図。×66,700
- 図13. マウス小腸筋層の縦断像。輪走筋層 (CM) と縦走筋層 (LM) との間には筋層間神経節 (MG) が位置し, その周囲は間質性細胞 (IC) 及びその突起 (矢頭) によって取り囲まれている。Nは深部筋神経叢の神経束を示す。Sは漿膜。×4,700
- 図14. *+/+*マウス小腸のICC-AP (IC)。細胞質は低い電子密度を示し, ミトコンドリアが豊富である。×8,700
- 図15. ICC-APの突起間に形成されたgap junction (矢印) と, 細胞表面のカベオレ (矢頭) を示す。×22,200
- 図16. 図15の矢印で示されたgap junctionの拡大図。×100,000
- 図17. ICC-APの突起 (IC) に密接する軸索膨大部 (V)。大型の有芯小胞を主に含んでいる。×51,500
- 図18. *W/W^V*マウス小腸アウエルバッハ神経叢部の線維芽細胞様細胞 (FL)。細胞質にはよく発達した粗面小胞体が認められる。細い細胞質突起 (矢頭) を伸長し, 神経束 (N) を部分的に取り巻いている。×13,700 挿入図: 隣接切片において, 縦走

筋 (a; 矢印の部位) 及び輪走筋 (b; 二頭矢印の部位) との間に形成されたgap junctionを示す。a, $\times 117,000$ b, $\times 53,700$

図19. W/W^V マウス小腸のICC-DMP (IC)。細胞質の電子密度は周囲の平滑筋より低く, ミトコンドリアを豊富に有することで特徴づけられる。細胞膜にはカベオレ (矢頭) が認められる。矢印は同種細胞間に形成されたgap junctionを示す。
 $\times 21,600$ 挿入図: 矢印で示したgap junctionの拡大図。 $\times 80,000$

図20. $+/+$ マウス小腸のICC-DMP (IC1, IC2)。IC1-IC2間 (矢頭) 及びIC1-平滑筋間 (矢印, 二頭矢印) にgap junctionが認められる。Nは神経束。 $\times 13,500$

図21. 図20の矢印で示されたgap junctionの拡大図。 $\times 115,000$

図22. ICC-DMP (IC) に密接する軸索膨大部 (V)。大型の有芯小胞を大量に含んでいる。 $\times 35,600$

図23. W/W^V マウス小腸深部筋神経叢部の線維芽細胞様細胞 (FL)。矢印及び矢頭の部位で平滑筋とgap junctionを形成している。Nは神経束。 $\times 26,100$ 挿入図: 矢印 (左) 及び矢頭 (右) で示されたgap junctionの拡大図。 $\times 100,000$

図24. $+/+$ マウス胃幽門部のICC-AP (IC)。同種細胞の突起間 (矢印, 二頭矢印) 及び細胞体部-突起間 (矢頭) にgap junctionを形成している。細胞質の電子密度は高く, 細胞膜にはカベオレが認められる。 $\times 19,000$ 挿入図: 矢印で示したgap junctionの拡大図。 $\times 80,000$

図25. $+/+$ マウス胃幽門部アウエルバッハ神経叢部のICC-AP (IC) と線維芽細胞様細胞 (FL) を同時に示す切片像。ICC-APは中等度に高い電子密度をもつ細胞質, ミトコンドリア, カベオレ, gap junction (矢頭), 線維芽細胞様細胞はよく発達した粗面小胞体により特徴づけられる。Nは神経束。 $\times 10,000$ 挿入図: 線維芽細胞様細胞 (F) と平滑筋との間のgap junction。 $\times 52,000$

図26. マウス胃ICC-APの突起。矢印はカベオレを, 矢頭は基底膜を示す。 $\times 49,700$

図27. マウス胃ICC-APの突起に密接する軸索膨大部 (V)。大型の有芯小胞を主に含んでいる。×31,600

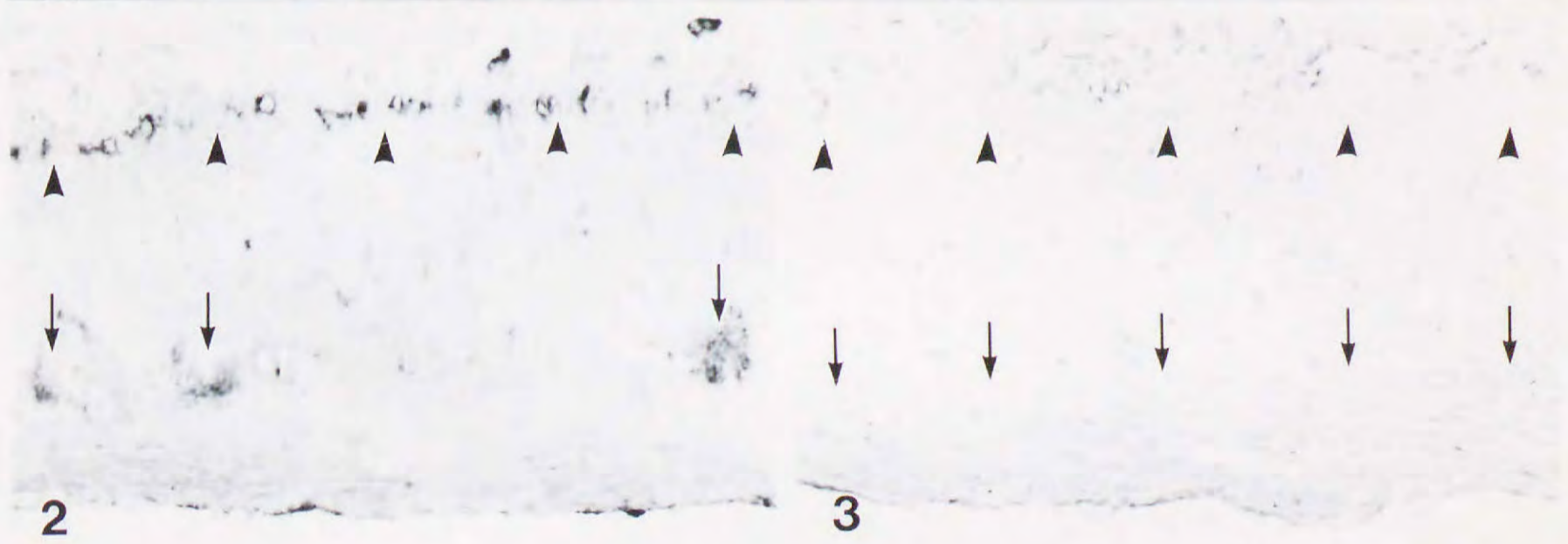
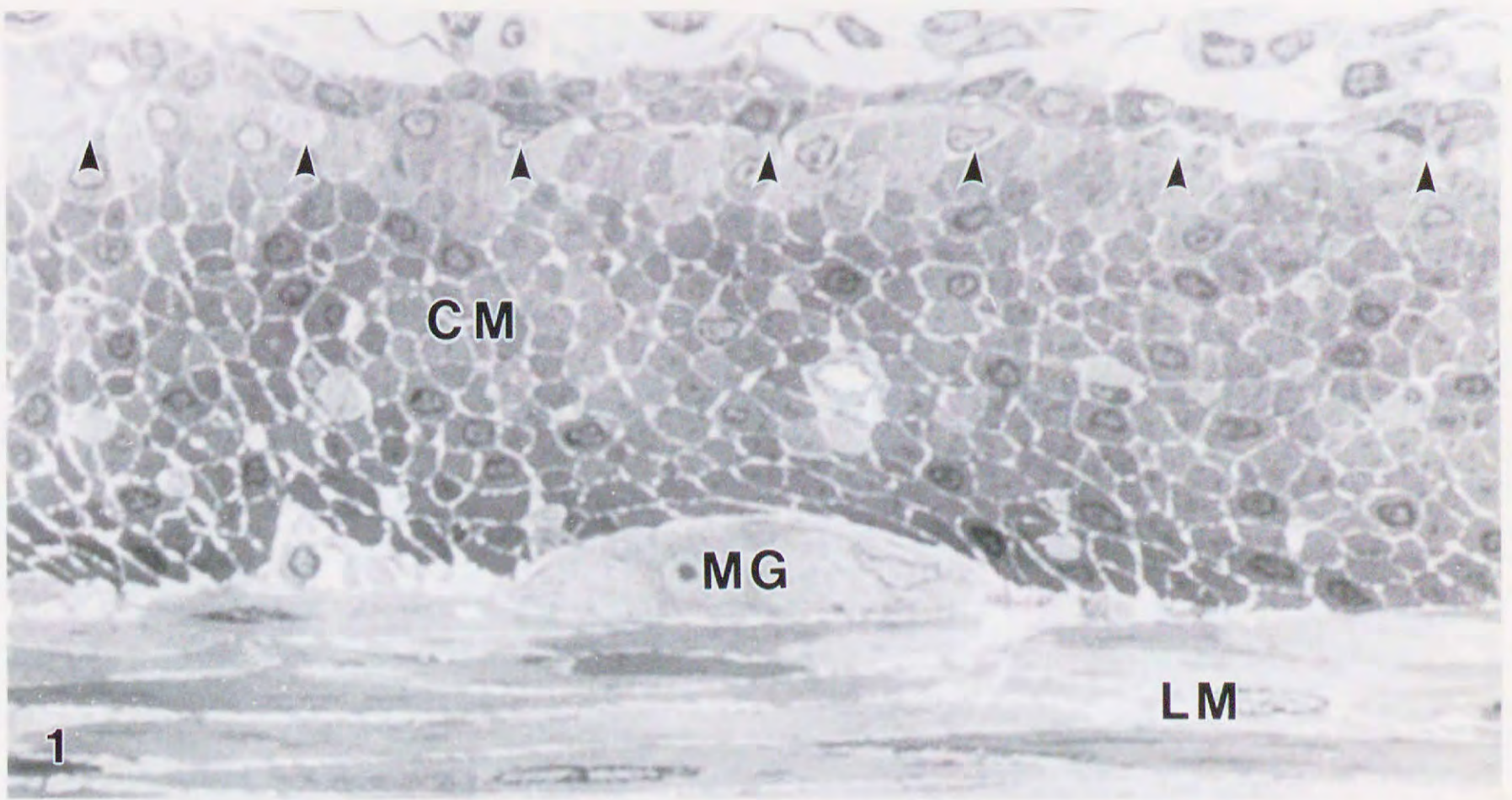
図28. マウス胃ICC-APの突起。豊富な中間径フィラメント (縦断) が認められる (*)。矢頭はカベオレを, 矢印は同種細胞の突起間のgap junctionを示す。
×28,600 挿入図: 矢印で示したgap junctionの拡大図。×70,000

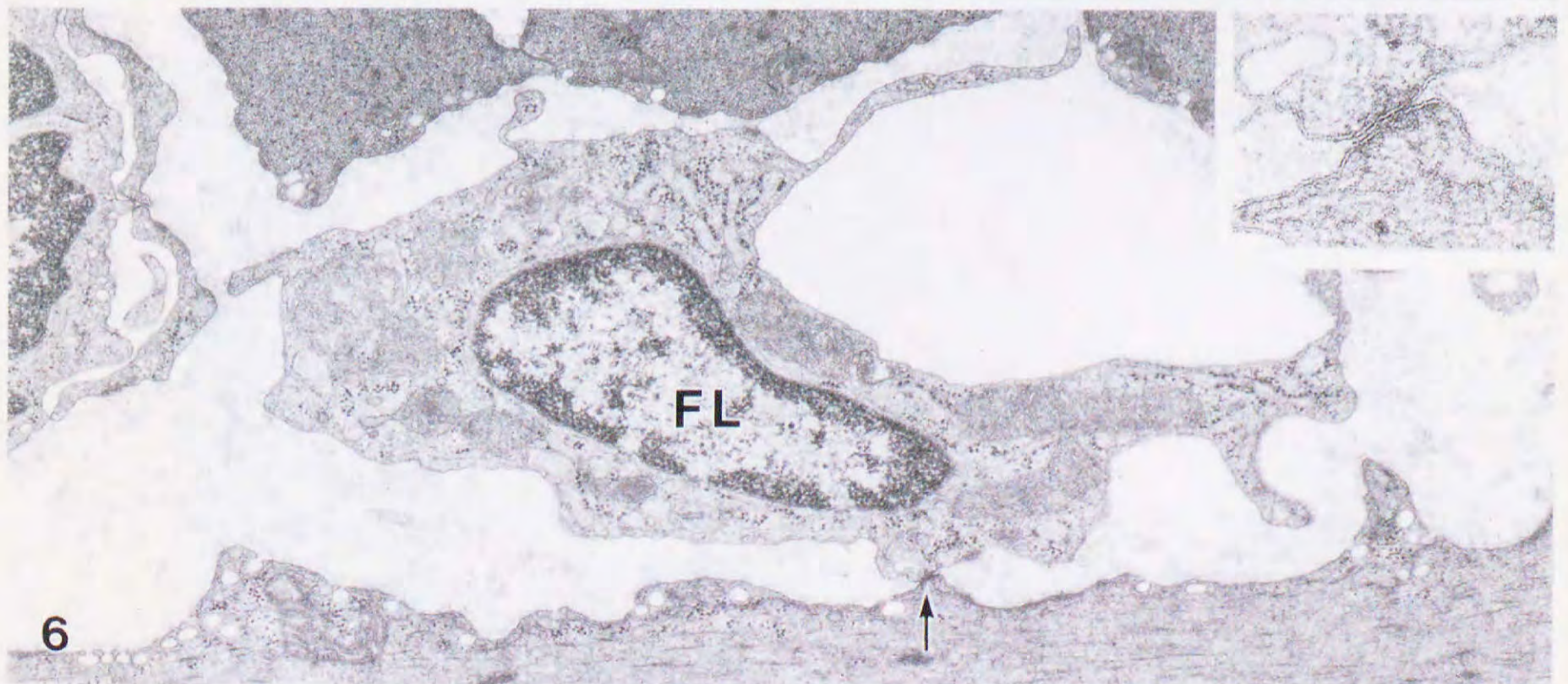
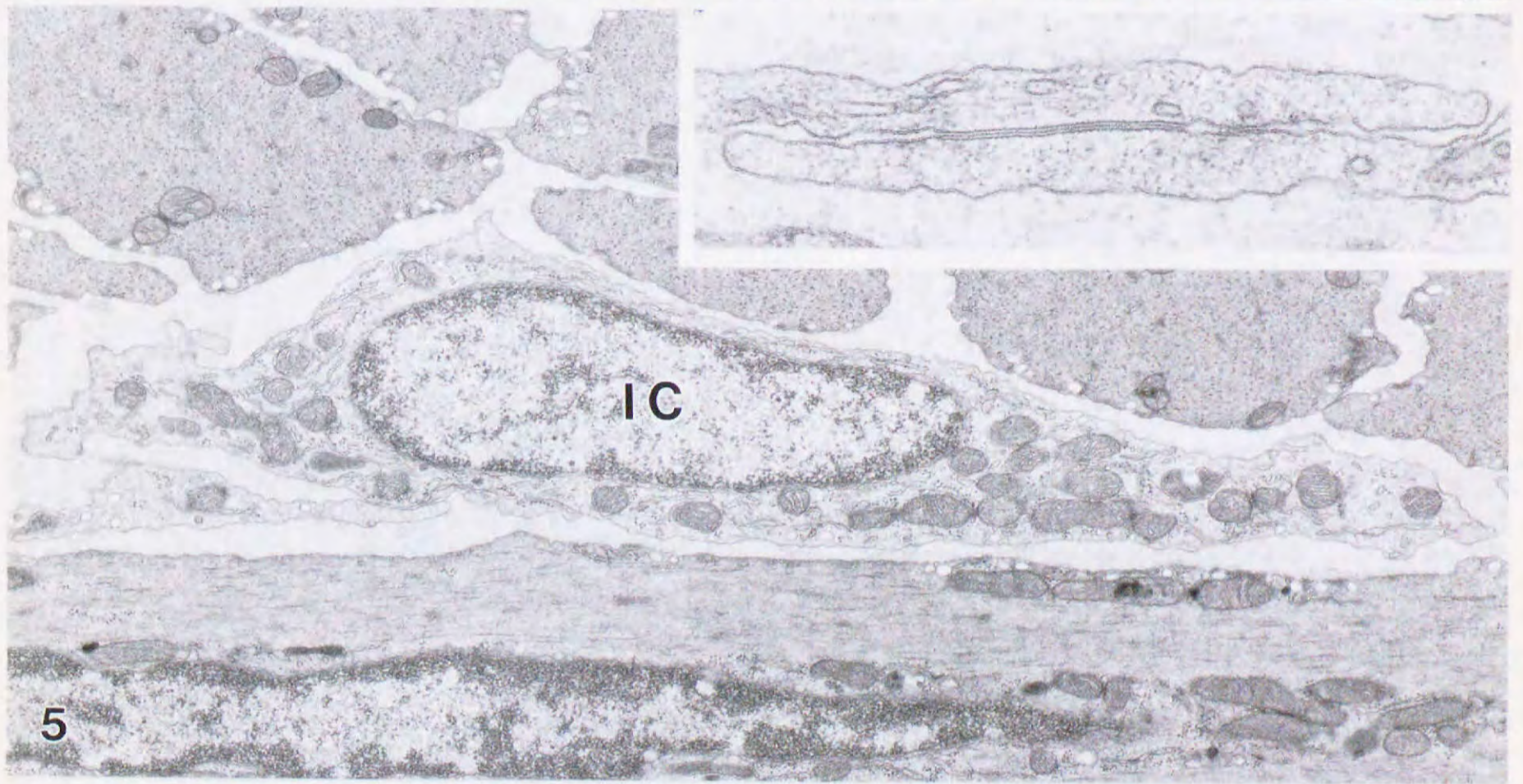
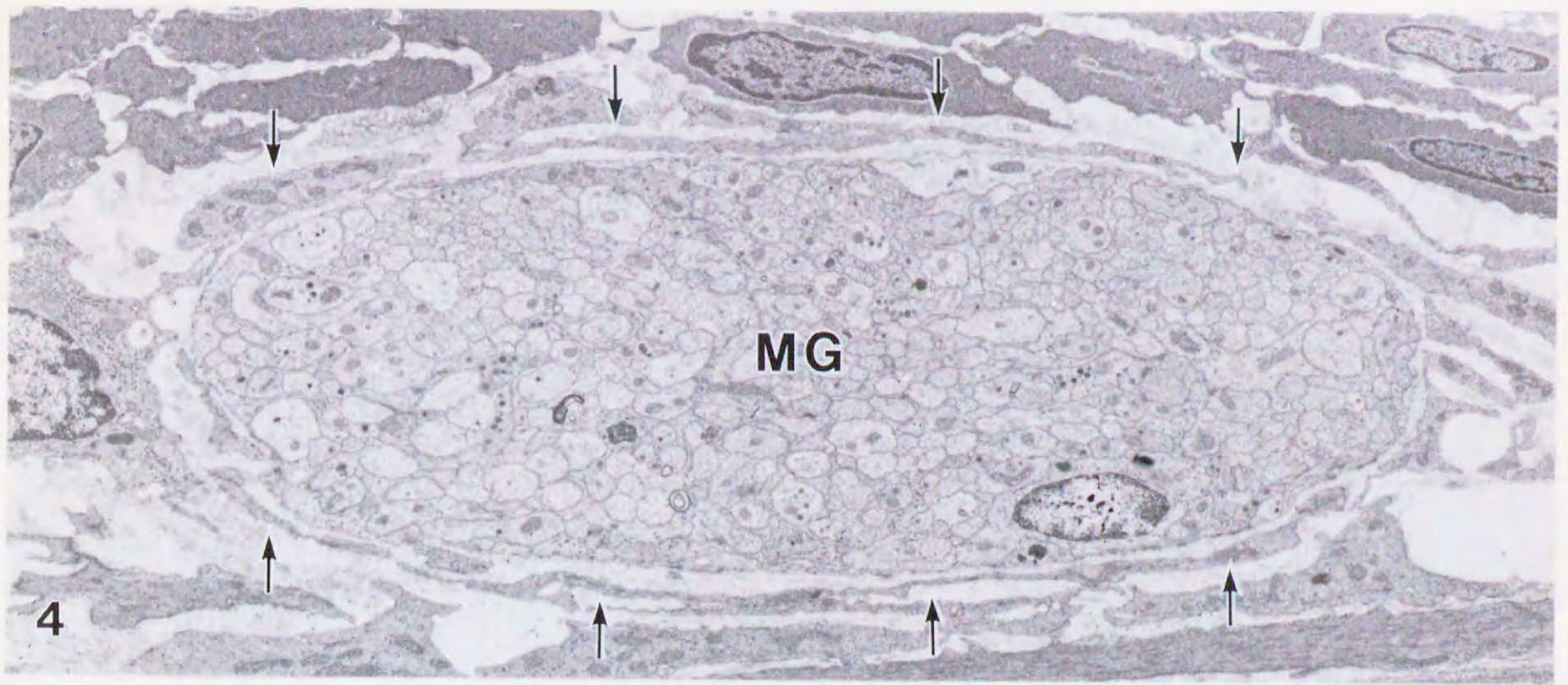
図29. マウス胃ICC-CMの突起。中間径フィラメントの横断像が認められる。矢印は同種細胞間のgap junction, 矢頭はカベオレを示す。×30,000

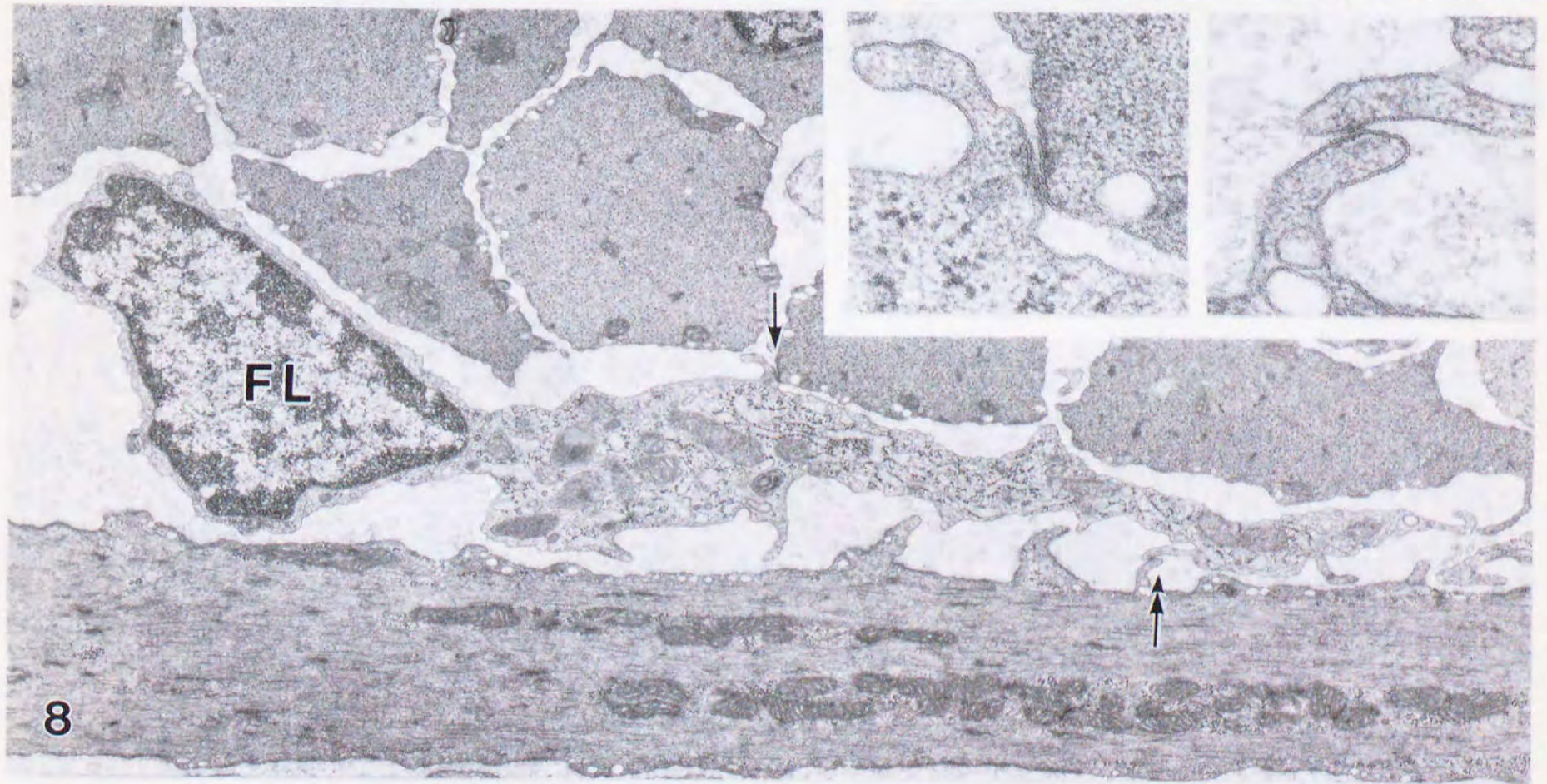
図30. マウス胃のICC-CM (IC)。矢印は平滑筋との間に形成されたgap junctionを, 矢頭はカベオレを示す。Nは神経束。×15,000 挿入図: 隣接切片において二頭矢印部で平滑筋との間に形成されたgap junction。×100,000

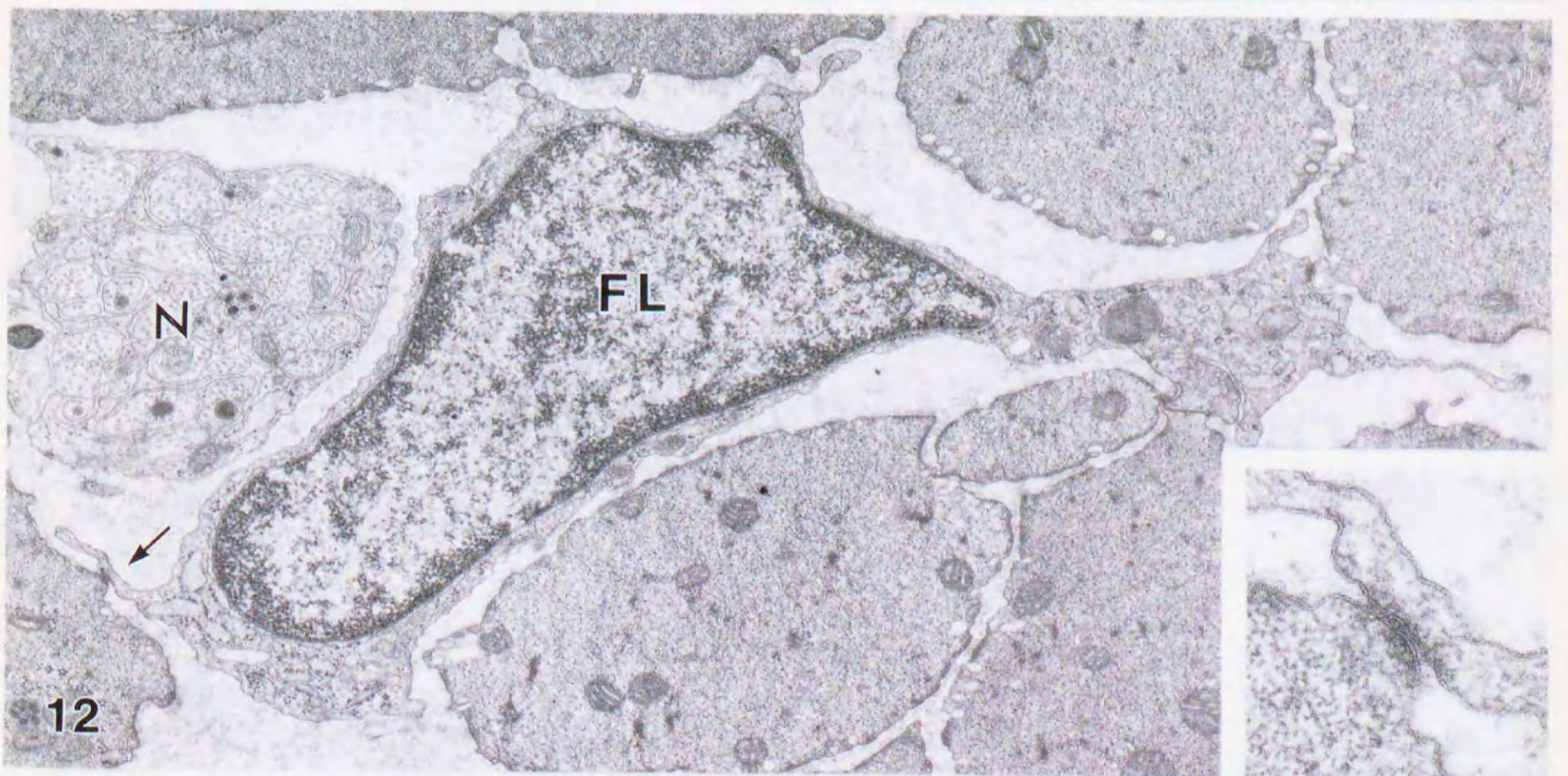
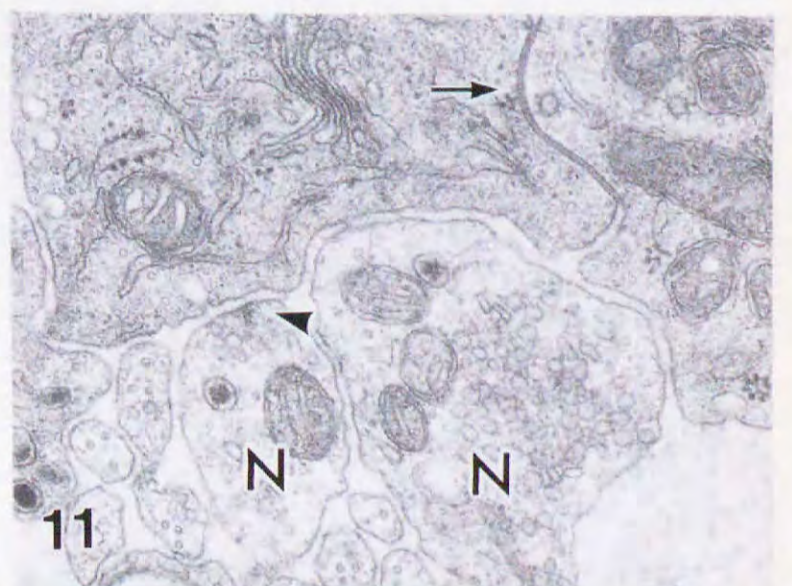
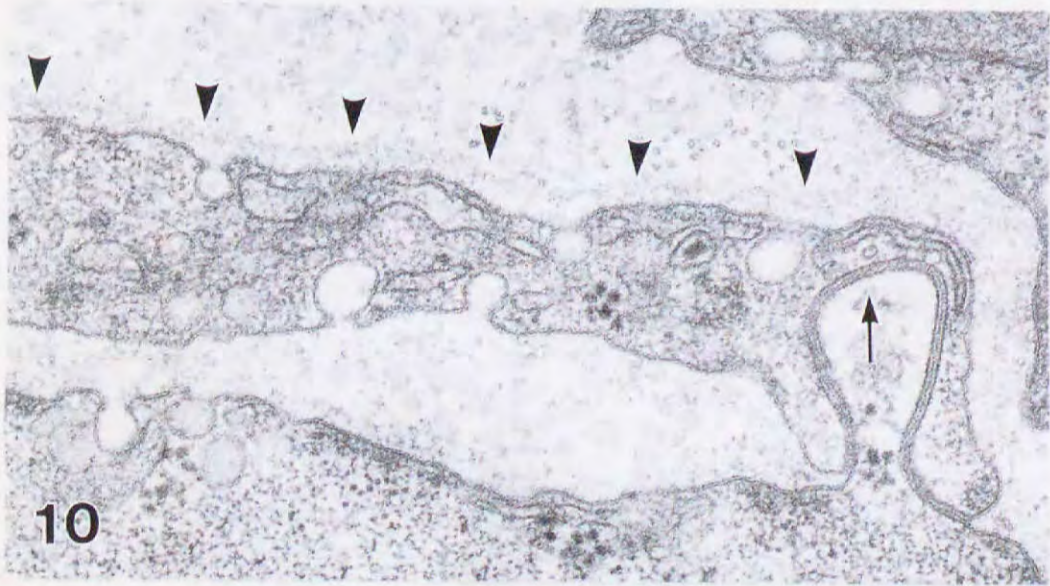
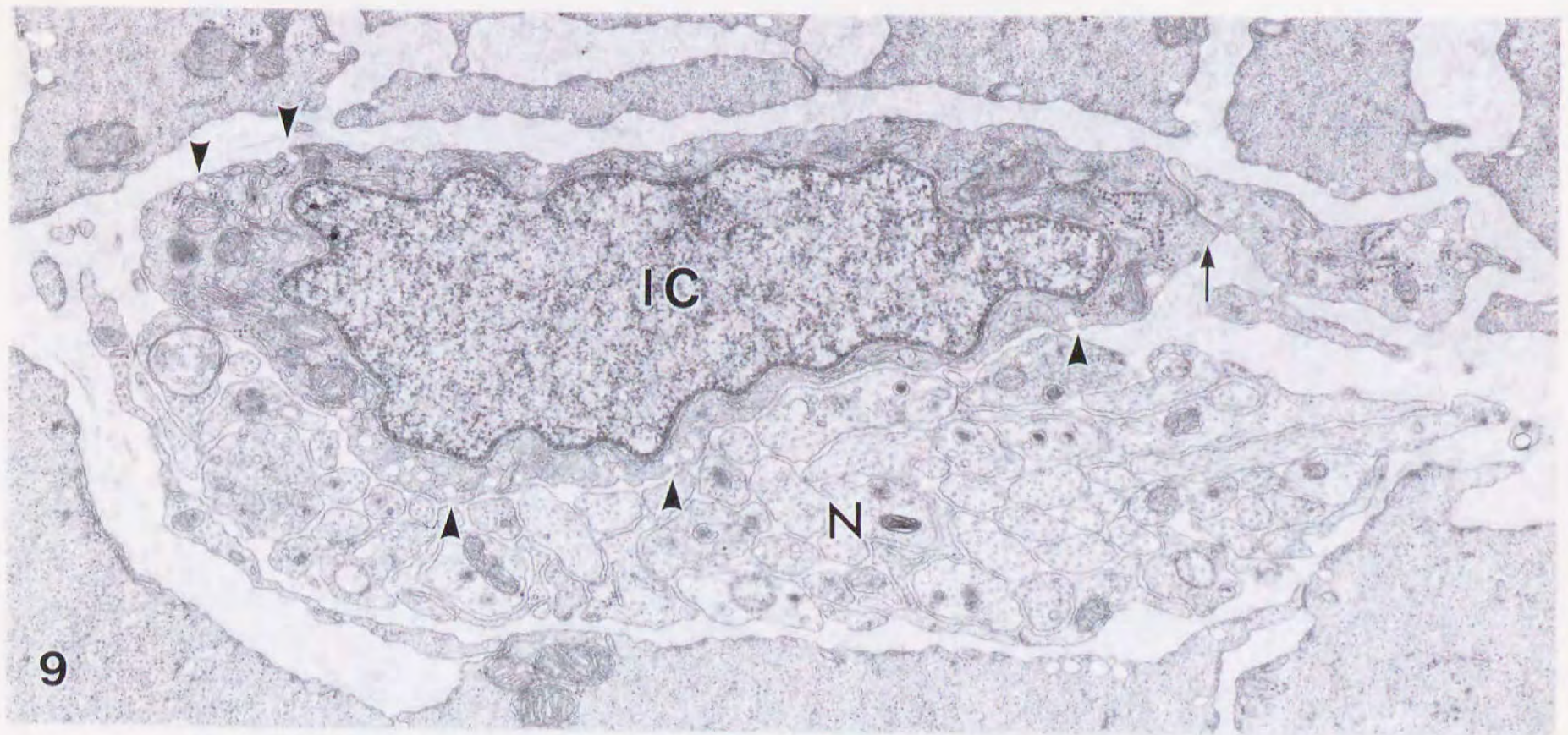
図31. マウス胃輪走筋層内の線維芽細胞様細胞 (FL)。粗面小胞体がよく発達している。×12,500 挿入図: 線維芽細胞様細胞 (F) と平滑筋との間のgap junction。
×100,000

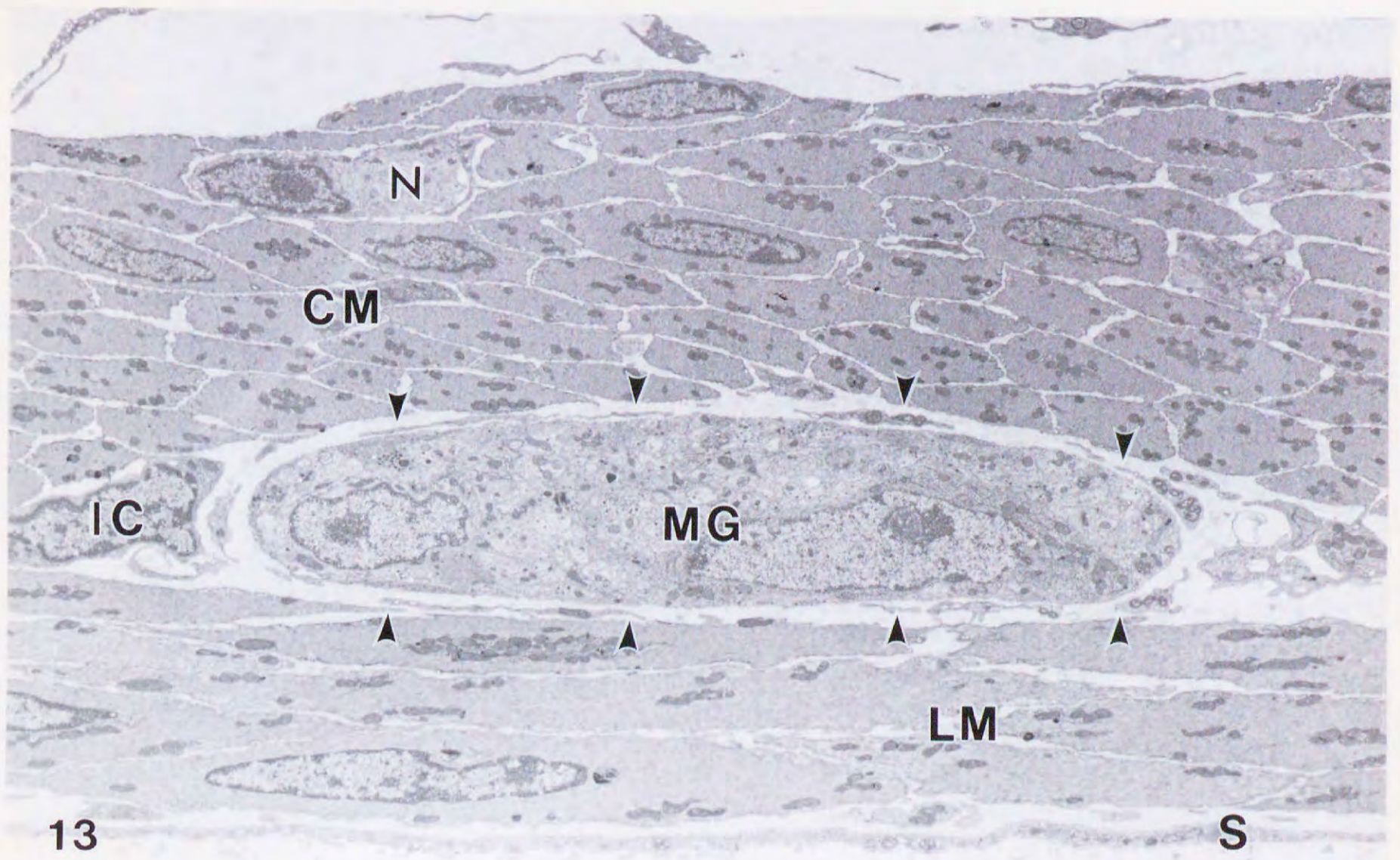
図32. 胃・小腸・大腸におけるICCの分布を示す模式図。





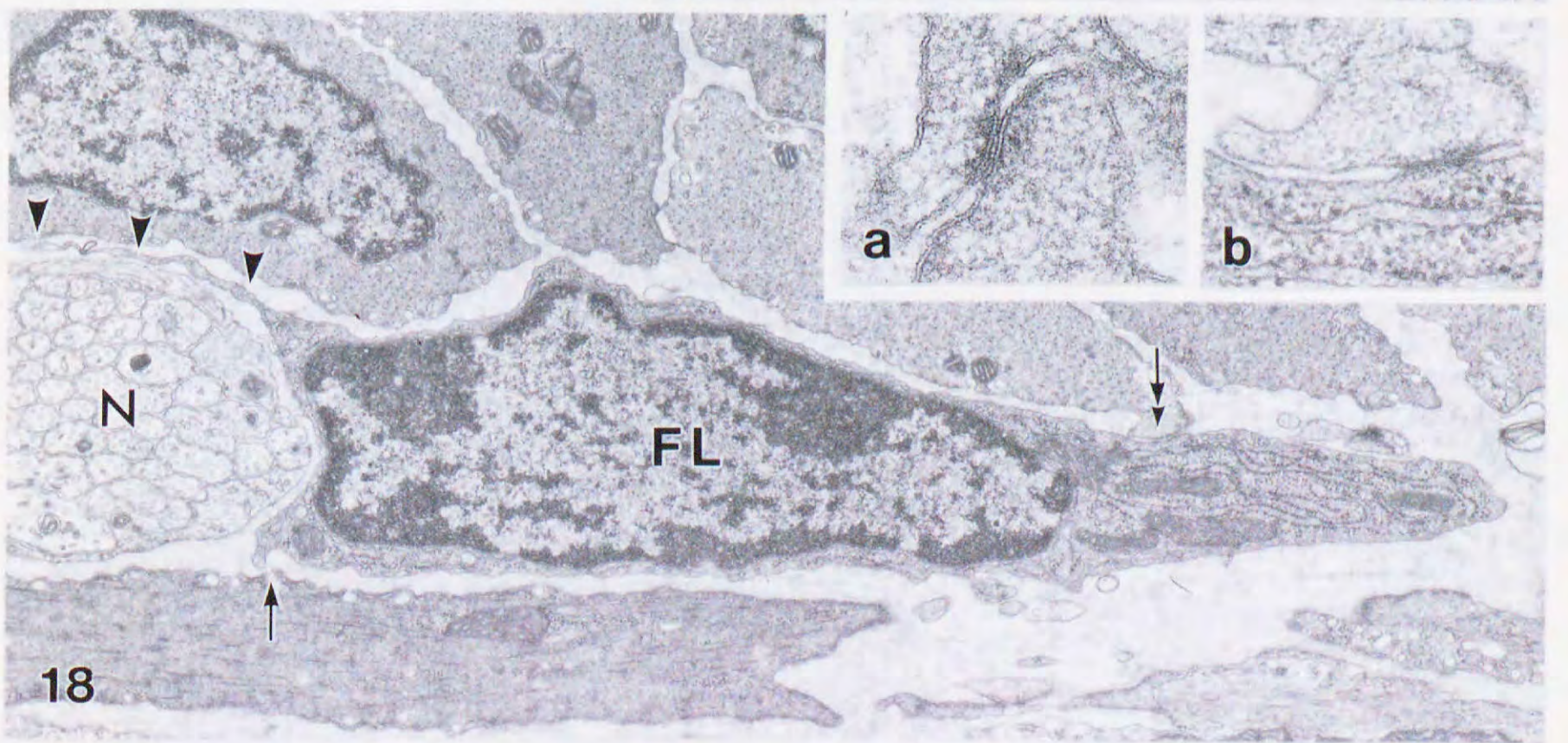
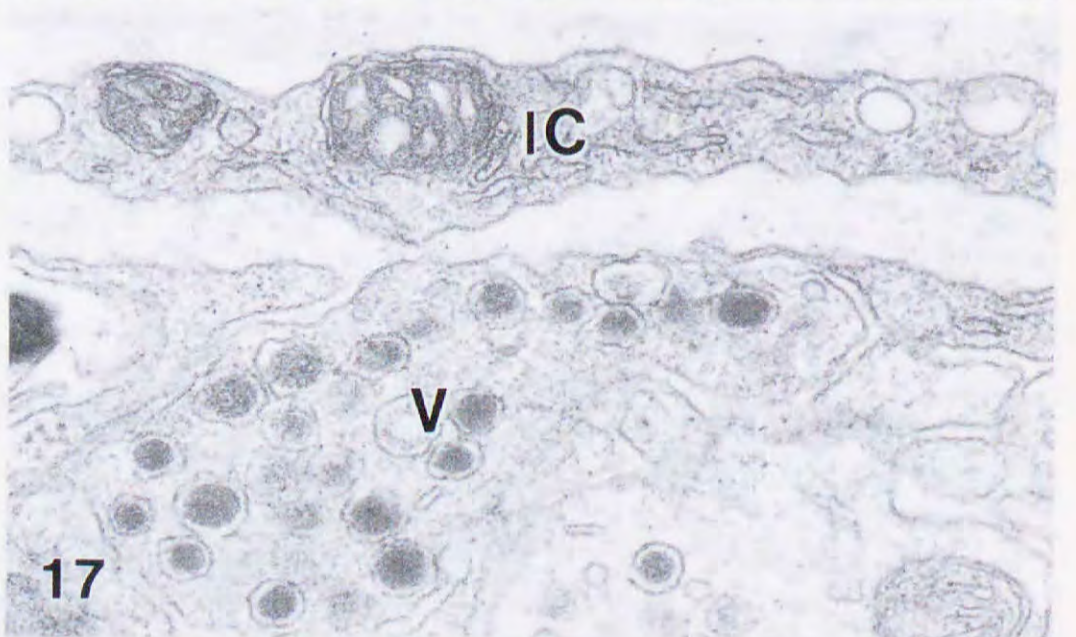
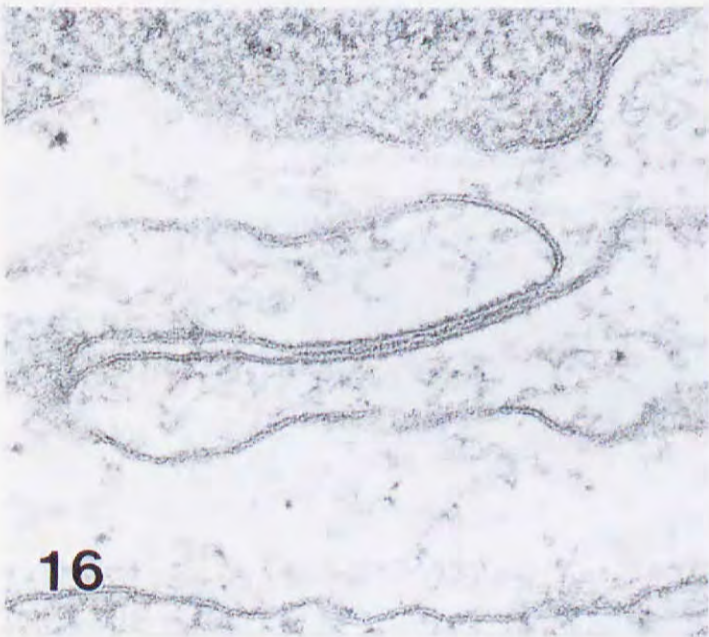
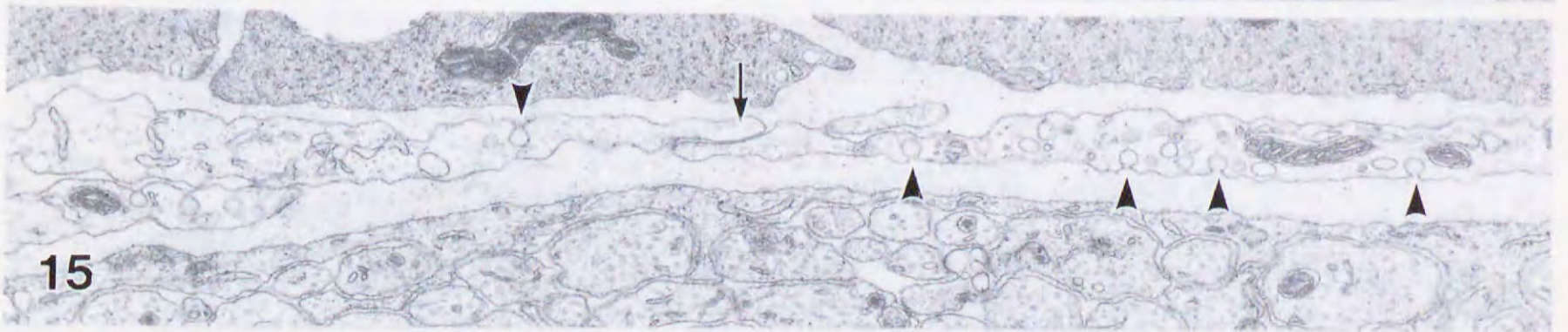
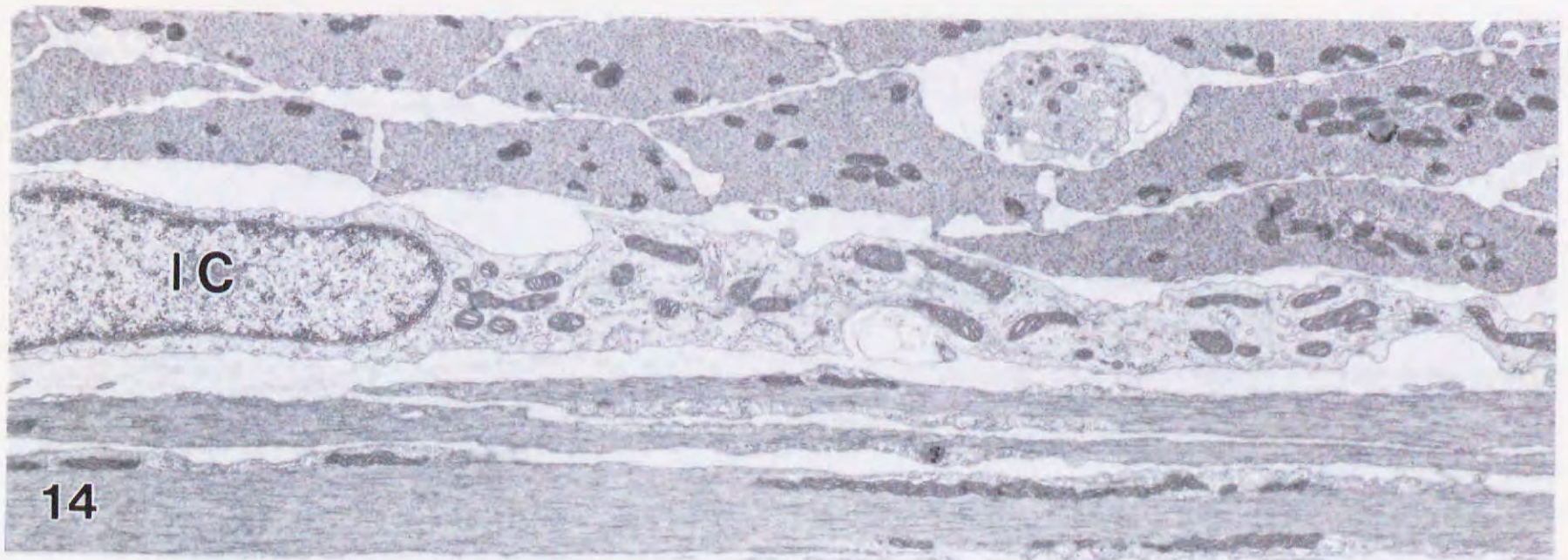


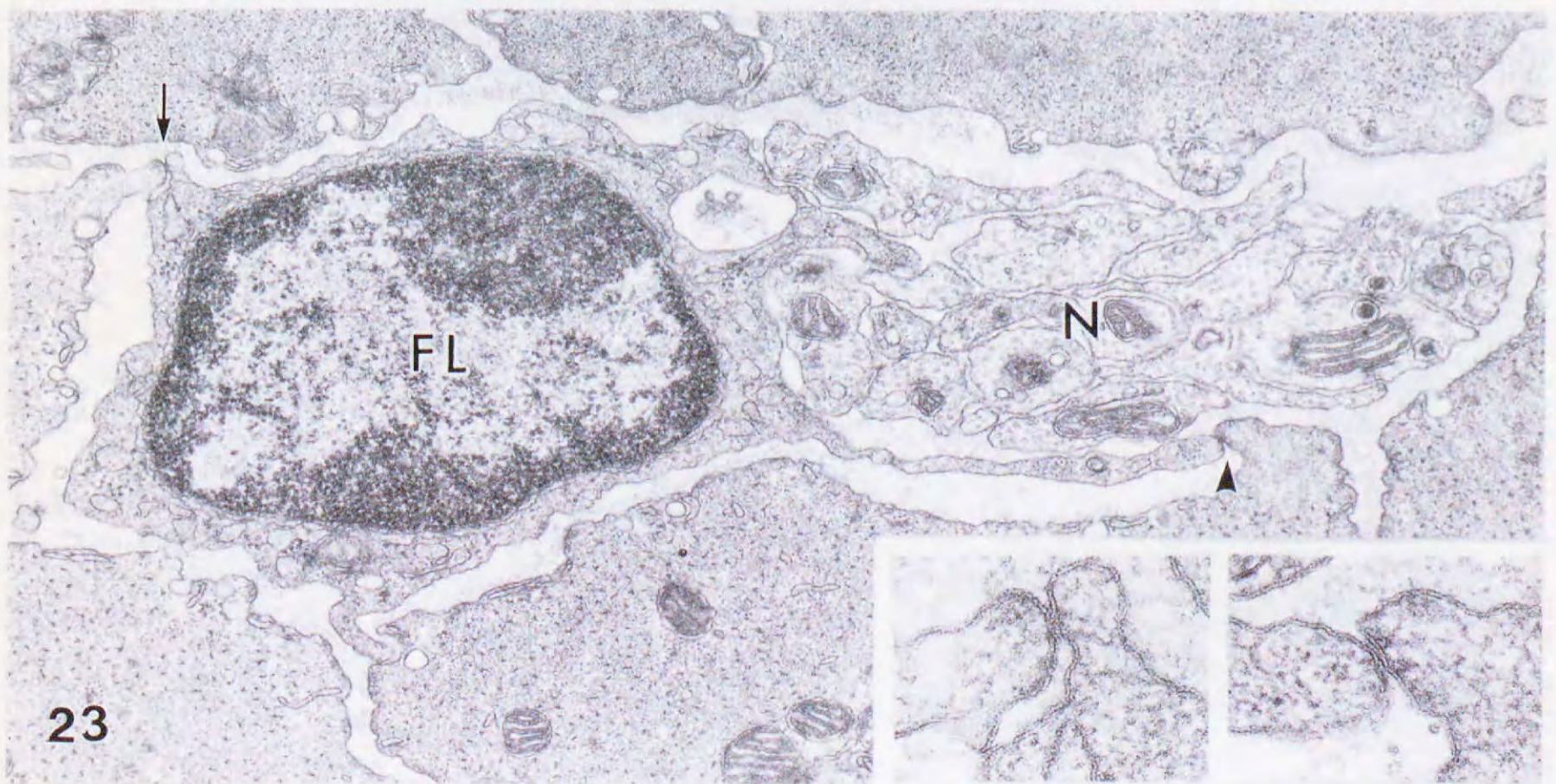
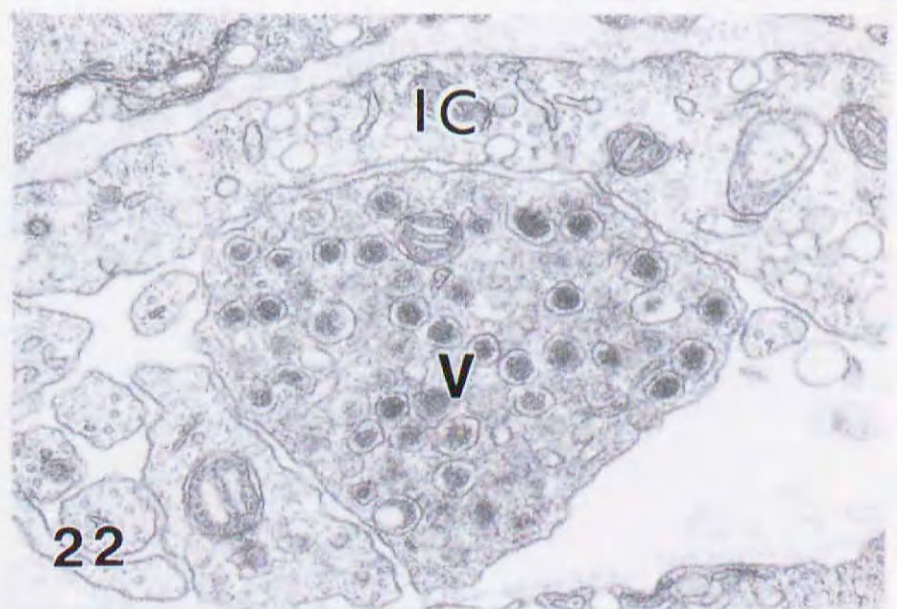
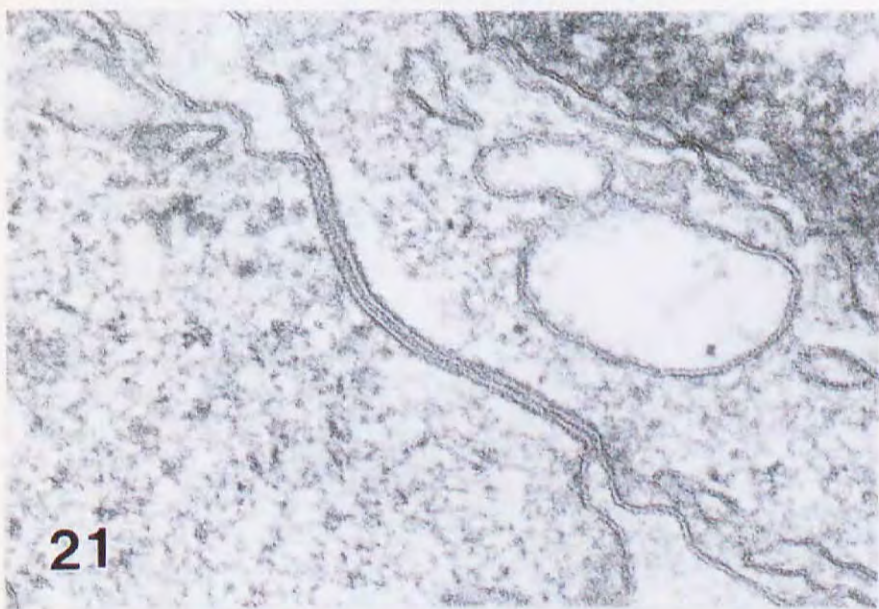
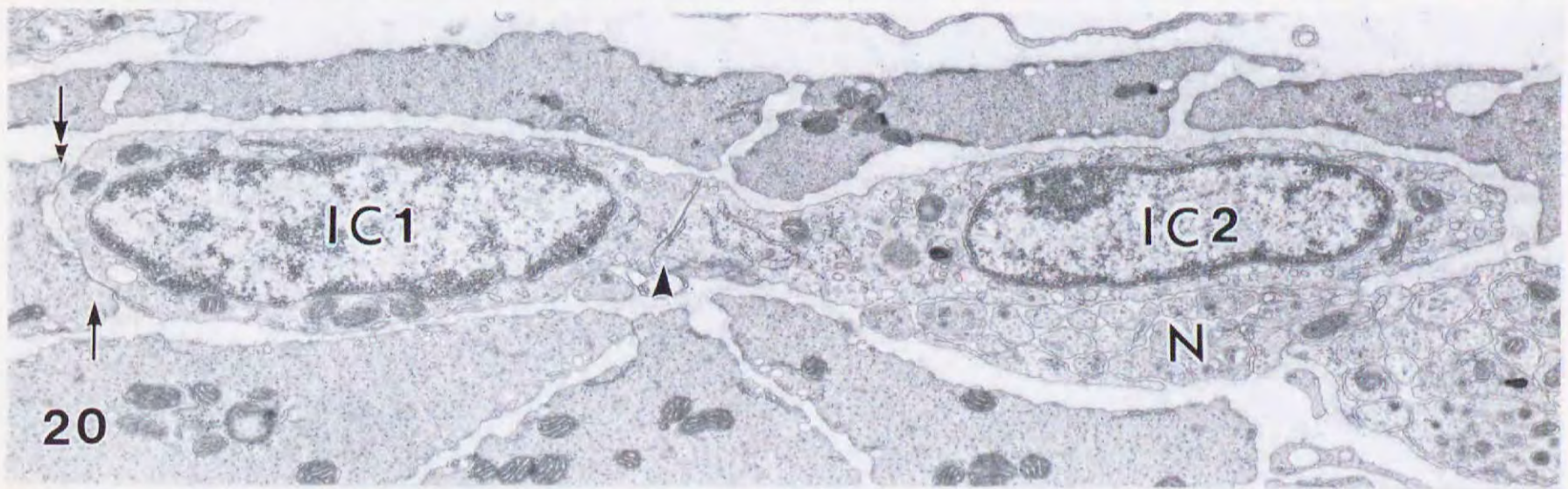
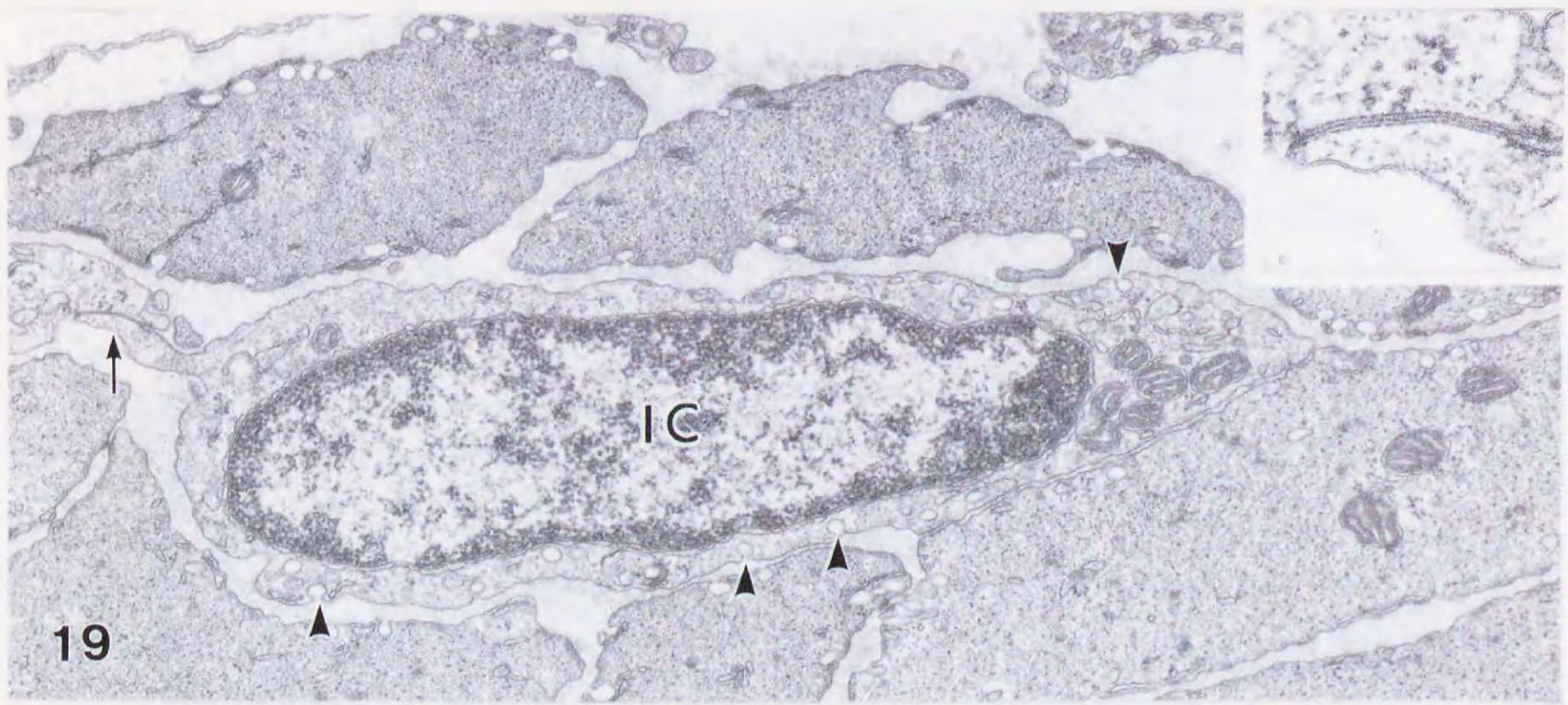


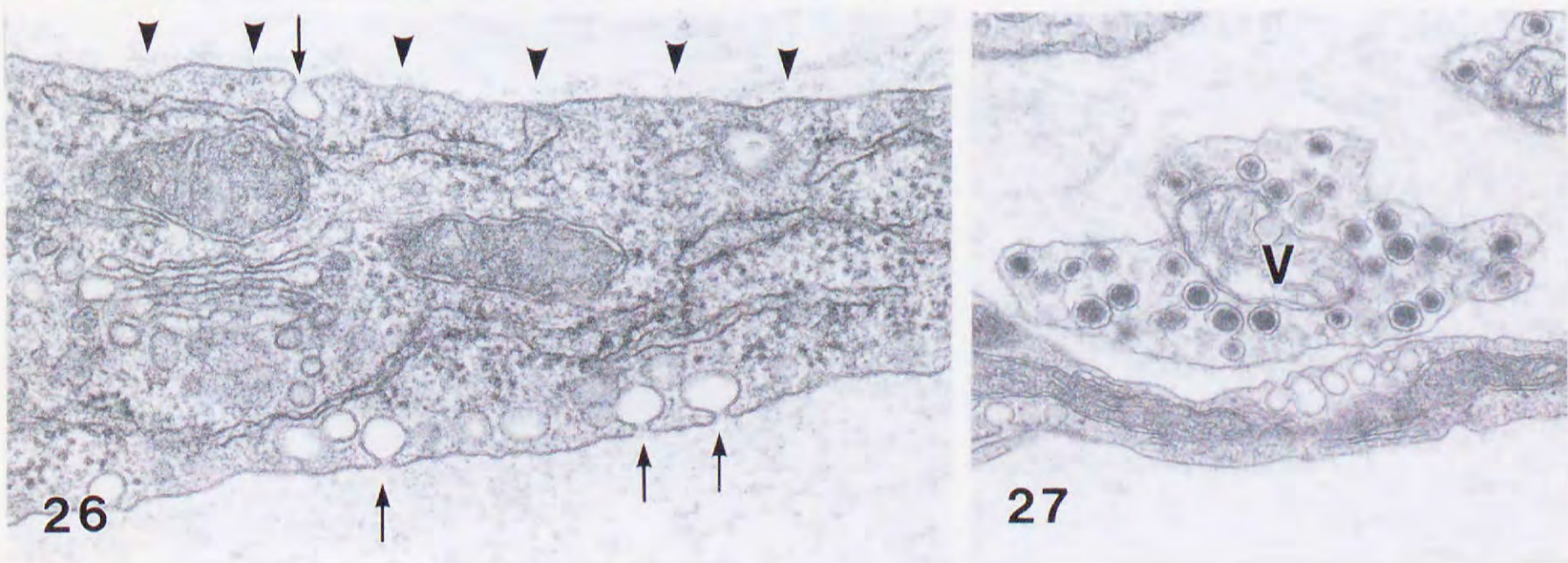
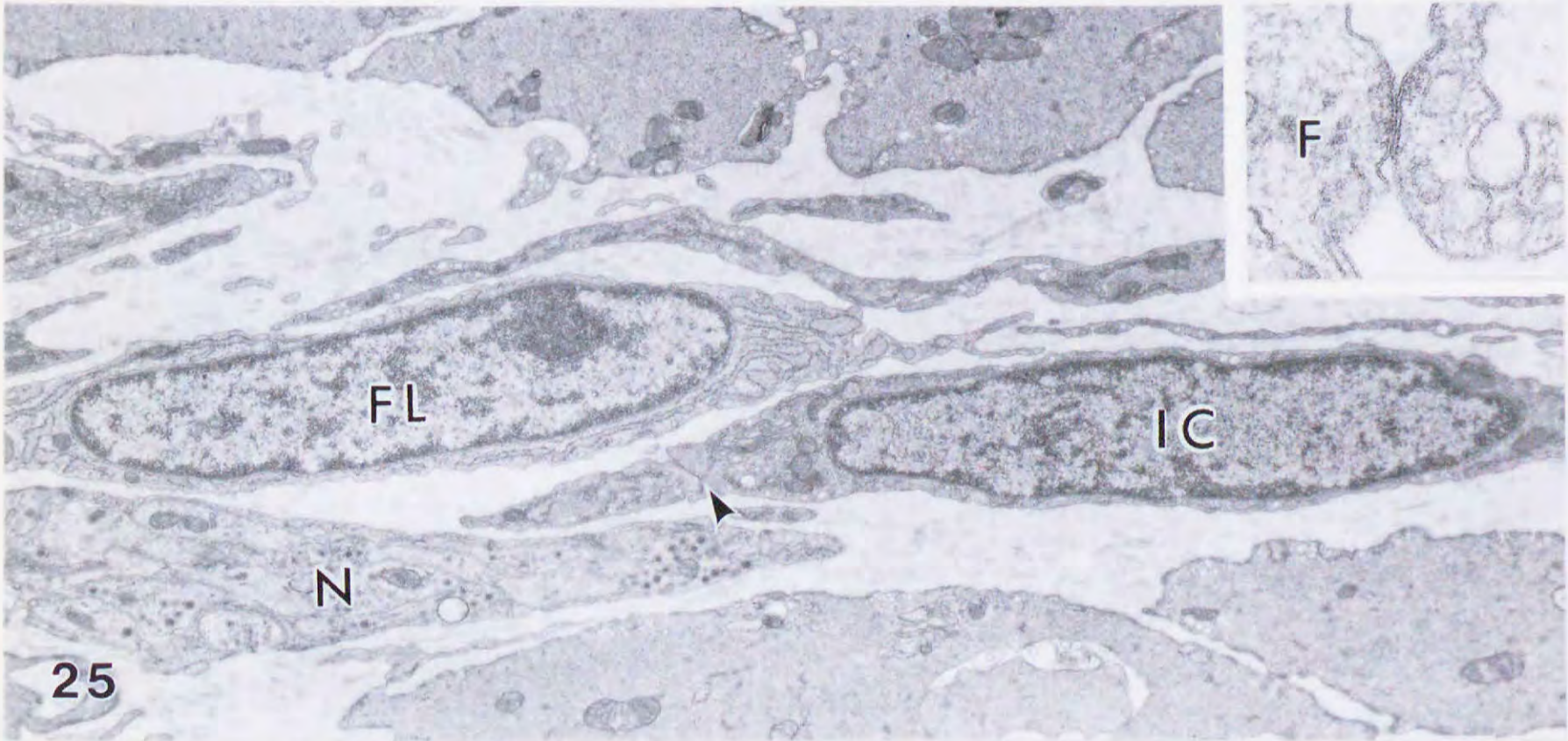
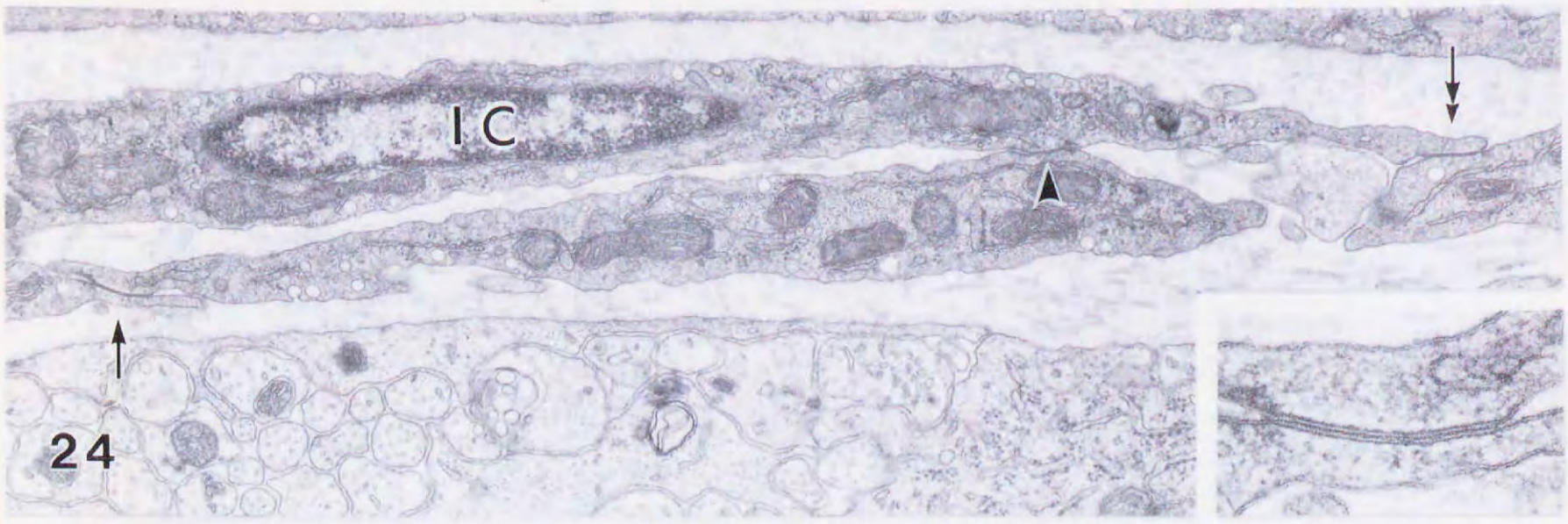


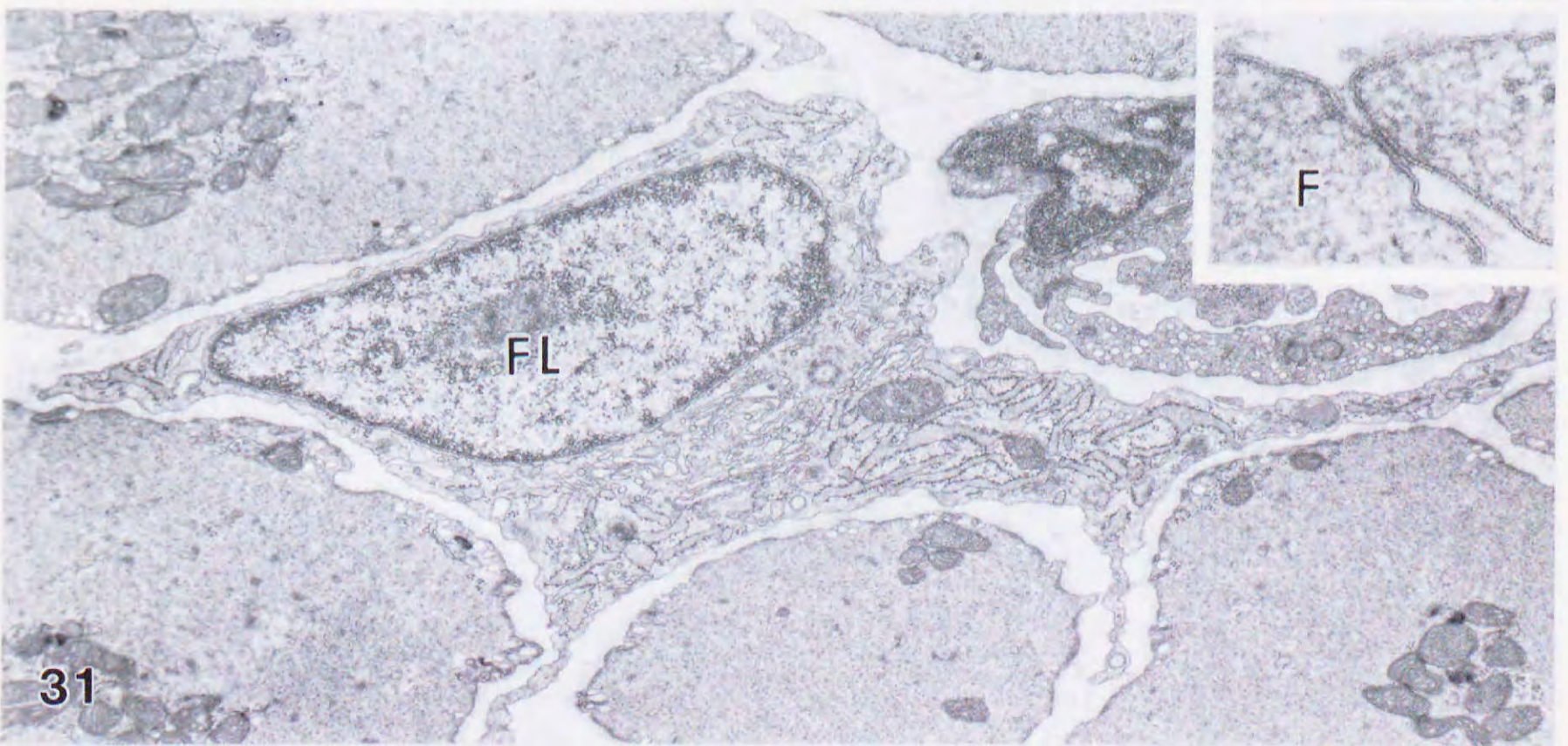
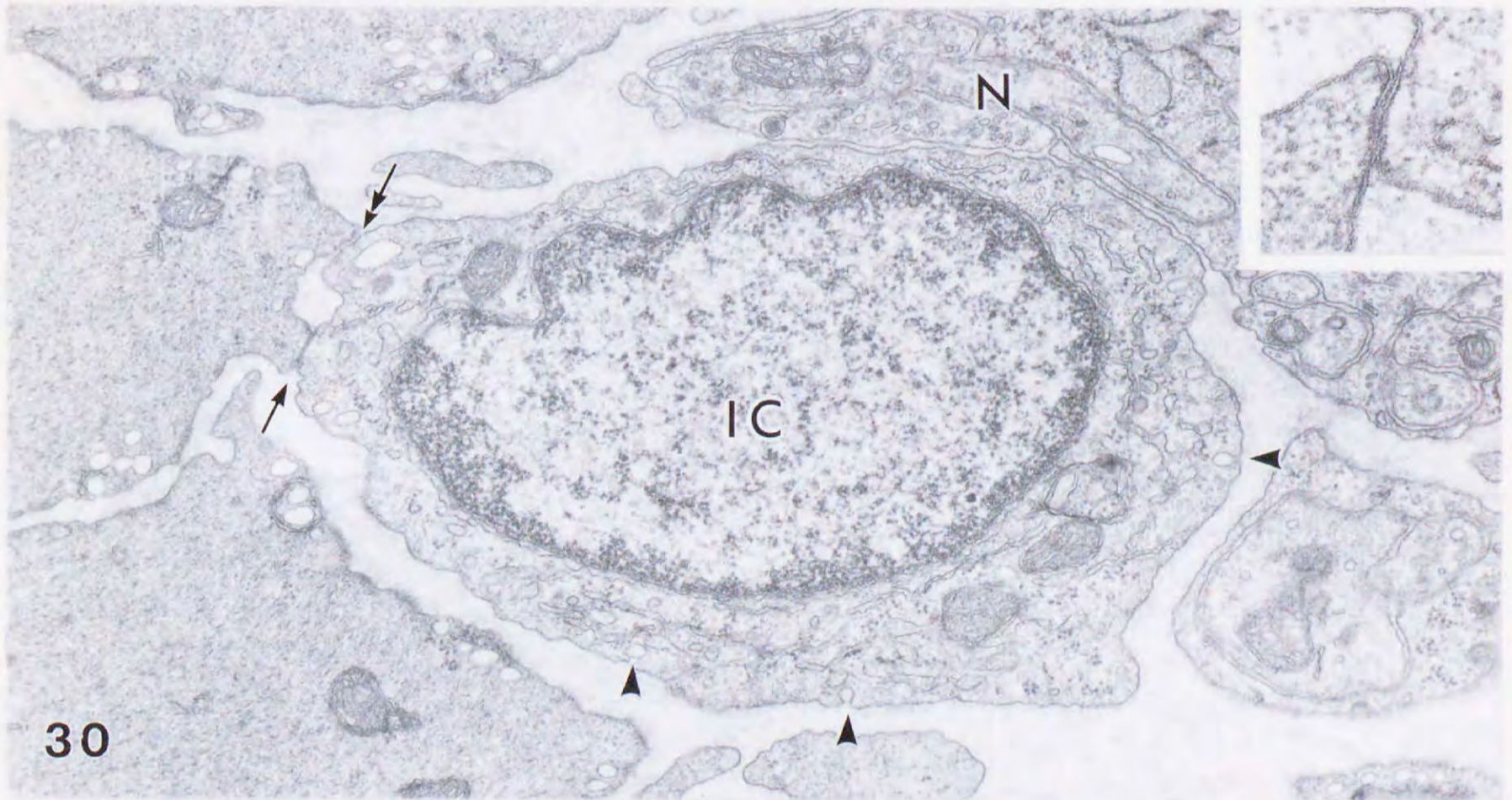
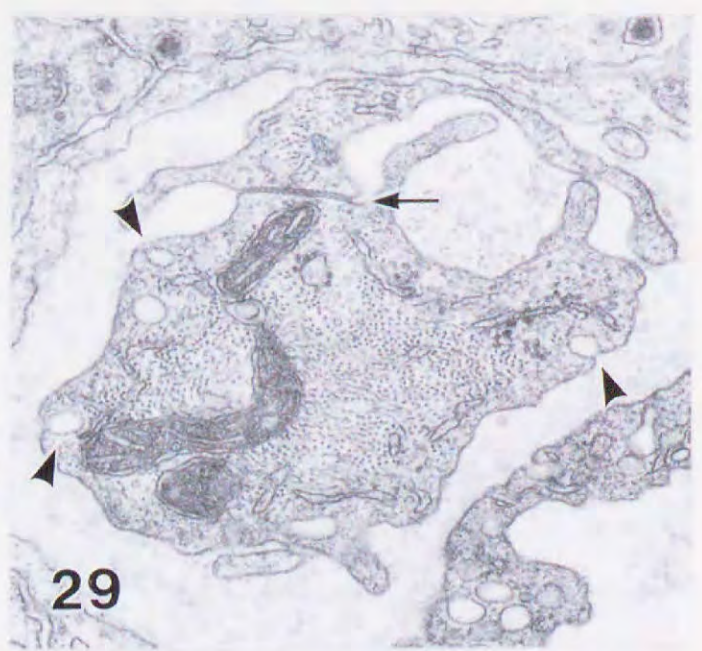
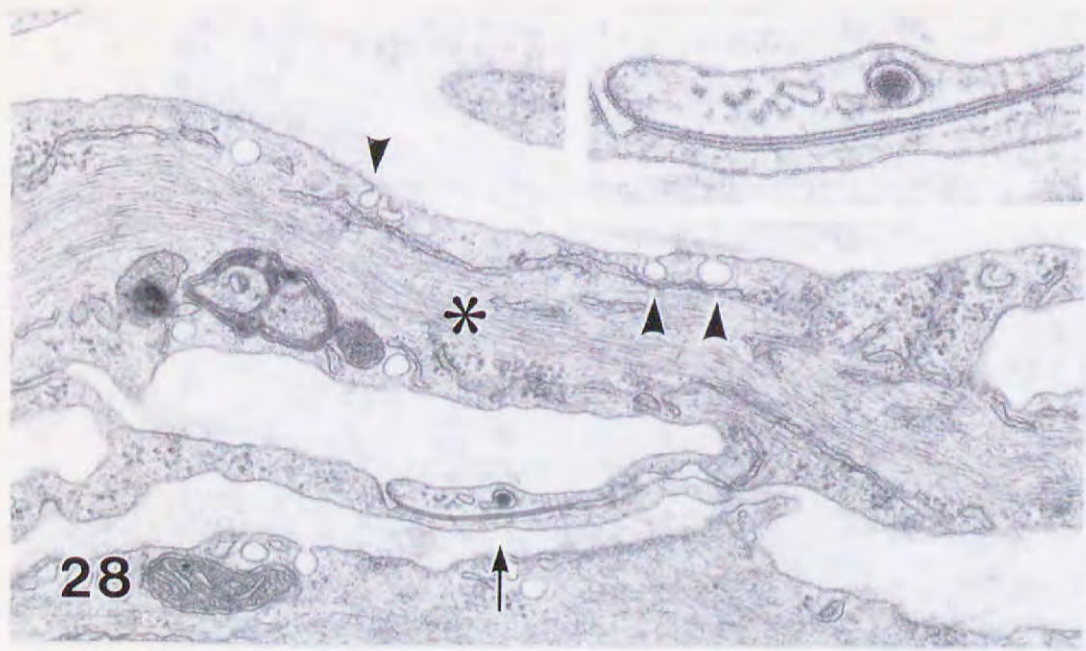
13

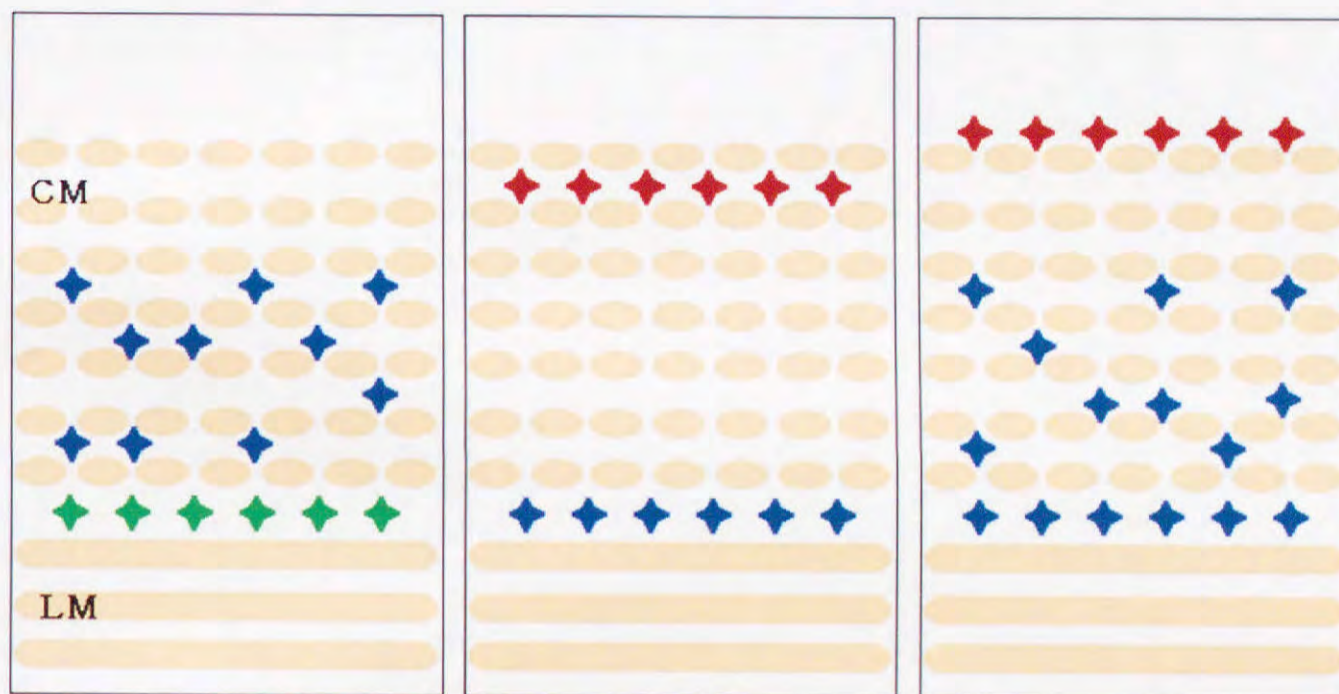
S











胃 (胃体部・幽門部)

小腸

結腸

図32 胃・小腸・結腸におけるICC (+) の分布

CM: 輪走筋 LM: 縦走筋

+ : c-Kit依存型ICC + : c-Kit非依存型ICC

+ : c-Kitに対する依存度が不明であるICC

