

博士 (人間科学) 学位論文 概要書

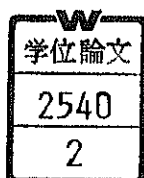
消化管運動調節機構に関する電子顕微鏡的
免疫組織化学的研究

1998年1月

早稲田大学大学院人間科学研究科

関 馨介

指導教員 小室輝昌 教授



はじめに

摂取食物の輸送や消化吸収の促進を計る消化管運動は、個体の生命維持において極めて重要な役割を果たしているが、これらの運動は、消化管壁を構成する平滑筋の高度に調節された収縮弛緩によって遂行されている。その調節機構としては、第一に消化管に内在する腸管神経系が挙げられるが、近年では、消化管運動のペースメーカー或いは刺激伝達機構として提唱されているカハールの介在細胞 (Interstitial cells of Cajal; ICC) が注目されている。本研究は、この ICC の細胞学的特性を明らかにすることを目的として、その存在部位のひとつであるラット小腸深部筋神経叢領域の細胞構成について電子顕微鏡的に検索を行った。主要な標的と考えられる細胞については、連続超薄切片による立体再構築を行い、それらの細胞の三次元的形状、細胞表面における gap junction の分布様式について検索した。そして、細胞間信号伝達部位として重要と考えられる gap junction の分子的特性については、免疫組織化学的手法により検討した。また、Cajal が ICC を描出するのに用いた手法と同様の染色特性を持つとされる ZIO 法により、電子顕微鏡的に観察された細胞と、Cajal の原著における ICC との異同について考察した。更に、ICC での発現が最近報告されている *c-kit* receptor については、免疫組織化学的に検索し、胃、小腸、大腸を含むモルモット消化管における *c-kit* receptor 発現細胞 の分布様式について観察し、ICC の存在部位と機能との関連について検討を行った。

結果および考察

ラット小腸深部筋神経叢 (deep muscular plexus) には、シュワン細胞、線維芽細胞様細胞の他に、多数の gap junction を有し、互いに微細構造的特徴を異にする二種類の細胞 (gap junction-rich cell-A, B) が観察された。gap junction-rich cell-A は、電子密度の低い細胞質、豊富なミトコンドリアにより特徴づけられ、主に平滑筋との間に gap junction を形成する。連続切片による立体再構築では、突起のないほぼ紡錘形の全形を示し、gap

junction は輪走筋主要層側に面する細胞表面全体に散在性に分布していた。一方、gap junction-rich cell-B は、電子密度の高い細胞質および豊富な caveolae により特徴づけられ、同種細胞との間に多くの gap junction を形成する。この細胞の立体再構築モデルは、細胞体から突起を分枝する形状を示し、gap junction は主にその突起上に分布していた。これら二型の細胞にはシナプス小胞を多数含んだ軸索膨大部が高頻度に密接し、神経からの刺激を筋へ伝達する mediator としての機能が推定された。gap junction-rich cell-A は輪走筋にはほぼ平行な軸性と突起を分枝しない形状から、小腸の長軸に対して分節状に制限された範囲内での刺激伝達に与り、分枝した突起上で同種細胞と連絡する gap junction-rich cell-B は、固有の細胞性網状構造を通じて、小腸の長軸に沿った、より広範囲での刺激伝達に与るものと推定された。

gap junction 蛋白 (connexin; Cx) に関する免疫組織化学染色による検索では、抗 Cx 43 抗体に対する陽性斑は輪走平滑筋細胞相互間、および gap junction-rich cell と平滑筋細胞との間の gap junction に一致して観察され、一方、抗 Cx 45 抗体は gap junction-rich cell 相互間のみ認められた。同種細胞間での gap junction を多く形成する gap junction-rich cell-B には、平滑筋との間との情報伝達とは異なる伝達様式の可能性が推定された。

ZIO 染色については、染色に陽性を示す細胞として、同種細胞間で gap junction を形成する細胞、および突起により神経束を取り囲む形態を示す、基底膜を欠く細胞が観察された。染色に陽性の前者の細胞は gap junction-rich cell-B に、後者の細胞は線維芽細胞様細胞にそれぞれ相当するものと推定したが、これらの細胞の両者が Cajal の原著での ICC に相当するか否かの結論には、ZIO 染色の特異性の問題も含めて、尚一層慎重な考察が必要と考えられた。

また、モルモット消化管を用いた免疫組織化学的検索では、抗 c-kit receptor 抗体に対する陽性反応は、胃、小腸、結腸全ての器官の筋層間神経叢領域に観察されたのに加え、胃では粘膜側の約 1 / 3 層を除く輪走筋層に散在性に、小腸では深部筋神経叢領域に、結

腸では輪走筋層と粘膜下層の境界部の筋層下神経叢領域および輪走筋層に反応が認められた。一方、抗 Cx 43 抗体に対する陽性反応は、胃の輪走筋層の粘膜側 1 / 3 層を除く筋層全体、小腸の輪走筋層全体に均一に観察され、更に小腸では深部筋神経叢領域にも大きな陽性斑が認められた。結腸においては、筋層下神経叢部および輪走筋層に反応が認められた。これらの結果から、c-kit 発現細胞 (ICC) は各器官固有の消化管運動を反映し、異なった分布、機能的役割を持つものと推定した。

以上本研究では、消化管運動のペースメーカーあるいは刺激伝達機構として働く特殊な間質性細胞の微細構造、(免疫)組織化学的特性、組織特異的分布等について解析したが、その成果は ICC の消化管運動における調節機能を明らかにするにとどまらず、自律神経系末梢部における神経支配様式に関する新たな視点を付加するものと言えるであろう。