

MS イン트로ダクション

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学分野

橋谷 光

平滑筋機能の臓器特異性、組織環境への適応には自律神経以外にも多様な周辺細胞が関与しており、血管内皮細胞による液性および電氣的機能制御や消化管運動におけるカハールの間質細胞などを代表例として挙げることが出来る。近年、消化管において従来の分類に属さない Kit 陽性間質細胞や PDGFR α 陽性間質細胞が報告されており、また微小血管に分布するペリサイトの血管自動性への関与を示唆する報告もある。これら平滑筋周辺細胞の生理機能も十分に解明されていると言えないが、その病態における変化や役割についてはさらに未知の部分が多い。本ミニシンポジウムでは血管内皮細胞と消化管間質細胞に関する最新の知見を紹介し、討議の場を提供したい。

MS-1 モルモット腸間膜動脈内皮細胞における細胞間電気信号伝播

¹名古屋市立大学看護学部生理学, ²名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学

○山本 喜通^{1,2}, 鈴木 光²

血管内面を覆う単層の血管内皮細胞は豊富なギャップ結合により互いに電氣的に連絡しており、効率の高い電気信号伝播経路として機能していると考えられる。一方、ギャップ結合は細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) が上昇すると阻害されると報告されている。血管内皮細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は刺激により上昇するので、電気信号伝播は刺激応答により修飾される可能性がある。今回の研究では、血管内皮細胞のギャップ結合がアセチルコリン (ACh) 刺激によって影響されるかを、電気生理学的に究明した。実験には急性単離したモルモット腸間膜動脈内皮細胞層標本を用い、2本のパッチ電極を適用して電流固定法により2カ所の膜電位を観察した。一方の電極を介して一定の電流を流し、それによって生じる電気緊張電位の伝播を任意の距離に置いた他方の電極により調べた。通電電極から得られた電気緊張電位には電極のシリーズ抵抗により生じる電位が重層されるため、これを差し引いて正味の電気緊張電位を検出する必要があり、これは両電位の立ち上がりのタイムコースの違いを利用した方法によりほぼ満足できる結果が得られた。通電細胞とすぐ隣の細胞における電気緊張電位の大きさから計算した細胞間の結合抵抗は、非刺激時には非常に低い値であったが、300 nM の ACh 投与によりかなり増大した。このことから、血管内皮細胞層は通常は良い電気信号伝播経路であるが、一旦刺激されるとその効率が大きく低下することが分かった。

MS-2 マウス消化管各部位における平滑筋とカハール介在細胞の発生に関する免疫組織化学的解析

福井大・医・人体解剖学・神経科学領域

○堀口 和秀, 堀口 里美, 飯野 哲

消化管筋層は主として輪走・縦走する平滑筋細胞からなり、マウスでは胎生中期～後期にかけて発達する。また消化管筋層にはカハール介在細胞（ICC）が存在し、消化管運動の調節を行っている。小腸での研究から、ICCは胎生期中に平滑筋と共通の前駆細胞から発生することが示唆されている。本研究では消化管各部位における筋層とICCの発生について、胎生期マウスを材料に免疫組織化学的手法により解析した。平滑筋マーカーとしては α SMAを、ICCマーカーとしてはc-KITとTMEM16Aを用い、胎生期のマウスより胃（近位・遠位）、小腸（近位・中間部・遠位）、盲腸、大腸（近位・遠位）各部の凍結切片を作成し免疫染色を行った。その結果、いずれの部位でも α SMAは始め将来輪走筋となる層に発現し、その外側に縦走筋／ICC共通前駆細胞層であるc-KIT発現細胞層が取り巻く構造が認められた。その後縦走筋層はc-KIT発現を失い α SMA単独陽性となる一方、筋層間ICCはc-KIT発現を維持した。部位毎に見ると、胃においては、E14.5（近位部）およびE16.5（遠位部）で縦走筋部が α SMA単独陽性となった。胃では筋層間に加え各筋層内にもc-KIT発現細胞が認められた。また近位部では、胎生期中に筋層間ICCが消失した。小腸においては、 α SMA、c-KITともに近位部で発現がやや早かった。また遠位部では、E18.5で輪走筋層内にc-KIT発現細胞が現れた。大腸においては遠位部において縦走筋層の形成が早く、近位部では縦走筋層が α SMA単独陽性になるのはE18.5であった。盲腸では、 α SMA、c-KITともに他の部位よりも発現開始時期が遅れる傾向が明らかであった。TMEM16Aはc-KITよりも発現時期が遅く、胃・小腸ではE17.5、大腸ではE18.5で筋層内に発現が認められた。以上の結果から、消化管各部位における筋層とICC発生の時期の違いが明らかとなった。

MS-3 モルモット粘膜下神経叢カハールの介在細胞の領域差

¹名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理、²日本学術振興会特別研究員 PD

○玉田 宏美^{1,2}, 橋谷 光¹

消化管運動のペースメーカー細胞、神経筋伝達介在機能を持つとされているカハールの介在細胞（Interstitial cells of Cajal: ICC）については、これまで筋層内に分布するサブタイプに対する研究がほとんどであったが、近年、粘膜下神経叢（Submucosal Plexus）に付随するICC（ICC-SP）の存在が明らかにされてきている。このICCは、近位結腸において、非常に発達したネットワークを構成しており、カベオラ、gap junctionなど、典型的なICCの微細構造を示すことなどを既に報告してきたが、消化管全域にわたって分布するか否かについては、明らかにされていない。そこで、本研究では、ICC-SPの形態学的特性、生理的意義を検討するため、モルモットを用いて、他の部位での分布の有無、特に、結腸内（回盲部からの距離で近位、遠位に分類）での領域差に注目し、免疫組織化学的手法を用いて検討を行った。切片標本による観察では、分布密度に差異が見られるものの、近位結腸から遠位結腸にわたって、ICC-SPが存在していることが観察された。さらに全載伸展標本では、近位結腸においては、複数のICC-SPの集合によって構成された非常に発達したネットワークが、神経叢の深さで全域に分布していたのに対し、遠位結腸では、極端にその分布密度は低く、個々のICCの細胞体の識別が容易なほど、細胞の集合はみられなかった。遠位結腸のICC-SPの細胞形態としては、2-3本程の突起を持つ双極性に近い細胞が大半を占めていたが、少数ながら多極性の細胞も見られ、それぞれは、突起によって連絡している様子が観察された。また、小腸では、ICC-SPの分布は観察されていない。以上の観察所見を踏まえ、消化管各部位の、粘膜下神経叢が主に制御に関係している粘膜での機能や、近位結腸で主要なペースメーカー細胞とされている筋層下神経叢のICC（ICC-SMP）との関連などに注目し、考察を進める。

MS-4 炎症性腸疾患線維化狭窄における消化管筋線維芽細胞 TRPC4, C6 チャンネルの役割

福岡大学医学部生理学

○倉原 (海) 琳, 住吉 美保, 井上 隆司

〈背景〉 難治性疾患である炎症性腸疾患 (IBD) において、腸管線維化による腸狭窄が大きな問題となっている。この線維化薬物治療法開発のターゲットである筋線維芽細胞は病変部の創傷治癒に寄与し、組織再構築の際に生じる癒痕や歪みが狭窄へ繋がる。重要な線維化促進因子である TGF- β 1 は狭窄部位で増加がみられ、細胞の分化・遊走・接着・細胞外マトリックスの構築に重要な役割を担う。

〈目的〉 本研究は腸管組織線維化調節のセンサー蛋白質と考えられる筋線維芽細胞 TRP チャンネルを標的として、筋線維芽細胞の線維化刺激に応答する Ca^{2+} シグナル分子の潜在的な役割の探索を目的とする。

〈結果〉 1%FBS/SmBM 培地中で TGF- β 1 (5 ng/ml) で筋線維芽細胞株 InMyoFib を刺激すると、 α SMA, コラーゲン I, III などの線維化マーカーの上昇に伴って、TRPC4, C6 の mRNA, タンパク発現が著しく上昇した。この結果を踏まえて、TRPC のアイソフォームの RNA 干渉実験を行った、TRPC4, C6 の siRNA は TGF β 1 による COL1A1, インターロイキンの発現増加を更に促進した。受容体活性化型カルシウム流入阻害剤 SK & F96365 を TGF β 1 刺激の際に加えると、COL1A1 やインターロイキンの発現に対して siRNA と同じ作用が確認された。また、TGF- β 1 の下流にある Smad2, p38-MAPK, Erk1/2 のリン酸化に対しても、TRPC4 や TRPC6 を介した Ca^{2+} 流入が有意に抑制していることが分かった。

〈考察〉 TGF- β 1 線維化刺激に応答する TRP チャンネルは、筋線維芽細胞の Ca^{2+} シグナルを介して TGF- β 1 の下流のシグナルに対して抑制的に働き、消化管筋線維芽細胞におけるコラーゲンやサイトカイン産生や、線維化の進行を制御している可能性が示唆された。

MS-5 aganglionosis / hypoganglionosis におけるカハール細胞の運動機能的役割

¹慶應義塾大学医学部小児外科, ²慶應義塾大学病院中央放射線技術室

○下島 直樹¹, 清水 隆弘¹, 石濱 秀雄¹, 藤村 匠¹, 狩野 元宏¹, 富田 紘史¹,
高里 文香¹, 中村祐二郎², 藤野 明浩¹, 星野 健¹, 黒田 達夫¹

腸管の蠕動運動は内輪筋と外縦筋が口側から肛門側に向かって収縮弛緩の協調運動をすることで成り立つが、腸管神経が欠如しているヒルシュスプルング病においては、蠕動が認められず便秘症状を来す。一方で腸管には自動能が備わっており、その電気的信号はカハール細胞が持つ律動的な電位の変化 (slow wave) が源となっていると考えられている。今回、カハール細胞による自動運動が臨床上、機能的な腸管運動を導いていると思われる症例を経験したので報告する。

症例 1 1 歳男児, total intestinal aganglionosis. トライツ靱帯から 10 cm の部位以下で神経節細胞が欠如しており、空腸 50 cm の部位に人工肛門を造設した。現在、経口摂取が可能で人工肛門からの排液を認めている。

症例 2 15 歳男児, hypoganglionosis に対する小腸移植症例。造影上、拡張を認めず通過の良好であった近位空腸 25 cm を温存してグラフトと吻合し、術後も通過障害を認めていない。

2 症例とも自己の近位空腸が機能しており、通過障害なく経口摂取が可能となっている。近位空腸の造影所見は 2 症例で近似しており、共に正常な蠕動運動は認めず to-and-fro パターンを呈していた。切除した小腸の病理所見上、症例 1 では神経節細胞は全く認めず、症例 2 では高度に減少した小型神経節細胞を認めた。一方で c-Kit 陽性のカハール細胞は共に高発現していた。症例 1 では内圧測定を施行し、測定部位ごとにそれぞれの周波数で律動波を認め、その周波数は口側から肛門側に行くに従って減少傾向にあった。

ヒルシュスプルング病の無神経節腸管や hypoganglionosis における病変部でも、to-and-fro パターンの収縮弛緩運動を明瞭に認めることがある。今回の症例では胃から十二指腸までの排出は比較的保たれており、それ以下の上部空腸においてもカハール細胞の起動する自動運動が良好であったため、短い距離の病変部を内容が通過することができ、臨床的には機能する腸管となったと考えられる。