

機関番号：32653

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19790500

研究課題名 (和文) カハールの介在細胞による回盲部の運動制御機構の解明

研究課題名 (英文) Research of the involvement of ICC in the movement of the ileocaecal junctional area

研究代表者

菊田 幸子 (KIKUTA SACHIKO)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：10367089

研究成果の概要 (和文)：本研究によって、モルモット回盲部の筋層にも神経要素に密接した豊富な ICC が存在することが明らかとなった。また回盲部では、粘膜下層にも ICC が存在し、長い突起によって粘膜下神経叢や粘膜筋板などと密接していることが明らかとなった。この粘膜下層の ICC は、微細構造学的にも筋層の ICC と類似した特徴を示しており、神経伝達物質の受容体である neurokinin 1 receptor (NK1-R) 陽性のものも存在した。以上の結果から、この粘膜下層の ICC も含め、回盲部に密に存在する ICC が回盲部の運動制御において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：The distribution and ultrastructure of the interstitial cells of Cajal (ICC) has been examined in the guinea-pig ileocaecal junction including the valve. In the ileocaecal junction, ICC showed a dense distribution in close association with the nerves. In addition, ICC were observed around the submucosal plexus (ICC-SP). ICC-SP shared ultrastructural criteria with ICC in the tunica muscularis and expressed the neurokinin 1 receptor (NK1-R). These observations appear to provide morphological evidence that ICC including ICC-SP play an important role in the movement of the junctional area.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	876,335	262,900	1,139,235
年度			
総計	4,076,335	892,900	4,969,235

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：(1) カハールの介在細胞 (2) 消化管 (3) 回盲部 (4) 免疫組織化学

1. 研究開始当初の背景

消化管運動を考える上で、神経、筋に加えて、第三の要素とも言うべき細胞が存在する。それがカハールの介在細胞 (Interstitial cells of Cajal; ICC) で、消化管のほぼ全長にわたって筋層で認められ、消化管運動におけるペースメーカーあるいは興奮伝達機構として

重要な役割を担うことが知られていた。

ICC は、主に消化管筋層内の神経叢あるいは神経線維に付随した形で認められ、その存在部位によって複数のサブタイプに分類された。各サブタイプの分布は、例えば回腸では主に筋層間神経叢に付随するタイプ (ICC-MP) や輪走筋最内層付近に広がる深部筋神経叢に付随するタイプ (ICC-DMP)

が豊富に認められるのに対し、結腸では ICC-MP や、輪走筋層と粘膜下結合組織層との境界部に位置する筋層下神経叢に付随するタイプ (ICC-SMP) の他に、輪走筋層内や縦走筋層内に侵入する神経線維に付随するタイプ (ICC-CM, ICC-LM) も豊富に認められるというように、消化管の部位によって異なる特徴を示すことが知られていた (図 1)。

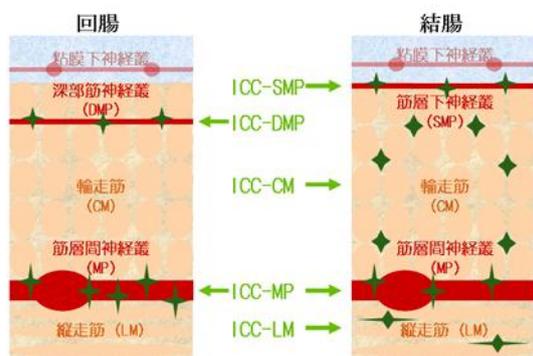


図 1 : 回腸と結腸における ICC 分布の違い

ところで、回盲部は消化管が口側から肛門側へと内容物を送る過程で、方向が切り替わる特殊な部位であり、ここに存在する回盲弁は、盲腸から回腸への内容物の逆流を防いでいるだけでなく、一種の括約機能によって回腸から盲腸への内容物の移動を調節していると考えられていた。

このように、回盲部は消化管運動を研究する上で非常に興味深い部位であり、その制御機構について多くの研究が行われてきたが、そのほとんどは神経やホルモンの関わりに注目したものであり、ICC の関与についてはほとんど注目されていなかった。その為、回盲部に ICC が存在するか否か、そして存在するならばどのサブタイプがどのような分布を示すかについても、ほとんどわかっていない状態であった。

2. 研究の目的

申請者は、回盲部の運動制御に ICC も深く関与している可能性を想定し、ICC の組織学的特徴から回盲部の運動制御機構を解明していくことを目指した。

3. 研究の方法

(1) ICC の形態的特徴の解析

モルモット回盲部の切片標本ならびに全載標本作製し、ICC を、その特異的マーカーとして知られる Kit 抗体を用いて免疫組織化学的手法により検出した。観察には主に共焦点レーザー顕微鏡を用い、二次元ならびに三次元的にモルモット回盲部における ICC の分布ならびに形態的特徴を明らかにした。

(2) ICC と神経ならびに平滑筋の関係の解析

ICC に加えて、神経要素 (Protein Gene Product 9.5; PGP9.5 抗体) や平滑筋 (Smooth Muscle Actin ; SMA 抗体) の多重染色を行い、回盲部の構造や、ICC と神経ならびに平滑筋の関係を明らかにした。

(3) 回盲部の微細構造の解析

透過型電子顕微鏡を用いて、回盲部と ICC の微細構造学的特徴を明らかにした。

(4) 神経-ICC 間のシグナル伝達に関わる神経伝達物質の検索

ICC は神経から筋への興奮伝達機構として働くことから、様々な神経伝達物質の受容体を発現していることが知られている。その為、ICC (特に ICC-DMP) で発現していることが知られている神経伝達物質の受容体である neurokinin 1 receptor (NK1-R) について、回盲部での発現の有無を免疫組織化学的に解析した。

4. 研究成果

(1) ICC の形態的特徴の解析と

(2) ICC と神経ならびに平滑筋の関係の解析によって以下のことが明らかとなった。

回盲部に存在する回盲弁は、盲腸の内腔に突出した粘膜の襞として認められるが、この回盲弁を切片で観察すると、中央部には発達した筋層が存在した (図 2)。この筋層は、回腸の輪走筋と連続性を保ちつつ入り込み、襞の頂点で盲腸側に折り返す二層の輪走筋層と、それらに挟まれた少量の縦走筋層によって構成されていた。

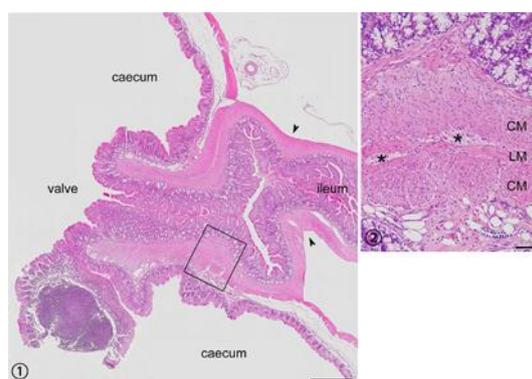


図 2 : 回盲部の HE 像

① 回盲部の全体像

回腸末端部 (矢頭) では輪走筋層の肥厚が認められる。回盲弁の中にも発達した筋層が認められる。黒枠で囲んだ部分を右に拡大して示した。

② 回盲弁の筋層の拡大像

二層の輪走筋層 (CM) と、それに挟まれた一層の縦走筋層 (LM)、そして両者の間には発達した筋層間神経叢 (*) が認められる。

これら回盲弁の筋層においても、豊富な神経が認められ、この神経に付随する形で ICC が密に分布していた(図 3)。

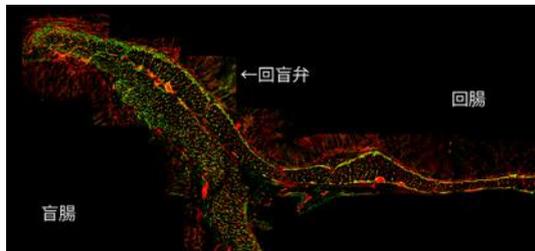


図 3 : 回盲部の ICC(緑)と神経 (赤) の免疫染色結果

ICC は、消化管の部位によって異なる分布様式を示す事が知られ、存在する組織層によって幾つかのサブタイプに分類されているが、回盲部における ICC の分布様式には、回盲部の狭い領域内においても細かな変化が認められた(図 4)。

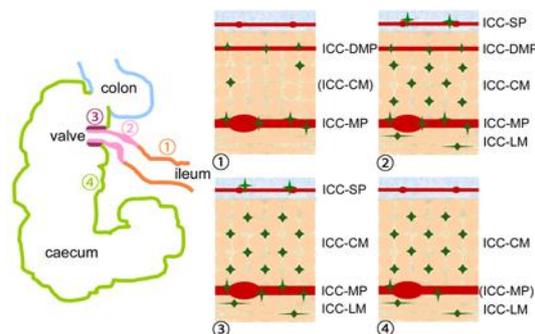


図 4 : ICC の分布様式の模式図

① 典型的な回腸の分布パターン

回腸では輪層・縦走筋層内の ICC (ICC-CM、ICC-LM) はほとんど認められないが、深部筋神経叢に付随する ICC-DMP と筋層間神経叢に付随する ICC-MP が豊富に認められた。

② 回腸末端部 (回盲弁近傍の回腸) から回盲弁回側の分布パターン

ここでは、ICC-DMP、ICC-MP に加え ICC-CM と ICC-LM が豊富に認められた。

③ 回盲弁盲側の分布パターン

ここでは、引き続き ICC-MP、ICC-CM、ICC-LM が豊富に認められたが、ICC-DMP は認められなかった。

④ 典型的な盲腸の分布パターン

盲腸では、ICC-CM、ICC-LM は豊富に認め

られたが、ICC-MP はあまり発達していなかった。

各サブタイプの形態は、消化管の他の部位で認められる同一サブタイプの形態と類似しており、長く伸ばした突起によって神経に密接していた。

上記の筋層内の ICC に加え、回盲弁ならびに回盲弁近傍の回腸では粘膜下層においても双極性あるいは多極性の ICC が観察された (ICC-SP)。これらの細胞は、しばしば突起によって粘膜下神経叢と密接していた。また、回盲弁では筋層と粘膜筋板の間で筋束による連結がしばしば認められた。ICC-SP の中には、それらの筋束を包むように突起を伸ばすものや、粘膜筋板と密接して突起を伸ばすものも認められた。

(3) 回盲部の微細構造の解析

これらの要素の関係を更に詳細に検索するために、透過型電子顕微鏡による微細構造学的解析を行った。その結果、回盲弁の粘膜筋板は、回腸側では筋細胞が密に並んだ厚いものであるのに対し、盲腸側では 4~5 層の筋細胞が疎に並んだ薄いものであるというように、領域によって異なる特徴を示すことが明らかとなった。

粘膜下神経叢周辺には、線維芽細胞の他に、ミトコンドリアが豊富で、細胞膜にカベオラを持つ細胞が認められた。

(4) 神経-ICC 間のシグナル伝達に関わる神経伝達物質の検索

神経伝達物質の受容体である NK1-R は一般に ICC-DMP に特異的に発現する事が知られているが、回盲部でも回盲弁近傍の回腸から回盲弁回側に至って存在する ICC-DMP においてその発現が認められた。また、粘膜下層の ICC-SP の中でも NK1-R 陽性のものが存在した。

以上の結果から、回盲部では、狭い領域の中で細かく分布様式を変化させながら ICC が密に存在していることが明らかとなった。一般に、ICC-CM や ICC-LM は、神経から平滑筋への興奮伝達に関わるといわれている。回腸ではほとんど認められないこの 2 つのサブタイプの ICC が回盲弁近傍の回腸から突如密に存在するようになり、回盲弁の中にまで密に分布していたことは、回盲部においてこれらの ICC が筋の協調した運動の調節、例えば回盲部の括約機能等に関わっている可能性が考えられる。

また、回盲部では粘膜下層に ICC-SP が存在したが、ICC-SP は ICC のマーカーである Kit 陽性を示すだけでなく、微細構造学的特徴も筋層内の ICC と類似しており、粘膜下神経叢や粘膜筋板と密接し、ICC-DMP と同様 NK1-R 陽性を示すものが存在した。これらの結果は ICC-SP が筋層内の ICC と同様に神経から筋への興奮伝達機構として機能している可能性を示唆している。一般に、粘膜筋板には粘膜表面を緩やかに揺り動かす機能があると考えられているが、回盲弁で認められた粘膜筋板と筋層とを結ぶ筋束は、回盲部における両者の密接な機能的連絡の存在を示唆している。この筋束の周囲にも ICC-SP が認められたことから、両者の連絡にも ICC が重要な役割を担っている可能性が考えられる。

本研究によって、回盲部の運動制御には、神経やホルモンだけではなく、ICC-SP を含む様々なタイプの ICC が重要な役割を担っている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Miyamoto-Kikuta, S., Ezaki, T., Komuro, T., Distribution and morphological characteristics of the interstitial cells of Cajal in the ileocaecal junction of the guinea-pig, Cell Tissue Res, 338, 29-35, 2009, 査読有
- ② 宮本(菊田)幸子, 江崎太一, 小室輝昌, モルモット回盲部粘膜下層における ICC の NK1-R 発現に関する免疫組織化学的解析, 東京女子医科大学総合研究所 紀要, 29 巻, 11-12, 2009, 査読無
- ③ 宮本(菊田)幸子, 江崎太一, 小室輝昌, モルモット回盲部粘膜下層における ICC と平滑筋の免疫組織化学的解析, 東京女子医科大学総合研究所 紀要, 28 巻, 11-12, 2008, 査読無
- ④ 宮本(菊田)幸子, 江崎太一, 小室輝昌, モルモット回盲部におけるカハールの介在細胞の分布, 東京女子医科大学総合研究所 紀要, 27 巻, 15-16, 2007, 査読無

[学会発表] (計 3 件)

- ① 宮本(菊田)幸子, 江崎太一, 小室輝昌, Distribution and ultrastructure of the

interstitial cells of Cajal in the ileocaecal junction of the guinea-pig, 第 116 回 日本解剖学会総会・全国学術集会, 2011.3.29, 神奈川

- ② 宮本(菊田)幸子, 小室輝昌, モルモット回盲部におけるカハールの介在細胞の形態学的解析, 第 50 回 日本平滑筋学会総会, 2008.7.4, 青森
- ③ 宮本(菊田)幸子, 江崎太一, 小室輝昌, モルモット回盲部粘膜下層における Kit 陽性細胞の分布と平滑筋の走行, 第 113 回 日本解剖学会総会・全国学術集会, 2008.3.27, 大分

[その他] (計 3 件)

- ① 宮本(菊田)幸子, 小室輝昌, モルモット回盲部におけるカハールの介在細胞の形態学的解析, 日本平滑筋学会雑誌, 12 巻, pj-48, 2008
- ② 宮本(菊田)幸子, 江崎太一, 小室輝昌, モルモット回盲部粘膜下層における Kit 陽性細胞の分布と平滑筋の走行, 解剖学雑誌, 83 supplement, p156, 2008
- ③ 宮本(菊田)幸子, 江崎太一, 小室輝昌, モルモット回盲部におけるカハールの介在細胞の免疫組織化学的解析, 解剖学雑誌, 82 supplement, p80, 2007

6. 研究組織

(1)研究代表者

菊田 幸子 (KIKUTA SACHIKO)
東京女子医科大学・医学部・助教
研究者番号：10367089