

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月26日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590237

研究課題名（和文）

胃平滑筋における歩調とり活動の神経性制御機構

研究課題名（英文）

Mechanism of neural regulation of pacemaker activity in gastric smooth muscle

研究代表者

鈴木 光（SUZUKI HIKARU）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・名誉教授

研究者番号：80037548

研究成果の概要（和文）：胃活動の歩調とり部位といわれる体部平滑筋組織をモルモット胃から摘出し、胃運動の主たる制御神経であるコリン作動性興奮神経と一酸化窒素(NO)作動性抑制神経の刺激によって胃の歩調とり活動がどのように変化するか電気生理学的に調べたところ、前者は主に緩電位の頻度を変化させることなく振幅を増大させ、後者は静止膜電位や歩調とり電位波形に変化させることなく歩調とり活動の頻度を低下させた。そこで、胃体部では神経がICC-IMの活動を変化させているが、興奮神経と抑制神経でその作用機序が異なることがわかった。

研究成果の概要（英文）：In segments of smooth muscle tissue isolated from the corpus region, a known pacemaker region of the stomach, of the guinea-pig stomach, mechanism of the modulation of slow potentials during stimulation of cholinergic excitatory and nitrenergic inhibitory nerves was investigated using electrophysiological technique. In response to cholinergic and nitrenergic stimulations, the amplitude of slow potentials was increased or unaltered while the frequency was not altered or reduced, respectively, with no significant change in the membrane potential. The results indicated an involvement of ICC-IM in the neural regulation of pacemaker activity, but with different mechanism.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：消化管運動・消化吸収

1. 研究開始当初の背景

消化管平滑筋でみられる自発活動の歩調とりは、管壁の筋間神経層に分布するカハールの介在細胞（Interstitial cells of Cajal, ICC）で行われていることが近年あきらかになり、遺伝子欠損動物を用いた研究、特に

c-kit 遺伝子欠損により一部の ICC が発達しない動物から摘出した平滑筋組織を調べ、消化管における ICC の生理機能やその部位差が明らかにされてきた。特徴的なことは、*c-kit* 遺伝子欠損マウスでは筋繊維層間に分布する介在細胞（ICC-IM）が欠損する部位におい

て神経反応が減弱することで、その結果を踏まえ、「自律神経は ICC-IM を介して平滑筋を支配する」という仮説が提唱された。消化管平滑筋は自律神経系と壁内神経系によって支配され、主にコリン作動性興奮性神経と NO 作動性抑制神経の関与がみられる。摘出平滑筋組織の収縮反応を用いた実験結果では、興奮性神経興奮により筋の収縮張力は増大し、抑制性神経興奮は筋張力を減弱させると報告されているが、筋の自動能がどのように変化するか詳細な報告はない。もし、仮説のように神経が ICC に直接シナプスしているならば、興奮性神経は ICC の活動を高め、その結果として歩調とり活動は速くなるであろう。抑制性神経興奮はその逆で、歩調とり活動の減速が期待される。また、神経が持続的に活動し、効果器の受容体における伝達物質濃度が一定値に維持されれば、後接合部細胞の膜電位は持続的に脱分極あるいは過分極され、こうした膜電位の変化もまた歩調とり活動の遅速をもたらすであろう。

2. 研究の目的

歩調とり部位といわれる胃体部における平滑筋の自発活動に及ぼす自律神経興奮の効果を電気生理学的に調べ、自律神経 - 平滑筋の興奮伝達に ICC-IM が関与しているかどうか調べることを目的とする。一般に胃平滑筋はコリン作動性興奮神経と一窒素 (NO) 作動性抑制神経が主たる制御神経であると報告されているので、これらの神経活動によって ICC で産生される歩調とり活動がどのように変化するか調べる。もし、仮説のように神経が ICC に直接シナプスしているならば、興奮性神経興奮は ICC の活動を高め、その結果として歩調とり活動は速くなるであろう。抑制性神経興奮はその逆で、歩調とり活動の減速が期待される。また、神経が持続的に活動し、効果器の受容体における伝達物質濃度が一定値に維持されれば、接合部後細胞の膜電位は持続的に脱分極あるいは過分極され、こうした膜電位の変化もまた歩調とり活動の頻度変化をもたらすであろう。

胃における消化活動は主に蠕動運動で、その歩調とり活動を司っている胃体部 (Corpus 部位) には ICC-IM しか分布していないことが解剖学的に明らかにされているので、特に自律神経の影響を受けやすいと思われるこの部位における神経制御機構を明らかに出来れば、自律神経が胃運動の頻度を調節しているのか、収縮の大きさを調節しているのかを明確に出来ると期待できる。

3. 研究の方法

モルモットから胃体部平滑筋組織を摘出し、平滑筋細胞の自発活動の神経性制御機構を電気生理学的に調べる。筋組織内に分布する

神経を経壁的電気刺激によって興奮させ、誘発される接合部電位を平滑筋から記録し、また平滑筋の自発電気活動の変化 (波形・振幅・頻度など) から神経支配の様子を調べる。支配神経の性質は、平滑筋で記録される接合部電位の電気的性質や薬物反応から判定する。神経興奮に伴う平滑筋の張力変化を測定し、平滑筋細胞内カルシウムイオン濃度変化の指標の一つとする。細胞膜電位の変化によっても歩調とり細胞機能は変化するので、微小標本を用いて 2 本電極による膜電位変化を起し、電位依存性も調べる。

4. 研究成果

平成 21 年度の成果

ICC は互いにギャップ結合を介してネットワークを形成しており、さらに周辺の平滑筋細胞ともギャップ結合しているため、ICC で発生した電気活動は電気緊張的に周辺の細胞に伝播して膜電位を変化させ、平滑筋の活動を変化させる。もし「自律神経は ICC-IM を介して平滑筋を支配する」という仮説が正しければ、自律神経 - 平滑筋間の興奮伝達は ICC-IM の活動状態によって大きな影響を受けることになる。そこで、歩調とり部位といわれる胃体部における平滑筋の自発活動に及ぼす自律神経興奮の効果を電気生理学的に調べ、自律神経 - 平滑筋の興奮伝達に ICC-IM が関与しているかどうか調べた。胃体部平滑筋はコリン作動性興奮神経と一窒素 (NO) 作動性抑制神経が主たる制御神経であると言われているので、これらの神経活動によって ICC で産生される歩調とり活動がどのように変化するか調べたところ、コリン作動性神経刺激は緩電位の振幅を大きくさせ、NO 作動性神経興奮では振幅が低下したが、自発活動の頻度には大きな変化は無かった。そこで、提唱されている仮説を実証することは出来なかった。

平成 22 年度の成果

モルモット胃を摘出し、平滑筋組織を作成し、微小電極方を用いて平滑筋細胞内電位を記録しながら、経壁神経刺激により誘発される細胞膜の電位変化を測定した。平滑筋細胞の膜電位は筋間神経層に分布するカハールの介在細胞 (ICC) で発生する歩調とり電位の影響を受動的に受けて律動的に緩電位を発生しており、神経刺激による緩電位の頻度や振幅の変化から、支配神経の効果を推定した。支配神経の反応は興奮性と抑制性があり、興奮性反応は主にコリン作動性であり、抑制性反応は一酸化窒素 (NO) 作動性であった。コリン作動性神経興奮は歩調とり活動を促進させることなく、主に緩電位の振幅を増大させ、強い神経興奮の時には膜の脱分極を伴って頻度を増大させた。NO 作動性神経興奮は静止膜電位や歩調とり電位波形に変化を与えること

なく、歩調とり活動の頻度を低下させ、強い神経興奮により歩調とり活動が停止した。平滑筋に対し、コリン作動性受容体の興奮は筋収縮張力を増大させ、NOは平滑筋の興奮に対して膜の電気活動を変化させることなく収縮張力を低下させると報告されている。胃平滑筋の自発活動は生理的範囲の神経興奮の際に、NO作動性神経により頻度低下がみられるが、コリン作動性神経で頻度は大きく変化しなかったため、歩調とり活動は主に抑制的に制御されていることがわかった。その生理学的意義について直接実験で確かめることはできなかったが、消化活動の神経制御については、ICCの活動頻度を促進することよりも抑制することが重要であり、一方平滑筋に対しては筋の収縮張力を変化させることによる調節機能が優位であると考えられた。

平成23年度の成果

胃壁の筋間神経層に分布するカハールの介在細胞 (Interstitial cells of Cajal, ICC) には ICC-MY と ICC-IM の2種があり、それぞれ歩調とり電位と単位電位を発生し、平滑筋を駆動させるための緩電位を構成する成分となっている。ICC-IM はまた ICC-MY で発生する歩調とり活動を平滑筋細胞へ伝達する機能も在る。遺伝子欠損動物などでは、ICC-IM が欠損する部位において神経反応が減弱するので、自律神経は ICC-IM を介して平滑筋を支配すると考えられた。胃活動の歩調とり部位といわれる胃体部では、ICC-IM のみが分布しているため、この部位を用いて自律神経-平滑筋の興奮伝達における ICC-IM の関与を調べた。実験にはモルモットから摘出した胃組織を用いた。胃平滑筋の支配神経を調べたところ、コリン作動性興奮神経と一窒素 (NO) 作動性抑制神経が主たる制御神経であることがわかったため、これらの神経活動によって ICC で産生される歩調とり活動がどのように変化するか調べた。細胞外電極法を用い神経刺激を行い、2本電極報により膜電位を種々のレベルに変化させ、緩電位や神経反応の電位による変化を測定した。コリン作動性刺激にはアセチルコリン (ACh) を用い、NO 作動性刺激にはニトロプルシドナトリウム (SNP) を用い、また抑制剤にはアトロピンとニトロアルギニンをそれぞれ用いた。緩電位の振幅は ACh によって上がったが、SNP によって変化せず、緩電位の頻度は SNP で低下したが、ACh で大きく変化しなかった。胃体部の緩電位は ICC-IM の活動に比例しているため、コリン作動性刺激は ICC-IM 活動を上げ、NO 刺激は ICC-IM 活動を下げることにより緩電位を変化させ、平滑筋活動を変化させていることがわかった。

研究成果のまとめ：

- (1) 胃における消化活動の歩調とりを行っている胃体部平滑筋の神経支配を電気生理学的手法で調べ、主要神経はコリン作動性興奮性神経と一酸化窒素 (NO) 作動性抑制性神経であることがわかった。
- (2) 胃体部平滑筋は緩電位を自発的に発生しており、その活動は ICC-IM の電気活動によって形成されていて胃幽門部平滑筋で記録される slow wave と性質が異なっていたため、slow potential とよび、その性質をしらべたところ、slow potential の振幅や頻度には電位依存性があり、頻度は膜の脱分極によって速くなり過分極によって遅くなり、振幅は脱分極により小さくなり過分極により増大した。
- (3) 神経刺激により、slow potential の振幅は変化した (コリン作動性神経興奮で増大し、NO 作動性神経興奮で低下) ため、神経が直接 ICC-IM の活動を変化させていると推定した。
- (4) ACh と SNP による胃体部平滑筋の反応を調べ、ACh は slow potential の振幅を増大させるが頻度は変えず、高濃度の ACh は膜の脱分極を伴い、頻度増加と振幅増大をさせた。SNP は slow potential の頻度は変えずに振幅を低下させ、高濃度刺激すると slow potential 発生が停止した。
- (5) 胃体部平滑筋の摘出組織を用いて筋の収縮張力を測定したところ、筋は規則的自発収縮活動をしており、興奮性神経刺激や ACh で収縮張力は増大し、抑制性神経刺激や SNP で張力が低下したが、いずれの場合も弱い刺激のときは、活動頻度は著明に変化せず、強い刺激により、興奮性刺激では頻度増加が、抑制性刺激では頻度低下が引き起こされた。
- (6) 以上の結果から、胃体部では壁内神経は ICC-IM の歩調とり活動を直接変化させていると思われたが、生理的範囲では、歩調とり活動は神経刺激で変化しなかったため、平滑筋を駆動させる歩調とり活動が ICC-IM でどのように産生されるのか明確にできなかった。胃体部における歩調とり活動発生機構は、ICC-MY の歩調とり活動を変化させることなく平滑筋の張力のみを主に変化させている幽門部とは異なる機構である事がわかった。

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5件)

- ① Shigemasa, Y., Kito, Y., Hashitani, H. and Suzuki, H., Factors which determine the duration of follower potentials in longitudinal smooth muscle isolated from the guinea-pig stomach antrum. *Journal of Smooth Muscle Research* 第47巻, 2011, 89-110頁 (査読有).
- ② Kodama, Y., Iino, S., Shigemasa, Y. and Suzuki, H., Properties of acetylcholine-induced relaxation of smooth muscle isolated from the proximal colon of the guinea-pig. *Journal of Smooth Muscle Research* 第46巻, 2010, 185-200頁 (査読有).
- ③ Kito, Y., Sanders, K. M., Ward, S. M. and Suzuki, H., Interstitial cells of Cajal generate spontaneous transient depolarizations in the rat gastric fundus. *American Journal of Physiology* 第297巻, 2009, G814-G824頁 (査読有).
- ④ Nakamura, E., Yokoi, T., Fukuta, H., Tanaka, Y., Yamamoto, Y. and Suzuki, H., Hypoxia differentially modulates both pacemaker and smooth muscle cell activity in the guinea-pig stomach antrum. *Journal of Smooth Muscle Research* 第45巻, 2009, 149-166頁 (査読有).
- ⑤ Tanaka, C., Domae, K., Hashitani, H. and Suzuki, H., Modulation of slow waves by transmural nerve stimulation in smooth muscle tissues isolated from the corpus of guinea-pig stomach. *Journal of Smooth Muscle Research* 第45巻, 2009, 109-124頁 (査読有).

[学会発表] (計4件)

- ① Suzuki, H., Factors which modulate the duration of slow waves in the guinea-pig stomach, The 6th International Symposium on ICC: Smooth Muscle Rhythm (2010年2月, 宮崎市).
- ② 児玉洋平, 飯野哲, 鈴木光, アセチルコリンによるモルモット結腸基部平滑筋の弛緩反応、日本病態生理学会第20回大会 (2010年1月, 橿原市).
- ③ 加藤岳史, 今枝憲郎, 中村江里, 鈴木光, ラット結腸基部P領域平滑筋における自動運動の神経性制御、日本平滑筋学会第51回総会 (2009年7月, 名古屋市).

- ④ 溝口達也, 鬼頭佳彦, 鈴木光, 糖尿病モデルラットにおける胃底部平滑筋収縮反応の変化, 日本平滑筋学会第51回総会 (2009年7月, 名古屋市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 光 (SUZUKI HIKARU)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・名誉教授

研究者番号：80037548

(2) 研究分担者 (該当者なし)

(3) 連携研究者

橋谷 光 (HASHITANI HIKARU)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：10315905

鬼頭 佳彦 (KITO YOSHIHIKO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：60381787

山本 喜通 (YAMAMOTO YOSHIMICHI)

名古屋市立大学・看護学部・教授

研究者番号：80145755