

ヒルシュスプルング病無神経節腸管平滑筋細胞の膜性質と神経支配様式

窪田, 正幸
九州大学大学院医学研究院小児外科学

水田, 祥代
九州大学大学院医学研究院小児外科学

伊東, 祐之
九州大学大学院医学研究院生体情報薬理学

Joseph H. Szurszewski
Department of Physiology and Biophysics, Mayo Clinic

<https://doi.org/10.15017/7234025>

出版情報：福岡医学雑誌. 92 (10), pp.341-346, 2001-10-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



解 説

ヒルシュスプルング病無神経節腸管平滑筋細胞の膜性質と神経支配様式

九州大学大学院医学研究院小児外科学
窪田 正 幸・水田 祥 代

同 生体情報薬理学
伊 東 祐 之

Department of Physiology and Biophysics, Mayo Clinic
JH Szurszewski

はじめに

ヒルシュスプルング病は出生約 5000 人に一人の割合で発症し、通常は腸管全域に分布している腸管神経節細胞が、腸管のある部位で先天的に途絶し、その部より遠位側の腸管が無神経節腸管となっている。この無神経節腸管では神経節細胞は欠如するものの、本来神経節細胞に分布するはずである仙骨神経叢由来の外來性節前神経線維は腸管に進入してきており、神経節細胞がないためか筋層内から粘膜下層にまで肥大増殖している。

腸管には内因性の腸管運動調節機能が存在し、普段私たちが意識することなく腸管運動は営まれている。この調節機構において腸管神経節細胞が不可欠な要素であることを証明したのが本症である。しかし、本症の特徴として、病変部の長さが同じであっても症状の重篤度は症例によって異なり、新生児イレウスとして生直後より発症するものから、軽度の便秘として幼児期まで見逃されるものまで多様であり、このような本症に特異的な腸管運動不全がどのような病態で発生しているかは、長年議論的であった。

そこで、我々の一連の電気生理学的実験結果²⁾⁻⁴⁾⁶⁾を基として、先天的に腸管神経節細胞を欠如した腸管平滑筋細胞がどのような性状を有し、外來性に進入している神経線維の機能的役割を明らかにすることにより、本症における腸管運動不全症がどのような筋原性並びに神経原性障害により発生しているかを考察した。

1. 実験方法

ヒルシュスプルング病の根治術時に得られた摘出腸管より、粘膜組織を除去した 3 × 8 mm 程度の平滑筋条片を作成し、クレープス液灌流下で実験に用いた。筋標本の半側をピンで固定し、3MKCl で充填したガラス微小電極を直接細胞内に刺入し細胞内静止膜電位を記録し、標本の他側より等尺性収縮記録法を用いて筋条片の張力を測定した。経壁的電気刺激には一對の白金電極を用い、標本内の神経要素のみを興奮させる条件で刺激し、神経因性反応を記録した(図 1)。また、筋標本の膜電位と張力の変化を同時に記録するため二重蔗糖隔絶法も用いた。実験には、輪状筋並びに縦走筋標本作製し、それぞれの反応を検討した。しかし、両筋層間で根本的な相違は認められず、両者の典型的結果を紹介する。対照としては、同じ症例より切除された腸管で、組織学的に神経節細胞が証明された

Masayuki KUBOTA¹⁾, Sachiyo SUIA¹⁾, Yushi ITO²⁾, Joseph H. SZURSZEWSKI³⁾

¹⁾ Department of Pediatric Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

²⁾ Department of Pharmacology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

³⁾ Department of Physiology and Biophysics, Mayo Foundation, Rochester, Minnesota USA

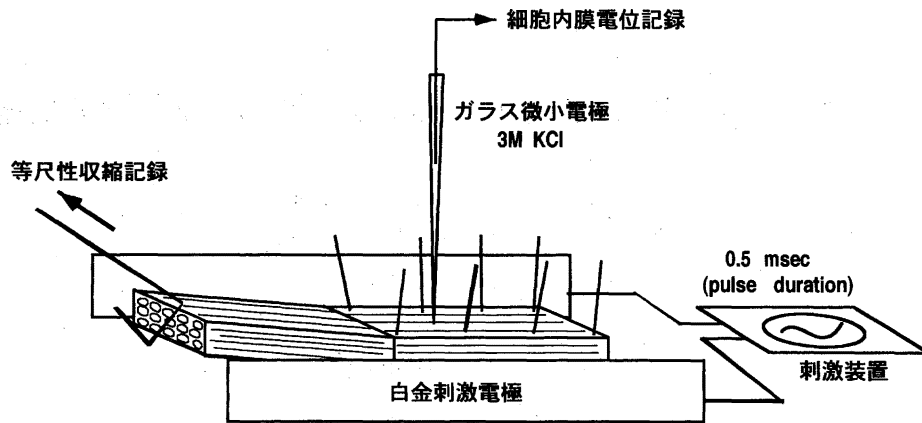


図1 電気生理学的実験方法

部位（以下対照部）を用いた。

ヒト無神経節腸管のシェーマを図2に示す。腸管の組織所見と注腸造影所見には相関があり、対照とした腸管神経節細胞を正常に認める腸管は、この領域まで輸送された腸内容がそこで停滞するため拡張した形態を呈し拡張部（Dilated segment）と呼ばれている。一方、神経節細胞が欠如した無神経節腸管は逆に狭小化した形態を呈し、狭小部（Narrow segment）と呼ばれている。この間に移行帯部（Transitional region）と呼ばれる口径が徐々に変化する領域があり、通常移行帯部の始まりで神経節細胞は消失する。

また、我々の検討で明らかとなったことは無神経節腸管の性状には著明な部位別相違が存在することで、この点を明らかにするために、本症のラットモデルでの検討も行った⁴⁾。

2. 実験結果

1) ヒト無神経節腸管

静止膜電位と自発膜活動

ガラス微小電極法を用いて平滑筋細胞の膜性質、即ち細胞内静止膜電位と自発膜活動様式を検討したが、静止膜電位には対照部と病変部で有意差は認められなかった。このことは病変部の平滑筋が膜脱分極により拘縮を引き起こし、従って狭小化しているのではない事を示している。しかし、自発膜活動のパターンには著明な部位別相違が存在した。対照部と移行帯部領域の無神経節部では、ほぼ全ての細胞より、律動的な膜電位変化が記録されが（図2 A, B）、狭小部の無神経節腸管では、自発膜活動はほとんどの細胞において記録されず、極少数の細胞において例外的に不規則に発生するスパイク様活動のみが記録された（図2 C）。すなわち無神経節腸管では、平滑筋細胞の律動的自発活動能は障害されていた。しかし、無神経節腸管の平滑筋標本に二重蔗糖隔絶法を適用し膜電位を脱分極させると、膜脱分極がある一定の閾値を越えるとスパイクの発生とそれに伴う収縮が認められた。このときスパイクを発生させる膜脱分極閾値は対照部と比較して差異は観察されず、興奮収縮連関機構は無神経節腸管においても正常に保たれていることが判明した。

神経支配様式

次に、筋標本に経壁的神経刺激を加えた際の神経因性反応を検討した。微小電極法を用いた検討では、対照部においては検索した全ての細胞より神経筋接合部電位（Neuromuscular Junction Potential）が記録された。その典型的反応を図3 Aに示すが、単一パルス刺激より振幅が10 mV以上の急峻な膜過分極反応が記録され、20 Hzの頻度で刺激回数を5回に増加すると、膜過分極反応はさらに増大し、最大振幅を示した。また、ここには示さないが

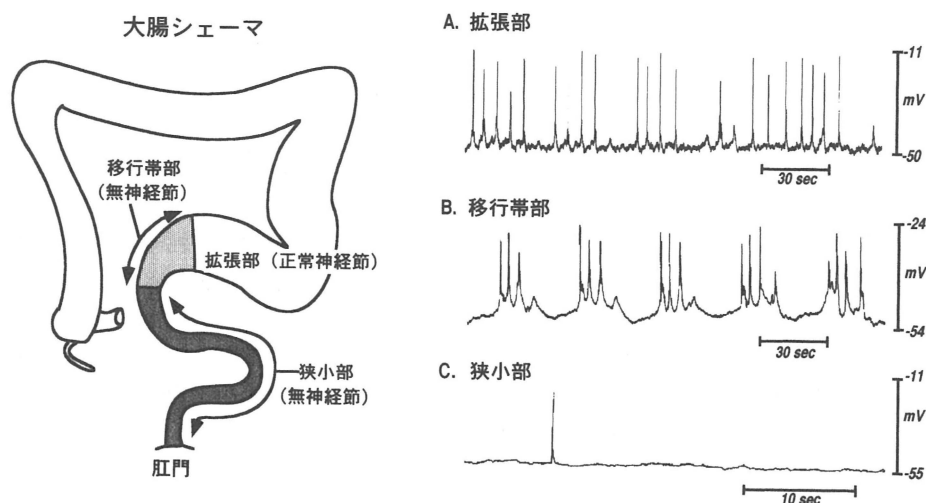


図2 本症大腸シェーマと典型的な部位別平滑筋細胞自発膜活動パターン

膜過分極反応に先立ち膜脱分極反応を示す2相性反応も認められた。膜脱分極反応はアトロピン (10^{-6} M) 投与により完全に消失し、以後刺激に対し膜過分極反応のみとなった。この過分極反応は、アトロピン存在下でアドレナリン作働性神経阻害薬に対して全く影響を受けず、テトロドトキシン (10^{-7} M) により完全に消失した。二重蔗糖隔絶法を用いた検討では、膜脱分極反応は収縮反応を、また膜過分極反応は弛緩反応を伴っていた。従って、膜脱分極反応はコリン作働性興奮性神経筋接合部電位、そして膜過分極反応は非コリン非アドレナリン作働性抑制性神経筋接合部電位であり、対照部平滑筋細胞には少なくとも、この二種類の神経支配が存在することが明らかとなった。

一方、移行帯部においては、図3 B に示す如く、単発刺激では神経因性反応は認められず、刺激回数を増加させた高頻度刺激条件下において、ゆるやかな膜過分極反応が認められた。移行帯部における膜過分極反応の導出には高頻度刺激が必要で、しかも対照部に比べ最大振幅は低下していた。しかし、過分極反応がある一定の大きさを越えれば弛緩反応が惹起され、有効な神経筋伝達を営むことが確認された。また、同じ移行帯部においても、拡張部より遠位側になるにつれ膜過分極反応の振幅が減少してゆくことより、移行帯部における抑制性神経の起源は、拡張部神経節細胞由来の内因性抑制性神経性反応と考えられた。

次に、狭小部無神経節部の反応を検討したが、術中に得られた部位のなかで最も遠位側にあたる腹膜翻転部領域の典型的反応を図3 C に示す。移行帯部と同様に単発刺激に対して反応は認められず、高頻度刺激条件下において緩やかな膜脱分極が約20%の細胞で出現した。刺激回数を増大すると脱分極が閾値を越えスパイク発生が認められた。標本の張力との関係を二重蔗糖隔絶法にて検索したが、膜脱分極反応は収縮反応を伴っており、アトロピン投与により脱分極反応は完全に消失し、アトロピン存在下では以後なんら反応は認められなかった。従って、狭小部無神経節腸管は、コリン作働性興奮性神経の単一支配を受けているものと考えられた。

2) ラットヒルシュスプルング病モデルでの検討

ヒトにおいては、手術法の制限により腹膜翻転部より肛門側に位置する無神経節腸管は根治術時には摘出されず検索することができない。剖検例における組織学的検討では、ヒト無神経節腸管に分布する外来性神経は、肛門側に近づくほど密になることが判明しており、ヒト腹膜翻転部領域において観察されたコリン作働性興奮性神経性反応の特徴をさらに検索するため、ラットモデルを用いた。

このラットモデルでは、無神経節腸管は大腸全域に及ぶ長いタイプで、最近の研究によりエンドセリンタイプB

受容体をコードする遺伝子異常が存在することが明らかにされている。体毛の色素沈着異常を伴うため、成長すると体毛色の違いで正常同胞と区別することができる。生後2～3週間で腹部膨満を来し死亡するため、体毛色の明らかとなる生後2週頃に実験を行った。

この時期のラットでは、無神経節大腸の長さは7～8 cmで、組織学的検討では肛門縁に近い3 cmの領域に外来性神経分布が認められ、ヒトと同様に肛門側に近い遠位側程密な神経分布パターンを呈していた。そこで、この外来性神経分布の認められる3 cmの部を遠位側と近位側の2つの部分にわけ、等尺性収縮記録法を用いて神経因性反応を検討した。まず対照とした同腹コントロールラットでの検討では、大腸の神経支配に部位別相違は存在せず、ヒト神経節部と同様に非コリン非アドレナリン作働性抑制性並びにコリン作働性興奮性神経支配の存在が確認された。一方、無神経節部では、遠位側と近位側の両者においてコリン作働性興奮性収縮反応のみが記録された。そこで、遠位側と近位側とを比較すると、その振幅は密な神経分布を示す遠位側の方が大きく、しかも対照と同じ刺激条件で同じ程度の大きさの収縮反応が遠位側で記録された(図4)。従って、無神経節に分布する外来性神経線維は、有効な神経筋伝達を営み、しかもその有効性は神経分布密度と相関があることが判明した。ヒト無神経節腸管においても、ラットと同様に外来性神経の分布密度と神経筋伝達の有効性が相関するものと考えられ、我々は腹膜翻転部レベルまでしか検索できていないが、さらに遠位側の直腸肛門部無神経節領域を検索すれば、対照部と同程度に有効性の高まった神経因性反応が観察できるものと考えられた。

考察

近年になり、消化管の自発活動の発生には、ICC (Interstitial Cells of Cajal) が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた¹⁾。筋間神経叢領域に分布する ICC は自発活動能を有し、電気的接続を有する周囲の平滑筋細胞をペースングし、消化管の自発活動を発生させると考えられている。筋間神経叢の欠如した本症無神経節腸管において ICC の分布がどのような状態にあるかは、興味深い問題である。初期の組織学的検討では、無神経節腸管で

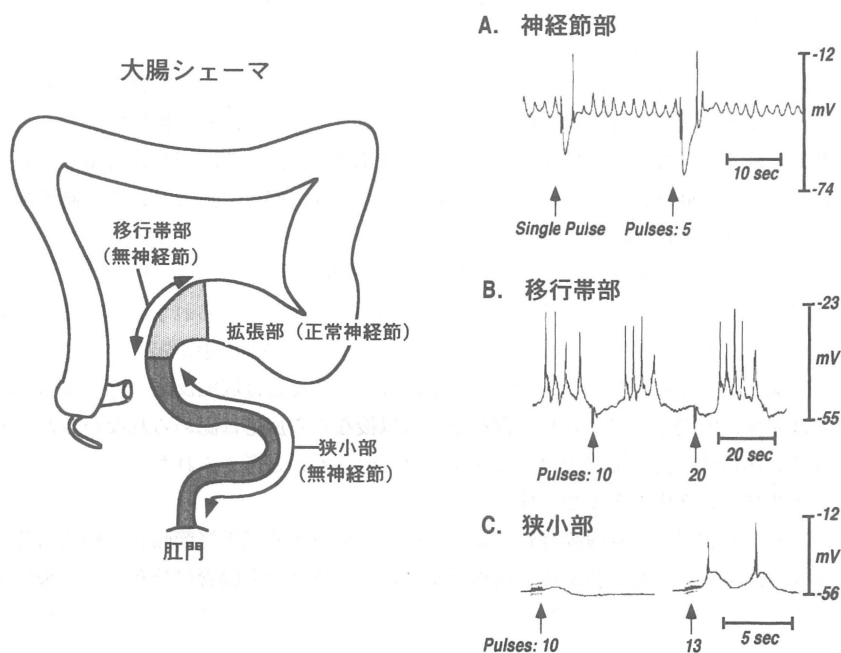


図3 本症大腸シェーマと典型的な部位別神経筋接合部電位のパターン

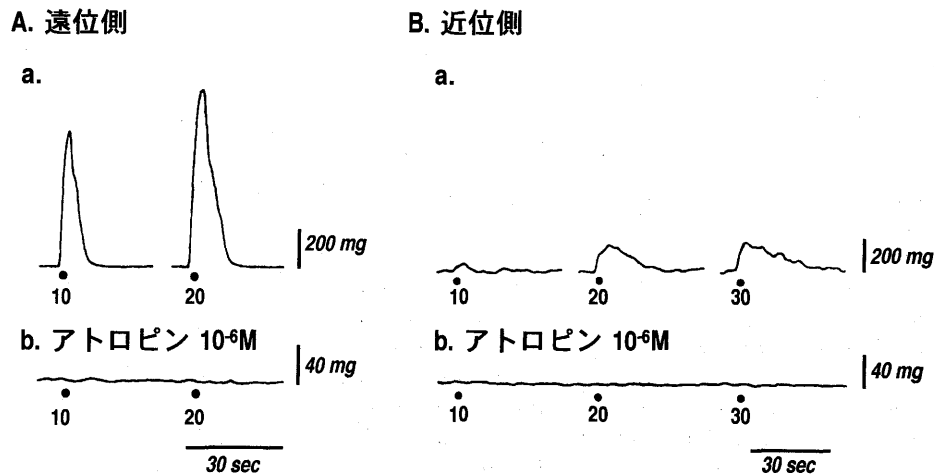


図4 本症ラットモデルにおける無神経節部興奮性収縮反応。遠位部では近位部より少ない刺激回数で近位部より大きい振幅の収縮反応が発生している。アトロピン投与後は、反応は完全に消失している。

は ICC の細胞数は著減しネットワーク構造も障害されていると報告され、無神経節腸管で平滑筋細胞の自発活動能が低下しているという我々の電気生理学的実験結果と良く一致するものであった。しかし、最近になり正常腸管と同様に ICC の分布が認められるという報告もあり、いまだ一定の見解は得られていない。本症における遺伝子異常解析も最近のトピックで、RET proto-oncogene, endothelin 3, endothelin B receptor gene, glial cell line-derived neurotrophic factor, endothelin converting enzyme, gene encoding the Sry-related transcription factor SOX10 など種々の遺伝子異常がヒトや動物モデルで発見され、多因子遺伝子異常の可能性や環境因子の関与なども報告されている。特定の遺伝子異常と ICC の異常が相関している可能性もあり、ICC の異常に関しては今後の検討課題である。また、新しい知見として自発膜活動の発生には筋小胞体からの Ca^{2+} 遊離が必要であることも明らかにされており、イノシトール 1,4,5 三リン酸レセプターと細胞内情報伝達系の検討なども、今後の重要な検討課題と考えられる。

本症無神経節腸管の神経支配に関しては、内因性並びに外因性神経が異なる部位より無神経節腸管に侵入し、それぞれ異なる機能的神経筋伝達を営むことにより、著明な部位別相違を形成していると考えられる。内因性神経は、無神経節腸管に隣接する神経節部より無神経節腸管に下降性に伸びてきた神経線維で、外来性神経はこれとは逆に肛門縁領域より腸管に侵入し上行している。内因性神経は本来の腸管内在性神経の流れで、神経節細胞が消失した領域よりさらに遠位側に伸び、完全ではないものの機能的代償を行っているものと考えられる。一方、上行している外来性神経線維は、遠位側程密な神経筋伝達を営み、しかも興奮性に作用するため、力のベクトルとしては、腸管内容を口側に押し上げる様に作用し、無神経節腸管の通過障害を悪化させるように働くものと考えられる。この、外来性神経の分布には個人差があり、そのため同じ長さの無神経節腸管有する症例間で、閉塞症状に個人差が生じるものと結論された。

本症は消化管生理にとって興味の尽きない病態を呈し、電気生理学的検討結果より明らかとなった筋原性並びに神経原性異常の他にも、生化学的な機能異常や消化管以外の機能異常を伴っている可能性もあり⁵⁾、今後多方面での検索が病態解明には不可欠と考えられる。

謝辞

本研究を進めるにあたって多大なる御指導・御鞭撻を戴いた九州大学名誉教授栗山熙先生、池田恵一先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Hara Y, Kubota M and Szurszewski JH: Electrophysiology of smooth muscle of the small intestine of some mammals. *J. Physiol.* 372: 501-520, 1986.
- 2) Kamimura T, Kubota M and Suita S: Functional innervation of the aganglionic segment in Hirschsprung's disease. -Comparison of the short- and long-segment type- *J. Pediatr. Surg.* 32: 673-677, 1997.
- 3) Kubota M, Ito Y and Ikeda K: Membrane properties and innervation of smooth muscle cells in Hirschsprung's disease. *Am. J. Physiol.* 244: G406-G415, 1983.
- 4) Kubota M, Ito Y, Taguchi T, Ikeda K and Ikadai H: Regional differences in the pattern of neurogenic responses in the aganglionic colon from congenitally aganglionic rats. *J. Pediatr. Surg.* 24: 911-919, 1989.
- 5) Kubota M, Kamimura T and Suita S: External anal sphincter dysfunction and postoperative bowel habits of patients with Hirschsprung's disease. *J. Pediatr. Surg.* 32: 22-24, 1997.
- 6) Kubota M, Koch TR, Telander RL, Kaufman B, Go VLW and Szurszewski JH: Inhibitory innervation of the aganglionic segment in Hirschsprung's disease. *Gastroenterology* 88: 1458, 1985.