

消化管運動のペースメーカー細胞：“Interstitial cells of Cajal”

中村, 桂一郎
九州大学医学部解剖学教室

当間, 宏樹
九州大学医学部解剖学教室

<https://doi.org/10.15017/7236781>

出版情報：福岡醫學雜誌. 89 (9), pp.255-260, 1998-09-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：



解 説

消化管運動のペースメーカー細胞： “Interstitial cells of Cajal”

九州大学医学部解剖学教室
中 村 桂一郎・当 間 宏 樹

は じ め に

消化管には、心臓の刺激伝導系と比較できる、腸管神経系に依存しない興奮伝導の機能単位がある。消化管運動のペースメーカーという概念は1982年 Thuneberg により提唱され、以来、この機能にかかわる細胞について多くの電気生理学および形態学的研究がなされてきた。関与する特殊細胞の記載は、約100年前のCajalによる“Interstitial cells of Cajal”にまでさかのぼる。しかし、染色・観察方法など研究手段の違いにより、存在する部位およびそれに関わる細胞の種類、特徴など意見の一致を見ない部分も多かった。最近になって、受容体型チロシンキナーゼの一つであるc-Kitタンパクが、消化管ペースメーカー細胞の特異的のマーカースとして有用であることが認められ、これまでのデータの整理が急速に進んだことをうけて、いくつかの総説が著わされている^{1),2),4),5)}。本稿では、この消化管運動のペースメーカー細胞について形態学的側面から解説を試みる。

IC (Interstitial cells of Cajal)

Interstitial cellsの研究は、Ramon y Cajalが小腸において、自律神経系に属する細胞として記載したcellules interstitiellesにはじまる²⁾。近年、消化管筋層においてメチレンブルーによる超生体染色や鍍銀染色(ZIO染色)でCajalの記載と同様の構造が染め出されることが確認され、今日の研究に発展した。しかし、Cajalが記載した構造が単一の細胞ではない可能性があることや、用いられた染色法の特異性の問題などから形態学者の間でも必ずしもこれらの構造について意見の一致が見られなかった。また、研究目的や方法に応じてマウス、ラット、モルモット、イヌ、そしてヒトにいたる各種の哺乳動物、さらに鳥類が研究対象となっており、これら動物の種による消化管壁構築細胞の違いも論争の一因であった。最近になって、これまでの光学顕微鏡による所見と、電子顕微鏡観察による解析の対応が進み、さらに特異的のマーカースとして抗c-Kit抗体が導入されるにいたり、筋層内に網状の二次元的、三次元的ネットワークを形成する細胞があることが示され、電気生理学的研究とあわせて、消化管運動のペースメーカー活動に関与する特異的な細胞系として理解が深まってきた。

これらの細胞は機能的意味合いを含めた介在細胞や、単に間質細胞と呼ばれる。最近では、ICと略記されることも多い。これらの名称は必ずしも同一種の細胞を指しているわけではないが、基本的には同じ概念のもと使用されているので、本稿では、用語としてICをもちいる。

消化管の部位による差異

食道から大腸にいたる消化管の各部位によりICの形態、分布が異なることが報告されている。食道壁ではIC

の存在が知られているものの、機能的な意義は不明である。胃の筋層内にみられる IC については、一酸化窒素(NO)との関わりや、電顕的な c-Kit タンパク発現細胞の同定についての報告がみられる。以下、小腸と大腸について述べる。

I. 小腸

小腸壁において筋層は筋間神経叢(アウエルバッハの神経叢, MP; myenteric plexus)により内輪走筋と外縦走筋にわけられる。輪走筋層はさらに深部筋神経叢(DMP; deep muscular plexus)と呼ばれる神経線維が平面的に配置する層により、内側の粘膜下層に面する薄い平滑筋層(ICM; inner circular muscle layer)と、外側の主部(OCM; outer circular muscle layer)の二層にわけられる(Fig. 1)。

IC は, MP と DMP にみられ, 円形ないし紡錘形の細胞体より両側に延びた2ないし数本の枝別れした突起の先でお互い連絡して, それぞれの層において三次元的に広がる細胞性の網状ネットワークを形成する(Fig. 2)。Thunberg はマウス小腸に4種類のICを分類している。MPに見られるICC-I, 漿膜下に見られるICC-II, DMPのICC-III, そして輪走筋層(CM)のICC-IVである。ICC-IとICC-IIIはそれぞれの層においてネットワークを形成する細胞に相当する。ICC-IVはネットワーク形成が証明されておらず, c-Kit染色像からは異なる種の細胞である可能性も指摘される。また, ICC-IIは漿膜の筋層側に分布する線維芽細胞のサブクラスであると考えられる。消化管各層にみられるICを, 分布する部位の名称を付して, ICC-MP(AP), ICC-DMP, ICC-SMP, ICC-CMと呼ぶこともある。最近, 当間ら⁶⁾により, モルモット小腸の全載標本の抗c-Kit抗体による免疫染色標本で, これらの細胞と神経要素の三次元的位置関係が明確に示された(Fig. 3)。

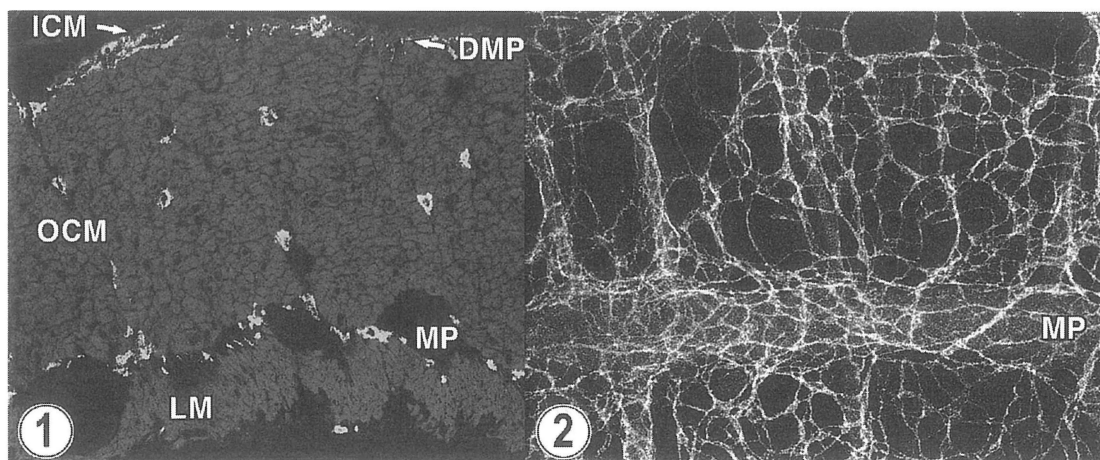


Fig. 1 A confocal laser scanning microscopic (CLSM) image of longitudinal section of the guinea pig small intestine stained by anti-c-Kit antibody and phalloidin: c-Kit-immunoreactivity (white; FITC) is located at the DMP and MP, as well as in the circular muscle layer and subserosa. Smooth muscle cells are stained by phalloidin (gray; Texas Red). LM; longitudinal muscle layer. $\times 350$

Fig. 2 A CLSM image of whole mount preparation at the layer of myenteric plexus doubly immunostained by anti-c-Kit (white) and PGP 9.5 (gray) antibodies; nervous elements of the plexus is visualized by PGP 9.5, and cellular network by c-Kit. $\times 150$

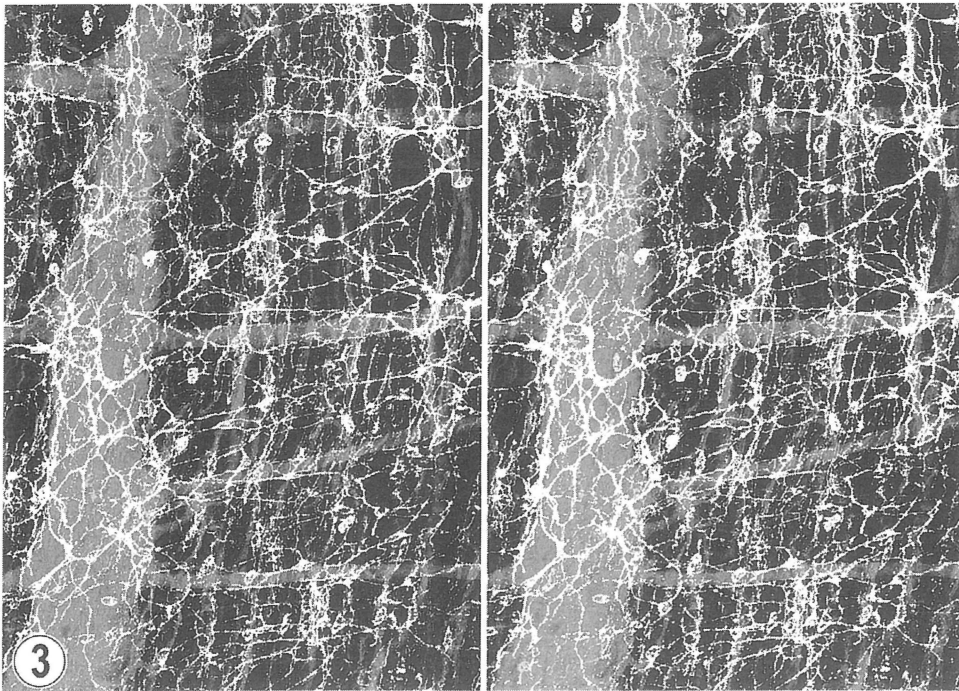


Fig. 3 Stereo pair images reconstructed from CLSM optical serial sections; whole mount preparation of doubly immunostained guinea pig small intestine. The three dimensional architecture of the cellular network of c-Kit-immunoreactivity (white) is clearly shown at the DMP and the MP. $\times 150$

1) 深部筋神経叢 (DMP)

小腸 DMP には神経線維とそれを取り囲むシュワン細胞, 毛細血管の内皮細胞と周細胞, およびこれらと区別できる IC が存在する. まれに, ライソゾームを多く持つ大食細胞様細胞も観察される. DMP に見られる IC は大きく 2 種類に分類される. 線維芽細胞様細胞と平滑筋様細胞である. 線維芽細胞様細胞は細胞質が粗面小胞体に富み, 細胞膜表面に基底膜を欠く. 一方, 平滑筋様細胞は細胞質が微細線維に富み, 基底膜を持つ. いずれも, 隣接する同種の細胞あるいは平滑筋細胞と数多くのギャップ結合で連絡され, ネットワークを形成する.

小腸筋層全載標本の c-Kit 免疫染色により IC が神経線維に寄り添うように分布すること, 電顕的に神経線維を取り囲むように配置し, シナプス様構造もみられることから, DMP においては IC が直接神経支配を受けると考えられる. さらに, 周りの平滑筋細胞とギャップ結合で結合することは, 胃における NO 神経と IC の形態的位置関係と機能の解析結果を鑑みて, IC が神経の抑制性シグナルの平滑筋への伝達を仲介していることを示唆する.

2) 筋間神経叢 (MP)

MP では長い突起を持った IC が突起の先で繋がり平面的な編目状の広がりを示す. IC 同志および周りの平滑筋細胞との間にギャップ結合はあまり認められないが, 細胞膜が近接し, 接着結合様構造が観察される. アウエルバッハ神経叢の神経細胞索部では, IC のネットワークがこれをバスケット状に取り囲むように分布する (Fig. 2). IC と神経細胞・線維束の間には少なくとも 300 nm 以上の間隙が存在する.

3) その他の部位

Thuneberg は, マウス輪走筋内に ICC-IV を記載している. しかし, 輪走筋束間の隔壁をなす結合組織内に DMP や MP の IC の突起が見られることはあるものの, 固有の輪走筋内にネットワークを形成する細胞を同定すること

は難しい。モルモット筋層全載標本の抗 c-Kit 抗体による染色では、紡錘形の細胞が輪走筋層内を走る神経線維に沿って、比較的規則的に分布するが、これらはネットワークは形成しておらず、形態から判断すると、たとえば肥満細胞のような、IC 以外の c-Kit 陽性の細胞である可能性が高い (Fig. 3)。

II. 大腸

大腸壁には通常、小腸 DMP に相当する神経叢はなく、かわりに輪走筋層と粘膜下層の境界面に筋層下神経叢 (SMP; submuscular plexus) と呼ばれる層が認められる。大腸の輪走筋を二つにわけると小腸 DMP に相当する層が存在するという報告もみられるが、動物種差、あるいは大腸の部位による組織構築の差異に注意しなくてはならない。

大腸においても、SMP と MP にネットワークを形成する IC が見られる。小腸 DMP, MP のものに比して、密度は低い。また、モルモット結腸の c-Kit の免疫染色では、このほかにも輪走筋層、縦走筋層、漿膜に多くのネットワークを形成する免疫陽性細胞を認める⁶⁾。しかし、形態学的研究は少なく、また、小腸と大腸間の形態と機能の関係も今後さらなる解析が待たれる。

1) 筋層下神経叢 (SMP)

電顕観察により、モルモットにおいては線維芽細胞と平滑筋細胞の特徴をあわせもつ細胞が、また、イヌではより平滑筋細胞に近い細胞がギャップ結合で連絡するネットワークを形成することが報告されている。また、小腸の DMP と同様、神経線維との位置的相関も注目されている。イヌの近位結腸をもちいた電気生理学的研究により、大腸においては SMP の IC がペースメーカー活動に重要であることが示唆されている。

2) 筋間神経叢 (MP)

大腸 MP にも小腸のものと類似の細胞性ネットワークが知られている。イヌ結腸 MP の IC は基底膜を持ち、より平滑筋細胞に近い特徴を示すと報告されている。モルモットの c-Kit 免疫陽性細胞は、円形の細胞体から四方に延びる複数の長い、不規則な突起をもち、クモ状を呈する。

電気生理学的研究との関連

電気生理学的には、消化管壁において記録される緩徐波 (slow wave) と呼ばれる電氣的活動をもとに発生する活動電位が、蠕動運動の周期と一致することから、これがペースメーカー活動であると理解されてきた^{1),4)}。そして、電気生理学的に規定されるペースメーカー部位は基本的に細胞性ネットワークを形成する IC の存在する部位と一致すること、また、特定の細胞の物理的剝離・除去、また、Rhodamin 123 などのような薬剤の投与による化学的除去により緩徐波が消失することから、IC がペースメーカーであると考えられるようになった。

c-Kit タンパク

もともと、ネコ肉腫から proto-oncogene として見出された *c-kit* 遺伝子は、膜を貫通する受容体型チロシンキナーゼ (c-Kit タンパク) をコードしている。マウス、モルモット、ヒトでは抗 c-Kit 抗体により IC が特異的に染め出されることが知られるようになり、c-Kit タンパクをマーカーとして用いた研究により、IC の分布や形態が急速に明らかにされてきた。また、*c-kit* 遺伝子座に変異を持ち、正常な c-Kit タンパクを発現しない自然発生突然変異体 (W mutant) や、c-Kit リガンド (SCF, Steel factor, 肥満細胞成長因子などとも呼ばれる。) をコードする *sl* 遺伝子座に異常をもつマウスやラットが知られている。これらの遺伝子変異動物では共に、造血幹細胞、生殖細胞、およびメラノサイトの分化に異常をきたし、貧血、肥満細胞欠損、不妊、そして、白斑などの症状を呈する。消化管においては運動性の低下および小腸の肥大が特徴である。これら mutant の小腸壁では、電気生理学的に緩徐波が欠如しており、同時に、電顕観察において、正常では小腸 MP に見られる c-Kit タンパクを発現する IC が欠如していることから、この細胞がペースメーカーとして重要な役割を果たしていることが証明されている^{1),2),4)}。

c-Kit タンパクやそのリガンドが欠如する動物において、特定の細胞種の形成が抑制されるのは、それらの細胞が

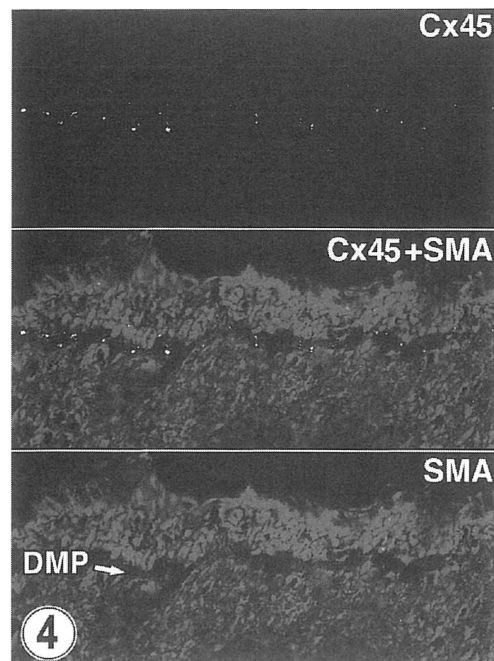


Fig. 4 A CLSM image of a cryosection of dog small intestine doubly immunostained by anti-Cx 45 (white) and smooth muscle actin (gray) antibodies. Cx 45-immunoreactivity are arranged in rows along the DMP. Arrow indicates DMP between inner and outer circular muscle layer. $\times 400$

分化する特定の時期に、c-Kit リガンドおよびタンパクを介して伝達される必須のシグナルを受容することができず、その後の成熟、維持がすすまないためであると考えられる。このような機序により MP においては c-Kit タンパクを発現する細胞自体が欠如する。一方、DMP においてネットワークを形成する c-Kit 発現細胞は正常動物とほぼ同様に分布することから、DMP の IC はペースメーカー活動には関係がないとされている。IC に常時発現されている c-Kit タンパクの役割については不明である。今後、DMP や大腸における c-Kit タンパク発現細胞の役割の解明が期待される。

ギャップ結合による細胞連絡

小腸 DMP と大腸 SMP に見られる IC は、お互いギャップ結合により結合しており、また、一方では、外側の平滑筋細胞とギャップ結合を形成している。細胞性ネットワークを形成することが、ペースメーカーのひとつの条件であるという考え方もあり、細胞間をつなぐギャップ結合の意義は大きい。ギャップ結合は、細胞膜を貫通するヘミチャンネルであるコネクソンが隣接する細胞の細胞膜外面で相対峙して形成される細胞間チャンネルであり、通常、斑状の集合体をなす。一個のコネクソンはコネキシン (Cx) の六量体で構成される。コネキシンには現在約 10 種類のサブクラスが報告されており、分子量に応じて Cx 43 のように命名されている。近年、細胞生物学的研究により、各サブクラスの Cx 分子が、通過する分子の大きさや方向性に異なる選択性を示すことや、組織や細胞種、さらに細胞の機能状態や発生の時期により特異的な分布を示すことが知られるようになった。特に心臓の刺激伝導系におい

ては, Cx 43, Cx 45, Cx 40 が特徴的に発現されている。われわれは消化管壁における Cx 分子種の分布様式を免疫組織化学的に検討し, ラット, イヌの小腸 DMP においては Cx 45 が, そして, イヌ, モルモットの大腸 SMP では Cx 43 が特異的に分布していることを明らかにした (Fig. 4)。Cx 40 は比較的速い伝導に関わる性質を示すと報告されていることを考えると, 緩慢な動きが主体である消化管において Cx 40 が発現されていないことは大変興味深い。

IC の 由 来

IC の発生学的由来について, 最近, いくつかの報告がみられる⁴⁾。腸管神経系や c-Kit 陽性であるメラノサイトが神経堤細胞に由来することはよく知られている。しかし, ニフトリ-ウズラのキメラ実験や, lacZ をマーカーとした transgenic mouse での発生追跡実験などから, IC は神経堤から移動してくるのではなく, 将来, 平滑筋細胞に分化する間葉細胞に由来することが示されている。この間葉細胞は未分化な段階ではすべて c-Kit を発現しており, このうち特定の発生段階において腸管神経細胞の細胞膜表面に発現された c-Kit リガンドと接触してシグナル伝達系が賦活化された細胞が, IC へと分化すると考えられている。IC では成熟後も c-Kit タンパクの抗原性が認められるが, 平滑筋細胞に分化した細胞では消失する。

お わ り に

以上, 消化管運動のペースメーカーと考えられている細胞の概略について解説した。これまでの研究で, ヒトを含めた動物の消化管壁においてネットワークを形成する抗 c-Kit 抗体陽性の細胞が, ペースメーカー活動に重要であることが示されてきた。今後, 機能的な解析とあわせて, これらの細胞の形態, 分布, そして, 周囲の細胞, 組織との関係や, ネットワーク形成の意義について研究が進展し, 消化管運動異常の病態の理解につながるものと期待される。Sanders らの開設した web site (<http://www.unr.edu/physio/icc>) に, Rumessen による, 光顕, 電顕写真を含めた, IC の概説がみられる。網羅された文献も掲載されているので参照していただきたい。

謝 辞

本研究をご指導・ご支援いただきました, 解剖学教室の柴田洋三郎教授, 川淵優教授をはじめとする諸先生方, ならびに本稿執筆の機会を与えていただきました編集幹事・編集委員の先生方に深く感謝いたします。また, 解剖学教室の平川泰博氏, 中央形態分析室の金丸孝昭氏のご支援に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Huizinga JD, Thuneberg L, Vanderwinden J-M and Rumessen JJ: Interstitial cells of Cajal as targets for pharmacological intervention in gastrointestinal motor disorders. *Trends Pharmacol Sci* 18: 393-403, 1997.
- 2) Komuro T, Tokui K and Zhou DS: Identification of the interstitial cells of Cajal. *Histol Histopathol* 11: 769-786, 1996.
- 3) Nakamura K, Kuraoka A, Kawabuchi M and Shibata Y: Specific localization of gap junction protein, connexin 45, in the deep muscular plexus of the dog and rat small intestine. *Cell Tissue Res* 292: 487-494, 1998.
- 4) Sanders KM: A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 111: 492-515, 1996.
- 5) Thuneberg L, Rumessen JJ, Mikkelsen HB, Peters S and Jessen H: Structural aspects of interstitial cells of Cajal as intestinal pacemaker cells. In: *Pacemaker activity and intercellular communication*. ed. Huizinga JD. CRC Press, Chapter 11, 193-222, 1995.
- 6) Tohma H, Nakamura K, Kuraoka A and Kawabuchi M: Immunohistochemical study of c-Kit-positive cellular networks in the guinea pig small intestine and colon. (in press).