

Title	Hirschsprung病の無神経節腸管における副交感神経支配に関する研究 : piebald lethalマウスモデルを用いたムスカリン様アセチルコリン受容体からの解析
Author(s)	植木, 重文
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/35550
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	植 木 重 文
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 7349 号
学位授与の日付	昭 和 61 年 5 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Hirschsprung病の無神経節腸管における副交感神経支配に関する研究—piebald lethal マウスモデルを用いたムスカリン様アセチルコリン受容体からの解析
論文審査委員	(主査) 教 授 川 島 康 生
	(副査) 教 授 岡 田 正 教 授 吉 田 博

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

Hirschsprung病(H病)の無神経節腸管には、壁外から進入した交感並びに副交感の両自律神経線維の増殖が観察される。そこで、H病腸管の自律神経支配に関する研究の多くは組織化学的、電子顕微鏡的手法により神経側要素から行われてきた。しかし、外来自律神経の支配がH病腸管の平滑筋に及んでいるのか否かについては、未だ明らかにされていない。又、H病腸管の自律神経支配を効果器である平滑筋細胞の神経伝達物質受容体の面から論じた研究は皆無である。

本研究ではヒトH病と酷似した病態を呈する piebald lethal マウス(H病マウス)を用い、hexamethonium (C_6)による骨盤神経節細胞の化学的除神経状態を作製し、その前後におけるムスカリン様アセチルコリン受容体(mACh-R)の定量的、定性的解析を行った。その結果から、H病マウスの無神経節腸管における平滑筋細胞の副交感神経線維の機能的接合の有無を明らかにする。

[研究材料及び方法]

研究材料はH病マウス(5-7週)の直腸とした。対照には正常腸管を有する同胞の直腸を用いた。H病マウスの無神経節腸管における副交感神経支配の検索の為にOsmotic minipumpを用いて C_6 (330 mg/kg/日)の腹腔内持続投与マウスを作製した。 C_6 投与群の対照には生理食塩水の持続投与マウスを用いた。1週間後に屠殺し組織学的、組織化学的検索の後以下の検討を行った。

$[^3H]$ Quinuclidinyl benzilate ($[^3H]$ QNB)の結合実験は、直腸を20倍量の20mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)内でホモジネートした試料5mgと100mM NaCl, 1mM $CaCl_2$, 50mM Tris-HCl (pH 7.4)及び各種濃度の $[^3H]$ QNB (New England Nuclear Co., 33.1 Ci/m mol)を含む2ml

の反応液内で37°C20分間インキュベートした後、WhatmanのGF/Fフィルターを用いた吸引濾過法で行った。特異的結合量は全結合量と10 μ M atropine存在下の非特異的結合量の差として算出した。

直腸の収縮に対する acetylcholine (ACh) 並びに oxotremorine の効果は、95%O₂ と 5%CO₂ を通気した30°Cのタイロード液を満した10mlの浴槽内で、等張力性トランスデューサーを用いて測定した。尚AChは10 μ M eserineによる初期収縮の後に投与した。収縮高は各標本の最大収縮高の比として示した。

[研究成績]

I) H病マウス直腸では、正常腸管で認められる壁在神経節細胞や規則正しい網目構造を欠如し、代りにAChE染色にて濃染する太い分枝錯走する神経線維束のみを観察した。II) 正常マウスにおける [³H] QNB結合の最大特異的結合量 (B_{max}) は204.9fmol/mg蛋白であり、H病マウスでは173.1fmolと低値であった (P<0.001)。しかし、解離定数 (K_D) は0.45nM, atropine及びoxotremorineのHill係数は夫々1.03, 0.57程度で両群間に差を認めなかった。III) H病マウス直腸の収縮に対するACh及びoxotremorineの用量反応曲線は正常腸管に比して左方移動を示した。又、AChの50%有効濃度 (E_{D50}) は正常マウスで1.9×10⁻⁷M, H病マウスで4.3×10⁻⁸Mを示し、oxotremorineでは正常マウスで2.0×10⁻⁷M, H病マウスで6.5×10⁻⁸Mであり、H病腸管が正常腸管に比して高感受性を示した。IV) C₆による化学的除神経により、正常マウス腸管ではB_{max}は196.6fmol/mg蛋白から346.2fmolへと76%の著明な増加を観察した (P<0.001)。しかし、K_D値は0.44nMと変化を認めなかった。一方、H病マウス直腸ではB_{max} (175.3fmol/mg蛋白)、K_D値 (0.49nM) 共に、何らの変化も示さなかった。V) C₆投与により、正常マウスではoxotremorineの用量反応曲線は左方移動を示し、E_{D50}は3.8×10⁻⁷Mから6.5×10⁻⁸Mへと低値に移動した。しかし、H病マウスではC₆投与によっても用量反応曲線の移動を認めなかった。

[総括]

H病マウスの無神経節腸管には副交感神経線維、mACh-Rの両者共に存在する。しかし、節遮断薬であるC₆を用いた骨盤神経節細胞の化学的除神経によっても、H病マウス直腸は正常腸管に認められたmACh-R量の増加、oxotremorineに対する感受性の増大が観察されなかった。このことは、H病マウスの無神経節腸管の平滑筋に存在するmACh-Rに対する副交感神経終末からの神経伝達物質の機能的伝達の欠如を意味し、副交感神経支配欠如の状態であることが示唆される。この除神経状態はCannon's lawとして述べられている後天的な除神経と異なり、壁在神経節細胞の欠如に基く先天的な除神経状態と考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究はHirschsprung病の無神経節腸管における副交感神経支配を、piebald lethalマウスモデルを用いて、化学的除神経を行い、muscarinic agonistに対する反応並びにmuscarinic acetylcholine受容

体量の変動から検討したものである。その結果、無神経節腸管には外来性の副交感神経線維及び muscarinic acetylcholine 受容体は共に存在するが、両者間に有効な神経筋接合が存在しないことを証明した。

Hirschsprung 病の無神経節腸管における外来性副交感神経支配を muscarinic acetylcholine 受容体の面から究明した最初の論文であり、学位論文に価すると評価した。