



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	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35550">https://hdl.handle.net/11094/35550</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

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ノ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<sub>6</sub>) 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ノン様アセチルコリン受容体 (mAChR) 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<sub>6</sub> (330 mg/kg/日) の腹腔内持続投与マウスを作製した。C<sub>6</sub> 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。

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

の反応液内で37°C20分間インキュベートした後、WhatmanのG F／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  $\mu$ 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% O<sub>2</sub> と 5% CO<sub>2</sub> 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  $\mu$ 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。

#### [研究成果]

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 ACh E 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 [<sup>3</sup>H] QNB 結合の最大特異的結合量 (B<sub>max</sub>) は 204.9 fmol/mg 蛋白であり、H病マウスでは 173.1 fmol と低値であった (P < 0.001)。しかし、解離定数 (K<sub>D</sub>) は 0.45 nM, 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 (ED<sub>50</sub>) は正常マウスで  $1.9 \times 10^{-7}$  M, H病マウスで  $4.3 \times 10^{-8}$  M を示し、oxotremorine では正常マウスで  $2.0 \times 10^{-7}$  M, H病マウスで  $6.5 \times 10^{-8}$  M 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) C<sub>6</sub> による化学的除神経により、正常マウス腸管では B<sub>max</sub> は 196.6 fmol/mg 蛋白から 346.2 fmol へと 76% の著明な増加を観察した (P < 0.001)。しかし、K<sub>D</sub> 値は 0.44 nM と変化を認めなかった。一方、H病マウス直腸では B<sub>max</sub> (175.3 fmol/mg 蛋白), K<sub>D</sub> 値 (0.49 nM) 共に、何らの変化も示さなかった。V) C<sub>6</sub> 投与により、正常マウスでは oxotremirine の用量反応曲線は左方移動を示し、ED<sub>50</sub> は  $3.8 \times 10^{-7}$  M から  $6.5 \times 10^{-8}$  M へと低値に移動した。しかし、H病マウスでは C<sub>6</sub> 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 C<sub>6</sub> 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 low 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。