

## Cajal 細胞の形態と機能

鳥橋 茂子

名古屋大学大学院医学系研究科機能構築医学専攻分子細胞学分野

本文 13 頁 図 3 表 1

愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65 番地

TEL: 052-744-2001

FAX: 052-744-2012

E-mail: [storiha@med.nagoya-u.ac.jp](mailto:storiha@med.nagoya-u.ac.jp)

## Abstract

The unique cells, interstitial cells of Cajal (ICC) are distributed in the musculature of the gastrointestinal tract and express receptor tyrosine kinase c-Kit. ICC are located in the proximity with enteric neurons and connected with each other to make cellular network. One of their functions is pacemakers of the spontaneous smooth muscle contractions. They generate electrical rhythmicity as slow waves and propagate to smooth muscles. ICC show oscillations of cytosolic calcium linked to slow waves. ICC also mediate neurotransmission from enteric neurons, and regulate excitatory and inhibitory neurotransmissions. They express several receptors of neurotransmitters. Therefore ICC are key cells of gastrointestinal motility.

はじめに

本稿で記述する「Cajal 細胞」とは、一般に「カハールの介在細胞」(Interstitial Cells of Cajal: 以下 ICC と略)あるいは「カハールの間質細胞」と呼ばれている消化管の筋層に存在する細胞のことである。近年、腸管の運動に大変重要な機能をもつ細胞であることが証明され、臨床面からも注目されている。

## 1. 研究の歴史

カハールはスペインの神経解剖学者で、19 世紀後半から 20 世紀初頭にかけて、当時特異的に神経を染めると考えられていた鍍銀法を駆使して神経細胞に関する多くの業績を残している。彼は末梢神経系を観察する中で、自律神経終末に特異な細胞が存在することに気づき、これを自律神経とその効果器の間に介在する小型の神経として記載した<sup>1)</sup>。消化管の筋層内に分布するこの細胞はメチレンブルー法や Champy-Maillet (ZIO)法でも染め出され、カハール以後も神経細胞と考えられていた。しかし電子顕微鏡の時代になると、これらは神経細胞ではないことが明白になった。またカハールが記載したように自律神経終末に普遍的に分布するのではなく、消化管筋層の特定の部位にのみ規則的に分布する細胞であることがわかってきた。従って、現在「カハールの介在細胞」と呼んでいる細胞がはたしてカハールが記述した細胞であるかどうか疑うむきもある。しかし、カハールが消化管の神経と平滑筋の間に存在する特異な細胞へ多くの研究者の注意を惹起したことに鑑み、「カハールの介在細胞」(ICC)という名称は現在広く受け入れられている。

当初、ICC は形態学的研究の対象であった。様々な動物種の消化管で報告され、電子顕微鏡下でその微細構造が調べられた。そして、ICC が互いに細胞質の突起で連絡しあう細胞のネットワークを形成している等の特徴から、電氣的にカップルした消化管運動のペースメーカー細胞ではないかと推測された<sup>2)</sup>。

しかし、形態学だけで ICC の機能について論じるには無理が多く、真に機能について検証されるには大きなブレークスルーが必要であった。

一方、生理学的研究から、消化管の平滑筋は神経をブロックしてもなお、自発的な自動収縮運動を示すこと。そして平滑筋からはこの律動的自動収縮運動に同調した膜電位変動「緩徐波」が記録されることが知られていた<sup>3)</sup>。従って、平滑筋層内には緩徐波を発生するペースメーカーが存在することが考えられていた。このペースメーカーが平滑筋細胞なのか、あるいはそれ以外の細胞であるか議論が分かれていた。

## 2. c-Kit レセプターの発現

レセプター型チロシンキナーゼ c-Kit は、造血細胞、色素細胞、生殖細胞等の前駆細胞に発現してこれらの分化や増殖に関っている。c-Kit をコードする遺伝子は *W* 遺伝子座に存在し、c-Kit のリガンド Stem cell factor (Steel factor) の遺伝子は *Steel* 遺伝子座に存在する。そして *W* や *Steel* の突然変異マウスでは共に貧血、白斑、不妊といった表現型を示す。

前田らは c-Kit を中和抗体で抑制した際、消化管の運動にも障害がでることを見出した<sup>4)</sup>。これを皮切りに、腸管壁に分布する c-Kit 発現細胞の研究がにわかに注目され、ついに ICC が c-Kit 発現細胞であることが証明された。そして、ICC の多くが c-Kit 依存性に分化増殖し、胎生後期から出生直後にかけて c-Kit に異常が生じると、ICC が正常に分化増殖できないために ICC が消失し、その結果、律動的自動収縮運動と緩徐波が共に障害される<sup>5-7)</sup>。このことは、ICC が消化管運動のペースメーカー細胞であることを如実に示している。

ICC が c-Kit 発現細胞であることがわかって、ICC とその機能に関する研究は飛躍的に発展した。まず、c-Kit を指標とした ICC の同定が可能になり、緩徐波の発生源と ICC の分布、さらに ICC から直接膜電位を計測することがで

きるようになった<sup>8)</sup>。また、*W* や *Steel* の突然変異マウス、ラットを ICC の欠損動物として用いることにより、ICC の機能解析ができるようになった<sup>9)</sup>。この結果、ICC には後述のようなペースメーカーとしての機能のほかに、くしくも Cajal が考えていた神経と平滑筋の間に介在して神経伝達を調節する機能も持っていることが明らかになった<sup>10)</sup>。ICC の c-Kit 発現が報告されて 10 年、それ以前の 90 年にわたる ICC の研究からは想像できないほど、その研究は量的、質的に飛躍を遂げることができた。まさに c-Kit はブレークスルーであった。

現在、ICC と c-Kit に関する研究にあらたな展開が望まれる。まず、ICC のすべてが c-Kit を発現するのだろうかという問題。c-Kit 陰性の ICC は存在するのだろうか。ヒトの ICC には c-Kit 陰性あるいはきわめて弱い発現を示す ICC が存在している<sup>11,12)</sup>。他の動物でも同様の事があるかもしれない。また、ICC の中には c-Kit 非依存性に発生するものがある。*W* や *Steel* の突然変異動物の腸管で正常に分化増殖できる一群の ICC が存在している。これらはどのようなメカニズムによって分化増殖するのだろうか。まだまだ今後解明すべき ICC の研究課題が残されている。

### 3. ICC の形態学的特徴

ICC は両生類の腸管でも存在することが報告されている。従って ICC は哺乳動物以外の広範な生物に存在するきわめて普遍的な細胞の一つであるが、個々の動物種や消化管壁の存在部位で形態に違いも見られる。あえて共通する特徴を挙げると、微細構造では平滑筋細胞と線維芽細胞の特徴を併せ持っている。すなわち、細胞膜には蛸壺状の窪みであるカベオレを豊富に持っている。細い細胞質の突起を持ちこれらは互いに接触あるいは結合してそこにギャップ結合が豊富に存在する。細胞質は電子密度が高く、そこには豊富な中間系フィラメントが存在している。また、エネルギーを産生、そしてカルシウム

貯蔵器官であるトコンドリアが多数見られる。基底膜は明瞭なもの、不明瞭だが存在するもの、全く存在しないものと ICC の種類によって異なっている。一般的に多数の分岐をもつ細長い細胞質突起を多極性に八方に伸ばし、核周囲部の細胞質は少ない。また、平滑筋細胞のような双極型の紡錘形細胞もある<sup>13)</sup>。

ICC の分布については、神経細胞あるいは線維と密接な位置関係を持つことが多い。特に筋層間神経叢 (Auerbach's plexus) の周囲にこれを取り囲むように ICC がネットワークを形成している。また、平滑筋層の内部にこれと平行に走る神経線維が分布するがその神経線維を取り囲むように双極型の ICC が見られる。しかし、消化管の部位や動物種によってそれぞれ微妙に異なっている。例えば、マウスの消化管では胃の上部と下部、そして小腸と大腸では分布パターンが異なっている。胃の上部（胃底部）では筋層間神経叢には ICC が存在しない。そして筋層の内部に双極型の ICC が神経線維に伴行するように分布している。一方胃の下部（胃体部から幽門部にかけて）は筋層間神経叢のレベルに多極型の ICC が多数分布すると共に筋層内にも双極型の ICC が存在する。小腸では十二指腸から回腸末端まで同じ分布パターンを示し、ここでは多極型の ICC が筋層間神経叢のレベルに、そして双極型の ICC が内輪走筋内の深部筋層神経叢の位置に限って分布している。大腸になると筋層間神経叢のレベルに加えて、内輪走筋層と粘膜下層との境界部に新たに多極型の ICC が出現する。さらに筋層の内部にも双曲型の ICC が多数分布する。このように、ICC の外形やその分布は消化管の位置により異なり、また存在部位により ICC の機能も異なっている(表 1)。

#### 4. ICC の機能

ICC は上述のように、消化管平滑筋のペースメーカー細胞として周期的に変動する膜電位を発生している。これが平滑筋に伝達されてそのリズムに同

調して平滑筋の収縮が生じる。c-Kit や steel の突然変異は正常に ICC が発生してこないために、たとえ神経が正常でも周期的な平滑筋の収縮は傷害されている<sup>14)</sup>。ICC がペースメーカー細胞であることは、c-Kit を指標として膜電位を計測できたことを含めて多くの生理学的研究が支持している<sup>15)</sup>。ICC のリズム発生機構、すなわち膜電位変動を生じるメカニズムについてはまだ明白になっていない。しかし、ICC の細胞内カルシウムが周期的に変動しこれが膜電位変動と密接に関連していることがわかっている。細胞内カルシウムの変動は、カルシウムストアにある IP3 受容体の障害で消失する<sup>16)</sup>。また細胞外からのカルシウム流入やミトコンドリアのカルシウムバッファー機構が重要なファクターであることもわかった<sup>17)</sup>。現在、カルシウム変動と膜電位変動との関連、細胞膜のイオンチャネル、ミトコンドリアのカルシウムポンプなどがどの様に作用しているかについて解析が進んでいる<sup>15, 18, 19)</sup>。

また、ICC はペースメーカー以外の機能を持っている。ICC の分布は必ずしも自動運動が発生する部位に限らない。特にマウスの胃の上部（胃底部）には平滑筋層に多数の双極型 ICC が分布しているがここからは緩徐波は計測されず、自動運動も見られない。c-Kit の W 変異マウスではこの部位の ICC が形成されない。同時にこの部位は壁内神経や平滑筋は正常なのに興奮性、抑制性の神経伝達が減弱している<sup>20, 21)</sup>。また、双極型 ICC は種々の神経伝達物質に対するレセプターを発現し、前述のように神経線維の近傍に存在して周囲の平滑筋細胞との間でギャップ結合を持っている<sup>22)</sup>。従って、これら ICC は神経からの化学伝達を直接感受してその刺激を周囲の平滑筋細胞へと伝達することが考えられる。実際、抑制性神経の伝達物質一酸化窒素(NO)による刺激は、ICC の中の cGMP のレベルを上昇させる。しかし NO により刺激された ICC がどの様に平滑筋へ作用するかまだそのくわしいメカニズムは明らかにされていない。

おわりに

c-Kit を利用した研究から、ICC に関する研究が飛躍的に発展した。しかし、すべての ICC が c-Kit を発現しているのか、また c-Kit 発現細胞がはたしてすべて ICC とひとまとめにして良いものか、今後形態と機能の面から改めて考える必要があるだろう。

#### 引用文献

- 1) Cajal S.R. Histologie du systeme nerveux de l' homme et des vertebres. 2, pp 942. 1911. Maloine, Paris.
- 2) Thuneberg L. Interstitial cells of Cajal. In Handbook of physiology. The gastrointestinal system. Wood J.D.1, pp 349-386. 1989. American Physiological Society, Bethesda, MD.
- 3) Szurszewski J.H. Electrical basis for gastrointestinal Motility. In Physiology of the Gastrointestinal Tract. Johnson L.R. pp 1435-1466. 1981. Raven Press, New York.
- 4) Maeda H, Yamagata A, Nishikawa S. et.al. : Requirement of *c-kit* for development of intestinal pacemaker system. Development 116:369-375. 1992.
- 5) Ward SM, Burns AJ, Torihashi S. et.al. : Mutation of the proto-oncogene *c-kit* blocks development of interstitial cells and electrical rhythmicity in murine intestine. J Physiol 480:91-97. 1994.
- 6) Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel M. et.al. : *W/kit* gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. Nature 373:347-349. 1995.
- 7) Torihashi S, Ward SM, Nishikawa S. et.al. : *c-kit*-Dependent development of



- interstitial cells and electrical activity in the murine gastrointestinal tract. *Cell Tissue Res* 280:97-111. 1995.
- 8) Thomsen L, Robinson TL, Lee JC. et.al. :Interstitial cells of Cajal generate a rhythmic pacemaker current. *Nat Med* 4:848-851. 1998.
  - 9) Ward SM, Burns AJ, Torihashi S. et.al. :Impaired development of interstitial cells and intestinal electrical rhythmicity in *steel* mutants. *Am J Physiol* 269:C1577-C1585. 1995.
  - 10) Ward SM, Sanders KM, Hirst GD. :Role of interstitial cells of Cajal in neural control of gastrointestinal smooth muscles. *Neurogastroenterol Motil* 1:112-117. 2004.
  - 11) Torihashi S, Horisawa M, Watanabe Y. :c-Kit immunoreactive interstitial cells in the human gastrointestinal tract. *J Auton Nerv Syst* 75:38-50. 1999.
  - 12) Vanderwinden JM, Rumessen JJ. :Interstitial cells of Cajal in human gut and gastrointestinal disease. *Microsc Res Tech* 47:344-360. 1999.
  - 13) Komuro T, Seki K, Horiguchi K. :Ultrastructural characterization of the interstitial cells of Cajal. *Arch Histol Cytol* 62:295-316. 1999.
  - 14) Ordog T, Baldo M, Danko R. et.al. :Plasticity of electrical pacemaking by interstitial cells of Cajal and gastric dysrhythmias in W/W mutant mice. *Gastroenterology* 6:2028-2040. 2002.
  - 15) Koh SD, Ward SM, Ordog T. et.al. :Review. PMID: 14644007 [PubMed - indexed for MEDLINE]. Conductances responsible for slow wave generation and propagation in interstitial cells of Cajal *Curr Opin Pharmacol* 3:579-582. 2003.
  - 16) Suzuki H, Takano H, Yamamoto Y. et.al. :Properties of gastric smooth muscles obtained from mice which lack inositol trisphosphate receptor. *J Physiol*

525:105-111. 2000.

- 17) Torihashi S, Fujimoto T, Trost C. et.al. :Calcium oscillation linked to pacemaking of interstitial cells of Cajal: requirement of calcium influx and localization of TRP4 in caveolae. *J Biol Chem* 277:19191-19197. 2002.
- 18) Huizinga JD, Zhu Y, Ye J. et.al. :High-conductance chloride channels generate pacemaker currents in interstitial cells of Cajal. *Gastroenterology* 5:1627-1636. 2002.
- 19) Sanders KM, Koh SD, Ordog T. et.al. :Ionic conductances involved in generation and propagation of electrical slow waves in phasic gastrointestinal muscles. *Neurogastroenterol Motil* 1:100-105. 2004.
- 20) Beckett EA, Horiguchi K, Khoyi M. et.al. :Loss of enteric motor neurotransmission in the gastric fundus of SI/Sl(d) mice. *J Physiol. P and T* 3:871-887. 2002.
- 21) Beckett EA, McGeough CA, Sanders KM. et.al. :Pacing of interstitial cells of Cajal in the murine gastric antrum: neurally mediated and direct stimulation. *J Physiol. P T* 2:545-559. 2003.
- 22) Seki K, Komuro T. :Distribution of interstitial cells of Cajal and gap junction protein, Cx 43 in the stomach of wild-type and *W/W<sup>v</sup>* mutant mice. *Anat Embryol (Berl)* 206:57-65. 2002.

## 図の説明

### 図 1

マウス小腸筋層間神経叢の周囲に分布する ICC の電子顕微鏡写真

ICC は内輪走筋層 (CM) と外縦走筋層 (LM) の間で、神経叢 (N) の周囲を取り巻くように神経や平滑筋と緊密な位置に分布する。細胞質は電子密度が高く平滑筋よりもやや暗調に染まる。また細胞質にはミトコンドリア (m) や細胞膜にはカベオレ (c) が多数見られる。細胞質の突起は互いにギャップ結合 (矢印) により連絡している。スケールバーは  $1\mu\text{m}$  を示す。

### 図 2

腸管の神経に隣接して分布する ICC

A: マウス小腸筋層のホールマウント標本を作製し、ICC を抗 c-Kit 抗体(赤)で、神経を抗 PGP9.5 抗体(緑)で標識し、共焦点レーザー顕微鏡で観察すると、筋層間神経叢の位置に神経のネットワークが見られる (緑)。太い部分は神経節で細い部分は節を結ぶ神経線維束である。これと同じ平面上に ICC(赤)のさらに小さな細胞ネットワークが見られる。ここでは多極型の ICC が細胞質の突起を八方に伸ばし突起どうして連絡している。B: 内輪走筋層の深部にある深部筋層神経叢の近辺では平滑筋細胞に平行に走る神経線維 (緑) とこれを取り巻くように走る ICC (赤) が規則的に分布している。ここでは双極型の ICC が神経線維に絡み合うように近接して分布する。スケールバーは  $500\mu\text{m}$  を示す。

### 図 3

マウス小腸筋層に分布する ICC の細胞内カルシウム変動

培養によりディッシュに定着させた筋層の小片 (直径 1-1.5mm) から、nifedipine 存在下で細胞内カルシウム変動が記録された。小片内の特定の部位で、周期

的なカルシウム変動が見られた。図 A,B はカルシウム濃度を擬似カラーで示している。A: 表示された 3 点 (1.クロ、2.赤、3.緑) で細胞内カルシウム濃度を測定した。この時カルシウム濃度は低レベルにある。B: 同じ計測部位でカルシウム濃度が高レベルにある時点。点 1,2 はカルシウム濃度が上昇したが、点 3 は変化しなかった。C: この培養組織小片の位相差顕微鏡像。D: この組織小片を抗 c-Kit 抗体により免疫染色したところ、点 1、2 は c-Kit 陽性部位、すなわち ICC が存在する部位であることがわかった。一方点 3 は c-Kit 陰性、すなわち ICC が存在しないことが示された。スケールバーは  $20\mu\text{m}$  を示す。E: 点 1 (黒)、2(赤)、3(緑)におけるカルシウム濃度の経時変化をグラフにしたもの。ICC の存在部である点 1 と 2 で周期的な細胞内カルシウム変動が記録された。しかし、ICC の存在しない点 3 ではこの様な変動は認められなかった。

(Torihashi et al.2002 より引用) <sup>17)</sup>

表 1

## ICC の分布

	食道 (平滑筋)	胃底部	胃体、幽門部	小腸	大腸
外縦走筋	+	+	+		+
筋層間			+	+	+
内輪走筋	+	+	+	+	+
粘膜下表層					+

\* 深部筋層神経叢の周囲に限局して分布する。

このほか、漿膜下にも ICC が存在するという説もある<sup>2)</sup>。