

●ニューロサイエンスの仮説●

Hypothesis

消化管運動のペースメーカー細胞説

鳥橋 茂子*

抄 録 消化管の平滑筋は律動的な自動運動能を持ち、これと同調する膜電位の変動（緩徐波；slow wave）を示す。そのslow waveの発生源がペースメーカーである。形態学的にCajalが腸管の神経叢の近傍に記載した特異な細胞（カハールの介在細胞；interstitial cells of Cajal=ICC）がペースメーカー細胞であると示唆されてきた。そしてICCがc-Kitレセプターを発現していることが証明されて以来、この説を支持する結果が多く発表されている。マウスにおいてICCと外縦走筋は共にc-Kitを発現する前駆細胞から胎性後期に分化し、ICCの正常な分化がslow waveの出現に不可欠である。現在ICCにおけるリズム発生機構を中心に研究が進められている。ICCの細胞内カルシウムは周期的に変動し、ERやミトコンドリア、カベオレに分布するチャンネルなどがこのリズム発生機構に関わると考えられている。 脳の科学 25 : 493-496, 2003

key words : pacemaker, c-kit, slow wave, intestine

I. 消化管平滑筋の自動運動能

消化管の平滑筋は気管や血管などの平滑筋とは異なり、固有の律動的な自動収縮能を持っている。これは神経を遮断しても消失しないので、筋原性のもと考えられている。そして律動的な収縮と連動する平滑筋の膜電位変動（緩徐波：slow wave）が記録される。しかしこのslow waveは単離された平滑筋細胞からは検出されないので平滑筋とは別の細胞がリズムを発生し、平滑筋へと伝播してslow waveを駆動していると考えられている。このslow waveの発生源を従来ペースメーカー細胞と呼んできた。しかしその実体は不明で、平滑筋自体がリズムを発生するという生理学

者もあり、平滑筋層に分布するCajalの介在細胞（interstitial cells of Cajal:ICC）がペースメーカーであるとする説と長く対峙していた。ところが、1992年にペースメーカー細胞が癌原遺伝子c-kitを発現している事がわかって以来、この細胞についての研究が急速に進歩し、ICCがペースメーカー細胞として機能していることが一般に受け入れられるようになってきた¹⁾。

II. Cajalの介在細胞

神経解剖学者として有名なCajal (Santiago Ramón y Cajal; 1852-1934) は鍍銀法とメチレンブルー法を用いて詳細に自律神経系の研究を行った。彼は消化管の神経叢の近辺に特異な細胞を記載した。Cajalはこれらが当時神経を染めると言われていた鍍銀法やメチレンブルー法で染まったので神経細胞であると考えた。彼のメチレンブルー染色によるとウサギの筋層間神経叢の周囲に多極細胞が多数分布し、これらは細胞質の突起により互いに連絡してネットワークを形成している。またモルモットの内輪走筋にある深部筋層神経叢には、鍍銀法によって神経線維に絡まる様に

Pacemaker cells in the musculature of the gastrointestinal tract.

*名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学分野

[〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65]

Shigeeko Torihashi: Department of Anatomy and Molecular Cell Biology, Nagoya University Graduate School of Medicine. 65 Tsurumai, Showa-ku, Nagoya, 466-8550 Japan.

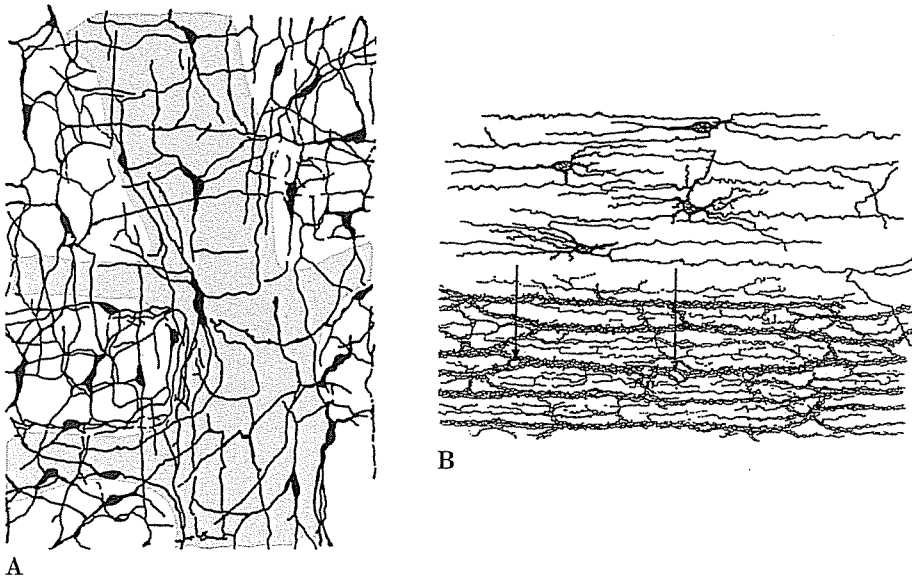


図1 カハールの記載した ICC

- A: メチレンブルー法によってウサギ小腸の筋層間神経叢の周辺に見出された特異な細胞。
 B: ゴルジ鍍銀法で染め出されたモルモット小腸の深部筋層神経叢に分布する細胞。これらは矢印で示されるような神経線維の網目の中に埋まるように存在していた。

二方向に延びる細胞が記載されている (図1)¹⁾。彼はこれらを自律神経の終末に存在し、効果器との間に介在する特殊な神経であると考えた。現在ではこれらの細胞は神経では無い事が明らかにされている。また、Cajalが記載したこれらの細胞と、現在の研究者が言う所の ICC とは別であるとする意見もあるが、Cajalが約100年も前に、自律神経の終末に特殊な細胞が存在する事を発表した業績はきわめて大きい。したがって、現在彼の名前にちなんで消化管筋層内に特異的に分布する細胞を Cajal の介在細胞と呼んでいる。1960年代以降、この細胞は電子顕微鏡下に微細構造が調べられて多数のミトコンドリア、カベオレ、中間径フィラメント、ネクサスを持つ電子密度の高い細胞として特徴付けられるようになった。微細構造から未分化の平滑筋細胞、あるいは線維芽細胞に近い種類の細胞であるということも類推されていたが、その機能は不明であった。

Ⅲ. 癌原遺伝子 *c-kit* によるブレークスルー メラノサイトにおける *c-Kit* の発現を研究して

いた前田らはマウスで *c-Kit* の発現を阻害すると腸管運動が強く障害され、同時に筋層内の *c-Kit* 発現細胞が著しく減少することを報告した²⁾。その後筋層内で *c-Kit* を発現する細胞が ICC である事が証明され、*c-Kit* は ICC の重要なマーカーとなった。もともと *c-Kit* はメラノサイト、赤血球、マスト細胞、生殖細胞やこれらの前駆細胞に発現して、分化や増殖に関わる因子であった。*c-Kit* はレセプター型のチロシンキナーゼで、そのリガンドは stem cell factor (SCF) として知られている。*c-Kit* シグナル系は ICC の増殖や分化にも必要とされるが今のところ、ICC の機能に関わるという報告は無い。

前田らの実験を進展させ、*c-Kit* の中和抗体を出生直後のマウスの腹腔に投与して ICC の増殖を抑制すると、*c-Kit* 陽性の ICC は減少し、回腸末端部ではほぼ完全に消失した。そこではペースメーカーとしての指標である slow wave は検出されなくなった (図2)³⁾。もともと *c-Kit* に変異を持つ mutant マウスも知られている。その一つ *W/W^v* マウスではやはり筋層間神経層の

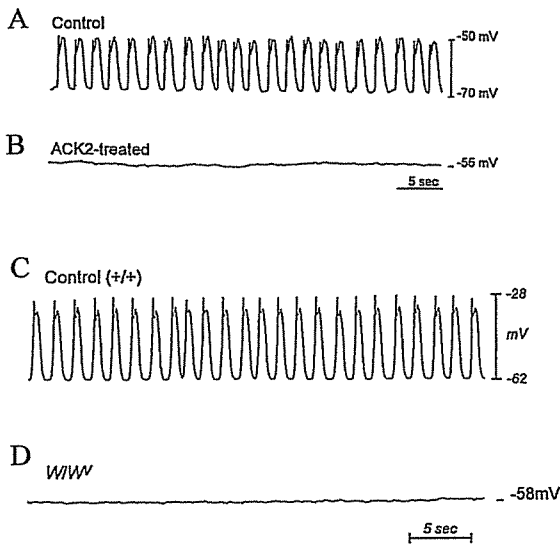


図2 マウス小腸の slow waves とその消失

- A: 生後10日のコントロールマウス回腸末端部の内輪走筋から記録された slow wave。膜電位は規則的に変動している。
- B: 中和抗体 (ACK2) を投与した生後10日のマウスでは回腸末端部の内輪走筋から slow wave が検出されない。そして計測部位の ICC は消失していた。
- C: 野生型マウスの小腸から記録された slow wave。
- D: 同腹の *W/W^v* ミュータントマウスの小腸では slow wave が消失していると共に ICC も認められなかった。

レベルに分布する ICC が消失しており, slow wave も見られない (図2)。ICC が分化増殖しないマウスでは slow wave が検出されないという結果は ICC が slow wave の発生源, すなわちペースメーカー細胞である事を強く支持した。さらに c-Kit をマーカーとして同定された単離した ICC から直接 slow wave が記録されて, まずは ICC がペースメーカー細胞であるという説は広く認められるようになった²⁾。面白い事に, マウスの ICC はすべて c-Kit を発現しているが, その分化や増殖に c-Kit シグナル系を必要としない ICC も存在している。これらは中和抗体の投与でも, またミュータントマウスでも影響を受けずに存在している。またヒトの ICC ではもともと c-Kit の発現が極めて弱い, あるいは発現が無いというサブクラスがある。この様に ICC は均一な細胞種ではなく, c-Kit への依存度や機能の

面でもいくつかのサブクラスが存在する事もわかってきた。

マウスの小腸を用いて ICC の発生を c-Kit の発現を手がかりとして調べたところ, 胎性12日頃から将来筋層が分化してくる領域一面に陽性細胞が広く分布し始める。しかしこの時期はまだ ICC も平滑筋も分化しておらず, 陽性細胞の存在領域には未分化な間葉系細胞が集積している。将来神経節細胞になる神経堤由来の細胞は c-Kit を発現しないのでその部位は陰性である。やがて, 胎性15日ごろ内輪走筋が分化しはじめる。これらは c-Kit を発現していない。しかし外縦走筋が分化する領域, および ICC が出現する筋層間神経叢のあたりは, まだ c-Kit 陽性細胞で占められている。この c-Kit 陽性細胞の中には平滑筋のマーカーである中間径フィラメントの一つデスミンを発現するものもある。これらの c-Kit 陽性でかつデスミン陽性の細胞は ICC と平滑筋の両方へ分化する可能性を示している事になる。やがて胎性18日になると, 外縦走筋となる細胞と ICC へ分化を始めた細胞はそれぞれデスミンと c-Kit と発現マーカー蛋白も二分され, 両方を発現する細胞は見られなくなる。この結果から外縦走筋と ICC は共に c-Kit を発現する同じ前駆細胞から胎性後期に分化することが示された⁷⁾。また丁度外縦走筋細胞と ICC がそれぞれ別の細胞へと分化が始まる頃から, 平滑筋層には slow wave が出現する。したがって ICC の正常な分化が slow wave の発生に不可欠である事もわかった。

IV. ICC のリズム発生機構

では ICC はどのようなメカニズムでリズムを発生しているのだろうか。今, 最も研究者の注目を集めているのがこの機構であり, いまだに結論が得られないホットな部分である。ICC は互いにネクサスで連絡し, 細胞質の電子密度は高いという形態学的な特徴から, 細胞内カルシウムがこの機構に関わっている事は以前から推測されていた。しかしマウス回腸の筋層を用いて組織レベルで ICC と外縦走筋のカルシウム変動を調べた所, ICC のネットワーク内でカルシウムが周期的に変動していることはあっても, 必ずしもこれが

平滑筋層のカルシウム変動とは同調していないという報告もある¹⁰⁾。いずれにしても、ICCの細胞内カルシウムは周期的に変動している。そして細胞内カルシウムストアである小胞体(ER)からカルシウムを放出するIP₃レセプターに異常のあるミュータントマウスでは、ICCは正常に分布していてもslow waveは検出されない⁹⁾。したがって細胞内カルシウム変動に広く関わるIP₃レセプターがリズムを発生させている第一要素であることが考えられる。またICCはミトコンドリアを多数持つという特徴から、ERから細胞内に放出されたカルシウムはミトコンドリアへ吸収され、これが再度IP₃レセプターを開口させるということも考えられる。ミトコンドリアの関与はただバッファーとして余剰の細胞内カルシウムを取りこむのか積極的に取りこむのかは定かではない。しかしミトコンドリアの代謝機能を阻害するとslow waveは障害されるし、ミトコンドリア内のカルシウムがICCの膜の脱分極に先だって上昇している事も報告された⁹⁾。次にICCはいかにしてslow waveが示す細胞膜の周期的な脱分極を生じさせるのだろうか。今のところ、細胞外液からカルシウムを除去するとICCの細胞内カルシウム変動は消失する。したがって細胞外からのカルシウム流入が必須であり、このカルシウム流入によりICCの細胞膜が脱分極する可能性がある。これに関わるチャンネルはカルシウムだけでなく種々の陽イオンを通す非特異的陽イオンチャンネルとしての性格と、ER内のカルシウムが枯渇すると開くstore operated channelの性格を併せ持っている事がわかった。具体的な候補としてTransient receptor potential like channel type 4 (TRP4)が挙げられている⁸⁾。しかしTRP4はICCに特異的なものではなくて、周囲の平滑筋もTRP4発現しているという矛盾もある。一方カルシウム依存性クロライドチャンネルが膜電位変動を担っているという説もあるが³⁾、細胞外液から塩素イオンを除去してもslow waveは影響されなかったという報告もある。いずれにしろ、ICCの細胞膜を横切るイオンの流れがICCの膜電位変動を駆動している。またICCの細胞膜にはカベオレが多数存在し、TRP4はここに局在している。レ

セプターやチャンネルがICCのカベオレに集合し、そこでイオンの流入そして神経伝達も集中して起こり得る。発生した膜電位変動はICC同士、またICCと平滑筋との間のネクサスを介して伝播していくものと考えられるがそのメカニズムは明らかにされていない。今後これらの問題が解明される事を大いに期待する。

文 献

- 1) Cajal, S.R.: *Historie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Tome II, pp.891-942, Maloine, Paris, 1911.
- 2) Huizinga, J.D., 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.
- 3) Huizinga, J.D., Zhu, Y., Ye, J. et al.: High-conductance chloride channels generate pacemaker currents in interstitial cells of Cajal. *Gastroenterology*, 123:1627-1636, 2002.
- 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) 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.
- 6) Torihashi, S., Ward, S.M., 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.
- 7) Torihashi, S., Ward, S.M., Sanders, K.M.: Development of *c-Kit*-positive cells and the onset of electrical rhythmicity in murine small intestine. *Gastroenterology*, 112:144-155, 1997.
- 8) 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.
- 9) Ward, S.M., Ordog, T., Koh, S.D. et al.: Pacemaking in interstitial cells of Cajal depends upon calcium handling by endoplasmic reticulum and mitochondria. *J. Physiol.*, 525:355-361, 2000.
- 10) Yamazawa, T., Iino, M.: Simultaneous imaging of Ca²⁺ signals in interstitial cells of Cajal and longitudinal smooth muscle cells during rhythmic activity in mouse ileum. *J. Physiol.*, 538:823-835, 2002.