

83. 食道アカラシア壁内神経叢におけるアポトーシスの関与についての検討

兵庫医科大学第一外科

中村清昭, 庭本博文, 中井謙之, 岡本英三

[はじめに]食道アカラシアは嚥下困難や食道拡張を示す下部食道括約筋の運動障害である。食道アカラシアの特異的な病理組織学的所見では下部食道壁内神経叢での神経細胞の著しい変性およびほとんど消失に近い傷害を受けている。しかし、その傷害の検討は充分なされていない。一方、最近細胞死についてはアポトーシスとネクローシスが注目されている。アポトーシスは核構造の崩壊が特徴的とされる。アポトーシスの過程ではDNAは180塩基対に断片化される。アポトーシス細胞のDNA断片が持つ3'-OH端をin situで検出するTUNEL法(TdT-mediated dUTP biotin nick end labelling)が報告され、またINT法(in situ nick translation)でproteinaseの前処置の有無でアポトーシスとネクローシスの鑑別が行えると報告されている。今回我々は、食道アカラシア壁内神経叢におけるアポトーシスの関与をin situで証明する目的でTUNEL法およびINT法を用いて検討を行ったので報告する。

[対象]当科にて手術より得たアカラシア10症例の下部食道筋条片、対照として食道癌7症例の非癌部下食道筋条片を用いた。

[方法]TUNEL法及びネクローシスとの鑑別の為にINT法を用いin situでアポトーシスの検討を行った。TUNEL法はoncor社in situ apoptosis detection kitをINT法は小路らのproteinaseの除蛋白処理の有無によるアポトーシスとネクローシスの鑑別法を用いた。

[結果]TUNEL法では食道アカラシア10症例すべての壁内神経叢にpositive stainを認めた。その内6例には神経節細胞のみならずグリア細胞、平滑筋細胞等にもdiffuse positive stainを認めた。対照群ではpositive stainを認めなかった。INT法においては食道アカラシア症例はproteinaseの有処置のみにpositive stainを認めたが、無処置にはstainを認めなかった。

[まとめ]食道アカラシアの下部食道は神経節細胞のみならずグリア細胞、平滑筋細胞も傷害を受けておりその傷害にはアポトーシスの関与が強く示唆された。

84. 先天性無神経節ラット回腸におけるPGP9.5陽性細胞

名古屋大学小児外科¹⁾、名古屋大学解剖学第一教室²⁾渡辺芳夫¹⁾、原田 徹¹⁾、石黒士雄¹⁾、安藤久實¹⁾、瀬尾孝彦¹⁾、伊藤不二男¹⁾、金子健一郎¹⁾、鳥橋茂子²⁾、飯野 哲²⁾、小林 繁²⁾

最近の分子生物学的研究によって、先天性無神経節ラット（以下Hラット）の原因としてEndothelin-Bレセプター遺伝子の異常が指摘された。しかし、無神経節腸管の長さは、同じ遺伝子異常を有するマウス（Hマウス）が短いのに反し、Hラットでは長い。さらに、HマウスもHラットも、口側腸管には神経節細胞を有しており、無神経節部の形成を直接支配する因子を単一の遺伝子の異常で説明することは難しい。一方、抗PGP9.5抗体は神経を特異的に認識できる抗体として、最近注目されている。今回の研究ではHラットの無神経節回腸に、PGP9.5陽性の特殊な細胞を発見したので、免疫組織学的に検討した。＜対象と方法＞Hラット(n=5)と正常同胞ラット(n=5)を用いた。エーテル麻酔下に開腹し、腸管を摘出し、ただちに4℃のザンボニ液にて固定後、凍結切片および伸展標本とした。免疫組織染色法を用い、神経のマーカーとして抗PGP 9.5、抗MAP2、グリア細胞のマーカーとして抗S-100b、平滑筋のマーカーとして抗actinと抗vimentinを用いた。酵素抗体法と蛍光抗体法で染色し、光学顕微鏡、電子顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡で観察した。＜結果＞PGP9.5陽性の紡錘形細胞は、Hラットの無神経節回腸の内輪筋層にのみ認められた。同じ細胞は正常同胞ラットの腸管には認められなかった。この細胞はMAP2陰性、S-100陰性、vimentinが一部陽性、actinが弱陽性であった。＜考察＞PGP9.5は、神経以外にパルニューロンと胎児期の生殖細胞に陽性を示す。しかし、神経を除いて、腸管筋層に陽性細胞を認めたとの報告はない。神経に特異性を持つ抗PGP9.5にて陽性に染色される無神経節回腸の細胞は、腸管のペースメーカー細胞として注目されている特殊平滑筋との類似点が多く、細胞外環境の影響によって異常発達した特殊平滑筋と考えられた。