

P-15. 骨盤神経刺激によって発現する c-fos 蛋白陽性アウエルバッハ神経細胞の分布

神奈川歯科大学 口腔生理学 湯山徳行、水野潤造、田村謙二
同 口腔組織学 都築英子、高橋理

仙部副交感神経の下部消化管に対する神経支配様式を明らかにする目的で、骨盤神経刺激によってアウエルバッハ神経叢内に発現する c-fos 蛋白陽性の神経細胞の分布を検討した。

実験にはモルモット（雄、体重 250-300g）を用い、in vivo と in vitro の 2 種類の実験を行った。In vitro の実験ではケタラール（50mg/kg/hr）による麻酔下に、右後腹膜腔内で骨盤神経を露出し、神経束周囲に約 5 μ l のマスタードオイルを注入した。約 3 時間後、頭部への殴打と総頸動脈からの脱血によりモルモットを屠殺し、肛門縁より 0.5cm から 18cm の下行結腸から直腸へかけての腸管を摘出した。In vitro の実験系では、in vivo と同様の方法を用いてモルモットより両側骨盤神経を付着させた下部結腸を摘出し、これを 37 $^{\circ}$ C に加温したクレブス液を灌流させたチャンパー内に固定した。自発性の蠕動運動の開始を確認した後、骨盤神経の末梢端にマスタードオイルを与え、その後約 3 時間チャンパー内に放置した。実験終了後、結腸を 4% のパラフォルムアルデヒドで固定し（overnight）後、c-fos に対する 1 次抗体（1:200）を反応させ、最終的にはジアミノベンチジンで発色で c-fos の発現を確認した。

c-fos 蛋白陽性のアウエルバッハ神経細胞は、すべての標本（in vivo, n=10; in vitro, n=3）で観察された。その分布は個体差が大きかったが、多くの場合肛門縁より 1.5-2.5cm の部分でもっとも多く観察され、口側と肛門側の両方向に向かって次第に減少した。また、同時に行った仙部脊髄の染色では、刺激側の後角神経細胞と、中間外側核に存在する副交感神経節前神経細胞の核内に c-fos 蛋白の発現が観察され、マスタードオイルを用いた骨盤神経刺激が有効であったことが確認された。これらの事実から、モルモットの骨盤神経の下部消化管壁内における神経終末は、骨盤神経が消化管壁に進入すると考えられる部位でもっとも多く、口側と肛門側に向かうに従い減少すると推察された。

P-16. 消化管筋層に分布する組織常在型マクロファージの形態と機能

名古屋大学医学部解剖学第一講座、*東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室
鳥橋茂子、*堀 正敏、*尾崎 博

ヒトを含む哺乳動物の消化管筋層には多数の組織常在型マクロファージがほぼ均一に分布している。これらは通常強い呑食能は示さないが FITC-dextran を静注すると取り込んで標識される。消化管が細菌感染等により刺激されるとこれらマクロファージが様々な生理活性物質を放出して筋層の収縮能に何らかの影響をあたえることを想定し、Lipopolysaccharide(LPS)で刺激した消化管筋層の収縮能とマクロファージの動態について検討した。

材料と方法: ウイスター系ラット回腸を 2-3cm の長さに切りだし、LPS100 μ g/ml を含む栄養液（37 $^{\circ}$ C）で 4 時間または 8 時間組織培養したのち、粘膜を除去して筋層の一部から RT-PCR 法により iNOS の mRNA を測定した。また残りの組織は平滑筋の収縮能を測定した後固定し、抗 iNOS 抗体、OX6、ED2 抗体による免疫染色を行った。コントロールとして摘出直後の回腸と LPS を含まない正常栄養液で培養した組織を用いた。

結果: 灌流 4 時間で iNOS の mRNA はコントロールに比べて有意に上昇し、iNOS の免疫活性を示すマクロファージの数は経時的に増加した。この時平滑筋の carbachol による収縮は抑制され、この抑制は L-NMMA で解除された。さらに MHCclassII の発現を示す OX6 に染まるマクロファージの数も経時的に増加した。

結論: 筋層内の組織常在型マクロファージは LPS 刺激により活性化され iNOS を発現し、これにより産生された NO は平滑筋の収縮を抑制した。また同時にこれらマクロファージは抗原提示能を増強し、免疫反応も惹起した。