

氏名・(本籍)	木下 隆 (鳥取県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第158号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成6年3月24日
学位論文題目	HISTOCHEMICAL LOCALIZATION OF NITRIC OXIDE SYNTHASE IN MOUSE BILIARY DUCTS (マウス胆管系における一酸化窒素合成酵素の組織化学的分布について)
審査委員	主査 教授 戸田 昇 副査 教授 木村 宏 副査 教授 森 渥視

論文内容要旨

[目的]

最近、一酸化窒素(NO)が神経伝達物質あるいは細胞内セカンドメッセンジャーとして働き生体内情報伝達機構にに關与していることが報告され注目を集めている。また腸管では、壁内神経叢にNO合成酵素含有神経(NO神経)が存在し、非アドレナリン、非コリン性神経として平滑筋の弛緩に關わっていることが報告されている。今回われわれは、NO合成酵素と同一とされているNADPH(Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)ジアホラーゼの酵素組織化学を用いて、解剖学的に腸管とよく似た神経構築を持つとされる胆管系におけるNO神経の存在の有無、さらにはその分布様式を、マウスを用いて検討した。

[方法]

NADPHジアホラーゼ組織化学

動物をペントバルビタール麻酔下に開胸し、左心室より灌流脱血した後、ただちに4%パラホルムアルデヒド、0.1%グルタルアルデヒド混合液(4℃)で灌流固定した。その後動物を30分間氷冷し、15%蔗糖を含む0.1M磷酸緩衝液にて再灌流を行った。胆嚢を含む肝外胆管を採取し、全層標本を作製した。また十二指腸、膵臓を採取し、クリオスタットにて厚さ12 μ mの切片を作製した。全層標本、組織切片とも、浮遊法にて以下の染色を行った。基質として0.01 mM NADPH、発色物質として0.02mM NBT(nitro blue tetrazolium)を含む0.1M磷酸緩衝液中にこれらの全層標本または組織切片を浸漬し、37℃で2-4時間反応させ発色させた。

NADPHジアホラーゼとアセチルコリンエステラーゼとの二重染色

アセチルコリンエステラーゼの酵素組織化学は、Karnovsky法の変法であるTago法に準じ、標本または切片をKarnovskyとRootsの100倍溶液に浸漬した後、0.04%3,3ジアミノベンチジン、0.005%過酸化水素水を含む0.05Mトリス緩衝液で褐色に発色させた。この同一標本または切片にNADPHジアホラーゼ組織化学を行い二重染色とした。

[結果]

胆嚢において、NADPHジアホラーゼ陽性神経細胞体はおもに胆嚢頸部にみられ、細胞体の数は少ないながらも神経節を形成していた。これらの陽性神経細胞体は比較的大きく、またなかには多数の短い突起と一本の長い突起を持つDogielの1型に属する形態学的特徴を有するものが観察された。陽性神経線維は一条の神経束となり胆嚢頸部を走行した後に分枝し、胆嚢底部では、バリコシティーをもつ細い線維が網目状に分布していた。また細かい神経線維は胆嚢の血管周囲にも認められた。胆嚢管、肝管、総胆管においても陽性神経細胞体、神経線維が観察された。総胆管の十二指腸壁内走行部、すなわちOddiの括約筋部でも陽性神経細胞体が見られ、神経節を形成していた。

膵臓において、陽性神経細胞体はおもにラ氏島近傍に認められ、間質では、血管および膵管に沿って走行する螺旋状の神経線維が観察された。

NADPHジアホラーゼとアセチルコリンエステラーゼとの二重染色の結果では、胆嚢においては、両者がともに陽性になる細胞は検索し得なかった。一方、膵臓においては、NADPHジアホラーゼ陽性細胞の一部に、アセチルコリンエステラーゼとの共存がみられた。

[考 察]

NO神経は広く胆管系全体に分布していたが、特に胆嚢においては特徴的な陽性神経細胞体、陽性神経線維が観察された。胆嚢の神経叢は胆嚢壁の解剖学的特徴から、腸管の粘膜下神経叢に似ていると考えられている。腸管においてNO神経はおもに筋層間神経叢に存在し、粘膜下神経叢にはほとんどみられないことから、胆嚢と腸管のNO神経は同一のものではないかもしれない。しかしながら胆嚢の陽性神経細胞の中には腸管と同様、運動神経と考えられるDogiels 1型に属するものがみられ、形態学的にもこの神経が胆嚢の運動などに関与しているのではないかと推測された。

胆嚢を含む上部胆管系のNO神経はアセチルコリンエステラーゼと共存しておらず、この部の陽性神経は腸管と同様、非アドレナリン、非コリン性神経であり、その一部は抑制性の神経として胆嚢の弛緩運動に関わっているのではないかと考えられた。しかし膵臓を含む下部胆管の陽性神経の一部はコリン性神経と考えられ、上部と下部の胆管ではNO神経は異なった役割を果たしているのではないかと推測された。

胆嚢の神経叢は、おもにアドレナリン性神経と考えられる血管周囲神経叢と、非アドレナリン性神経と考えられる傍血管神経束とから形成されている。また傍血管神経束の中には内臓知覚神経と考えられるものも存在する。今回の検討でNO神経は血管周囲神経叢、傍血管神経束のどちらの部位にも分布が認められたことから、この神経が広く胆嚢の機能に関わっているのではないかと考えられた。

[結 語]

NADPHジアホラーゼ組織化学を用いた検討により、NO神経は広く胆管系全体に存在することが明らかとなった。胆管系におけるNO神経の生理的意義は不明であるが、その形態、分布様式などから胆管系の機能に深く関わっているものと推測された。

学位論文審査の結果の要旨

腸管壁内神経叢に分布する一酸化窒素 (NO) 合成酵素含有神経は、非アドレナリン性非コリン性の筋弛緩に関わるとされ、注目されている。本研究は、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH) ジアホラーゼ酵素組織化学を用いてマウス胆管系におけるNO神経を染色し、そ

の分布様式を明らかにするとともに、NO合成酵素がコリン作動性神経内に存在するか否かをアセチルコリンエステラーゼとの二重染色法で検討したものである。

NO神経の細胞体および線維は、肝管、胆嚢管、胆嚢、総胆管、十二指腸乳頭部および膵臓のいずれにおいても認められた。胆嚢では、NO神経の細胞体は比較的大型で、頸部の神経節に主として分布した。NO神経線維はしばしば神経束を形成し、神経束から分枝した細い連珠状の線維は胆嚢壁ないし血管周囲を網目状にくまなく支配していた。膵臓では、ランゲルハンス氏島の近傍に少数のNO神経細胞体が散見された他、血管や膵管に沿って走行する螺旋状のNO神経線維が認められた。二重染色法により、胆嚢ではNO合成酵素とアセチルコリンエステラーゼは別個の神経細胞体に存在するが、膵臓では多くの細胞に両者の共存が認められた。

以上の結果から、NO神経は胆道系に広く分布し、腸管におけると同様、非アドレナリン性非コリン性抑制神経として平滑筋の緊張を調節していると推論される。本研究は、胆管系におけるNO神経の存在を形態学的にはじめて立証し、胆管系の神経性調節に重要な手がかりを与えた興味あるものであり、博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められた。