

論文内容の要旨

Distribution and morphology of P2X3-immunoreactive subserosal afferent nerve endings in the rat gastric antrum

(ラットの胃幽門前庭における P2X3 陽性漿膜下求心性神経終末の分布と形態)

(平川正人, 横山拓矢, 山本欣郎, 齋野朝幸)

(Journal of Comparative Neurology 539 巻, 8 号 令和 3 年 6 月掲載)

I. 研究目的

胃は食物を胃底や胃体に貯蔵後, 胃体から幽門前庭にかけて起こる蠕動運動によって食物を攪拌・消化し, 十二指腸へ排出する. 胃壁には迷走神経下神経節 (NG) に由来する求心性神経終末が分布し, 機械刺激を中枢へ伝えることで迷走神経反射を引き起こす. P2X 受容体は神経終末の脱分極に関わるイオンチャネル型 ATP 受容体であり, このうち P2X3 受容体は多くの求心性神経終末に発現している. また, P2X3 陽性神経終末は臓側胸膜などの伸縮性の高い器官の結合組織に分布することが報告されている. しかしながら, 胃の漿膜下組織における P2X3 陽性神経終末の分布は不明である.

胃の筋層間神経叢では, Intraganglionic laminar endings (IGLEs) とよばれる P2X3 陽性神経終末が認められ, 高感度の機械受容器として機能している. 一方, 小彎側幽門前庭には漿膜下神経節が存在しているものの, P2X3 陽性神経終末との関係は明らかでない.

本研究では, 胃における P2X3 陽性漿膜下神経終末の分布と形態を明らかにすることを目的とした. 第 1 章では P2X3 陽性漿膜下神経終末の分布を明らかにすると共に, 逆行性トレーサー標識実験により起始神経節の特定を行った. 第 2 章では P2X3 陽性神経終末と漿膜下神経節の形態学的関係を調べた. また, ATP の放出元を明らかにするために自律神経線維との関係を解析した.

II. 研究対象ならび方法

ラットの胃を採材し, 粘膜を除去することにより筋層と漿膜下組織からなるホールマウンツ標本作製した. 第 1 章では標本に P2X3 に対する抗体を用いて免疫蛍光染色を行い, 胃における P2X3 陽性神経終末の分布を観察した. また, 二重染色により P2X3 陽性神経終末と周囲組織との形態学的関係を調べた. 逆行性トレーサー標識実験では, P2X3 陽性神経終末の分布領域に Fast Blue (FB) を注入し, NG を採材した. 連続凍結切片を P2X3 により免疫染色後, FB および P2X3 の共存性を観察した. 第 2 章では, 標本に多重染色を行い, P2X3 陽性神経終末と漿膜下神経節および自律神経線維との空間的關係を解析した.

III. 研究結果

(第 1 章) P2X3 陽性漿膜下神経終末は小彎側幽門前庭に観察された。P2X3 陽性神経終末は、小彎側を噴門から幽門前庭にかけて走行する平滑筋束の外側に限局していた。形態的に、P2X3 陽性神経終末は二次元的に伸びる網状神経終末とバスケット状の形態を示す籠状神経終末に分類された。このうち、網状神経終末は、広範囲に広がる網目状の終末構造と、その辺縁部の軸索末端部によって構成されていた。また、神経終末は縦走筋層の走行と無関係に網目状構造を形成していたことから、機械受容器である可能性が示唆された。軸索末端部からは、棍棒状あるいは糸状の微細突起が結合組織へ伸びており、ルフィニ神経終末において機械受容に関わる微細突起と形態的に類似していた。網目状構造を形成する神経線維や軸索末端部は、S100B 陽性終末シュワン細胞によって取り囲まれていた。槍型神経終末では、機械刺激によって終末シュワン細胞から ATP が分泌されていることから、終末シュワン細胞由来の ATP によって網状神経終末上の P2X3 受容体が活性化されている可能性がある。小彎側幽門前庭の漿膜下組織へ FB を注入した結果、NG における FB 標識神経節細胞のうち、38% で P2X3 陽性反応が観察された。したがって、P2X3 陽性漿膜下神経終末は NG に由来する求心性神経終末であることが示唆された。

(第 2 章) 籠状神経終末は、網状神経終末と同一の軸索によって形成され、網状構造の間に散在していた。籠状神経終末は P2X3 陽性神経線維からなる立体的な籠状構造を示し、NF200 陽性神経細胞と S100B 陽性衛星細胞からなる漿膜下神経節を包み込んでいた。このような形態学的関係は、IGLEs と筋層間神経叢との関係に類似することから、籠状神経終末は機械受容器であることが示唆された。また、籠状神経終末には、ドパミンβ-水酸化酵素 (DBH) 陽性反応を示す交感神経線維が接していた。さらに、DBH 陽性神経線維上には ATP の小胞分泌関連分子である小胞型ヌクレオチド輸送体が局在していた。以上のことから、籠状神経終末上の P2X3 受容体は交感神経線維から開口分泌される ATP によって活性化されている可能性がある。

IV. 結 語

ラットの胃小彎側幽門前庭に P2X3 陽性漿膜下求心性神経終末が分布することを明らかにし、網状神経終末と籠状神経終末を見出した。網状神経終末は蠕動運動によって生じる幽門前庭壁の機械刺激を受容し、籠状神経終末は網状神経終末の感度を増強している可能性がある。さらに、機械刺激に対する P2X3 陽性神経終末の感受性は、ATP によって増強されている可能性がある。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 片岡 竜貴 (病理学講座:機能病態学分野)

副査 教授 菅井 有 (病理診断学講座)

副査 教授 佐藤 孝 (病理学講座:機能病態学分野)

ATP 受容体の一つである P2X3 は、胃を含む各種臓器において機械的刺激を伝達する神経終末に発現する。ラットにおいて Intraganglionic laminar endings (IGLEs) および Intramuscular arrays (IMAs) は P2X3 を発現しており、胃壁の固有筋層に分布し伸展などの機械的刺激を伝達することが知られているが、漿膜下組織層でこうした特徴を持った神経終末は報告されていない。今回の研究では P2X3 に対する抗体を用いて免疫蛍光染色を行い、P2X3 陽性神経終末を検索し、周囲組織との形態学的関係を精査した。特に機械的刺激が多いと知られる胃小弯側幽門前庭において、P2X3 陽性漿膜下神経終末が同定された。この神経終末は終末シュワン細胞に網状に接し、漿膜下神経節を籠状に取り囲み、さらに交感神経終末とも接することが観察された。この P2X3 陽性神経終末は迷走神経下神経節に由来することも確認された。これらの結果は、P2X3 陽性神経終末は交感神経由来の ATP で活性化しやすい状態にコントロールされ、胃壁の伸展などの機械的刺激を迷走神経下神経節に伝達する可能性を示唆する。

本論文は、胃の機械的刺激を伝達する神経終末を同定することで、消化管症状の制御・治療標的の探索に有益な知見を示した研究といえる。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

ラットを検索対象にした理由・ヒトで今回同定された神経終末の報告の有無・IGLEs や IMAs との補完性・P2X3 阻害剤の推測される作用について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) Morphology of P2X3-immunoreactive basket-like afferent nerve endings surrounding serosal ganglia and close relationship with vesicular nucleotide transporter-immunoreactive nerve fibers in the rat gastric antrum (ラットの胃幽門前庭における漿膜下神経節を取り囲む P2X3 陽性籠状求心性神経終末の形態および小胞ヌクレオチド輸送体陽性神経終末との密接な関係) (平川正人, 他 3 名と共著) *Journal of Comparative Neurology*, 529 巻, 18 号 (2021): p3866-3881.
- 2) Vesicular nucleotide transporter-immunoreactive type I cells associated with P2X3-immunoreactive nerve endings in the rat carotid body (ラット頸動脈小体における P2X3 陽性神経終末に関連する小胞グルタミン酸輸送体陽性 I 型細胞) (横山拓矢, 他 4 名と共著) *Journal of Comparative Neurology*, 528 巻, 9 号 (2020): p1486-1501.
- 3) Morphology and chemical characteristics of taste buds associated with P2X3-immunoreactive afferent nerve endings in the rat incisive papilla (ラット切歯乳頭における P2X3 陽性求心性神経終末に関連する味蕾の形態と化学的性質) (伊藤元, 他 6 名と共著) *Journal of anatomy*, (2022 掲載予定)
- 4) 3D image reconstruction techniques using STEM for arteriole and venule morphological analyses (細動脈および細静脈の形態学的分析における STEM を使用した 3D 画像再構成技術) (平川正人, 他 4 名と共著) *Annual Report of Iwate Medical University Center for Liberal Arts and Sciences*, 55 巻 (2020): p115-125.