

Title	Interstitial Cells of Cajal in Dysmotility in Intestinal Ischemia and Reperfusion Injury in Rats
Sub Title	ラット小腸虚血再灌流障害時の消化管運動障害におけるカハールの介在細胞
Author	下島, 直樹
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.1 (2007. 3) ,p.5-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070302-0005">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070302-0005</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Interstitial Cells of Cajal in Dysmotility in Intestinal Ischemia and Reperfusion Injury in Rats

(ラット小腸虚血再灌流障害時の消化管運動障害におけるカハールの介在細胞)

下 島 直 樹

## 内容の要旨

虚血再灌流障害は小腸移植手術において不可避の事象である。これによって、正常な消化管運動が損なわれることがある。一方、カハールの介在細胞 (interstitial cells of Cajal, ICC) は、消化管運動のペースメーカーとして知られており、消化管の自発性機械的収縮は、ICC由来と考えられている。これまで、虚血再灌流障害時の運動障害に関する報告が幾つかあるが、ICCの役割について論じたものは無い。そこで、本実験では、ラット小腸虚血再灌流障害時のカハールの介在細胞の役割について、解析を行った。

実験モデルは、ウィスター系ラットを用いて作製した。側副路を遮断してから、上腸間膜動脈をクリップにて閉塞後、再灌流させた。虚血時間、再灌流時間により、1) 30分虚血、12時間再灌流 ( $I_{30}/R_{12h}$ )、2) 80分虚血、12時間再灌流 ( $I_{80}/R_{12h}$ )、3) 80分虚血、4日再灌流 ( $I_{80}/R_{4d}$ ) の3グループに分け、それぞれのグループでシャムコントロールを作製した。

以下の項目について、検討した。1) 機械的自動収縮：回腸輪状筋方向の機械的収縮 2) 組織病理所見：回腸組織のヘマトキシリン-エオジン染色 3) 免疫染色：ICCおよび神経のマーカーとしての、c-KitおよびPGP9.5に対する免疫染色。

それぞれ、以下の様な結果を得た。1) 病理組織所見： $I_{30}/R_{12h}$ 、 $I_{80}/R_{4d}$ では、軽度の変化にとどまった。 $I_{80}/R_{12h}$ では、粘膜の著明な剥脱、陰窩層の梗塞性変化を認めた。2) 機械的自動収縮： $I_{30}/R_{12h}$ 、 $I_{80}/R_{4d}$ グループでは、シャムコントロールと同様の律動的収縮を示した。 $I_{80}/R_{12h}$ では、不規則な収縮となり、頻度が25% ( $P < 0.05$ ) 低下した。全てのグループにおいて、収縮の大きさに有意差は認められなかった。3) 免疫染色： $I_{30}/R_{12h}$ 、 $I_{80}/R_{4d}$ グループでは、密集したc-Kit陽性細胞のネットワークが観察された。 $I_{80}/R_{12h}$ では、c-Kit陽性細胞はわずかに認められるのみであった。PGP9.5陽性細胞は、すべてのグループで明瞭に観察された。

本実験では、消化管運動の根源とも言える、機械的自動運動に焦点を当てた。測定した自動収縮は、ICC由来と考えられ、ペースメーカー細胞としてのICCの機能を検証したことになる。80分虚血、12時間再灌流において、自動収縮の頻度の低下を有意に認め、同時に、ICCネットワークの変化も観察された。これらの機能と形態の変化は、再灌流が4日に延びると、共に回復した。一方、神経は組織学的に影響を受けなかったことから、虚血再灌流障害による消化管運動障害は、神経よりも、よりICCに関連していることが示唆された。また、いずれのグループにおいても、収縮の大きさには有意差を認めなかったことから、平滑筋は虚血再灌流障害の影響を受けていないことが示唆された。

一過性のICC機能変化 (機械的自動収縮の変化) が虚血再灌流障害によって起き、同時にICCネットワークも組織学的に変化したことが、共に、後日、回復した。これは、虚血再灌流障害が起こす消化管運動障害において、その変化の形成および、回復過程の両方で、ICCが中心的役割を担っていることを示唆している。

## 論文審査の要旨

虚血再灌流障害による腸管運動障害を、ペースメーカー細胞として知られているinterstitial cells of Cajal (ICC) の機能と形態に焦点をあてて解析した。障害により一過性に自動運動のfrequencyが低下し、同時にc-Kit免疫染色によるICCの発現も減弱することが示された。いずれも長時間の再灌流により回復したことから、ICCの持つ可塑性が示された。

審査ではまず、自動運動のfrequencyがICC単独で決定されているのか、その他の要素も関与しているのかとの問いがなされた。Frequencyは、ICCにおけるカルシウムイオンのoscillationを反映していることまでは解明されているが、それが平滑筋に伝わり、最終的に腸管リング全体としての収縮になっていく過程において、frequencyを修飾する因子についての解明はされていない。平滑筋の肥厚とICCの機能の関連を指摘する報告もあり、本研究においても障害時に平滑筋の肥厚を認めたが、両者を直接的に結びつけるだけのエビデンスは無いと回答された。

次に、c-Kitの発現が一過性に減弱し、後に回復するという所見が、biologicalに何を意味しているのかについて議論が交わされた。障害によりc-Kitタンパクがsheddingを起こしたために発現が低下して観察されたのではないかという可能性が指摘された。さらに、Western blotやc-Kit以外のICCマーカーによる免疫染色などの検討により、sheddingや核内移行など、biologicalな挙動についてのより深い議論ができたのではないかという意見が出た。

また、c-Kitの発現の変化がどの時点から起きてきているのかとの問いがなされ、予備実験にて、虚血のみでは発現に変化は無く、再灌流後6時間の時点で、すでに発現が有意に減少していたことが報告された。

炎症性腸疾患における運動障害との関連が指摘されている、腸管在住型のマクロファージについては、本研究においても虚血再灌流障害時に、免疫染色上、有意な発現の上昇を認めているとの説明がなされた。

最後に、臨床の小腸移植への応用についての意見が求められた。今回、移植手術における要素のひとつである虚血再灌流障害の影響を検討し、ICCの機能と形態が、一過性の変化の後に回復する様子を確認することができたが、これに、臓器保存というさらなる要素が加わる移植においても、ICCが回復力、可塑性を持ち続けるかをまず動物実験にて確認してみたいとの展望が示された。

以上のように、本研究では、c-Kit発現の変化に対するbiologicalな解釈について、さらなる検討の余地があるものの、虚血再灌流障害時のICCに関するはじめての研究であり、機能と形態の両方を検討しその可塑性を示した点で、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹  
内科学 日比 紀文 医化学 末松 誠  
病理学 岡田 保典  
学力確認担当者：池田 康夫  
審査委員長：日比 紀文

試問日：平成18年11月7日