

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

自律神経 (1991.10) 28巻5号:471～475.

食道胃接合部を支配する迷走神経の起始細胞の同定
—アカラシアの成因に関する考察—

奥村利勝、上原 聡、北守 茂、並木正義

●原 著

食道胃接合部を支配する迷走神経の起始細胞の同定

—アカラシアの成因に関する考察—

奥村利勝 上原 聡 北守 茂 並木正義

キーワード：食道胃接合部, horseradish peroxidase, アカラシア, 迷走神経背側核, 疑核
esophago-gastric junction, horseradish peroxidase, achalasia, dorsal motor nucleus of the vagus
nerve, nucleus ambiguus

抄録：食道胃接合部を支配する迷走神経の起始細胞の脳幹内分布を horseradish peroxidase (HRP) の逆行性軸索輸送法を用いて同定した。Wistar 系雄性ラットの食道胃接合部に 30% HRP 2 μ l を注入し 48 時間後に脳幹内標識細胞を同定した。標識細胞は延髄の疑核および迷走神経背側核にほぼ均等に認められた。比較のために、HRP を腹部食道壁および胃壁に注入した。標識細胞は前者では疑核に、後者では迷走神経背側核にのみ認められた。以上の成績より、食道胃接合部は食道・胃と異なり二つの神経核から同時に神経支配を受ける特徴が認められた。この神経解剖学的特徴は、食道胃接合部を支配する迷走神経系の異常がその成因と考えられているアカラシアの病態を知る上に参考となる。

(自律神経, 28: 471~475, 1991)

緒 言

食道胃接合部は持続的な収縮によって、胃食道逆流を防ぎ、食物が通過する際には弛緩するといった合目的な機能を備えていることが知られている²⁾。この食道胃接合部の機能の調節には、多数の液性因子とともに迷走神経支配が関与すると報告されている⁵⁾¹³⁾。

一方、食道・胃を支配する迷走神経の起始細胞が延髄の迷走神経背側核および疑核に存在することが知られているものの⁴⁾⁶⁾¹⁰⁾、食道胃接合部を支配する迷走神経の起始細胞の脳幹内分布が、食道および胃とで差異が認められるか否かについては明らかにされていない。

臨床的には、食道胃接合部の機能障害はアカラシアの主要病態の一つであり、その成因として迷走神経系に異常があることは古くから推定されている。したがって、この食道胃接合部の神経支配の特徴を明らかにすることは、アカラシアの成因を考える上で非常に

興味深い。

そこで本研究では、食道胃接合部を支配する迷走神経の起始細胞の脳幹内分布を horseradish peroxidase (HRP) の逆行性軸索輸送法を利用し神経解剖学的に検討した。

方 法

実験にはウイスター系雄性ラット(200~250 g)を用いた。

ラットにエーテルを吸入させて麻酔した後、腹部を正中切開し、生理食塩水に溶解した 30%HRP (grade I-C, Toyobo) 溶液 2 μ l をマイクロシリンジを用いて消化管各部位に注入した。注入部位は、①食道胃接合部より 10 mm 口側の食道壁 (n=3)、②食道胃接合部 (n=3)、③食道胃接合部より 10 mm 肛門側の小弯側胃壁 (n=3) とした。HRP 注入直後、注入部位にワセリンを塗布し腹腔内への漏出を防いだ。HRP 注入 48 時間後にラットを pentobarbital (50 mg/kg) で深麻酔し、左心室経路で既報¹⁰⁾に従って灌流固定した。灌流固定後、腹部食道・胃と脳幹を取り出し、30% sucrose を加えた燐酸緩衝液中に 24 時間 (4℃) 保存した。注入

旭川医科大学第 3 内科

〒078 旭川市西神楽 4 線 5 号

(受付日：平成 3 年 3 月 25 日)

部位の消化管は約2mmのブロックに分け、diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) 法⁸⁾で反応させ、適切な領域に注入されていることを確かめた。

脳幹は下部橋から上部頸髄まで延髄全域が含まれる領域を前額断面で50μmの凍結連続切片とした。切片は3,3',5,5'-tetramethyl benzidine (TMB) 法⁹⁾で反応させた後、neutral redで対比染色し、HRPにより標識された細胞を明視野顕微鏡下で同定した。HRPで標識された細胞は一切片ごとに脳幹前額断面上にプロットし、標識細胞の前額断面上の分布とその数、および吻尾側の広がりを解析した。また前額断面で吻尾側レベルの基準となるobexの位置は便宜上、延髄最後野が存在するレベルの切片より一枚尾側の切片とした。各神経核の名称およびそれらの位置はPaxinosとWatson¹²⁾のアトラスを参考にした。

結果

HRPの注入部位と標識細胞の脳幹内分布

1. 食道胃接合部より10mm口側の食道壁

HRP標識細胞は主に延髄の疑核に認められた。また少数ではあるが延髄の網様体にも標識細胞が認められた (Table 1)。疑核に認められた代表的な標識細胞を Fig. 1A に示した。標識細胞は15~30μmの多極型の細胞が主であった。代表例における疑核内の吻尾側方向の広がりを Fig. 2A に示した。標識細胞は、obex+1.0~3.2mmの範囲に両側性に認められたが、obex+2.8mmのレベルの疑核に最も多く認められ、尾側方向に離れるにつれ標識細胞数は漸減した。このように疑核内の標識細胞は吻尾側方向に広がるカラムの中に分布していた。

2. 食道胃接合部

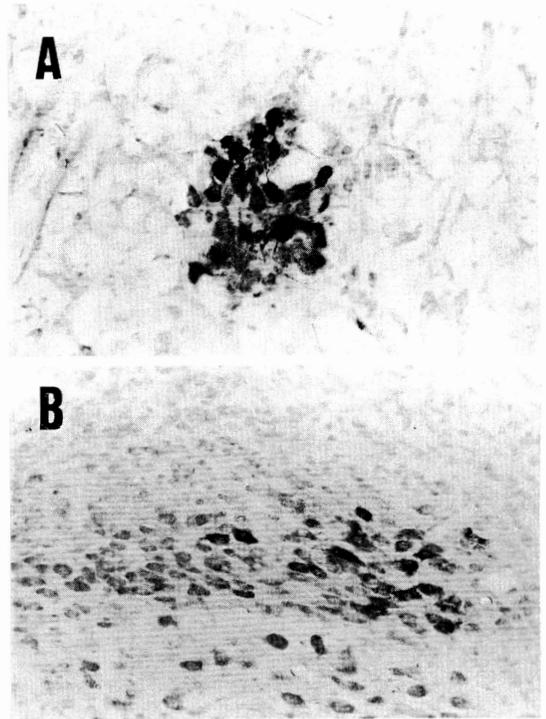


図1 A: 疑核のHRP標識細胞。B: 迷走神経背側核のHRP標識細胞。

標識細胞は疑核と迷走神経背側核に豊富に、また延髄の網様体に少数認められた (Table 1)。疑核に認められた標識細胞の形態は食道壁への注入例で認められたものと差はなかった。迷走神経背側核に同定された標識細胞を Fig. 1B に示した。標識細胞は10~15μmの紡錘型の細胞が主であった。代表例における標識細胞の延髄内分布を Fig. 2B に示した。全標識細胞数のうち45%が疑核に、53%が迷走神経背側核に存在していた。疑核内の吻尾側方向の分布は食道壁への注入例

Table 1 Number of HRP labeled cells in the brainstem after horseradish peroxidase injection into the esophagus, esophago-gastric junction (EGJ) or stomach

Injection site	Total number	NA		DMN		RF	
		left	right	left	right	left	right
Esophagus	341±68	158±40	176±32	0	0	4±1	3±1
EGJ	394±57	86±17	91±14	82±4	126±25	5±1	4±1
Stomach	437±67	0	0	191±35	246±44	0	0

Each value is expressed as the mean±SEM of 3 animals.

NA: nucleus ambiguus; DMN: dorsal motor nucleus of the vagus nerve; RF: medullary reticular formation

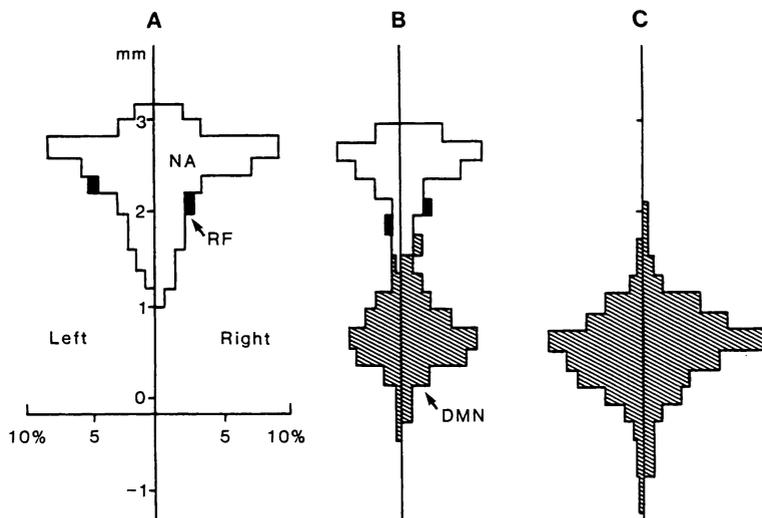


図2 HRP 標識細胞の延髄内分布. A: 食道胃接合部から10mm 口側の食道壁への注入例. B: 食道胃接合部への注入例. C: 食道胃接合部より10mm 肛門側の胃壁への注入例. 各ヒストグラムの横軸は全標識細胞に占める各物尾側レベルの標識細胞の割合(%)を, 縦軸は物尾側のレベルを示す.
NA: nucleus ambiguus; DMN: dorsal motor nucleus of the vagus nerve;
RF: medullary reticular formation

とほぼ同様で, obex+1.4~3.0 mm の範囲に分布する. もっとも標識細胞が多く認められるのは obex+2.8 mm のレベルであった. 一方迷走神経背側核内の標識細胞の物尾側方向の分布は obex-0.6~+1.6 mm の範囲に分布していた.

3. 食道胃接合部より 10 mm 肛門側の小弯側胃壁

HRP 標識細胞は, 迷走神経背側核にのみ認められ, 疑核および網様体には認められなかった (Table 1). 迷走神経背側核に認められた標識細胞の形態は, 食道胃接合部への注入例と比べ差を認めなかった. 代表例における標識細胞の脳幹内分布を Fig. 2C に示した. 迷走神経背側核内の標識細胞の物尾側方向の分布は obex-1.2 mm~+2.2 mm であり, 食道胃接合部の注入例で認められた範囲と差はなかった.

考 察

腹腔内臓器を支配する迷走神経の起始細胞が延髄の迷走神経背側核, 疑核および延髄の網様体に存在することは腹部迷走神経幹に HRP および逆行性色素を取り込ませた実験から既に明らかにされている^{3,11)}. すなわち, これら延髄の諸核から迷走神経を介して腹部諸臓器が支配されていることが示されている. また臓器によって支配する起始細胞の分布が脳幹内で異なっ

ていることも明らかにされ³⁾, 延髄のレベルで臓器特異的な神経支配の存在することが推定されている.

Fryscak らは HRP 法を用いてラットの腹部食道を支配する迷走神経の起始細胞が延髄の疑核および迷走神経背側核に認められたと報告した⁴⁾. 本研究では, 腹部食道への HRP 注入では標識細胞は疑核にのみ認められ, 迷走神経背側核には同定されなかった. この違いは Fryscak らが HRP (15~30%) の注入量を 30 μ l と本実験に比べ非常に多くの量を用いているために生じた拡散領域の違いと考えられる. 一方, 胃を支配する迷走神経の起始細胞が主に迷走神経背側核に存在することが明らかにされている¹⁰⁾. さらに本研究で得られた成績は食道と胃についても臓器特異的な神経支配が成立していることを支持するものである.

本研究では食道と胃の境界をなす食道胃接合部に注目し, その部位を支配する迷走神経の起始細胞を同定し, この部が迷走神経背側核と疑核の二つの神経核から豊富な神経支配を受けることを明らかにした. この結果は食道胃接合部が食道または胃と異なった特異的な神経支配を受けることを示すものと考えられる.

生理的に食道胃接合部は胃液の食道内逆流を防ぎ, また食物が通過する際には弛緩するといった合目的な機能が備わっている. 一方, 食道胃接合部の機能に失

調が生じた場合に、逆流性食道炎やアカラシアといった病態が生ずるが、これら病態の発生メカニズムとして食道胃接合部の運動の異常が関係することが知られている。

一方、この食道胃接合部の運動機能の調節に迷走神経が重要な役割を果たしていることが明らかにされている。アカラシアの患者では、下部食道括約筋部の筋間層神経細胞の変性や迷走神経背側核の変性が病理学的にも示されており¹⁾、アカラシアの病態の成因として迷走神経系の異常が考えられている。しかしながら、今だにその本態は迷走神経系の障害部位を含め十分明らかにされていない。

本研究によると、食道は疑核から、胃は迷走神経背側核からそれぞれ支配されているが、食道胃接合部は迷走神経背側核および疑核の複数部位からの神経支配を受けるという特徴を神経解剖学的に明らかにすることができた。このような神経支配の特徴がアカラシアの病態発生のメカニズムに関与するのかもしれない。すなわち、既に可能性が示唆されている迷走神経背側核の神経細胞の変性に加え、疑核の神経細胞もアカラシアの発生に重要な役割を果たすことも考えられる。また、迷走神経背側核と疑核両者からの食道胃接合部に対する神経支配の均衡失調といった機能的異常がアカラシアの病態を形成することも推測される。今後これら上位神経支配の機能的役割と病態発生との関連を明らかにすることは重要な研究課題といえる。

本論文の要旨は第43回日本自律神経学会総会(平成2年10月、旭川)で発表した。

§ References

- 1) Cassella, R.R., Brown, A.L., Sayre, G.P. & Ellis, F.H., Achalasia of the esophagus; pathologic and etiologic considerations. *Ann. Surg.*, 160 : 474-480, 1964.
- 2) Christensen, J.: Motor functions of the pharynx and esophagus. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, Second Edition, edited by Reonard R. Johnson, Raven Press, New York, 1987, pp. 595-612.
- 3) Fox, E.A. & Powley, T.L.: Longitudinal columnar organization within the dorsal motor nucleus represents separate branches of the abdominal vagus. *Brain. Res.*, 341 : 269-282,

- 1985.
- 4) Fryszak, T., Zenker, W. & Kantner, D.: Afferent and efferent innervation of the rat esophagus; a tracing study with horseradish peroxidase and nuclear yellow. *Anat. Embryol.*, 170 : 63-70, 1984.
- 5) Gonella, J., Neil, J.P. & Roman, C.: Vagal control of lower esophageal sphincter motility in the cat. *J. Physiol.*, 273 : 647-664, 1977.
- 6) Kalia, M. & Sullivan, J.M.: Brainstem projection of the vagus nerve in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 211 : 248-264, 1982.
- 7) Kimura, K.: The nature of idiopathic esophagus dilatation. *Jap. J. Gastroenterol.*, 1 : 199-207, 1929.
- 8) Marmgren, L. & Olsson, Y.: A sensitive method for histochemical demonstration of horseradish peroxidase in neurons following retrograde axonal transport. *Brain. Res.*, 170 : 63-70, 1978.
- 9) Mesulam, M.M.: Principle of horseradish peroxidase neurohistochemistry and their applications for neural pathways-axon transport, enzyme histochemistry and light microscopic analysis. In M.M. Mesulam (Ed.), *Tracing Neural Connections with Horseradish Peroxidase*, A Wiley-Interscience Publication, New York, IBRO Handbook Series, Methods in Neuroscience, 1982, pp. 1-151.
- 10) Okumura, T. & Namiki, M.: Vagal motor neurons innervating the stomach are site-specifically organized in the dorsal motor nucleus of the vagus nerve in rats. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 29 : 157-162, 1990.
- 11) Okumura, T., Uehara, A., Okamura, K. & Namiki, M.: Site-specific formation of gastric ulcers by the electric stimulation of the left or right gastric branch of the vagus nerve in the rat. *Scand. J. Gastroenterol.*, 25 : 834-840, 1990.
- 12) Paxinos, G. & Watson, C.: *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, 1982.
- 13) Rattan, S. & Goyal, R.K.: Neural control of the lower esophageal sphincter motility in the cat. *J. Physiol.*, 273 : 647-664, 1977.

Abstract

Identification of Vagal Motor Neurons Innervating the Esophago-Gastric Junction by a Retrograde Tracing Method in the Rat

Toshikatsu Okumura, Akira Uehara, Shigeru Kitamori and Masayoshi Namiki

Department of Internal Medicine (III), Asahikawa Medical College, Asahikawa 078, Japan

The present study was carried out to identify the parasympathetic preganglionic neurons innervating the esophago-gastric junction (EGJ) using a horseradish peroxidase (HRP) retrograde tracing technique in male Wistar rats. Two μ l of 30% HRP solution was injected to the EGJ. At 48 hr after the injection, retrograde labeled cells in the brain stem were identified. HRP-labeled cells were observed in both the nucleus ambiguus (NA) and the dorsal motor nucleus of the vagus nerve (DMN) in almost equal amounts. For comparison, HRP was injected into the abdominal esophagus or the stomach. Labeled neurons were located in the respective single nucleus, i.e., the former in the NA and the latter in the DMN. These results suggest that the EGJ possesses a characteristic innervation which is different from that of the esophagus or the stomach. These neuroanatomical features of vagal innervation of the EGJ might have an important role in the pathogenesis of achalasia which is known to be affected by vagal innervation of the EGJ.

(The Autonomic Nervous System, 28: 471~475, 1991)
