

論文の要約

報告番号	① 乙	第 1134 号	氏名	茂木 優貴
学位論文題目	カルシウムイメージングによる 中枢および消化管神経系の機能解析			
<p>論文の要約</p> <p>背景</p> <p>腸管神経系(ENS)は、消化管壁内で層状かつ相互に接続された神経節のネットワークを形成しており、蠕動運動、分泌および感覚などの消化管の機能を調節する。ENSは中枢神経系(CNS)とは独立して局所的な消化管機能を制御できることが知られているが、実際の生体内では自律神経系を介した中枢神経系(CNS)との広範囲の双方向接続を有しており、CNSとENSは協調的に機能している。しかし、現在のところ、生体内でCNSとのつながりを維持したまま細胞レベルでENSをイメージングする技術の確立は十分にできておらず、その機能解析のための高分解能イメージング技術は発展途上である。</p> <p>目的</p> <p>本研究では、麻酔下で細胞レベルのENS活動をイメージングする方法を確立し、その機能について解析することを目的とした。</p> <p>実験と結果</p> <p>本実験ではまず、小腸の筋層間神経叢(MP)ニューロンをはじめとする種々の細胞において高感度な蛍光カルシウムセンサータンパク質G-CaMP6(G6)を発現するトランスジェニックマウス(B6N.FVB - Thy1 - G-CaMP6 - 2A - mCherry #38, F#38)を用いて、マウスの小腸、大腸および胃の各消化管部位において、その壁内の複数の層に存在する細胞と線維でG6が発現していることを確認した。加えて、ホールマウント免疫染色により、小腸のMP層内のG6発現細胞は、神経細胞のマーカーであるPGP9.5を発現し、かつグリア細胞のマーカーであるGFAPを発現していない神経細胞であることを確かめた。</p> <p>ENSのカルシウムイメージングでは、陰圧にしたチャンバー内へと引き出した腸をカバーガラスに対して密着、伸展させる手法を用いて、安定した焦点面を維持した。小腸のMPで自発活動する細胞は、その形態により活動頻度に差があること、また腸管に存在する神経伝達物質であるセロトニン(5HT)に対する応答性が異なることを見出した。具体的には、MP層内の小型の細胞と筋層内の細胞と突起は、MP層内の大型細胞と比較して有意に自発活動の活動頻度が高いことを見出した。さらにこれらの細胞と線維に対して、チャンバー内に5HTを局所投与してその活動の変化を観察したところ、MP層内の大型の細胞と小型の細胞は5HT投与に対しその活動頻度を変化させなかったが、輪走筋層(CM)の突起はその活動頻度を有意に上昇させることを見出した。</p> <p>結論</p> <p>本研究のイメージングは、腸間膜の神経・血管接続を維持したまま、細胞レベルで腸管神経系活動を可視化するイメージング手法として初めてのものである。また、イメージング中の薬液投与が可能であることや、小腸だけでなく大腸や胃のイメージングも可能であることなどの特長から、消化管神経系全般の生理学および薬理学研究に適用が可能である。したがって本手法の将来の応用範囲には、腸蠕動運動の神経制御の細胞レベルのメカニズムとその中枢神経系と血管を介した調節の解明、および腸管疾患の機序解明とその治療薬のスクリーニングなどの研究が考えられる。</p>				