

論文内容の要旨

報告番号		氏名	後藤 桂
In vivo imaging of enteric neurogenesis in the deep tissue of mouse small intestine (インビボイメージング法を用いたマウス小腸の肉芽組織深部における腸壁内神経形成の解析)			

論文内容の要旨

我々はこれまでに 5-HT₄ 受容体作動薬モサプリドクエン酸塩(以下 MOS)は、下部消化管切離吻合術後に損傷した壁内神経系の再生・新生促進作用を有することを見いだしている。しかしながら、共焦点顕微鏡励起光の深部到達度に限界があるため組織修復過程で生じる肉芽組織深部の詳細な観察はこれまで不可能であった。

そこで、壁内神経細胞が蛍光標識された遺伝子改変マウス(Thy1 promoter GFP H-line mouse)および高深部到達性かつ低侵襲性の2光子励起顕微鏡(以下 2PM)を用いた in vivo イメージング法を用いた結果、従来観察が困難であった小腸の切離吻合術後形成される肉芽組織深部の詳細な観察が可能である事が明らかとなった。

そこで我々はその研究をさらに発展させ、回腸切離吻合術後に vehicle 群、MOS 群、MOS と 5-HT₄ 受容体拮抗薬である SB-207266 同時投与群(MOS+SB 群)の3群に分け、1週間の飼育期間後に再度麻酔下にて開腹し吻合部の in vivo イメージングを実施した。そして取得した画像から新生したと思われる神経細胞数を三次元でカウントし定量的に解析することにより、損傷腸壁内神経系の再生・新生過程に対する MOS の効果について検証した。さらには、イメージング後に採取した組織の切片標本作製し免疫組織学的解析を実施することにより、損傷壁内神経系の再構築過程について明らかにすることができた。

GFP 蛍光を示す細胞は、表面から比較的浅い約 100 μm の深さに集中して分布しており、MOS 群では他の2群と比較し約4倍多い数を示していた。またこれらの細胞は、免疫組織学的解析の結果から、前駆細胞を含む新生した神経細胞であることが明らかとなった。

これらにより、2PM による in vivo イメージング法は肉芽組織深部の観察に有用であるとともに、MOS は小腸においても損傷腸壁内神経系の再生・新生促進作用を示すことが明らかとなった。さらに、新生した神経細胞は肉芽組織の表層に集中していたことから、神経幹細胞は肉芽組織外側より動員されてくることが示唆された。