



GABA, glutamic acid decarboxylase, and GABA transaminase levels in the myenteric plexus in the intestine of humans and other mammals

三木, 雪子

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1983-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0417

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000417>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	みきゆきこ (香川県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博い第386号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与の日付	昭和58年3月31日
学位論文題目	GABA, Glutamic Acid Decarboxylase, and GABA Transaminase Levels in the Myenteric Plexus in the Intestine of Humans and Other Mammals (ヒト及び哺乳類の腸管壁内神経叢におけるガンマアミノ酪酸, グルタミン酸デカルボキシラーゼ, ガンマアミノ酪酸トランスアミナーゼ)
審査委員	主査 教授 田 中 千賀子 教授 塙 功 教授 岡 田 安 弘

論文内容の要旨

緒 言

ガンマアミノ酪酸(GABA)は、中枢神経の抑制性神経化学伝達物質として知られている。近年、いくつかの末梢臓器においても、その存在が報告されている。GABAが哺乳動物の腸管運動に影響を及ぼすことは古くから知られており、GABAが腸管内に存在し、何らかの生理的役割を持つ可能性が示唆されていた。そこで、このGABAの腸管における作用を解明する一つの手段として、哺乳動物におけるGABA及びその合成酵素、グルタミン酸デカルボキシラーゼ(GAD)、分解酵素、ガンマアミノ酪酸トランスアミナーゼ(GABA-T)の部位別分布並びに、それらの粘膜、筋層、壁内神経叢における局在を解析した。

実験方法

成熟モルモット及びネコの十二指腸、空腸、回腸、虫垂、上行・横行・下行結腸をペントバルビタール麻酔下に摘出した。それぞれGABA測定には0.5N過塩素酸、GAD活性測定には蒸留水、GABA-T活性測定には15mMピリドキサルリン酸(pH7.9)の各7倍量でhomogenizeした。GABA濃度、GAD活性は岡田らの酵素的測定法、GABA-T活性は、Pittsらの方法及びShousboeらの方法の変法によって測定した。

ヒト結腸は、結腸ガン手術時に摘出したもので、ガン浸潤がないことが組織学的に確かめられた部分を用いた。摘出したヒト及びネコ結腸は直ちに凍結し、クリオスタットにて厚さ30μmの切片を作成し、-40℃の真空中で凍結乾燥した。この切片を実体顕微鏡下で、粘膜・縦走筋及び輪状筋・アウエルバッハ神経叢の四層に分割し、各層のGABAは大塚らの酵素的サイクリング法、

GADは岡田らの方法により測定した。蛋白量はLowryらの方法により、測定した。

次に上述の方法により、モルモット及びネコの腸管各部の10 μ mの凍結乾燥切片を作成し、トリジンブルーにて染色し、顕微鏡下でアウエルバッハ神経叢内の神経細胞数を測定した。細胞数は腸管の横断面1 cm²当りの数として表わした。

結果および考察

モルモット腸管ではGABA濃度、GAD活性、GABA-T活性はそれぞれ43.5 - 69.7 n mole /g wet weight, 223.1 - 797.1 n mole /g wet weight/h, 5.7 - 7.0 μ mole /g wet weight/h, アウエルバッハ神経叢の神経細胞数は584 - 1067/cm²であった。GABA濃度及び神経細胞数は十二指腸で最も低く、回腸・虫垂・結腸では高い値を示した。

ネコでは、GABA、GAD、GABA-Tはそれぞれ、26.6 - 36.6 n mole /g wet weight, 282.1 - 390.2 n mole /g wet weight/h, 8.6 - 10.5 μ mole /g wet weight/hで、GABA濃度及び神経細胞数は口側から尾側に行くに従って高い値を示している。GABA-T活性はネコでもモルモットでも、腸管の部位による差は顕著でなく、神経細胞数との関連は認められなかった。

結腸の層別分布を見ると、ネコではアウエルバッハ神経叢でGABA濃度は最も高く、4.60 n mole /mg proteinで、粘膜及び筋層の約20倍であった。GAD活性もアウエルバッハ神経叢で最も高く、4.568 n mole /mg protein/hであった。ヒト結腸でも同様にアウエルバッハ神経叢でGABA 2.52 n mole /mg protein, GAD 10.35 n mole /mg protein/hと最も高値を示し、これらはそれぞれ他の層の約12倍及び約6倍であった。

すでにautoradiographyによって、Jessenらは³H-GABAによってモルモットのアウエルバッハ神経叢の神経細胞の5%がラベルされるという結果を示し、KrantisとKerrは神経叢内の細胞だけでなくそこから筋層に走る神経線維もラベルされるという結果を報告している。アウエルバッハ神経叢にGABAが高濃度に存在するという本実験の結果は、これらのautoradiographyの所見ともよく一致している。

中枢神経においてGABAニューロンの存在する部位では、GABAの分布と一致してGAD活性が見られるが、モルモット及びネコ腸管でのGAD活性の分布はGABA及びアウエルバッハ神経叢の神経細胞の分布とよく一致したことから、アウエルバッハ神経叢にGABA及びその生合成系が存在することが考えられる。さらに、ヒト及びネコ結腸において摘出したアウエルバッハ神経叢でGABA及びGAD活性が粘膜・筋層と比べて著しく高値を示したことから、ヒトを含む哺乳類の腸管壁内神経叢におけるGABAニューロンの存在が強く示唆される。

すでにアウエルバッハ神経叢の神経細胞の5%が³H-GABAを取り込むことが知られており、取り込まれた³H-GABAは電気刺激に対応して遊離されることが証明されている。これらの結果から、GABAはアウエルバッハ神経叢における神経伝達物質として何らかの役割を果たすものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

最近、自律神経系の神経伝達物質としてアセリルコリン、ノルアドレナリン以外のいくつかの物質が候補として注目されています。申請者は、中枢神経の抑制性伝達物質であるガンマアミノ酪酸（GABA）が、哺乳動物の腸管運動に影響を及ぼすことに着目し、GABAが腸管壁に存在し何らかの生理的役割を持つのではないかと考えた。そこでモルモット、ネコ、ヒトの腸管壁にGABAを生成する神経細胞があるのかどうかを調べるために、GABA、生合成酵素、分解酵素の微量定量を試みた。

まず、十二指腸、空腸、回腸、虫垂、上行・横行・下行結腸で、モルモットでは $43.5 \sim 69.7$ nmole/g、ネコでは $26.6 \sim 36.6$ nmole/gと微量のGABAと同時に、GAD活性、GABA-T活性が検出された。GABA濃度及び神経細胞数は口側から尾側に行くに従って高い値を示したが、GABA-T活性はネコ、モルモット共に腸管の部位による差は顕著ではなく、神経細胞数との関連は認められなかった。

ヒト結腸は、結腸ガン手術に摘出したもので、ガン浸潤がないことが組織学的に確かめられた部分を用いた。摘出したヒト及びネコ結腸は直ちに凍結し、クリオスタットにて厚さ $30\mu\text{m}$ の切片を作製し、 -40°C の真空中で凍結乾燥した。この切片を実体顕微鏡下で、粘膜・縦走筋及び輪状筋・アウエルバッハ神経叢の四層に分割し、各層のGABA、GAD及びアウエルバッハ神経叢内の神経細胞数を測定した。

結腸の層別分布を見ると、ネコではアウエルバッハ神経叢でGABA濃度は最も高く、 4.60 nmole/mg proteinで、粘膜及び筋層の約20倍であった。GAD活性もアウエルバッハ神経叢で最も高く、筋層の約15倍で 45.68 nmole/mg protein/hであった。ヒト結腸でも同様にアウエルバッハ神経叢でGABA 2.52 nmole/mg protein、GAD 10.35 nmole/mg protein/hと最も高値を示し、これらはそれぞれ他の層の約12倍及び約6倍であった。モルモット及びネコ腸管でのGAD活性の分布はGABA及びアウエルバッハ神経叢の神経細胞の分布とよく一致したことから、アウエルバッハ神経叢にGABA及びその生合成系が存在することが示唆された。さらに、ヒト及びネコ結腸において摘出したアウエルバッハ神経叢でGABA及びGAD活性が粘膜・筋層と比べて著しく高値を示したことから、ヒトを含む哺乳類の腸管壁内神経叢におけるGABAニューロンの存在が強く示唆される。

すでにアウエルバッハ神経叢の神経細胞の5%が ^3H -GABAを取り込むことが知られており、申請者は、取り込まれた ^3H -GABAは電気刺激に対応して遊離することを証明しており、GABAはアウエルバッハ神経叢における神経伝達物質として何らかの役割を果たすものと考えられる。

これらの成果は、胃腸管副交感神経系である腸神経系のアウエルバッハ神経叢にGABAニューロンが存在することを始めて示したものであり、胃腸管機能制御機構においてGABAが神経伝達物質として生理的役割をもつことに重要な根拠を与えた価値ある業績である。

よって、本研究者は医学博士の学位を得る資格があると認める。