

神経による食道横紋筋運動の制御機構に関する研究

—免疫組織化学的手法による形態学的アプローチ—

坂本宏史¹ 藏本博史²

¹健康科学大学 健康科学部 理学療法学科

²京都工芸繊維大学大学院応用生物学系

Multiple innervations of the striated muscles of the rat esophagus
— Immunohistochemical study of nerve terminals on motor endplates —

SAKAMOTO Hiroshi, KURAMOTO Hirofumi

要旨

嚥下や食道運動の制御は主に食道の筋組織を支配する神経系に依存している。従って、嚥下障害、食道運動不全等の疾病は、1つの要因として、食道を支配する神経系シグナル伝達系のアブノーマリティに起因することが推測される。食道横紋筋は咽頭筋に連続し、食道運動開始の重要な役割を果たしている。現在までに食道横紋筋は運動終板を介して、延髄疑核由来のコリン作動性運動神経細胞と食道内在性神経細胞の神経終末によって二重に支配されていることが判っている。しかし、近年、食道横紋筋運動終板上に感覚神経の神経終末の存在が認められ、食道横紋筋は一般の骨格筋とは異なり、特殊な三重神経支配を受けることが明らかとなった。従って、食道横紋筋線維の運動終板は、食道運動を制御するため運動神経および感覚神経からの両方のシグナル伝達を統合する重要な場所であると考えられる。しかし、このような多重神経支配を受ける食道横紋筋運動の詳細なシグナル伝達メカニズムはよく判っていない。食道における基礎的な神経-横紋筋伝達機構の解明は、食道疾病に対する治療法の進歩や創薬の研究、リハビリテーション方針検討の際に貢献できるものと期待される。

キーワード：食道横紋筋，多重神経支配，シグナル伝達，食道疾患

I. はじめに

消化管は、食物を消化し、消化により分解された物質や水分を吸収する役割を果たす臓器である。吸収されたそれらの物質は、生命を維持するために、我々の身体の細胞や組織の維持、増殖および構造などを支えている。また、消化管は発生学的には初期に形成され、極めて原始的な臓器であるとも考えられている。消化管は口から始まり、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）そして肛門まで続く¹⁾。

臨床的に「gastroenterology」という言葉は日本語では一般的に「消化器病学」と訳されているが、本来の文字自体の意味は「胃腸学」であり、文字通り以前は「胃」および「腸」の病態に関する学問が主となっていた。従って、消化器病学領域での食道の研究は、胃や腸の研究より遅れていると言っても過言ではない。因みに現在の「gastroenterology」は食道、胃、腸、肝臓、膵臓等の消化器全般を統合した疾病を対象とする言葉となっているようである。

その遅れ馳せの食道疾病における研究の中で主流となっているのは、やはり食道癌であるが²⁾、近年アメリカやヨーロッパにおいて社会問題になっているのは「逆流性食道炎（胃食道逆流症）」(gastro-esophageal reflux disease: GERD)³⁾であり、日本においてもGERD患者の増加傾向が見られ、その病因解明の研究が進んでいる⁴⁾。その他に嚥下困難やアカラシア (achalasia) など、食道運動不全の障害も、GERDと同様に見られる食道特有の疾病である⁵⁾。食道運動を主に担っている構造は、食道の外側を覆っている筋層（外側筋層）であり、これらの筋組織と食道を支配する神経系が密な連絡を形成することによって、食道運動が制御され、食物は食道から胃へ輸送される。この主体である筋層が引き起こす食道蠕動は、特に迷走神経による支配が密接に関わっていることはよく知られている⁶⁾。著者らは、特にヒト食道上部壁を構成する横紋筋の機能的役割に注目し、食道全長の筋層がほとんど横紋筋で構成されているラットをモデルとして、研究を進めてきた。

この総説では、まず哺乳類の食道の機能的役割を理解するために、組織学的構造を説明し、次に食道運動機能の主体となる筋組織と神経支配の関係について、特に神経筋接合部（運動終板）に関する最近の所見を述べ、最後に神経支配される食道筋組織と食道疾病およびリハビリテーションの関連性について考察する。

II. 哺乳類食道の構造

1. 食道壁の組織学的特徴

哺乳類の食道は、咽頭から胃まで迅速に食べ物を輸送する筋性の管状構造を呈している。食道は機能的には、咽頭直下の上部食道括約部、食道のほとんどを占める食道体部、胃直下の下部食道括約部から3つの領域に分けられる。食道と胃・腸では、組織学的構造においていくつかの点が異なっている。例えば、胃・腸の最内側の粘膜上皮は単層円柱上皮であるが、食道全体の最内側は皮膚の表皮と類似した重層扁平上皮で覆われている。また、胃・腸の外側の筋層はすべて平滑筋で構成されているが、食道の筋

層では、動物種によって異なっているが、咽頭食道接合部から食道胸部あるいは食道腹部にかけて横紋筋が分布している。ヒト食道の全長は約25cmであるが、おおまかに食道上部の1/3は横紋筋のみ、食道中部の約1/3は横紋筋と平滑筋の混合で、食道下部の約1/3は平滑筋のみからなっている¹⁾。因みに、ブタ、ネコ、サルやオポッサムなどの食道はヒト食道と類似した筋の構成を有しているため、ヒト食道のモデルとして、食道運動メカニズムの解明に関連する実験に用いられている⁷⁾。

2. 食道運動メカニズムに関するコンセプト

連続的でリズムカルな嚥下および食道蠕動パターンは、中枢神経系のパターン・ジェネレーターを主体として制御されると考えられてきた。つまり、食道内における刺激情報は、食道内に分布する求心性迷走神経（あるいは脊髄神経）の終末によって受容され、延髄の孤束核の神経細胞に送られる。その後情報は、それら孤束核の神経細胞の軸索によって、迷走神経背側運動核や疑核の神経細胞に伝達される。最終的にそれら迷走神経背側運動核や疑核の神経細胞は軸索を食道に投射し、前者は副交感神経として食道内在性の神経細胞を、後者は運動神経として横紋筋線維を支配する。この一連の神経回路を介して、食道運動が調節されると考えられてきた⁶⁾。しかし、この約30年間に特にドイツのNeuhuberの研究チームは、免疫組織学的手法と神経トレーサー注入法を組み合わせた実験から、「食道横紋筋は疑核からのコリン（アセチルコリン[Ach]含有）作動性運動神経と食道内在性神経に由来する神経終末の両方によって、筋線維上の運動終板を介して、二重に支配される」ことを発見し、食道運動メカニズムの解明研究に大きな進歩をもたらした^{8), 9)}。言い換えれば、「食道への刺激→食道内感覚神経の活性化→刺激情報の延髄への入力→中枢神経系での情報統合→運動神経からの食道への出力→食道運動の促進」という一連の神経反射経路のみが食道蠕動の制御に関わっているだけでな

く、一部の食道内在性神経細胞も食道運動メカニズムに深く関与することが明らかにされたのである⁷⁾。このような食道横紋筋線維に対する特殊な神経支配は、一般的な、例えば四肢の骨格筋の神経支配とは異なっている。一般的な骨格筋線維は運動終板を介して、脊髓前角に分布するコリン作動性運動神経が投射する神経線維の終末によってのみ支配されているからである。食道横紋筋線維もコリン作動性運動神経の終末によって支配されるという点では、骨格筋線維と共通している。では、なぜ食道横紋筋線維は迷走神経運動神経と食道内在性神経細胞によって二重に神経支配を受ける必要があるのだろうか。この疑問は未だに明確にされていない。以下、食道横紋筋線維の二重あるいは多重神経支配について形態学的に簡単に説明する。

3. 食道横紋筋の神経支配

Neuhuberの研究チームは、免疫組織化学的および組織化学的手法により、ラット食道横紋筋の運動終板上に神経伝達物質である一酸化窒素(NO)を含有する神経終末を発見した⁸⁾(図1A', C)。さらに、それらの終末は、延髄疑核の迷走神経由来のコリン作動性運動神経終末とは異なっていて、食道に内在するNO含有神経細胞に由来することが示唆された⁹⁾。現在までに、食道横紋筋線維上の運動終板に局在する神経終末には、抑制性の神経伝達物質であるNOに加え、galanin (GAL), neuropeptide Y (NPY)(図1B'', C''), methionine-enkephalin (Met-ENK), vasoactive intestinal peptide (VIP)(図1B', C')などの神経ペプチドの存在やこれらとNOの共存も示されており(図1C-C''), これら神経ペプチドを含有する内在性NO含有神経細胞も食道の筋層間神経節に多数分布していることが認められている¹⁰⁾。これらの神経ペプチドの存在が、腸においても多数の神経細胞に認められており、いずれのペプチドも主に抑制的な効果を及ぼすことが証明されている¹¹⁾。従って、これらのペプチドは食道横紋筋の運動終板上のコリン作動性神経終末あるいは横紋筋

線維に対し抑制的に作用し、食道運動の弛緩等に関与することが推測されている⁷⁾。最近、著者らは横紋筋運動終板上にサブスタンスP(SP; 神経ペプチドの一種)含有神経終末を発見した。このSP含有神経終末は上述のペプチド含有神経終末よりはるかに少数であり、NOやAchのどちらも含有していないこと、またほとんどのSP含有神経終末はcalcitonin gene-related peptide (CGRP)を含有すること(図1D, D'), さらには食道壁への逆行性神経トレーサー注入実験の結果、胸部(T8-T10)脊髓神経節に分布する大多数のトレーサーで標識されるSP感覚神経細胞にCGRPが共局在することが判明した¹²⁾。以上の所見から、食道横紋筋運動終板はコリン作動性運動神経、食道内在性神経および脊髓神経節由来の感覚神経の3種類の神経系による入力を受けていることが示唆された。この新事実は、食道横紋筋運動終板が中枢神経や局所神経による運動シグナル情報および感覚神経への感覚シグナル情報を統合する重要な構造であると考えられ、食道横紋筋の神経支配による食道運動に対し、新たな展望を与えているように思える。著者らは、その後免疫組織化学的実験を進めた結果、これらのSP含有感覚神経終末の多くにtransient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)のイオンチャネルが存在するというデータを得ている(図1E, E')。TRPV1は感覚神経に発現し、カプサイシンや酸などによって活性化する事が知られている¹³⁾。運動終板上に局在するコリン作動性運動神経終末は中枢神経からの刺激によってAchを放出し、横紋筋線維を収縮する。放出されたAchは、その後シナプス間隙に局在するアセチルコリンエステラーゼによってコリンと酢酸に分解される¹⁴⁾。TRPV1チャネルは酢酸によっても活性化されるという報告もあることから¹⁵⁾、運動終板上のSP/CGRP/TRPV1神経終末は、Achの分解産物である酢酸に反応する可能性が考えられる。加えて興味深いことに、NOがTRPV1含有神経を活性化することも報告されている¹⁶⁾。これらの事を考え合わせる

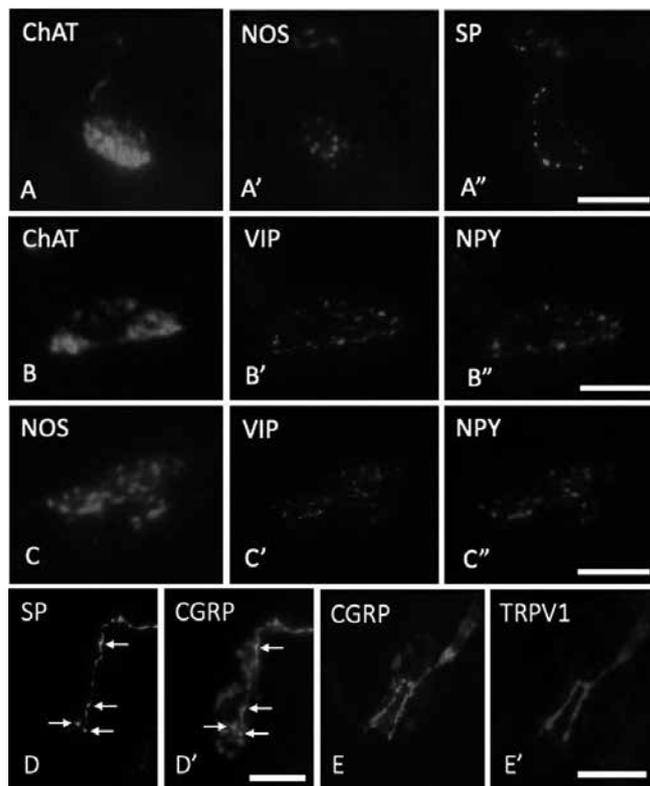


図1

図1の説明

A - A'' : Aは迷走神経の運動神経に由来する choline acetyltransferase (ChAT: アセチルコリン合成酵素) 陽性反応を示す神経終末で運動終板を表す。A' は ChAT 陽性運動終板内に見られる nitric oxide synthase (NOS:NO 合成酵素) 陽性反応を示す食道内在性由来の数珠状神経終末。A'' は ChAT 陽性運動終板に局在する substance P (SP) 陽性感覚数珠状神経終末。これらの陽性反応はそれぞれ異なった神経終末に認められる。

B-B'' : BはChAT陽性運動終板。B' と B'' はそれぞれ運動終板内の vasoactive intestinal peptide (VIP) 陽性数珠状神経終末と neuropeptide Y (NPY) 陽性数珠状神経終末を示す。同じ神経終末にVIPとNPY陽性反

応は見られるが、ChAT陽性反応は認められない。

C-C'' : 同じ数珠状神経終末にNOS, VIPおよびNPYの陽性反応が認められる。

D, D' : Dは運動終板内のSP陽性数珠状神経終末。D' では calcitonin gene-related peptide (CGRP) 陽性反応が迷走神経運動神経に由来する神経終末(運動終板を示す)と別の数珠状神経終末に見られる。後者のCGRP陽性数珠状神経終末はSP陽性反応を示す(矢印)。

E, E' : 運動終板内のCGRP陽性数珠状神経終末に transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 陽性反応が認められる。

全てのスケールバーは20μm.

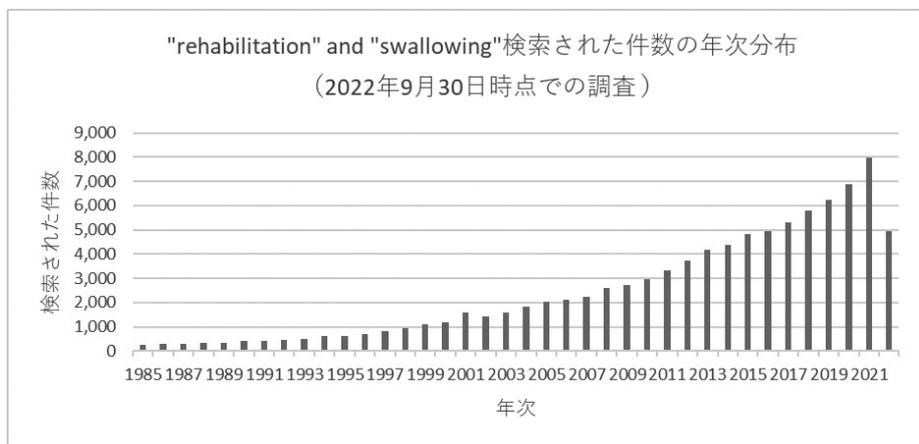


図2

と、運動終板上に局在する感覚神経由来のSP/CGRP/TRPV1神経終末は、延髄疑核由来のコリン作動性運動神経終末から放出されたAchの分解産物である酢酸や内性神経細胞由来のNO含有神経終末から放出されたNOを検知し、それらの放出量をモニターしているのではないかと著者らは想像している。このような食道横紋筋に対する3種類の神経支配におけるシグナル伝達バランスの不均衡が、食道横紋筋の正常な運動機能に影響を及ぼし、結果的に食道の運動疾病の発症を引き起こすのかもしれない。

Ⅲ. 嚥下障害とリハビリテーション

施設入所の認知症高齢者は入所後2年以内に80%が嚥下障害をきたし、50%の入所者は2年以内に肺炎で亡くなっている。「脳の機能の衰え」→「嚥下機能の衰え」→「誤嚥性肺炎」→「死亡」というのが、多くの高齢者にとって人生の最後に起こる医学的な問題となっている¹⁷⁾。Google scholarをつかって、"rehabilitation swallowing"をタイトル又は本文(記事全体)に含む文献を1985年から2022年まで、年次別に検索したところ、検索される件数は近年特に増加傾向にあり(図2, 1985年: 247件から2021年: 7,960件)、世界中の研究者(医療関係者)の関心が高まっていることが明らかである。

従来、嚥下障害のリハビリテーションでは、嚥下にかかわる筋群が注目され、その機能訓練に重点が置かれてきたが、嚥下(摂食を含む)には、聴覚、視覚、嗅覚、味覚、触覚の五感に加え、内臓感覚入力など多くの感覚入力に伴うため、嚥下を担う筋群の間接的な訓練のみでは、決して安定した経口摂取・食事の獲得はできない。さらに、Cheng and Hamdy (2022)¹⁸⁾によると、この20年で、嚥下障害は、対症療法の対象からリハビリテーションの対象となり、神経系の可塑性を促す方法が取られるようになってきている。

温度受容体でもあるTRPV1, TRPV2, TRPM8, TRPA1などのチャンネルが嚥下反射の活

性化に関与する可能性が示唆され¹⁹⁾、口腔や舌に15℃の低温の刺激を加えるとヒトの脳皮質体性運動野の咽頭運動領域の活動を促進することも報告されている^{20, 21)}。上述の温度受容体のアゴニストである「黒胡椒のにおい」刺激や「カプサイシン入り口腔シート」を利用した嚥下リハビリテーション¹⁷⁾や、咽頭寒冷刺激・口腔内アイスマッサージ・顔面アイスマッサージ²²⁾が摂食・嚥下機能訓練に取り入れられ、結果的に咽頭及び食道運動促進に対する効果を上げている。

Ⅳ. まとめ

今回、著者らによる食道横紋筋運動終板上にSP/CGRP/TRPV1神経線維終末が存在するという研究結果、SPを含有する脊髄神経節の感覚神経細胞の多くがTRPV1を発現しているという報告²³⁾やラット食道における多数のSP/CGRP含有神経線維が脊髄神経節の感覚神経細胞に由来している事実¹²⁾を考え合わせると、食道横紋筋運動に対し感覚神経の機能的役割の新たな展望を与えているように思える。この機能的役割を解明することで、嚥下困難・食道運動不全等に対する治療薬の開発や今後の効果的な治療法およびリハビリテーション方針に寄与できることを期待するものである。

Ⅴ. 参考文献

- 1) 藤田恒夫, 藤田尚男: 3章 消化器系. 標準組織学(第4版), 118-150, 2010.
- 2) Watanabe, M., Otake, R., Kozuki, R., Toihata, T., Takahashi, K., Okamura, A. and Imamura, Y.: Recent progress in multidisciplinary treatment for patients with esophageal cancer. Surg Today 50, 12-20, 2020.
- 3) Rechter, J. E. and Rubenstein, J. E.: Presentation and epidemiology of gastroesophageal reflux disease. Gastroenterol 154:267-276, 2018.
- 4) Iwakiri, K., Kinoshita, Y., Habu, Y., Oshima, T., Manabe, N., et al.: Evidence-based clinical practice guidelines for gastroesophageal reflux disease 2015. Gastroenterol 51:751-767, 2016.
- 5) 順天堂大学医学部付属順天堂医院食道・胃外科: 食道疾患 https://www.juntendo.ac.jp/hospital/clinic/shokudo/about/disease/kanja02_01.html (2022年10月27日)
- 6) Cunningham, E.T. and Sawchenko, P.E: Central

- neural control of esophageal motility: A review. *Dysphagia* 5, 35-51, 1990.
- 7) Neuhuber, W.L. and Worl, J.: Enteric co-innervation of striated muscle in the esophagus: still enigmatic? *Histochem Cell Biol* 146, 721-735, 2016.
 - 8) Worl, J., Mayer, B. and Neuhuber, W.L.: Nitrergic innervation of the rat esophagus: focus on motor endplates. *J Auton Nerv syst* 49, 227-233, 1994.
 - 9) Neuhuber, W.L., Worl, J., Berthoud, H.-R. and Conte, B.: NADPH-diaphorase-positive nerve fibers associated with motor endplates in the rat esophagus: new evidence for co-innervation of striated muscle by enteric neurons. *Cell Tissue Res* 276, 23-30, 1994.
 - 10) Worl, J. and Neuhuber, W.L.: Enteric co-innervation of motor endplates in the esophagus: state of the art ten years after. *Histochem Cell Biol* 123, 117-130, 2005.
 - 11) Furness, J.B.: 2. Constituent neurons of the enteric nervous system. *The enteric nervous system* (ed. Furness, J.B.), Blackwell Publishing, 2006.
 - 12) Morishita, R., Yoshimura, R., Sakamoto, H. and Kuramoto, H.: Localization of substance P (SP)-immunoreactivity in the myenteric plexus of the rat esophagus. *Histochem Cell Biol*, Online first article, 2022.
 - 13) カプサイシン受容体TRPV1. 特集「痛み」の研究と治療の最前線. *BRAIN and NERVE* 60巻5号, 493-501, 2008.
 - 14) アセチルコリン, 脳科学事典. <https://bsd.neuroinf.jp/wiki/%E3%82%A2%E382%BB%E3%83%81%E3%83%AB%E3%82%B3%E3%83%AA%E3%83%B3> (2022年10月27日)
 - 15) Wiskur, B.J., Tyler, K., Campbell-Dittmeyer, K., Chaplan, S.R., Wickenden, A.D. and Greenwood-Van Meerveld, B.: A novel TRPV1 receptor antagonist JNJ-17203212 attenuates colonic hypersensitivity in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 32: 557-564, 2010.
 - 16) Park, J., Jin, K., Sahasrabudhe, A., Chiang, P.-H., Haalouf, J.H., Koehler, F., et al.: In situ electrochemical generation of nitric oxide for neuronal modulation. *Nat Nanotechnol* 15, 690-697, 2020.
 - 17) 海老原覚: 嚥下障害のリハビリテーション. *日老医誌*, Vol. 52, 314-321, 2015.
 - 18) Cheng, I. and Shaheen Hamdy, S.: Metaplasticity in the human swallowing system: clinical implications for dysphagia rehabilitation. *Neurological Sciences* 43, 199-209, 2022.
 - 19) Watando, A., Ebihara, S., Ebihara, T., Okazaki, T., Takahashi, H., Asada, M. and Sasaki, H.: Effect of temperature onswallowing reflex in elderly patients with aspiration pneumonia. *J Am Geriatr Soc* 52, 2143-2144, 2004.
 - 20) Magara, J., Watanabe, M., Tsujimura T., Hamdy, S. and Inoue, M.: Cold thermal oral stimulation produces immediate excitability in human pharyngeal motor cortex. *Neurogastroenterol Motil* 30, e13384, 2018.
 - 21) Magara, J., Watanabe, M., Tsujimura, T., Hamdy, S. and Inoue, M.: Lasting modulation of human cortical swallowing motor pathways following thermal tongue stimulation. *Neurogastroenterol Motil* 33, e13938, 2021.
 - 22) 小谷野陽平: 経口摂取の継続により常食摂取が可能となった一例. chrome-extension://efaidnbmnnnibpc ajpcgiclfindmkaj/https://mihara-ibbv.jp/wp-content/uploads/2018/09/h29_st_sinjin_koyano.pdf (2022年9月30日)
 - 23) Guo, A., Vulchanova, L., Wang, J., Li, X. and Elde, R.: Immunocytochemical localization of the vanilloid receptor 1 (VR1) : relationship to neuropeptides, the P2X3 purinoceptor and IB4 binding sites. *Eur J Neurosci* 11, 946-958, 1999.