

選択的近位迷走神経切離術後の胃壁内神経組織の 変化に関する実験的研究

横浜市立大学医学部第2外科教室 (主任: 土屋周二教授)

片 村 宏

選択的近位迷走神経切離術 (selective proximal vagotomy 以下 SPV) を雑種成犬に施行し、術後1年まで神経組織の変化を観察した。

1) 胃体部の単位面積当りの神経節細胞数は SPV 後1週目には有意に減少し、2か月以後には術前まで回復した。

2) SPV 後1週間以内には、胃体部にみられる神経節細胞の多くは軸索傷害反応と類似した変化を示し、可逆的变化と考えられた。

3) SPV 後1週目から4週にかけて胃体部には幼若細胞や神経節の新生さらに AchE 陽性線維の増生がみられ、壁内神経の修復反応と思われた。

4) SPV 後2か月目から胃体部の神経節細胞および神経線維の AchE 活性は亢進し、6か月以降は漸次減少し、1年後では形態的にもほぼ正常となった。前庭部の神経組織では神経節細胞の数の変化や細胞の形態・酵素活性に術後変化はなかった。

Key words: highly selective vagotomy, nerve regeneration after vagotomy, histochemical observation of vagal nerve, enzyme activity of intramural nerves

I. 緒 言

迷走神経切離術 (以下、迷切) は減酸効果により消化性潰瘍の治療に応用されているが、胃壁内神経がどのような変化を起こすかについては十分に明らかではない。迷切後には経過とともに胃運動機能や胃酸分泌機能が変化していく¹⁾²⁾ことが知られており、時に潰瘍再発の原因とされているが、これらと関係が深いと考えられる胃壁内神経の経時的変化を知ることは臨床的に重要である。

ところで各種迷切術のうち選択的近位迷切術 (selective proximal vagotomy 以下、SPV) は1964年 Holle³⁾ によって提唱され、臨床で広く行われているが、これについても上に述べたような胃壁内神経に関する基礎的な問題は解決されていない。そこで著者はイヌに SPV を行い、術後3日目から1年目までの胃壁内神経の形態的变化と酵素組織化学による機能的変化を経時的に検索し、その一端を解明することとした。その結果2~3の知見を得たので報告する。

II. 方 法

a. 体重10.0~14.5kgの雄性雑種成犬35頭を用い、24時間絶食後 pentobarbital-Na 25mg/kg の静脈麻酔下に開腹した。SPV は横浜市大第2外科教室で臨床例に施行されている方法に準じて⁴⁾行い、幽門形成術は付加しなかった。この際、leucomethylene blue により神経枝を確認し、Burge test⁵⁾ を行い切離が十分であることを確認した。なお Burge test は後に胃壁摘出を行うときにも併用した。

術後3日、1、2、4週、2、4、6か月、1年目 (各 n=3) 実験動物を犠牲死させ、胃を摘出し、胃体部・前庭部の小弯・大弯側から計4か所の胃壁全層を採取し以下の検索を行った。

b. 組織学的検討

1. 組織学的検索

10%ホルマリン固定、パラフィンで包埋後3 μ の組織切片を作成した。

1) hematoxylin eosin 染色

2) cresyl violet 染色: 神経節細胞の Nissl 小体の観察

3) methylgreen pyronine 染色: RNA 合成能の観

<1990年6月13日受理> 別刷請求先: 片村 宏
〒232 横浜市南区浦舟町3-46 横浜市立大学第2外科

察

2. 酵素組織化学的検索

検体を摘出後速やかに4℃の8% sucrose 加 phosphate buffer (0.06M, pH 7.4) で洗浄後, Zamboni 固定液で6時間浸漬固定し, sucrose 加 phosphate buffer saline で洗浄しドライアイスアセトンで凍結包埋し, 厚さ6 μ の凍結切片を作成した。

1) acetylcholinesterase (AChE) 染色

Karnofsky & Roots の変法⁶⁾に従い, acetylthiocholine iodide を基質とする反応液に4℃, 2.5時間反応させたのち通常の脱水透徹を行い胃壁内 AChE の局在と活性を光顕的に観察した。

2) pseudocholinesterase (PchE) 染色

Karnofsky & Roots の変法に従って butyrylthiocholine iodide を基質とする反応液で処理し染色し, PchE (enteroglia 細胞や筋線維細胞のマーカーとなる) の局在と活性を観察した。

3) acid phosphatase (APase) 染色

Barka らのナフトール AS 法⁷⁾を用い染色し APase (神経節細胞の lysosome のマーカーとなる) の局在を観察した。

4) nicotinamide adenine nucleotide, reduced dehydrogenase (NADH-D) 染色

Tetrazolium 塩を用い酵素反応で還元されたホルマザンの局在の変化によりミトコンドリアの電子伝達系の脱水酵素である NADH-D 活性を間接的に観察した。

3. 電子顕微鏡的検索法

検体を4℃の4% paraformaldehyde, 1% glutaldehyde 混合固定液 (0.06M phosphate buffer, pH 7.4) で30分間固定後 Karnofsky & Roots の変法に従い, acetylthiocholine iodide を基質とする反応液に30分間反応させた後, 電顕標本を作成し, Hitachi HS-9 透過型電子顕微鏡 (加速電圧80KV) で観察した。

3. Auerbach 神経叢および筋層内神経節細胞数

術前および術後1年までの各時期に得られた各検体を凍結切片とし漿膜側から約10 μ の凍結切片を作成し, この切片の5枚毎に1枚を採取し, AChE あるいは NADH-D 染色を施した。これらについて videoimage processor を用い神経叢の面積を計測し, その単位面積当りの神経節細胞数を求めた。

なお検定は Student's t-test を用い $p < 0.05$ を有意差とした。

III. 成績

1. 正常対照犬の胃壁内神経

1) 組織学的所見

従来の報告⁸⁾と同様に筋層間および粘膜下層には大小細胞からなる神経節がみられ, この周囲の glia 細胞・神経線維とともに神経叢を形成していた。中枢に比べ神経細胞の Nissl 小体は不明瞭であるが pyronine では良好に染色され, いずれも部位や細胞ごとの差はみられなかった。

2) 酵素組織化学的所見

① AChE 活性

褐色を呈する AChE 陽性のコリン作動性線維が胃壁全層にみられた。小弯側の漿膜下層では胃体部・前庭部とも主として迷走神経の節前線維と思われる AChE 陽性の太い神経束が観察された。また大弯側には大網からも AChE 陽性の微細線維が胃壁内に進入していた。胃壁内に到達したこれらの線維は外縦走筋と内輪状筋の間を蛇行しながら粘膜下層にはいり, 粘膜固有層を縦走していた。

粘膜固有層の AChE 陽性線維は胃体部では固有胃腺に沿って粘膜先端部まで認められたが, 前庭部では粘膜先端部まで認められたが, 前庭部では粘膜の基底側1/3~1/2に局限しその活性は胃体部に比べ弱かった。

両筋層間には太い神経線維が豊富で AChE 陽性の神経節細胞や PchE 陽性の enteroglia 細胞などとともに Auerbach 神経叢を形成していた。神経叢内では個々の線維の活性は一定ではなく, 所々で瘤状に活性の増加が観察された。

壁内神経叢内の神経節細胞は突起を持ち, 互いに連絡し合いその細胞質内には AChE 陽性の褐色の微細顆粒が充満していた。神経節細胞には大型 (径25~35 μ) のものと小型 (径14~20 μ) のものがあり, 両者の AChE 活性には差はなかった。神経叢は幽門輪に近いほど神経節細胞が多く, 神経線維も密であった。しかし基本的な構造や AChE 活性には部位による差はなかった。

筋層内では胃体部・前庭部とも筋線維の走行に沿って AChE 陽性線維がこれを取り巻くように配列していた。

また粘膜下層には小型の神経節細胞からなる Meissner 神経叢が存在し, ここでの AChE 活性は Auerbach 神経叢と同様に部位による差を認めなかった。

② PchE 活性

筋層とくに外縦走筋に活性が高く、部位により差は認めなかった。また Meissner, Auerbach の両神経叢では胃のどの部位でも neuropil (基質) の enteroglia 細胞に活性が高く、神経節細胞周囲に褐色の輪を形成していた。

③ APase 活性

壁内神経節細胞体に淡い赤色顆粒として認められたが、観察部位により活性に差はなかった。また神経線維に活性はなかった。

④ NADH-D 活性

胃壁内神経筋細胞は部位に関わらず均一に濃紺を呈し、この酵素の局在を示した。周囲の enteroglia 細胞はほとんど染色されず前者とは容易に区別された。神経線維はまったく染色されなかった。

小括 I

① 胃の外来神経のうちコリン作動性神経は小弯からはいるものが多かったが、大弯からも進入するものが少数あった。

② 胃壁内神経叢の神経節細胞には AchE 活性が高く、enteroglia 細胞には PchE 活性が高かった。

③ 神経節細胞では NADH-D 活性が特に高かった。

④ 神経節細胞では APase 活性が高く、エネルギー代謝が盛んであることを示した。

2. SPV 後の変化

1) 組織学的変化

A. 胃体部

術後まもなく胃壁は全層にわたって肥厚し、間質には微細な出血巣が散在し多形核白血球や貪食細胞が多数浸潤していた。変化は術後4週まで持続し3日目から1週で最も激しかった。術前に比べ術後3日目にはすでに両神経叢の神経節細胞は減少しさらに1週では著しい細胞数の減少が観察された。また神経節細胞の周囲には多数の貪食細胞が浸潤していた。この間観察できた神経節細胞は膨化し、核の偏位や細胞質での好塩基性の染色性は低下した。同時に少数ながら神経突起の消失と40 μ を越える著しい膨化を示す細胞も観察され、この細胞では好塩基性の染色性は著しい低下をみとめた。また術後1週目の Auerbach 神経叢にはすでに2つの核小体や2核の異型神経節細胞がしばしばみられたが(Fig. 1)、炎症所見の消退とともに4週目には消失した。

4週頃には神経節細胞の多くは正常細胞と同様の形態を示し、好塩基性は回復した。同じ頃から筋層内では神経節細胞様の細胞が神経線維に沿い(Fig. 2)、時

Fig. 1 Amitotic cell division in the myenteric plexus. (7 days postope., fundus)
a. AchE staining. b. cresylviolet staining.

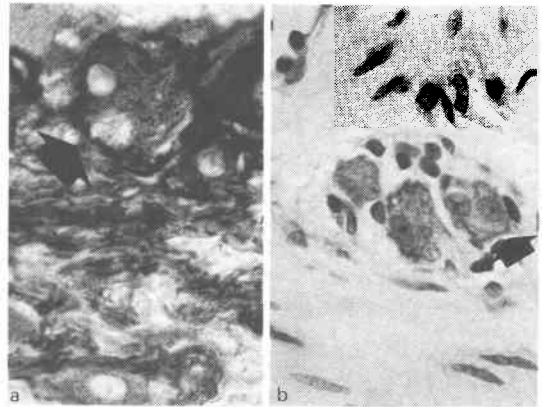
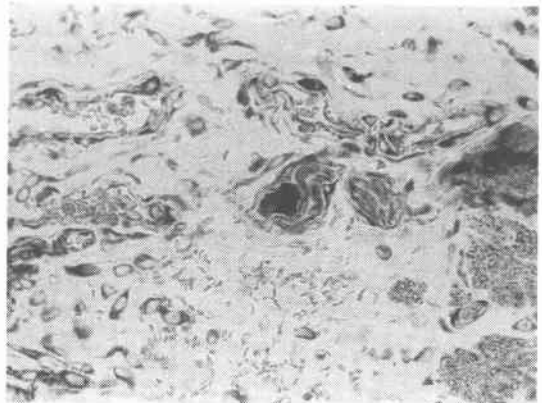


Fig. 2 Immature cell with NADH-D activity along the connecting strands. (4 weeks postope., fundus)



に神経周膜の内側に観察された(Fig. 3)。2か月頃になると筋層内にも小神経節が多数観察された。同じ頃 Auerbach 神経叢には直径40 μ を越える肥大した神経節細胞が時にみられたが、6か月以降では観察されなかった。ただし Auerbach, Meissner 両神経叢の観察頻度には SPV の前後で明かな変化はなかった。

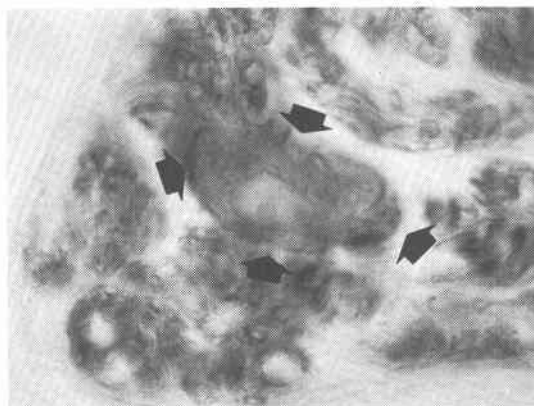
以上の各所見はいずれも小弯側の方が顕著であった。

神経節細胞の methylgreen pyronine に対する染色性は、SPV 術後2週目まで著しく減弱し RNA の合成の低下を示した。しかし2か月になると染色性はかえって増強し1年まで持続した。

B. 前庭部

SPV 後 2 週までは胃壁の肥厚と軽度の炎症所見をみとめたが、神経組織の基本構築に変化はなく、異型神経細胞や肥大神経節細胞も観察されなかった。神経節細胞の methylgreen pyronine の染色性は 3 日目にやや低下したが、1 週目から回復した。

Fig. 3 Immature cell within the nerve bundles. The arrow shows the cell with AchE activity. (4 weeks postope., fundus)



2) 酵素活性の変化

A. 胃体部の神経線維

術後 3 日目に小弯側の漿膜下層、筋層および粘膜下層の切離部より末梢の節前線維では AchE の活性は消失し、同時に APase 活性は増強し、棍棒状肥大(いわゆる類球体)も観察された。同時に胃壁全層で神経線維の AchE 活性は低下し、微細な線維では網目様構造が不明瞭となり、太い神経線維束は膨化し、細い線維ごとに分かれ、蛇行や一部に断裂がみられた。このような変化は 1 週目で顕著で、4 週まで持続したが以後消失した。しかし大弯側ではこのような変化はなかった。

B. 胃体部の神経叢・神経節細胞

節前線維の変性ととともに神経叢の AchE 活性も低下したが完全に消失することはなかった。

術後 3 日目には胃体部の神経節細胞は減少した。この時期残存した細胞は大半が大型で核の偏位、細胞質の膨化と顆粒構造の消失したものが最も多く、この細胞では AchE 活性の低下と、APase 活性の上昇をみとめ (Fig. 4), NADH-D 活性は良好であった。一部の膨化した細胞や小型の神経節細胞では術前後で AchE・APase 活性の変化はなく、これらの細胞では

Fig. 4 APase on the ganglionic cells of fundic Auerbach's plexus.

a. control, b. 3 days postope. The number of the ganglionic cells decreased significantly. The arrow shows degenerated cell without any enzyme activity. c. 3 days postope. The arrow shows two nucleolar cell. d. 7 days postope. APase activity increased more remarkably than before.

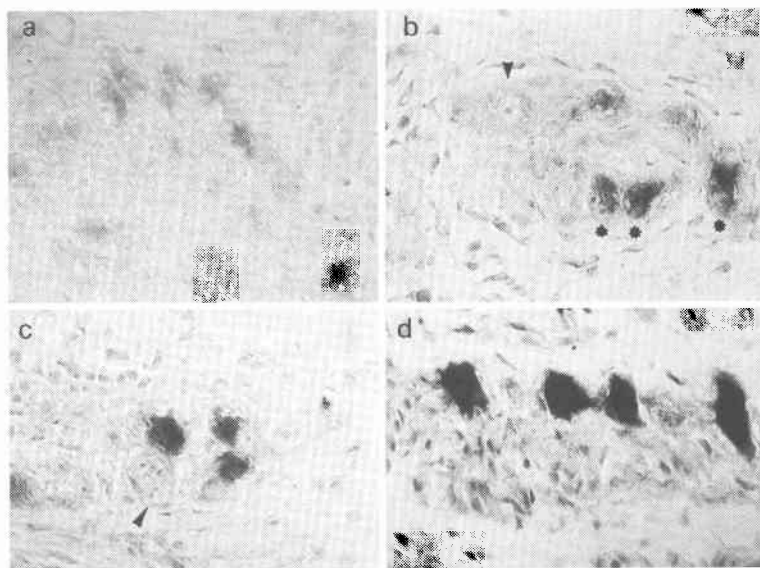
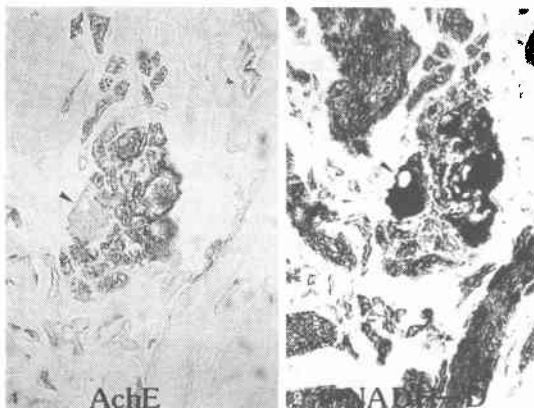


Fig. 5 Myenteric ganglia in fundic region (3 days postope.). A ganglionic cell with polar dislocation of nucleus showing weaker AchE (1) and higher NADH-D (2) activity is noted (arrow).



NADH-D 活性も良好であった (Fig. 5)。一方同時に神経突起を欠き直径が 40μ と著しく球状に変形・膨化した細胞がわずかに観察され、NADH-D を含むすべての酵素活性が消失していた。

術後1週になると神経叢の観察頻度には明かな変化はなかったが、これらを構成する神経節細胞は著しく減少した。残った細胞の多くは3日目と同様の形態をとるが APase 活性は著しく上昇し、NADH-D 活性も良好に認められた。またこの時期に神経節細胞のうち球状に変形し、酵素活性が消失したものは極めて少なく、1週以後では観察されなかった。小型細胞には3日目と同様に変化はなかった。

術後1週から4週にかけて Auerbach 神経叢にあらたに出現した異型細胞や分裂像を示す細胞では明かな神経突起を認めず、AchE・APase 活性はいずれも通常の神経節細胞に比べ弱かったが、明瞭な NADH-D 活性を示した。

同じ頃神経叢の enteroglia 細胞は増生し、PchE 活性は著しく増強した。光顕的には神経節細胞の周囲に太く濃い褐色の輪として観察され、この状態は1年まで持続した。

術後2週から4週では細胞の膨化と AchE 活性の低下を示す神経節細胞はさらに減少した。代わって AchE 活性と顆粒構造の回復が一部の細胞で観察され、ここでは APase, NADH-D 活性はともに高かった。また enteroglia 細胞の作る鞘の中に新たに出現した細胞は通常の形態と酵素活性を示した (Fig. 6)。

Fig. 6 Two AchE positive cells encircled by enteroglia cells in the myenteric plexus. —2 weeks postope., fundus—

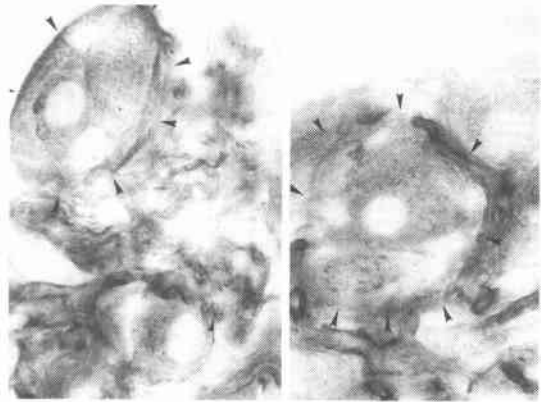
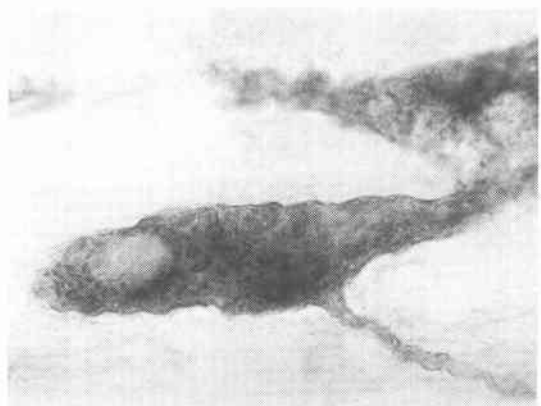


Fig. 7 Hypertrophied ganglionic cell exhibited higher AchE activity and had some processes.



4週では時に神経線維に沿った神経節細胞の遊走がみられた。この細胞の NADH-D 活性・AchE 活性は正常細胞と同様に良好であり (Fig. 2, 3)、神経線維も NADH-D 活性を示した。

術後2か月には神経叢の神経節細胞は増加し、ほとんどの細胞で AchE 活性と細胞内顆粒の回復が起こり、細胞の膨化や幼若化細胞は観察されなくなった。また小弯側で時に観察された肥大神経節細胞では AchE 活性は極めて高く (Fig. 7)、同時に APase, NADH-D 活性もともに良好に認められた。同時に筋層に小神経節が出現したが、ここでも正常の神経節細胞と同様に明瞭な AchE 活性を認めた。

6か月以降には神経叢の神経節細胞の AchE, APase 活性はともに良好で、形態的にも正常となり肥

Fig. 8 PchE in the muscular layer the second month after HSV.

1—fundic region of the lesser curvature. 2—fundic region of the greater curvature. 3—antral region of the lesser curvature.

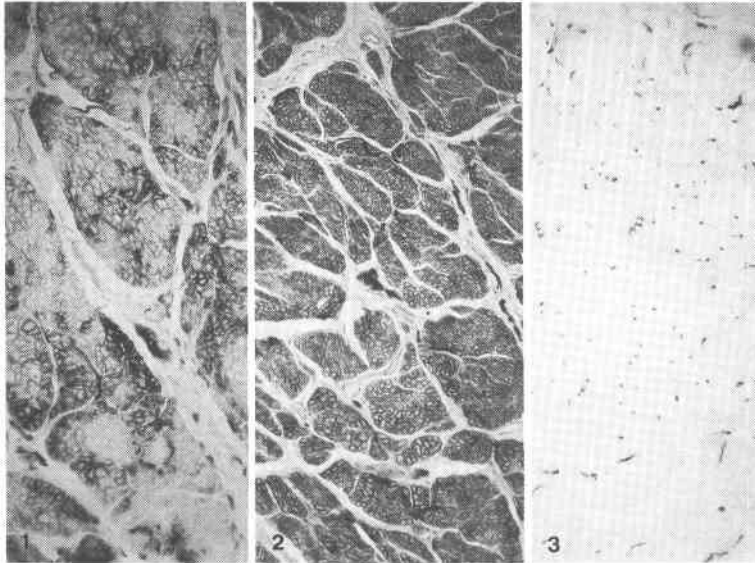


Table 1 Histological findings in the fundic region after highly selective vagotomy.

	3day	1st week	2nd week	4th week	2nd month	6th month	12th month (postoperative)
inflammation, edema	⊙	⊙	○	○	-	-	-
axon reaction	⊙	⊙	○	○	-	-	-
transneuronal reaction	○	○	-	-	-	-	-
amitotic change immature ganglion cell	-	⊙	○	○	-	-	-
proliferation of enteroglia cells	-	⊙	⊙	○	○	○	○
immature cell within the nerve bundle	-	-	-	⊙	-	-	-
new ganglia of muscularis propria	-	-	-	-	⊙	⊙	○
hypertrophied cell ganglion cell	-	-	-	-	⊙	○	-
hyperinnervation	-	-	-	○	⊙	○	-

⊙ : present in every specimen
 ○ : present occasionally
 - : absent in any specimens

Table 2 The postoperative changes of enzyme activity in the fundic region

	control	postoperative 1st week	2nd week	2nd month	6th month	12th month
ganglionic cell						
AchE	-	↓ or N.D.*	↘ or ↓†	↔ or ↑**	↑	↔
APase	-	↗ or N.D.*	↑ or ↗†	↑	↑	↑ or ↔
NADH-D	-	↔ or N.D.*	↗ or ↑†	↗	↗	↗ or ↔
enteroglia cell						
PchE	-	↗	↗	↗	↗	↗
propria muscularis						
AchE	-	↓	↘	↗**	↗**	↔
PchE	-	↓	↘	↗**	↑**	↑

N.D. : absent
 * : transneuronal reaction
 † : immature ganglion cell
 ‡ : hypertrophied cell
 ** : hyperinnervation

大細胞もみられなくなった。その後1年では対照と明かな差を認めなかった。

以上の変化をまとめると **Table 1, 2** のようになった。またこのような変化は大弯側に比べ小弯側で顕著であり、Meissner 神経叢でも同様の傾向を示した。

C. 胃体部の固有筋層

術後3日目には筋層内の神経線維の AchE 活性は低下したが、APase, PchE 活性には明かな変化はなかった。この傾向は4週目まで同様に認められた。

術後4週頃から筋層内の AchE 陽性線維は対照に比べ数・活性ともに高まり、2か月では極めて多数の線維を認めた(いわゆる hyperinnervation)。また同時に PchE 活性は4週頃から増強し、2か月でピークとなり、とくに大弯側の外縦走筋層で最も高く、hyperinnervation の部位に一致していた。小弯側の筋層の PchE 活性も増強したが一部は斑状に染色されなかった (**Fig. 8**)。このような傾向は1年まで続いた。

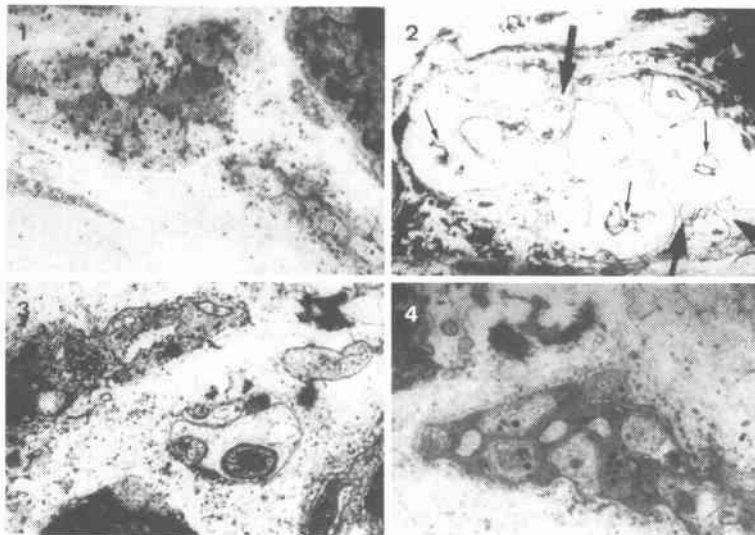
一方 AchE 陽性線維は6か月にはやや減少し1年では対照と差がなかった。

D. 前庭部

術後節前線維の変性はなく、小弯の近位側で術後3日目に神経節細胞の膨化と AchE 活性の低下、APase

Fig. 9 The ultrastructural findings of nerve fibers on the fundic region in control (1) and vagotomized (2, 3, 4) dogs.

1. control, 2. 7 days postope. The ballooning and the destruction of axoplasmic structure are noted (small arrow). The rest of axons seems normal in appearance (large arrow). 3. 2 weeks postope. Most of axons became nearly normal in appearance. 4. Most of axons did not differ from those of the control.



上昇をみとめたが、2週目にはほぼ正常に復帰し、以後変化はなかった。

筋層では1週目からAchE陽性線維の数・活性はともに増加し、その後2か月でhyperinnervationを呈したが胃体部に比べると軽度であった。またPchE活性は術後4週から2か月にかけて近位側で軽度の亢進をみとめる以外に変化はなかった。6か月以後では対照と差をみとめなかった。

3) 電子顕微鏡的観察

A. 神経線維

SPV 3日目には胃体部小弯の粘膜固有層から漿膜下層までの大部分の節前神経線維は変性し、ballooning、軸索形質の崩壊、オスミウム好性小体の出現が観察された。なお電頭上小胞をもち正常とみられるコリン作動性神経線維も少数観察された。その後2週を境に変性線維は減少し4週ではみられなくなった (Fig. 9)。

B. Auerbach 神経叢の神経節細胞

SPV 後3日目から胃体部のAuerbach神経叢にも変性した軸索終末がところどころに観察された。このような変性軸索は大型細胞とシナプスを形成し、小型の細胞にはシナプスはなかった。膨れ腫大した神経節

細胞では光顕的にNissl小体に相当する粗面小胞体の層状配列は消失し、遊離型のribosomeおよびsecondary lysosomeに相当するdense bodyは増加した。しかしミトコンドリアやほかの細胞内小器官には変化を認めなかった (Fig. 10)。また腫大した神経節細胞をentrogia細胞が幾重にも取り囲んでいた。以上の形態的变化は4週以降は観察されなくなり、正常化した。

前庭部では各時期とも神経節細胞は正常と明かな差を認めなかった。

4) Auerbach 神経叢および筋層の神経節細胞数

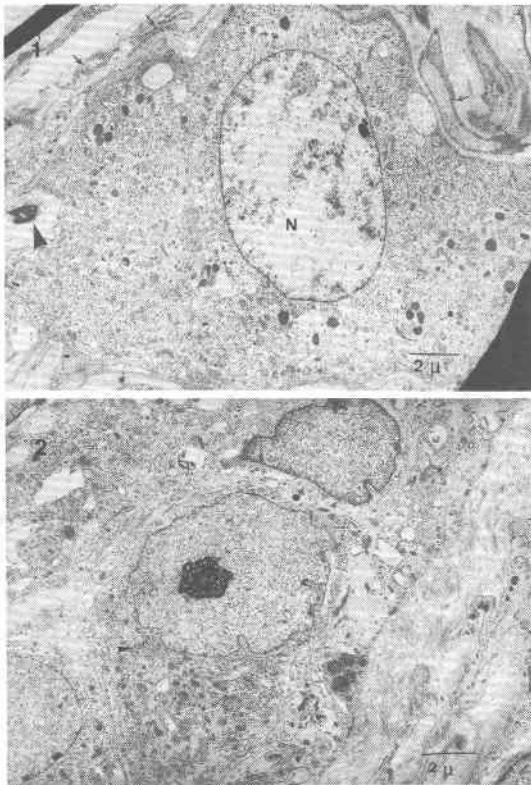
胃体部小弯の神経節細胞数は正常対照 $6,325 \pm 1,016/\text{cm}^2$ に対し、SPV 1週目では $3,070 \pm 328/\text{cm}^2$ となり有意 ($p < 0.01$) に減少した。2か月目では1週に比べ有意に増加し $4,671 \pm 439/\text{cm}^2$ となり正常と差を認めなかった。さらに1年後は $5,223 \pm 891/\text{cm}^2$ でやはり正常と差がなかった。

胃体部大弯では対照 $5,231 \pm 901/\text{cm}^2$ に対し術後1週は $6,201 \pm 1,662/\text{cm}^2$ (N.S.)、1年後は $6,009 \pm 872/\text{cm}^2$ で明らかな変化を示さなかった (N.S.)。

前庭部では小弯・大弯はそれぞれ対照では $6,240 \pm 801/\text{cm}^2$ 、 $7,031 \pm 711/\text{cm}^2$ であり、術後1週では $6,097 \pm 1,192/\text{cm}^2$ 、 $6,934 \pm 753/\text{cm}^2$ 術後1年ではそれ

Fig. 10 The ultrastructural findings of myenteric ganglion cells in vagtomized (1) and control dogs (2).

1. 7 days postope., fundus. The dispersion of Nissl bodies and increment of dense bodies and degenerated axon terminals were noted (arrow).
2. control. Any degenerative change of organells were not detected.



それぞれ $7,207 \pm 672/\text{cm}^2$, $7,381 \pm 1,080/\text{cm}^2$ で増減は明らかでなかった (N.S.) (Table 3).

なお Meissner 神経叢は胃体部では数が極めて少ないため、ここでの神経節細胞数の算定は行わなかった。

小括 II

① SPV 後 1～2 週目に観察された神経節細胞には胃体部のものを中心に細胞の膨化・AchE 活性の低下・APase 活性の上昇を認めた。しかし NADH-D 活性は良好に観察され細胞内小器官の変性はなかった。

② 胃体部の神経節細胞や神経線維の大部分では AchE 活性は早期に低下し、2 か月以後に亢進し、その後正常に回復した。

③ 胃体部小弯側の単位面積当りの神経節細胞数は 1 週で有意に減少した。術後 4 週までに神経叢には幼

Table 3 The number of ganglionic cells/cm² ganglionic field following highly selective vagotomy number/cm² ganglionic field (MEAN ± S.E.)

	fundic region		antral region	
	lesser cur.	greater cur.	lesser cur.	greater cur.
control	6325 ± 1016	5231 ± 901	6240 ± 801	7031 ± 711
postoperative 1st week	3070 ± 328*	6201 ± 1662	6097 ± 1192	6934 ± 753
2nd month	4671 ± 439†*	6507 ± 1776	6993 ± 1374	7125 ± 1206
12th month	5223 ± 891	6009 ± 872	7207 ± 672	7381 ± 1081

* P < 0.01 vs control
** P < 0.01 vs control
† P < 0.01 vs 1st week

若細胞の出現、神経線維に沿った細胞の遊走、神経節の新生がみられ、神経節細胞の APase 活性は高く、RNA 合成も亢進していた。2 か月になるとこのような変化はみられなくなり、神経節細胞数も術前値まで回復した。

IV. 考 察

迷切後の胃壁内神経組織の変化は迷切自体の作用機序、迷切に伴う胃の機能の変化、迷切後の消化性潰瘍の再発の機序などを知るために極めて重要で基本的な命題であるが、不明の点が少なくない。これらは SPV についても同様であり、今回著者はイヌに SPV を行い、胃の神経組織の形態的・機能的な変化を主として酵素組織化学的に長期にわたり観察し、これを解明しようと考えた。

今回検討した酵素のうち AchE は迷走神経および壁内神経系の主要成分であるコリン作動性神経の伝達物質のアセチルコリン (Ach) を特異的に分解する酵素である。その局在は Ach の合成酵素である choline acetyl-transferase (以下、chAc) とよく相関し⁹⁾、両者は神経細胞の中で共存¹⁰⁾するとされ、現時点で AchE 活性を認める線維はほぼコリン作動性神経と同定してよいといわれている。また AchE 活性はコリン作動性神経の機能状態を反映し¹¹⁾¹²⁾、神経細胞の成熟分化によって上昇する¹³⁾。そこで著者は AchE の活性の変化により SPV 後の胃壁内神経の局在と機能の変化をうかがうこととした。

つぎに PchE は AchE に比べ Ach の分解速度は劣るが、コリン作動性神経の機能が亢進して Ach が高濃度に存在する状況下では Ach を局所的に分解する¹⁴⁾という。また組織化学的には胃では筋層とくに外縦走筋層¹⁵⁾に、神経叢では enteroglia 細胞¹⁶⁾に活性が高く、このため本酵素の局在と活性から enteroglia 細胞

の数や機能を観察することが可能である。

さらに今回検討した APase は lysosome の中に存在し、脱リン酸酵素として細胞機能維持のためリン酸基の放出にあずかり¹⁷⁾、傷害後の修復期にある神経節細胞では活性が増強する¹⁸⁾。また NADH-D はミトコンドリア内の電子伝達系の脱水素酵素であり、神経細胞体で活性が高く、退行変性や壊死にいたる過程では消失し、修復過程では活性の上昇がみられるという。このような酵素活性の観察のほかさらに著者は超微形態の所見を加え SPV 後の胃壁内神経系を観察した。

一般に神経線維の切離によって神経細胞体ではさまざまな変化がみられる。中枢神経系の神経核では脳神経線維の切離後、軸索傷害反応 axon reaction と超ニューロン性細胞反応 transneuronal reaction という 2 種類の反応が観察される。前者は軸索切離後に神経細胞体でみられる反応で、古くから、central chromatolysis として知られていた¹⁹⁾。形態的には細胞の腫大、核の偏位・好塩基性染色性の低下と同時に細胞質の APase 活性の上昇と AchE 活性の低下を伴うという。このような反応を示す細胞は変性・壊死せず傷害後の修復過程にあると考えられている¹⁸⁾。今回 SPV 後に胃体部で早期に観察された神経節細胞はこれと類似のものと思われた。後者はシナプスで結合した軸索の傷害にともない末梢の神経細胞が変性壊死する不可逆性の変化で、細胞体の酵素活性は消失し、超微形態的にも ribosome の再生をみとめず、ミトコンドリアなどの小器官も変性する²⁰⁾。もし胃壁内神経でも SPV による節前線維が切離され神経節細胞が transneuronal reaction を起こせば速やかに変性壊死にいたるものと考えられるが、今回の標本にはきわめて少数しか観察できなかった。

しかし今回実際に胃体部の神経節細胞数を数えてみると、SPV 後 1 週目に細胞数は著しく減少していた。これは迷走神経の節前線維の切離、血管切離²¹⁾さらに交感神経枝の切離²²⁾²³⁾などの影響が加わり速やかに多数の神経節細胞の傷害・変性壊死を生じたものと思われた。

ただし実際にはこのような変化は SPV 後 3 日以内の極めて早期に起こった可能性があり、3 日および 1 週後胃体部で観察できた神経節細胞は大半が酵素活性を保持し、電顕所見でも axon reaction に似た可逆性の変化を示し、組織化学的に不可逆性変化を起こした細胞が少なかった。

ところで中枢神経系では神経細胞の変性にともない glia 細胞が増殖し、その酵素活性が亢進する²⁴⁾²⁵⁾と報告されている。同様に胃壁内神経についても今回の結果からみると胃体部では SPV 後早期に AchE 活性の低下と神経叢の PchE 活性の上昇がみられ、enteroglia 細胞の増殖あるいは細胞機能の亢進によるものと思われた。

迷切後の胃壁内 AchE 活性についてはいろいろの報告があり、増強¹¹⁾、低下¹²⁾¹⁶⁾または不変²⁶⁾など一定していない。今回の観察では SPV 後早期に節前線維の AchE 活性は消失し、胃体部の神経節細胞の AchE 活性は減弱したが、4 週目には一部の細胞で回復がみられ、2 か月を過ぎると活性は逆に上昇した。同時に筋層や漿膜下層では小神経節が新たに出現し胃体部での神経節細胞数は術前値に回復することが証明された。また神経叢でも AchE 活性の極めて強い肥大神経節細胞が頻りに観察され、筋層は肥厚し AchE 陽性線維も増しいわゆる hyperinnervation の所見を呈した。このような所見は環境の変化に対する壁内神経系の機能亢進²⁷⁾を示唆するものと思われる。しかしこの活性の上昇は持続せず、6 か月・1 年では正常対照と差を認めなかった。このように SPV 後の胃体部の神経細胞と神経線維の AchE 活性は全体として早期に低下、ついで上昇さらに回復し、術後長期の経過にともなって変化していくことが確認された。

なお今回の観察では 2 か月を過ぎると胃体部の筋層では AchE 陽性線維の増生とともに平滑筋細胞膜上で PchE 活性の上昇が観察された。このような胃体部筋層での PchE 活性の上昇は胃壁内神経の機能亢進による Ach の放出増加に対してこれを処理するため平滑筋細胞で産生が亢進したためと推測された。

SPV 後迷走神経の機能の回復の原因としては壁外神経断端からの新たな線維の再生と前庭部の壁内に残った節前線維から新たに線維が伸びて (sprouting)、胃体部を再支配²⁸⁾するためと考えられている。しかし今回の観察からは外来線維と壁内神経節との連絡を示唆する所見は得られず、また手術による神経遮断が十分なことが Burge test で確認されており、筋層内の AchE 陽性線維の増生は胃壁内神経組織に由来し、機能亢進を示したものと尾われた。

さらに今回の観察では neuroblast の動員¹⁶⁾などによる壁内神経細胞の再生を示す所見が得られた。腸管の神経節細胞は中枢神経組織に比べ極めて再生能に富むと考えられており²⁹⁾、今回観察されたような胃壁内

神経の再生には変性線維から放出された何らかの体液性因子²⁸⁾, nerve growth factor, 胃体部血流の回復²¹⁾などが関係すると思われるが詳細は不明である。

以上のように今回の研究からSPV後、胃体部の壁内神経組織では一過性の減少、機能低下これにつづく再生、機能亢進がみられるが術後1年には数的・形態的・機能的にもほぼ術前に回復することがあきらかとなった。

本論文の要旨は第30回日本消化器外科学会総会(1987, 7東京), 第88回日本外科学会総会(1988, 3), 第17回迷切研究会(1988, 3愛媛), 第18回胃外科研究会(1989, 3東京)にて発表した。

稿を終えるにあたり本研究に関し御指導, 御校閲を賜りました土屋周二教授に深甚なる謝意を捧げるとともに, 終始御指導, 御助言頂きました杉山 貢助教授に深謝致します。

文 献

- 1) Kelly KA: Effect of gastric surgery on gastric motility and emptying. Edited by Akkermans LMA, Jonson AG, Read NW, Gastric and Gastrointestinal Motility. Praeger Scientific, New York, 1984, p241—262
- 2) Gorey TH, Lennon F, Hefferman S: Highly selective vagotomy in duodenal ulceration and its complications. *Ann Surg* 200: 181—184, 1984
- 3) Holle F: Form und fuctionsgerechte Operation. Ein Grundsatz moderher Ulcuschirurgie. *Langebecks Arch Klin Chir* 309: 205—223, 1965
- 4) 土屋周二: 十二指腸潰瘍に対する選択的迷走神経切離術. *外科診療* 21: 138—141, 1979
- 5) Burge H, Vane JR: Method of testing for completeness nerve section during vagotomy. *Br Med J* 1: 615—618, 1958
- 6) Karnofsky MJ, Roots L: A direct coloring thiocholine method for cholinesterases. *J Histochem Cytochem* 12: 219—221, 1964
- 7) Barka T, Anderson P: Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. *J Histochem Cytochem* 10: 714—753, 1962
- 8) Gershon MD: The enteric nervous system. *Ann Rev Neurosci* 4: 227—272, 1981
- 9) Hetnarski B, Wisniewski HM, Iqbal K et al: Regional distribution of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase inh rabbit brain. *Neurochem Res* 5: 385—395, 1980
- 10) Koike H, Nagata Y: Intra-axonal [³H]-acetylcholine and [³H]-aminobutyric acid in a neuron of aplysia. *J Physiol* 295: 397—417, 1979
- 11) 小島一雄: 各種迷切術後の胃壁内自律神経分布の形態的变化と組織内 ChE 活性ならびに酸分泌の変動に関する実験的研究. *日外会誌* 85: 1274—1287, 1984
- 12) 中村正彦, 織田正也, 土屋雅春ほか: ラット腺胃部胃粘膜微小循環系の自律神経支配. 第2報. 副交感神経, 特に acetylcholinesterase 活性の局在. *自律神経* 19: 27—35, 1982
- 13) Ito Y, Sohma S, Hirano H: Light- and electron-microscopic studies on acetylcholinesterase activity in Auerbach's plexus of the developing rat colon. *Histochemistry* 81: 209—212, 1984
- 14) Clithew JW, Mitchard M: The possible biological function of pseudocholinesterase. *Nature* 119: 1000—1001, 1963
- 15) 宇尾野公義: 酵素組織化学. 武内忠男, 清水信夫, 小川和朗編. acetylcholinesterase および cholinesterase, 朝倉書店, 東京, 1967, p264—284
- 16) Lolva I, Atanassova E: Histochemical study of the myenteric plexus following gastric resection. *Z Mikrosk Anat Forsch Leipzig* 96: 237—288, 1982
- 17) Lavelle A, Lev C, Lavelle F: Acid phosphatase activy as related to nucleic acid sites in the nerve cell. *Anat Res* 119: 305—323, 1954
- 18) Nandy K: Histochemical study on chromatolytic neurons. *Arch Neurol* 18: 425—434, 1968
- 19) Nissl F: Ueber die Veränderungen der Ganglienzellen am Facialiskern des Kaninchens nach Ausreissung der Nerven. *Allg Z Psychiat* 48: 197—198, 1892
- 20) Mathews MR, Powell TPS: Some observations on transneuronal cell degeneration in olfactory bulb of the rabbit. *J Anat* 96: 89—102, 1962
- 21) 衛藤俊二: 選択的迷走神経切離術のラット胃粘膜血流に対する影響. *日外会誌* 90: 377—386, 1989
- 22) Murobayashi T, Mori J, Fujiwara M et al: Fluorescence histochemical demonstration of adrenergic nerve fibers in the vagus nerve of cats and dogs. *Jpn J Pharmacol* 18: 285—293, 1968
- 23) 野見山世司, 竹田 靖, 伝 俊秋ほか: 幹迷切ラットにおける胃壁内 Catecholamine fiber. 消化管ホルモン研究会編. 消化管ホルモン V, 医学図書出版, 東京, 1985, p73—77
- 24) Torvik A, Skjorten F: Electron microscopic observations on nerve cell regeneration and degeneration after axon lesions. (II) Changes in the glial cells. *Acta Neuropathol* 17: 265—282,

- 1971
- 25) Kreutzberg GW: DNA metabolism in glial cells during retrograde changes. Edited by Lodin Z, Ross SPR. *Macromolecules and the Function of the Neuron*. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1968, p51-57
- 26) 三島秀雄: 迷走神経切離による胃壁内神経に及ぼす影響. 日外会誌 82: 237-251, 1981
- 27) Okada A, Okamoto E: Myenteric plexus in hypertrophied intestine. *J Neuro-Viscer Relat* 32: 75-89, 1971
- 28) Murray JG: Regeneration of the vagus. Edited by William JA, Cox AG. *After Vagotomy*. Butterworth, London, 1969, p77-89
- 29) 小林 繁: パラニューロンと消化管ホルモン. 治療学 14: 725-730, 1985

Changes in Intramural Nerves of the Stomach After Highly Selective Vagotomy

Hiroshi Katamura

The Second Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine

The effect of highly selective vagotomy on gastric intramural nerves in dogs was studied from 3 days to 12 months postoperatively by enzyme histochemical and electronmicroscopic methods. The most striking changes were seen in the early postoperative period in ganglion cells, enteroglia cells, and the neuropil of the myenteric ganglia and connecting strands. Those changes were limited to the fundic region. During the first postoperative week, the number of ganglion cells decreased in the denervated area and the remaining ganglion cells showed degeneration and decreased enzymatic activity as well. In the second week, amitotic cell division of ganglion cells and immature ganglion cells were observed, suggesting the regenerative process. From the second postoperative month, the number of ganglion cells recovered and hypertrophied ganglion cells with increased enzymatic activity were observed occasionally until the sixth month. Hyperinnervation of the muscularis propria was also observed during the same period. After sixth months, most of the ganglion cells became normal in appearance and enzymatic activity. By the twelfth month the intramural nerves had become entirely normal in appearance.

Reprint requests: Hiroshi Katamura Second Department of Surgery, Yokohama City University School of Medicine
3-46 Urafune-cho, Minami-ku, Yokohama, 232 JAPAN
