

I型家族性アミロイドポリニューロパチーの 下部消化管自律神経病変：組織化学、 免疫組織化学ならびに電子顕微鏡学的研究

矢 沢 正 信

信州大学医学部第3内科学教室

(主任：柳澤 信夫教授)

Autonomic Nerve Lesions in the Lower Intestine of Type I Familial Amyloid Polyneuropathy: Histochemical, Immunohisto- Chemical and Electron-Microscopic Study

Masanobu YAZAWA

Department of Medicine (Neurology), Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Nobuo YANAGISAWA)

Autonomic nerve disturbance of the lower intestine is considered to cause severe bowel dysfunction in type I familial amyloid polyneuropathy (type I FAP), but the details of the autonomic nerve lesions remain unclear. To clarify the degree of the extrinsic and intrinsic nerve damage in the lower intestine of the disease, rectal nerves of 28 type I FAP patients in various clinical stages and 10 controls were studied by histochemistry, immunohistochemistry and electron-microscopic observation.

In type I FAP, catecholamine fluorescent nerve fibers in the biopsied rectal mucosae and axons of silver impregnated nerves in the outer space of the rectal wall were markedly depleted. Proximal regions of the intestinal extrinsic nerve fasciculi and the lumbar sympathetic nerve ganglia showed significant degeneration with lots of amyloid deposition. However, S-100 protein- and VIP-immunoreactive nerves were well preserved and the intrinsic nerve ganglia were not affected by amyloid in the rectum of the patients.

In the lower intestine of type I FAP patients, remarkable loss of the extrinsic nerves may occur from an early clinical stage of this disorder, whereas the intrinsic nerves are not damaged severely even in an advanced case. This selectivity of the intestinal autonomic nerve lesions is presumed to characterize the bowel symptoms of the disease. *Shinshu Med. J.*, 40: 445-462, 1992

(Received for publication May 22, 1992)

Key words: type I familial amyloid polyneuropathy, enteric nervous system, bowel dysfunction, immunohistochemistry, catecholamine fluorescent histochemistry

I型家族性アミロイドポリニューロパチー, 腸管自律神経系, 便通異常, 免疫組織化学, カテコラミン
蛍光組織化学

I 緒 言

I型家族性アミロイドポリニューロパチー (Type I

familial amyloid polyneuropathy: 以下I型FAPと略す) は体性神経および自律神経の末梢性障害を主徴とする遺伝性全身型アミロイドーシスである。本症

患者では種々の自律神経症状が出現するが、この中で交代性に出現する便秘と下痢の繰り返しは本症の特徴的な消化器症状である²⁾⁹⁾。この発現機序に関しては以前から腸管壁へのアミロイド沈着による機械的な腸管運動の障害に加え、消化管を支配する自律神経病変が重要な役割を果たしているものと推測されている³⁾⁴⁾。

一方消化管自律神経は腸管壁内の神経叢に細胞体を有する内在性神経と、中枢神経や自律神経節から腸管に至る外来性神経により構成され⁵⁾、両神経支配のも

とに腸管の分泌・吸収・運動が行われている^{6)~8)}。従来からI型FAPの消化管では内在性と外来性神経の双方の病変が指摘されているが⁹⁾¹⁰⁾、両自律神経の病理変化を個別に評価し比較した報告はない。本研究ではI型FAPにおける消化管自律神経の障害過程の解明を目的に、臨床病期の異なる本症患者の下部消化管に分布する内在性と外来性自律神経の病理形態を組織化学、免疫組織化学および電子顕微鏡的観察法を用いて検索した。さらにこれらの神経病変の程度に関して

表 1 I型FAP28例(未発症者を含む)の臨床症状

症 例	年 齢 (年)	性	DNA 診 断	罹 病 期 (年)	臨 床 期	自 律 神 経 障 害					
						起立性 低血圧	発 汗 障 害	排 尿 障 害	便 異 常	通 常	陰 萎
1	40	F	+	0	0	-	-	-	-	/	
2	47	F	+	0	0	-	-	-	-	/	
3	49	M	+	0	0	-	-	-	-	-	
4	72	F	+	0	0	-	-	-	-	/	
5	64	F	+	2	I	-	-	-	+	/	
6	40	M	+	2	I	-	+	-	+	-	
7	43	F	+	3	I	+	-	-	+	/	
8	60	M	+	5	I	+	-	-	+	+	
9	33	M	+	6	I	+	+	-	+	+	
10	42	M	+	6	I	-	+	+	+	+	
11	37	M	+	7	I	+	-	+	+	+	
12	32	M	+	3	I	+	+	+	-	+	
13	62	F	+	11	I	+	+	-	2+	/	
14	31	M	NE	5	I	2+	+	+	+	+	
15	32	M	+	6	I	+	+	+	2+	+	
16	43	F	+	2	I	+	+	+	2+	/	
17	32	M	+	5	I	+	+	+	2+	+	
18	40	M	+	8	I	2+	+	+	2+	+	
19	50	F	+	5	II	+	+	+	2+	/	
20	67	M	+	5	II	+	+	2+	+	+	
21	32	M	NE	8	II	2+	+	2+	2+	+	
22	61	M	NE	7	II	2+	+	+	3+	+	
23	36	F	+	5	II	2+	+	3+	2+	/	
24	33	M	NE	7	II	3+	2+	3+	3+	+	
25 [#]	65	M	NE	12	III	2+	+	+	2+	+	
26 [#]	44	M	NE	16	III	3+	3+	3+	3+	+	
27 [#]	45	F	NE	19	III	3+	3+	3+	3+	/	
28 [#]	51	F	NE	33	III	3+	3+	3+	3+	/	

性別：M 男性，F 女性 DNA診断：+ 陽性，NE 未施行 #：剖検例

臨床病期：0 神経所見なし，I 末梢神経症状が軽く日常生活動作は自立，II 末梢神経症状が中等度で日常生活動作に介助を要する，III 末梢神経症状が高度で全面的な臥床生活

自律神経障害の程度：- なし，+ 軽症，2+ 中等症，3+ 重症（陰萎のみ：- なし，+ あり）

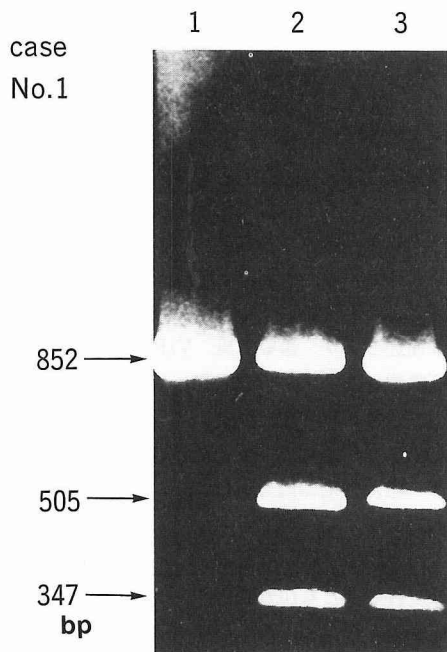


図1 PCR法を用いた変異トランスサイレチン遺伝子の解析結果(症例1)

免疫電気泳動によるレーン1の増幅されたDNAを制限酵素 Bal I と Nsi I で処理すると、おのおのレーン2と3に示すような異常バンドが出現しI型FAPと診断される。

は、腸管壁のアミロイド沈着量ならびに臨床症状の重症度との関連性についても検討を加えた。なお本論文のうち生検直腸標本における検索結果の一部と、剖検例の直腸および腰部交感神経節の病理形態に関しては、すでに他誌上¹¹⁾¹²⁾に掲載してあることをあらかじめ述べておく。

II 対 象

I型FAPの家族歴を有し、DNA診断陽性で通常の発症年齢に達していても他覚的な神経所見を示さず、臨床的に未発症と考えられる4例(表1の症例1から4)と、明らかな末梢神経障害と軽度から高度の自律神経症状を呈する本症患者24例(表1の症例5から28)の計28例を対象とした。発症者の罹病期間は2から19年であり、症例25から28の4例は進行期の剖検例である。なお以上の対象例はすべて長野県内のI型FAP家系³⁾に属し、この内の20例では本症に特異的なトランスサイレチン遺伝子の異常をpolymerase

表2 対照例の臨床診断

症 例	年 齢	性	臨床診断
1	38	F	直腸炎
2	41	M	便潜血陽性
3	43	M	多発神経炎
4	45	M	便潜血陽性
5	47	F	多発神経炎
6	60	F	大腸ポリープ
7	63	M	大腸ポリープ
8	68	F	便潜血陽性
9	70	M	直腸炎
10 [#]	74	F	無酸素性脳症

#：剖検例 性別：M 男性，F 女性

chain reaction (PCR) 法¹³⁾を用いたDNA解析¹⁴⁾により確認した(図1)。また対照例として下部消化管症状を示さない非自律神経疾患10例(うち1例は剖検例)を選択した(表2)。なお生検による検索に関しては各被検者に十分な説明を行い、了解を得た。

自律神経障害は表1に列挙した各項目について次の基準に従い、その程度を定性的に評価した。すなわち-はなし、+は障害はあるが日常生活に支障がなく、2+は障害により日常生活に支障が見られ、3+は障害が高度で生活動作が著しく妨げられるものを示す。ただし便通異常に関しては-は無症状、+は治療を要さない軽症、2+は内服治療に反応する中等症、3+は治療が無効な重症とした。陰萎に関しては-がなし、+がありとした。

III 方 法

A 標本採取

直腸生検は緩下剤と洗腸による前処置後、内視鏡を用いS字状結腸まで観察。肛門より10から15cmの部位の正常直腸粘膜を針付きの大型生検鉗子で6から7カ所採取した¹⁵⁾。剖検例では直腸壁外側の結合組織まで含む腸管壁全層と腰部交感神経節を摘出した。

B 消化管自律神経の形態学的検索

1 カテコラミン蛍光組織化学

(湿式グリオキシル酸法¹⁶⁾¹⁷⁾)

生検直腸粘膜の一部は採取後直ちに2%グリオキシル酸溶液(pH7.4, 0.1M 磷酸緩衝液, 15%サッカロース含有)に浸漬(4℃, 3~4時間)後、厚さ約12μmの凍結切片を作製した。次に同切片を無蛍光スライドガラスに付着させ、上記組成のグリオキシル酸溶

液に再び浸漬(4°C, 1時間)した後, 90から100°Cのふ卵器内で1時間乾燥し流動パラフィンで封入した。

顕微鏡観察は落射型蛍光顕微鏡(オリンパスBH2-RFK)で行い, V励起法(励起フィルター: V [IF405], 吸収フィルター: Y475)を用いた。連続切片上で任意の10視野(100倍の倍率)を選び, 青白色のカテコラミン自家蛍光を有する神経線維の分布密度を粘膜固有層, 粘膜筋板, 粘膜下層の各層に分けて観察, 以下の基準で判定した。-はなしまたはごく少数, +は数視野に数本, 2+は各視野に数本, 3+は各視野に多数として半定量的な評価を行った。

2 免疫組織化学

直腸組織を0.5%ピクリン酸・6.0%パラフォルムアルデヒド混合溶液(pH7.4, 0.1M 磷酸緩衝液)に浸漬固定(室温, 4~6時間)後, 厚さ約12 μ mの凍結切片を作製した。スライドガラスに付着した同切片を0.3% H₂O₂添加メタノール液内で約30分間反応させ内因性のperoxidaseを失活した。それに続いてS-100蛋白およびvasoactive intestinal polypeptide (VIP)に対する多クローン抗体の両者(いずれも1,000倍に希釈)¹⁸⁾¹⁹⁾を用いてavidin-biotin-peroxidase complex法²⁰⁾による免疫組織化学を施行した。標本の発色は0.02%の3,3'-diaminobenzidine 4HCl・2H₂O (pH7.6, 0.05M トリス塩酸緩衝液) 100mlに30%過酸化水素水20 μ lを添加した溶液中で行った。

各免疫活性陽性の神経の分布密度はカテコラミン組織化学と同様に粘膜固有層, 粘膜筋板, 粘膜下層, 輪走筋層, 縦走筋層の各層に分けて半定量的に評価した。

なお本研究で使用した各抗血清の特異性は, それぞれ対応する抗原による吸収試験で免疫反応が阻止されたことにより確認した。

3 鍍銀染色

剖検例の直腸および腰部交感神経節の一部はホルマリン固定後パラフィン切片を作製し, 末梢性自律神経の神経細胞体と軸索を染色するBielschowsky変法²¹⁾により鍍銀染色を行った。その10連続切片標本を観察し, 腸管壁外側の結合組織内に分布する神経束の軸索の脱落を定性的に評価した。また腰部交感神経節では核を含む断面で同定される神経細胞体数を調べ, 神経細胞密度を求めた。

4 電子顕微鏡的観察

剖検例から採取した腰部交感神経節の一部は, 3%グルタルアルデヒド溶液による固定(2時間)と1

%オスミウム酸による後固定(2時間)を行い, 通常の方法で脱水・包埋後, 厚さ50~80nmの超薄切片を作製した。次にこの切片を2%酢酸ウランと酢酸鉛(Luft and Wood)で電子染色を行い, 日立HS-9電子顕微鏡で神経細胞体の超微形態を観察した。

生検直腸粘膜の抗VIP血清による免疫染色標本の一部は1%オスミウム酸で再固定(1時間)後, 段階的濃度のアルコールで脱水し, inverted gelatin capsule法によりエポキシ樹脂に包埋した。次に直腸粘膜の各層ごとにトリミングを行い, 通常超薄切片を作製して前述のウラン鉛染色後, VIP免疫活性陽性の無髄神経線維を電子顕微鏡で観察した。

C アミロイド沈着量の評価

組織化学または免疫組織化学を施行した標本の連続切片の一部は1% alkaline Congo redで染色した。次にこれらの標本を偏光顕微鏡により100倍の視野で観察し, 黄緑色の偏光を呈するアミロイド沈着部位を同定した。各標本とも10連続切片を検索し, アミロイドの沈着量を-はなし, +はごく一部の結合組織や血管壁に少量の沈着が認められるもの, 3+は各視野で斑状に多量の沈着が見られるもの, 2+はその中間程度として評価した。特に直腸では粘膜固有層, 粘膜筋板, 粘膜下層, 輪走筋層, 縦走筋層の各層に分けてアミロイド沈着量を評価した。

D 病理変化と臨床症状との関連性の評価

本研究で同定された直腸の自律神経線維の分布密度と直腸壁局所へのアミロイド沈着量および臨床症状の重症度との関連性について, Spearmanの順位相関係数を求めて検討した。

IV 結 果

A 生検直腸粘膜の自律神経病変

1 カテコラミン蛍光陽性神経線維(表3)

対照例では粘膜固有層の陰窩周囲, 粘膜筋板および粘膜下層の神経束内や血管壁周囲に数珠状のカテコラミン蛍光を示す神経線維を多数認めた(図2 A1)。これに対しI型FAPの遺伝子異常を有しながら未発症状態の症例1から4では, 症例3を除く3例において直腸粘膜の全層で同蛍光陽性神経線維の明らかな減少が見られた(図2 B1)。また臨床症状を有するI型FAP患者では全例(症例5~24)において同神経線維は高度に脱落し, 粘膜固有層陰窩の基部, 粘膜筋板と粘膜下層の血管周囲に微弱なカテコラミン蛍光を示す少数の神経線維を認めるのみであった(図2 C1)。

I型FAPの下部消化管自律神経病変

表3 生検直腸標本におけるアミロイド沈着量と神経分布密度

	アミロイド沈着量			CA 陽性神経線維			S100蛋白陽性神経			VIP 陽性神経線維			
	Lp	Mm	Sm	Lp	Mm	Sm	Lp	Mm	Sm	Lp	Mm	Sm	
対照例	1	-	-	-	3+	2+	2+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	2	-	-	-	2+	3+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	3	-	-	-	2+	3+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	4	-	-	-	2+	2+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	5	-	-	-	2+	3+	2+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	6	-	-	-	3+	2+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	7	-	-	-	2+	3+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	8	-	-	-	3+	2+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	9	-	-	-	2+	3+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
FAP症例	1	-	-	-	+	2+	2+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	2	-	-	-	+	+	2+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	3	-	-	-	2+	3+	3+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	4	-	-	+	-	+	+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	5	-	+	+	+	-	+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	6	-	2+	+	+	-	+	3+	2+	2+	2+	2+	2+
	7	-	2+	+	+	+	+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	8	-	+	+	+	+	+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	9	-	+	+	-	-	+	2+	3+	2+	2+	2+	2+
	10	-	+	+	+	+	2+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	11	-	+	+	-	+	+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	12	NE	NE	NE	+	2+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	13	-	2+	+	-	+	+	3+	2+	2+	3+	2+	2+
	14	NE	NE	NE	+	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	15	-	2+	+	-	+	+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
	16	NE	NE	NE	+	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	17	-	+	+	-	+	+	2+	3+	2+	2+	3+	2+
	18	-	2+	+	-	-	+	3+	3+	2+	3+	3+	2+
	19	NE	NE	NE	+	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	20	-	+	+	+	+	+	2+	3+	2+	2+	3+	2+
	21	-	+	+	-	-	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	22	NE	NE	NE	+	+	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	23	NE	NE	NE	-	+	+	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	24	NE	NE	NE	-	-	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE

アミロイド沈着量の程度：- なし, + 少量, 2+ 中等量, 3+ 多量, NE 未検索

神経分布密度：- なしまたはごく少数, + 少数, 2+ 中等数, 3+ 多数

Lp: 粘膜固有層, Mm: 粘膜筋板, Sm: 粘膜下層 CA: カテコラミン

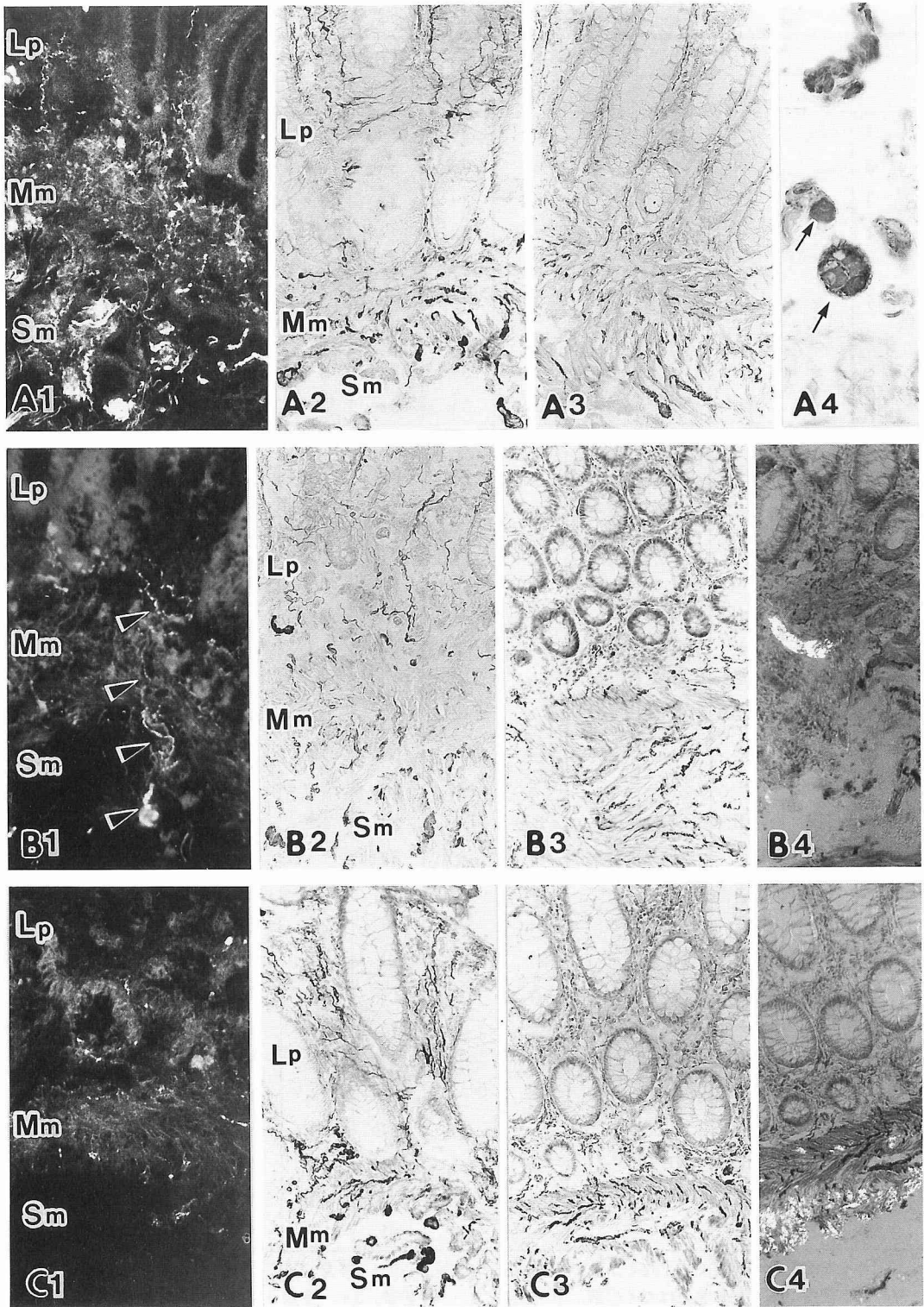


図 2

同神経線維の脱落程度と臨床症状の関連性に関しては後に述べる。

2 S-100蛋白免疫活性陽性神経

S-100蛋白に対する免疫組織化学では、粘膜固有層実質から粘膜筋板に均一に分布する多数の比較的細い神経束および粘膜下神経叢を形成する比較的太い神経束が染色された。このS-100蛋白免疫活性陽性の神経束はいずれも蛇行する平滑な辺縁を示していた。本神経束の分布様式に関しては正常対照例(図2 A2), I型FAPの未発症例(図2 B2)さらには中等度の自

律神経症状を呈する症例(図2 C2)の間で相違は見られなかった。

3 VIP免疫活性陽性神経線維

対照例の生検直腸ではVIP免疫活性陽性の神経線維は豊富な分布を示した。すなわち粘膜固有層の陰窩周囲には数珠状の免疫活性を呈する細い神経線維が多数見られ、粘膜筋板および粘膜下神経叢には同神経線維の比較的太い神経線維束が認められた(図2 A3)。また粘膜下神経節にはVIP免疫活性を有する神経細胞体を多数認めた(図2 A4)。さらに免疫電子顕微鏡

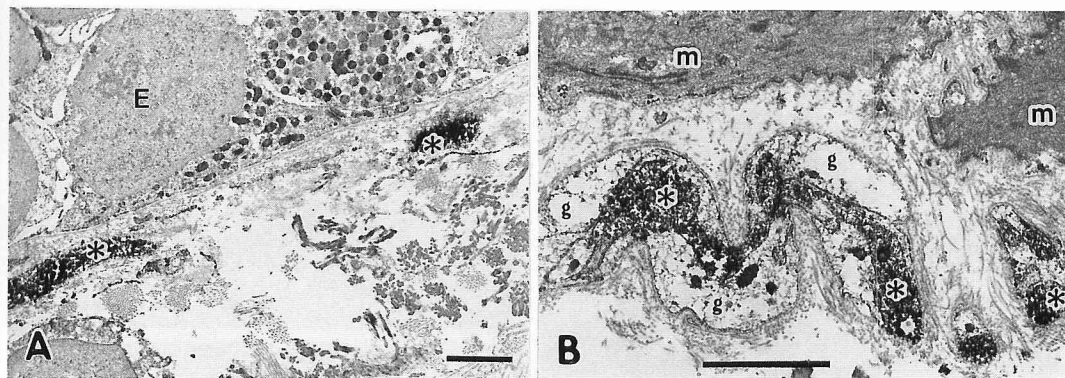


図3 対照例の生検直腸粘膜におけるVIP免疫活性陽性神経線維(*)の電子顕微鏡所見

バーの長さは2 μ mを示す。

A: 粘膜固有層では免疫活性陽性の無髄神経線維は陰窩上皮(E)の基底膜直下に分布している。 $\times 3,500$

B: 粘膜筋板の平滑筋(m)の間に分布する神経束内のVIP免疫活性陽性神経線維。gは末梢性グリア細胞を示す。 $\times 7,500$

図2 生検直腸標本における各神経の分布およびアミロイド沈着

A1, B1とC1はカテコラミン蛍光組織化学($\times 85$)。A2, B2とC2は抗S-100蛋白血清による免疫組織化学($\times 100$)。A3, B3とC3($\times 100$)およびA4($\times 200$)は抗VIP血清による免疫染色標本。B4とC4はalkaline Congo red染色標本の偏光顕微鏡所見($\times 120$)。Lp: 粘膜固有層, Mm: 粘膜筋板, Sm: 粘膜下層。

A: 対照例の生検直腸。直腸粘膜各層にカテコラミン蛍光陽性神経線維(1), S-100蛋白免疫活性陽性神経束(2)およびVIP免疫活性陽性神経線維(3)が豊富に分布している。粘膜下神経節にはVIP免疫活性を有する神経細胞体(矢印)が見られる(4)。

B: I型FAPのDNA診断が陽性で末梢神経障害所見を欠く症例4の生検直腸。粘膜下層から粘膜固有層に至る血管周囲にカテコラミン蛍光陽性神経線維(矢頭印)を認めるが、同神経線維の分布は対照に比し明らかに減少している(1)。これに対してS-100蛋白免疫活性陽性神経束(2)とVIP免疫活性陽性神経線維(3)の分布には、対照例との相違はない。直腸粘膜実質へのアミロイド沈着は見られず、粘膜下層において一部の血管壁にアミロイドの偏光が観察される(4)。

C: 自律神経障害を呈するI型FAP例(症例18)の直腸粘膜。カテコラミン蛍光陽性神経線維は高度の脱落を示しているが(1), S-100蛋白免疫活性陽性神経束(2)とVIP免疫活性陽性神経線維(3)はほぼ正常に保たれている。粘膜筋板と粘膜下層の結合組織には中等量のアミロイドが斑状に沈着している(4)。

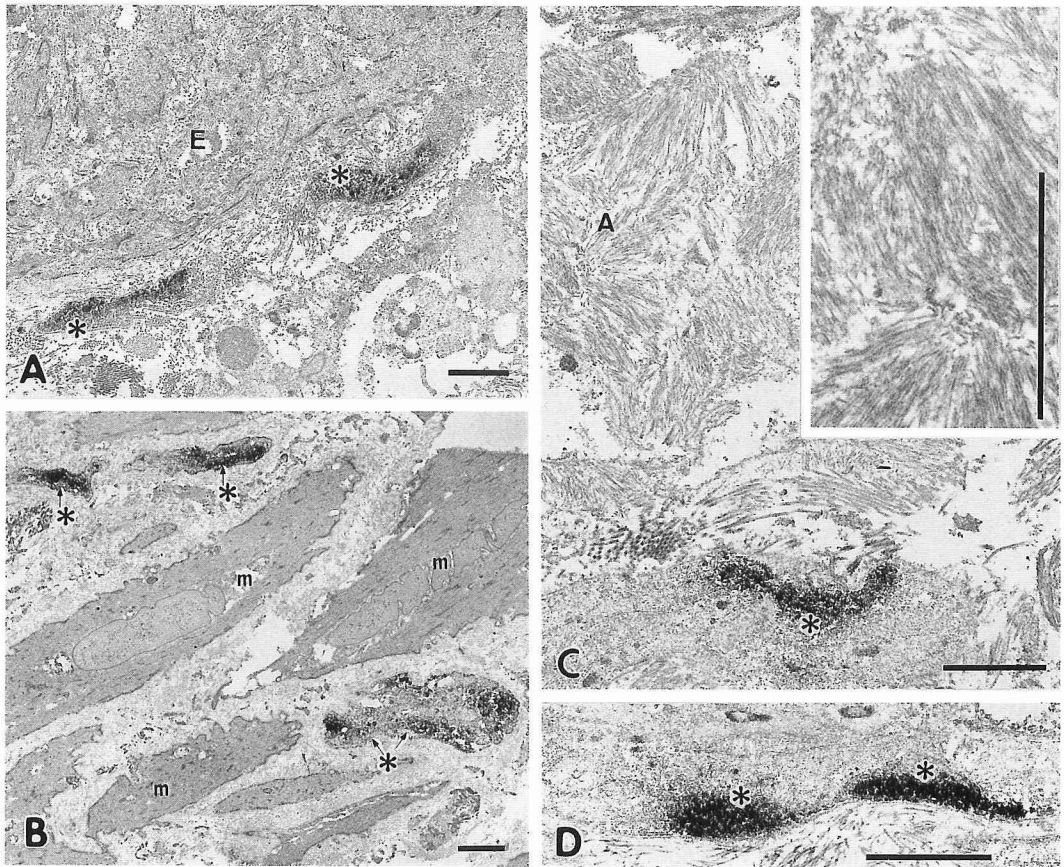


図4 I型FAP症例の生検直腸粘膜のVIPに対する免疫電子顕微鏡所見
*は免疫活性陽性の神経線維を、バーの長さは2 μ mを示す。

- A: 粘膜固有層の陰窩上皮(E)基底膜直下のVIP免疫活性陽性無髄神経線維。 $\times 3,500$
 B: 粘膜筋板の平滑筋(m)の間には免疫活性陽性の無髄神経線維を含む神経束が分布している。 $\times 2,500$
 C: 粘膜筋板のアミロイド沈着部(A)近傍に分布する免疫活性陽性の神経線維。 $\times 6,000$
 図のインサートはアミロイド線維の拡大像を示す。 $\times 14,000$
 D: 粘膜下神経叢における免疫活性陽性の神経線維も正常の形態を保っている。 $\times 7,500$

による観察でも粘膜固有層陰窩上皮の基底膜直下、粘膜筋板の平滑筋の間および粘膜下神経叢の神経束内に同免疫活性陽性の無髄神経線維を認めた(図3 A, B)。一方未発症例を含むI型FAP例の直腸粘膜では臨床症状の程度にかかわらず、VIP免疫活性陽性神経線維の分布には明らかな減少はなく(図2 B3, C3, 表3)、またその超微形態所見にも異常はなかった(図4 A-D)。

4 アミロイド沈着

対照例の生検直腸にはCongo red陽性のアミロイド沈着は見られなかった。同様にI型FAPの未発症者

4例中3例でもアミロイド沈着は観察されなかったが、残りの1例(症例4)では粘膜下層のごく少数の血管壁に限局したアミロイド沈着を認めた(図2 B4, 表3)。一方I型FAPの臨床症状を有する症例5から24のうちCongo red染色を施行した例の生検直腸粘膜では、粘膜筋板および粘膜下層の結合組織内と血管壁に斑状に沈着する少量から中等量のアミロイドを認めた(図2 C4, 表3)。

B 剖検例における直腸の自律神経病変

1 直腸壁外側の結合組織内に分布する神経束

対照剖検例の直腸の鍍銀染色標本では、外縦走筋層

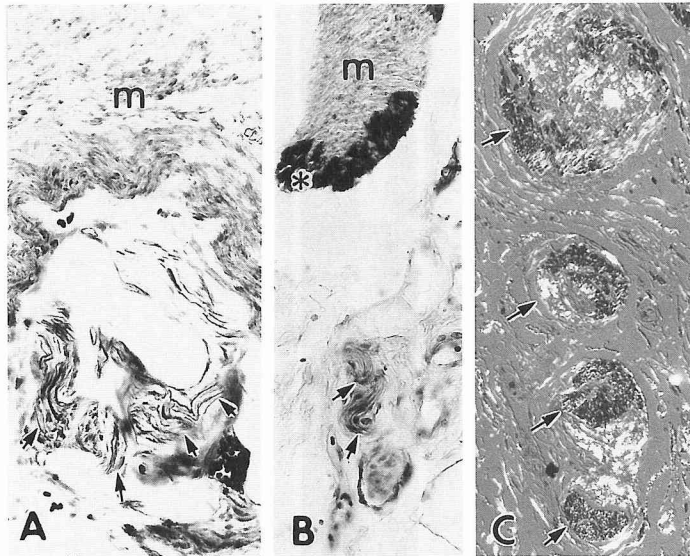


図5 剖検例の直腸壁外側の結合組織内に分布する神経束(矢印)
mは外縦走筋層を示す。

- A: 対照例の鍍銀染色標本。神経束内には多数の軸索が鍍銀されている。×180
 B: I型FAP例の鍍銀染色標本。直腸壁外側に分布する神経束は対照に比して萎縮しており、軸索は高度に減少している。*は筋層のアミロイド沈着。×180
 C: I型FAP例の直腸壁外側に分布する神経束のS-100蛋白に対する免疫染色にalkaline Congo red染色を行った標本の偏光顕微鏡所見。S-100蛋白陽性の神経束内で神経周膜下を中心に偏光を呈するアミロイド沈着を認める。×240

の外側にある結合組織内に多数の軸索を有する神経束が観察された(図5 A)。これに対してI型FAPの剖検例では同部に分布する神経束は細く、鍍銀法により染色される軸索も著しく脱落していた(図5 B)。またその神経束の内部にはCongo red染色により神経周膜下の部位を中心に多量のアミロイド沈着が認められた(図5 C)。

2 腰部交感神経節

腰部交感神経節の直径は対照例では5mm以下であったが(図6 A)、I型FAP例では検索した3例ともに10mm前後と著明に腫大していた(図6 B)。その神経節の鍍銀染色標本では間質に高度の浮腫が見られ、神経細胞密度も対照例の2,230個/cm²に比べ15から79個/cm²と著しい減少を示した(図6 C, 表4)。またCongo red染色により神経節実質と小動脈壁に黄緑色の偏光を呈する多量のアミロイド沈着が認められた(図6 D)。さらに同部に残存する神経細胞体の多くは萎縮し(図6 E)、電子顕微鏡による観察でも細胞体内にリポフスチンの異常な増加を認めた(図6 F)。

表4 腰部交感神経節の神経細胞密度(個/cm²)

対照例	2,230
FAP症例	
No. 25	79
26	15
27	59

3 直腸の壁在性神経叢

I型FAP剖検例の直腸壁を抗S-100蛋白血清で免疫染色すると、各筋層内の神経束および粘膜下と筋層間の両神経節は正常対照例と同様の構造と分布を示した(図7 A1, 2, 表5)。さらに死後3時間以内に剖検し得た症例26の直腸で行ったVIPに対する免疫組織化学では、粘膜下神経節内の神経細胞体と各筋層に分布する神経線維に免疫活性を認めた(図7 B1, 2)。また本症4剖検例の直腸壁にはCongo red染色により粘膜固有層を除く各層に中等量から多量のアミロイド沈着が観察されたが(表5)、粘膜下および筋層間の

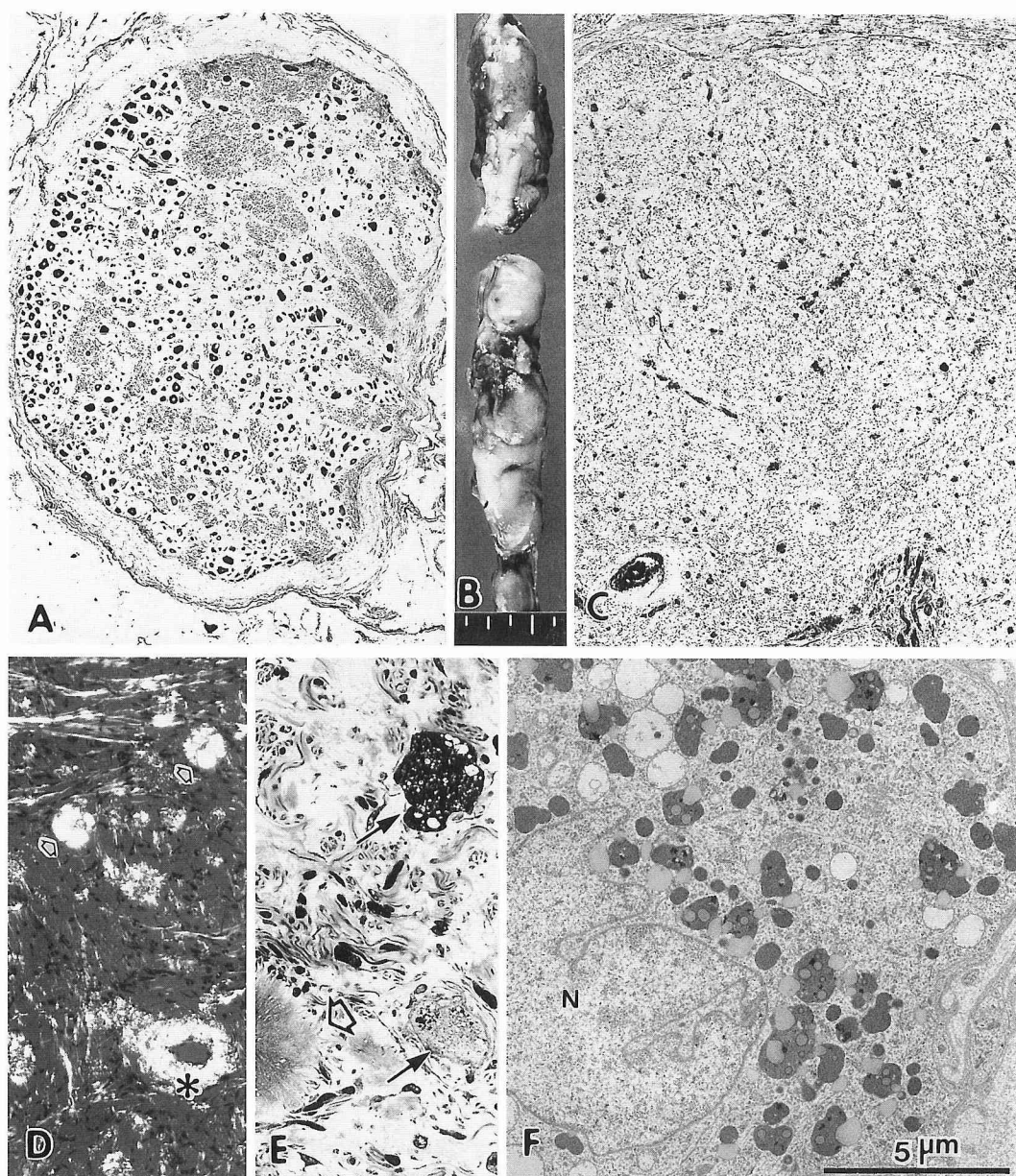


図6 剖検例の腰部交感神経節

- A : 対照例の鍍銀染色所見。神経節の直径は約 3×2 mm。多数の神経細胞体と軸索が認められる。×25
 B : I型FAP例(症例26)の腰部交感神経節の肉眼所見。各神経節は直径10mm以上と著明に腫大している。図のメジャーの1目盛りは5mm。
 C : Bの神経節の鍍銀染色標本。神経節内部ではアミロイド沈着部位が鍍銀されているが、神経細胞体は高度に脱落し、間質には浮腫が見られる。×25
 D : I型FAP例の腰部交感神経節の alkaline Congo red 染色標本の偏光顕微鏡所見。血管壁(*)および実質(中抜き矢印)に多量のアミロイド沈着を認める。×170
 E : I型FAP例の同神経節のトルイジンブルー染色標本(エポキシ樹脂包埋)。残存する神経細胞体(矢印)は変性および萎縮に陥っている。中抜きの矢印はアミロイド沈着を示す。×300
 F : I型FAP例の交感神経節に残存する神経細胞体の電子顕微鏡所見。胞体内にリボフスチンの異常な増加を認める。×5,000

I型 FAP の下部消化管自律神経病変

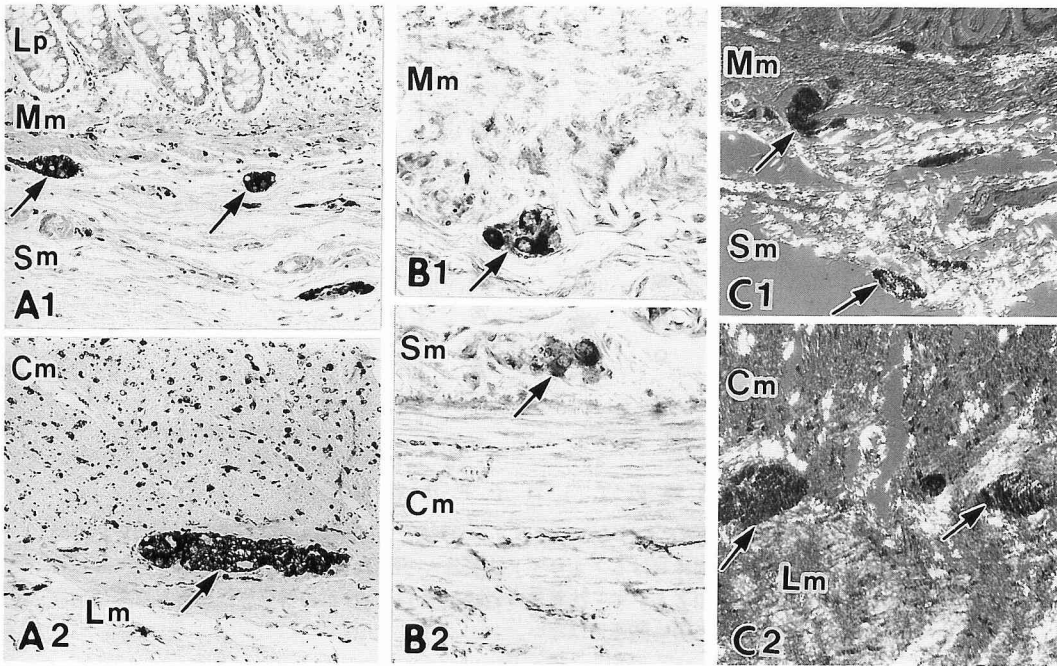


図7 I型FAP剖検例(症例26)の直腸壁

Lp: 粘膜固有層, Mm: 粘膜筋板, Sm: 粘膜下層, Cm: 輪走筋層, Lm: 縦走筋層。矢印は粘膜下および筋層間の神経節を示す。

- A: S-100蛋白に対する免疫染色。粘膜下(1)と筋層間(2)の神経節はほぼ正常の構造を示し、免疫活性陽性の末梢性グリア細胞に囲まれた神経細胞体も見られる。×130
- B: 抗VIP血清による免疫染色。粘膜下神経節内の神経細胞体はVIPの免疫活性を有している。また粘膜筋板と輪走筋層には、同免疫活性陽性の神経線維が認められる。×240
- C: S-100蛋白に対する免疫染色にalkaline Congo red染色を行った標本の偏光顕微鏡所見。腸管壁には多量のアミロイドが沈着しているが、粘膜下および筋層間の神経節内部にはアミロイドの偏光は認められない。×160

表5 剖検例の直腸におけるアミロイド沈着量と神経分布密度

	アミロイド沈着量					S-100蛋白陽性神経					VIP陽性神経線維				
	Lp	Mm	Sm	Cm	Lm	Lp	Mm	Sm	Cm	Lm	Lp	Mm	Sm	Cm	Lm
対 照 例	-	-	-	-	-	2+	3+	2+	3+	2+	2+	3+	2+	3+	2+
FAP症例															
No. 25	-	2+	2+	2+	+	2+	3+	2+	3+	2+	NE	NE	NE	NE	NE
26	-	2+	3+	+	2+	+	2+	2+	3+	+	+	2+	+	2+	2+
27	-	+	2+	2+	2+	+	2+	2+	3+	2+	NE	NE	NE	NE	NE
28	-	2+	2+	+	+	+	2+	2+	2+	2+	NE	NE	NE	NE	NE

アミロイド沈着量の程度: - なし, + 少量, 2+ 中等量, 3+ 多量

神経分布密度: + 少数, 2+ 中等数, 3+ 多数, NE 未検索

Lp: 粘膜固有層, Mm: 粘膜筋板, Sm: 粘膜下層, Cm: 輪走筋層, Lm: 縦走筋層

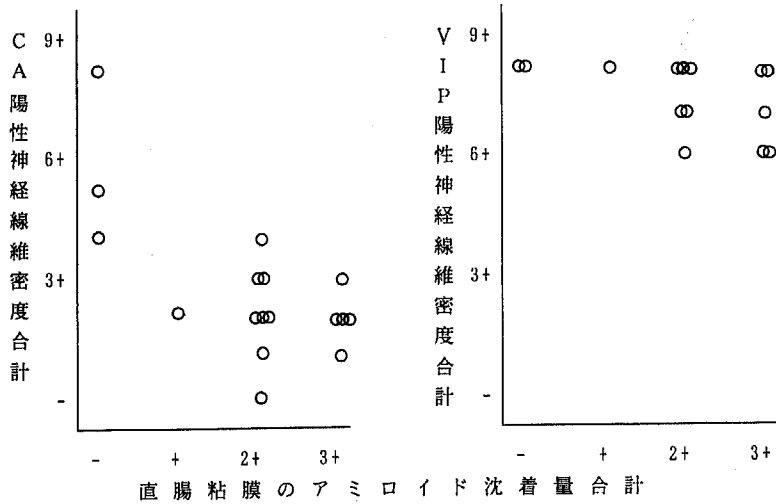


図 8 I 型 FAP 例の生検直腸粘膜におけるカテコラミン (CA) 蛍光陽性神経線維および VIP 免疫活性陽性神経線維の密度と同部におけるアミロイド沈着量との関係。縦軸は直腸粘膜各層の神経線維密度の合計を、横軸は各層のアミロイド沈着量の合計を示す。いずれの神経線維密度も直腸粘膜局所へのアミロイド沈着量との間に関連性はない。

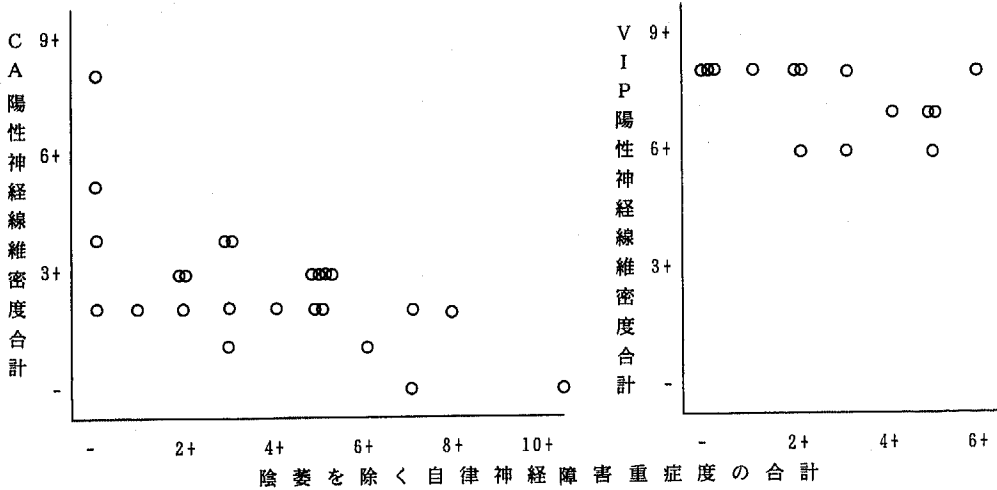


図 9 I 型 FAP 例の生検直腸粘膜におけるカテコラミン (CA) 蛍光陽性神経線維および VIP 免疫活性陽性神経線維の密度と、表 1 の陰萎を除く 4 自律神経障害の重症度の合計との関係。CA 蛍光陽性神経線維密度の少ない例ほど全身の自律神経障害は重篤であるが ($r = -0.496, p < 0.01$), VIP 免疫活性陽性神経線維密度は同症状の程度と関連性を示さない。

神経節内にはアミロイド沈着は見られなかった (図 7 C1, 2)。

4 I 型 FAP 例の直腸における自律神経線維の分布密度とアミロイド沈着量および臨床症状の重症度との関連性

I 型 FAP 例の生検直腸に分布するカテコラミン蛍光陽性神経線維と VIP 免疫活性陽性神経線維の分布密度は、いずれも直腸粘膜局所におけるアミロイド沈着量との間に関連性を示さなかった (図 8)。また生検直腸粘膜におけるカテコラミン蛍光陽性神経線維の

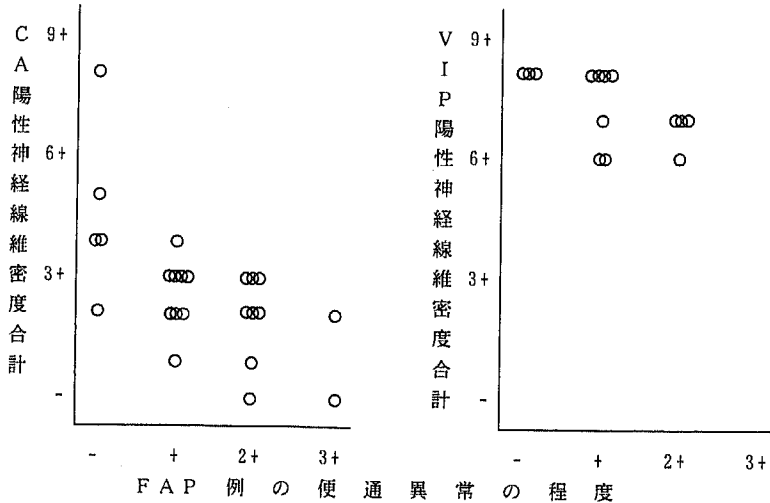


図10 I 型 FAP 例の生検直腸粘膜におけるカテコラミン (CA) 蛍光陽性神経線維および VIP 免疫活性陽性神経線維の密度と便通異常の程度との関係。CA 蛍光陽性神経線維が少ないものほど便通異常の程度は高度であるが ($r = -0.516, p < 0.01$), VIP 免疫活性陽性神経線維密度は便通異常の程度とは相関を示さない。

脱落程度は、表 1 に示した陰萎を除く 4 項目の自律神経障害重症度の合計および便通異常の程度との間に有意な順位相関を示した (図 9, 10)。すなわち起立性低血圧を含む全身の自律神経障害や下部消化管症状が重篤な例ほど、直腸粘膜のカテコラミン蛍光陽性神経線維は著しく減少していた。これに対し同部の VIP 免疫活性陽性神経線維の分布密度は、臨床症状の程度との間には一定の相関を持たなかった。

V 考 察

A I 型 FAP の下部消化管自律神経病変

本研究における下部消化管とは横行結腸の中半分より肛門側の遠位結腸と直腸を意味する。同部の大腸はおもに消化管内容物からの水分と電解質の再吸収、粘液分泌および形成された便の貯留と輸送を行い²²⁾²³⁾、排便の制御に直接関与している。したがって I 型 FAP 例で見られる便通異常でも同部の機能障害が主要な原因であると考えられる。下部消化管のうち安全かつ容易に標本を採取し得るのは直腸であり¹⁵⁾、本研究では直腸の自律神経を検索することにより本症における下部消化管自律神経病変を評価した。

消化管自律神経は中枢側から至る外来性神経と、消化管の粘膜下および筋層間の神経節にある神経細胞体由来する内在性神経に大別される⁵⁾⁸⁾。したがって I 型 FAP の下部消化管自律神経病変に関する以下の考

察はこの二者に分けて行う。

1 外来性自律神経病変

下部消化管に分布する外来性自律神経には、第 1 から第 4 の仙髄より骨盤神経叢を経て直接腸管に至る副交感神経と、腰部交感神経節または下腸間膜動脈神経節から至る節後性交感神経がある⁸⁾²⁴⁾。後者の交感神経は下位胸髄から腰髄の中間外側核に細胞体を有する節前性交感神経により中枢性支配を受けている⁵⁾⁸⁾。これらの外来性自律神経はおもに動脈壁に沿って腸管に至り外縦走筋層から粘膜固有層まで広範に分布し、腸管の吸収・分泌・運動の神経性制御を行っている^{8)25)~28)}。またこれらの自律神経のおもな神経伝達物質は副交感神経がアセチルコリン、節後性交感神経がカテコラミンである²⁹⁾。一方腸管壁のアセチルコリン含有神経は外来性の副交感神経の他に多くの内在性神経を含むが³⁰⁾、同部のカテコラミン含有神経はすべて節後性交感神経であるとされている³¹⁾。したがって生検直腸組織を用いた下部消化管の外来性自律神経病変の選択的評価は、カテコラミン含有神経の検索により可能になると考えられる。

本研究の結果では、I 型 FAP 例の生検直腸標本におけるカテコラミン蛍光陽性神経線維は高度の脱落を示し、その程度は全身の自律神経障害および便通異常の重症度と明らかな相関関係を示した。このことより I 型 FAP の下部消化管では外来性自律神経に高度の

障害があり、同神経病変は全身の自律神経病変の一部として現れてくるとともに、下部消化管症状の発現に密接な関連を持つものと考えられる。さらに本症のDNA診断が陽性でも、他覚的な神経所見の見られない3例で直腸粘膜のカテコラミン蛍光陽性神経線維が明らかに減少していたことは、本症の下部消化管における外来性自律神経病変が臨床症状の発現に先行して生ずることを示唆している。

一方I型FAP例の生検直腸組織では、粘膜に分布するカテコラミン蛍光陽性神経線維密度と直腸壁局所へのアミロイド沈着量との間に関連性はなかった。また本症の剖検例では直腸壁外側の結合組織内に分布する神経束にアミロイド沈着と軸索の高度な脱落が観察され、腰部交感神経節には多量のアミロイド沈着と神経細胞体の著しい変性および消失が認められた。この結果からI型FAPの下部消化管における外来性自律神経の障害は、主として神経束のより中枢側の部位または自律神経節内へのアミロイド沈着とそれに付随する病変に起因しているものと考えられる。

2 内在性自律神経病変

カルシウム結合蛋白であるS-100蛋白は末梢神経グリアの構造蛋白であり、腸管でも末梢性グリア細胞の胞体内に存在する³²⁾。さらに消化管に分布する自律神経はすべて末梢性グリア細胞に支持された無髄神経線維であり、S-100蛋白の免疫活性陽性神経を調べることにより腸管における内在性と外来性の両自律神経の分布様式を評価することができる。本研究では外来性自律神経が中等度から高度に脱落していたI型FAP症例の生検直腸標本でも、S-100蛋白免疫活性陽性神経はほぼ正常に分布していた。この結果は本症の下部消化管の内在性自律神経には高度の脱落がないことを示している。

一方消化管の内在性自律神経は、アセチルコリンおよび各種の神経ペプチドを伝達物質とする²⁷⁾³³⁾³⁴⁾。このうちでもVIP含有神経は主として下部消化管の粘膜下神経節に神経細胞体を有し、粘膜固有層から各筋層に多数の神経線維をのばしている³⁵⁾³⁶⁾。これと同時に同部のVIP含有神経はすべて腸管の内在性神経とされる³⁷⁾。そこで本研究では生検直腸標本における同神経の分布形態を観察することにより、本症の下部消化管における内在性自律神経病変を評価した。

I型FAP例の生検直腸標本では自律神経症状の重症度にかかわらず、VIP免疫活性陽性の神経線維はほぼ正常に保たれ、その超微形態所見にも異常は見られ

なかった。また本症の剖検例の直腸においてもVIPの免疫活性を有する神経線維と神経細胞体が認められた。以上の結果より本症の下部消化管では、内在性自律神経は外来性自律神経に比較して障害が軽微であり、進行期においてもその病変は軽いものと推測される。

腸管の内在性神経は外来性神経とともに腸管の各種機能を制御し⁸⁾²⁸⁾³³⁾、同時に腸管の管腔内からの物理的または化学的刺激により生ずる腸管の局所反射に重要な役割を果たしている⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾。下部消化管ではこれら外来性と内在性の両自律神経による神経支配の均衡のもとに、排便の生理的調節が行われていると考えられる。本研究によりI型FAPの下部消化管では病初期より外来性自律神経病変が高度であるのに対し、内在性自律神経は進行期においても障害が比較的軽いことが明らかにされた。そしてこれらの形態学的所見を基盤にすれば、本症の腸管における自律神経支配には内在性神経優位の不均衡があるものと推測される。すなわち中枢側からの制御に異常をきたした内在性神経が下部消化管運動の過度の抑制または亢進をまねき、これが本症に特徴的な繰り返す交代性の便秘と下痢の重要な原因になっているものと考えられる。

B 下部消化管自律神経病変の病理発生

本研究ではI型FAPの下部消化管においては高度な外来性自律神経の障害に対し、内在性自律神経の病変は比較的軽いことが示された。そこで本症におけるこの下部消化管自律神経の選択的病変の発現機序に関し以下に述べる。

I型FAPのアミロイドはトランスサイレチンのN末端から30番目のパリンがメチオニンに置換された流血中の変異トランスサイレチン⁴⁰⁾に由来し、血管を介して全身の臓器に沈着するものと考えられる。一方交感神経節内と交感神経または副交感神経の神経束内には多数の栄養血管が分布しており、上記の機序により同部にアミロイド沈着が起きることは十分に予測される。またこれらの神経組織は結合組織の被膜で囲まれており、その内部へのアミロイド沈着は直接の物理的圧迫または間接的な血流障害により神経細胞体と神経線維の変性および脱落をきたすものと推測される。この点に関しては、本症の体性神経障害についても末梢神経の近位部におけるアミロイド沈着と神経変性病変の重要性が指摘されており⁴¹⁾、本研究で明らかにされた消化管自律神経病変との間に類似性があるものと思われる。

これに対し消化管の壁在性神経節内には固有の血管

I型FAPの下部消化管自律神経病変

は存在せず、周囲の毛細血管との間には血液神経節関門があるとされている⁴²⁾。したがってI型FAPの腸管では内在性自律神経はアミロイド沈着による直接の障害を受け難いものと推測される。このことは本症では血液脳脊髄関門を有する中枢神経系の実質内にアミロイド沈着が認められないことと共通の機序によるものと考えられる。

I型FAPはその原因となる遺伝子の異常まで解明され⁴³⁾、簡便なDNA診断法も確立されている¹⁹⁾⁴⁴⁾。しかしアミロイド沈着を阻止し本症の発症を防ぐ手段はいまだなく、各臨床症状への対症療法が主体となっている。本症の多彩な消化器症状に対してはノルアドレナリンの前駆物質であるL-threo-3, 4-dihydroxyphenylserine (L-DOPS)の経口投与が有効であることが示されている⁴⁵⁾。本研究により明らかにされたI型FAPの下部消化管における外来性神経を主体とした自律神経病変の理解は、このL-DOPSの有効性の機序を説明するとともに本症の消化器症状に対する治療法を考える際にも有用なものと思われる。

VI 結 語

I型FAP28例の下部消化管自律神経病変を組織化学、免疫組織化学ならびに電子顕微鏡観察を用いて検索し、以下の結論を得た。

- 1 I型FAPの下部消化管では病初期より外来性自律神経の脱落があり、その程度は臨床症状の重症度と密接な相関を示した。
- 2 本症の下部消化管に分布する外来性自律神経の変性は神経束の近位側または神経節におけるアミロイ

ド沈着が原因である。

- 3 本症の下部消化管の内在性自律神経節にはアミロイド沈着はほとんど見られず、進行期においてもその障害は軽度であった。
- 4 本症の便通異常は下部消化管における外来性および内在性自律神経の不均衡支配が原因であると考えられる。

以上のI型FAPにおける下部消化管自律神経病変の特異性を理解することは、本症の下部消化管症状の治療を考える際に有用であると思われる。

謝辞：本研究で使用した抗S-100蛋白血清を提供して頂いた山梨医科大学第3内科遠藤登代志先生ならびに抗VIP血清(R-501)を提供して頂いた静岡県立大学薬学部矢内原昇教授に謝意を表します。

なお、本研究は昭和63年度文部省科学研究費および厚生省神経ペプチドによる精神神経障害治療薬の開発研究班による援助を受けた。また本研究の一部は第31回、32回日本神経学会総会(1990年5月・横浜と1991年5月・東京)、第6回アミロイドーシス国際シンポジウム(1990年8月・オスロ)および第43回日本自律神経学会総会(1990年10月・旭川)において発表した。

稿を終えるにあたり終始御指導を賜りました恩師柳澤信夫教授に深謝致します。また本研究の遂行に際し、種々の御助言を下さいました池田修一博士に感謝致します。

文 献

- 1) Andrade, C.: A peculiar form of peripheral neuropathy. Familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain*, 75: 408-427, 1952
- 2) 荒木淑郎, 栗原照幸, 栗林忠信, 俵 哲: 家族性アミロイドポリニューロパチーの臨床, 病態生理および治療に関する研究. *日内会誌*, 69: 943-950, 1980
- 3) Ikeda, S., Hanyu, N., Hongo, M., Yoshioka, J., Oguchi, H., Yanagisawa, N., Kobayashi, T., Tsukagosi, H., Ito, N. and Yokota, T.: Hereditary generalized amyloidosis with polyneuropathy. Clinicopathological study of 65 Japanese patients. *Brain*, 110: 315-337, 1987
- 4) 池田修一: 家族性アミロイドポリニューロパチーにおける消化管自律神経病変の形態学的研究. *自律神経*, 23: 35-45, 1986
- 5) Shofield, G. C.: Anatomy of muscular and neural tissues in the alimentary canal. In: Code, C. F. and Heidel, W. (eds.), *Handbook of physiology*, section 6, Alimentary Canal. vol. 4, Motility, pp. 1579-1627, American Physiological Society, Washington, DC, 1968
- 6) Tapper, E. J.: Local modulation of intestinal ion transport by enteric neurons. *Am J Physiol*, 244: G457

- G468, 1983
- 7) Hubel, K. A. : Intestinal nerves and ion transport : stimuli, reflexes, and responses. *Am J Physiol*, 248 : G261-G271, 1985
 - 8) Cooke, H. J. : Neurobiology of the intestinal mucosa. *Gastroenterology*, 90 : 1057-1081, 1986
 - 9) 崔 進, 発地雅夫, 藤原正之, 石亀広樹 : 全身性アミロイド症16剖検例の臨床病理学的研究. *信州医誌*, 31 : 551-561, 1983
 - 10) Sumino, S., Nagashima, K., Shimamine, T., Abe, T., Tsuneyoshi, H. and Muraio, S. : Familial amyloid polyneuropathy with marked hypertrophy of the peripheral nerves. *Acta Pathol Jpn*, 33 : 629-643, 1983
 - 11) Yazawa, M., Ikeda, S., Ushiyama, M. and Yanagisawa, N. : Noradrenergic nerve fibers of the rectal mucosa in autonomic disorders : comparison of histochemical study with clinical severity and changes in plasma noradrenaline induced by standing. *J Neurol Sci*, 104 : 222-229, 1991
 - 12) 矢沢正信, 池田修一, 柳澤信夫 : I型家族性アミロイドポリニューロパチーの下部消化管における自律神経節病変 : 組織化学および免疫組織化学的検討. *自律神経*, 28 : 506-512, 1991
 - 13) Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B. and Erlich, H. A. : Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239 : 487-491, 1988
 - 14) 池田修一, 中野 武, 柳沢信夫, 鈴木友和, 羽生憲直, 榎 佳之 : 遺伝子解析, 血漿アミロイド前駆蛋白ならびに組織アミロイド蛋白の同定法による家族性アミロイドポリニューロパチーの総合的診断法. *臨床神経*, 31 : 363-371, 1991
 - 15) 池田修一, 柳沢信夫 : 内視鏡的直腸生検による粘膜下神経叢の同定法とその超微形態所見. *自律神経*, 23 : 322-328, 1986
 - 16) Axelsson, S., Björklund, A., Falck, B., Lindvall, O. and Svensson, L.-Å. : Glyoxylic acid condensation : a new fluorescence method for the histochemical demonstration of biogenic monoamines. *Acta Physiol Scand*, 87 : 57-62, 1973
 - 17) Ikeda, S., Oguchi, K., Kobayashi, S., Tsukahara, S. and Yanagisawa, N. : Histochemical study of rectal aminergic nerves in type I familial amyloid polyneuropathy. *Neurology (Cleveland)*, 33 : 1055-1058, 1983
 - 18) Endo, T., Tanaka, T., Isobe, T., Kasai, H., Okuyama, T. and Hidaka, H. : Calcium-dependent affinity chromatography of S-100 and calmodulin on calmodulin antagonist-coupled sepharose. *J Biol Chem*, 256 : 12485-12489, 1981
 - 19) Yanaihara, N., Sakagami, M., Sato, H., Yamamoto, K., Hashimoto, T., Yanaihara, C., Ito, Z., Yamaguchi, K. and Abe, K. : Immunological aspects of secretin, substance P, and VIP. *Gastroenterology*, 72 : 803-810, 1977
 - 20) Hsu, S.-M., Raine, L. and Fanger, H. : Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques : a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*, 29 : 577-580, 1981
 - 21) 平野朝雄 : Bielschowsky 染色およびその変法. *神経病理を学ぶ人のために*, 第2版, pp. 53-54, 医学書院, 東京, 1986
 - 22) Ritchie, J. A. : Colonic motor activity and bowel function. Part I Normal movement of contents. *Gut*, 9 : 442-456, 1968
 - 23) Christensen, J. : Motility of the colon. In : Johnson, L. R. (ed.), *Physiology of the gastrointestinal tract*. vol. 1, pp. 445-471, Raven Press, New York, 1981
 - 24) 深井喜代子, 福田博之 : 直腸を支配する骨盤神経の性質. *日平滑筋誌*, 17 : 264-265, 1981
 - 25) Hulten, L. : Extrinsic nervous control of colonic motility and blood flow. An experimental study in the cat. *Acta Physiol Scand*, 78 (Suppl): 1-116, 1969

- 26) Devroede, G. and Lamarche, J. : Functional importance of extrinsic parasympathetic innervation to the distal colon and rectum in man. *Gastroenterology*, 66 : 273-280, 1974
- 27) Roman, C. and Gonella, J. : Extrinsic control of digestive tract motility. In: Johnson, L. R. (ed.), *Physiology of the gastrointestinal tract*. vol. 1, pp. 289-333, Raven Press, New York, 1981
- 28) North, R. A. : Electrophysiology of the enteric nervous system. *Neuroscience*, 7 : 315-325, 1982
- 29) Schatzmann, H. J. : Action of acetylcholine and epinephrine on intestinal smooth muscle. In: Code, C. F. and Heidel, W. (eds.), *Handbook of physiology*, section 6, Alimentary Canal. vol. 4, Motility, pp. 2173-2191, American Physiological Society, Washington, DC, 1968
- 30) Furness, J. B. and Costa, M. : The enteric nervous system and the control of the mucosal epithelium and glands. In: Furness, J. B. and Costa, M. (eds.), *The Enteric Nervous System*. pp. 190-206, Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York, 1987
- 31) Furness, J. B. and Costa, M. : Sympathetic influences on gastrointestinal function. In: Furness, J. B. and Costa, M. (eds.), *The Enteric Nervous System*. pp. 207-238, Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York, 1987
- 32) Ferri, G.-L., Probert, L., Cocchia, D., Michetti, F., Marangos, P. J. and Polak, J. M. : Evidence for the presence of S-100 protein in the glial component of the human enteric nervous system. *Nature*, 297 : 409-410, 1982
- 33) Furness, J. B. and Costa, M. : Types of nerves in the enteric nervous system. *Neuroscience*, 5 : 1-20, 1980
- 34) Schultzberg, M., Hökfelt, T., Nilsson, G., Terenius, L., Rehfeld, J. F., Brown, M., Elde, R., Goldstein, M. and Said, S. : Distribution of peptide- and catecholamine-containing neurons in the gastro-intestinal tract of rat and guinea-pig: immunohistochemical studies with antisera to substance P, vasoactive intestinal polypeptide, enkephalins, somatostatin, gastrin/cholecystokinin, neurotensin and dopamine β -hydroxylase. *Neuroscience*, 5 : 689-744, 1980
- 35) Ferri, G. -L., Adrian, T. E., Ghatei, M. A., O'Shaughnessy, D. J., Probert, L., Lee, Y. C., Buchan, A. M. J., Polak, J. M. and Bloom, S. R. : Tissue localization and relative distribution of regulatory peptides in separated layers from the human bowel. *Gastroenterology*, 84 : 777-786, 1983
- 36) Keast, J. R., Furness, J. B. and Costa, M. : Distribution of certain peptide-containing nerve fibers and endocrine cells in the gastrointestinal mucosa in five mammalian species. *J Comp Neurol*, 236 : 403-422, 1985
- 37) Larsson, L. -I., Fahrenkrug, J., Schaffalitzky de Muckadell, O., Sundler, F., Håkanson, R. and Rehfeld, J. F. : Localization of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) to central and peripheral neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 73 : 3197-3200, 1976
- 38) Smith, T. K. and Furness, J. B. : Reflex changes in circular muscle activity elicited by stroking the mucosa : an electrophysiological analysis in the isolated guinea-pig ileum. *J Auton Nerv Syst*, 25 : 205-218, 1988
- 39) Furness, J. B., Bornstein, J. C., Smith, T. K., Murphy, R. and Pompolo, S. : Correlated functional and structural analysis of enteric neural circuits. *Arch Histol Cytol*, 52 (Suppl) : 161-166, 1989
- 40) Tawara, S., Nakazato, M., Kangawa, K., Matsuo, H. and Araki, S. : Identification of amyloid prealbumin variant in familial amyloidotic polyneuropathy (Japanese type). *Biochem Biophys Res Commun*, 116 : 880-888, 1983
- 41) Hanyu, N., Ikeda, S., Nakadai, A., Yanagisawa, N. and Powell, H. C. : Peripheral nerve pathological findings in familial amyloid polyneuropathy : a correlative study of proximal sciatic nerve and sural nerve lesions. *Ann Neurol*, 25 : 340-350, 1989
- 42) Gershon, M. D. and Erde, S. M. : The nervous system of the gut. *Gastroenterology*, 80 : 1571-1594, 1981

- 43) Sasaki, H., Sakaki, Y., Matsuo, H., Goto, I., Kuroiwa, Y., Sahashi, I., Takahashi, A., Shinoda, T., Isobe, T. and Takagi, Y. : Diagnosis of familial amyloidotic polyneuropathy by recombinant DNA techniques. *Biochem Biophys Res Commun*, 125 : 636-642, 1984
- 44) Mita, S., Maeda, S., Ide, M., Tsuzuki, T., Shimada, K. and Araki, S. : Familial amyloidotic polyneuropathy diagnosed by cloned human prealbumin cDNA. *Neurology (Cleveland)*, 36 : 298-301, 1986
- 45) 吉川隆子, 池田修一, 柳沢信夫, 矢沢正信, 羽生憲直 : 家族性アミロイドポリニューロパチーの自律神経障害に対する L-DOPS 療法の検討. *自律神経*, 24 : 113-121, 1987

(4. 5. 22 受稿)
