

Title	ラット咬筋神経損傷での三叉神経運動核におけるミクログリアの動態
Author(s)	永谷, 俊介
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34358">https://hdl.handle.net/11094/34358</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏名 ( 永谷俊介 )

論文題名

ラット咬筋神経損傷での三叉神経運動核におけるミクログリアの動態

論文内容の要旨

## 【目的】

末梢神経損傷により損傷ニューロンに形態学的変化を含めた種々の変化が起こることは知られているが、損傷ニューロン近傍のグリア細胞の動態については不明な点が多い。中枢神経系において、グリア細胞はミクログリア、アストロサイト、オリゴデンドロサイトに分類される。従来、グリア細胞はニューロンを栄養的、物理的に支持する受動的補助を行う細胞として考えられていた。しかしながら、近年、グリア細胞が細胞表面に種々の神経伝達に関わる因子やその受容体を発現していることが示され、ニューロンとグリア、及びグリア同士の情報伝達など、神経活動へ積極的に関与していることが明らかとなり、中枢神経系の生理的環境ならびに病的環境において、重要な役割を有していると考えられている。

咬筋神経は閉口筋である咬筋の感覚支配および運動支配を司り、顎運動の調節に深く関与する。従って、咬筋神経損傷による三叉神経節、三叉神経中脳路核の一次感覚ニューロンおよび三叉神経運動核 (Vmo) の運動ニューロンの変化やグリア細胞の動態を明らかにすることは極めて重要である。そこで、本研究では咬筋神経損傷に伴うVmoでの損傷ニューロンとミクログリアの動態を形態学的に検討した。

## 【材料と方法】

- ・実験動物と試料の作成：実験には6週齢のSprague-Dawley系雄性ラット46匹を用いた。抱水クロラル腹腔内投与の麻酔下にて、右側咬筋神経を剖出し切断した。切断後1、3、5、7、10、14日 (各群最低3匹) に4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定を行い、Vmoを含む脳幹部を摘出、同固定液で後固定を行った後、クライオスタットにて40 $\mu$ mの厚さの冠状断連続切片を作成した。
- ・免疫組織化学：薄切した切片に損傷ニューロンのマーカーであるactivating transcription factor 3 (ATF3)、ミクログリアのマーカーであるionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1) に対する抗体を用いて、ABC法にて免疫染色を行った。また、正常動物および切断7日後の試料は透過型電子顕微鏡でも観察した。
- ・定量解析：各時期におけるVmoでのATF3陽性を示すニューロンの数を計測した。また、Vmoの面積が最大となる部位の切片5枚についてVmoの面積とIba1陽性領域の面積を計測し、その割合を計算した。

## 【結果】

正常動物では、VmoにおいてATF3陽性反応は認められなかった。また、Iba1陽性反応は、細胞質が小さく数本の細長い突起を伸ばした形態を示すミクログリアに認められ、これらはVmoでほぼ均一に散在していた。透過型電子顕微鏡では、Vmoの運動ニューロンの細胞体にシナプスが認められた。

咬筋神経切断1日後では、切断側のVmoの運動ニューロンの核にATF3陽性反応が多数認められた。その数は時間経過とともに減少したが、切断14日後でも少数の運動ニューロンの核にATF3陽性反応が認められた。

切断側のVmoにおけるIba1陽性細胞の多くは細胞体が肥大化し、その突起は太く短く変化していた。これらのIba1陽性細胞はVmo内で、運動ニューロン近傍へ集積する傾向が認められた。切断後3～5日でIba1陽性反応を示す割合が最大となり、Iba1陽性細胞のほとんどがATF3陽性を示す運動ニューロンの近傍に集積していた。その後、Iba1陽性反応を示す面積の割合は正常動物のVmoや反対側のVmo

よりも有意に大きいものの徐々に減少していった。また、それらの形態も突起が徐々に細長くなっていった。切断7日後の運動ニューロンの微細構造を観察すると、正常運動ニューロンで認められたシナプスが消失し、核の変性像が確認された。

切断14日後でもIba1陽性反応を示す面積の割合は有意に大きいですが、Iba1陽性細胞は正常動物で認められ得たミクログリアとほぼ同じ形態を示す細胞が多くなり、その偏在も認められなくなった。

切断後のどの期間においても正常動物と反対側ではIba1陽性反応を示す面積の割合に有意の差は認められなかった。

#### 【結論】

本研究で、咬筋神経切断によりVmoのミクログリアは、細胞体が肥大化し、突起が太い活性型ミクログリアへと変化することがわかった。さらに活性型ミクログリアは神経切断により損傷を受けた運動ニューロンの近傍へ集積することがわかった。このとき損傷を受けた運動ニューロンは細胞死することも明らかになった。その後、活性型ミクログリアの数は徐々に減少した。このような形態学的変化より、ミクログリアは神経損傷によるニューロンの変化に直ちに応答し、活性型へと変化し、損傷ニューロンの変化に影響を及ぼしていると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 永 谷 俊 介 )		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 脇坂 聡
	副 査	教授 吉田 篤
	副 査	准教授 豊田 博紀
	副 査	講師 墨 哲郎
<b>論文審査の結果の要旨</b>		
<p>本研究では、ラット咬筋神経損傷時の三叉神経運動核における、損傷ニューロン近傍のミクログリアの動態を調べた。その結果、咬筋神経損傷により三叉神経運動核のミクログリアは、細胞体が肥大化し、突起が太い活性型ミクログリアへと変化することが明らかとなった。さらに活性型ミクログリアは損傷を受けた運動ニューロンの近傍へ集積することが認められた。この所見は、ミクログリアは末梢神経損傷によるニューロンの変化に応答して活性型へと変化し、損傷ニューロンに影響を及ぼしていることを示唆する。</p> <p>本研究の結果は、顎顔面口腔領域の末梢神経損傷による中枢神経系での損傷ニューロンとミクログリアの関係を理解する上で重要な知見であると考えられる。よって博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。</p>		