

Title	ラット蝸牛神経核におけるグルタミン酸脱炭酸酵素陽性神経成分の分布と微細構造について
Author(s)	白石, 孝之
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/35070
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【47】

氏名・（本籍）	しら	いし	たか	ゆき
	白	石	孝	之
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7110	号	
学位授与の日付	昭	和	61	年
学位授与の要件	学	位	規	則
学位論文題目	ラ	ット	蝸	牛
	神	經	核	に
	お	け	る	グ
	ル	タ	ミ	ン
	酸	脱	炭	酸
	酵	素	陽	性
	神	經	成	分
	の	分	布	と
	微	細	構	造
	に	つ	い	て
論文審査委員	(主	査)		
	教	授	松	永
			亨	
	(副	査)		
	教	授	眞	鍋
			禮	三
	教	授	塩	谷
			弥	兵
			衛	

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

γ -aminobutylic acid (GABA) は脊椎動物の脳内に高濃度に存在し、抑制性ニューロンの神経伝達物質として注目されてきた。GABAは聴覚系においては、下丘、蝸牛神経核内に、比較的多量に存在することが、組織化学的に証明されている。著者はGABAの蝸牛神経核内の役割を明らかにする目的で、免疫組織学的手法を用いて蝸牛神経核内のGABA神経支配の詳細を検討した。

(方法ならびに成績)

1. 方 法

免疫組織化学法を用いた。GABAの証明にはその合成酵素であるグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) を指標として用いた。GADに対する抗血清は家兎で作成し、ラジオイムノアッセイ及び組織化学的には、吸収試験でその特異性を確認した。

① 正常ラット蝸牛核内のGAD陽性構造の分布 (光顕による検討)

10匹のウイスター系雄性ラット (体重 100 - 120 g) を用いた。半数のラットにはコルヒチン前処置 (50~75 μ g / 100 g 体重, 第4脳室内注入) を行った。ザンボン液で経心臓的に灌流固定後, 1~2日間同液にて後固定し, 次に30%蔗糖含有磷酸緩衝液で洗浄後, 凍結切片を作成し, Coonsらの間接蛍光抗体法に供した。

② 切断実験

蝸牛神経核内のGAD陽性終末の起始を検討するために, 15匹のウイスター系雄性ラットを用い, 尖鋭なナイフにより, 脳定位器を用い, 蝸牛核の内側を矢状に切断した。切断4~7日後に, ①と同様に間

接蛍光抗体法にて反応させ観察した。

③ GAD陽性構造の微細構造（免疫電顕法による検討）

5匹のウイスター系雄性ラットを用いた。GADの証明にはPAP法（Peroxidase-antiperoxidase method）を用いた。Somogyi, Takagiらによる固定液にて灌流固定を行い、蔗糖含有リン酸緩衝液にて洗浄後、液体窒素にて急速凍結し融解後ビブラトームにて、70-80 μm の切片を作成した。PAP反応はGAD抗体で一〜二昼夜反応後、抗家兎IgGを第二抗体として反応させ第三抗体としてPAP試薬を用いた。次いでDAB反応を行い、1% OsO_4 にて後固定を行った。次にエチルアルコール系列にて脱水し、エポキシ樹脂にて包埋した。光顕にて、免疫反応陽性構造を同定後、超薄切連続切片を作成し、100CX型電子顕微鏡にて観察した。

2. 成績

① 蝸牛核におけるGAD陽性構造の分布

GAD陽性終末は背側蝸牛核および、腹側蝸牛核にびまん性に存在したが、腹側核では陽性終末が、細胞を取りまくように存在した。コルヒチン処理ラットでは、背側核にGAD陽性細胞が存在した。陽性細胞は、直径15-20 μm で紡錘形であった。

② 切断実験

蝸牛核の内側部で脳幹を矢状切断したが、背側核、腹側核内の陽性終末に変化はなく切断部位の両側にも陽性構造の蓄積はなかった。

③ GAD陽性構造の微細構造

蝸牛神経核内の、100余のGAD陽性終末について検討を加えた。腹側核では約43%の陽性終末が軸索-細胞体間のシナプスを形成した。シナプスは、GrayのII型又は対称型シナプスと呼ばれるタイプのものであった。付着する細胞の大きさは、18-23 μm で、ミトコンドリア、粗面小胞体などの膜成分に富む核にくびれのある細胞であった。約57%の陽性終末は軸索-樹状突起間のシナプスを形成し、付着す樹状突起の直径は平均0.71 μm と比較的小さく、細胞成分に乏しかった。背側核では、GAD陽性終末の大部分（約90%）が、軸索-樹状突起間のシナプスを形成した。樹状突起の直径は、比較的大きく（平均0.93 μm ）、細胞成分に富んでいた。約9%の陽性終末が、軸索-細胞体間のシナプスを形成しすべてが対称型シナプスであった。細胞体は直径16-20 μm で、細胞成分に富んでいた。

（総括）

ラット蝸牛神経核内のGABAについて、GADを指標とし免疫組織学的に検討した。GAD陽性終末は、背側核及び腹側核にびまん性に分布したが、腹側核では細胞をとり囲む様な特徴を示した。GAD陽性細胞は、背側核に、コルヒチン処理ラットにおいて出現した。聴覚末梢よりのGABA入力は、種々の報告によりほぼ否定されているので、今回行った切断実験により蝸牛神経核のGAD陽性終末の大部分がこれらの内在性の細胞より供給されることが明らかとなった。微細構造においても、背側核と腹側核は著しい差異を認めた。GAD陽性終末は、腹側核において43%もの高率で、軸索-細胞体間シナプスを形成した。背側核ではその多くが、軸索-樹状突起間シナプスを形成し、わずか9%が軸索-細胞体間シナプスを形成した。この差は近年、GABAをiontophoreticallyに、蝸牛核へ投与した際に腹側核と背側核とで異なった

抑制パターンをとったという報告を形態学的に支持しているものと解釈される。

論文の審査結果の要旨

本研究は、免疫組織学的手法を用い、ラット蝸牛神経核内の、ガンマアミノ酪酸(GABA)作動性神経の分布と微細構造を明らかにしたものである。GABA線維は蝸牛核の内でも、腹側核、背側核で異なった分布様式をとるといふ新知見が示され、この事実は電顕的にも確認された。将来、本研究は聴覚系における情報処理機構などの研究に対し寄与するものと思われる。

以上の事から、本研究は学位に値するものと認める。