



Title	舌下神経核におけるGABA作動性介在ニューロンの形態学
Author(s)	高須, 伸夫
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35306">https://hdl.handle.net/11094/35306</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【7】

氏名・（本籍）	たか 高	す 須	のぶ 伸	お 夫
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7 6 4 6	号	
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 日			
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	舌下神経核における GABA 作動性介在ニューロンの形態学			
論文審査委員	(主査) 教授 橋本 一成 (副査) 教授 津本 忠治      教授 藤田 尚男			

論文内容の要旨

〔目 的〕

延髄舌下神経核は、舌筋の運動を支配する大型の運動神経細胞により構成されているが、近年、それらとは形態学的特徴の異なる小型神経細胞の存在が報告され、介在ニューロンである可能性が示唆された。しかし、小型神経細胞の機能を解明する上で、これらが含有する神経伝達物質や、軸索の投射する部位を明らかにすることは重要な点であるにもかかわらず、それらに関する形態学的知見は甚だ乏しい。本研究において、我々は、抑制性神経伝達物質のひとつであるγ-アミノ酪酸（GABA）の抗体を用いた免疫細胞化学法をニホンザルの舌下神経核について行い、また、小型神経細胞の軸索がシナプス結合する部位を形態学的に直接証明するために、幼若ラットを用いてゴルジ電顕法による観察を行った。

〔方 法〕

1) 免疫細胞化学

ペントバルビタール麻酔下に、ニホンザル（体重 3～8 kg, 雄 1, 雌 4）を 0.5% グルタルアルデヒド、4% パラフォルムアルデヒド、0.2% ピクリン酸を含む 0.1M リン酸緩衝液（pH 7.4）で上行大動脈より灌流固定した。ピプラトームを用いて延髄の前頭断連続切片（50 μm 厚）を作成し、これに GABA 抗体（木村宏氏より）を 4℃ で 4 日間作用させた。次に、室温でビオチン化二次抗体を 2 時間、アビジン・ビオチン HRP を 1 時間作用させた後、DAB 反応を行った。切片をスライドガラス上に取り、自然乾燥脱水封入後、光顕観察に供した。電顕用には、DAB 反応した切片を、オスミウムによる後固定、酢酸ウランによるブロック染色、上昇エタノール系列による脱水を経て、Luveak resin に包埋した。

## 2) ゴルジ電顕法

生後10～15日の幼若ラット（体重20～25 g, 15匹）及び成熟ラット（体重250～350 g, 雄13, 雌6）を用いた。抱水クロラル麻酔下に、動物を1%グルタルアルデヒド, 1%（又は2%）パラフォルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）で上行大動脈より灌流固定した。延髄の前頭断スライス（1～3 mm厚）を, 3%重クロム酸カリ, 0.25%四酸化オスミウムを含む水溶液中に, 暗所・室温で4日間, 次いで0.75%硝酸銀水溶液中に2日間静置した。このスライスから150  $\mu$ m厚のビブラトーム切片を作成し, 光顕観察に供した。電顕用には, 切片を0.05%塩化金酸水溶液中に4℃で20分間, 0.05%蔞酸水溶液中に4℃で6分間, 1%チオ硫酸ソーダ水溶液中に室温で90分間浸すことにより, 銀を金に置換し, オスミウム再固定, ブロック染色, 脱水を経て, Durcupan resinに包埋した。

### [成績]

- 1) 大型の運動神経細胞はGABA抗体に染まらなかった。
- 2) GABA抗体に染まった細胞は, 卵円形又は紡錘形の小型神経細胞（径 $15 \times 9 \mu$ m）で, サル舌下神経核の全域にわたって分布していた。電顕的には細胞核は明瞭な核小体を有し, 核膜の深い陥入を示す。細胞体は比較的細胞質に乏しく, 粗面小胞体のラメラ状に発達したものは見られない。小型神経細胞上には球形のシナプス小胞を含むGABA陰性終末が少数存在したが, GABA陽性終末は観察されなかった。
- 3) GABA陽性を示す軸索終末が, サル舌下神経核内全域に散在していた。これらの終末の多くは, 運動神経細胞樹状突起にシナプスしており, それらの93%が多形態のシナプス小胞を含む対称型（Gray type II）シナプスを, 7%が球形のシナプスを小胞を含み, シナプス後膜下に電子密度の高い小体（Taxi bodies）を備える非対称型（Gray type I）シナプスを形成していた。運動神経細胞の細胞体にも少数の, 対称型シナプスを形成するGABA陽性終末が見られた。
- 4) ラットのゴルジ鍍銀標本において, 小型神経細胞は, 二次分枝の少ない2～3本の樹状突起を細胞体の両極又は中央部より派出し, 外側水平方向に向かう樹状突起の中には舌下神経核の外へ伸びているものも認められた。樹状突起棘はほとんど見られなかった。軸索は主に樹状突起基部より発しており, その全走行を追跡できた例においては, その軸索が, 運動神経細胞樹状突起上に複数個の終末球を形成しているのが観察された。電顕観察の結果, この終末は多形態シナプス小胞を含み, 対称型シナプスを形成していることが確認された。

### [考察及び総括]

- 1) 舌下神経核における小型神経細胞と大型神経細胞は, 光顕及び電顕レベルにおける形態学的特徴が異なり, かつ前者のあるものはGABA陽性を, 後者はGABA陰性を示し, 両者の間の機能的相違が強く示唆された。
- 2) GABA陽性シナプス終末の多くは, 運動神経細胞樹状突起上に見られ, これは, GABAによる抑制性作用が, 主に運動神経細胞樹状突起に働くと考えられる生理学的所見とよく一致する。
- 3) ゴルジ電顕法により, 小型神経細胞の軸索が運動神経細胞樹状突起にシナプス終末を形成することが示された。このことから, 小型神経細胞が局所的な回路を舌下神経核内に形成し, GABA作動性抑

制性介在ニューロンとして働いていることが示唆された。

### 論文の審査結果の要旨

本研究は、抑制性神経伝達物質のひとつとして知られるγ-アミノ酪酸（GABA）の抗体を用いた免疫細胞化学を延髄舌下神経核について行い、舌下神経核小型ニューロンがGABAを含有すること、GABA含有軸索終末が舌下神経運動ニューロンの、主に樹状突起上に見られることを、光顕及び電顕レベルにおいて証明した。次いで、ゴルジ電顕法を用いて、小型ニューロンの軸索が運動ニューロンに直接シナプス結合することを初めて示し、舌下神経核小型ニューロンがGABA作動性抑制性介在ニューロンとして機能していることを明らかにした。このように本研究は、ニューロンの機能特性を解明する上で必要な、より直接的な形態学的細胞化学的裏付けを、光顕及び電顕レベルにおける詳細な観察により示し、複雑な筋運動を制御する神経機構を考える上で、ひとつの重要な形態学的所見を提供したもので、医学博士の学位に値すると考えられる。