



Title	ラット線条体におけるドーパミン終末と各種神経活性物質含有神経とのシナプス相関について
Author(s)	窪田, 芳之
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35978">https://hdl.handle.net/11094/35978</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

【5】

氏名・(本籍)	窪 田 芳 之
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8082 号
学位授与の日付	昭 和 63 年 3 月 25 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	ラット線条体におけるドーパミン終末と各種神経活性物質含有神経とのシナプス相関について
論文審査委員	(主査) 教 授 塩谷弥兵衛 (副査) 教 授 津本 忠治 教 授 遠山 正彌

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

線条体は、運動機能の調節に深く関与し、重要な働きを担っている事が広く知られている。近年免疫組織化学的手法により、線条体には、アセチルコリン (Ach), GABA, エンケファリン (ENK), サブスタンス P (SP), ニューロペプチド Y (NPY) を始めとする種々の神経伝達物質や修飾物質を含有する細胞が存在する事が明らかにされた。また、黒質緻密部のドーパミン (DA) 細胞が線条体へ投射し豊富な線維網を形成している事も知られている。これらの神経間の化学的回路網を明らかにする事は、錐体外路系の機能の解明に必要であると考えられる。従って本研究では、免疫電顕ミラー法、或は免疫電顕二重染色法を用いて、線条体での DA 線維と各種神経細胞とのシナプス相関について検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

それぞれ ENK, SP, Ach もしくは GABA 細胞と DA 終末とのシナプス相関の検索は免疫電顕ミラー法にて、また NPY 細胞と DA 終末とのシナプス相関の検索は免疫電顕二重染色法にて行った。まず、免疫電顕ミラー法の概略を示す。動物は Wistar 系雄ラット (体重 50-150 g) を用いた。ピクリン酸含有グルタル・パラフォルムアルデヒド混液にて灌流固定を行い、線条体部位のビブラトーム連続切片 (50  $\mu$ m) を作成した。この連続切片を交互に 2 組に分け、その一方の組を抗 ENK 抗体、抗 SP 抗体、GABA の生合成酵素であるグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) に対する特異抗体或は Ach の生合成酵素であるコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) に対する特異抗体のうちどれか一つの抗体で、またもう一方の組は、カテコールアミンの生合成酵素であるチロシン水酸化酵素 (TH) に対す

る特異抗体でそれぞれ反応した。これらの連続切片をそれぞれPAP反応し、オスミウム固定後スライドガラス上でエボン包埋した。そして光顕にて隣接する連続切片上のペアとなる部位を確認し、写真を撮り、電顕観察を行った。次に、免疫電顕二重染色法の概略であるが、上記と同様にビブラトーム切片を作成し、まず抗NPYラビット抗体で反応し、次にプロテインAコロイダルゴールド複合体で反応し銀増感反応にて可視化した。次に、それらの切片を抗THラット抗体で反応しPAP反応を行った。そしてオスミウム固定後スライドガラス上でエボン包埋し、光顕観察の後電顕観察を行った。観察には、透過型電顕Hitachi H-600を用いた。

ラット線条体において、線条体細胞全体の35-50%がENK陽性細胞、30-35%がSP陽性細胞、5-8%がChAT陽性細胞、1-2%がNPY陽性細胞、10-20%がGAD陽性細胞であった。またENK陽性細胞及びSP陽性細胞は中型有棘細胞、NPY陽性細胞は中型無棘細胞、ChAT陽性細胞は細胞体へのシナプス入力のないtype 1大型細胞、GAD陽性細胞は、中型有棘細胞、中型無棘細胞、大型細胞すなわちtype 1大型細胞と細胞体へのシナプス入力の多いtype 2大型細胞であった。また、これらの線条体細胞とTH陽性終末とのシナプス相関について検討を加えた結果、ENK、SP、ChAT、NPY、GAD全ての細胞体及び樹状突起近位部を取り囲む様にTH陽性線維が接していた。これらのTH陽性線維は、細長く伸び(0.1-0.4 $\mu$ m径)、シナプス構造を示す頻度は低く(20-30%)、シナプス領域もわずかであった(0.1-0.3 $\mu$ m幅)。また検討を加えたENK陽性細胞50個のうち15個(約30%)が、SP陽性細胞33個のうち19個(約58%)が、ChAT陽性細胞18個のうち10個(約56%)が、NPY陽性細胞18個のうち8個(約45%)が、3つのtypeのGAD陽性細胞はそれぞれ中型有棘細胞12個のうち10個(約83%)、中型無棘細胞11個のうち8個(約73%)、大型細胞11個のうち6個(約55%)がTH陽性線維とシナプス結合を示していた。

#### 〔総括〕

THはカテコールアミンの生合成酵素であるが、ラット線条体のノルアドレナリン含量は少なくDA含量が非常に多いので本実験で認められたTH陽性線維はDA線維であろうと考えられる。また、線条体のDA線維は黒質緻密部のDA細胞由来である事が知られている。従って本実験で得られた結果は、黒質一線条体路のDA細胞が、線条体のENK細胞、SP細胞、Ach細胞、NPY細胞及びGABA細胞にシナプス結合していることを形態学的に示すものである。この事から、黒質一線条体路のDA細胞は線条体においてその直接的な影響を、ある特定の細胞集団にのみ与えているのではなく、ほとんどの細胞に対して与えているのではないかと考えられる。線条体でのDA終末を中心とする以上のような回路網が、錐体外路系の機能にどのような役割を果たしているのかは不明である。錐体外路系にはその機能に対応する為、さらに複雑な回路の存在が想像される。今後、さらに多くの回路を明らかにする事が求められる。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、線条体において黒質由来のドーパミン線維とそれぞれアセチルコリン細胞、GABA細胞、エンケファリン細胞、サブスタンスP細胞、ニューロペプチドY細胞とのシナプス相関を形態学的に研究したものである。なお、ドーパミン、アセチルコリン、GABAの証明にはそれぞれの生合成酵素に対する特異抗体を用いている。その結果、線条体のドーパミン線維はそれぞれの神経細胞に対してシナプスを形成していることを証明し、線条体におけるドーパミンの幅広い影響を示唆している。本研究は錐体外路系の機能解明の一環として、以上のような化学的神経回路を明らかにした点で高く評価されるものである。