



Title	Corticotropin-releasing factor-like immunoreactive nerve fibers in the rat superior cervical ganglion and their fine structures
Author(s)	Wanaka, Akio
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36016">https://hdl.handle.net/11094/36016</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	わ	なか	あき	お
	和	中	明	生
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8122	号	
学位授与の日付	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	上頸部交感神経節における化学的神経回路—免疫組織化学的検討—			
論文審査委員	(主査)	教授 鎌田 武信		
	(副査)	教授 遠山 正弥 教授 宮井 潔		

### 論文内容の要旨

#### [目的]

脳循環の調節因子として神経性調節は重要な役割を担っており、その病態との関わりについても各種報告がなされてきている。なかでも上頸部交感神経節（SCG）を起始とする交感神経については古くよりその脳血管への投射分布が証明され、血管運動調節作用を行っていることが形態、薬理、生理学的に明らかとされてきている。しかしながら、この交感神経の作用を明らかにするためにはその神経への入力系を含めた神経回路の解明が必要不可欠と考えられる。本研究では、免疫組織化学的手法を用いた詳細な検討を加えることにより、その入力系を明らかとすることを目的とした。

#### [方法並びに成績]

動物はモルモット（雄、体重約150g）及びSD系ラット（雄、体重約100g）を用いた。検索した神経ペプチド（9種）の内、SCG内にはCorticotropin releasing factor（CRF）およびLeu-Enkephalin（ENK）が密に分布することを認めたので以下この二種のペプチドの分布、投射及びそれらとノルアドレナリンを含む主細胞、ドーパミンを含むSIF細胞との相関に焦点を絞り検索を行った。ノルアドレナリンやドーパミン神経の証明にはそのマーカーとしてこれらの合成酵素であるTyrosine hydroxylase（TH）を用いた。CRF、ENK及びTHの可視化には免疫組織化学を用い、抗CRF及びENK抗体はラビットで作成したポリクローナル抗体を、THの証明にはマウスで作成したモノクローナル抗TH抗体を用いた。各々の特異性はRIA法及び吸収試験により確認した。

光顕的検討 動物をZamboni液（0.2%ピクリン酸、4%パラホルムアルデヒド、0.1M磷酸緩衝液）で灌流固定後、SCGを摘出し厚さ約10 $\mu$ mの凍結切片を作成、間接蛍光抗体法及び二重標識間接蛍光

抗体法（THとCRFを同一切片にて観察可能とする）に供した。

電顕的検討 動物を電顕用Zamboni液（Zamboni液+0.05%グルタルアルデヒド）で灌流固定後、SCGを摘出しビプラトームにて厚さ約20 $\mu$ mの切片を作成、免疫電顕法に供した。

付加的な手術及び薬物投与 CRFやENK線維の起源を明らかとする目的で、一部の動物ではSCGの節前線維束を切断後4日目に灌流固定を行い上記操作に供した。また一部の動物では灌流固定に先立ちコルヒチン（神経軸索流遮断効果を有する）を4mg/kg腹腔内投与し、4日後上記操作に供した。

以下に検討結果を示す。

1) CRF 光顕的検討 TH陽性神経節主細胞を取り巻くCRF免疫陽性のvaricose fiberが多数認められた。またSCG内にはCRF免疫陽性細胞は認められず、コルヒチン処置を行った動物のSCGにおいても同様の結果であった。神経節に侵入する神経束内にCRF陽性神経束も存在し、このことよりSCG内のCRF fiberは外来性であることが示唆された。次に節前神経束切断後のSCGではCRF免疫陽性構造は消失しており、以上の事よりSCG内のCRFは節前神経に含まれることが明らかとなった。

電顕的検討 電顕下において、CRF免疫陽性終末が主細胞の細胞体や樹状突起とシナプスを形成する像が認められた。またごく稀にはあるが、CRF陽性終末と免疫非陽性終末の間にAxo-axonicシナプスも認められ、vesicle集積像よりCRF含有神経が他の神経によりpresynapticな調節を受けていることが示唆された。

2) ENK 光顕的検討 間接蛍光抗体法により、SCG内主細胞を取り巻くENK免疫陽性のvaricose fiberが豊富に認められた。また主細胞よりも小型で集団を形成する陽性細胞群も認められた。これは形態学的特徴より神経節内local circuit neuronであるSIF細胞と考えられた。節前神経束切断後のSCGでは、ENK陽性線維は一部を残して消失しており、ENK陽性細胞とその近傍の線維には変化が認められなかった。以上の事から、SCG内のENK systemには節前神経由来のものとSIF細胞由来のもの2種が存在することが示唆された。

電顕的検討 ENK陽性終末には小型小胞のみよりなるものと小型小胞及び大型有芯小胞の両者を含むものの二種類が認められた。前者は主として主細胞の樹状突起とシナプスを形成しており節前線維の切断により消失した。後者は節前線維の切断によっては消失せず、その一部は主細胞の樹状突起とシナプスを形成していた。以上の事から、SCG内節後神経は二種のENK system（節前線維及びSIF細胞）により情報入力を受けていることが明らかとなった。

[総括]

1) 脳循環の交感神経性調節をつかさどるSCG内節後神経への情報入力を形態学的側面より検討した。

2) CRFが節前神経に含まれ、この神経が交感神経節後神経に直接シナプス結合することを初めて明らかとした。

3) ENKが節前神経のみならず神経節内SIF細胞にも含まれ、この両者が節後ニューロンにシナプスを形成していることを明らかとした。

4) 従来, 交感神経節後神経への入力系としてはアセチルコリンをトランスミッターとする節前神経が知られていたが, 本研究において新たにCRF, ENKなどの神経ペプチドによる情報入力存在を明らかとした。

#### 論文の審査結果の要旨

本研究は脳循環の交感神経性調節をつかさどる上頸部交感神経節において, 神経節内節後神経にCorticotropin releasing factorやLeu-Enkephalinなどの神経ペプチド作動性神経が情報入力を行っていることを免疫組織化学的手法を用いて明らかにしたものである。従来定説とされてきたアセチルコリン作動性節前神経以外にも上記神経ペプチド作動性神経による機能調節が存在することは, 脳循環統御機構を解析する上で重要な知見であり学位論文として価値あるものとする。