



Title	The Degree of GABA Immunoreactivity Is Related with Neuronal Size in the Thalamic Reticular Nucleus of the Japanese Monkey, <i>Macaca Fuscata</i>
Author(s)	中谷, 利夫
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38268
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	なか たに とし お 中 谷 利 夫
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 10556 号
学位授与年月日	平成5年3月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	The Degree of GABA Immunoreactivity Is Related with Neuronal Size in the Thalamic Reticular Nucleus of the Japanese Monkey, <i>Macaca Fuscata</i> (ニホンザル視床網様核におけるGABA作動性ニューロンの大きさと免疫組織化学反応の程度の相関)
論文審査委員	(主査) 教授 橋本 一成 (副査) 教授 塩谷弥兵衛 教授 遠山 正彌

論文内容の要旨

(目的)

視床網様核（以下、網様核）は外側髓板に接しており、視床皮質路及び皮質視床路が経由する重要な神経核である。Houserら（1980）がラットの網様核で免疫組織化学的にグルタミン酸脱炭酸酵素活性を示すニューロンを報告して以来、この核におけるγ-アミノ酪酸（GABA）陽性細胞やGABAトランスマニナーゼ陽性細胞の存在が各種哺乳類で報告されている。しかし、サルの免疫電顕レベルでの報告はまだ無い。我々は先にサルの舌下神経核において、免疫電顕及び電顕ゴルジ法によってGABA陽性介在ニューロンの存在を報告したが、本研究では、まず光顕ゴルジ鍍銀法を用いてサル網様核ニューロンを大きさによって分類し、次いで、光顕及び電顕GABA免疫組織化学法を用いて反応の強弱が細胞の大小に相關することを示し、更にGABA陽性構造の微細形態を明らかにする。

(方法)

ニホンザル（3～8 kg、雌雄）6頭を低体温深麻酔下で、4%パラホルムアルデヒド、0.5%グルタルアルデヒド、0.2%ピクリン酸を含む0.1 Mリン酸緩衝液（pH7.4）で上行大動脈より灌流固定した。間脳を切出した後、マイクロスライサーにて150 μmおよび50 μmの厚さの前額断連続切片を作成し、それぞれゴルジ鍍銀用および免疫組織化学用に供した。

1) ゴルジ鍍銀用

「切片ゴルジ鍍銀法」に従って、連続切片を10～15枚づつ積み重ね、周囲を寒天で固めた。このブロックを暗所、室温で2.3%の重クロム酸カリ、0.19%四酸化オスミウム水溶液中に6～7日間、ついで0.75%硝酸水銀溶液中に24～36時間静置した。更に前者の液に2～4日間、次いで後者の液に48時間静置を2回繰り返した。最後に前者の液に2～4日間、後者の液に72時間静置したのち、切片を再び分離し、透徹にはキシレンに替えてレモン抽出物より精製したHemo Deを用い、Dammar resinで封入し、光顕にて観察した。

2) GABA免疫組織化学

切片に抗GABA抗体（木村 宏氏の好意による）を4°Cで4日間作用させ、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。光顕観察用には一部、ニュートラルレッドによる後染色を施した。電顕観察にはDAB反応後の切片を四酸化オスミウムで後固定、酢酸ウランでブロック染色し、上昇エタノール系列脱水を経て、Luveak resinに包埋、超薄切片に作製した。

(成 績)

- 1) ゴルジ鍍銀法により、網様核のニューロンは大・中・小型の3群に分類できた。大型細胞の細胞体は涙滴型（平均 $26.3 \mu\text{m} \times 13.5 \mu\text{m}$ ）で長軸は左右方向を示す。中型細胞の細胞体は紡錐形又は卵円形（平均 $20.5 \mu\text{m} \times 13.5 \mu\text{m}$ ）。小型細胞の細胞体も多くは紡錐形又は卵円形（平均 $13.8 \mu\text{m} \times 8.8 \mu\text{m}$ ）であるが、その他円錐形、マッチ箱形なども存在した。小型細胞の長軸の多くは、前額断で外側髓板と接線方向を成していた。中・小型細胞の樹状突起には数珠状を呈するものが数多く認められたが、樹状突起棘は見出されなかった。ただし網様核尾側 $1/3$ の小型細胞には数珠状の樹状突起は認められなかった。
- 2) GABA 免疫組織化学法の光顕観察において、免疫反応を示さない大型（平均 $22.3 \mu\text{m} \times 14.5 \mu\text{m}$ ）の涙滴型細胞と、これを取り囲むように位置する GABA 陽性の点状構造物が認められた。電顕観察により、この点状構造物は主に GABA 陰性の樹状突起に対称性にシナプスする神経終末であることがわかった。免疫反応が中程度の細胞体は紡錐形又は卵円形で中型（平均 $17 \mu\text{m} \times 12.5 \mu\text{m}$ ）であった。強い免疫反応を示した細胞は小型（平均 $12.3 \mu\text{m} \times 8 \mu\text{m}$ ）のもので、その細胞体は円錐形、紡錐形、卵円形を示した。
- 3) GABA 陽性小型細胞の電顕像は著明な核膜の陥入と、発達の悪い粗面小胞体を含むわずかな細胞質が特徴的であった。免疫反応産物はミトコンドリアや小胞体の膜に付着していたが、ゴルジ装置には認められなかった。免疫反応産物はまた核にも存在したが、核小体には認められなかった。GABA 陽性細胞体にシナプスする神経終末はほとんど認められなかつたが、GABA 陽性樹状突起に GABA 陰性神経終末が対称性及び非対称性にシナプスしていた。一方 GABA 陰性樹状突起に対称性にシナプスを形成する GABA 陽性神経終末があり、透明で球状のシナプス小胞を容れていた。

(総 括)

1. ゴルジ鍍銀法と GABA 免疫組織化学法により、大型で GABA 陰性、中型で GABA 弱陽性、小型で GABA 強陽性の3群のニューロンを見出した。
2. 網様核の中 $1/3$ に位置する中・小型ニューロンには、介在ニューロンの特徴の一つとされる数珠状構造を示す樹状突起が観察された。
3. GABA 陽性を示した小型細胞の電顕像は、核膜の深い陥入と発達の悪い粗面小胞体を容れた乏しい細胞質を示し、GABA 陰性の終末を樹状突起に受けていた。
4. 以上、ニホンザルの網様核において、舌下神経核介在ニューロンと同様の微細形態を示す GABA 作動性介在ニューロンの存在を同定した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ニホンザルの視床網様核について、光顕ゴルジ鍍銀法によりニューロンの形態を観察し、他方、抗 GABA 抗体を用いて光顕および電顕免疫組織化学的観察を行い、この両者を対比して小型神経細胞が GABA 作動性の介在神経であることを示したものである。

鍍銀染色の結果、涙滴型の細胞体をもち長軸が左右方向を示す大型細胞と、紡錐形または卵円形の細胞体をもち長軸が上下方向を示す中型細胞と、同じく長軸が外側髓板と接線方向を成す小型細胞が同定され、そのうちの中・小型細胞には、介在ニューロンの特徴の一つとされる数珠状構造を有する樹状突起が認められた。

GABA 免疫組織化学法では、光顕観察で免疫反応を示さない大型の涙滴型細胞と、これを取り囲むように位置する GABA 陽性点状構造物を認め、電顕観察により、これは GABA 陰性細胞にシナプスする神経終末であることがわかつた。弱陽性を示した細胞は中型、強陽性を示した細胞は小型で、紡錐形あるいは卵円形の細胞体を示した。

GABA 陽性小型細胞の電顕像は、著明な核膜の陥入と乏しい細胞質が特徴的で、反応産物はミトコンドリアやシナプス小胞、核に付着していたが、ゴルジ装置や核小体には認められなかつた。GABA 陽性樹状突起には GABA 陰性神経終末が、対称性あるいは非対称性にシナプスしていた。一方、GABA 陰性樹状突起に対称性にシナプスを形成する GABA 陽性神経終末があり、透明で球状のシナプス小胞を容れていた。

以上、高次機能に重要な視床網様核の GABA 作動性介在ニューロンをサルに於いて初めて同定したもので、博士の学位に相当する研究と認める。