



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 谷 利 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 5 5 6 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)は外側髄板に接しており、視床皮質路及び皮質視床路が經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 トランスアミ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 陽性存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関することを示し、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℃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錘形又は卵円形(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錘形又は卵円形(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、前額断で外側髄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錘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、紡錘形、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ったが、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、涙滴型の細胞体を持ち長軸が左右方向を示す大型細胞と、紡錘形または卵円形の細胞体を持ち長軸が上下方向を示す中型細胞と、同じく長軸が外側髄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った。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、紡錘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った。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。