



Title	Calcium-binding proteins calbindin and parvalbumin in the superficial dorsal horn of the rat spinal cord
Author(s)	Yoshida, S.
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3090022">https://doi.org/10.11501/3090022</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	吉田成孝
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 1 0 3 4 6 号
学位授与年月日	平成 4 年 6 月 8 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	Calcium-binding proteins calbindin and parvalbumin in the superficial dorsal horn of the rat spinal cord  (ラット脊髄後角におけるカルビンディンとパルプアルブミン)
論文審査委員	(主査) 教授 塩谷弥兵衛  (副査) 教授 遠山 正彌 教授 祖父江憲治

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

2つのカルシウム結合蛋白カルビンディン (CB) とパルプアルブミン (PV) は中枢神経内に広く分布しており細胞内の  $Ca^{2+}$  貯蔵, 運搬に重要な役割を果たしていると考えられている。また, 虚血時及び神経疾患における神経細胞死との関連も注目されている。これまでに, 嗅球, 大脳皮質, 海馬, 小脳を含む中枢神経や脊髄後根神経節, 腹腔神経節等の末梢神経系におけるこれらの蛋白の分布の報告はすでにある。また, ニワトリやラット脊髄後角ではこれら両蛋白が見いだされているが, これらを含む細胞の投射や微細構造を含む詳細はまだ不明である。本研究では, これら2つの蛋白のラット脊髄後角における分布, 投射, 微細構造, 各種神経ペプチドとの共存について免疫組織化学的に検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

60-100g のウィスター系雄性ラットを用いた。

1. CB, PV の脊髄後角内での分布は, Zamboni 固定液で灌流固定した L<sub>4</sub> レベルの脊髄より, 前頭断及び矢状断の凍結切片を作成し, 家兎により作成した抗 CB 抗体, 羊により作成した抗 PV 抗体を用いて, 間接蛍光抗体法及び, PAP 法を行い, 観察した。CB 免疫陽性ニューロンは後角の全層に存在したが, 特に I, II 層に多く観察された。I 層の細胞の一部は, 直径 17-21  $\mu$ m の Waldeyer 細胞であると思われた。II, III 層の CB 陽性ニューロンは直径 10-13  $\mu$ m の小型細胞で, 矢状断切片の観察では, 樹状突起は紡錘形に分岐して広がっており, その形態から, islet 細胞であると考えられる。CB 陽性線維は, I, II 層に密な線維網を形成していた。PV 免疫陽性ニューロンは CB 免疫陽性ニューロンより数は少なく, その多くは, II 層の内層 (IIi) に存在し, 一部は III 層にも存在した。これらのニューロンの樹状突起の形態からこれらの細胞も islet 細胞であると考えられる。PV 免疫陽性線維は, II i に多く認められた。
2. 脊髄 L<sub>4</sub> に入力する後根の切断を行い, 10日後の CB, PV 陽性線維の変化を観察した。CB, PV 陽性線維共に後根切断による変化は認められなかった。従って, これら線維の大部分は脊髄内の細胞のものであると考えられる。

3. CBとPVの細胞内共存を見るために、同一切片上での二重染色を行った。CB、PVともに陽性を示すニューロンは認められなかった。CB免疫陽性ニューロンとPV免疫陽性ニューロンは異なった subpopulation を形成していることが示唆された。
4. 神経ペプチドとCB、PVの共存の検討を家兎で作成された抗ニューロテンシン (NT)、抗サブスタンスP (SP)、抗エンケファリン (ENK)、抗ソマトスタチン (SOM) 抗体と羊で作成した抗CBまたは抗PV抗体を用いて同一切片上の二重染色法により行った。NT陽性ニューロンでCBも同時に免疫陽性を示すものは74.6%、ENK、SP、SOMではそれぞれ45.8%、44.4%、46.4%であった。これらペプチド陽性ニューロンでPV免疫陽性を示すものは観察されなかった。
5. 頸髄 (C<sub>1</sub>) にファストブルーを注入し、腰髄 (L<sub>1</sub>) においてCBもしくはPV免疫陽性ニューロンが逆行性に標識されるかを検討した。I層においてはCB陽性を示すニューロン中約32%がファストブルー標識され、I層中の一部のCBニューロンは上位脳への投射ニューロンであることが示唆された。II、III層のCBニューロンとPV陽性ニューロンは逆行性の標識はされず、介在ニューロンであると思われる。
6. 電子顕微鏡による微細構造の観察を正常ラットと後根切断後2日のラットにおいて preembedding 法により行った。

CB. CB陽性細胞体、樹状突起、軸索及び軸索終末が観察された。細胞体の免疫反応性は樹状突起のものよりも弱かった。CB陽性樹状突起はCB非陽性の終末とシナプスを形成していた。後根切断を行ったラットでは、変性終末とシナプスを形成しているものも認められた。CB陽性終末でCB陰性の樹状突起とシナプスを形成しているものも認められた。PV. PV陽性細胞体、樹状突起が認められたが、陽性軸索終末はほとんど認められなかった。PV陽性樹状突起は、PV陰性の終末とシナプスを形成しているものが認められた。後根切断ラットでは、変性終末とシナプスを形成しているものも認められた。

〔総括〕

1. ラット脊髄後角におけるCB、PVの陽性構造を免疫組織化学的に検討した。
2. CB陽性ニューロンとPV陽性ニューロンは異なった subpopulation を形成していると思われる。
3. 電子顕微鏡による観察より、CB、PV陽性線維の大部分は樹状突起であった。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、2種類のカルシウム結合蛋白カルビンディン、パルプアルブミンに対する抗血清を用いて脊髄後角におけるこれらの蛋白含有細胞の分布、投射、神経活性ペプチドとの共存及び微細構造について検討した。

その結果、これら2種の蛋白を含有する細胞はそれぞれ異なった subpopulation に属することが明かとなり、またニューロテンシン、エンケファリン、サブスタンスP及びソマトスタチン陽性のニューロンは一部がカルビンディンのみと共存することも示された。また、微細構造の検討により、脊髄後角の陽性線維の多くは樹状突起であることも示された。

本研究の結果はカルシウム結合蛋白の知覚伝達系における重要性を示す新しい知見を与えるものであり、学位に値すると考えられる。