



Title	Synaptic contact between vestibular afferent nerve and cholinergic efferent terminal : its putative mediation by nicotinic receptors
Author(s)	大野, 浩司
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/38894">http://hdl.handle.net/11094/38894</a>
DOI	
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

氏名	おおのこおし 大野浩司
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11315 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	<b>Synaptic contact between vestibular afferent nerve and cholinergic efferent terminal: its putative mediation by nicotinic receptors</b> (ラット内耳における前庭遠心性線維の神経伝達に関する研究: ニコチン性アセチルコリン受容体の関与について)
論文審査委員	(主査) 教授 久保 武 (副査) 教授 遠山 正彌 教授 塩谷弥兵衛

## 論文内容の要旨

## 【目的】

前庭情報は三半規管, 耳石器によって受容され, その情報は前庭求心性神経を経て中枢へ伝えられる。前庭遠心性神経系はこれに対し脳幹から内耳迷路へ投射し, 中枢へ伝達される情報を内耳レベルで修飾する機能を有すると考えられている。以前の研究より前庭遠心性の神経伝達にアセチルコリン (Ach) が関与することが示唆されていたが, その詳細については不明な点が多く残されている。本研究では Ach の遠心性神経系内での分布様式, 他の神経活性物質との共存, そして標的組織に発現している受容体の種類について, 免疫組織化学・in situ ハイブリダイゼーション法を用い形態的に検討した。

## 【方法ならびに結果】

以下の実験にはウイスター系雄性ラット (100 - 200 g) を使用した。

## (1)前庭末梢器官での Ach 神経系の分布について

Ach 合成酵素である choline acetyltransferase (ChAT) に対する抗体を用い, 免疫組織化学法により三半規管膨大部稜・平衡斑における Ach 性神経線維の分布について検討した。ChAT 陽性線維は感覚上皮層の基底部, 感覚細胞間に認められ, さらに電子顕微鏡による観察では ChAT 陽性神経終末が I 型感覚細胞を取り巻く前庭求心神経にシナプスを形成している像が認められた。

## (2)前庭遠心性神経系の起始核における Ach 含有細胞の分布

Ach 性線維の起始核の同定のため, 逆行性トレーサー fluoro gold (FG) をラット内耳卵円窓より注入し前庭遠心性ニューロンを標識した。さらに同一ラットを48時間後 Zamboni 液にて灌流固定し, Ach 含有細胞を抗 ChAT 抗体を用いて標識した。FG で標識されたニューロンは, 脳幹において顔面神経膝の背外側, 内側そして橋網様体に認められ, さらに FG 標識ニューロンの90%が同時に抗 ChAT 抗体で2重標識された。

## (3)前庭遠心性ニューロンでの Ach とカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の共存について

前庭感覚上皮での ChAT 陽性線維の分布は CGRP 陽性線維の分布と類似しており, Ach と CGRP が同一ニューロンに含有されていることが推察された。これを証明するため, ラット下位脳幹の厚さ7 $\mu$ m の連続切片を作製し, 抗 ChAT 抗体, 抗 CGRP 抗体で免疫組織反応を行なった。CGRP 陽性細胞は上記の起始核のうち背外側部のみに認められ, ChAT 陽性細胞の約55%が CGRP 陽性を示した。逆に CGRP 陽性細胞のほぼすべてが ChAT 陽性を示した。

#### (4)前庭末梢器官に分布する Ach 受容体について

電顕で確認された前庭求心性線維とのシナプスに関与する Ach 受容体の種類を明らかにするため、前庭神経節においてニコチン性 Ach 受容体サブユニットの遺伝子発現を cRNA プローブを用いた in situ ハイブリダイゼーション法で検討した。神経型ニコチン性 Ach 受容体を構成する  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\beta 2$  サブユニットのうち、前庭神経節では  $\alpha 4$ ,  $\beta 2$  サブユニット mRNA の発現を認めた。それらの発現パターンは  $\alpha 4$  サブユニット mRNA が前庭神経節細胞の約 20% に強く発現していたのに対し、 $\beta 2$  サブユニット mRNA は神経節細胞の 90% に発現していたが  $\alpha 4$  サブユニット mRNA に比べると低い発現レベルであった。

#### (5)内耳損傷による前庭遠心性ニューロンでの神経活性物質の変化について

一般に末梢神経軸索が障害を受けると、その神経細胞内で各種生理活性物質の転写活性が変化することが知られているが、内耳に障害を加えると損傷を受けた内耳に投射する前庭遠心性ニューロンにガラニン、成長関連蛋白 43 (GAP-43) が新たに産生されることを免疫組織化学・in situ ハイブリダイゼーション法を用い明らかにした。

#### 【総括】

(1)前庭遠心性ニューロンの 90% 以上が ChAT 陽性であることから、前庭遠心性神経系においてアセチルコリンは神経伝達物質として中心的な役割を果たしていると考えられる。

(2)CGRP 陽性前庭遠心性ニューロンは同時に ChAT 陽性を示すことから、運動神経と同様に CGRP がアセチルコリンの作用を修飾している可能性が示唆された。

(3)ChAT 陽性神経終末が I 型感覚細胞を取り巻く前庭求心性線維にシナプスを形成しており、前庭神経節細胞にニコチン性アセチルコリン受容体  $\alpha 4$ ,  $\beta 2$  サブユニットが発現していることから、内耳での前庭遠心性線維から求心性線維への神経伝達にニコチン性受容体が関与している可能性が示唆された。

(4)前庭遠心性ニューロンはアセチルコリン、CGRP に加え、内耳損傷によってガラニンを産生することが明らかとなった。神経活性物質の含有および発現調節はいずれも今までに運動ニューロンに知られていたものであり、前庭遠心性ニューロンが運動ニューロンと類似した性格を有する細胞であることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は前庭遠心性系の神経伝達を神経伝達物質の分布、受容体の遺伝子発現の面から検討したものである。その主な成果としては、まず前庭遠心性線維がアセチルコリン作動性線維、アセチルコリン+CGRP 作動性線維の 2 つに分類されることを明らかにしたことにある。そして CGRP 作動性線維と同様、アセチルコリン作動性線維も前庭求心性線維にシナプスを形成することを電子顕微鏡によって証明し、前庭求心性線維へのアセチルコリン+CGRP 作動性遠心性線維の入力を明らかにした。さらにこの入力系の神経伝達にニコチン性アセチルコリン受容体が関与していることを前庭神経節における受容体蛋白の遺伝子発現から示唆した。これらの結果は、前庭遠心性系の神経伝達機構を考えるうえで重要なデータを与えており学位授与に値すると考えられる。