Osaka University Knowledge Archive

Title	Synaptic contact between vestibular afferent nerve and cholinergic efferent terminal : its putative mediation by nicotinic receptors
Author(s)	大野, 浩司
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38894
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名	大野浩司（おおの こうじ）
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	**Synaptic contact between vestibular afferent nerve and cholinergic efferent terminal: its putative mediation by nicotinic receptors** **（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系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 μm 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。神経型ニコチン型Ach受容体を構成するα2，α3，α4，β2サブユニットのうち，前庭神経節ではα4，β2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α4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，β2サブユニットmRNAは神経節細胞の90%に発現していたがα4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ルコリン受容体α4，β2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，前庭求心線維へのアセチルコリン＋CGRP作動性遠心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。