



Title	ラット嗅球におけるアセチルコリンエステラーゼ強陽性系球体様領域の解析
Author(s)	奥村, 正
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38948
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	おくむら 奥村 ただし 正
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 4 7 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 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	ラット嗅球におけるアセチルコリンエステラーゼ強陽性糸球体様領域の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 塩谷弥兵衛 (副査) 教 授 津本 忠治 教 授 遠山 正彌

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

嗅覚系は、一次知覚系の中でも特に研究が遅れている系であり、嗅上皮で得られた1つの嗅覚情報が嗅球内でいかに伝達処理されるのかという基本的パターンですら、充分解明されるに至っていない。最近この伝達処理の場である糸球体に関して、ラット嗅球最尾側表層において新たな形態学的知見がいくつか出始めた。その一つは、哺乳行動を誘発する嗅覚情報の処理単位であろうと想像され、ヒト胎盤由来抗原 X-P₂ (hPAX) に対する抗体で標識されるネックレス型嗅覚糸球体 (necklace olfactory glomeruli: NOG) である。もう一つは、比較的強いアセチルコリンエステラーゼ (acetyl cholinesterase: AChE) 反応を示し NOG との関連が指摘される AChE 強陽性 (intensely AChE-reactive: IAE) 糸球体様領域である。

本研究の目的は、これら IAE 糸球体様領域と NOG との形態学的関係を光顕レベルで明らかにすることと、IAE 糸球体様領域の微細構造上の特徴を明らかにすることにある。そこで、ラットにおける IAE 糸球体様領域、NOG、通常の糸球体 (ordinary glomeruli: OG) を対象とし、hPAX 抗体による免疫組織化学法、AChE の酵素組織化学法及び電顕法を用いて三者の組織学的解析を試み、比較検討を行った。

[方法]

ペントバルビタール麻酔下、9~12週齢 (体重約 220g) の Wistar 系雄性ラットを 0.1M リン酸緩衝 (PB) 4% パラホルムアルデヒド及び 0~0.1% グルタルアルデヒド混合液により灌流固定を行い、嗅球を取り出しその尾側の前頭断連続切片を作製した。隣接切片について、それぞれ hPAX の免疫組織化学的染色 (hPAX 免疫染色) と Karnovsky・Roots の手法に変更を加えた Tagovira の方法に基づいた AChE の酵素組織化学的染色 (AChE 染色) を施した。染色後、光顕レベルにて NOG と IAE 糸球体様領域の形態や分布を比較検討して、両者の異同や関わり方を明らかにした。IAE 糸球体様領域の微細構造の解析に関しては、0.1MPB 1% パラホルムアルデヒド及び 1% グルタルアルデヒド混合液により、ラットを同様に灌流固定して得られた嗅球の連続切片に対して AChE 染色を施し、0.1MPB 1% 四酸化オスミウム溶液にて処理後、常法通りエポキシ樹脂 (Epon) に包埋し、強倍率にて光顕観察に供して全体的な立体像を詳細に調べた。電顕観察用領域を決定した後、ウルトラミクロトームによりその部位の超薄切片を作製した。この際、超薄切片のみならず準超薄切片を途中数枚作製し、トルイジン・ブルー (toluidin blue: TB) 染色を施して強倍率にて光顕観察に供した。超薄切片は、酢酸ウラニル及びクエン酸鉛にて二重染色を行い、電顕観

察によって IAE 糸球体様領域における AChE 陽性部位の局在を調べた。比較のための OG に関しても AChE 染色及び TB 染色を同様に施し、光顕及び電顕観察を行った。

[結果および考察]

光学顕微鏡的所見 AChE 染色によって IAE 糸球体様領域は嗅球最尾側表層において、この部位を取り囲む様に一定の間隔を開けながら、NOG の分布と一致して数珠状に配列していることが確認された。また、この IAE 糸球体様領域は AChE 染色に関して一様に染色されるのではなく、同じ領域内において、より強く染色される部位 (AChE-strongly reactive site: IAE-S) とそれより弱く染色される部位 (AChE-less reactive site: IAE-L) とに大きく分けられることが明らかとなった。さらに hPAX 免疫染色を行った隣接切片との比較によって、NOG は IAE-S とは一致することなく通常は隣接し、IAE-L の領域内の一部と NOG が一致することが見い出された。これによって、IAE-S, IAE-L 及び NOG が一つのまとまった複合体を形成し、さらにその複合体が数珠状に嗅球最尾側表層に配列することが明らかとなった。

IAE-S は黒褐色の反応強陽性をほぼその全域にわたって示す外殻 (outer shell) と、これによって包まれる芯部 (core) とからなり、球体ないし楕円体の構造物として観察された。芯部で陽性部位が観られるのは外殻に近い辺縁部であり、ほとんどは反応陰性であった。さらに TB 染色によって、IAE-S には光顕レベルで IAE-L や OG に必ず見られる暗調小結節 (dark nodule) を欠くことが判明した。IAE-L は内部まで入り込んだ AChE 陽性線維により取り巻かれ、球体から楕円体の構造物として観察されたが、IAE-S と比べるとその反応性は遥かに弱く、外殻と芯部という区別は不明瞭であった。また、IAE-L 内には TB 染色によって、暗調小結節が広く認められ、光顕レベルでは OG と同様な特徴を示す糸球体として観察された。

電子顕微鏡的所見 IAE-S の外殻に観られる AChE 陽性部位は、芯部を取り囲む比較的細胞の多い領域を中心とした細胞間隙が主体であった。それ以外では、この領域の細胞の核膜や小胞体、神経突起の細胞質、そして辺縁の星状神経膠細胞の核膜に局在が認められた。芯部は、一様な neuropil 構造を呈し、シナプス小胞は無芯小胞 (clear vesicle) のものがほとんどであった。ときに細胞間隙とシナプス間隙に AChE 反応の局在が認められたが、数は少ないものであった。しかし、糸球体に必須とされる嗅神経の投射線維の集合による形成物である暗調小結節が見当たらず、IAE-S は糸球体とは異なる AChE 強陽性類糸球体 (glomeruloid) として同定されるべき構造と考えられた。IAE-L と OG における AChE 反応の局在は類似しており、糸球体内部と周辺の傍糸球体領域の細胞間隙が主体であったが、傍糸球体領域では細胞の核膜や小胞体、神経突起の細胞質、そして辺縁の星状神経膠細胞の核膜にも見られた。AChE の反応性に関する糸球体と傍糸球体領域の関係は、IAE-S の外殻と芯部の関係に似るが、それほど際立った反応性の違いは観られなかった。IAE-L と OG における一次嗅神経線維束はモザイク様の暗調小結節として捉えられたが、IAE-L 内の嗅神経終末は、特徴的な大型有芯小胞 (large dense-cored vesicle) を豊富に含有し、無芯小胞しか観察されなかった OG とは好対照を示すことが明らかとなった。

[総括]

本研究において、IAE 糸球体様領域もまた NOG と一致した分布をしており、その領域は AChE 反応強陽性を示す外殻と暗調小結節を欠く芯部を特徴とする IAE-S と暗調小結節内の嗅神経終末に大型有芯小胞を有する IAE-L などの OG とは異なる特徴を持つ構造からなることが明らかにされた。hPAX 陽性を示す NOG は IAE-L 領域内の IAE-S に隣接する糸球体に相当し、これらは局所的な糸球体複合をなしていると考えられ、嗅球最尾側で数珠状に点在するこれら糸球体複合はさらに互いに関連し合い、一つのまとまった嗅覚情報 (例えばラットの哺乳行動を誘発するニオイ刺激情報) の処理単位として機能していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

嗅覚系は、一次知覚系の中でも謎を多く残している系である。最近この嗅覚系において、形態学的に特異的なネックレス型嗅覚糸球体が、ラット嗅球最尾側表層において同定された。本研究におけるアセチルコリンエステラーゼ強陽性糸球体様領域は、このネックレス型嗅覚糸球体と共に複合体を嗅球最尾側表層において形成しながら数珠状の

分布をし、相互に関連し合いながら、一つのまとまった嗅覚情報の処理単位として機能していると思われる。このアセチルコリンエステラーゼ強陽性糸球体様領域の微細構造の解析を主眼に行われた本研究により、糸球体に関する新たな形態学的な知見が得られ、これは今後の特定のニオイ刺激の処理単位の解明に資するところ大であると思われる。よって、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。