

Title	三叉神経主感覚核におけるvibrissa一次求心線維が関与するシナプスの超微構造の定量的解析
Author(s)	倉田, 秀
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40891">https://hdl.handle.net/11094/40891</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

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

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

Osaka University

氏 名	倉 田 秀 <small>しゅう</small>
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 3 6 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 7 月 28 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	三叉神経主感覚核における vibrissa 一次求心線維が関与するシナプスの超微構造の定量的解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 重 永 凱 男 (副査) 教 授 栗 栖 浩 二 郎    助 教 授 松 尾 龍 二    助 教 授 古 郷 幹 彦

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [研究目的]

Vibrissa 低閾値機械受容器の求心線維は遅順応型 (SA) と速順応型 (FA) とに分類される。これらの上行枝から出る線維は、主に主感覚核 (Vp) の腹側亜核 (Vpv) に終止する。又、vibrissa 線維の入力を受ける Vp ニューロンのほとんどは視床後内側腹側核 (VPM) に投射する。本研究は、horseradish peroxidase (HRP) の軸索内注入法にて、SA と FA vibrissa 線維を標識し、標識軸索瘤の定量的形態計測から体性感覚情報処理及び伝達物質遊離機構を形態学的に解明することを目的とした。

### [研究方法]

実験は成猫 (2.5-4.5 kg) を用い、すべてネンブタール深麻酔下にておこなった。Vp に終止する vibrissa 求心線維の同定は、動物を脳定位固定装置に装着後、0.3 M KCl を含む 0.05 M トリス緩衝液 (pH7.6) に溶解した 3% HRP (Toyobo) を封入したガラス管微小電極 (0.7-1.2  $\mu$ m 径) を三叉神経脊髓路に刺入し軸索内記録により行った。SA 又は FA vibrissa 一次求心線維を同定した後、10-15 nA の直流電流を 3-6 分間通電し、電気泳動的に軸索内に HRP 溶液を注入した (SA 3 個, FA 3 個)。HRP 注入後、動物を 14-18 時間生存させた後、生理食塩水で灌流し、直ちに 1% グルタルアルデヒド、1% パラホルムアルデヒド、0.2 M CaCl<sub>2</sub> を含有する 0.1 M リン酸緩衝液 (pH7.3) にて灌流固定した。脳幹を摘出後、厚さ 80  $\mu$ m の連続切片を作成し DAB 反応を施した。HRP 標識軸索瘤が集積している切片を選択し、2% オスミウム酸にて処理後、エポン包埋した。ウルトラトーム (LKB) にて超薄連続切片を作成し、それらを電子顕微鏡 (JEOL 2,000 EX 日本電子) にて観察した。さらに電子顕微鏡連続切片写真を、イメージスキャナーで画像をデジタル化し、NIH Image (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA) にて標識軸索瘤の超微構造を定量的形態計測した。

### [結果]

Vpv に終止する vibrissa 求心線維のうち、103 個の SA 軸索瘤と 88 個の FA 軸索瘤の連続切片を電子顕微鏡にて観察分析した。

SA, FA 軸索痛は、両者とも球形芯なしシナプス小胞を含有しており、ほとんどが軸索樹状突起間シナプス (axodendritic synapse) を形成した。SA 軸索痛では、軸索細胞体間シナプス (axosomatic synapse) を形成するものも認められた。また、円形、楕円形及び平らなシナプス小胞が混在する多形性シナプス小胞 (pleomorphic vesicle) を含有する軸索終末 (P-ending) と軸索軸索間シナプス (axoaxonic synapse) をなすものもしばしば認められた。これら P-ending では、さらに、標識軸索瘤がシナプスを形成する樹状突起ともシナプスをなす場合も認められた (synaptic triad)。標識軸索瘤と P-ending の直径 (短径と長径の平均) は異なり、前者が有意に大きい値を示した。標識軸索瘤の直径は、SA より FA の方が有意に大きい ( $1.87 \pm .59 \mu\text{m}$  vs  $2.13 \pm .51 \mu\text{m}$ ) が、後シナプス樹状突起の短径は FA より SA に対する方が有意に大きかった ( $1.77 \pm .91 \mu\text{m}$  vs  $1.47 \pm 0.81 \mu\text{m}$ )。また、SA, FA ともにより大きな標識軸索瘤は、より細径の樹状突起とシナプス接合をなした。

#### 伝達物質遊離に関するシナプス微細構造の定量的形態計測

Vibrissa 終末が樹状突起とシナプスを形成する標識軸索瘤16個(SA 8個, FA 8個), これらと軸索軸索間シナプスなす29個の P-ending について定量的形態計測を行った。計測値は、標識軸索瘤と P-ending でそれぞれ以下の通りである。体積 ( $4.3 \pm 2.9 \mu\text{m}^3$  vs  $0.54 \pm 0.30 \mu\text{m}^3$ )、樹状突起または標識軸索瘤と接する面積 (apposed surface area;  $2.5 \pm 2.1 \mu\text{m}^2$  vs  $0.72 \pm 0.41 \mu\text{m}^2$ )、個々の active zone の面積 ( $0.14 \pm 0.10 \mu\text{m}^2$  vs  $0.07 \pm 0.05 \mu\text{m}^2$ )、active zone の総面積 ( $0.57 \pm 0.46 \mu\text{m}^2$  vs  $0.09 \pm 0.08 \mu\text{m}^2$ )、シナプス小胞の数 ( $5,000 \pm 3,700$  vs  $810 \pm 500$ )、シナプス小胞の直径 ( $51.3 \pm 5.1 \text{ nm}$  vs  $43.2 \pm 7.4 \text{ nm}$ ,  $P < 0.05$ ) であり、すべて有意に標識軸索瘤が P-ending より大きな値 ( $P < 0.001$ ) を示した。しかし、シナプス小胞密度 ( $1,500 \pm 270 \text{ vesicles}/\mu\text{m}^3$  vs  $1,890 \pm 490 \text{ vesicles}/\mu\text{m}^3$ ) は、標識軸索瘤の方が有意に小さな値 ( $P < 0.05$ ) を示した。

SA, FA 標識軸索痛の体積は、標識軸索瘤と樹状突起が接する面積 (apposed surface area;  $r = 0.77$ )、active zone の数 ( $r = 0.78$ ) 及び総面積 ( $r = 0.92$ )、標識軸索瘤のシナプス小胞の数 ( $r = 0.98$ )、ミトコンドリアの体積 ( $r = 0.86$ )、標識軸索瘤と接している P-ending の数 ( $r = 0.82$ )、標識軸索瘤と P-ending が接する面積 ( $r = 0.79$ ,  $P = 0.0015$ ) と正の相関関係 ( $P < 0.0001$ ,  $n = 16$ ) があった。P-ending の体積においても P-ending が標識軸索瘤と接する面積 (apposed surface area;  $r = 0.80$ )、active zone の総面積 ( $r = 0.69$ )、シナプス小胞の数 ( $r = 0.91$ )、ミトコンドリアの体積 ( $r = 0.70$ ) と正の相関関係 ( $P < 0.0001$ ,  $n = 29$ ) があった。また、体積の大きな標識軸索瘤ほど、より細径の樹状突起とシナプス接合する傾向にあった。

#### [結論]

1) Vpv に終止する vibrissa 一次求心線維終末のシナプス後要素は、SA が細胞体と樹状突起であるのに対し、FA は全て樹状突起であった。標識軸索瘤の直径は FA が SA より大きな値を示したが、シナプス後要素 (樹状突起) の短径は逆の関係を示した。

2) 伝達物質遊離に関与する微細構造は、軸索樹状突起間シナプスと軸索軸索間シナプスを形成するシナプス瘤 (vibrissa 終末と P-ending) で異なるが、両者ともシナプス瘤の体積と正の相関関係を有することが明らかとなった。

以上より、伝達物質の放出量 (quantum)/インパルスは、FA 軸索瘤のほうが SA 軸索瘤よりも高いこと、また、軸索軸索間シナプスを形成するシナプス前要素 (P-ending) は軸索樹状突起間シナプスをなすシナプス瘤 (vibrissa 終末) よりも少量の伝達物質の放出で十分な機能を発揮することが推測された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、horseradish peroxidase (HRP) の軸索内注入法を用いて猫の主感覚核 (Vp) における vibrissa の遅順応型 (SA) と速順応型 (FA) の求心線維終末及びそれとシナプスを作る未標識軸索終末の超微構造の定量的形態計測を行い体性感覚情報処理及び伝達物質遊離機構を形態学的に解明したものである。

その結果は以下の通りである。主感覚核 (Vp) の腹側亜核 (Vpv) に終止する vibrissa 一次求心線維終末のシナプ

ス後要素は、SA が細胞体と樹状突起であるのに対し、FA は全て樹状突起であった。また、標識軸索瘤の大きさはFA がSA より大きな値を示した。シナプス後要素（樹状突起）の短径と標識軸索瘤の大きさは負の関係を示した。また、伝達物質遊離に関与する微細構造（apposed surface area, active zone の数, active zone の総面積, シナプス小胞の数及びミトコンドリアの体積）は、軸索樹状突起間シナプスと軸索軸索間シナプスを形成するシナプス瘤で異なるが（vibrissa 終末>P-ending）、両者ともシナプス瘤の体積と正の相関関係を示した。

以上より、本研究は体性感覚情報処理及び伝達物質遊離機構を解明する上で極めて重要な指針を与えたものであり、博士（歯学）の学位を得る資格があるものと認める。