The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Quantitative Ultrastructure of Physiologically Identified Premotoneuron Terminals in the Trigeminal Motor Nucleus in the cat
Author(s)	廣瀬, 陽介
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3184230
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名	廣瀬陽介（ひろせ　ようすけ）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学位記番号	第　16146　号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	Quantitative Ultrastructure of Physiologically Identified Premotoneuron Terminals in the Trigeminal Motor Nucleus in the cat （三叉神経吻側核前運動ニューロン軸索終末の超微構造に関する定量的解析）
論文審査委員	（主査） 教授　重永　凱男 （副査） 教授　松矢　篤三　　助教授　舘村　卓　　助教授　脇坂　聡

論文内容の要旨

［研究目的］

口腔内感覚情報を受ける三叉神経吻側核吻背内側部（Vo.r）ニューロンには、三叉神経運動核（Vmo）の背外側部（Vmo.dl）または腹内側部（Vmo.vm）に終止する側副枝を持つ二種類が報告されている（それぞれを Vo.r-Vmo.dl と Vo.r-Vmo.vm ニューロンとする）。しかし、Vo.r ニューロンと運動ニューロンが形成するシナプス及びその神経伝達物質については不明である。そこで本研究は、Vo.r ニューロンと運動ニューロンが形成するシナプス及び伝達物質の放出に関与する軸索瘤の超微構造の定量的計測をおこなうとともに、神経薬理学的方法により Vo.r ニューロンの伝達物質を同定することを目的とした。

［研究方法］

Vo.r ニューロンと運動ニューロンが形成するシナプスの超微構造

成猫33匹（体重2.4－4.8kg）を用いた。ketamine（35mg／kg, i.m.）投与後、pentobarbital（40mg／kg, i.v.）にて深麻酔を行った動物を脳定位固定器に固定し、3％HRP を封入したガラス管微小電極を用いて細胞内記録により Vo.r ニューロンの機能的性質を決定し、その後 HRP を電気泳動的に細胞内に注入し Vo.r ニューロンを標識した。動物を6～20時間生存させた後、灌流固定を行い脳幹を摘出した。脳幹をビブラトームにて厚さ80μmの横断連続切片を作成し DAB 反応により HRP 標識ニューロンを可視化した。Vmo から HRP 標識終末を含有する切片を数枚選出し、2％四酸化オスニウム酸で処理を行いエポキシレジンに包埋し、ウルトラミクロトーム（LKB）にて超薄連続切片を作製した。それらを電子顕微鏡で観察し、さらに NIH image（Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA）を用いて電顕連続写真の標識軸索瘤における、軸索瘤の面積、ミトコンドリアの面積、active zone の総面積、軸索瘤がシナプス後要素と接する面積（apposed surface area）、シナプス小胞の性質（数、大きさ及び形態）を計測した。

神経薬理学的研究

咬筋、顎二腹筋、下歯槽及び眼窩下神経に双極電極を装着し、動物を脳定位固定器に固定した後、同心円刺激電極を Vo.r に刺入した。2 MK citrate を封入したガラス管微小電極を用い、Vo.r 電気刺激により誘発されるシナプス後電位（EPSP または IPSP）を咬筋あるいは顎二腹筋運動ニューロンから記録し、それら電位に対する strychnine（glycine receptor antagonist）、bicuculline（$GABA_A$ receptor antagonist）、CNQX（non-NMDA receptor

antagonist）及びAPV（NMDA receptor antagonist）の効果を検討した。

［結果］

HRPで標識された8個のVo.rニューロンの内、3個はVmo.dlに2個はVmo.vmに終止する側副枝を出した。これらのニューロンは、すべて速順応型で歯根膜又は歯肉の刺激に応答した。3個のVo.r－Vmo.dlニューロン及び2個のVo.r－Vmo.vmニューロンからそれぞれ88及び97個の標識軸索瘤を抽出し、それらの微細構造を観察した。次いで、Vo.rニューロンの神経伝達物質を同定するため、Vo.r電気刺激により誘発される咬筋と顎二腹運動ニューロンのシナプス後電位に対するstrychnineとbicucullineの効果を検討した。実験結果を以下に示す。

(1)すべての標識軸索瘤は、円形、卵円形及び偏平なシナプス小胞（径、59±9nm、n＝26977；form factor、0.84±0.08、n＝26977）を含有し、細胞体及び幹樹状突起と単一のシナプス接合を成した。

(2)Vo.r－Vmo.dlニューロン標識軸索瘤85個のうちの24個は細胞体と、他は幹樹状突起とシナプス接合を成した。

(3)Vo.r－Vmo.vmニューロン標識軸索瘤97個のうち21個は細胞体と、62個は幹樹状突起と、また、残りの14個は遠位樹状突起とシナプス接合を成した。

(4)軸索瘤の体積（1.49±0.86μm³［n＝28］vs. 1.83±0.80μm³［n＝33］）、表面積（5.59±1.73μm²［n＝28］vs. 6.50±2.14μm²［n＝33］）、ミトコンドリアの体積（0.33±0.18μm³［n＝28］vs. 0.39±0.16μm³［n＝33］）、apposed surface area（1.77±0.79μm²［n＝28］vs. 1.83±0.80μm²［n＝33］）、active zoneの総面積（0.60±0.34μm²［n＝28］vs. 0.49±0.17μm²［n＝33］）はVo.r－Vmo.dlとVo.r－Vmo.vmニューロンとの間に差異が認められなかった。しかし、シナプス小胞数（2100±980［n＝28］vs. 1180±420［n＝33］）は前者が後者より大きな値を示した。

(5)上記軸索瘤の測定要素はすべてその体積と正の相関関係を示した。

(6)strychnine（0.2mg／kg、i.v.,n＝3）又はbicuculline（1mg／kg、i.v.,n＝3）は、Vo.rの電気刺激に誘発される咬筋運動ニューロンの抑制性シナプス後電位（IPSPs）を抑制した。

(7)strychnine投与によるIPSPsの抑制効果は、Vo.rの電気刺激により興奮性シナプス後電位（EPSPs）を誘発した。しかし、bicuculline投与によるIPSPsの抑制効果は、EPSPを誘発するにはいたらなかった。

(8)APVとCNQXの脳内への注入は、Vo.rの電気刺激により誘発される顎二腹筋運動ニューロンのEPSPsを抑制した。

(9)このAPVとCNQXによるEPSPsの抑制は、Vo.rの電気刺激によりIPSPsを誘発した。（n＝3）。

［結論および考察］

以上の結果から、Vo.rニューロンは、閉口筋又は開口筋運動ニューロンの細胞体か幹樹状突起と単一のシナプス接合を成すGABAとglycineを含有する抑制性介在ニューロンであることが明らかとなった。また、PierceとMendellがIa－運動ニューロンシナプスにおいて提唱した“ultrastructural size principle”が運動ニューロンとシナプスを成す抑制性介在ニューロンにも成立することも判明した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、三叉神経吻側核吻背内側部（Vo.r）ニューロンと運動ニューロンが形成するシナプス及びその神経伝達物質の放出に関与する軸索瘤の超微構造の定量的計測をおこなうとともに、神経薬理学的方法によりVo.rニューロンが含有する伝達物質の特性を検索することを目的とした。

その結果、Vo.rニューロンは、閉口筋又は開口筋運動ニューロンの細胞体か幹樹状突起と単一のシナプス接合を成すGABAとglycine作動性の介在ニューロンであることが明らかとなった。また、PierceとMendellがIa－運動ニューロンシナプスにおいて提唱した“ultrastructural size principle”が運動ニューロンとシナプスを成す抑制性介在ニューロンにも成立することも判明した。

以上より、本研究は、三叉神経吻側核吻背内側部（Vo.r）ニューロンと運動ニューロンが形成するシナプスの形態及び特性を明らかにし、博士（歯学）の学位に値すると認める。