



Title	顔面神経切断による運動ニューロンの形態的变化
Author(s)	水谷, 雅英
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42480
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	みづ たに まさ ひで 水 谷 雅 英
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 1 3 5 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	顔面神経切断による運動ニューロンの形態的变化
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松矢 篤三 (副査) 教 授 重永 凱男 助教授 松本 憲 助教授 脇坂 聡

論 文 内 容 の 要 旨

緒言

成熟した中枢神経系の細胞が損傷を受けると、やがて死に至るが、成熟した運動ニューロンは、軸索の損傷に対し耐性を示し、生存、再生する。この耐性のメカニズムを解明するために様々な研究が行われているが、樹状突起の形態的变化を詳細に分析した研究は少ない。そこで、本研究は、顔面神経運動ニューロンをモデルとし、神経切断が運動ニューロンの樹状突起に及ぼす変化を定性的及び定量的に分析することを目的とした。

方法と結果

実験には体重1.7～4.5kgの成猫24匹を用い、全てネンブタール麻酔下で行った。このうち10匹の動物では顔面神経頬骨眼窩枝を完全切断し、12～15週後に顔面神経運動ニューロンの細胞内染色を行い（切断群）、神経切断を行わなかった動物から得られた結果（対照群）と比較した。

顔面神経頬骨眼窩枝、眼窩下神経、下歯槽神経に刺激電極を装着した後、動物を脳定位装置に固定し人工呼吸を行った。頭頂骨及び後頭骨の一部を除去した後、除小脳、除脳を行い、第4脳室底を明示した。気胸、cisternal drainageを行った後、pancroneum bromide (0.07mg/kg, i.v.) を投与し脳幹の動きを抑制した。顔面神経頬骨眼窩枝の電気刺激により顔面神経運動ニューロンを同定した後、逆行性活動電位や眼窩下神経、下歯槽神経の電気刺激による細胞内電位を記録し、3% Neurobiotin により細胞内染色を行った。動物を3～5時間生存させた後、4% paraformaldehyde を含む0.1M phosphate buffer で灌流固定した。直ちに脳幹を取り出し、同じ固定液で10～12時間後固定を行い、厚さ80μmの連続横断切片を作成した。LSAB法によりNeurobiotinを可視化し、通法により標本作製した。顔面神経運動ニューロンの樹状突起の再構築にはNeurolucidaを用い、樹状突起の定量的分析にはNeuroexplorer、Excel、Visual Basic for Applicationを用いた。

その結果、細胞内染色された24個の顔面神経運動ニューロンの細胞体は全て顔面神経核背側亜核に存在した。樹状突起の三次元的構築像は、亜核内における細胞体の位置により、かなりの違いがみられたが、脊髄や三叉神経の運動ニューロンと類似する形態を示した。即ち、顔面神経運動ニューロンの樹状突起は規則的に分岐し、内外、背腹、吻尾方向にその枝を伸ばし、全体として円形または卵円形を呈した。樹状突起の中には、内外方向および背腹方向で背側亜核の境界を大きく越えるものもあったが、細胞体が亜核の境界に近いものではその反対方向に樹状突起が広がる傾向を示し、ほぼ亜核内に限局した。吻尾方向では亜核の境界を越えるものは認められなかった。また、樹状突起棘

は認められなかった。幹樹状突起の直径と dendritic length ($y=1180x-15$, $r=0.61$)、dendritic surface area ($y=6425x-4467$, $r=0.67$)、dendritic volume ($y=3637x-4583$, $r=0.73$)、number of termination ($y=2.41x-0.39$, $r=0.55$) などの樹状突起の大きさを表すパラメータは全て正の相関を示した。

これに対し、切断群顔面神経運動ニューロンは、形態的にも電気生理学的にも大きく異なった特徴を示した。その樹状突起の形態は複雑性を増し、樹状突起の最遠位部には、複雑に絡み合った growth cone 様の構造が付加したものが出現した。また樹状突起の中にはほとんど分岐せず、大きな径のまま終止する軸索様のものも認められた。切断群顔面神経運動ニューロンを定量的に分析すると、total dendritic length (切断群 vs. 対照群: $68,346 \pm 3,551$ vs. $62,256 \pm 8,112 \mu\text{m}$ (平均 $\pm$ 標準偏差))、total dendritic surface area ($340,302 \pm 113,362$ vs. $285,469 \pm 99,394 \mu\text{m}^2$)、total dendritic volume ($189,967 \pm 100,848$ vs. $136,655 \pm 70,302 \mu\text{m}^3$)、total number of termination (131 ± 12 vs. 122 ± 32) はそれぞれ、10%、19%、39%、8%増加した。樹状突起の total path distance で、表面積、体積は対照群よりも大きな値を示した。Branch point や termination の数は近位樹状突起ではほぼ同じなのに対し、中位および遠位樹状突起で大きくなる傾向を示した。Sholl analysis でも同じ傾向を示した。また、branch order が3~4次までは branch point や termination の数はほぼ同じであったがそれ以降では増加する傾向が認められた。これに対し、近位樹状突起(3次まで)の直径、表面積、体積は増大したが、遠位樹状突起には変化がみられなかった。一方、幹樹状突起の直径と樹状突起の大きさを示すパラメータは、全て正の相関を示した (dendritic length ($y=1198x-185$, $r=0.77$)、dendritic surface area ($y=7149x-7742$, $r=0.77$)、dendritic volume ($y=4742x-8712$, $r=0.73$)、number of termination ($y=2.45x-0.96$, $r=0.66$))。即ち、樹状突起の拡大には遠位樹状突起に見られた構造や径の太い軸索様の樹状突起は関与せず、近位樹状突起の径の拡大と中位および遠位で新たに加わった樹状突起が関与しているものと思われる。また、逆行性活動電位は潜時が長くなり、IS部が消失するという特徴を示した。

結論

本研究の結果から、(1)顔面神経運動ニューロンにおいても、頸髄運動ニューロンと同様に、神経切断後に樹状突起の拡大が見られたこと；(2)樹状突起の拡大には、近位樹状突起ではその直径の拡大が、中位及び遠位樹状突起では新たに生じた樹状突起が関与しているものと思われること；(3)幹樹状突起の直径と樹状突起の大きさを表すパラメータとの相関は、神経切断後の顔面神経運動ニューロンにも認められたことなどが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、顔面神経の切断が顔面神経運動ニューロンに与える影響を調べるため、細胞内染色により標識したニューロンを Neurolucida を用い定量的に分析したものである。

神経切断は、顔面神経運動ニューロンの近位樹状突起直径の拡大および遠位樹状突起の新生を誘導し、樹状突起の拡張とその体積を増大させることが明らかとなった。また、樹状突起の特徴を表す種々の要素は、軸索切断前後ともに幹樹状突起の直径と正の相関を示し、その関係に有意差がみられないことも判明した。

以上より、神経損傷に対する運動ニューロンの耐性のメカニズムを解明する上で極めて重要な示唆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。