



| | |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | ラット口蓋帆拳筋の支配神経細胞の局在と筋線維構成 |
| Author(s) | 奥田, 大造 |
| Citation | 大阪大学, 1999, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/42926 |
| 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 | 奥 田 大 造 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (歯 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 4 9 1 8 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 11 年 9 月 9 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 | ラット口蓋帆拳筋の支配神経細胞の局在と筋線維構成 |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 松矢 篤三 (副査) 教 授 重永 凱男 講 師 額田純一郎 講 師 館村 卓 |

論 文 内 容 の 要 旨

〔研究目的〕

ヒトの口蓋帆拳筋は嚥下や構音に対応して複雑な運動を営むことから、その神経支配や筋線維構成について、さまざまな実験対象と手法を用いて多くの研究がなされている。ラットの口蓋帆拳筋は運動神経と筋紡錘からの一次求心線維を含む舌咽神経の口蓋帆拳筋枝によって支配され、補助呼吸筋としても活動する。本研究では、ラットの口蓋帆拳筋を支配する神経細胞の局在と一次求心線維の中核投射部位を HRP 神経標識法を用いて明らかにするとともに、免疫組織染色法により同筋の筋線維構成とその週齢に伴う変化について検討を加えた。

〔研究方法〕

実験 1：口蓋帆拳筋の運動神経細胞の中核局在および感覺神経細胞の局在とその一次求心線維の中核投射部位

実験には10週齢の Wistar 系ラット 7 匹を用い、麻酔は塩酸ケタミン 0.1-0.2 mg/g の腹腔内注射にて行った。手術用顕微鏡下で口蓋帆拳筋を支配する舌咽神経の口蓋帆拳筋枝を剖出し、同筋に分布する直前で切断し、その中枢側切端を約 1 時間 HRP-WGA に浸漬させた。ラットを48時間生存させた後に灌流固定を行い、脳幹と舌咽迷走複合神経節を摘出した。それらを 30% 蔗糖に 48 時間浸潤させた後、脳幹は厚さ 30 μm、神経節は厚さ 20 μm の凍結横断連続切片として TMB 反応により HRP を可視化した。ニュートラルレッドで対比染色後に HRP 標識細胞および標識終末を光学顕微鏡で検索した。HRP 標識細胞は光学顕微鏡像をコンピューターに取り込み NIH image を用いて直径を計測した。

実験 2：口蓋帆拳筋の筋線維の分析

実験には 1、3、10 週齢の Wistar 系ラットを各 5 匹を用いた。実験 1 と同様の手技で口蓋帆拳筋を剖出し、Tissue TEK O.C.T. Compound® に包埋した。クライオスタッフで厚さ 10 μm の凍結横断連続切片を作製し、AMA 液(アセトン 35%、メタノール 35%、酢酸 5%、蒸留水 25%)で浸漬固定した。1 次抗体を 3 種類の抗ミオシン重鎖マウスモノクローナル抗体(抗 fast、抗 slow、抗 neonatal、Cosmo Bio.)、2 次抗体としてビオチン標識抗マウスイムノグロブリン・ヤギ抗体(DAKO) を用いて免疫染色を行った。メチルグリーンで核染を施した後、光学顕微鏡像をデジタル

カメラシステムを介してコンピューターに取り込み、各線維の構成比率と直径を計測した。

[実験結果]

実験 1 :

HRP に標識された運動神経細胞は同側の疑核に観察され、吻尾的に 2 つの独立した細胞集団を形成していた。吻側の細胞集団は、obex から吻側へ約 2.58 mm～2.92 mm の範囲に観察され、平均細胞数は 4.2 個、平均細胞直径は $17.1 \pm 2.0 \mu\text{m}$ ($n=30$) であった。尾側の細胞集団は、obex から吻側へ約 1.35 mm～約 1.95 mm の範囲にみられ、平均細胞直径は $18.3 \pm 1.6 \mu\text{m}$ 、($n=91$) 平均細胞数は 13 個であった。一方、HRP に標識された感覚神経細胞が同側の舌咽迷走複合神経節に平均 3.5 個観察されそれらの平均直径は $28.3 \pm 4.7 \mu\text{m}$ ($n=24$) であった。また HRP 標識終末は obex から吻側へ約 0.24 mm～0.72 mm の両側の孤束核に観察された。

実験 2 :

全ての週齢で口蓋帆拳筋は、抗 slow 抗体のみ陽性、抗 fast 抗体のみ陽性、および両者に陽性の染色特性を示す 3 種類の線維が混在するエリア (FS com) と抗 fast 抗体のみ陽性の線維からなるエリア (F com) に区分された。抗 fast 抗体のみ陽性の筋線維は、抗 slow 抗体陽性の筋線維に比べて直径が大きく、なかでも F com に存在する抗 fast 抗体陽性の筋線維の直径は、FS com の抗 fast 抗体のみ陽性の筋線維に比べて有意に大きい値を示した。なお、各週齢間での筋線維の構成比率に統計学的な有意差はなかった。

[結論]

ラットの口蓋帆拳筋を支配する運動神経細胞は、同側の疑核に存在する 2 つの独立した細胞集団として観察された。一方、感覚細胞は同側の舌咽迷走神経節に観察され、その一次求心線維は両側の孤束核に投射していた。これらの結果は、口蓋帆拳筋の活動が孤束核で統合される咽頭や喉頭からの感覚情報の影響を強く受けることを示唆する。口蓋帆拳筋は筋線維の免疫染色特性から 2 つのエリアに区分されたものの、週齢間での筋線維構成比率に有意差はなかった。これは、同筋が呼吸や嚥下などの生命維持に関与する機能と深く関わるため、出生直後に筋線維の分化が終了している可能性が高いと考えられた。

論文審査の結果の要旨

ラットの口蓋帆拳筋は運動神経と筋紡錘からの一次求心線維を含む舌咽神経の口蓋帆拳筋枝によって支配され、嚥下機能はもとより補助呼吸筋としても活動する。本研究はラットの口蓋帆拳筋を支配する神経細胞の局在と一次求心線維の中権投射部位を HRP 神経標識法を用いて明らかにするとともに、免疫組織染色法により同筋の筋線維構成とその週齢に伴う変化について検討を加えたものである。

その結果、ラットの口蓋帆拳筋を支配する運動神経細胞は、同側の疑核の吻尾的に存在する 2 つの独立した細胞集団として観察された。一方、感覚細胞は同側の舌咽迷走神経節に観察され、その一次求心線維は両側の孤束核に投射していた。これらの結果は、口蓋帆拳筋の活動が孤束核で統合される咽頭や喉頭からの感覚情報の影響を強く受けることを示唆する。またラットの口蓋帆拳筋は筋線維の免疫染色特性から 2 つのエリアに区別され、週齢間での筋線維構成比から見て出生直後に筋線維の分化が終了している可能性が高いと考えられた。

以上の結果は、嚥下、呼吸に関する口蓋帆拳筋の働きを理解する上で極めて重要な知見を与えるものであり、博士(歯学)の称号を与えるに値するものと認める。