



Title	ネコ咬筋 $\alpha$ 運動ニューロン樹状突起に入力する抑制及び興奮性神経終末の分布様式
Author(s)	中村, 辰三
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42965">https://hdl.handle.net/11094/42965</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	中村辰三
博士の専攻分野の名称	博士(学術)
学位記番号	第14899号
学位授与年月日	平成11年7月26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	ネコ咬筋α運動ニューロン樹状突起に入力する抑制及び興奮性神経終末の分布様式
論文審査委員	(主査) 教授 重永凱男 (副査) 教授 松浦英夫 講師 井上富雄 講師 日高修

## 論文内容の要旨

### 研究目的

ネコ脊髄運動ニューロンは、長い間、中枢神経系におけるシナプス伝達やニューロンモデルの研究に用いられてきた。免疫組織化学法が導入されて以来、数多くの研究により、脊髄運動ニューロンに入力する軸索終末において神経伝達物質の分布が分析してきた。これらの多くの研究により、運動ニューロン上の終末ボタンの大多数が、グルタミン酸 glutamate (Glu)、グリシン glycine (Gly)、γ-アミノ酪酸 gamma-aminobutyric acid (GABA) を含むことが明らかとなった。これに対して、三叉神経運動ニューロンに関する電子顕微鏡レベルでの免疫組織化学的研究はきわめて少ない。脳幹や脊髄では、単一運動ニューロン樹状突起における抑制性シナプスと興奮性シナプスの分布は、ほとんど研究されていない。また、脊髄及び三叉神経系において、上述した伝達物質を含む神経終末の樹状突起上の分布様式を神経標識物質にて標識し、単一の運動ニューロンについて分析した研究は、今のところ行われていない。

本研究では、咬筋運動ニューロンの樹状突起とシナプス接合をなす神経終末が、グリシン、γ-アミノ酪酸、グルタミン酸を神経伝達物質として用いるかどうか、また、それらの分布が神経伝達物質の違いにより異なるかどうかについて、postembedding immunogold labeling 法を用いて定量的に分析した。

### 研究方法

horseradish peroxidase (HRP) により細胞内染色した4個の咬筋α運動ニューロンを用いた。HRPで標識された運動ニューロンを含む切片を取り出し、電子顕微鏡標本を作製した。運動ニューロンの樹状突起とシナプス接合をなす神経終末におけるγ-アミノ酪酸(GABA)、グリシン(Gly)、グルタミン酸(Glu)の検出には、SomogyiとHodgson(1985年)のpostembedding immunogold labeling 法を用いた。それぞれの終末における金粒子の密度が、無作為に抽出した15ヶ所(それぞれの面積は1 μm<sup>2</sup>)の金粒子密度の平均(mean tissue density of labeling)+2×標準偏差よりも大きい場合を、それぞれのアミノ酸の抗体に対する免疫反応が陽性であるとした。神経終末の分析は、(1)樹状突起と接合する終末の数(number of synaptic boutons in direct apposition to the dendritic membrane)、(2)その総長と平均(mean and total length of bouton apposition)、(3)測定された樹状突起の総長に対する終末接合長が占める比

率 (percentage membrane covering) と(4)樹状突起の表面 $100\text{ }\mu\text{m}^2$  内に含まれる終末の数 (packing density of boutons) を指標にした。咬筋運動ニューロンの樹状突起は、幹樹状突起 (primary dendrite, Pd) 遠位樹状突起 (distal dendrite, Dd) と両者の中間部 (intermediate dendrite, Id) の三部に分けて分析した。

### 結果

本研究では、148個の樹状突起とシナプス接合をなす559の神経終末について分析した (175個、279個と105個の神経終末は、それぞれ、13本の Pd、54本の Id、81本の Dd とシナプス接合をなしていた)。この結果、以下の結論を得た。

(1)咬筋  $\alpha$  運動ニューロンとシナプスをなす神経終末 (axon terminal 又は bouton) は、それらが含有するシナプス小胞の形態から、二種類に分類された。すなわち、芯無し円形小胞を含む S-type と、円形、卵円形及び扁平な小胞が混在する F 又は P-type である。S-type はすべて Glu を含み、F 又は P-type は、Gly、GABA 又は Gly と GABA の両方を含んでいた。

(2)検索した全神経終末のうち、50%は GABA、Gly 又は GABA と Gly の両者を含み、48%は Glu を含んでいた。残りの 2 %は GABA、Gly と Glu の抗体に対し反応を示さなかった。

(3)GABA と Gly を含む神経終末のうち、27%は Gly のみを含み、また、14%は両者を含んでいた。残りの 9 %は GABA のみを含んでいた。

(4)GABA、Gly 又はその両者を含む抑制性神経終末が全体に占める比率、percentage membrane covering と packing density は、Pd、Id、Dd の順に有意に減少したが、このような傾向は Glu を含む興奮性神経終末には認められなかった。

(5)神経終末の接合部の長さ (mean apposition length) は、抑制性と興奮性シナプスの間で差はなく、また、樹状突起の部位の違いによる差異も認められなかった。

### 結論

咬筋  $\alpha$  運動ニューロンの樹状突起とシナプスを作る神経終末の98%は、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA)、グリシン (Gly) 又はグルタミン酸 (Glu) を含有した。それらの分布様式は、抑制性伝達物質 (GABA と Gly) を含む神経終末と興奮性伝達物質 (Glu) を含む神経終末で異なることが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、horseradish peroxidase (HRP) の細胞内注入法と postembedding immunogold labeling 法を用いて、咬筋運動ニューロンの樹状突起とシナプスをつくる神経終末において、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA)、グリシン (Gly)、グルタミン酸 (Glu) を検出し、これらの伝達物質の單一ニューロンにおける分布を定量的に分析したものである。

この結果、検索した全神経終末のうち、50%は抑制性伝達物質である GABA、Gly を含み、48%は興奮性伝達物質である Glu を含んでいた。抑制性神経終末が全体に占める比率、percentage membrane covering、packing density は、細胞体から離れるにつれて減少したが、興奮性神経終末ではこのような傾向は認められなかった。幹樹状突起では、percentage membrane covering、packing density は、抑制性神経終末が興奮性神経終末より有意に大きい傾向を示した。

以上より、本研究は顎運動の中枢神経機構において、抑制性伝達物質、興奮性伝達物質の果たす役割を解明する上で重要な指針を与えたものであり、博士（学術）の学位を得る資格があるものと認める。