

Title	ROLE OF CHOLINERGIC MOSSY FIBERS IN MEDIAL VESTIBULAR AND PREPOSITUS HYPOGLOSSAL NUCLEI IN VESTIBULAR COMPENSATION
Author(s)	福嶋, 宗久
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43937
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	福嶋 宗久
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17686 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	ROLE OF CHOLINERGIC MOSSY FIBERS IN MEDIAL VESTIBULAR AND PREPOSITUS HYPOGLOSSAL NUCLEI IN VESTIBULAR COMPENSATION (前庭代償における内側前庭神経核・舌下神経前位核からのコリン作動性 苔状線維の果たす役割)
論文審査委員	(主査) 教授 久保 武 (副査) 教授 遠山 正彌 教授 祖父江憲治

論文内容の要旨

(目的)

アセチルコリンは前庭代償に関与する神経伝達物質もしくは修飾物質である可能性が今まで示唆されてきた。また、動眼運動系そして脊髄運動系、さらに遠心性末梢前庭神経は、豊富にコリン作動性神経を含有する。しかし前庭代償中のコリン効果器の果たす役割に関して詳細は不明であった。

今回我々は前庭代償におけるコリンの効果をもっと詳細に検討するために、まず内耳破壊によって活性化されるコリン作動性神経の分布を、Fos (神経活動のマーカー) と ChAT (アセチルコリン合成酵素) に対する抗体を用いて二重染色を行い免疫組織学的に検討した。続いてラットのの前庭-片葉系、前庭-傍片葉系のコリン作動性苔状線維を ethylcholine mustard aziridinium (AF64A) を用いて選択的に破壊したのち逆行性トレーサーを注入し、これらの各破壊条件下でさらに内耳破壊を行なった後、前庭代償の指標としての眼振を記録しその経時的变化をコントロール群と比較した。また間接蛍光抗体法にて検出されるトレーサーの分布のうちコリン作動性細胞の分布と重なるニューロンがあるかどうかを検索した。

(方法)

1) 免疫組織化学法

Wistar 系ラット雄 150 g 前後を用い、右耳後部切開後、100%エタノールを経卵円窓で用い化学的に内耳破壊を行った。術後 6 時間後に還流固定し、切片作成後 Fos と ChAT に対する抗体を使用し、ABC 法にて二重染色を行い、内耳破壊後の Fos と ChAT の発現分布を検索した。抗体はそれぞれ Oncogene Science (#PC05)、CHEMICON (#AB1578) を用いた。

2) 間接蛍光抗体法によるトレーサーの検出ならびに内耳破壊後の眼振の観察

Wistar 系ラット 100 g 前後を用い、使用前 2 時間以内に作成した AF64A を右後頭蓋窩から小脳右片葉あるいは右傍片葉に注入し、選択的にコリン作動性苔状線維を破壊した。これらの処置を施したラットに対し 4 週間後に、逆行性トレーサーとして Fluoro-gold (Fluorochrome) を用い、同様に小脳右片葉ないし右傍片葉に注入し間接蛍光抗体法によるトレーサーの検出を行うラット、もしくは内耳破壊を行ない眼振の経時的变化を記録するラットをそれぞれ

作成した。

トレーサーを注入したラットはさらに3日後還流固定し、間接蛍光抗体法にて検出されるトレーサーの分布のうちコリン作動性細胞の分布と重なるニューロンが内側前庭神経核と舌下神経前位核にあるかどうかを検索した。

(成績)

免疫組織学的検索の結果、Fos と ChAT により二重染色される神経細胞は術側の内側前庭神経核、対側の舌下神経前位核の尾側に有意に多く分布していた。

さらに AF64A によりコリン作動性苔状繊維を破壊したラットは、小脳片葉に注入したもの、小脳傍片葉に注入したものいずれにおいても内耳破壊を行うと対照群に比べて代償初期に有意に多く眼振が解発され、間接蛍光抗体法により検出される逆行性トレーサー-FG で染まるニューロンのうち ChAT で二重に染まるものは、術側の内側前庭神経核、対側の舌下神経前位核のいずれにも観察されなかった。対照群としては生食を小脳片葉、傍片葉に注入し、コリン作動性苔状繊維が破壊されないラットを用いた。

(総括)

今回の免疫組織化学的検索の結果、Fos と ChAT で二重染色されるニューロンは術側の内側前庭神経核 (ipsi-Mve)、対側の舌下神経前位核 (contra-PrH) のそれぞれ尾側に有意に多く分布することが分かった。過去にも Barmack ら (1992) もウサギとラットにおいて、小脳片葉や傍片葉に投射するコリン作動性成分は ipsi-Mve と contra-PrH の尾側に存在するとの報告を行っており、このことから ipsi-Mve、contra-PrH において内耳破壊後に活性化されるコリン作動性細胞は前庭小脳に投射し前庭代償の進行に関わっている可能性が示唆される。一方、我々はコリン作動性ニューロンの末梢から取り込まれ、これらを特異的に破壊する薬物 AF64A を前庭小脳に注入したラットで前庭代償初期 (破壊後 18 時間以内) に眼振が有意に多く解発されることを見いだした。さらにこれらのラットに逆行性トレーサー-FG を前庭小脳から注入すると ipsi-Mve、contra-PrH において ChAT で染まり、かつ FG で二重に染まる細胞は検出されず、コリン作動性ニューロンは破壊され消失していることが分かった。この破壊実験の結果からも内側前庭神経核、舌下神経前位核から前庭小脳に投射するコリン作動性苔状繊維は前庭症状軽減に重要な役割を果たしていると考えられた。Kitahara らは小脳片葉において NO が拡散性の神経伝物質であり前庭代償初期に対側の内側前庭神経核を抑制する働きがあることを示唆している。すなわち我々の今回の実験結果から、前庭-小脳片葉系、前庭-小脳傍片葉系のコリン作動性苔状繊維は小脳片葉、傍片葉が制御する抑制性の神経回路を介して対側の内側前庭神経核を抑制し、前庭代償初期における前庭神経核間の活動バランスの不均衡の回復に貢献すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

アセチルコリンは前庭代償に関与する神経伝達物質である可能性が示唆されてきたが、小脳を含む神経回路において果たす役割は不明であった。

本論文において、内耳破壊後活性化されるコリン作動性ニューロンの分布を免疫組織化学的に検索し、さらに前庭神経核から前庭小脳系に投射するコリン作動性ニューロンを破壊したモデルラットの作成のち、内耳破壊を行い前庭代償中の健側前庭神経核抑制系回路におけるコリン作動性ニューロンの果たす役割を評価した。免疫組織化学的検索の結果、障害側内側前庭神経核尾側において内耳破壊後活性化されるコリン作動性ニューロンが小脳片葉に投射していることが示唆され、この経路が破壊されたラットにおいて前庭代償急性期において眼振が有意に多く解発されることから、アセチルコリンが内側前庭神経核から小脳片葉に投射する苔状線維の伝達物質として前庭代償急性期の健側抑制回路で重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

内耳性めまい疾患により内耳が障害されても、前庭代償が速やかに発現し完成すればめまいに関する患者の苦痛も少ない。本論文は前庭小脳片葉系のコリン作動性苔状線維が小脳片葉の制御する抑制性の神経回路を介して対側の内側前庭神経核を抑制し、前庭代償初期における内側前庭神経核間の活動バランスの不均衡の回復に貢献するという点を初めて明らかにした点で、内耳性めまい患者の予後を改善するための治療法の開発にとって極めて重要であると考えられ、学位論文に値すると思われる。