The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	三叉神経一次感覚ニューロンにおけるSNARE関連蛋白
Author(s)	瀧, 邦高
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49223
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

【44】

氏　　名	瀧（たき）　邦（くに）　高（たか）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　２２３２５　号
学位授与年月日	平成 20 年３月 25 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	**三叉神経一次感覚ニューロンにおける SNARE 関連蛋白**
論文審査委員	（主査） 教　授　丹羽　　均 （副査） 教　授　脇坂　　聡　　准教授　社　浩太郎　　講　師　森谷　正之

論　文　内　容　の　要　旨

【研究目的】

シナプスでは、神経伝達物質をシナプス小胞内に貯め、小胞をシナプス前膜まで移送し、融合させてシナプス間隙にその神経伝達物質が放出される。その機構にはシナプス関連蛋白が重要な機能をはたしている。シナプス関連蛋白としては、synaptosomal-associated protein-25（SNAP-25）、syntaxin-1、vesicle-associated membrane protein-2（VAMP-2）などがあり、これらは結合して、シナプス小胞をシナプス前膜に固定させる soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptor（SNARE）説と呼ばれる一連の理論のもとになっている。

痛覚などの感覚は、末梢での刺激が一次感覚ニューロンを興奮させ、その興奮は中枢にある二次ニューロンにシナプスを介して高位中枢に伝達される。三叉神経系では、一次感覚ニューロンの細胞体は三叉神経節および三叉神経中脳路核にあり、形態的には偽単極性で、中枢突起は二次ニューロンとシナプスを形成しているが、末梢突起はシナプスを形成していない。シナプスのない末梢での SNARE 関連蛋白がどうなっているかはこれまでわかっていない。そこで本研究では、三叉神経一次感覚ニューロンにおいて SNAP-25、syntaxin-1、VAMP-2 の分布を検索し、一次感覚ニューロンにおけるこれらの役割について検討した。

【実験方法】

実験には７、14、28 日齢および８週齢の雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用いた。

実験１．免疫組織学的解析

動物を麻酔下で、４％パラホルムアルデヒドで灌流固定し、上下顎骨は 7.5% EDTA で脱灰した。次に、下顎骨、三叉神経節、脳幹の凍結切片を作成した。一部の動物では下歯槽神経を絹糸で結紮し、24 時間後に灌流固定し、結紮した下歯槽神経を長軸方向に凍結切片にした。これらの切片を、SNAP-25、syntaxin-1、VAMP-2 の抗体で免疫染色した。歯根膜については透過型電子顕微鏡にて観察した。

実験２．RT-PCR 解析

成獣から麻酔下で、三叉神経節を取り出し、RT-PCR 法により、三叉神経節における VAMP-2、および SNAP-25、syntaxin-1 の subunit の mRNA の発現解析を行った。

【実験結果】

三叉神経節：免疫組織化学では SNAP-25、syntaxin-1、VAMP-2 のいずれも細胞体に認められたが、VAMP-2 は主に小型細胞に、SNAP-25 と syntaxin-1 は中型細胞に局在していた。RT-PCR 解析の結果 SNAP-25A、SNAP-25B、syntaxin-1A、syntaxin-1B、VAMP-2 の mRNA の発現が認められた。SNAP-25、syntaxin-1 の subunit では、SNAP-25B、syntaxin-1B の mRNA の発現が強く認められた。

三叉神経感覚核群：三叉神経節細胞体の中枢突起の投射領域である三叉神経感覚核群において SNAP-25、syntaxin-1、VAMP-2 免疫反応陽性構造物が認められた。

下歯槽神経：正常な下歯槽神経では免疫反応は認められなかったが、結紮した下歯槽神経では結紮部の中枢側の神経線維に SNAP-25、syntaxin-1、VAMP-2 陽性反応が認められた。

歯髄：歯髄神経線維において SNAP-25、syntaxin-1、VAMP-2 陽性反応が認められた。

歯根膜：成獣においてほとんど全ての歯根膜神経線維に SNAP-25、syntaxin-1 陽性反応が認められた。電子顕微鏡観察では SNAP-25 はルフィニー神経終末では軸索終末に認められる小胞の膜周囲に免疫活性が認められた。歯根膜神経線維の発育過程においても、ほとんど全ての歯根膜神経線維に SNAP-25、syntaxin-1 が認められた。

【考　察】

SNAP-25、syntaxin-1、VAMP-2 などの SNARE 関連蛋白は中枢神経系において、シナプス小胞からの神経伝達物質の放出に関与しているとされている。本研究では三叉神経一次感覚ニューロンでは細胞体の存在する三叉神経節において SNARE 関連蛋白の mRNA が発現しており、SNARE 関連蛋白が三叉神経節細胞体で合成されていることが明らかになった。合成された SNARE 関連蛋白は、中枢投射領域である三叉神経感覚核群に輸送され、二次ニューロンとのシナプス部に認められたことから、シナプスでの神経伝達物質の放出への関与が示された。一方、三叉神経節で合成された SNARE 関連蛋白は、下歯槽神経の結紮部位における免疫活性の確認により、末梢へも輸送されることが明らかになった。末梢突起の終末での分布を検索したところ、歯髄では３種とも認められたが歯根膜では SNAP-25、syntaxin-1 は認められ、VAMP-2 は認められなかった。歯根膜機械受容器であるルフィニー終末では SNAP-25 は終末に認められる小胞膜に局在していたことから、シナプスを持たない感覚受容器においても小胞内物質の放出に関与している可能性が示唆され、その場合には VAMP-2 以外の SNARE 関連蛋白が v-SNARE として存在している可能性が考えられた。

以上のことより、三叉神経一次感覚ニューロンにおいて SNARE 関連蛋白は細胞体で合成され、中枢投射領域ではシナプスにおけるシナプス小胞からの神経伝達物質の放出に関与し、シナプスを形成していない末梢でも小胞からの物質の放出に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、三叉神経一次感覚ニューロンにおける SNARE 関連蛋白の分布と役割について検討したものである。

その結果、シナプス小胞から神経伝達物質の放出に関わるこれらの蛋白は、三叉神経節細胞体で合成されて、中枢側および末梢側に輸送され、末梢ではシナプスのない感覚受容器の終末に認められた。

本研究の結果は、SNARE 関連蛋白が、シナプスのない末梢感覚受容器の小胞からの物質の放出に関与している可能性を明らかにしたものであり、博士（歯学）の学位に値するものである。