

Title	オトガイ神経損傷に伴う三叉神経節における非神経細胞の動態
Author(s)	角野, 公紀
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52332
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (角野公紀)	
論文題名	オトガイ神経損傷に伴う三叉神経節における非神経細胞の動態
論文内容の要旨	
<p>【目的】</p> <p>末梢感覚神経を損傷すると種々の知覚異常が発症し、それに伴いニューロンやその周囲のグリア細胞等の非神経細胞の動態に変化が認められることが近年注目されている。中枢神経系ではグリア細胞としてアストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアが知られており、神経損傷後に形態変化やタンパク発現の変化が認められることが明らかになりつつある。一方末梢神経系のグリア細胞としてはサテライト細胞やシュワン細胞が知られており、その働きや発現するタンパクの共通点から、アストロサイトとサテライト細胞、オリゴデンドロサイトとシュワン細胞がそれぞれ類似する働きを持つ細胞であると考えられている。ミクログリアに相当する細胞については明らかにされていないが、ミクログリアのマーカーであるionized calcium-binding adaptor molecule 1 (Iba1)を発現する細胞が脊髄後根神経節や三叉神経節等の感覚神経節に存在することは知られている。しかしながらIba1陽性細胞はマクロファージであるとする見解やグリア細胞の一種であるとする見解があり、統一された意見がない。</p> <p>また軸索に損傷を受けると一次感覚ニューロンの細胞体やその周囲の非神経細胞における各種遺伝子およびタンパクの発現が変化し、活動電位発生の閾値に影響を与えることが知覚異常の発症に関与していると考えられているが、末梢神経系における神経損傷後の非神経細胞の形態学的変化とこれらの分子の発現との関連については未だ不明な点が多い。</p> <p>そこで本研究では、口腔顔面領域の臨床において知覚異常を発症する事例が多いオトガイ神経の慢性絞扼損傷（神経結紮）モデルと神経切断モデルを作製し、三叉神経節におけるサテライト細胞とIba1陽性細胞の動態を形態学的及び組織化学的に検討、比較した。</p> <p>【材料と方法】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ <u>実験動物と試料作製</u> <p>実験には6～10週齢のSprague-Dawley系雄性ラットを用いた。抱水クロラルの腹腔内投与による麻酔下にて、口腔外より左側オトガイ神経を剖出し、慢性絞扼損傷モデルでは神経に接する程度に緩く1カ所結紮、神経切断モデルでは軸索再生を防ぐために神経を2カ所強く結紮し、その間の軸索を切断、除去した。右側にはsham opeを実施した。神経損傷後1、2、4週に灌流固定を行い、三叉神経節を摘出し、形態学的検討および免疫組織化学に供した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ <u>形態学的検討</u> <p>通法に従い三叉神経節の切片をレジン包埋後、超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡で観察した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ <u>免疫組織化学</u> <p>ミクログリアのマーカーであるIba1、単球系細胞のマーカーであるED1、サテライト細胞のマーカーであるsmall conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel 3 (SK3)に対する抗体を用いて、ABC法または蛍光標識抗体法にて免疫染色を行った。一部は透過型電子顕微鏡でも観察した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ <u>定量解析</u> <p>神経損傷後1、2週での三叉神経節内の各枝支配ニューロン領域におけるIba1陽性反応を示す細胞の数を計測した。</p>	

【結果】

・サテライト細胞の動態

正常動物では複数のサテライト細胞がニューロンの全周を緊密に囲んでいたが、神経結紮後2週および神経切断後2週ではサテライト細胞とニューロンとの間に間隙を認め、そこにサテライト細胞が突起を伸延させていた。加えて切断後2週では、一部のニューロンやその周囲のサテライト細胞の細胞内小器官の構造が不明瞭となり、細胞質に空胞の形成が認められた。結紮後4週では結紮後2週と同様の像が観察されたが、加えて一部のニューロンで細胞質の部分的な欠損と、その部分でサテライト細胞同士の結合の断裂を認めた。切断後4週ではサテライト細胞とニューロンとの間隙がさらに拡大し、多くのニューロンで細胞死の像が認められた。損傷ニューロンを取り囲むサテライト細胞同士の結合も断裂していた。

・Iba1陽性細胞の動態

正常動物において、三叉神経節内ニューロン周囲に類円形で短い突起を持つIba1陽性細胞が認められた。これらのIba1陽性細胞はED1を共発現するが、SK3は発現していないことから、サテライト細胞とは異なる細胞であることが示された。微細構造学的には、正常動物ではIba1陽性細胞はサテライト細胞の外側の結合組織領域に位置していた。

神経損傷後の三叉神経節内の各枝支配ニューロン領域におけるIba1陽性細胞の数を計測したところ、慢性絞扼損傷モデル神経切断モデルともに損傷後1週では損傷側の第3枝支配ニューロン領域で細胞数の増加を認めた。結紮後2週では細胞数は正常よりは多いが結紮後1週より減少していたのに対し、切断後2週では切断後1週より細胞数が増加していた。第1、2枝支配ニューロン領域ではいずれのモデルにおいても細胞数にほとんど変化が認められなかった。

神経損傷後のIba1陽性細胞の微細構造を観察したところ、結紮後2週では、Iba1陽性細胞はサテライト細胞の外側細胞膜に沿うように突起を伸延させていた。一方切断後2週では、Iba1陽性細胞は多くはサテライト細胞の外側に位置していたが、損傷を受けたニューロンとその周囲のサテライト細胞との間の間隙内に侵入し、ニューロンの細胞質を取り込んでいる像も観察された。

また、神経損傷後にIba1陽性細胞のED1発現が増加し、特に切断後2週で顕著に増加した。

【結論】

三叉神経節内のサテライト細胞は神経結紮後に形態学的変化を示し、ニューロンとの間隙が拡大し、一部でニューロンを取り巻くサテライト細胞同士の結合が断裂することが明らかになった。これによって、ニューロン周囲の環境を維持しているイオンやサイトカインの流出を引き起こし、知覚異常の発症に関与している可能性が考えられる。一方神経切断後もニューロンとサテライト細胞との間隙の拡大が認められるが、同時にニューロンとサテライト細胞の細胞死も認めるため、知覚麻痺が発症すると考えられる。

三叉神経節におけるIba1陽性細胞は正常動物では類円形で短い突起を持ち、ED1を共発現していた。またIba1陽性細胞は神経切断モデルで経時的に細胞数やED1発現の増加を続けること、損傷ニューロンの細胞質を取り込む像が認められたこと等から、Iba1陽性細胞が細胞死したニューロンやサテライト細胞の貪食に関与する単球系の細胞であることが示された。一方貪食の対象となる細胞の残骸等の少ない慢性絞扼損傷モデルでも、神経損傷後初期にIba1陽性細胞は細胞数が増加し、ニューロン周囲のサテライト細胞の外側細胞膜に沿うように位置し、長い突起を伸延させていたことから、神経損傷後初期にはサテライト細胞との間で何らかの情報伝達を行っていると考えられる。

以上のことから三叉神経節におけるIba1陽性細胞は免疫応答や貪食に関与する細胞であると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (角 野 公 紀)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授 脇 坂 聡
	副 査	教 授 吉 田 篤
	副 査	准教授 豊 田 博 紀
	副 査	講 師 田 中 晋
論文審査の結果の要旨		
<p>本研究は、ラットオトガイ神経損傷後の三叉神経節におけるサテライト細胞、ならびに中枢ミクログリアのマーカである ionized calcium-binding adaptor molecule 1 (Iba1) を発現する細胞の動態を形態学的及び組織化学的に検討したものである。</p> <p>その結果、神経損傷後にサテライト細胞については、ニューロンとの間の間隙の拡大やサテライト細胞同士の結合の断裂が認められた。また Iba1 陽性細胞については細胞数の増加や突起の伸延等の形態学的変化、さらに細胞の貪食像が認められた。これらのことからサテライト細胞と Iba1 陽性細胞は神経損傷に応答して変化を示すことが明らかとなり、特に Iba1 陽性細胞は免疫応答や貪食に関与する細胞であることが示された。</p> <p>以上より、本研究は末梢神経損傷後の三叉神経節における、ニューロン近傍に存在する非神経細胞の動態について重要な知見を与えるものであり、本研究者は博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認める。</p>		