



Title	ラット三叉神経系ニューロンにおけるPostsynaptic density protein 95 (PSD-95) 発現の生後発達
Author(s)	田中, 輝
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52360
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 (田 中 輝)	
論文題名	ラット三叉神経系ニューロンにおける Postsynaptic density protein 95 (PSD-95) 発現の生後発達
論文内容の要旨 【目的】 化学シナプスは、シナプス後肥厚を形成する多様なタンパク質を含み、これらのタンパク質はシナプスの構造、神経伝達およびシグナル伝達に関与する。本研究で注目したシナプス後肥厚タンパク質95 (Post Synaptic Density-95、以下PSD 95) は、興奮性のシナプス後肥厚部における主な足場タンパク質でシナプス強度を制御している。さらにシナプスにおける情報伝達の頻度に応じてNメチル-Dアスパラギン酸塩 (N-methyl-D, aspartic acid、以下NMDA) 受容体のサブユニットNR2と結合することによりNMDA受容体の局在化を制御し、情報伝達の効率化に働くことで興奮性シナプスにおけるシナプス可塑性に関与している。当教室でのこれまでの研究により、哺乳や咀嚼などのリズムカルな顎運動を形成する三叉神経系の活動は脳幹で形成されており、NMDA受容体は三叉神経運動核周囲において出生前や出生後早期の発育における顎運動のリズムとパターン形成および信号伝達に重要な役割を果たしていることが明らかになっている。このことから、発育中のラット脳幹標本におけるPSD 95の経日的分布を調査することは神経回路網の形成を検討する上で重要であると考え、免疫組織化学的に調査した。 【研究方法】 実験には生後1日から23日齢 (P 1からP 23) のSD系ラットでP 1, P 3, P 5, P 7, P 9, P 11, P 13, P 18,およびP 23で各日齢3匹を用いた。ラットはハロタン吸入深麻酔および、ネンプターール腹腔内麻酔 (50mg/kg BW) を行い、ヘパリン加0.02Mリン酸緩衝生理食塩水 (phosphate buffer saline、以下PBS, pH 7.3) および4%パラホルムアルデヒド・0.1Mリン酸緩衝液 (pH 7.4) にて灌流固定し、脳を摘出した。摘出した脳は、さらに4%パラホルムアルデヒド・0.1Mリン酸緩衝液に48時間浸漬固定を行い、その後20%スクロース加0.02MPBSに48時間浸漬した。脳標本はObexから上丘尾側端の範囲で、冠状断連続凍結薄切切片 (50μm) を作製した。連続薄切切片は免疫組織化学染色と対比染色に交互に分け、免疫組織化学染色は、PSD 95モノクローナル抗体を用い、フリーフローティングおよびABC法を用いて行った。免疫組織化学染色の1次抗体は、PSD 95モノクローナル抗体 (1:250, Sigma-Aldrich) を用いた。可視化にはDABを、対比染色にはヘマトキシリンを用いた。光学顕微鏡を用いて三叉神経運動核における運動ニューロンの免疫陽性細胞を計測し陽性率を求め、P 1からP 23の各日齢におけるPSD 95の陽性率の経日的変化を検討した。また、他の口腔顎顔面領域の運動神経である顔面神経核、舌下神経核の陽性率も求め、三叉神経運動核におけるPSD 95陽性ニューロンの発現時期、経日的変化について比較検討した。さらに三叉神経運動核に関しては、開口筋支配領域・閉口筋支配領域別に検討を行った。また、三叉神経中脳路核、三叉神経傍領域におけるPSD 95陽性ニューロンの発現についても調査した。 【研究結果】 三叉神経運動核におけるPSD 95陽性ニューロンの発現はP 1およびP 3では認められず、P 5から認められた。その経日的変化は、0% (P 1)、0% (P 3)、4.8±0.6% (P 5)、10.5±1.3% (P 7)、15.4±0.7% (P 9)、20.4±1.8% (P 11)、25.7±3.0% (P 13)、57.4±2.2% (P 18)、86.9±3.6% (P 23) であった。 顔面神経核においてはPSD 95陽性ニューロンの発現はP 1から認められ、5.3±1.3% (P 1)、10.4±1.6% (P 3)、18.3±3.3% (P 5)、27.2±3.3% (P 7)、39.1±2.8% (P 9)、50.6±2.5% (P 11)、59.2±4.5% (P 13)、71.4±7.3% (P 18)、78.4±3.1% (P 23) であった。 舌下神経核においてはPSD 95陽性ニューロンの発現はP 1から認められ、3.1±2.8% (P 1)、7.6±2.4% (P 3)、10.6±2.2% (P 5)、14.7±1.4% (P 7)、25.2±2.1% (P 9)、43.5±3.0% (P 11)、53.5±2.5% (P 13)、61.5±2.4% (P 18)、74.3±2.1% (P 23) であった。 三叉神経運動核の開口筋支配領域、閉口筋支配領域においては、ともにPSD 95陽性ニューロンの発現はP 5から認め、開口筋領域では、0% (P 1)、0% (P 3)、8.1±5.0% (P 5)、11.1±2.7% (P 7)、15.2±1.9% (P 9)、18.2±	

4.3% (P 11) 、19.5±4.4% (P 13) 、48.5±6.7% (P 18) 、78.6±7.2% (P 23) であった。

閉口筋領域では、0% (P 1) 、0% (P 3) 、3.3±2.9% (P 5) 、10.2±0.8% (P 7) 、15.3±0.8% (P 9) 、21.3±0.4% (P 11) 、28.1±2.4% (P 13) 、60.8±0.4% (P 18) 、90.5±4.1% (P 23) であった。

三叉神経中脳路核におけるRSD 95陽性ニューロンはP 1から弱く認められた。

三叉神経運動核内側の三叉神経傍領域におけるRSD 95陽性ニューロンはP 1から強く認められた。

【考察および結語】

三叉神経運動核においてRSD 95陽性ニューロンの発現はP 5からであり、顔面神経核、舌下神経核より発現時期は遅いことが分かった。すなわち、開閉口筋を支配する三叉神経運動核におけるRSD 95陽性ニューロンの発現時期と発達様相は顔面表情筋・舌筋を支配する顔面神経核・舌下神経核とは異なることが分かった。これらの違いは、出生直後は吸啜運動のため表情筋・舌筋が主に機能し、発育に伴って咀嚼運動へ移行することで咀嚼筋が機能を開始するためであると考えられた。また、三叉神経運動核におけるRSD 95陽性率は経日的に増加しており、特にP 13以降で著しい増加傾向を示すことが分かった。この時期は吸啜運動から咀嚼運動への移行期であり、この移行期にシナプスの情報伝達量が増大することでRSD 95陽性率が著しく増加したのではないかと考えられた。三叉神経運動核における開口筋支配領域および閉口筋支配領域に関しては、三叉神経運動核全域での検索と同様に、P 13以降でRSD 95陽性率の著しい増加傾向を認め、P 13、18を除く各日齢において両領域で有意差を認めなかった。ここから、各日齢において中枢性入力と末梢性入力調整しあうことで両領域へのシナプス入力均等となり、リズムカルな吸啜・咀嚼運動が維持されているのではないかと考えられた。

三叉神経中脳路核および三叉神経運動核に投射する運動前ニューロンが存在する領域である三叉神経運動核内側の三叉神経傍領域においてP 1からRSD 95陽性ニューロンの発現を認めた。これは三叉神経中脳路核および三叉神経傍領域においてP 1からシナプスの入力を受けていることを示している。特に、強い免疫反応を示した三叉神経傍領域に関しては出生早期からCPCの一部として吸啜・咀嚼運動に関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (田 中 輝)			
	(職) 氏 名		
論文審査担当者	主 査	教授	古郷 幹彦
	副 査	教授	姜 英男
	副 査	准教授	中村 渉
	副 査	講師	本間 志保

論文審査の結果の要旨

本研究は、中枢神経系における吸啜および咀嚼運動に関わる神経回路網の発達過程を明らかにする目的で、三叉神経運動核、顔面神経核、舌下神経核、三叉神経中脳路核および三叉神経傍領域において免疫組織化学的に **PSD 95** の経目的発現パターンを分析したものである。その結果、三叉神経運動核の方が **PSD 95** 陽性ニューロンのパターンは顔面神経核、舌下神経核より遅れて成熟することが分かった。このことは、吸啜から咀嚼運動へ移行するにあたり、各日齢において咀嚼筋、表情筋および舌筋の活動に違いが生じていることを示唆している。

以上より、本研究結果は、口腔顔面領域に関わる中枢神経機構の研究の発展に貢献するものであり、博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認める。