

氏名(本籍)	外村 宗達 (滋賀県)
学位の種類	博士 (鍼灸学)
学位記番号	鍼博甲第69号
学位授与の日付	平成28年 3月15日
学位授与の要件	大学院学則第34条第1項および学位規程第5条第1項該当
学位論文題目	Structure-function correlations of rat trigeminal primary neurons: Emphasis on club-like endings, a vibrissal mechanoreceptor
論文審査委員	(主査) 熊本 賢三 (副査) 中山 登稔 (副査) 福田 文彦

### 論文内容の要旨

目的：ラット三叉神経一次感覚ニューロンは偽単極性で、顔面部の刺激を受容し中枢へ伝える。一次感覚ニューロンの中枢投射に関する研究は多岐に行われてきたが、末梢神経終末との機能相関をみた研究は少ない。本研究ではヒゲ洞毛内の毛軸の動きを捉える多様な感覚神経終末に着目し、in vivo 三叉神経節細胞内電位記録標識法を用いて単一ニューロンの全形態と発火特性を明らかにした。

方法：雄性 Wistar ラット (3-13週齢) を深麻酔下に置き、頭頂骨の一部を剥離後、三叉神経節に至るまでの側頭葉を円柱形に吸引除去した。20% neurobiotin を含む 1.0M 酢酸カリウムを充填した微小ガラス電極を細胞内に刺入して細胞内電位を記録後、ヒゲ受容野に Von-Frey フィラメントや爪楊枝でヒゲを傾けたり、エアパフ刺激 (0.1-0.03MPa, 10s) をヒゲに加えたりして活動電位を記録し、神経トレーサーを電気泳動的に約 30 分間注入した。動物は約 20 時間深麻酔下で生存維持させた後、経心臓的に灌流固定後、標識ニューロンを蛍光標識ストレプトアビジンにて可視化した。

結果：受容野の機械刺激による発火特性の記録と、神経トレーサー注入による単一一次感覚ニューロンの全貌を形態学的に明らかにした。棍棒状終末 (n=16)、メルケル終末 (n=12)、樹状終末 (n=7)、槍型終末 (n=4)、スパイニー終末 (n=1) の合計 40 の神経終末が洞毛内で確認された。いずれのニューロンも単一種類の終末を形成し、その内最も単純な形態の棍棒状終末は輪状塊と呼ばれる輪状静脈洞内に突出する馬蹄形をした構造物の基部に 1~2 本形成されていた。洞毛の準超薄連続切片の再構築では、輪状塊の基部に約 50 の棍棒状終末が毛軸を取り囲むように柵状に並列し、結合組織で輪状塊に繋ぎとめられていた。一方、中枢性軸索は脳幹の主感覚核から脊髓路核に至る三叉神経核に約 20 本の側枝を伸ばしていた。エアパフ刺激に対して棍棒状終末は  $292.3 \pm 95.6$  Hz (mean  $\pm$  SD, n=8, 13 trials) で発火し、他の終末 ( $135.1 \pm 73.2$  Hz, n=13, 29 trials) と比較して著しく高頻度な発火を示した ( $P < 0.001$ )。

考察：棍棒状終末は輪状塊の基部に単独で終末し、中枢側は広く三叉神経核領域に側枝を投射したことから、ヒゲ感覚受容に重要な神経終末であると考えられた。また、輪状静脈洞に浮かぶ輪状塊はヒゲ以外の周辺組織の動きや振動を除去する緩衝

装置として作用すると考えられ、棍棒状終末はヒゲ毛軸のみの微細な動きを他の終末よりの確に捉えることができると示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

外村宗達君は、ラットの三叉神経一次感覚ニューロンの末梢神経終末と中枢性終末およびニューロンの刺激に対する発火特性を洞毛内に分布する同一ニューロンで特定するために、in vivo 三叉神経節細胞内電位記録標識法を用いて研究を行った。

方法：雄性 Wistar ラット（3-13 週齢）を深麻酔下に置き、頭頂骨の一部を剥離後、三叉神経節に至るまでの側頭葉を円柱形に吸引除去した。20% neurobiotin を含む 1.0M 酢酸カリウムを充填した微小ガラス電極を細胞内に刺入して細胞内電位を記録後、ヒゲ受容野に Von-Frey フィラメントや爪楊枝でヒゲを傾けたり、エアパフ刺激（0.1-0.03MPa, 10s）をヒゲに加えたりして活動電位を記録し、神経トレーサーを電気泳動的に約 30 分間注入した。動物は約 20 時間深麻酔下で生存維持させた後、経心臓的に灌流固定後、標識ニューロンを蛍光標識ストレプトアビジンにて可視化した。

結果：受容野の機械刺激による発火特性の記録と、神経トレーサー注入による単一一次感覚ニューロンの全貌を形態学的に明らかにした。棍棒状終末（n=16）、メルケル終末（n=12）、樹状終末（n=7）、槍型終末（n=4）、スパイニー終末（n=1）の合計 40 の神経終末が洞毛内で確認された。いずれのニューロンも単一種類の終末を形成し、その内最も単純な形態の棍棒状終末は輪状塊と呼ばれる輪状静脈洞内に突出する馬蹄形をした構造物の基部に 1~2 本形成されていた。洞毛の準超薄連続切片の再構築では、輪状塊の基部に約 50 の棍棒状終末が毛軸を取り囲むように柵状に並列し、結合組織で輪状塊に繁ぎとめられていた。一方、中枢性軸索は脳幹の主感覚核から脊髓路核に至る三叉神経核に約 20 本の側枝を伸ばしていた。エアパフ刺激に対して棍棒状終末は  $292.3 \pm 95.6$  Hz (mean  $\pm$  SD, n=8, 13 trials) で発火し、他の終末 ( $135.1 \pm 73.2$  Hz, n=13, 29 trials) と比較して著しく高頻度な発火を示した ( $P < 0.001$ )。

考察：棍棒状終末は輪状塊の基部に単独で終末し、中枢側は広く三叉神経核領域に側枝を投射したことから、ヒゲ感覚受容に重要な神経終末であると考えられた。また、輪状静脈洞に浮かぶ輪状塊はヒゲ以外の周辺組織の動きや振動を除去する緩衝装置として作用すると考えられ、棍棒状終末はヒゲ毛軸のみの微細な動きを他の終末よりの確に捉えることができると示唆された。

本論文は学士院紀要 B, 91 巻, 560-576 頁, 2015 年 12 月号に掲載され、本学大学院博士（鍼灸学）の学位を授与するに値するものと認める。

（主論文公表誌）

Proceedings of the Japan Academy, Series B 91 巻, 2015 年