

氏 名	北西 剛
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士乙第 403号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成26年 3月10日
学位論文題目	Distinct Localization of Peripheral and Central Types of Choline Acetyltransferase in the Rat Cochlea (ラット蝸牛における末梢型および中枢型コリンアセチルトランスフェラーゼの局在)
審査委員	主査 教授 等 誠司 副査 教授 宇田川 潤 副査 教授 安藤 朗

論文内容要旨

※整理番号	407	(ふりがな) 氏名	きたにし つよし 北西 剛
学位論文題目	Distinct Localization of Peripheral and Central Types of Choline Acetyltransferase in the Rat Cochlea (ラット蝸牛における末梢型および中枢型コリンアセチルトランスフェラーゼの局在)		
<p>【研究の目的】</p> <p>蝸牛における遠心性神経系の神経伝達物質としてアセチルコリンが知られているが、求心性の神経系におけるアセチルコリンの関与については不明な点が多い。これまでアセチルコリン神経の形態学的マーカーとしては、アセチルコリン合成酵素であるコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) に対する免疫組織染色が用いられてきたが、アセチルコリン作動性であるとされている末梢神経の多くは描出困難であった。近年我々は、末梢型の ChAT (pChAT) を見だし、これに対する抗体を作製し、末梢のアセチルコリン神経の染色を行ってきた。今回はこの抗体を用いてラット蝸牛におけるアセチルコリン神経の分布・局在を再検討し、従来の ChAT 染色やアセチルコリンの分解酵素であるアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 染色との比較、蝸牛神経核の除神経の影響を併せて検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>Wistar 系ラットを灌流固定し、蝸牛を含む側頭骨を摘出した。後固定し脱灰した後、蝸牛組織切片を作成し、pChAT 免疫組織化学染色を行った。また、従来から中枢でのアセチルコリン神経の染色に繁用されてきた中枢型アセチルコリン合成酵素 (cChAT) に対する免疫組織化学染色、さらに AChE の酵素組織化学染色を行い、pChAT 染色結果と比較し、アセチルコリン神経の局在、分布を再検討した。pChAT 陽性神経細胞の細胞の種類を検討するため陽性細胞の大きさを画像解析した。さらに聴覚中枢路である蝸牛神経核を吸引除去した後、上記と同様に pChAT および cChAT の免疫組織化学染色を行い、同神経核除去前後の染色性の比較検討を行った。</p> <p>【結果】</p> <p>ラット蝸牛の神経組織において pChAT 陽性免疫反応が見られた。特に一次求心性神経であるラセン神経節の小型の神経細胞が強く染色された。コルチ器では弱く染色された神経線維を認めたが、有毛細胞は染色されなかった。蝸牛神経を構成すると考えられる pChAT 陽性神経線維が蝸牛軸で見られた。従来の cChAT 染色および AChE 染</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

色では遠心性神経線維が染色された。ラセン神経節の pChAT 陽性細胞は主に小型細胞に属した。蝸牛神経核の除去実験では、除去側の cChAT 陽性染色は消失したが、pChAT 陽性神経線維はより明瞭に観察された。

【考察】

ラットのラセン神経節と蝸牛軸において pChAT 陽性神経細胞と神経線維を見いだした。cChAT や AChE は神経線維のみにみられ、ラセン神経節の神経細胞では認められず、pChAT 陽性の神経細胞や神経線維の分布とは異なった分布を示した。遠心性神経線維と考えられる cChAT は蝸牛神経核の外科切除で消失し、これは従来の知見を支持するものであった。ラセン神経節の pChAT 陽性神経細胞は小型であった。蝸牛神経核の外科切除で pChAT の染色がより明瞭になったことは、ラセン神経節で作られた pChAT タンパクがラセン神経節から蝸牛神経核へ輸送されていることを示唆するものと考えた。

ラセン神経節の小型の神経細胞は外有毛細胞 (outer hair cell: OHC) が感受した情報を蝸牛神経核に伝え、OHC II 型細胞と呼ばれている。今回ラセン神経節における pChAT 陽性神経細胞は全細胞の 9.4% を占めており、従来の報告の OHC II 型細胞の出現頻度 5-10% と矛盾しない。小型であることと併せてラセン神経節の pChAT 陽性神経は OHC II 型細胞であることが推察され、pChAT が OHC II 型細胞の良好なマーカーとなると考えられた。

外有毛細胞の感覚神経支配は内有毛細胞のそれと比較して非常に疎であり、聴覚情報の伝達においては内有毛細胞の活動が主であるため、これまであまり検討がなされてこなかった。外有毛細胞からの感覚情報は、大きな音による痛みや細胞障害を蝸牛神経核に伝え、これに対応して遠心性神経が OHC の運動性を制御する役割を持つことが推察されている。このような外有毛細胞から蝸牛神経核への求心路において pChAT が真にアセチルコリンを合成しているか否かは未検討であるが、感覚神経節である脊髄後根神経節での合成が報告されており、ラセン神経節でも同様にアセチルコリンを合成していると推察される。この点は今後さらなる検討が必要であると考える。

【結論】

ラット蝸牛における pChAT 陽性構造を cChAT および AChE と比較検討した。cChAT および AChE 陽性構造が神経線維に限局してみられたのに対して、pChAT 陽性反応はラセン神経節の神経細胞と神経線維の一部に特異的に見られた。陽性神経細胞は小型で神経節の細胞の 9.4% にみられ、これらから OHC II 型細胞であると推察された。蝸牛神経核の除去実験から、ラットの蝸牛において cChAT は遠心性神経支配、pChAT は求心性神経支配にかかわることが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	407	氏名	北西 剛
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと。)</p> <p>蝸牛コルチ器における内有毛細胞および外有毛細胞は、聴覚の主たる感覚器官としてその興奮を蝸牛神経核に送るが、内および外有毛細胞に対する求心性線維・遠心性線維のサブタイプや役割については不明な点も多い。北西氏は、コリン作動性神経細胞のマーカであるアセチルコリン合成酵素(ChAT)に注目し、中枢型 ChAT(cChAT)と末梢型 ChAT(pChAT, ChAT のサブライシングバリエーションで、cChAT の中央領域を欠く)に対する特異的抗体を用い、ラット蝸牛有毛細胞の詳細な解析を行った。</p> <p>その結果、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ラセン神経節神経細胞の細胞体と、その軸索と考えられるコルチ器に分布する神経線維、蝸牛軸の神経線維において、免疫組織化学的手法によって pChAT の存在を明らかにした。 2. 有毛細胞や、中枢に細胞体をもつ神経細胞は、染色されなかった。 3. ラセン神経節内の pChAT 陽性神経細胞は、小型の II 型細胞だと考えられた。 4. 蝸牛神経核の除核実験から、cChAT 陽性細胞は遠心性、pChAT 陽性細胞は求心性だと考えられた。 <p>本論文は、外有毛細胞の神経支配について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 554 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 26 年 1 月 28 日)</p>			