

	こばやし かずまさ
氏 名	小林 和正
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第222号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	A possible monosynaptic pathway links the pedunculopontine tegmental nucleus to thalamostriatal neurons in the hooded rat (ラットにおける脚橋被蓋核から視床線条体ニューロンへの直接投射の可能性)
論文審査委員	主査 教授 高 橋 均 副査 教授 車 田 正 男 副査 教授 長谷川 功

博士論文の要旨

【はじめに】

ラットの視床後外側核は非膝状体視覚系の構成要素であり方向定位行動に関わる領域として知られている。この視床核は大脳皮質視覚野や方向定位行動における重要な領域である上丘と密に連絡している。後外側核は脚橋被蓋核、黒質網様部から入力線維を受け、線条体および皮質視覚野へ投射している。

申請者らのグループは、後外側核からの軸索終末が線条体の樹状突起にシナプスすることをトレーサー法により既に報告した。また、申請者らおよび他の研究者らにより脚橋被蓋核が後外側核に投射し、線条体が黒質に投射し、黒質が脚橋被蓋核に投射している事などが示されている。これらの神経回路網から、脚橋被蓋核からの情報が後外側核を通して線条体に戻るフィードバック回路が示唆されている。本研究で、申請者らは後外側核において、脚橋被蓋核からの軸索終末と視床-線条体投射ニューロンの分布を比較検討した結果、これら両者の分布が重複している事が明らかになった。さらに、電子顕微鏡的観察により、脚橋被蓋核からの線維が線条体へ投射している後外側核ニューロンに直接終止している事が証明された。

【材料と方法】

250 から 350 グラムのロングエバンス・ラット (n=6) を用いた。ペントバルビタール麻酔下で脚橋被蓋核に順行性トレーサーとして biotinylated dextran amine (BDA) を、線条体に逆行性トレーサーとして Cholera toxin-B (CTB) を微量 (それぞれ 0.8 μ l, 0.03 μ l) 注入し、8 日間生存の後、深麻酔下で生食水、アルデヒド系固定液にて左心室経由で灌流固定し、ピプラトームにより 50 μ m 厚の前額断切片を作成した。

切片を 3 群に分けた：第 1 群は光学顕微鏡的観察のため、第 2 群は電子顕微鏡的観察のため、第 3 群は視床核の境界を明らかにする目的で acetylcholinesterase 染色、にそれぞれ供した。第 1、2 群における BDA および CTB の可視化は以下の如く行われた：0.1% triton X100 を含むリン酸緩衝液で洗い、同液で溶かしたアビジン液に浸潤した (4 時間) 後、ニッケル・コバルト含有の DAB 液に漬け (10 分)、過酸化水素を加えて可視化した (10 分)。これらの切片をリン酸緩衝液で洗い、

CTB の一次抗体 (1% ロバ血清で 8000 倍に希釈) に浸潤した (4°C、一晚)。その後、リン酸緩衝液で洗い、二次抗体 (2 時間)、ABC キット (1 時間) に入れ、DAB 液に漬け、過酸化水素を加えて可視化した。

光学顕微鏡用の切片はゼラチンを塗布したスライドガラスに貼り観察した。電子顕微鏡用の切片はプラスチックに包埋し、超薄切片を作製し、ホルムバル膜を張った単孔グリッドに乗せて観察した。

【結果と考察】

すべての例で、BDA、CTB の注入部位はそれぞれ脚橋被蓋核、線条体にほぼ限局されていた。光学顕微鏡的観察で、DAB 標識された脚橋被蓋核由来の入力線維は紫色に、CTB 標識の視床-線条体投射ニューロンは茶色にそれぞれ染色され、両者は容易に区別できた。BDA 標識の軸索線維は同側の後外側核の主に腹側部に分布しており、軸索終末と思われる小さな膨らみを有していた。後外側核から線条体へ投射している CTB 標識ニューロンは同側後外側核の主に腹内側部に観られた。したがって、BDA 標識軸索線維と CTB 標識ニューロンは後外側核の腹側部で重複分布している事が明らかになった。

電子顕微鏡的観察において、BDA 標識終末は終末内に均一に分布している電子密度の高い反応物の存在が特徴で、細胞体、樹状突起に存在している CTB による結晶状の反応物とは明瞭に区別された。大部分の BDA 標識軸索終末は小型 (0.5 μm 以下) で通常の樹状突起および CTB 標識樹状突起との間で非対称性シナプス結合を示した。

これまでの研究から、線条体ニューロンが後外側核および視覚域からの収束入力を受ける可能性が指摘されている。また、後外側核と視覚域との間には相反連絡があるので、後外側核ニューロンは直接的あるいは視覚領を介して間接的に線条体ニューロンに対して影響を及ぼす可能性がある。

上丘深層ニューロンは視覚性定位行動に必須であり、大脳皮質視覚域から上丘深層への投射回路はこの行動を遂行するために重要である。この皮質と上丘との間の神経回路については直接的な皮質-上丘投射がひろく知られているが、視覚域からの投射線維が線条体、黒質を經由して上丘に到達する間接的投射も重要である。したがって、後外側核-線条体投射がこの視覚域-線条体-黒質-上丘回路に関わることが示唆される。実際、後外側核-線条体投射が視覚性定位行動においてなんらかの役割を担っている可能性も示唆されている。

脚橋被蓋核が小脳からの豊富な入力を受けることが示されており、これにより小脳が脚橋被蓋核を經由して視床に影響を与えている可能性が指摘されている。このことを含め、後外側核-線条体投射ニューロンが脚橋被蓋核による線条体ニューロン活動の調節に何らかの影響を及ぼす可能性がある。さらに、皮質視覚域からの視覚関連情報は線条体-黒質経由で脚橋被蓋核および上丘深層に至り、この線条体からの出力情報が視床後外側核-線条体投射ニューロンを介するフィードバック回路により統合される可能性がある。

(論文審査の要旨)

ラットの視床後外側核は上丘、脚橋被蓋核、黒質などの視・運動関連領域からの情報を大脳皮質視覚野や線条体へ伝達する中継核と考えられている。そこで本研究では、視床・線条体投射ニューロンと脚橋被蓋核由来の視床後外側核入力との結合関連を順行性トレーサーとしての biotinylated dextran amine および逆行性トレーサーとしての Cholera toxin-B を用いて検討した。その結果、順行性に標識された脚橋被蓋核由来の終末と逆行性に標識された視床後外側核-線条体投射ニューロンの分布領域にある程度の重なりを光顕的に明らかにした。さらに、この重複領域における電子顕微鏡的観察により、順行性標識終末が逆行性標識ニューロンの樹状突起にシナプス結合している事を示し、脚橋被蓋核から視床線条体ニューロンへの直接投射を確認した。

本研究から、皮質視覚域-線条体-黒質経由により脚橋被蓋核および上丘深層に至る視覚関連情報は脚橋被蓋核-視床後外側核-線条体投射線維を介するフィードバック回路で統合される可能性が形態学的に示された。このことに学位論文としての価値を認める。