学 位 研 究 紹 介

ラット三叉神経節および臼歯における galanin receptor-1の発現について
Expression of galanin receptor-1 in the rat trigeminal ganglia and molar teeth

新潟大学大学院医歯学総合研究科
歯周診断・再建学分野
鈴木　啓展
Division of Periodontology,
Niigata University Graduate School
of medical and Dental Sciences
Hironobu Suzuki

【緒　　言】

29個のアミノ酸からなるgalaninは，中枢および末梢神経系に広く分布し，知覚伝達やホルモン分泌，神経栄養効果などさまざまな機能を持つ神経ペプチドである。galaninは，小～中型の三叉神経節および後根神経節ニューロンや，歯髄の知覚神経に存在することが明らかにされている。galaninの生理的効果は，標的細胞表面上のGタンパクレセプターであるgalanin receptor 1/2/3（GR1/2/3）を介して発揮される。GR1は脳や脊髄に，GR2/3はGR1より広範囲に分布している。しかしながら，GR1の三叉神経節や歯における発現を調べた研究は今までにない。そこでこの研究では，GR1に対する特異的抗体を使い，ラット三叉神経節および臼歯歯髄におけるGR1の存在を調べた。またmRNAとタンパクレベルで発現状態を比較するため，合成オリゴヌクレオチドプローブを用いて，GR1 mRNA発現を*in situ* hybridization法にて検索した。さらに免疫陽性細胞や，mRNAを発現している三叉神経節ニューロンの断面積を計測し，ニューロンの大きさによるシグナル発現傾向も調べた。

【材料・方法】

成熟したWistar 系rat（約200g）をアルデヒド系固定液で灌流固定し，EDTAにて脱灰後，上顎臼歯部と三叉神経節の連続凍結切片を作成した。免疫染色をABC法にて行い，一部切片をオスミウム固定後エポン包埋し透過型電子顕微鏡で観察した。また，^{35}Sで標識したラットGR1に相補的な合成オリゴヌクレオチドを用い，三叉神経節にて*in situ* hybridizationを行った。

【結　　果】

図1　ラット三叉神経節におけるGR1免疫染色像
一部の三叉神経節ニューロン（矢印）や，三叉神経節内の神経線維（＊）に陽性反応を認める。

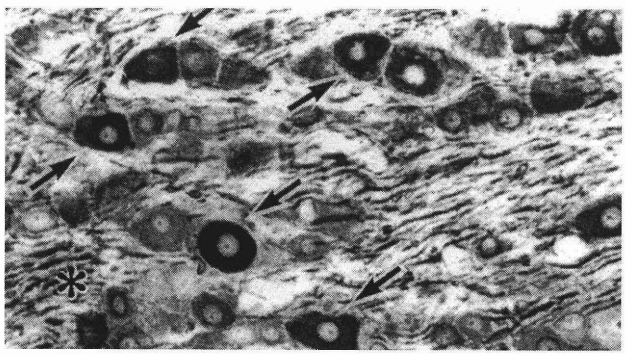

図1

図2　ラット三叉神経節における*in situ* hybridization（暗視野顕微鏡像）
GR1 mRNAシグナルを一部ニューロン（矢印）に認めるが，衛星細胞には認めない。

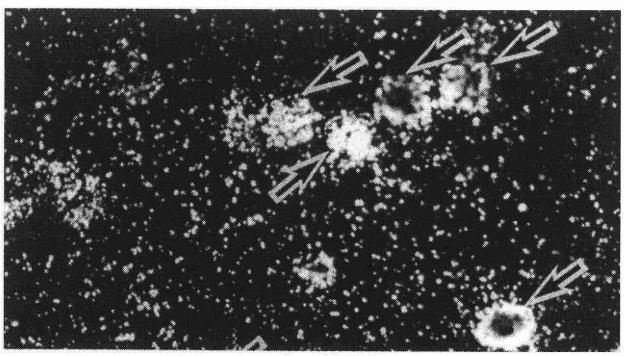

図2

図3　ラット臼歯におけるGR1免疫染色像
GR1陽性神経線維は比較的滑らかで細く，多くは象牙芽細胞層下に集まり，そのほとんどが象牙芽細胞近傍に終止している。D：象牙質

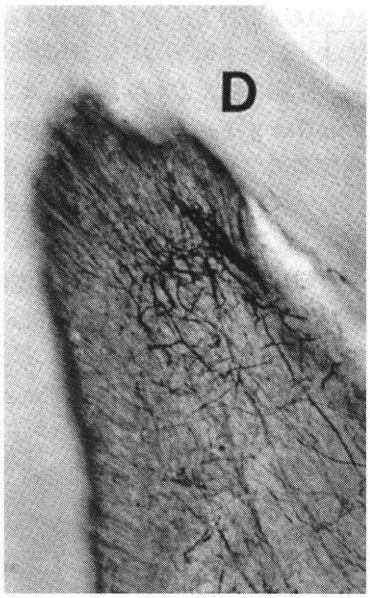

図3

図4　ラット臼歯におけるGR１免疫電顕像

GR１免疫反応産物は，細い無髄神経線維の軸索原形質内に拡散しているが，有髄神経線維やシュワン細胞，歯髄線維芽細胞など他の細胞要素に免疫反応は認められない。象牙芽細胞（OB）近傍では，免疫陽性神経はしばしば象牙芽細胞の細胞体に接しており，シュワン細胞の被覆を一部，あるいは完全に欠いている。矢印は，免疫陰性の神経終末。

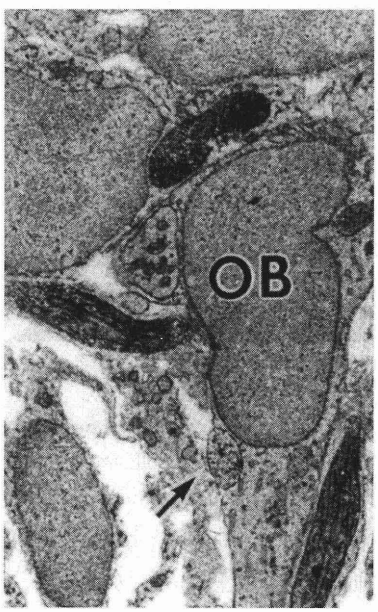

図4

総ニューロン数に対するGR１免疫陽性ニューロンは36.3±10.2%，^{35}S標識されたニューロンは31.7±8.2%だった。断面積を測定すると，GR1免疫陽性ニューロンは636.4±271.1 μm^2，^{35}S標識されたニューロンは597.5±260.9 μm^2で，それらは小～中型ニューロンであった。

【考　　察】

この研究では，免疫細胞化学，*in situ* hybridizationにより，ラット三叉神経節ニューロンにGR１発現していることが分かり，それも三叉神経節の小～中型ニューロンに認めた。ラット後根神経節の小～中型ニューロンにもGR１が発現しており，知覚神経節の小～中型ニューロンでのGR１の存在を強く示している。三叉神経節や臼歯歯髄にGR１を発現しているニューロンが存在することから，galanin/GR1がラットの歯において疼痛知覚の伝達あるいは調節に関与していることが示唆された。(Suzuki H., et al., Neuroscience Research, 42, 197-207, 2002)