

学 位 論 文 題 名

マウス膝関節のパチニー小体の形態とその発育分化

学位論文内容の要旨

【緒 言】

膝関節包には深部知覚にたいする固有受容器が存在する。その中でパチニー小体は固有受容器の1つとして、膝関節の運動機能とそれが発現する過程を考える上で重要な機械刺激受容器である。また、パチニー小体はその構造が特徴的であるため広く研究されている。しかし、比較解剖学的に見て、ヒト、サル、ネコ、イヌ等の大動物あるいはラットの膝関節包の研究は多いが、マウスに関する詳細な報告は無い。本研究ではマウス膝関節包のパチニー小体の形態と分布、生後発育の過程について光顕像及び電顕像から検討した。

【材料と方法】

Balb/cマウスを使用し、生後0日齢、1日齢、3日齢、9日齢、2週齢から6週齢までの各週齢と3ヶ月を越える成熟マウスを対象とした。光顕的には各期マウスを4%パラホルムアルデヒドと1%グルタルアルデヒドの混合液で灌流固定し、膝関節を10%EDTAで脱灰し、パラフィンで包埋した。横断連続切片にH-E染色及びS-100蛋白質の免疫染色を行った。電顕的には2.5%パラホルムアルデヒドと1.5%グルタルアルデヒドの混合液で灌流固定し、膝関節を10%EDTAで脱灰後1%オスミウム酸後固定、エポン樹脂に包埋、準超薄切片と超薄切片を作成した。

【結 果】

〔1〕 マウス膝関節におけるパチニー小体の構造

(1)光学顕微鏡像

成熟マウスのパチニー小体は横径は30-60 μ m、長径は時に150 μ mに達する長楕円形であった。その中央には長軸方向一本の軸索が走り、その周囲に同心円状に配列する層板構造の内棍とその外層に神経周囲被膜を認めた。膝関節裂隙の高さに一致した屈側関節包に限局して分布し、その数は膝関節1側当たり平均して6から7個で、関節包の内外側での分布差は認めなかった。S-100蛋白質の免疫染色では内棍のみ陽性で、軸索と神経周囲被膜は陰性であった。

(2)電子顕微鏡所見

パチニー小体の中央を占める軸索の径は3-5 μ m位で、先端部では層板を分けて双極性に外方へ突出する長さ0.5 μ m位の棘突起があり、その細胞膜には電子密度の高い裏打ち構造(undercoating)を認めた。内棍の構造は厚さ0.1 μ mから1 μ m位の薄い細胞質性薄板がおおよそ20層位まで数えられる層板を形成した。層板間隙の広いところでは基底膜と膠原線維が見られた。各層板には球状の小窩(caveolae)が多数見られ、また、被覆小胞(coated vesicle)も時々観察された。神経周囲被膜の構造は扁平に伸展した10層位の細胞が内棍を取り巻くように同心円状に配列するが、内棍ほど複雑には錯綜しなかった。また、小窩が多数見られ、被覆小胞も少数ながら観察された。そして層板間隙には膠原線維があり、基底膜が細胞表面を覆っていた。

〔2〕マウス膝関節包のパチニー小体の生後発育

(1)S-100蛋白質の免疫組織化学

3週齢になってはじめて内棍が陽性になったが、軸索は陽性で神経周囲被膜は陰性であった。5-6週齢以降では軸索部は陰性になり、成熟パチニー小体と同じ反応を示した。

(2)電子顕微鏡所見

生後0-7日齢では無髄神経線維が散発的に見られるに過ぎなかった。9日齢では中央の軸索を細胞質突起が複雑に入り組んで取り囲み、層構造をまだ伴わないものの、内棍と神経周囲被膜の内部構造を示した。2週齢では軸索、内棍、神経周囲被膜層板が明らかに形成されるようになり、3週齢ではさらに内棍の層板は薄層化し、小窩が多数見られるようになった。約5週令で成熟形とほぼ一致した大きさと形態になった。

【考察】

①マウス膝関節包のパチニー小体の構造：

本研究におけるパチニー小体の構造と分布は他の動物種の膝や肘などの研究で報告されているパチニー小体に類似して、軸索、内棍、神経周囲被膜からなっており、関節の屈側に限局して分布した。比較解剖学的にみるとマウス膝関節包のパチニー小体は小型であり、数も少なく散在性であった。これは膝関節の大きさ、随意運動系の発達の程度と関係があると推測された。

②パチニー小体の特徴的な構造について：

軸索終末部に細胞膜に裏打ち構造(undercoating)を持つ軸索棘(axonal spines)が存在し、内棍層板に双極性に突出していた。この構造は層板の物理的刺激によるゆがみを伝達しやすくしている構造と解釈できた。裏うち構造は活動電位が発生する場に見られることから、この棘構造が受容器興奮の初発部位であることが示唆された。二つ目の特徴的な構造として内棍および神経周囲被膜の層板に多数の小窩がある。その機能の一つとして、内棍の層板で産生されるコリンエステラーゼの輸送や代謝に関与すると報告されている。本研究では脱灰標本のためコリンエステラーゼの分布を証明できなかったが、神経の伝達機能を支える装置として重要な意味があ

ることが推定された。三つ目の特徴ある構造として被覆小胞があげられる。被覆小胞は飲作用の装置として栄養因子的な或は細胞制御に関与する蛋白質の選択的な取り込みに生理学的に重要であるといわれており、層板に加わる物理的な変化の情報処理機構としての物質移動を表現している構造と考えられた。

③パチニー小体の生後発育：

超微細形態上、生後9日齢でパチニー小体の出現が確認された。S-100蛋白質は末梢神経系ではシュワン細胞に存在し、内棍のみS-100蛋白が存在したことから内棍がシュワン細胞由来であると考えられた。神経周囲被膜は発育を通してS-100蛋白が陰性であり発生初期には基底膜がないことから、結合織性細胞から発生すると考えられた。内棍は生後3週齢になってはじめてS-100蛋白陽性になった。この時期の超微細形態から見て内棍、神経周囲被膜の層板の基本構造が完成した時期であり、カルシウム結合能の発現から考えて機能を開始する時期であることが示唆された。

【結語】

- 1) マウス膝関節包のパチニー小体を光学顕微鏡的、S-100蛋白質の免疫組織化学、電子顕微鏡的に、生後発育の過程を含めて検索した。
- 2) パチニー小体は軸索、内棍、神経周囲被膜からなり、超微形態を含めて他の動物種の関節のパチニー小体と共通の基本構造を示した。
- 3) 超微形態およびS-100蛋白質の分布から生後3週齢ころから機能を発現することが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 井 上 芳 郎

副 査 教 授 阿 部 和 厚

副 査 教 授 児 玉 譲 次

学 位 論 文 題 名

マウス膝関節のパチニー小体の形態とその発育分化

膝関節包には深部知覚にたいする固有受容器が存在する。その中でパチニー小体は固有受容器の1つとして膝関節の運動機能とそれが発現する過程を考える上で重要な機械刺激受容器である。また、パチニー小体はその構造が特徴的であるため広く研究されている。しかし、比較解剖学的には神経生物学の分野で広く使われるマウスに関する詳細な報告は無い。本研究ではマウス膝関節包のパチニー小体の形態と分布、生後発育の過程について光学顕微鏡及び電子顕微鏡から検討した。Balb/cマウスを生後0日齢、1日齢、3日齢、9日齢、2週齢から6週齢までの各週齢と3ヶ月を越える成熟マウスを対象とした。光学的には各期マウスを灌流固定し、10%EDTAで脱灰後パラフィン連続切片を作成し、H-E染色及びS-100蛋白質の免疫染色を行った。電顕的には灌流固定後、膝関節を10%EDTAで脱灰し、1%オスミウム酸で後固定し、エポン樹脂に包埋、準超薄切片と超薄切片を作成した成熟マウス膝関節包のパチニー小体の構造は光顕的には、横径は30-60 μm 、長径は時に150 μm に達する長楕円形であった。その中央には長軸方向に一本の軸索があり、その周囲に内棍と神経周囲被膜を認めた。膝関節裂隙の高さに一致した屈側関節包に局限して散在性に分布し、その数は膝関節1側当たり平均して6から7個であった。S-100蛋白質の免疫染色では内棍のみ陽性で、軸索と神経周囲被膜は陰性であった。一方電顕的には、中央の軸索の径は3-5 μm 位で、その先端部は層板を分けて双極性に突出する長さ0.5 μm 位の棘突起を認めた。突起部およびその周辺部の細胞膜には電子密度の高い裏打ち構造(undercoating)を認めた。内棍の構造は厚さ0.1 μm から1 μm 位の薄い細胞質性薄板が20層位まで数えられる層板を形成した。層板間隙の広いところでは基底膜と膠原線維が見られた。各層板には層板間を開く球状の小窩(caveolae)が多数見られ、また被覆小胞(coated vesicles)も観察された。神経周囲被膜は扁平に伸展した10層位の細胞が内棍を取り巻くように同心円状に配列し、内棍と同様の小窩、被覆小胞、層板間の膠原線維が観察された。パチニー小体の生後発育はS-100蛋白質の免疫組織化学では、3週齢ではじめて内棍が陽性になったが、軸

索は陽性で神経周囲被膜は陰性であった。5-6週齢以降では軸索部は陰性になり、成熟パチニー小体と同じ反応を示した。一方電顕的には9日齢で中央の軸索を明調な細胞質突起が複雑に入り組んで取り囲み、層構造をまだ伴わないものの、内棍と神経周囲被膜の内部構造を示した。2週齢になると軸索、内棍、神経周囲被膜層板が明瞭に形成されるようになり、3週齢ではさらに内棍の層板はさらに薄層化し、約5週令で成熟形とほぼ一致した大きさと形となった。マウス膝関節包のパチニー小体は他の動物種の膝、肘などで報告されているものと類似して軸索、内棍、神経周囲被膜からなり、関節の屈側に限局して分布した。比較解剖学的にみると小型であり、数も少なく散在性であった。これは膝関節の大きさ、随意運動系の発達の程度と関係があると推測された。パチニー小体の特徴的な構造として軸索終末部に細胞膜に裏打ち構造を持つ軸索棘があり、他の動物に報告されているもと同様に興奮の初発部位であることが示唆された。二つ目の特徴的で共通な構造として内棍および神経周囲被膜の層板に多数ある小窩が挙げられる。その機能の一つとして、内棍の層板で産生されるコリンエステラーゼの輸送や代謝に関与すると報告されており、神経の伝達機能を支える装置として重要な意味があることが推定された。三つ目の構造として被覆小胞があげられる。被覆小胞は飲作用の装置として栄養因子的な或は細胞制御に関与する蛋白質の選択的な取込みに重要であるといわれており、層板に加わる物理的な変化と情報処理機構としての物質移動を表現している構造としての意義が考えられた。パチニー小体の生後発育を見ると、電顕像とS-100蛋白質の発現から3週齢が機能を開始する時期と推定された。また、S-100蛋白免疫組織化学の所見、基底膜の形成過程から内棍がシュワン細胞由来であり、神経周囲被膜は結合組織性細胞から発生すると考えられた。口頭発表にあたり、阿部和厚教授から幾多の質問があったが、申請者は概ね妥当な回答を行った。副査の阿部和厚教授、児玉譲次教授の試問を受け合格と判定された。以上、本研究は、現在、神経生物学の分野で広く用いられているマウス膝関節包の知覚受容器であるパチニー小体の形態、分布、生後発育をはじめて明かとした点に創意があり、比較解剖学と神経解剖学の分野に寄与した論文として、博士（医学）の学位に値すると判定した。