

学位論文題名

Early establishment of lesion-insensitive mature barrettes
corresponding to upper lip vibrissae in developing mice

(マウス三叉神経核における上唇部バレレットの発達)

学位論文内容の要旨

ヒト以外の哺乳類の顔面には洞毛と呼ばれる特殊な感覚毛が存在する。マウスの上顎部には A 列から E 列まで整然と並ぶ非常に長い洞毛が存在し、三叉神経の支配を受けている。口腔・顔面領域からの体性感覚を中枢に伝える知覚伝導路に沿って洞毛 1 本 1 本に対応したマップ構造が形成され、三叉神経核ではバレレット、視床 VPM 核ではバレロイド、大脳皮質感覚野ではバレルと呼ばれている。これらはミトコンドリア酵素のひとつであるチトクロームオキシダーゼによる酵素組織化学により可視化することができる。

これらのマップ構造は生後まもなく出現するが、形成後しばらくの間は末梢神経活動に依存して維持される。この期間を臨界期 (critical period) といい、この時期に洞毛の除去、毛根焼灼、眼窩下神経切断などによって求心路を遮断すると、一度形成された構造は消失する。この時期以降は末梢からの求心路を遮断しても、構造は消失することなく末梢神経活動に依存しない永続的な構造として完成する。マウス顔面には上顎部に 5 列に配列する洞毛以外にも洞毛が存在し、上唇部には短い洞毛が約 110 本密集して存在する。口唇部領域の知覚は生後間もないマウスの栄養の摂取に重要な吸啜反射にかかわっており、特に上唇部への刺激が反射の誘因となることが知られている。

目的

新生児期の上唇部への知覚刺激が口腔機能の発達にどのように関連しているかについて、マウスの上唇部の洞毛に対応して存在する三叉神経核バレレットの形成と臨界期を検索することにより明らかにした。また、上顎部洞毛に対応して存在するバレレットの臨界期との比較を行い、バレレット形成に関する部位的特異性について検討した。

方法

C57BLのマウス (P1~P10 : 生日を P1) 72 匹を用いた。ザンボーニ液による灌流固定を行い、抜脳後、クリオスタットで 30 μ m の凍結切片を作製、バレレットの検出はチトクロームオキシダーゼ酵素組織化学により行った。臨界期終了時期の判定を行う際には、各発達過程のマウスの右眼窩下神経を切断し、切断端を電気メスで焼灼した。その 5 日後に灌流固定し、抜脳後同様の組織化学により、障害側のバレレットの有無を判定した。その際、反対側をコントロールとして使用した。

結果

1. 上顎部バレレットと上唇部バレレットの位置関係

生後 6 日のマウスの三叉神経核 *interpolaris* 核では上顎部バレレットの背側内側部に上唇部バレレットが存在し、240 μ m の範囲で吻側に行くほど上唇部バレレットの領域が明瞭であった。また、下唇部洞毛に対応するバレレットがその背側に存在した。

2. バレレットの発現の時期の違い

上顎部バレレットの 5 列の区画は生後 24 時間の間にはっきりと現われてくるが、上唇部バレレットは生後 2 日から 4 日にかけてその領域の区画がはっきりしてくる。上唇部バレレットの形成は上顎部バレレットに比べ 2~3 日遅れることが判明した。

3. 臨界期終了時期

1) 上顎部バレレット

生後 1 日で神経切断した例では、その 5 日後でのコントロール側のバレレットの区画に異常は認められなかったが、傷害側のバレレットは消失していた。生後 3 日で切断した例では傷害側のバレレットの領域にバックグランドよりやや高いチトクロームオキシダーゼ活性が認められたが、区画は確認できなかった。生後 7 日で神経切断した例では傷害側においてもコントロール側と同様にはっきりとした区画が維持されていた。

2) 上唇部バレレット

生後 1 日で神経切断し、その 5 日後に染色した例では、傷害側の上唇部バレレットは消失していた。しかし、眼窩下神経支配ではない下唇部バレレットの区画と染色濃度は明瞭であった。生後 3 日で神経切断した例ではバックグランドより高い染色性が見られ洞毛 1 本 1 本に対応したはっきりとした区画が確認できた。生後 7 日で神経切断した例では傷害側はコントロール側と同様にはっきりとした区画が維持されていた。

3) 臨界期終了時期の比較

上顎部バレレットは P5 までの神経切断例ではすべてのマウスで術側のバレ

レットが確認できなかった。しかしその後、徐々に区画の維持されたバレレットの出現率が高くなり、P9 ではすべてのマウスでバレレットの区画が維持された。上唇部洞毛に対応したバレレットでは、P3 で神経切断したマウスですでに区画が維持されたマウスが出現し、生後 6 日に切断した例ではすべてのマウスで術側のバレレットの区画が維持された。以上のことから、上唇部バレレットの臨界期は上顎部バレレットに比べ 3 日早く終了することが判明した。

考察

上唇部バレレットの形成開始は上顎部バレレットに比べ 2~3 日遅れ、臨界期終了時期は 3 日早かった。これは上顎部の非常に長い洞毛は、羊水の流れなどにより胎生期から刺激を受けるためバレレットの形成が早くから始まり、これに対して上唇部の洞毛は短く、そのような刺激を受けることが少ないため形成が遅れると考えられる。その後、上唇部は吸啜反射の際、常に強い刺激を受け続けるために、出生後急速に発達成熟すると考えられる。また、これまでに NMDA 型グルタミン酸受容体 ϵ 2 サブユニットのノックアウトマウスでは吸啜反射が見られないこと、三叉神経核の上顎部バレレットが形成されていないことが判明しており、 ϵ 2 サブユニットが新生児の生存・成長に重要な分子であることが明らかにされている。上唇部バレレットは出生直後に急激に成熟することから新生児期に重要な働きをしていると考えられ、その過程においても ϵ 2 を含む NMDA 型グルタミン酸受容体を介したシグナル伝達が関与している可能性が高い。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 口 春 久
副 査 教 授 赤 池 忠
副 査 教 授 吉 田 重 光
副 査 教 授 渡 辺 雅 彦

学位論文題名

Early establishment of lesion-insensitive mature barrelettes corresponding to upper lip vibrissae in developing mice

(マウス三叉神経核における上唇部バレレットの発達)

マウスの顔面には探索行動時に重要な洞毛が存在し、三叉神経の支配を受けている。口腔・顔面領域からの体性感覚を中枢に伝える知覚伝導路に沿って洞毛1本1本に対応したマップ構造が形成され、三叉神経核ではバレレット、視床VPM核ではバレロイド、大脳皮質感覚野ではバレルと呼ばれている。これらはミトコンドリア酵素のひとつであるチトクロームオキシダーゼに対する酵素組織化学により可視化することができる。

これらのマップ構造は生後まもなく出現するが、形成後しばらくの間は末梢神経活動に依存して維持される。この期間を臨界期 (critical period) といい、この時期に洞毛の除去、毛根焼灼、眼窩下神経切断などによって求心路を遮断すると、一度形成された構造は消失する。この時期以降は末梢からの求心路を遮断しても、構造は消失することなく末梢神経活動に依存しない永続的な構造として完成する。マウス顔面には上顎部に5列に配列する洞毛以外にも洞毛が存在し、上唇部には短い洞毛が約110本密集して存在する。生後間もないマウスでは、口唇部領域の知覚は、栄養の摂取に重要な吸啜反射にかかわっており、特に上唇部への刺激が反射の誘因となることが知られている。

本研究は、新生児期の上唇部への知覚刺激が口腔機能の発達にどのように関連しているかについて、マウスの上唇部の洞毛に対応して存在する三叉神経核バレレットの形成と臨界期を検索することにより明らかにしたものである。また、上顎部洞毛に対応して存在するバレレットの臨界期との比較を行い、バレレット形成に関する部位的特異性についての検討がなされた。

方法及び結果の概略

C57BLのマウスを用い、灌流固定後抜脳し30 μ mの凍結切片を作製した。バレレットの検出はチトクロームオキシダーゼ酵素組織化学により行った。臨界期終了時期の判定を行う際には、各発達過程 (P1~P10) のマウスの右眼窩下神経を切断し、切断端を焼灼した。その5日後に灌流固定し、抜脳後同様の組織化学により、障害側のバレレットの有無を判定した。その際、反対側をコントロールとして使用した。上顎部のバレレットの5列の区画は生後24時間の間にはっきりと現われるのに対し、上唇部のバレレットは生後2日から4日にかけてその領域の区画がはっきりしてきた。このことから上唇部バレレットの形成の開始は、上顎部バレレットに比べ2~3日遅れることが判明した。また、臨界期終了時期を比較した場合では、上顎部バレレットではすべてのマウスで臨界期の終了が確認されたのは生後9日であったが、上唇部バレレットでは、生後6日ですべてのマウスの臨界期の終了が確認できた。以上のことから、上唇部バレレットの臨界期は上顎部バレレットに比べ3日早く終了することが判明した。

研究の位置付けとその評価

本結果について学位申請者は、上顎部の非常に長い洞毛は、羊水の流れなどにより胎生期から刺激を受けるためバレレットの形成が早くから始まり、これに対して上唇部の洞毛は短く、そのような刺激を受けることが少ないため形成の開始が遅れること、その後、上唇部は吸啜運動の際、常に強い刺激を受け続けるために、出生後急速に発達成熟することを考察で述べている。これまでにNMDA型グルタミン酸受容体 ϵ 2サブユニットのノックアウトマウスでは吸啜反射が見られないこと、三叉神経核の上顎部バレレットが形成されていないことが判明している。本研究により、上唇部バレレットは出生直後に急激に成熟し、新生児期に重要な働きをしていることが示唆されたことから、今後NMDA型グルタミン酸受容体との関連についてもさらに研究の発展が期待される。

学位申請者は、主査及び副査と個別に会し、本論文に対する審査が口頭試問により行われた。各審査担当者は学位申請者に対し、研究の内容並びに関連領域について詳しく質問を行った。いずれの事項についても適切、かつ明快な回答が得られた。本研究は、新生児期の口腔・顔面領域の知覚伝達系の発達に関して、臨界期という視点から部位的特異性並びに口腔機能との関連性を明らかにしたものであり、歯科学の分野はもとより関連領域にも寄与するところ大と考えられる。以上のことから本学位申請者は博士(歯学)の学位授与に値するものと認められた。