

氏名	出口 徹
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第 1447 号
学位授与の日付	平成8年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	パルブアルブミン含有三叉神経一次ニューロン：細胞形態と歯髄支配
論文審査委員	教授 中後忠男 教授 足立 明 教授 杉本朋貞

学位論文内容の要旨

矯正力による歯の移動操作に際して不特定の疼痛が生じる場合が多い。このような疼痛は末梢組織における痛み物質の発生や神経線維ならびに血管の断裂等の刺激が三叉神経系を介して中枢へ投射されることにより起こると説明され、脊髄神経系と同様の情報機構によって上位中枢に伝達されるものと考えられている。しかし脊髄神経系で説明できないような神経機構が口腔内の痛覚に部分的に関与していることも明らかとされている。最近発見されたカルシウム結合蛋白である PA やカルレチニン (CR) は炭酸脱水酵素 (CA) と共に脊髄神経系の固有感覚受容1次ニューロンの特異的なマーカーと考えられている。PA, CR, CA は三叉神経節にも豊富に存在するが、三叉神経節内には固有感覚受容ニューロンは極めて少ないことから、これらの物質が三叉神経節では固有感覚受容ニューロンのマーカーとは考えにくい。事実、CA や CR を含む三叉神経1次ニューロンが歯髄や鼻粘膜に多数の末梢軸索を送ることが報告されており、PA 陽性のものについてもその形態や末梢支配について再考する必要に迫られている。本研究では三叉神経節において、PA の免疫組織化学染色を行い、陽性細胞の形態を詳細に分析し、他の化学物質との共存関係を多重染色によって分析する。さらに、純粋な侵害受容器である歯髄に対する PA 陽性 三叉神経1次ニューロンの支配を分析する。なお対照として比較する calcitonin gene-related peptide (CGRP), tachykinin (TK), fluoride-resistant acid phosphatase (FRAP) は、侵害受容性あるいは温度受容性の無髄または小型有髄線維を持つ小型1次ニューロンのマーカーである。

SD系雄性ラット (体重: 180~300g) の三叉神経節及び後根神経節及び臼歯を含む上・下顎骨の凍結切片に、免疫または酵素組織化学染色を施し、各種マーカーを検出した。免疫組織化学については単染色には主としてABC法を、多重染色には間接蛍光抗体法を使った。電顕用組織化学染色に用いる切片は、凍結することなく薄切し染色を行ったが、三叉神経節試料の一部は組織化学染色を全く行わずに観察した。また一部の動物では Fast Blue (FB) を左側上顎第1および第2臼歯歯髄に注入し、三叉神経節細胞を逆行性標識した後、三叉神経節切片に免疫染色を行った。

光顕的には、PA 陽性細胞は大型 (断面積の分布範囲; $87\sim 3362\ \mu\text{m}^2$, 平均 \pm S.D. = $948\pm 466\ \mu\text{m}^2$, $n = 944$)、CGRP 陽性細胞は小型で一部中型 ($10\sim 2484\ \mu\text{m}^2$, $288\pm 266\ \mu\text{m}^2$, $n = 912$)、FRAP 陽性細胞は小型 ($36\sim 1613\ \mu\text{m}^2$, $283\pm 143\ \mu\text{m}^2$, $n = 1110$) であった。三叉神経節細胞は形態学的に I~IV の4型に分類され、PA 細胞は主として大型で、細胞質基質の電子密度が低く、短い粗面小胞体が少数の大きな集積を形成する I 型細胞 (15個中8個、

8/15) であるが、II型 (3/15) と III型 (4/15) も少数見られ、IV型には見られなかった。CGRP陽性細胞の大部分は小型で、電子密度が高く、短い粗面小胞体が多数の小さな集塊を形成するII型細胞 (21/30) で、III型のものも少数見られ (6/30)、I型 (1/30) とIV型 (2/30) は稀であった。FRAP陽性細胞の大部分は小型で、電子密度が高く、細胞体周辺部に互いに平行に配列した4~8個の長い小胞体からなる小胞体群が見られるIV型 (16/20) で、II型 (1/15) とIII型 (3/15) も稀に見られたが、I型は見られなかった。III型細胞は中型で、電子密度が低く、3~4個の中程度の長さの小胞体が群を形成した。PA, CA, CRの、あるいはPA, CA, CGRPの三重染色により三叉神経節細胞におけるマーカーの共存関係を分析し、後根神経節細胞における共存関係と比較した。後根神経節で、PA陽性細胞の99.0%がCA陽性であり、31.1%がCR陽性であったが、両者の共存を示す細胞は極めてまれであった (0.99%)。三叉神経節ではPA陽性細胞の10.8%はCA活性を示さず、大部分がCR陰性であった (98.1%)。PAとCGRPとの共存も少数 (3.4%) ではあるが認められ、このうち60%にCA活性が認められた。歯髄からFBにより逆行性標識された細胞の30.8%がPAの、51.1%がCGRPの免疫活性を示した。PAとCGRPの共存はFB標識PA陽性細胞の約1/3に認められた。CRとTKの二重染色では、TKの免疫活性は標識細胞の19.5%にみられたが、CR陽性細胞は2.4%にすぎず、80.1%はいずれのマーカーも含まなかった。歯髄内に分布する神経線維は平滑なものと念珠状のもの2種に分類された。根部歯髄では、PA陽性とCR陽性神経線維の両方のタイプのものが歯髄中心部を直線的に走行し、冠部歯髄に至るのが観察された。PA陽性線維は全て平滑、TK陽性線維は全て念珠状で、CRの免疫活性を示す線維は少なく、大部分は念珠状で、TKの共存が確認された。PA陽性神経線維はほとんど分岐することなく冠部歯髄表層に進み、髄角と天蓋の象牙芽細胞層内に念珠状の終末を形成した。根部歯髄内のPA陽性線維及びCGRP陽性線維の免疫電顕では、PAは16.8% (22/131) の線維に認められ、その全てが有髄で、直径 (髄鞘を含めた短径) は3~5 μ mと根部歯髄中の線維の中で最も大型に属した。CGRPは37.7% (26/66) の線維に認められ、大部分は無髄 (84.6%、22/26) で、有髄のもの (15.4%、4/26) も小型であった。

PAを含む三叉神経1次ニューロンは大型三叉神経節細胞に局在し、三叉神経吻側の亜核群に投射し、侵害受容にも関与することが示唆される。

論文審査結果の要旨

パルブアルブミンは脊髄神経系1次求心ニューロンのうち筋紡錘に分布する固有感覚受容1次ニューロンの特異的マーカーと考えられてきた。本研究は三叉神経節に細胞体をもつ1次ニューロンにパルブアルブミンを含有するものが多く存在することを証明し、それらパルブアルブミン含有ニューロンの細胞体の微細構造と、末梢軸索の歯髄内分布を分析したものである。

パルブアルブミン含有三叉神経1次ニューロンは小型1次ニューロンのマーカーであるカルシトニン遺伝子関連ペプチドや fluoride-resistant acid phosphatase を含むものと異なり、その細胞体が大型で炭酸脱水酵素の共存を示すものが多く、微細構造的には細胞質基質の電子密度が低く、短く平行性に乏しい粗面小胞体が大きな集塊を形成するI型細胞が多い。しかし脊髄神経系と異なり、パルブアルブミン含有三叉神経1次ニューロンはカルレチニンの共存をしめすものがほとんど無い。歯髄を支配する1次ニューロンにはパルブアルブミンを含有するものが多く、それらの歯髄内線維は大型有髄で、象牙芽細胞層に終末を形成する。

本研究は、侵害受容1次ニューロンの遺伝形質発現が三叉神経系と脊髄神経系において大きく相違する部分のあることを示し、矯正学的歯牙移動に伴う疼痛に関連した情報処理機構を解明するための方向性を示すものである。

よって本研究者は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。