

氏名・(本籍)	ふじ みや みね こ 藤 宮 峯 子 (滋賀県)
学 位 の 種 類	医学博士
学 位 記 番 号	医博第34号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与年月日	昭和62年3月24日
学 位 論 文 題 目	Development of serotonin neuron in the brain as studied by immunohistochemistry (脳内セロトニンニューロンの発達に関する免疫組織化学的研究)

審 査 委 員	主査 教授	越 智 淳 三
	副査 教授	細 田 四 郎
	副査 教授	前 田 敏 博

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

免疫組織化学の進歩により、セロトニン(5HT)ニューロンの詳細な形態が観察出来るようになった。この形態観察に先立ち、5HTの前駆物質 Tryptophan を投与すると、胎生期5HT含有神経細胞及び軸索の免疫染色反応が増強する。この方法を用いて、初期発生における脳幹部5HT合成ニューロンの形態分化、移動、投射線維の発達過程を観察した。さらに大脳皮質に5HT線維が進入後、その生後発達を投射様式ならびに皮質細胞の分化と関連づけて観察し、アミンニューロンと脳の発達を考える上での基礎的データを得ることを目的とした。

〔方 法〕

胎生12、13、14、16及び18日のウィスター系ラットと、生後1、3、5、7及び10日のICR/JCL系マウスを用いた。Tryptophan 100mg/kgとPargyline 100mg/kgを妊娠ラットの腹腔内に投与し、2時間後に胎児を取り出した。4%パラホルムアルデヒド、0.5%グルタルアルデヒド、0.2%ピクリン酸を含むりん酸緩衝液で左心室より灌流固定し、取り出した脳を上記灌流液からグルタルアルデヒドを除いた溶液に2日間浸漬固定した。クリオスタット20 μ m切片を作製後、5HT免疫組織化学を行った。発色反応にはDAB及びNickel-DA B法を用いた。マウス大脳皮質の観察は体性知覚野で行った。

〔結 果〕

胎生13日(CRL=7mm)に初めて後脳中央部、上衣層最外層に数個の5HT陽性細胞が観察できる。胎生14日までに中脳峽窩の尾方に出現した5HT細胞群は突起を伸ばしながら腹側へ移動し、正中縫線核や橋縫線核を形成する。胎生15日(CRL=12mm)では、中脳峽窩の吻側に5HT細胞集団がもっとも遅れて出現し背側縫線核を作る。5HTニューロンの形態分化と移動、

アミン合成能の間に次のような関連が見られる。すなわち遅れて分化してくる細胞ほど、形態的に未分化な状態でアミン合成を始める。8 mm 胚以降は、常に上衣層で中心突起を脳室面に付けた一次双極細胞が染色される。アミン合成能はニューロンの発生時期が遅れるほど大きくなる。さらに、より分化した芽細胞でアミン合成を開始するものは外套層を回転しながら遠くへ移動するのに対し、未分化な形態で強い合成能を示すものは上衣層内で回転し僅かに移動するか、あるいは全く回転せず移動もしない。前者は14日以前に出現した細胞群、すなわち将来の正中縫線核や橋縫線核を形成する細胞群の発生の際に見られる。後者は14日以降に中脳背側部に出現する細胞群、すなわち背側縫線核群を形成する細胞群の発生の際に見られる。

一方、5 HT 上行線維は、7 mm 胚で既に成長円錐を持つ数本の線維が中脳屈尾側に見られる。その後急速に数を増加させながら伸長し、胎生15日に端脳基部に達する。この時期には背側縫線核後部、正中縫線核および橋縫線核の細胞はほぼ出現しているが、背側縫線核の主体を成す前部はまだ出現していない。端脳に達した上行線維は前脳先端か中隔で反回して外套中に入るが、主として前頭葉で終るものと帯状回を通り海馬へ向かうものがある。その後、背側縫線核の主体が作られると、それからの上行線維がこれに加わるが線維束は主として線条体あるいは内包を経て外套に進入する。

さらにマウス体性知覚野における5 HT 入力線維の生後発達について調べた。胎生期に既に進入していた線維の多くは皮質下板に留まっている。それらは生後急速に発達し皮質板下層に濃密な線維叢を作る(生後5-7日)が、この時期は皮質板の未分化な細胞が第4層として分離してくる時期に一致する。やがて線維叢は微細な点状終末が集合して多くの塊即ち“バレル様構造”を作る。成長が進むとこの終末集団は消滅し、生後10日では成熟マウスで見られると同様細い連珠状の線維がびまん性に走行するようになる。

〔考 察〕

妊娠ラットに Tryptophan 前投与を行うと、胎児脳の5 HT 免疫組織化学の染色反応性が増強した。この方法を用いることにより下位脳幹における5 HT 合成細胞の初期発生を、その形態分化、移動のみならず5 HT 合成酵素の発達の面からも観察することが可能になった。さらにマウスにおける観察で、大脳皮質体性知覚野の発達過程とくに第4層形成時期に一致して、一過性の5 HT ニューロンの集中的投射が起こることを見いだした。この現象は今まで長年の課題であった「アミンニューロンと脳の発達」に対して手がかりを与えるものと期待される。知覚領野における神経回路の発達には、その過程において知覚入力が必要な役割を果たすとされている。今回調べたマウス大脳皮質の体性知覚野第4層も発達段階で知覚入力の影響を受けるはずであり、この部に濃密な5 HT 神経支配がもたらされることは知覚入力と何等かの関係を持つことが考えられる。したがって、知覚入力、5 HT 入力および神経回路の3者の発達過程が相互に影響を及ぼしあうことが強く示唆される。

〔結 論〕

鋭敏な免疫組織化学的方法により初期発生における脳幹部5 HT ニューロンの形態分化、移動、投射線維の発達過程の詳細が明らかになった。さらに大脳皮質へ進入後の5 HT 線維の発達が皮質細胞の分化と関連していることが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

本研究はセロトニン（5HT）含有ニューロンの初期発生の詳細を、その上行性投射領域である大脳皮質の初期発達との関連において観察検討したものである。実験動物としてはラットおよびマウス、染色法としては免疫組織化学が用いられている。

上行性投射を行う5HTニューロンは早期に出現するものと遅れて発生してくるものの2群があり、前者は将来の正中および橋縫線核を後者は背側縫線核を主として形成する。前者よりの上行線維は内側の経路をたどり胎生末期に中隔野より辺縁系皮質へ進入するのに対し、後者よりの線維は外側の経路を通り線条体を貫くが皮質への進入は生後においてである。

早期に新皮質へ進入した5HT線維は皮質下板において生直後すでに軸索樹状突起間シナプスを主とする結合を皮質細胞と作る。外側経路（背側縫線核）の線維が新皮質へ進入を開始すると、5HT線維は皮質板を形成する未熟な皮質細胞間に入り細胞体と広く接着し、樹状突起の発達に伴い多数の軸索樹状突起間シナプスを形成する。とくに体性知覚野においてはこれが著明にみられ、第4層顆粒層の形成時に多数の終末が一過性に集団をなしバレル様構造を作り、6層構造の完成時にはび慢性となる。

以上の研究結果は、5HTニューロンの細胞体、軸索およびシナプスの個体発生の詳細を明らかにするとともに、大脳皮質の発達過程あるいは発達異常と5HTニューロンとの関係を研究する上で重要な基礎的事実を提供したものであって、学位授与に価するものと認められる。