

氏名	石田 麻依子
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	第182号
学位授与の日付	2014年3月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(博士課程修了)
学位論文題目	ラット三叉神経節における支配領域による神経細胞局在の三次元構築
指導教員	(主) 教授 金銅 英二 (副) 教授 澁谷 徹 (副) 教授 篠原 淳
論文審査委員	主査 教授 川上 敏行 副査 教授 増田 裕次 副査 教授 倉澤 郁文

## 学位論文の内容の要旨

**目的:** 三叉神経節は、眼神経、上顎神経、下顎神経の3枝に分枝し、その末梢枝は頭頸部で広範囲に分布している。三叉神経節内には、これらの神経細胞体が集まっており、それぞれの領域の細胞体の局在には神経節内で偏りがあることが知られている。しかしながら、これまでの報告における表現は統一性に欠け、詳細も不明である。そこで神経損傷マーカーの Activating transcription factor 3 (ATF3) 抗体を用いて三叉神経節内の神経細胞体の局在を3次元構築し、各神経切断群間で比較検討を行った。

**方法:** ラットの三叉神経において眼窩上神経、眼窩下神経、下歯槽神経、舌神経それぞれの切断群(各 n=3)と、各神経に至るまでの組織の切開や剥離を加えて、目的の神経を切断しない対照モデル(各 n=1)を作製し、ATF3の発現がピークとなる7日後に三叉神経節を摘出し、切片を作製した。これらの切片をATF3抗体と、神経細胞のみを染色するNewN抗体、すべての細胞の核を染色するDAPI抗体を用いた免疫組織化学に供し、光学顕微鏡下で画像データとしてコンピューターに取り込み、スライスごとに重ねて三叉神経節を復元するように三次元構築を行った。

**結果と考察:** ラット三叉神経節は二つに分岐しており、第1枝、第2枝から外側へ向かう枝が3枝となる。三叉神経節内における神経細胞体集団は、大きく二つの領域に分かれており、1つは第1枝、第2枝へ向かう枝の中(第1・2枝領域)に、もう一つは外側に向かう3枝への分岐部周辺(第3枝領域)に局在している。これら2つの領域は三叉神経節の上面側では融合しており(第2・3枝領域連続部)、下面側では分離していた。眼窩上神経切断後のATF3陽性細胞の局在は、第1・2枝領域において内側に、眼窩下神経切断後のATF3陽性細胞は、第1・2枝領域ほぼ全域にあり、眼窩上神経細胞領域を含んでいた。下歯槽神経切断後のATF3陽性細胞は主に第3枝分岐部周辺に局在し、第2・3枝領域連続部では点在していた。また、第1・2枝領域においてATF3陽性細胞は広範囲に散在していた。舌神経切断後は下歯槽神経切断後とほぼ同じ領域でATF3陽性細胞局在が確認された。眼窩下神経と下歯槽神経、舌神経の各切断後のATF陽性細胞の局在は第2・3枝領域連続部で混在しており、各神経領域の境界は不明瞭であった。以上より、眼窩上神経と眼窩下神経の細胞局在は混在しており、さらに下歯槽神経と舌神経の細胞局在も混在していることが分かった。また、眼窩下神経細胞局在領

域と下歯槽神経や舌神経細胞局在領域との境界は不明瞭であった。今回の結果は、同じ神経節内における損傷した神経細胞が近接する非損傷の神経細胞に何らかの物質を伝達することが異所性感覚異常の発症のメカニズム解明の基礎データと考えられる。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は、三叉神経節内の神経細胞体の局在を3次元構築し、各神経切断群間で比較検討を行った結果、眼窩上神経と眼窩下神経の細胞は混在しており、さらに下歯槽神経と舌神経の細胞の分布も入り混じっていた。さらに、眼窩下神経細胞局在領域と下歯槽神経や舌神経細胞局在領域との境界は不明瞭であることを明確にした。これらの知見は、同じ神経節内における損傷した神経細胞が近接する非損傷の神経細胞に何らかの物質を伝達することが異所性感覚異常の発症につながるのは、このメカニズム解明の基礎データとして極めて重要なものである。なお、本研究における仮説と実験手法は妥当であり、得られた結果は結論を支持するものであった。

また、この研究におけるマウスを用いた実験系は松本歯科大学動物実験委員会が定める動物実験取扱規程を遵守し、ヒト由来細胞を用いた実験系は松本歯科大学倫理委員会の承認を得て行われている。

本論文は本学大学院歯学独立研究科口腔疾患制御再建学専攻（顎口腔機能制御学・生体調節制御学）の学位論文として、基礎歯科医学のみならず、将来的に臨床分野への応用につながる可能性を含んだ意義のある研究であると評価した。

以上のことより、本論文に学位論文としての価値を認めた。

## 最終試験の結果の要旨

学位申請論文を中心に口頭による試験を行った。主要な質問事項（順不同）は次の通りである。

- 1) 本研究の最大の意義について簡潔に説明して下さい。
- 2) NeuN と ATF3 の陽性細胞の二重染色結果を明確に説明して下さい。
- 3) 支配領域別の神経細胞マーカーである ATF3 を用いて検討した結果と文献上の従来の知見との差異について明確に答えて下さい。
- 4) 本研究では神経細胞のサイズは測定していないが、これらの神経細胞はすべての疼痛に関与するのですか。
- 5) 「三叉神経節内における神経細胞集団は・・・1つは・・・へ向かう枝の中」で「枝」といってしまって良いのでしょうか？
- 6) 三叉神経節の方向を表す表現として「上面」、「下面」が用いられているが、解剖学、神経生理学的な方向の表現として、それぞれ「背側」、「腹側」が正しいのではないのでしょうか。
- 7) 本論文中に用いられている第1枝領域、第2枝領域、第3枝領域に関する定義の論旨の飛躍が感じられます。如何ですか。

以上の質問に対して、申請者は最新の文献的知見も踏まえて適切な回答した。また、申請者は、実験より得られた結果に対して適切な考察が行える専門的知識があり、博士課程修了者として十分な知識と学力を有しているものと判断された。本審査委員会は、申請者を博士（歯学）として十分な学識を有するものと認定し、最終試験合格と判定し

た。