

氏 名	佐 藤 学
	さとう まなぶ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 492 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	<b>Postnatal differentiation of cell body volumes of spinal motoneurons innervating slow-twitch and fast-twitch muscles</b> (遅筋および速筋を支配する脊髄運動神経細胞の細胞体体積の生後分化)
論文調査委員	(主査) 教 授 佐々木和夫 教 授 荒木辰之助 教 授 水 野 昇

### 論 文 内 容 の 要 旨

哺乳類の骨格筋を支配する $\alpha$ -運動神経細胞 (MN) は、赤筋を支配する緊張性運動神経細胞 (t-MN) と白筋を支配する相動性運動神経細胞 (p-MN) とに大別され、一般に前者は後者より小さいと考えられている。しかし、t-MNとp-MNの区別は生理学的なパラメータの差異に基づくものであり、両者の形態学的な差異に関しては厳密な研究がない。その最大の理由は、これまでは、特定の骨格筋を支配するMNを形態学的に同定する場合、通常、逆行変性法が用いられてきたためである。すなわち、逆行変性法ではそれぞれの骨格筋を支配するMNを同定してそれらの正常像を比較することが困難であった。そこで本研究では、西洋ワサビ過酸化酵素 (HRP) の逆行性軸索輸送を利用して、ネコにおいて赤筋の代表とされるヒラメ筋 (Sol) を支配するMNと、おもに白筋からなる内側腓腹筋 (MG) を支配するMNを同定し、t-MNとp-MNの大きさの比較を試みるとともに、それぞれのMN形態学的生後分化を細胞体の体積を指標として追跡した。

生直後より生後140日までのネコおよび成ネコについて、一側のSolとそれと反対側のMGに1～2% HRPを注入し、20～48時間後に10%ホルマリンで灌流固定した後脊髄を採取した。第6腰髄節より第2仙髄節にかけて厚さ60 $\mu$ の横断連続氷結切片を作製し、過酸化水素と diaminobenzidine で HRP の呈色反応 (Graham and Karnovsky) を行った後、1% cresyl violet で後染色した。HRP陽性MNの細胞体について、核小体を通る長径aとそれに直交する短径bを接眼マイクロメーターにて計測し、 $1.04 \cdot \frac{1}{2} \pi ab \sqrt{ab}$  (Schadé and Van Harreveld) により細胞体の体積を求めた。それぞれの実験例において、Sol-MNとMG-MNの細胞体体積の平均値を求め、 $d/Sd > 2.72$  ( $Sd$ : 平均値の差の標準偏差,  $d$ : 平均値の差) のとき、平均値に有意差 ( $P < 0.01$ ) ありとした。また、細胞体体積の分布パターンの比較については、Kolmogorov-Smirnov 法による有意差検定を行った。

Sol-MNもMG-MNもともに第7腰髄節より第1仙髄節にかけて混在して分布するが、MG-MNの分布域の方がより尾側レベルにまでおよんでおり、また、全体としてはSol-MN群の方がMG-MN群より

もやや腹外側に位置する傾向がみられる。

成ネコにおいて、Sol-MN および MG-MN の細胞体体積の分布はともに二峰性であるが、両者の体積の分布パターンには差があり、( $P < 0.001$ )、また、細胞体体積の平均値は Sol-MN の方が小さい ( $P < 0.01$ )。すなわち、成ネコにおいては、赤筋を支配する t-MN の細胞体は、白筋を支配する p-MN のそれより小さい傾向にある。

一方、生直後の仔ネコでは、Sol-MN および MG-MN の細胞体体積には平均値についても分布パターンについても差が認められない。両者の細胞体体積の平均値および分布パターンの差が明らかになるのは生後10日頃である。

Sol-MN および MG-MN の細胞体体積の平均値は、生後3週より7週にかけてもっとも著明に増加し、その後の増加は比較的少ない。しかし、細胞体体積平均値の増加は生後15ヶ月を経てもなおわずかながら続く。また、細胞体体積の分布パターンについてみると、MG-MNの方が、Sol-MN よりも早期に成ネコの状態に達する。

Sol-MN および MG-MN の細胞体体積の分布パターンは生直後より二峰性を呈する。このうち小形のMNはおそらくその大部分が  $\gamma$ -MN に属するものと考えられる。したがって、細胞体体積の平均値を指標としてみるかぎり、 $\gamma$ -MN と  $\alpha$ -MN への分化は、t-MN と p-MN への分化に比較して、より早期におこるものと考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

遅筋運動単位と速筋運動単位を比較研究する場合、通常ヒラメ筋と内側腓腹筋がそれぞれ遅筋および速筋の代表として用いられる。しかるに、この両筋を支配する運動神経細胞は脊髓前角において同一細胞群中に存在する故、両筋のそれぞれを支配する運動神経細胞を正常標本において同定し、両者を比較することは不可能であった。著者はこの問題点を克服するため、ニューロン連絡研究の手段として近年盛んに用いられている西洋ワサビ過酸化酵素法を利用した。すなわち、筋に注入された西洋ワサビ過酸化酵素の逆行性軸索輸送を利用して、それぞれの筋を支配する運動神経細胞を標識し、それらの細胞体体積の計測値にもとづいて、遅筋および速筋運動神経細胞の生後分化の経過を形態学的に把握することに成功した。

本論文は、新しい研究方法を導入することにより、遅筋支配運動神経細胞と速筋支配運動神経細胞の生後分化の時間的経過を形態学的にはじめて明らかにしたものであり、今後神経細胞の形態分化の研究の発展に資するところも大きいと考えられる。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。