

ラット顎下神経節における VIP 陽性及び  
NPY 陽性ニューロンの局在について

小 口 岳 史 東 一 善\* 河 田 亮\*  
 飯 村 彰\*\* 松 尾 雅 斗\*\* 尾之上 さくら\*\*\*  
 高 橋 理\*

神奈川歯科大学総合教育部

\* 神奈川歯科大学大学院口腔科学講座神経発生組織学分野

\*\* 神奈川歯科大学大学院口腔科学講座歯科形態学分野

\*\*\* 関東学院大学理工学部

(受付：2016年7月27日)

## Localization of VIP and NPY immunoreactive neurons in the rat submandibular ganglion

Takeshi OGUCHI, Kazuyoshi HIGASHI\*, Akira KAWATA\*, Akira IIMURA\*\*  
 Masato MATSUO\*\*, Sakura ONOUE\*\*\* and Osamu TAKAHASHI\*

Division of Curriculum Development, Kanagawa Dental University

\* Department of Histology, Embryology and Neuroanatomy, Kanagawa Dental University, School of Dentistry

\*\* Department of Oral Science, Kanagawa Dental University, School of Dentistry

\*\*\* College of Science and Engineering, Kanto Gakuin University

Kanagawa Dental University: 82 Inaoka-cho, Yokosuka, Kanagawa, Japan

Kanto Gakuin University: 1-50-1 Muthuura-higasi, Kanagawa-ku, Yokohama, Kanagawa, Japan

## Abstract

The submandibular ganglion (SMG) has been considered to be involved in the parasympathetic nervous system. Many studies of SMG have shown that SMG is not only a relay center, but may have more complicated functions. The present study was designed to examine the distribution of vasoactive intestinal polypeptide (VIP)- and neuropeptide Y (NPY)-immunoreactive neurons in SMG with a confocal laser microscope and to investigate the ultrastructure of SMG with an electron microscope. Moreover, three-dimensional configurations of the main excretory duct, capillary vessel network, and SMG in rats were reconstructed by the serial section method using an optical microscope. Clusters of neuronal cell bodies of SMG were observed along the main excretory duct. The nerve fibers extended from SMG around the hilum. A capillary network was observed in connective tissue around the main excretory duct. Although most of the SMG neurons showed NPY immunoreactivity, no neuron around the hilum showed NPY immunoreactivity. The ganglion neurons around the hilum showed VIP immunoreactivity, while NPY-immunoreactive neurons were not observed in this portion of SMG. Electron microscope observation revealed no morphological difference among the neuronal cell bodies around the hilum or in any other part. VIP-immunoreactive fibers were observed near capillary vessels around the main excretory duct, suggesting that the mechanism underlying effects on saliva in the main excretory duct may be regulated by VIP-immunoreactive neurons through the capillary vessels. Most of the SMG neuronal cell bodies showed NPY immunoreactivity, and VIP-immunoreactive neurons were localized to SMG around the hilum.

## 序 論

延髄の上唾液核ニューロンより顎下神経節へは自律神経系の節前神経線維による直接投射が知られ、顎下腺および舌下腺の分泌などに関与する<sup>1)</sup>。この顎下神経節はヒトの顎下三角に位置するが、ラットでは顎下腺主導管の長軸に沿う結合組織において、顎下腺の門より咬筋後縁まで柱状の形態を呈する<sup>2)</sup>。

このラット顎下神経節の節後神経線維は顎下腺、舌下腺の腺体ならびに主導管に分布し、主導管における分泌機能と吸収機能に影響を与える<sup>2,3)</sup>。従来、顎下腺主導管は唾液を口腔に輸送する管系であると考えられてきたため、その機能に関する報告は少数であった。しかし、腺体から分泌された唾液の成分を顎下腺主導管が調節することが報告され<sup>2,3)</sup>、またその上皮細胞の中に化学受容を行う刷子細胞が存在することも報告されている<sup>4-7)</sup>。さらに免疫組織化学的研究によると、顎下腺主導管にみられる刷子細胞は血管作働性腸管ペプチド vasoactive intestinal polypeptide (VIP) 免疫陽性を示す<sup>7)</sup>。しかし、顎下腺主導管における唾液調節機構の詳細は不明である。血管鑄型標本を用いて顎下腺主導管に並走する毛細血管網を観察した研究によると、上皮組織の直下に観察される毛細血管網は唾液の調節に関与することが示唆され、唾液腺の線条部導管よりも主導管の方がその調節機能が優位であると考えられている<sup>8,9)</sup>。一方で、顎下神経節に分布する神経線維は主導管に並走する毛細血管網と同様に顎下腺の門より進入し、一部はこれら主導管と毛細血管網にも分布する<sup>8)</sup>。

顎下神経節ニューロンについては、従来から副交感神経性である上唾液核由来の節前神経線維が投射し、顎下腺および舌下腺などを制御する単なるシナプス中継点であると考えられてきた<sup>1)</sup>。しかし近年、免疫組織化学的研究により calcitonin gene-related peptide (CGRP)、セロトニン、VIP等の神経活性物質の存在が顎下腺ニューロンの細胞質内に報告された<sup>10,11)</sup>。

また、顎下神経節は顔面神経の支配のみならず、上顎神経節からの投射線維も一般的に認められている<sup>1)</sup>。さらに、顎下神経節ニューロンの電子顕微鏡による報告では、神経細胞体とその周囲の外套細胞、そして神経線維の終末が確認される<sup>2,4-6)</sup>。

VIPは視床下部より同定された神経ペプチドであり、中枢神経系ならびに消化管においても同定され、電解質の分泌、吸収に関わる<sup>12)</sup>。VIPは顎下腺および口唇の血管拡張に関与する他<sup>13)</sup>、血管周囲にVIP免疫陽性神経線維が観察されることが報告されており<sup>14)</sup>、顎下神経節ではVIP免疫陽性神経線維が血管

運動に関わると推察される。

一方、ニューロペプチドY (NPY)はブタの脳で発見された神経ペプチドであり<sup>15)</sup>、自律神経系と中枢神経系に広く見いだされる<sup>16)</sup>。自律神経系においてNPYは交感神経系の節後線維に多く含まれ、上顎神経節においても確認される<sup>17)</sup>。NPYは中枢神経系の特に関視床下部において様々な生理作用を有することが知られ<sup>18-20)</sup>、自律神経系ではNPYが動脈の平滑筋に対して収縮作用を与えると考えられる<sup>18-20)</sup>。

唾液分泌調整機構の理解のためには、種々の神経伝達物質の顎下神経節内での分布の全容を明らかにする必要がある。そこで本研究ではラットの顎下神経節ニューロンの超微構造について光学及び電子顕微鏡にて検索し、さらにVIPとNPYの顎下神経節における特異的局在について免疫組織化学的に検索した。また、protein gene product 9.5 (PGP 9.5)は神経細胞体および神経線維に特異的に発現することが知られており<sup>21)</sup>、顎下神経節を確認するための指標として用いた。

## 材料および方法

### 1. 実験動物

生後4ヶ月のWistar系雄性ラット(体重260~350g)14匹を用いた。実験動物の飼育条件は室温20℃、明暗周期12時間、給餌、給水については自由摂取とした。

本実験は、神奈川県立動物倫理委員会の承認を受け、定められた動物実験指針を遵守して行われた。実験動物は「動物実験の飼育および保管等に関する基準」(昭和55年3月27日総理府広告6号)に基づいて、倫理的に扱った。

### 2. 成体ラットの顎下神経節の正常構造の観察

実験動物6匹に対してバルビタール酸ナトリウム(50mg/kg)を腹腔内投与し麻酔した後に、顎下神経節と主導管を周囲組織とともに摘出し、直ちに0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)にて希釈した2.5%グルタルアルデヒド液中で90分間固定した。その後0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)にて希釈した1%オスミウム酸で60分固定した。さらにアルコール系列で脱水、酸化プロピレンを介してQuetol 651樹脂(Polysciences; Warrington, USA)に包埋した。その後MT-1型マイクロトームで超薄切片を作製し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で電子染色を施し、電子顕微鏡用試料として、JEOL-1220型電子顕微鏡(日本電子; 東京, 日本)を用いて観察した。さらに、包埋した試料は同型マイクロトームを用いてガラスナイフで約1μmの厚さで切片を作製し、1%トルイジンブルー液にて

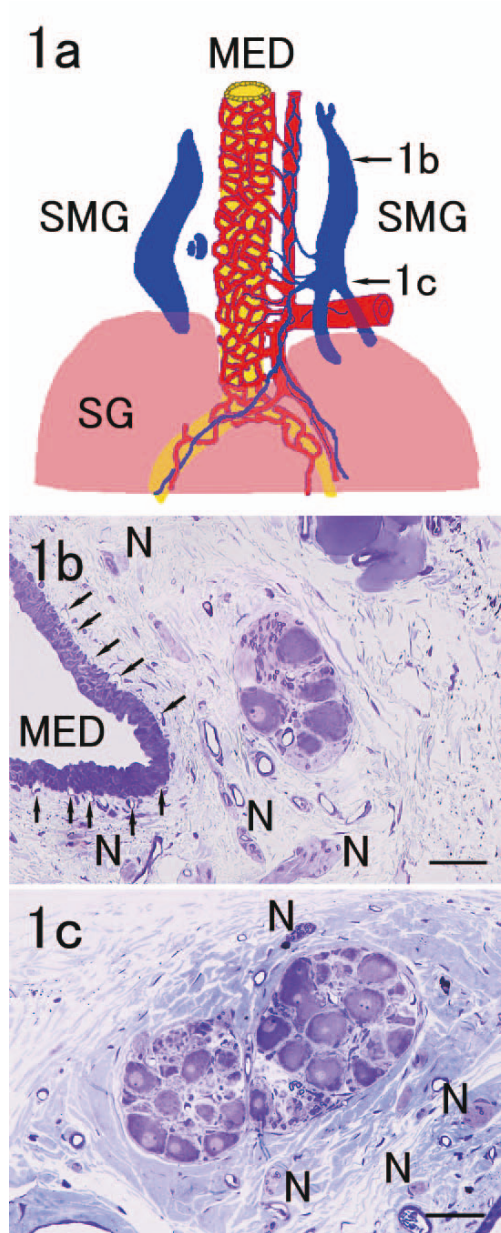


図 1 ラット顎下神経節の模式図と光学顕微鏡像 (Bar : 50  $\mu$ m)

1a : 連続切片より再構築したラット顎下神経節の模式図を示す。MED : 顎下腺主導管 SMG : 顎下神経節 SG : 顎下腺  
顎下神経節は顎下腺主導管に沿うように細長く存在しており、二本の帯状の構造物として顎下腺の腺体まで続いていた。  
また、その周囲には小形の神経節も存在していた。さらに顎下腺門付近からは神経線維が伸長していた。

1b, 1c : 顎下神経節のトルイジンブルー染色を施した連続切片の一部の光学顕微鏡像を示す。MED : 顎下腺主導管 N :  
神経線維

顎下神経節は数個から 10 数個の神経細胞体が集合し、結合組織性の膜に包まれた構造となっていた。顎下腺主導管(MED)  
周囲の結合組織中には多くの毛細血管 (←) が存在し、その外側には太い血管や神経線維 (N) が観察された。顎下腺遠  
位部付近 (1b) では数個の、顎下腺門付近 (1c) では十数個のニューロンが認められたが、形態には差異を認めなかった。

染色を施し、光学顕微鏡で観察した。また、2 個体について同様の方法で顎下腺主導管および近接組織を顎下腺の門より咬筋停止部付近のレベルまで連続切片を作製し、顎下神経節の立体的な細胞構築について観察を行った。

### 3. 成体ラットの顎下神経節の免疫組織化学

#### 1) 試料作製

実験動物 4 匹を神経細胞のマーカである PGP 9.5 と VIP による二重免疫染色に、4 匹を VIP と NPY による二重免疫染色に使用した。動物に対してバルビ



タール酸ナトリウム (50 mg/kg) を腹腔内投与し麻酔を施した後に、顎下神経節を主導管やその周囲組織と共に摘出し、直ちに0.1 M リン酸緩衝液 (pH7.4) にて希釈した4%パラフォルムアルデヒド液にて12時間固定した。その後、O.C.T. compound (Tisse-Tek, SAKURA: 大阪, 日本) を用いて凍結包埋し、凍結ミクロトームにて厚さ約20  $\mu$ m の凍結切片を作製した。薄切切片をスライドガラス上に載せ風乾し、VIP, NPY および PGP 9.5 について免疫染色を行った。

## 2) 免疫組織化学的方法

凍結切片を用いて、以下の手法で免疫染色を行った。試料を血清 (10% normal goat serum (NGS)/ 0.75% Triton X-100/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ ) を含有した0.1 M リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中に1時間洗浄した。続いてマウス抗 PGP 9.5 モノクローナル抗体 (abcam; Cambridge, UK, 1/200 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.75% Triton X-100/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ ) とウサギ抗 VIP ポリクローナル抗体 (PLI; San Carlos, CA, USA, 1/500 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.75% Triton X-100/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ )、もしくはマウス抗 NPY モノクローナル抗体 (abcam; Cambridge, UK, 1/200 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.75% Triton X-100/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ ) とウサギ抗 VIP ポリクローナル抗体 (PLI; San Carlos, CA, USA, 1/500 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.75% Triton X-100/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ ) 中に、4°C で一晩浸漬した。その後 PBS にて洗浄し、ヤギビオチン化抗マウス IgG 抗血清 (DAKO; Glostrup, Denmark, 1/400 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ ) とヤギ Alexa 488 標識抗ウサギ IgG 抗血清 (Wako; Osaka, Japan, 1/50 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ ) 混液中に室温で1時間浸漬した。その後 PBS で洗浄し、さらに Cy3-streptavidin (KPL; Guildford, UK, 1/1000 in 0.1 M PBS containing 10% NGS/ 0.05%  $\text{NaN}_3$ ) に1時間浸した。免疫組織化学的に標識した試料は40% glycerin 溶液で封入し、共焦点レーザー顕微鏡 (Nikon, ECLIPSE, E800) にて観察した。なお、一次抗体の代わりに PBS を適用した試料をコントロールとした。

## 結 果

### 1. ラット顎下神経節の正常構造の観察

#### 1) 光学顕微鏡による観察

トルイジンブルー染色を施した2個体の標本を観察した像を元に作製した顎下神経節の模式図を示す (図1a)。

ラットの顎下神経節は顎下腺主導管の長軸に沿って観察され、結合組織に包まれた柱状の構造を呈した。

顎下腺の門より遠位部レベルである末端の部位では、細胞体が1切片あたり数個存在認められた (図1b)。顎下腺の門付近では顎下神経節ニューロンの細胞体はその数を増し、1切片あたり10個以上が観察された (図1c)。また同神経節の遠位端 (口腔側) ではニューロンの集合が分岐した。さらに顎下腺の門レベルでも同様に分岐し、近位端は顎下腺に達していた。また、顎下腺の門レベルの顎下神経節から神経線維が分岐していた。顎下神経節の遠位端と近位端における神経細胞体の形態を比較した場合、ともに小型ないしは中型の楕円形を示すニューロンであり差異を認めなかった。 (図1b, c)。顎下腺に分布する血管は顎下腺の門付近から腺体の遠位部 (口腔側) 方向の顎下腺主導管に分布しており、特に導管を取り囲む多くの毛細血管が網状構造を構成した (図1b)。さらに顎下神経節周囲の結合組織中に観察された多くの神経線維は、顎下腺主導管に隣接する結合組織にも多数が観察された (図1b, c)。

#### 2) 電子顕微鏡による観察

超微構造学的に顎下神経節ニューロンの神経細胞体を観察すると、大型の核と核小体が核膜の陥入をとまって観察された。細胞質には多くの粗面小胞体が観察され、ミトコンドリアも多数が確認された (図2)。さらに細胞質中には周囲を膜で囲まれた、内部に小型の高電子密度の顆粒を含む膜状構造物が観察された (図2)。

神経細胞体の周囲には多くの神経線維を認め、さらにその外側に観察される扁平な細胞は神経細胞体へ突起を伸ばし、神経細胞体を取り囲んでいた。この細胞の構造は外套細胞と形状が一致した。さらに、神経細胞体の周囲には、有髄線維と無髄線維が多数観察された (図2)。なお、神経細胞体の形態については、顎下神経節の部位による相違を認めなかった。

### 2. PGP 9.5 と VIP による二重免疫染色

#### 1) 顎下腺遠位部の顎下神経節ニューロンにおける PGP 9.5 と VIP

顎下腺より遠位部レベルの顎下神経節ニューロンに PGP 9.5 と VIP に対する二重免疫染色を施すと、多くのニューロンは PGP 9.5 免疫陽性を示した。また周囲の結合組織中でも PGP 9.5 免疫陽性神経線維が散在して観察された。一方、VIP 免疫陽性を示すニューロンはいずれの切片にも観察されず、PGP 9.5 と VIP に対して共陽性を示すニューロンも同様に観察されなかった (図3)。この傾向は連続切片で検索した4例すべてで観察された。

#### 2) 顎下腺門付近の顎下神経節における PGP 9.5 と VIP

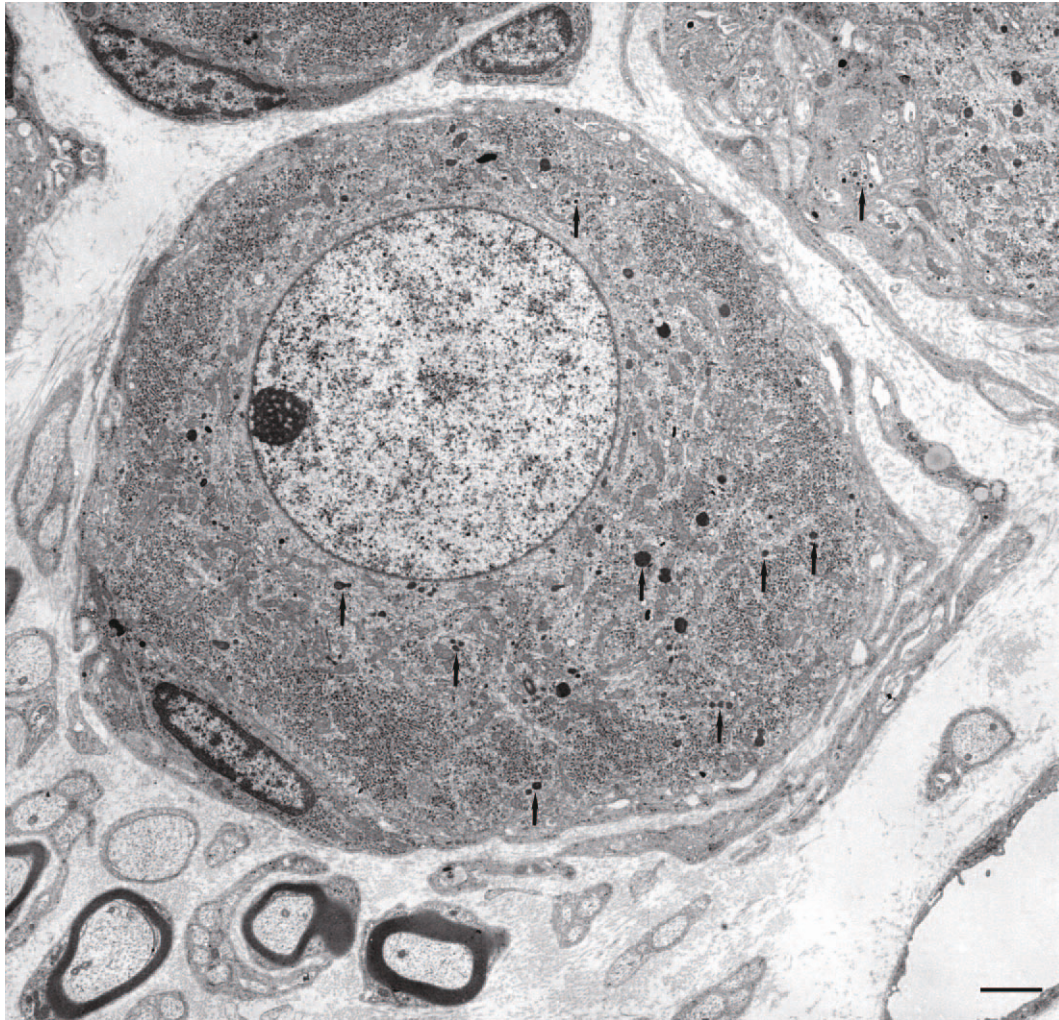


図 2 顎下神経節ニューロンの電子顕微鏡像 (Bar : 2  $\mu$ m)

顎下神経節の神経細胞体には典型的な大きな核と核小体が明瞭に認められ、細胞質内には多くの粗面小胞体とミトコンドリアも観察された。さらに細胞質内には細胞質とは明らかに異なる高電子密度の顆粒を含む膜状構造物が認められた (←)。細胞の周縁には多くの神経線維を認め、さらにその外側に、神経細胞体に密着するように扁平な細胞が認められた。

顎下腺門付近レベルにおける顎下神経節ニューロンに PGP 9.5 と VIP に対する二重免疫染色を施すと、多くのニューロンが PGP 9.5 に対する免疫陽性を示した。また、門付近の顎下神経節の一部のニューロンでは VIP に対する免疫陽性が認められ、さらにこのニューロンは PGP 9.5 と VIP に対して共陽性を示した (図 4)。この傾向は連続切片で検索した 4 例すべてで観察された。

3) 顎下腺門付近の主導管周囲の血管における VIP 免疫陽性線維

顎下腺門付近に位置する顎下腺主導管の周囲では、一部の血管および顎下神経節と主導管の間に位置する神経線維にも VIP 免疫陽性線維が認められた (図 5)。この傾向は連続切片で検索した 4 例すべてで観察され

た。

### 3. VIP と NPY による二重免疫染色

1) 顎下腺遠位部の顎下神経節ニューロンにおける VIP と NPY

顎下腺遠位部レベルにおける顎下神経節ニューロンでは、多くの細胞が NPY に対する免疫陽性を示したが、VIP に対して免疫陽性を示すニューロンは観察されなかった (図 6)。この傾向は連続切片で検索した 4 例すべてで観察された。

2) 顎下腺門付近の顎下神経節ニューロンにおける VIP と NPY

顎下腺の門付近に位置する顎下神経節では、少数のニューロンに VIP 免疫陽性構造物が観察された。一方、NPY に対して免疫陽性を示すニューロンは門の



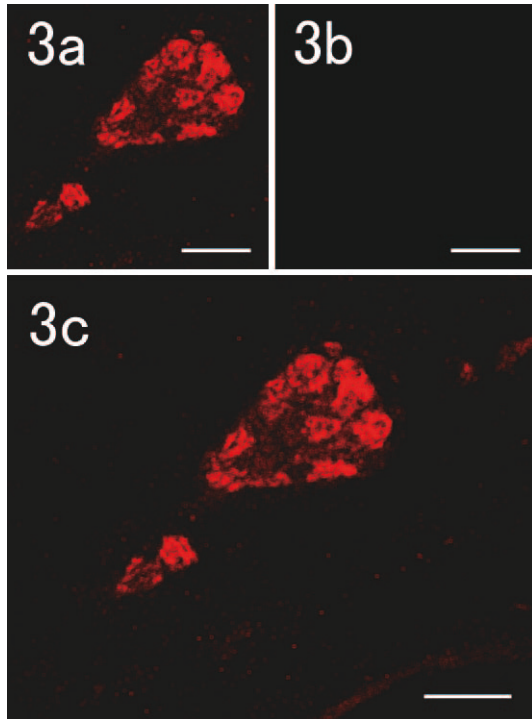


図3 顎下神経節遠位部におけるPGP 9.5 (red) とVIP (green) の二重免疫染色像 (bar: 50  $\mu$ m)

3a: PGP 9.5 免疫染色像を示す。多くのニューロンはPGP 9.5 免疫陽性を示した。  
 3b: VIP 免疫染色像を示す。VIP 免疫陽性を示すニューロンは認められなかった。  
 3c: PGP 9.5 とVIP の免疫染色像を示す。両者に共陽性を示すニューロンは認められなかった。

付近における顎下神経節ニューロンでは観察されず、VIP とNPY の双方に共に陰性を示すニューロンが少数、観察された (図7)。この傾向は連続切片で検索した4例すべてで観察された。

## 考 察

### 1. 顎下神経節の構造

ラットの顎下神経節は、顎下腺主導管に沿って位置する柱状の神経節であり、顎下腺門付近より腺体部にわずかに陥入が認められた。柱状の顎下神経節において径が最大である部位は顎下腺の門の近傍であり、この部位より顎下腺腺体の遠位側あるいは近位側において径が次第に小さくなった。ラットにおける顎下神経節の形態は、Snell<sup>22)</sup> やYuら<sup>23)</sup> の報告によると顎下腺の門より腺体方向に向かって1本あるいは2本の柱状構造をなすという。本研究において観察された顎下神経節の立体構造も2本の柱状構造に分岐したが、顎下神経節の遠位端、近位端が分岐部位であった。顎下

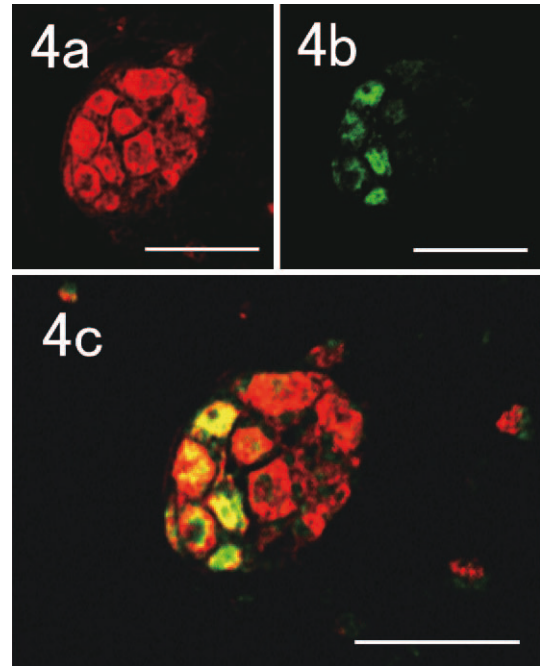


図4 顎下腺門付近の顎下神経節におけるPGP 9.5 (red) とVIP (green) の二重免疫染色像 (bar: 50  $\mu$ m)

4a: PGP 9.5 免疫染色像を示す。多くのニューロンはPGP 9.5 免疫陽性を示した。  
 4b: VIP 免疫染色像を示す。一部のニューロンでVIP 免疫陽性を示した。  
 4c: PGP 9.5 とVIP の免疫染色像を示す。VIP 免疫陽性を示したニューロンは、PGP 9.5 とVIP に共陽性を示した。

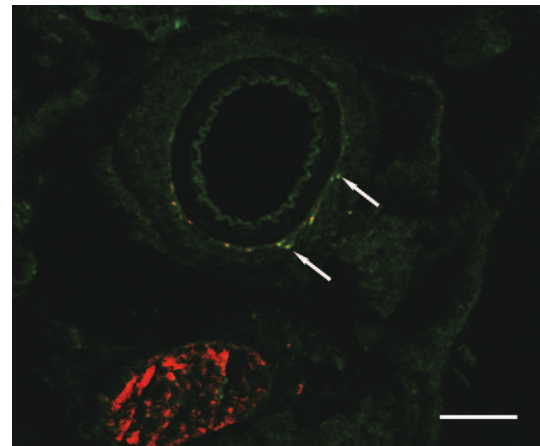


図5 主導管周囲の血管に認められたVIP陽性線維 (bar: 50  $\mu$ m)

顎下腺門付近の主導管周囲の血管の中膜と外膜の間にVIP陽性を示す点状の構造 (←) が認められた。

神経節に分岐が観察された点では以前のYuら<sup>23)</sup> の報告した構造と一致しなかった。一方、電子顕微鏡像で観察された神経細胞体の特徴はいずれもYuら<sup>23)</sup> の報告と一致するものであり、今回の顎下神経節に認

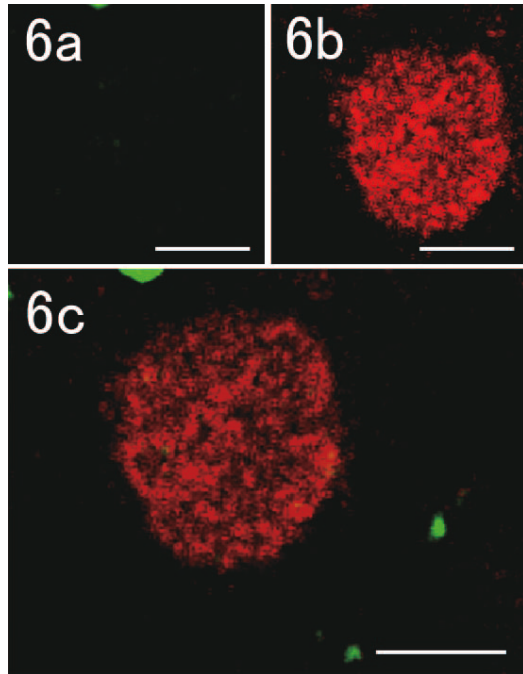


図6 顎下神経節遠位部におけるVIP (green)とNPY (red)の二重免疫染色 (bar: 50  $\mu$ m)

6a: VIP免疫染色像を示す。VIP免疫陽性を示すニューロンは認められなかった。

6b: NPY免疫染色像を示す。ニューロンの多くはNPY免疫陽性を示した。

6c: VIPとNPYの免疫染色像を示す。多くのニューロンはNPY免疫陽性を示したが、VIPとNPYの共陽性を示すニューロンは認められなかった。

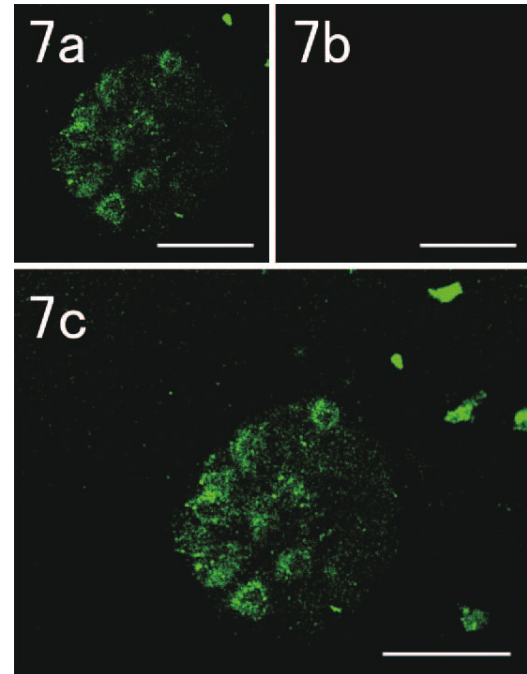


図7 顎下腺門付近の顎下神経節におけるVIP (green)とNPY (red)の二重免疫染色 (bar: 50  $\mu$ m)

7a: VIP免疫染色像を示す。一部のニューロンがVIP免疫陽性を示した。

7b: NPY免疫染色像を示す。NPY免疫陽性を示すニューロンは認められなかった。

7c: VIPとNPYの免疫染色像を示す。一部のニューロンはVIP免疫陽性を示したが、VIPとNPYの共陽性を示すニューロンは認められなかった。また、VIPとNPYの双方に共に陰性を示すニューロンが少数、観察された。

められた分岐構造は個体差の範疇と考えられる。

## 2. 顎下神経節におけるVIP, NPY, およびPGP9.5免疫陽性ニューロンの局在

近年、免疫組織化学的研究によって顎下神経節ニューロンには種々の神経伝達物質としてGABA, NPY, セロトニン, VIP等の存在が知られてきた<sup>10,11)</sup>。これらより顎下神経節は単なる節後ニューロンへのシナプス中継点ではなく、より複雑な機能を有している可能性が考えられる。

本研究では顎下神経節ニューロンの多数にPGP 9.5の免疫陽性が観察されたが、VIP免疫陽性を示したニューロンは顎下腺門付近のニューロンに限局された。顎下神経節におけるVIP免疫陽性細胞の存在の報告はすでになされている<sup>13)</sup>が、神経節内での分布についての詳細な報告はなされておらず、この点については本研究により明らかにされた。また本研究では、顎下神経節ニューロンに対して顎下腺門付近から神経線維が走行する所見が観察された。これらの神経線維は

血管壁や顎下神経節と主導管の間の結合組織においてVIP免疫陽性線維が少数、観察された。

VIPについては腸管の上皮細胞に分布する神経線維において多数の免疫陽性神経線維が観察され、消化管においては分泌細胞における電解質の分泌、吸収など多くの作用に関係するという<sup>24,25)</sup>。またVIPは血管壁の平滑筋に作用し、顎下腺や下唇における血管の拡張に関係するとされる<sup>13)</sup>。一方、顎下腺主導管は単なる唾液の輸送路ではなく、唾液への電解質の分泌、吸収を行い唾液成分の調節が顎下腺主導管で行われることは周知である<sup>3)</sup>。

これらより本研究で観察された門付近の顎下神経節に存在するVIP免疫陽性ニューロンは、顎下腺主導管周囲の血管に分布しその血流を制御することで、顎下腺主導管における電解質の分泌や吸収を制御すると考えられる。

一方、VIPとNPYの二重免疫染色では、ラット顎下神経節では大部分のニューロンがNPY免疫陽性を

示し、VIP免疫陽性ニューロンは顎下腺門付近に少数が局在し、NPY免疫陽性ニューロンとVIP免疫陽性ニューロンの分布領域は明確に区別され、NPYとVIPの共陽性を示すニューロンは観察されなかった。

NPYは頭頸部の末梢神経では主に交感神経節ニューロンにその発現が認められる神経ペプチドである<sup>16)</sup>。Schultzら<sup>17)</sup>は、ラット大唾液腺付近のNPY陽性線維を検索し、大唾液腺の血管周囲にあるNPY神経線維は主に交感神経から、腺房、導管周囲の神経線維は副交感神経より由来するものと考えた。本研究で観察されたNPY免疫陽性ニューロンの所見もSchultzら<sup>17)</sup>の示した唾液腺腺房、導管周囲への神経線維と一致すると考えられる。

また、本研究では顎下腺門付近の顎下神経節に、VIP、NPYに対してともに免疫陽性を示さないニューロンが少数観察された。これらのニューロンの詳細については、顎下神経節中でVIPやNPY以外の神経ペプチドなどの存在がすでに報告されており<sup>10,11)</sup>、主にこれらを発現するニューロンである可能性がある。

今回、ラット顎下神経節で多くのニューロンがNPY免疫陽性を示し、かつ少数のVIP免疫陽性ニューロンと明確に区分され、さらに顎下神経節内での分布の局在が観察できたことは、VIP免疫陽性ニューロンとNPY免疫陽性ニューロンについて顎下神経節において明確な機能的局在性の存在を示すものと考えられる。

## 結 語

本研究では顎下神経節ニューロンについて頭頸部の副交感神経線維に見出されるVIPと頭部交感神経系のNPYという2種類の神経ペプチドについて、免疫陽性ニューロンの局在性を検索した。その結果、VIP免疫陽性ニューロンは顎下腺門付近の顎下神経節に局在し、NPY免疫陽性ニューロンは遠位部の顎下神経節に局在した。また、VIPおよびNPYに対して二重標識を示すニューロンは観察されなかった。さらに血管壁に沿うVIP免疫陽性線維も観察された。以上より、顎下神経節ニューロンの機能的な局在が考えられる。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり終始多大なるご協力を頂きました神奈川歯科大学大学院口腔科学講座神経組織発生学分野、口腔科学講座歯科形態学分野の各位に深く感謝を申し上げます。本論文の要旨は第120回日本解剖学会・全国集会で発表いたしました。

申告すべき利益相反なし。

## 文 献

1. 平沢 興. 解剖学; 2巻, 11版, 金原出版, 東京, 473-496, 2008.
2. Ng YK, Wong WC, Ling EA. A study on the submandibular ganglion of the monkey with special reference to ultrastructural changes after lingual nerve sectioning. *Arch Histol Cytol* **56**: 371-383, 1993.
3. Young JA. A micro-perfusion investigation of sodium-reabsorption and potassium secretion by the main excretory duct of the rat submaxillary gland. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere* **295**: 157-172, 1967.
4. Higashi K, Gomi T, Soeda M, Sasa S, Kimura A, Kikuchi Y. New morphological aspects of the brush cells in the main excretory ducts of the rat submandibular glands. *Zool Sci* **6**: 675-680, 1989.
5. Higashi K, Akimoto K, Sasa S. Ultrastructural changes of brush cell in the main excretory ducts of rat submandibular glands. *Bull Kanagawa Dent Coll* **22**: 71-76, 1994.
6. 東 一善, 佐々昭三. ラット顎下腺主導管の基底細胞における孤立線毛の微細構造. *歯基礎医学会誌* **27**: 842-850, 1985.
7. 加藤智弘, 河田 亮, 東 一善, 高橋 理. ラット顎下腺主導管における刷子細胞に関する免疫組織化学的研究. *神奈川歯学* **49**: 101-110, 2014.
8. 秋本公美. ハムスター顎下腺主導管の形態学的研究. *神奈川歯学* **29**: 161-182, 1994.
9. 中村 聡. 唾液腺に分布する血管の超微構造について. *神奈川歯学* **16**: 594, 1982.
10. 川邊-石井裕美, 東 一善, 宮城 敦. 抗うつ薬投与がラット顎下神経節ニューロンのセロトニン発現に与える影響に関する免疫組織化学的研究. *神奈川歯学* **44**: 117-127, 2009.
11. 東 一善, 都築英子, 林 弘之, 河田 亮, 高橋浩次, 赤城忠臣, 高橋 理. ラット顎下神経節ニューロンの免疫組織化学的研究. *J Oral Biosci* **48**: 176, 2006.
12. Miyata A, Arimura A, Dahl RR, Minamino N, Uehara A, Jiang L, Culler MD, Coy DH. Isolation of a novel 38 residue-hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. *Biochem Biophys Res Commun* **164**: 567-574, 1989.
13. Anderson LC, Garrett JR, Zhang X, Proctor GB. Protein secretion from rat submandibular acini and granular ducts: effects of exogenous VIP and substance P during parasympathetic nerve stimulation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **119**: 327-331, 1998.
14. 東 一善, 都築英子, 河田 亮, 赤城忠臣, 大栗重彦, 杉山朋久, 高橋 理. ラット顎下腺および顎下神経節におけるVIP陽性細胞および陽性線維の研究. *J Oral Biosci* **49**: 189, 2007.



15. Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V. Neuropeptide Y--a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature* **296**: 659-660, 1982.
  16. Lundberg JM, Terenius L, Hökfelt T, Tatemoto K. Comparative immunohistochemical and biochemical analysis of pancreatic polypeptide-like peptides with special reference to presence of neuropeptide Y in central and peripheral neurons. *J Neurosci* **4**: 2376-2386, 1984.
  17. Schultz T1, Soinila J, Tolonen R, et al. The sympathetic and parasympathetic nature of neuropeptide Y-immunoreactive nerve fibres in the major salivary glands of the rat. *Histochem J* **26**: 563-70, 1994.
  18. 樋口宗史. Neuropeptide Y ペプチド性神経伝達物質としての作用・生合成と神経特異的遺伝子発現調節について. *日薬理誌* **93**: 203-218, 1989.
  19. Walker P, Grouzmann E, Burnier M, et al. The role of neuropeptide Y in cardiovascular regulation. *Trends Pharmacol Sci* **12**: 111-115, 1991.
  20. 樋口宗史. 神経ペプチド Y (NPY) の生理機能と遺伝子発現. *蛋白質核酸酵素* **42**: 812-824, 1997.
  21. Thompson RJ, Doran JF, Jackson P, Dhillon AP, Rode J. PGP 9.5--a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells. *Brain Res* **278**: 224-228, 1983.
  22. Snell RS. The histochemical appearances of cholinesterase in the parasympathetic nerves supplying the submandibular and sublingual salivary glands of the rat. *J Anat* **92**: 534-543, 1958.
  23. Yu GY, Zhu ZH, Mao C, Cai ZG, Zou LH, Lu L, Zhang L, Peng X, Li N, Huang Z. Microvascular autologous submandibular gland transfer in severe cases of keratoconjunctivitis sicca. *Int J Oral Maxillofac Surg* **33**: 235-239, 2004.
  24. Kugler P, Drenckhahn D. Intrinsic source of stomach NO. *Nature* **370**: 25-26, 1994.
  25. Norlén P1, Curry WJ, Björkqvist M, et al: Cunningham RT, Hogg RB, Harriott P, Johnston CF, Hutton JC, Håkanson R. Cell-specific processing of chromogranin A in endocrine cells of the rat stomach. *J Histochem Cytochem* **49**: 9-18, 2001.
-