

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔科学講座 平野 航 に
対する最終試験は、主査 森本 佳成 教授、副査 武藤 徳子 准教授、
副査 鈴木 健司 講師により、論文内容ならびに関連事項につき口頭試問を
もって行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 森 本 佳 成 教 授

副 査 武 藤 徳 子 准 教 授

副 査 鈴 木 健 司 講 師

論文審査要旨

神経線維束中の神経細胞とラット顎下神経節の
免疫組織化学的研究

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学講座 平野 航

(指導：高橋 理 教授)

主査 森本 佳成 教授

副査 武藤 徳子 准教授

副査 鈴木 健司 講師

論文審査要旨

学位申請論文である「神経線維束中の神経細胞とラット顎下神経節の免疫組織化学的研究」は、顎下神経節と顎下神経節の近傍に位置する神経線維束中の神経細胞について超微形態学的な解析と免疫組織化学的な検索を行い、比較検討した論文である。

過去の研究から、顎下神経節は顎下腺や舌下腺に対する副交感神経節と考えられている。免疫組織化学的研究では calcitonin gene-related peptide、substance P、vasoactive intestinal polypeptide (VIP)、neuropeptide-Y (NPY)、enkephalin、5-hydroxytryptamine (5-HT、serotonin) 等の神経活性物質の存在が明らかとなっているが、その詳細な構造や神経活性物質の局在についての研究は少ない。これまでに申請者らのグループは、ラットの顎下神経節における VIP、NPY や 5-HT 等の神経活性物質について免疫組織化学的に検索してきた。併せて光学及び電子顕微鏡にて顎下神経節の超微構造について観察を行い、顎下神経節における VIP と NPY の機能的局在を報告してきた。また同時に顎下神経節近傍の神経線維束にみられる神経細胞を確認した。そこで本研究は、顎下神経節と顎下神経節の近傍に位置する神経線維束中の神経細胞について超微形態学的な解析と免疫組織化学的な局在を明らかにする目的で行われており、研究目的は明確で高く評価できる。

研究方法の概略は以下のとおりである。

実験には雄の Wistar 系ラットを用い、顎下腺および周囲組織を摘出し、グルタールアルデヒドとオスミウム酸を用いて固定後に樹脂包埋し、連続切片を作製後、トルイジンブルーを用いて染色して光学顕微鏡にて観察した。同様の固定・包埋方法で超薄切片を作製し、電子顕微鏡にて観察した。また VIP、NPY、5-HT、protein gene product 9.5 (PGP9.5) に対する免疫染色(二重標識法)を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。以上の研究方法は妥当であると判断される。

なお、本研究は神奈川歯科大学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ており、倫理的な問題はないと判断される。

結果として、

顎下神経節の外に位置する神経細胞は主導管に沿って分布していた。細胞の形状は多角形でその先端が周囲に突出しており、細胞の形状は顎下神経節とは異なるものの、細胞体、及び外套細胞の微細形態学的な特徴は顎下神経節のそれと同様であった。また顎下神経節近傍にみられる細胞体の多くは VIP 免疫陽性で、NPY 免疫陽性細胞はごく少数であった。またその VIP 免疫陽性細胞は主導管周囲に多数が観察された。以上の結果は、適切な方法により導き出された明快な結果であり、顎下腺主導管の近傍に多く観察される VIP 免疫陽性細胞は、主導管の分泌、吸収などの細胞機能を制御している可能性が示唆された点は重要である。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して、以下の口頭試問を行った。

1. 本研究結果が示す新知見について、顎下神経節では VIP は非常に少なく NPY が多いのに対し、神経線維束中の神経細胞は VIP が多いことが明確になり、これら神経細胞は顎下神経節とは性質が異なっていることが判明したとの回答が得られた。
2. 研究方法について、組織の固定方法が明確には記載されていない部分があり、還流固定を用いたことが回答された。
3. 図 4b、図 6b の写真で、神経線維が分かりにくいことから、その局在を明示していただいた。
4. 図 2 の模式図で、切片の切り方および「・」の表記方法について、連続切片を重ね合わせ、全ての NPY および VIP 陽性細胞を平面的に表記した図であるとの回答であった。また、この模式図を作成するために、完全に連続切片が作成できた 2 個体 4 個の顎下腺を使用したとの回答であった。
5. Table 1 の「+」「±」「-」の判断基準については、組織中の免疫染色された範囲で分類されていることが回答された。
6. 本文中において、「近年」等の表現で古い文献を引用しているので、文章を適切に修正することをお願いした。

以上、いずれの質問についても十分な回答が得られることを確認した。さらに顎下神経節と周辺の神経線維束中の神経細胞における神経活性物質の局在の新しい知見は、唾液分泌機構の制御において、顎下神経節と神経線維束中の神経細胞の相互補完関係の可能性を示唆し、今後の歯科医学および唾液分泌制御の研究の発展につながるとの結論に至った。そこで、本審査委員会は申請者の博士論文が博士（臨床歯学）の学位に十分に値するものと認めた。