

洞毛の感覚神経終末： 共焦点レーザー顕微鏡の応用

榎原 智美, 熊本 賢三

^a 明治鍼灸大学鍼灸学部解剖学教室

キーワード：洞毛, 神経終末, 共焦点レーザー顕微鏡, 立体再構築,
機械受容器

1. はじめに

多くの哺乳動物の顔面鼻部隆起部 mystacial pad の皮膚には、太いヒゲが整然と生えている。これらのヒゲは、毛軸が一般の体毛の数倍も太く（ラットやネコで約 0.1-0.2mm 径）、基盤の目状に整然と配列し、毛根部に大きな静脈洞を持つため洞毛と呼ばれている（図 1）。洞毛の毛根は結合組織性の厚い被膜に包まれ、毛軸を包む毛包には、多種多様な感覚神経終末が密に分布している¹⁻³。因みにヒト男子の口ヒゲ mustache は、一般毛であって洞毛ではない。

洞毛の感覚終末で受容された刺激は、上顎神経、三叉神経節を経て、三叉神経核、視床、大脳皮質へと投射される。大脳皮質には、ヒゲの配列を反映した地図上に、洞毛と対応するバレルと呼ばれる神経細胞集団があり、ヒゲへの刺激と知覚投射路との厳密な対応関係を利用して、多くの研究が行われてきた⁴。一方、感覚受容部である毛根部の神経終末の構造は、透過型電子顕微鏡を用いて精力的に観察されてきたが、終末および神経線維が層をなして高密度に分布するため、個々の終末の正確な外観や、全体的な分布形態を把握することは容易ではなかった^{5,6}。

2. 共焦点レーザー顕微鏡の応用

レーザー照射型共焦点蛍光顕微鏡はこれまで、多重蛍光免疫組織化学標本を、高解像度で走査、描出し、注目物質の細胞内局在や共存を明解に検索できる、優れた装置として用いられることが主流であった。さらに我々は、この顕微鏡の 3 次元的な結像特性を重視し、複雑な洞毛の感覚神経終末の分布様式を明確に捉えることに成功した。すなわち、高倍率の対物レンズの動作距離 (WD) いっぱいの厚みで組織標本作製し (60 倍の対物レンズ (Nikon, E600) で、150~200 μm 厚)、共焦点顕微鏡 (BioRad, Radiance 2000) で可能な限り

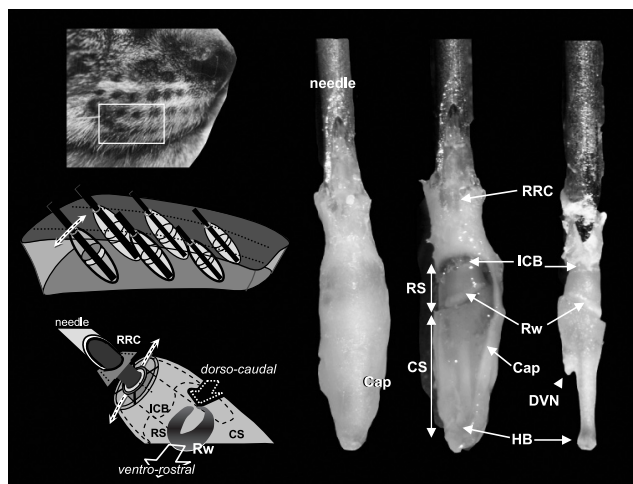


図 1 個々の洞毛の毛軸全周囲観察。毛軸は注射針 (needle) に糊付けする。Cap: カプセル, CS: 海綿静脈洞, DVN: 深洞毛神経, HB: 毛球, ICB: 内円錐体, RRC: 毛包口部, RS: 輪状静脈洞, Rw: 輪状塊

の多数枚の断層画像データを走査し、これらを、高機能の画像再構築解析ソフト (Volume Graphics, VGStudio Max) で処理して、洞毛の各神経終末の 3 次元構造を可視化し、立体構造を明瞭に理解できる手法を確立した^{3,7} (図 2)。

洞毛の神経要素を、神経マーカーである抗 PGP9.5 抗体やシュワン細胞を標識する抗 S100 抗体を主軸に用いて多重蛍光免疫組織化学を行い、綿密に立体構造を解析すると、各種神経終末の特徴的な構造だけでなく、それらに連なる神経線維の分岐状態まで明瞭に描出された³。さらに、洞毛 1 本を剖出し、毛軸を注射針の先端に挿入して糊付けし、共焦点顕微鏡下に、針を少しずつ回転させてスキャンを繰り返すことによって、毛軸周囲 360 度の神経分布像のモンタージュの作製にも成功した⁸ (図 1, 2a, b)。神経線維の分岐、走行パターンや、終末形態が如実に把握できるようになると、電子顕微鏡像と光学顕微鏡像とがより明確に関連づけられ、神経や神経終末の分布様式の解明は飛躍的に進歩した (図 2d, e)。

3. 神経終末とは

神経終末とは、ミエリン鞘を持たない神経線維の先端部分をいい、軸索終末とそれに密接する終末シュワン細胞などにより構成される。洞毛の毛包の神経終末は、感覚性と自律性のものが混在するが、自律性のものは複数の軸索が 1 つのシュワン細胞内に束ねられるのに対し、感覚性の終末は、どの軸索も単独のシュワン鞘で包まれる^{9,10}。なお、洞毛のカプセル周囲を包む立毛筋は骨格筋組織で、顔面神経由来の運動性神経線維は、被膜付近の筋線維上に運動終板を形成する。

4. 洞毛の感覚神経終末の多様性

洞毛の感覚性の神経終末は、形態的に大まかに 6 種類に分類できる^{3,10} (図 2, 3)。動物種や加齢によって特定終末の有無や分布様式に差が認められるが、ここでは、共通した基本

Satomi Ebara and Kenzo Kumamoto: Confocal microscopic analysis for sensory nerve endings in vibrissal follicles

^a 〒 629-0392 京都府船井郡日吉町保野田
TEL: 0771-72-1181; FAX: 0771-72-0326
E-mail: s_ebara@muom.meiji-u.ac.jp
2005 年 2 月 19 日受付

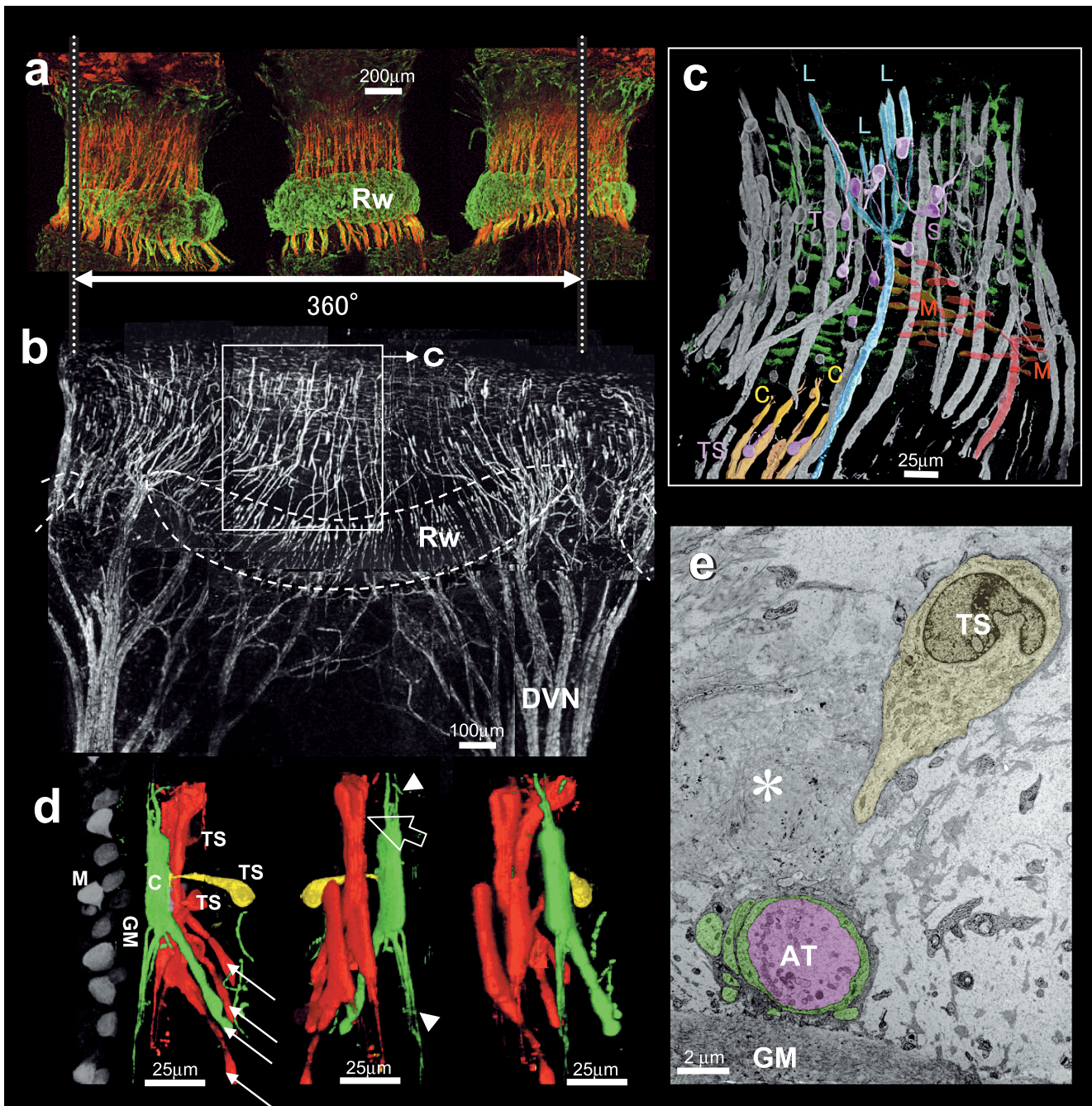


図2 a. 毛軸を約120度ずつ回転させて、輪状静脈洞領域を観察。輪状塊 (Rw) は、ドーナツ状に突出するが、偏在している。(赤:PGP9.5, 緑:S100), b. 毛軸周囲360度の神経分布のモニター。カプセル内に進入した神経線維束 (DVN) が分岐を繰り返しつつ、目的領域でそれぞれ終末する。点線:輪状塊, (PGP9.5), c. 図b中の四角枠に相当。輪状静脈洞の高さに分布する3種類の神経終末をトレースし、疑似カラーで表示。L:槍型終末, M:メルケル終末, C:棍棒状終末, TS:終末シュワン細胞, (PGP9.5+S100) (文献10より許可を得て転載), d. 棍棒状終末の立体再構築像の3アングル。4本の神経線維(矢印)から、厚い基底膜 (GM) に密接してそれぞれ1個の終末が形成される。うち1つを緑色で表示し、その終末シュワン細胞の細胞体を黄色で表示。図の中、および右のアングルでは、メルケル終末 (M) は画像上から消去してある。鏃:軸索終末の上下端から伸び出るシュワン鞘の突起, 中空矢印:微細な細胞質突起がしばしば観察される。(PGP9.5), e. 棍棒状終末の電顕像。終末シュワン細胞 (TS:黄) の突起は、軸索終末 (AT:桃) に達し、1~3層のシュワン鞘 (緑) を呈する。*:コラーゲン線維

的な所見を述べる。

①メルケル終末:軸索終末は表皮または外根鞘の基底層に分布する複数のメルケル細胞¹¹⁾と、個々に密接する円盤状の肥厚部を形成し、一連の円盤は細い突起で連携される³⁾(図2c)。メルケル終末は表皮と毛包の外根鞘に分布するものが

区別され、前者の円盤はメルケル細胞の基底膜側に、後者はメルケル細胞の角質層側に接触する¹²⁾。一部に、終末シュワン細胞が付属する⁸⁾。②槍型終末:毛軸に平行または、輪状に、直線的に細長く肥厚した、1~3本の軸索終末を有する。各軸索終末は、1~2個の終末シュワン細胞から細長く

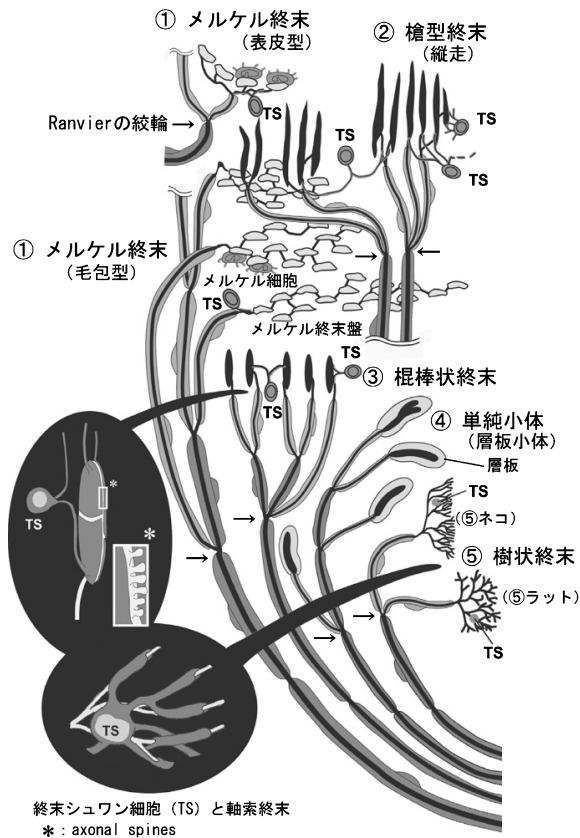


図3 洞毛に分布する主な感覚神経終末とそれを導く有髄線維の分岐状態を模式的に示した。この図においては、矢印で示される Ranvier の絞輪で最終的な活動電位が生じる。

のびたシュワン鞘に被覆される^{3,13)}。この細胞体は、しばしば軸索終末から少し離れた場所に存在する(図2)。③棍棒状終末：槍型終末の亜型と考えられるが、洞毛特有の輪状塊と呼ばれる構造物の基部に配列し、ミエリン鞘を失ったのち軸索終末は分岐せず、毛軸に沿って短い棍棒状の肥厚部を呈する³⁾。輪状塊は静脈洞内の血圧変化や、毛軸の動きに応じて動くと考えられる。棍棒状終末の共焦点画像と電子顕微鏡像(図2d, e)からは、軸索終末を被覆するシュワン鞘は、シュワン細胞の細胞体と連続し、終末の上下端でヒゲ状の突起を伸ばすことがわかる。シュワン細胞が軸索終末を単に被覆保護するのみでなく、洞毛のような動きのある組織の中で、感覚受容部位を定位置に保持することが示唆される¹³⁾。④樹状終末：軸索終末は分岐を繰り返す、外根鞘の基底膜に添って平面的に広がるか(ラットやマウスなど)、垂直に軸索を突き立てるようにして(ネコ)分布する^{3,7)}。終末シュワン細胞の多数の突起は各軸索終末を個々に被覆しており、その形態は、真皮に分布するルフィニ終末に類似するが、全体を包む被膜を欠いている(図3)。⑤単純小体：軸索終末はたいてい短く肥厚し、その周囲を層板状の細胞質突起が包み、層板小体とも呼ばれる。この小体は構造的に真皮や皮下組織に分布するパチニ小体と類似するが、外棍を持たない^{3,10)}。⑥自由神経終末：一層のシュワン鞘に包まれた細い有節性線維で、不規則に分岐しつつ、比較的長い距離を自由に走行する。

5. 感覚神経終末の生理学的反応特性へのアプローチ

有髄線維はたいてい、分岐を繰り返してのちに終末する。1本の基幹有髄線維は、1種類だが複数の神経終末を担う。個々の神経終末は、その形態に応じて特定の刺激に反応し、生じる特有の受容器電位が、有髄線維がミエリン鞘を失う地点に活動電位を引き起こす。それらはさらに、最終的に基幹有髄線維の基部の Ranvier の絞輪で総括され、時間軸を持つ特徴的な神経スパイクとして神経線維を伝導する(図3)。このパターンにより、終末①および⑤は遅順応性の、②、③および④は即順応性の機械受容器(mechanoreceptors)として分類されているが⁹⁾、終末ごとに異なる反応特性を裏付けるためには、各種神経終末から基幹線維までの、より詳細な構造解析が必要である。

6. 機械受容器としての感覚神経終末

機械受容器は“動き”を感受する。洞毛内に分布する特殊な形態を有する感覚終末(①~⑤)は、すべて機械受容器と考えられる。これらに共通する形態は何か。我々も、Munger and Ide (1988) が提唱したように axonal spines が機械的刺激を電気的興奮に変換させる機構に重要な意義を持つと考える^{5,9,10)}。Axonal spines は、軸索終末からシュワン鞘の間隙を縫って突出する微細な細胞質突起であり(図3)、洞毛に分布するすべての機械受容器(メルケル終末を除く)には電顕的にこの存在が確認された(未発表)。一方、メルケル細胞は、メルケル終末盤と密接するとともに、細胞質突起を上皮細胞内に陥入させていることは興味深い¹⁰⁻¹²⁾。

7. 今後の展望

これまでに、洞毛における神経終末の分布の概略をほぼ把握することが出来た。共焦点顕微鏡による神経要素の立体構造解析後、同一標本を用いて軸索終末と周囲細胞および間質の超微細形態を検索する手法をさらに取り入れて、感覚神経終末の可塑性や、皮膚組織損傷後の神経終末再生の過程を、形態的に解明したいと考えている。

文 献

- 1) Vincent, S.B.: *J. Comp. Neurol.*, 23, 1-36 (1913)
- 2) Rice, F.L., Kinnman, E., Aldskogius, H., Johansson, O. and Arvidsson, J.: *J. Comp. Neurol.*, 337, 366-385 (1993)
- 3) Ebara, S., Kumamoto, K., Matsuura, T., Mazurkiewicz, J. and Rice, F.: *J. Comp. Neurol.*, 449, 103-119 (2002)
- 4) Welker, C.: *J. Comp. Neurol.*, 166, 173-189 (1976)
- 5) Munger, B.L. and Ide, C.: *Arch. Histol. Cytol.*, 51, 1-34 (1988)
- 6) Rice, F.L., Mance, A. and Munger, B.L.: *J. Comp. Neurol.*, 252, 154-174 (1986)
- 7) 榎原智美: *ミクروسコピア*, 19, 307-310 (2002)
- 8) Ebara, S., Kumamoto, K. and Rice, F.L.: *The Merkel cell*, (ed. by Baumann, K.I., Halata, Z., Moll, I.), Springer, Berlin and Heidelberg, Ch. 21, 133-136 (2003)
- 9) 佐野 豊: *神経科学 形態学的基础*, I ニューロンとグリア, 神経終末とシナプス, 金芳堂, 京都, 249-558 (1995)
- 10) 熊本賢三, 榎原智美: *脳の科学*, 25, 885-892 (2003)
- 11) Tachibana, T.: *Arch. Histol. Cytol.*, 58, 379-396 (1995)
- 12) Halata, Z., Grim, M. and Baumann, K.: *Anatomical Rec. Part A.*, 271A, 225-239 (2003)
- 13) Takahashi-Iwanaga, H.: *J. Comp. Neurol.*, 426, 259-269 (1993)