

## 論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏名	篠崎 義雄
<p>論文審査担当者 主査 整形外科 中村 雅也            解剖学 仲嶋 一範 内科学 中原 仁            生理学 岡野 栄之</p> <p>学力確認担当者：岡野 栄之 審査委員長：仲嶋 一範            試問日：2019年 6月 7日</p>				
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>論文題名：Structural and functional identification of two distinct inspiratory neuronal populations at the level of the phrenic nucleus in the rat cervical spinal cord            (ラット頸髄横隔神経核レベルにおける2つの異なる呼吸神経核の形態学的機能的同定)</p> <p>新生ラット摘出脳幹脊髓標本の頸髄横断面・腹側表面の吸索性神経活動を膜電位感受性色素を用いた膜電位イメージング法で動画像として解析し、脊髓前角の中心と内側に脱分極領域を認め、解剖学的にそれぞれ横隔・斜角筋神経核と同定するとともに、近接する介在ニューロンやアストロサイトが吸索性神経活動形成に関与する可能性を示した。</p> <p>審査ではまず横隔・斜角筋神経核の局在について、Choline acetyl transferase (ChAT) 陽性細胞と、末梢の横隔神経・斜角筋に注入した逆行性標識色素DiIで染色された細胞が一致するかを問われ、ChAT陽性細胞の一部がDiIで同定された横隔・斜角筋運動ニューロンであると考えられたが、今後ChAT以外のマーカーやChAT-DiI二重染色による詳細な解析を行っていく旨を回答された。またDiIが斜角筋に正確に注入できたかを問われ、不完全例もあったが、確実に注入された例のみを検討したと回答された。またイメージング解析において吸索性神経活動に伴う脱分極信号が横隔・斜角筋神経核から出現した確証がないことを問われ、脱分極信号は解剖学的に同定された両神経核よりも広範囲の領域で計測され、またその減衰は緩徐であったことより、脱分極信号には運動ニューロンに加え、介在ニューロンや、アストロサイトの活動も含まれている可能性があるかと回答された。この点について個々の細胞の活動をより正確に計測すべくカルシウムイメージング解析が必要と指摘され、今後の検討課題と回答された。またCO<sub>2</sub>濃度が脱分極波形に影響しなかった点について灌流液のpH測定の有無を問われ、今後は灌流液のpHモニタリングを行う旨を回答された。さらに膜電位感受性色素の使い分けを問われ、通常はDi-4-ANEPPSを使用するが、脊髓腹側標本では軟膜を通過させるため深部染色に適したDi-2-ANEPEQを使用したと回答された。さらに横断標本で断面の脱分極信号よりC4前根活動が先行する理由を問われ、吸引電極でC4前根活動を計測したが、イメージング面はC4より尾側でありC4前根活動が先行したと回答された。また近接する各細胞が互いに関連する確証がないことを指摘され、アストロサイトの吸索性神経活動への関連を問われた。今後の検討課題であるが、アストロサイトは運動ニューロンと同時に興奮し、グリア伝達物質としてグルタミン酸、ATPやD-Serineなどを放出することや、monocarboxylate transporters (MCTs) を介したニューロン-アストロサイト代謝共役により、吸索性ニューロンの活動性を制御すると推察されると回答された。</p> <p>以上、本研究はさらに検討すべき課題が残っているが、斜角筋神経核の局在を初めて同定し、吸索性神経活動における横隔・斜角筋神経核の時空間動態を解明できた点で有意義な研究と評価された。</p>				