カエル前庭神経節における受容器線維の空間的分布様式

平 岡 郁 子

広島大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：夜陣紘治教授）

PHYSIOLOGICAL AND ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF THE VESTIBULAR GANGLION OF THE BULL FROG

IKUKO HIRAOKA, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima

Spatial distributions of the vestibular nerve fibers from end organs to the vestibular ganglion (VG) were studied using physiological and anatomical methods. Physiologically, ampullary nerve compound action potentials (AP) were recorded from VG. Anatomically, HRP (horseradish peroxidase) was injected into the cut end of the ampullary nerve, and the stained neural elements were counted on serial sections.

Nerve fibers from the anterior semicircular canal (SC) were distributed in the anterior half of the VG. The horizontal SC nerves were also distributed in the anterior half of the VG, but tended to be posterior. The posterior SC nerves were found predominantly in the posterior half and the antero-dorsal portions of the VG. These distribution patterns corresponded well to those confirmed by recording of AP.

Furthermore, neural connections were found between the superior and the inferior vestibular nerves, suggesting receptor-receptor fibers. The majority of these fibers were small in diameter.

Key words: 前庭神経節, HRP, 半規管活動電位

A 97—0494—25010

緒 言

前庭神経の求心性成分は、末梢前庭感覚上皮と脳幹の前庭神経核を連絡する双極性の神経細胞であり、その細胞体は内耳道内で神経節（前庭神経節, Scarpa's ganglion）を形成する。カエルの前庭神経は上前庭神経と下前庭神経よりなり、前者は外側半規管、前半規管、卵形囊、球形囊を、後者は後半規管とラゲナを支配することがわかっている¹⁾²⁾。しかし前庭神経節内の神経の走行³⁾⁴⁾や構成の詳細⁵⁾⁶⁾、上下前庭神経間の連絡や各前庭神経求心性成分と遠心性成分との連絡^{7)~10)}などいまだ解明されるべき点が多い。

本研究では、各受容器を刺激して得られる活動電位の分布と、形態学的前庭神経の走行様式を比較検討した。これにより前庭神経節内の神経分布ならびに各

末梢前庭受容器間の神経連絡についていくつかの所見を得たので考察を加えて報告する。

研究 方法

実験 1：生理学的研究

実験には体重 130g 前後のウシガエル（*Rana Catesbeiana*）5 匹を使用した。

ウシガエルをエーテル深麻酔下に断頭後、カエルリンゲル液内で口蓋側より迷路を前庭神経とともに一塊として摘出した¹⁾。球形囊神経、卵形囊神経、ラゲナ神経は切断し、これらの末梢前庭器からの影響を除去した。半規管の刺激は、半規管脚部より挿入した微細ポリエチレンチューブから機械的内リンパ流動を与えることにより行った（図 1）。内リンパ流動の大きさは、

図1 生理学的実験のブロックダイアグラム
膜迷路内へ挿入した微細ポリエチレンチューブから機械的内リンパ流動を与え、4分割した神経束より活動電位を記録した。

avc：前半規管
hc：外側半規管
pvc：後半規管
VG：前庭神経節

図2 形態学的実験の切断レベル

レベルA：上下の前庭神経分岐部と受容器の中間レベル

レベルB：上下の前庭神経分岐部

レベルC：前庭神経節のやや末梢側

レベルD：前庭神経節のやや中枢側

レベルE：顔面神経分岐部より中枢側

hsc：外側半規管

asc：前半規管

psc：後半規管

約0.03μl，刺激時間は10秒とした⁸⁾。

前庭神経は前庭神経節のレベルで切断し，さらに切断端を前背側部，前腹側部，後背側部，後腹側部の4つに分割した(図4参照)。これら4つの各神経束をガラス電極で吸引し，各半規管の刺激により惹起される活動電位を記録して生理学的な受容器マッピングを行った。

実験2：組織学的研究

実験には体重130g前後のウシガエル(Rana Catesbeiana)12匹を使用した。ウシガエルはエーテルにて深麻酔後，口蓋粘膜を開き骨迷路を開放した。各半規管からの膨大部神経を露出し，それぞれを選択的に切断し，前半規管膨大部神経処置群，外側半規管膨大部神経処置群，後半規管膨大部神経処置群とした。切断端には10% horseradish peroxidase (Sigma type VI，以下 HRP と略す)を浸したジェルフォーム片を留置した。動物は処置後2日ないし3日間生存させた後，エーテル深麻酔下に断頭し，経口蓋的に迷路を再開放して，前庭神経および各半規管を摘出した。摘出した試料は2.5%グルタルアルデヒド，2.5%パラホルムアルデヒド等量混液，(0.1M 磷酸緩衝，pH7.4)に

図3 生理学的実験で得られた活動電位のスパイク密度ヒストグラム
後半規管を刺激して前庭神経節の後腹側部から得られた活動電位

て2時間固定後，0.05%ジアミノベンチジン(DAB)(0.05M トリス緩衝，pH7.6)液に3時間浸透させ，0.015%過酸化水素水にて37°Cで30分間発色させた。試料はトリス緩衝にて洗浄後エタノール系列にて脱水

図4 前庭神経節レベルでの生理学的マッピング

前半規管，外側半規管，後半規管それぞれを刺激して，4分割した各神経束から活動電位を記録した。活動電位の得られた標本数を黒点で示した。

a：前方（頭側） p：後方（尾側）

v：腹側 d：背側

A：前半規管を刺激して得られた活動電位

L：外側半規管を刺激して得られた活動電位

P：後半規管を刺激して得られた活動電位

前半規管と外側半規管を刺激して得られる活動電位は前庭神経節の前半部で観察され，後半規管を刺激して得られる活動電位は前庭神経節の後半部および前背側部で観察された。

し，水溶性包埋剤(Polysciences 社製，JB4®)にて包埋した。ついで，5μmの厚さの連続切片を作製し，トルイジン青にて対比染色を行った。

HRP 陽性細胞および神経線維の観察は，上下の前庭神経分岐部と受容器の中間レベル(レベルA)，上下の前庭神経分岐部(レベルB)，前庭神経節のやや末梢側(レベルC)，前庭神経節のやや中枢側(レベルD)，顔面神経分岐部より中枢側(レベルE)の各レベルにおいて，光学顕微鏡下に行った(図2)。また，半規管膨大部稜についても同様の手法にて厚さ5μmの連続切片試料を作製し，光学顕微鏡下に観察を行った。

結 果

実験1：生理学的研究

各々の半規管を機械的リンパ流動にて刺激すると，前庭神経の一定の区分から刺激に応じた活動電位が得られた。図3は，後半規管刺激で惹起された活動電位のスパイクヒストグラムの1例である。

それぞれの半規管刺激で活動電位の得られた preparation 数を，4つの神経区分について表したものが図4である。すなわち前半規管を刺激した際，その活動電位は前庭神経節の前半部で記録され，外側半規管を刺激した際にも，その活動電位は前庭神経節の前半部で記録された。後半規管を刺激した際には，その活動電位は前庭神経節の後半部で主として記録された

が，一部は前背側部でも記録された。

実験2：組織学的研究

各半規管膨大部神経に HRP を作用させると，HRP の移行した神経細胞は褐色に染まり，HRP の移行した神経線維も同様に褐色に染まって観察された(図5)。

5μm以上の太い神経線維の多くは前庭神経の背側部に認められた。外側半規管と前半規管に HRP を作用させた際，大型の神経線維のほとんどは前庭神経の前背側部に認められた。後半規管に HRP を作用させた際は，大型の神経線維の多くは前庭神経の後背側部から前背側部に観察された(図6)。

連続切片の観察により，各半規管からの神経線維の走行状態が明らかになった。前半規管膨大部神経に HRP を作用させると，HRP 陽性神経線維および神経細胞は，レベルA，Bでは上前庭神経の前半部に認められ，レベルC，D，Eでは前庭神経の前半部に認められた(図7)。

外側半規管膨大部神経に HRP を作用させると，HRP 陽性神経線維および神経細胞は，レベルA，Bでは上前庭神経の中心部に観察され，レベルC，D，Eでは前庭神経の前半部に観察された(図7)。なお，上前庭神経および前庭神経節において，外側半規管からの神経線維は前半規管からの神経線維よりもやや外側を走行する傾向があった。

図7 HRP陽性神経線維および神経節細胞の分布様式

各半規管膨大部神経に HRP を作用させた際の、HRP 陽性神経線維および神経節細胞の位置をシェーマ化したもので、小さい黒点が神経線維、大きい黒点が神経節細胞を示している。

a : 前方 (頭側) p : 後方 (尾側)

v : 腹側 d : 背側

S : 上前庭神経 I : 下前庭神経

asc : 前半規管を処置したもの

hsc : 外側半規管を処置したもの

psc : 後半規管を処置したもの

後半規管膨大部神経に HRP を作用させると、HRP 陽性神経線維および神経細胞は、レベル A, B では下前庭神経の全体に認められ、レベル C, D, E では前庭神経の後半部に主に認められたが、一部前背側部でも観察された (図 7)。

これらの所見に加えて、前半規管膨大部神経に HRP を作用させたものでは、下前庭神経に HRP 陽性の小型神経細胞、および小径の神経線維が認められた。またさらにその末梢、すなわち後半規管膨大部神経およびラゲナ神経に、小型の HRP 陽性神経細胞および

小径の神経線維が認められた。外側半規管膨大部神経に HRP を作用させたものでも同様に、下前庭神経に小型の HRP 陽性神経細胞および小径の神経線維が観察された (図 7)。後半規管膨大部神経に HRP を作用させたものでは、上前庭神経に HRP 陽性の小型の神経細胞および小径の神経線維が存在していた。これらの神経線維の直径は平均約 $0.5\mu\text{m}$ であった。また後半規管膨大部神経に HRP を作用させたものでは、前半規管感覚細胞直下に HRP 陽性の神経終末と考えられる部分が認められた (図 8)。

考 察

1. 各半規管からの神経線維の走行について

末梢前庭器から脳幹までの神経線維の走行様式については、諸家の報告に差がみられ、いまだ明らかではない。Sando³⁾や Lorente de N6⁴⁾は、各受容器からの神経線維(束)は脳幹まで個々の束を形成して走行しており、これらの神経線維束は容易に区別できている。一方、Gacek¹¹⁾は、外側半規管からの大径の神経線維と前半規管からの大径神経線維は脳幹に入る前に合流し、以後は区別できない一つの神経線維束となって走行するとしている。

今回の活動電位によるマッピングから、前および外側半規管からの神経線維は前庭神経節の前半部を走行することを、また後半規管からの神経線維は前庭神経節の後半部および前背側部を走行することが明らかになった。この結果、前庭神経節の前背側部において、後半規管からの神経線維と前半規管および外側半規管からの神経線維とが一部混在して走行していることがわかった。

HRPを用いた実験の結果では、前半規管と外側半規管からの神経線維は共に前庭神経節の前半部を走行していた。なお、外側半規管からの神経線維の方がより後方を走行する傾向が認められたので、前庭神経節前半部を走行する前半規管神経と外側半規管神経の分布にはある程度の領域の差があるものと考えられた。一方、後半規管からの神経線維の大部分は前庭神経節の後半部を走行しており、一部が前背側部を走行していた。つまり前庭神経節の前背側部では、後半規管からの神経線維の一部と前半規管および外側半規管からの神経線維とが混在して走行するという結果であり、活動電位から得られた結果を形態学的に裏付けるものとなった。

Honrubia¹²⁾らは、カエルの前庭神経の連続切片を作製し、神経線維の直径をコンピューター解析する方法で、各半規管からの直径5μm以上の太い神経線維は一塊となって前庭神経の背側部を走行することを示した。HRPによる今回の結果から、前半規管からの大径の神経線維と外側半規管からの大径の神経線維は共に前庭神経節の前背側部を走行していた。また、後半規管からの大径の神経線維は後背側部を走行しており、Honrubia¹²⁾らの結果と一致するものと考えられた。

鈴木ら⁸⁾は、カエルの前庭神経を前庭神経節の中核側で6分割し、各半規管を刺激することで得られる活

動電位を記録した。その結果、各半規管からの神経線維は脳幹に入る直前まである程度一定の分布を示すことを報告している。本研究で得られたHRP陽性の神経線維の分布も鈴木らの活動電位のマッピングとほぼ一致していた。

2. receptor-receptor fiber について

Caston (1970)¹³⁾が外側半規管と同側の卵形囊間の抑制性の線維連絡を報告して以来、前半規管と同側外側半規管間の線維連絡⁷⁾、前半規管と同側後半規管間の連絡⁹⁾を示唆する生理学的報告がなされ、receptor-receptor fiber として知られるに至った。さらに、receptor-receptor fiber は、主に抑制性の作用を有し、末梢前庭器からの活動電位が前庭神経節を通過することで発火頻度が減少することから、前庭神経節を通じて前庭入力を調節する作用をもつことが示唆されている¹⁰⁾。

本研究において、前半規管膨大部神経と外側半規管膨大部神経を処置した動物で下前庭神経にHRP陽性神経線維および神経細胞が観察された。また、後半規管を処置した動物では、上前庭神経にHRP陽性神経線維および神経細胞が観察された。これらは前半規管と後半規管、外側半規管と後半規管間の連絡をする神経線維すなわち、receptor-receptor fiber の存在を示

図9 receptor-receptor fiber の連絡様式

HSC: 外側半規管 VG: 前庭神経節
PSV: 後半規管 BS: 脳幹

A: 前庭神経節に存在する神経細胞体から脳幹へ軸索を伸ばし、さらに樹状突起を2つの半規管へ伸ばす様式

B: 前庭神経節に存在する神経細胞体から各半規管へ軸索ないし樹状突起を伸ばす連絡様式

(× 400)

図5 HRP陽性神経節細胞および神経線維
HRP陽性の神経線維と神経節細胞が褐色に染まっており(矢印),
HRP陰性の神経線維, 神経節細胞と区別される.

(× 200)

図8 光学顕微鏡下の組織像
末梢感覚上皮
後半規管膨大部神経にHRPを作用させたもので, 前半規管の
感覚上皮下にHRP陽性の神経(矢印)が見られる.

(×100)

図6 光学顕微鏡下の組織像

後半規管膨大部神経にHRPを作動させた際の前庭神経節レベルでの切片で、HRP陽性の神経節細胞および神経線維が神経節の後半部および前背側部に分布している。

a : 前方 (頭側) p : 後方 (尾側) v : 腹側 d : 背側 f : 顔面神経

唆する所見と思われる。このように上下前庭神経間で HRP 陽性神経線維が認められる機序について以下考察する。トレーサーとして用いた HRP は軸索内を逆行性および順行性に移動し、シナプスを越えては移動しないことから、観察された receptor-receptor fiber は前庭神経節に存在する神経細胞体から、脳幹へ軸索を伸ばし、さらに樹状突起を2つの半規管へ伸ばす連絡様式(図9-A)か、あるいは前庭神経節に存在する神経細胞体から、各半規管へ軸索ないし樹状突起をのばす連絡様式(図9-B)が考えられる。

Bovero¹⁴⁾ は、ヒトを含む哺乳類の前庭神経節に多極のニューロン(神経細胞)が存在することを報告した。Chat and Sans⁵⁾ は、ネコの前庭神経節に3極ないし4極のニューロンが存在し、これらのニューロンが各末梢前庭受容器の間を連絡している receptor-receptor fiber である可能性を示唆している。このように、本研究において存在の示唆される receptor-receptor fiber は、前庭神経節に神経細胞体を有する双極あるいは多極のニューロンである可能性がある。

Honrubia ら¹²⁾ は生理学的に同定された前半規管からの求心性線維に HRP による細胞内標識を行ったが、各前庭器間の線維連絡は発見できなかったとしている。これは receptor-receptor fiber は神経全体の中では非常に数が少なく、彼らの実験で注入した神経細胞の数が少なかったことと、また彼ら自身も指摘しているように、1.2 μ m より小さい直径の神経線維にマイクロシリンジを用いて細胞内注入することは技術的に困難であったことが考えられる。本研究で示した receptor-receptor fiber は非常に細く、直径が平均約0.5 μ m であることから Honrubia らの実験では染まらなかったものと推察された。

一方、本研究で用いた HRP は逆行性および順行性に軸索内を移動するため、HRP 陽性となった神経線維がすべて求心性の神経線維というわけではなく、遠心性の神経線維も陽性に染まっていると考えられる。過去の報告では、遠心性前庭神経線維のほとんどが抑制性に作用し¹⁵⁾、一部に興奮性作用を有する神経線維も存在する¹⁶⁾¹⁷⁾。これらの神経線維は同側及び反対側の前庭神経核より発し前庭感覚細胞に分布するか、あるいは求心性神経線維の神経終末に分布するとされている¹²⁾。本研究で観察した受容器間を連絡する神経線維が遠心性の神経線維である可能性もある。

生理学的研究によると、前半規管膨大部神経のうち、6-8%を receptor-receptor fiber が占めるとされ、

このうち特に前半規管と外側半規管を連絡する神経線維が多いという⁷⁾。本研究では、前半規管からの神経線維がすべて染まったわけではなく、定量的なことは述べられないが、中型のウシガエルのは前半規管膨大部神経線維の数は約1,200であり¹²⁾、そのうちの6-8%が receptor-receptor fiber であるとすれば、その数は80前後である。このうちの大部分が外側半規管に行くとすれば、本研究で得られた前半規管と後半規管の間を連絡する神経線維の数が10前後であったことは妥当な結果と思われる。

前庭神経節細胞は、従来大細胞と小細胞の2つのタイプに分類されていたが¹⁸⁾¹⁹⁾、近年、電子顕微鏡や免疫組織学的手法を用いてより詳細な分類とそれぞれの細胞の機能の検討が行われている²⁰⁾²¹⁾。本研究では、小型の HRP 陽性神経細胞が観察されたが、その内部構造は HRP によって濃染しており、詳細な観察は困難であった。今後 receptor-receptor fiber の電子顕微鏡や免疫組織学的検討も必要であると考えられる。

ま と め

カエル前庭神経を用い各末梢前庭受容器からの神経線維の走行様式を観察し以下の結果を得た。

- 1) 前半規管からの神経線維は、前庭神経節の前半部に分布していた。
- 2) 外側半規管からの神経線維は前庭神経節の前半部に分布し、前半規管からの神経線維よりやや後方に分布していた。
- 3) 後半規管からの神経線維は、前庭神経節の後半部と前背側部に分布していた。
- 4) これらの分布は生理学的な分布様式と一致していた。
- 5) 各半規管の間を連絡する receptor-receptor fiber の存在を組織学的に示唆する結果を得た。

参 考 文 献

- 1) Hillman DE: Light and electron microscopical study of the relationships between the cerebellum and the vestibular organ of the frog. *Exp Brain Res* 9: 1-15, 1969.
- 2) Hillman DE: Morphology of peripheral and central vestibular system in Llinas R, Precht W (ed) *Frog Neurobiology*. Springer, Heidelberg, 1976, pp 452-480.
- 3) Sando I, Black FO, Hemenway WG: Spatial distribution of vestibular nerve in internal auditory

- canal. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 81: 305-314, 1972.
- 4) Lorente de No': Anatomy of the eighth nerve. The central projection of the nerve endings of the internal ear. *Laryngoscope* 43: 1-33, 1933.
 - 5) Chat M, Sans A: Multipolar neurons in the cat vestibular ganglion. *Neuroscience* 4: 651-657, 1979.
 - 6) Spassova I: Fine Structure of the Neurons and Synapses of the Vestibular Ganglion of the cat. *J Hirnforsch* 23: 657-669, 1982.
 - 7) Gribenski A, Caston J: Fibers projection onto the crista ampullaris of the vertical anterior semicircular canal from other ipsilateral vestibular receptors in the frog (*Rana esculenta*). *Pflügers Arch* 349: 257-265, 1974.
 - 8) 鈴木 衛, 原田康夫: 前庭神経節の生理的機能. 前庭神経節細胞と前庭神経炎, 1988, pp 47-53.
 - 9) Caston J, Gribenski A: Influence of the saccul, lagenae and vertical posterior canal on the ipsilateral horizontal and vertical anterior canal in *Rana esculenta*: role of receptor-receptor fibers. *Pflügers Arch* 372: 139-143, 1977.
 - 10) Caston J, Gribenski A: Are interrelations between vestibular receptors mediated by Scarpa's ganglion? An electrophysiological study in the frog. *Acta Otolaryngol* 95: 227-233, 1983.
 - 11) Gacek RR: The Anatomical-physiological basis for vestibular function in nystagmus and vertigo, Honrubia V (ed) Academic Press, New York, NY, 1982, pp 3-23.
 - 12) Honrubia V, Sitko S, Lee R et al: Anatomical characteristics of the anterior vestibular nerve of the bullfrog. *Laryngoscope* 94: 464-474, 1984.
 - 13) Caston J: Influence de l'utricule et de l'activité vestibulaire éfferente sur l'activité afférente spontanée des nerfs du canal horizontal et du canal vertical antérieur chez la grenouille. *J Physiol* 62: 407-420, 1970.
 - 14) Bovero A: Sulla fine struttura e sulle connessioni del ganglio vestibolare del nervo acustico. *Memorie R Accad Sci Torino (Serie II)* 64, 10: 1-37, 1914.
 - 15) Sala O: Modification of the vestibular nerve activity by stimulation of the efferent vestibular system. *Experimentia* 19: 39, 1963.
 - 16) Hartmann R, Klinke R: Efferent activity in the goldfish vestibular nerve and its influence on afferent activity. *Pflügers Arch* 388: 123-128, 1980.
 - 17) Gribenski A, Caston A: Tonic influence of the afferent vestibular system on the spontaneous afferent activity from semicircular canals in the frog (*Rana esculenta*). *Exp Brain Res* 26: 275-283, 1976.
 - 18) Ballantyne J, Engström H: Morphology of the vestibular ganglion cells. *J Laryngol Otol* 83: 19-42, 1969.
 - 19) Richter E, Spoendlin H: Scarpa's Ganglion in the cat: *Acta Otolaryngol* 92: 423-431, 1981.
 - 20) 大上研二, 関谷 透: ラット前庭神経節細胞の形態学的分類. *Otol Jpn* 2: 364-368, 1992.
 - 21) Usami S, Hozawa J, Jin H et al: Localization of substance P-like immunoreactivity in guinea pig vestibular endorgans and the vestibular ganglion. *Brain Res* 555: 153-158, 1991.
-
- 稿を終えるにあたりご指導ご校閲を賜りました恩師
原田康夫広島大学学長に深甚なる感謝の意を表し、ご助言
いただいた夜陣紘治教授、鈴木 衛助教授、田頭宣治先生に
心から感謝いたします。
- なお、本論文の要旨は第94回日本耳鼻咽喉科学会総会
(1993) において発表した。
-
- (1993年12月10日受稿 1994年2月3日受理 急載)
別刷請求先 〒734 広島市南区霞1-2-3
広島大学医学部耳鼻咽喉科学教室 平岡郁子