

学 位 論 文 の 要 旨	
氏 名	Nurdiyana Ahmad Denil
学位論文題目	Taste and somatosensory neurons in sea catfish, <i>Plotosus japonicus</i> : Morphology, distribution in the ganglion and central projections ( ゴンズイの味覚と体性感覚ニューロン：形態、神経節での分 布、中枢への投射 )
<p>本論文は、ゴンズイ<i>Plotosus japonicus</i>の三叉と顔面感覚ニューロンの形態、神経節での構築様式、中枢への投射を調べ、魚類の感覚ニューロンの極性と形態、神経節と第一次味覚中枢における体部位局在構築についていくつかの重要な新知見を明らかにした。</p> <p>第1章は、この研究の序論である。ゴンズイが他の魚類と同じように嗅覚、視覚、側線・内耳感覚、味覚、体性感覚を有し、特に味覚が発達していることを過去の知見に基づいて指摘した。すなわち。この魚種は味の受容器官である味蕾を口腔内ばかりでなく、唇から尾鰭までの全体表に有する。特に、唇周辺にはほぼ同じ長さの4対の触鬚を有し、そこに高密度で味蕾を有し摂餌の際に重要な役割を果たしている。これらの触鬚には三叉と顔面神経線維が分布し、触鬚で受容される感覚情報を活動電位として中枢へ伝導する。この際、三叉神経は触覚情報だけを、顔面神経は味覚と触覚の両方の情報を伝える。次に、魚類を含めた脊椎動物全体での三叉・顔面感覚ニューロンの形態、神経節での細胞構築、中枢への投射を概説し、この研究の目的を述べた。</p> <p>第2章は、実験材料と方法を記載する。ゴンズイは鹿児島近海で捕獲したもので、これを実験室で飼育して適宜使用した。形態学的方法としては、通常の光学組織標本や電子顕微鏡標本を作成した。神経線維と細胞体の標識は固定標本と生きた標本の両方で行った。固定標本でのトレーサーはDiI と DiA (Molecular Probes, OR, USA)、生きた標本では</p>	

tetramethylrhodamine (MW3000, Molecular Probes), dextran amine-alexa fluor 488 (MW10000, Molecular Probes) 、 horseradish peroxidase ( HRP, Toyobo Grade 1-C).などを用いた。蛍光標識標本の観察には、通常の明視野・暗視野・蛍光顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡を使用した。

第 3 章は、ゴンズイの三叉・顔面神経の末梢分布を明らかにした。頭部には、眼枝、上顎枝、下顎枝、鼻触鬚枝、上顎触鬚枝、下顎触鬚枝、口蓋枝、胴体部には反回根枝が分布していることを明らかにした。胴体部の反回根枝は更に胴体枝と胸びれ枝に分かれた。この分布図に基づき、神経標識とレーザーの投与部位を決定した。また、両神経の細胞体が存在する神経節の概要を調べ、頭部には三叉、顔面、前方側線神経ニューロンの細胞体からなる前方複合神経節と、頭部味蕾を支配する顔面神経線維を送り出す反回根神経節を同定した。

第 4 章は、三叉・顔面ニューロンの形態を調べた。両者は共に両極細胞で、細胞体の後端から延髄にのびる中枢線維と細胞の前端から末梢に伸びる末梢線維がある。中枢線維は末梢線維よりも著しく細く、髄鞘も薄いことが分かった。細胞体は卵系もしくは紡錘形で、その大きさと数の解析を行い、三叉神経の細胞体は顔面のものより大きさの変動が大きいことを示した。個々の細胞体は外套細胞の膜様構造物で囲まれて電氣的に絶縁され、細胞質中には発達した粗面小胞体、ゴルジ体、ミトコンドリアなどがみられた。末梢側に伸びる軸索小丘の部分の髄鞘も薄いことも明らかにした。

第 5 章は、前方複合神経節と反回根神経節での細胞体分布に体部位局在性があるかどうか詳細に検討した。前方複合神経節では、三叉、顔面、側線ニューロンが独立して存在

することを明らかにした。反回根神経節では、胴体ニューロンと胸びれニューロンはそれぞれ独立した小さな組織塊で散在するが、それらは互いに混ざり合い神経節全体で体部位局在構築を見いだすことが出来なかった。顔面神経ニューロンは、頭部に分布するものすべて前方複合神経節に存在し、胴体部とひれに分布する顔面ニューロンは反回根神経節に存在するので、頭部と胴体部の間では体部位局在構築が存在する。しかし、反回根神経節中には局在性はみられないことを明らかにした。

第6章は、反回根神経の中枢への投射を調べた。この神経は顔面葉の外側に位置し、前後に伸び胴体小葉の前端から後端に終わる。胴体枝と胸びれ枝を同時に別々の蛍光を発するトレーサーで標識したところ、明瞭な局在投射が判明した。胸びれ枝と胴体枝はそれぞれ胴体小葉の内側と外側に終わった。

第7章はこの研究で得られた結果からの考察を述べた。魚類の感覚ニューロンのタイプについて過去の知見を概説して述べ、味覚ニューロンと体性ニューロンは両極細胞であり、両生類以上では偽単極ニューロンになり活動電位の伝導速度早めていることを指摘し、両極ニューロンから偽単極ニューロンが進化したこと言及した。三叉神経節と顔面神経節での構築様式についても、まず魚類で得られている知見と比較検討し、更に脊椎動物全体でも比べて、神経節での体部位局在について統一的理解を目指した。

Summary of Doctoral Dissertation

Name : Nurdyana Ahmad Denil

Title : Taste and somatosensory neurons in sea catfish, *Plotosus japonicus* : Morphology, distribution in the ganglion and central projections

**Chapter 1: Introduction**

Certain fish groups have evolved a vast system of external gustatory receptors over virtually the entire body surface, along with an elaborately organized complex neural organization. For example, the sea catfish *Plotosus japonicus* are densely supplied with external taste buds over the entire body surface from the lips to the caudal fin. This catfish possess four pairs of equal length of barbels, which are well-endowed with taste buds and serve as important exploratory organs utilized for localization of food objects. They are innervated by mixed nerves containing branches of both the trigeminal (Vth) and facial (VIIth) fibers. The taste buds on the body surface and fins are innervated by recurrent facial nerve (VIIth). This chapter is the overview of the sensory system in the sea catfish and recent findings regarding this system will be briefly discussed.

**Chapter 2: Materials and methods**

This study used sea catfish, *Plotosus japonicus* to study the polarities of sensory neurons and their organization in the anterior and recurrent ganglion. The trigeminal and facial cell bodies and their distribution in the anterior complex ganglion were studied by using fixed brains with attached anterior ganglion and the fluorescent carbocyanine dyes, DiI and DiA (Molecular Probes, OR, USA). On the other hand, the cell bodies of the recurrent nerve and their central axons were examined by means of neural tracing techniques using dextran amine tetramethylrhodamine (MW3000, Molecular Probes), dextran amine-alexa fluor 488 (MW10000, Molecular Probes) and horseradish peroxidase (HRP, Toyobo Grade 1-C). The anterior complex ganglion, recurrent ganglion and brain labeled with neurotracers were viewed under dissecting epifluorescence microscope (MZFL111; Leica Heidelberg GmbH, Mannheim, Germany). Series of sections were viewed under Nikon (Eclipse 80i; Tokyo, Japan) and confocal laser microscopes (Nikon A1si-90i, Tokyo, Japan and Leica TCN NT; Heidelberg GmbH, Mannheim, Germany).

**Chapter 3: Peripheral trigeminal and facial sensory pathways in the head and trunk**

This chapter describes the peripheral distribution of the trigeminal and facial nerves. Eight peripheral rami were

identified as the major pathways to project into the facial lobe in the medulla, which includes the superficial ophthalmic, palatine, upper lip, maxillary barbel, lower lip, mandibular barbel, hyomandibular and recurrent rami. All of these rami except the palatine and recurrent are heterogenous, containing mixed populations of fibers. The recurrent ramus supplies taste buds on the trunk surface and fins via two different branches, the trunk and pectoral fin. The recurrent ganglion consists only of the facial recurrent neurons that innervate taste bud across the entire surface of the trunk and fins, and is independent from the anterior complex ganglion which consists of the trigeminal, facial and anterior lateral line neurons sending peripheral fibers to the head region.

#### **Chapter 4: Morphology of sensory neurons in sea catfish**

This chapter studies the morphology of 1) the trigeminal and facial sensory neurons in the anterior complex ganglion, and 2) the recurrent taste neurons in the independent recurrent ganglion, respectively. The present study shows that trigeminal, facial and facial recurrent sensory neurons of sea catfish are bipolar neurons, with thick peripheral and thin central fibers originating at opposite poles of the cell bodies. The peripheral fibers are greater in diameter than the central ones. The trigeminal neurons were bipolar with various shapes of cell bodies, some are round and some are elongated-oval shape. The facial neurons and recurrent facial neurons were bipolar with round or egg-like shaped cell bodies. It is also observed that the diameter of trigeminal cell bodies have a wider range compared to the facial and recurrent taste neurons.

#### **Chapter 5: Organization of the sensory neurons in the ganglion**

In this chapter, the organization of the sensory neurons in both the anterior complex ganglion and the recurrent ganglion are examined. In the anterior complex ganglion of the sea catfish, the trigeminal and facial sensory neurons are distributed mainly in the central and peripheral regions of the ganglion, respectively, with minor overlapping. In the recurrent ganglion, the trunk and pectoral fin cell bodies are mainly arranged in groups of irregular shapes and distribution. Each group is independent and does not contain both types of cell simultaneously. The two groups however, intermingled with each other throughout the entire ganglion. No somatotopy was detected within the recurrent facial ganglion.

#### **Chapter 6: Central projections of the recurrent nerve**

This chapter studies the central projections of the recurrent nerve fibers following the application of neurotracers to the recurrent nerve. The labeled fibers of the whole recurrent were observed to terminate anteroposteriorly

only in the trunk tail lobule of the facial lobe. Following simultaneous application of two different tracers to the trunk and pectoral fin branches respectively, results showed that their fibers project topographically into the trunk tail lobule.

## **Chapter 7: Discussion**

This chapter will discuss the three principal findings concerning the sensory neurons of the sea catfish; 1) the trigeminal, facial and facial recurrent neurons are bipolar with thick peripheral and thin central fiber; 2) no somatotopy between the location of the trunk-tail and pectoral fins neurons in the recurrent ganglion, but distinct separation with minor over lappings between the trigeminal and facial neurons in the anterior complex ganglion; and 3) the trunk-tail and pectoral fin neurons project somatotopically into the trunk tail lobule of the facial lobe in the medulla.