東医大誌 54(6):664~671,1996

ラットにおける橋核を介して小脳前葉虫部へ 情報を送る脊髄視床路側副枝

一順行性および逆行性軸索流法を用いた研究-

東京医科大学外科学第四講座,解剖学第二講座* 渡辺睦弥 北村泰子* 田淵崇文 相馬哲夫

【要旨】 脊髄橋核線維の起始細胞の存在部位は,脊髄視床路の起始細胞の分布領域内にある。また,脊髄橋 核線維は脊髄視床路と同様に内側毛帯と走行を共にし,尾方橋核内側部と外側部に終止する。これらの事実 から,脊髄橋核線維の一部は独立した線維群ではなく,視床腹側基底核へ投射する脊髄視床路の側副枝の可 能性がある.そこで,橋核に終止するのは脊髄視床路の側副枝であることを horseradish peroxidase (HRP) を用いて逆行性軸索流法で明らかにする。さらに,脊髄線維が終止する橋核に wheat germ agglutininconjugated HRP (WGA-HRP) を注入して,逆行性に標識される視床基底核細胞および順行性に標識され る橋小脳線維を調べる.

本研究はラットの視床腹側基底核に限局して HRP を注入した.その結果,逆行性に HRP で標識された線 維は視床腹側基底核から発して内側毛帯内を下行し,尾方橋核の内側部と外側部に終末を与えた.また,HRP 標識線維が終止した橋核領域に WGA-HRP を注入した結果,視床腹側基底核に逆行性に標識された細胞は 出現しないことから,視床腹側基底核にある細胞から下行性線維は生じないことが明らかになった.これら の結果から橋核に終止した線維は脊髄視床路の逆行性に標識された側副枝であるといえる.さらに,逆行性 に標識された脊髄橋核線維の起始細胞は脊髄視床路の起始細胞の存在領域の一部に認められた.また,WGA-HRP を注入した橋核から順行性に標識された線維は小脳虫部前葉および半球の一部に投射した.

以上のことから,脊髄橋核線維のかなりの部分は体性感覚に関与している脊髄視床路の側副枝であり,体 性感覚情報は橋核を介して小脳虫部前葉へ送られていることが明らかになった.

はじめに

末梢からの種々の知覚情報が脊髄に入る.それら の異なった情報は、それぞれの情報に特有の線維に よって脊髄から上位脳幹に運ばれる.一つあるいは それ以上の中継核(領域)を経て、末梢の情報は大 脳皮質に伝達され、それぞれの知覚情報が認知され る.しかし、いまなお知覚情報の伝達機構に不明な 点が多く残されている.これまで、脊髄小脳路は深 部感覚、すなわち筋あるいは腱からの情報を小脳へ 伝え、脊髄視床路は体性感覚を視床へ伝えるといわ れ、通常教科書には両線維系が完全に独立している と書かれている.しかし、脊髄視床路と走行を共に する線維が橋核に終止する^{1~6}.橋核からの情報はす べて小脳に送られるから,小脳においては脊髄小脳 路で直接伝えられる深部感覚情報に体性感覚情報が 関与する可能性がある.脊髄橋核線維は橋核の内側 部と外側部に終止する^{1~6)}.さらに,Yamada et al.⁷⁰ が同定した尾方橋核の内側部と外側部へ主に終止す る脊髄橋線維の起始細胞は脊髄視床路の起始細胞の 分布領域⁸⁰の一部に存在した.これらの事実から脊 髄橋核線維の中には,独立した線維群ではなく視床 腹側基底核へ投射する脊髄視床路の側副枝が含まれ ている可能性がある.また,この側副枝を介して体 性感覚情報が,筋感覚を伝える脊髄小脳路が直接終 わる小脳虫部前葉へ伝えられる可能性が考えられ る.そこで,これらの可能性を実証するために以下 の実験を行った.

1996年8月16日受付,1996年12月3日受理 キーワード:脊髄視床路,側副枝,橋核,視床腹側基底核,小脳虫部.

(別刷請求先:〒300-03 茨城県稲敷郡阿見町中央 3-20-1 東京医科大学霞ケ浦病院外科学第四講座 渡辺睦弥)

ラットの視床腹側基底核に限局して HRP を注入 して逆行性軸索流法により,橋核に終末が標識され るかどうかを観察した.さらに,脊髄から投射のあ る橋核部位へwheat germ agglutinin-conjugated HRP (WGA-HRP)を注入して,視床腹側基底核に 標識細胞があるか,および小脳虫部前葉に投射する 線維があるかどうかを検索した.また,脊髄視床路 の起始細胞の存在領域と脊髄橋核線維の起始細胞の 存在領域が一致するか否かを観察した.

研究材料および方法

Wistar 系雌ラット13匹(体重190~210g) を sodium pentobarbital (45 mg/kg, ip) で麻酔して, 無菌状態のもとで次のような実験を行った. Nanoliter pump (WPI Model 1400) の先端に外径 30 µmのガラス管を装着して,40% horseradish peroxidase (HRP: Toyobo I-C) 液 100~150 nl を 視床腹側基底核の両側に注入した。両側性に注入し たのは脊髄橋核線維が完全に交叉性であるからであ る". 2~3日間生存後, 深麻酔下にて心臓より生食で 血液を洗浄し、ついで1% paraformaldehyde-1.25% glutaraldehyde/phosphate buffer (pH 7.4) で灌流固定した。脳および脊髄を摘出後,5時間同固 定液に浸け, さらに 30% sucrose に一晩浸けた. 脳 および脊髄は前頭断の連続凍結切片(厚さ:脊髄50 µm, 脳100µm)を万能ミクロトーム(Yamato)で 作成した. 一枚おきの切片を tetramethyl benzidine (TMB) で呈色反応⁹⁾させた.残りの切片を diaminobenzidine (DAB) で呈色反応¹⁰⁾させた後, cresyl violet で細胞染色をした。この細胞染色標本 を用いて,HRPの拡散範囲や脳幹領域の観察を行った.さらに,橋核尾方高の内側部と外側部にwheat germ agglutinin-conjugated HRP (WGA-HRP)を麻酔下で5匹のラットに注入した.その後,前例と同様に切片を処理した.なお,視床において,HRPの注入部位および逆行性に標識された細胞体の分布は Köing and Klippelの図譜¹¹⁾,小脳皮質の葉区分は Swansonの図譜¹²⁾にしたがった.

結 果

脳の前頭断切片について,HRPの注入部位が視 床腹側基底核に限局している3例(ラット4,ラット 10,ラット13)を図1に示した.ラット13(図1:13) は,HRPが視床腹側基底核に広くなおかつ限局し ていた.

この例を本実験の代表例として所見を述べ(図 2),他の例と比較検討した。

ラット13では背内側部のわずかな領域を除いて, 前後にわたり充分視床腹側基底核にHRPが注入さ れていた(図1:13,3A).本例において,標識線維 は視床腹側髄板のほぼ全領域に出現した.そこから 下行した標識線維は内側毛帯へ移行し,内側毛帯の ほとんどの線維が標識された(図3B;LM).内側毛 帯は橋核吻側高で大脳皮質からの下行性線維(内包 さらに大脳脚を通り抜けて下行してきた皮質橋路お よび錐体路)の背側に近接して位置した.尾方高に 行くにしたがって皮質線維は橋核の深部に入り,内 側毛帯の主部は橋核の背側に位置した.橋核尾方高 において,内側毛帯の内側部にあった逆行性標識線 維は皮質線維の内側を迂回するように腹方に進み,



図1 視床腹側基底核の HRP の拡散範囲.
視床腹側基底核に拡散した HRP の拡散範囲を図示した(4, 10, 13: ラット 4, ラット 10, ラット 13).
図は interaural line より 4400, 4000, 3600 µm 前方高の前頭断切面である. CI: 内包, HIP: 海馬, PC: 大脳脚, VB: 視床腹側基底核, ZI: 不確帯, IIIth: 第三脳室.





図2 脊髄陽性細胞の分布.

ラット 13 の前頭断切面の各髄節 1 mm あたりの細胞数を示している. C1 (A), C2 (B), C6 (C):第 1, 2, 6 頚髄. L1 (D), L3 (E), L6 (F):第 1, 3, 6 腰髄. DL: 側索背外側部, IBN:內側基底核, I-VIII, X:I-VIII, X層, 1点:1陽性細胞.

橋内側部に瀰漫性に終止していた(図 3B, C).一方, 内側毛帯の外側部を下行してきた線維の一部は皮質 線維の外側を迂回するように腹方に走り,橋核尾方 高の外側部に瀰漫性に終止していた(図 3B, D).な お,皮質線維はほとんど標識されなかったが,その 中を貫通する内側毛帯から別れたわずかな標識線維 が認められた.さらに標識線維は内側毛帯を交叉線 維を放出しながら下行し,三叉神経知覚核,後索核 に線維を与えて脊髄に至った.脊髄においては,主 に中心管の腹側を交叉する線維が認められた.逆行 性標識細胞は(図 2),頚髄(C)において I, V, VI ~VIII および X 層,内側基底核 (IBN) さらに側索 背外側部 (DL) に比較的多く認められた.わずかな がら C1, C2 においては II~IV 層にも標識細胞が認 められた.標識細胞数は C1 および C2 で多いが,C3 ~C5 では少なく,頚膨大ではやや多くなり,第1 胸 髄 (T1)~T12 は少なく,また腰膨大 (T13~第5 腰 髄 (L5)) で再び増加するが,それ以下ではわずかで あった.標識細胞数は C1 と C2 でもっとも多く,つ いで腰膨大で,頚膨大では腰膨大よりも少なくなり, 他の髄節ではさらに少なかった.

ラット 10 (図1:10) は,視床腹側基底核の内側部



図3 注入部位および標識細胞・線維の前頭断面写真.

を中心に HRP が拡散しており,尾方橋核において は外側部より内側部で終末線維がはるかに多かっ た.また,ラット4(図1:4)は視床腹側基底核の外 側部に HRP が少量注入されており,主に尾方橋核 外側部に終末線維が認められたが,内側部には認め られなかった。ラット10 およびラット4において は,脊髄陽性細胞の出現領域はラット13 と同じ傾向 であったが,全体的に陽性細胞数は減少していた。 なお,ラット10 は上位頚髄の内側基底核には比較的 多かったが,腰膨大の第 V~VII 層では少なかった。 ラット4 は上位頚髄の内側基底核で細胞数が少な く、逆に腰膨大の第 V~VII 層に多かった。

以上の結果から, 頚髄から発する線維は内側毛帯 の内側部を主に上行して視床腹側基底核の内側部を 中心に終止していた。その途中で尾方橋核内側部に 側副枝を与えていた。一方,腰髄から発する線維は 内側毛帯の外側部を主に上行して視床腹側基底核の 外側部を中心に終わった.途中,主に尾方橋核外側 部, さらにわずかながら内側部に側副枝を与えてい た. なお, ラット4, ラット10, ラット13以外の例 では, HRP の注入部位の中心が視床腹側基底核で あれば、橋核の終末も脊髄での標識細胞も多く出現 するが,その中心が視床腹側基底核から外れれば外 れるほど終末および標識細胞は極めて少なかった。 また、注入が皮質や内包にかかっている例では大脳 脚や皮質橋路・錐体路に標識線維が出現する。この 標識線維は内側毛帯を下行する標識線維と同様に橋 核に終止するので、両者の橋核での終末を識別する のが困難になる.したがって、このような例は、た とえ視床腹側基底核に HRP が注入されていても所 見からはずした.

脊髄橋核線維の終止部に注入した WGA-HRP が 限局した(橋核背側網様体に拡散しない)例をラッ ト14〜ラット18で得られた.いずれの橋核注入例 (ラット14〜ラット18)でも視床腹側基底核には逆 行性に標識された細胞は出現しなかった.

橋核注入例において、逆行性に標識された脊髄細 胞はすべて交叉性に出現し、出現部位は頚髄の内側 基底核 (IBN) (図 2A~C 参照)、腰膨大での後索近 傍の V~VII 層内側部 (図 2D~F 参照) に限局して いた.注入が尾方橋核内側部に限局した例 (ラット 17) で、頚髄での標識細胞数は C1 (図 3E) で最も多 く、下位に行くにしたがって少なかった.注入が尾 方橋核外側部に限局していた例 (ラット 15) では、 標識細胞は上位頚髄の内側基底核にごくわずかであったが,腰膨大で V~VII 層は内側部注入例よりも 多かった(図 3F).腰膨大での陽性細胞は L2 および L3 にもっとも多く,他の髄節では減少していた.な お,内側注入例で IBN に出現する標識細胞数は外側 注入例で腰髄 V~VII 層に出現するそれよりも多かった.

尾方橋核内側部注入例 (ラット 17) では, 順行性 に標識された橋小脳線維は小脳虫部前葉 (I~V小 葉) に達し, 終末の多い領域と少ない領域が交互に 出現する microzone を形成していた (図 3G, H). さらに, 半球前半部 (単小葉副小葉 a の尾半部およ び梨状小葉) にも終止していた.一方,外側部注入 例 (ラット 15) では,虫部前葉および半球での終末 様式はラット 17 と類似していた.ラット 15 の虫部 前葉での終末量 (標識された糸球体の数) はラット 17 に比して若干少ないようにみえたが,半球での終 末の範囲は若干広かった.終末の多い zones の巾が 少ない zone より広かったことから両例の終末には zone の重なりがある.

考 察

本研究では視床腹側基底核(後外側腹側核)へ体 性感覚を伝える脊髄視床路が橋核へ側副枝を出すこ とによって、その感覚情報が筋感覚情報を受ける小 脳虫部前葉へ伝えられるかどうかという問題を解決 するのが目的である。脊髄から発し、脳幹を上行し ていく線維系については種々の動物で Mehler³⁾が、 ヒトでは久留13)が詳細に記している。さらに、近年 脊髄線維が視床や視床下部を越えて視交叉より前方 に至ることが知られている14,15)。同様な研究が他に も多数あるが、脊髄橋核線維についての報告は少な い。橋核に至る脊髄線維は内側毛帯を上行すること を多くの研究で明らかにされている1,4~6,16). 脊髄橋 核線維の起始細胞が頚髄において内側基底核に限局 して存在し、さらに腰膨大では後索近傍の第V ~VII 層内側部に限局して存在しており⁷,本実験で も同様な所見を確認した。また、その起始細胞の存 在領域は, Burstein et al.8) が示した視床腹側基底核 へ至る脊髄視床路の起始細胞の分布領域の一部, す なわち頚髄の内側基底核,腰膨大の V~VII 層内側 部とよく合致していた。したがって,脊髄橋核線維 および脊髄視床路を出す細胞の存在部位が同一であ る,のみならず,走行部位が同じであるということ

は前者が後者の側副枝の可能性が充分推測される. 本研究において視床腹側基底核の外側部への HRP 注入例では,橋核の主に外側部に終末が認められ, その内側部に注入された場合は橋核の主に内側部に 終末が認められた。さらに,逆行性に標識された線 維が認められた橋核部位に WGA-HRP を注入した 結果,視床腹側基底核には橋核に終わる順行性に標 識される下行性線維を出す細胞は認められなかっ た.これらの結果より,橋核に終わる線維には脊髄 視床路の側副枝が含まれていることが明らかになっ た.

橋核内側部・外側部にWGA-HRPを注入した本 実験において,脊髄小脳路が直接終止する小脳虫部 前葉に標識終末を認めた。したがって,腰髄からの 線維の側副枝は主に橋核の外側部を介して頚髄から の線維の側副枝は主に橋核の内側部を介して頚髄から の線維の側副枝は主に橋核の内側部を介して橋核か ら小脳虫部前葉へ体性感覚情報を伝える可能性があ ることを明らかにした。なお,小脳虫部前葉に線維 を送る脊髄細胞の存在部位は,Kitamura and Yamada¹⁷⁾の実験結果から頚髄内側基底核と腰膨大 V ~VII 層内側部は含まれていない。このように起始 細胞の存在領域の異なることからも脊髄小脳路と脊 髄視床路・脊髄橋核路が異なった情報を小脳虫部前 葉に送っていることが考えられる。



図4 脊髄視床路と小脳虫部の関係.

脊髄から上行する脊髄小脳路(SCT).脊髄視床 髄板内核路(PST),脊髄視床腹側基底核路 (NST)を示している.NSTは橋核(PN)に 側副枝を出し,そこからの線維は小脳虫部前葉 (VERA)へ投射している.SCTの一部は結合 腕傍核内側外側亜核(PBIL)に側副枝を与え, そこからの線維は視床髄板内核(ILN)へ投射 している.これら二つの経路により体性感覚情 報は小脳へ伝達される可能性がある.FPR:第 1裂,THA:視床,VB:視床腹側基底核. 脊髄から発し,視床の腹側基底核に(図4;VB)に 至る線維を新脊髄視床路といい,視床髄板内核 (ILN) へ至るものを旧脊髄視床路(図4;PST)という(Mehler³¹).両核は体性感覚情報を受け,ILN は非特殊核といわれ,VBよりも多種の情報を受け る.ILN は結合腕傍核内側外側亜核¹⁸⁾(図4;PBIL) から線維を受け,PBILは上小脳脚を通る脊髄小脳 路(SCT)の側副枝を受けることが見出され¹⁹⁾, PBILに側副枝を出す脊髄細胞はSCTの起始細胞 の存在部位よりはNSTやPSTと類似しているこ とが明らかになった^{20,21)}.したがって図4に示した ように,体性感覚情報が二つの脊髄視床路系により, 小脳虫部前葉に伝えられる可能性がある.

結 論

尾方橋核に終止する線維は内側毛帯を上行する脊 髄視床路と走行を共にする.また,脊髄橋核線維の 起始細胞は脊髄視床路の起始細胞の存在領域の一部 に一致していることから, 前者は後者の側副枝の可 能性がある。これを明確にするためにラットの視床 腹側基底核に限局して, horseradish peroxidase (HRP) を注入した、逆行性軸索流法によって標識 された線維は視床腹側基底核から発して内側毛帯を 下行し,尾方橋核の内側部と外側部に終末を与えた. 視床腹側基底核にある細胞から下行性線維は生じな いから、これらの終末は脊髄視床路の逆行性に標識 された側副枝であることが証明された。また, 視床 腹側基底核内側部に投射する線維は橋核内側部へ, 視床腹側基底核外側部へ投射する線維は橋核外側部 へ局在性をもって側副枝を出していた。脊髄橋核線 維の終止部から順行性軸索流法によって小脳虫部前 葉に終末が認められた。なお、脊髄橋核路と脊髄小 脳路の起始細胞の存在位置が異なっている. したが って、体性感覚情報に関与している脊髄視床路の側 副枝を介して橋核から小脳虫部前葉へその情報が送 られる可能性を明らかにした.

謝辞:稿を終わるに臨み,本学解剖学第二講座 山田仁三主任教授のご校閲および有意義なご助言に 深謝いたします。また,終始協力を惜しまれなかっ た関景子技手に心より感謝します。

文 献

1) Kerr FWL: On questions of ascending fibers in

- 670 -

the pyramidal tract:with observations on spinotrigeminal and spinopontine fibers. Exp Neurol $14:77{\sim}85,1996$

- Kerr FWL: The ventral spinothalamic tract and other ascending system of the ventral funiculus of the spinal cord. J Comp Neurol 159: 335~356, 1975
- Mehler WR: Some neurological species difference-a posteriori. Ann N Y Acad Sci 167: 424~468, 1967
- Swanson RS, Koniski RJ, Castron AJ: Topography of spinal, dorsal column nuclear and spinal trigeminal projections to the pontine gray in the rat. J Comp Neurol 222: 301~311, 1984
- Walberg F, Brodal A: Spinopontine fibers in the cat. J Comp Neurol 99:251~288.
- 6) Yamada J, Kitamura T: Projection to the pontine nuclei from the medial lemniscal system in the rat : Antero-and retrograde axonal transport experiments with horseradish peroxidase. Neurosci Lett Supp 17: 154, 1984
- 7) Yamada J, Kitamura T, Sato H, Shinsenji M, Shirao K, Nakamura I:Cells of origin of spinopontine fibers in the rat. Neurosci Lett 56: 317~322, 1985
- 8) Burstein R, Dado RJ, Giesler GJ Jr : The cells of origins of the spinothalamic tract of the rat : a quantitative reexamination. Brain Res 511:329 $\sim 377, 1990$
- 9) Mesulam M-M, Hegarty E, Barbas H, Carson KA, Knapp AG, Moss MB, Mufson EJ: Additional factors influencing sensitivity in the tetramethyl benzidine method for horseradish peroxidase neurochemistry. J Histochem Cytochem 28:1225 ~1259, 1980
- Adams, JC: Heavy metal intensification of DABbased HRP reaction product. J Histchem Cytochem 29:775, 1981
- 11) König JFR, Klippel RA: THE BRAIN: A ste-

reotaxic atlas of forebrain and lower parts of the brain stem. Robert K Krieger Publishing Co Inc, 1967

- 12) Swanson LW : BRAIN MAP : Structure of the rat brain. Elsevier, 1992
- (13) 久留 勝:人体脊髄並びに脳幹に於ける知覚伝導路. 創元社, 1949
- 14) Cliffer KD, Burstein R, Giesler GJ Jr: Distributions of spinothalamic, spinohypothalamic, and spinotelencephalic fibers revealed by anterograde transport of PHA-L in rats. J Neurosci 11:852 ~868, 1991
- 15) Yamada J, Kitamura T: Spinal fibers terminating directly in the hypothalamus and telencephalon of the rat. Neurosci Res Suppl 16:138, 1991
- 16) Rügg DG, Eldred E, Wiesendanger M: Spinal projections to the dorsolateral nucleus of the caudal basilar pons in the cat. J Comp Neurol 179: 383~392, 1978
- 17) Kitamura T, Yamada J: Spinocerebellar tract neurons with axons passing through the inferior or superior cerebellar peduncles. Brain Behav Evol 34: 133~142, 1989
- 18) Fulwiler CE, Saper CB: Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. Brain Res Rev 7:229~259, 1984
- Kitamura T, Yamada J, Sato H: Axon collaterals of spinocerebellar fibers terminate in the parabrachial mucleus of the rat. Neurosci Lett 99: 24~29, 1989
- 20) Yamada J, Kitamura T : Spinal cord cells innervating the bilateral parabrachial nuclei in the rat. Neurosci Res 15:273~280, 1992
- 21) Kitamura T, Yamada J: Cells of origin of the spinoparabrachial fibers in the rat: A study with fast blue and WGA-HRP. J Comp Neurol 328: 449 ~461, 1993

Somatosensory Information Is Transported into the Anterior Cerebellar Vermis via Spinothalamic Tract Collaterals Terminating in the Pontine Nuclei of the Rat

-A Study Using Antergrade and Retrograde Axonal Transport Methods-

Mutsuya WATANABE, Taiko KITAMURA*, Takafumi TABUCHI and Tetsuo SOMA

Departments of Surgery and Anatomy*, Tokyo Medical College

Spinal fibers terminate in the caudomedial and caudolateral parts of the pontine nuclei projecting fibers to the anterior cerebellar vermis. The cells of origin of the spinopontine fibers are located in the areas where the spinothalamic tract cells are distributed. Furthermore, spinopontine fibers and the spinothalamic tract run within the medial lemniscus. These facts suggest that some spinopontine fibers are collaterals of the spinothalamic tract which projects into the ventral basal nucleus (VB). The aim of the present study is to determine whether somatosensory information is transported into the anterior cerebellar vermis via spinothalamic tract collaterals terminating in the pontine nuclei of the rat by the horseradish peroxidase (HRP) and wheat germ agglutinin-conjugated HRP (WGA-HRP) anterograde and/or retrograde axonal transport methods.

When the site of HRP injection was limited to the VB, retrogradely labeled fibers were found to descend within the medial lemniscus and terminate in the caudomedial and caudolateral parts in the pontine nuclei. When WGA-HRP was injected into the caudomedial and caudolateral parts of the pontine nuclei, retrogradely labeled cells were not seen in the VB, but many anterogradely labeled fibers were seen in the anterior cerebellar vermis. Since descending fibers do not arise from the VB, it was concluded that some of the terminals in the pontine nuclei were collaterals of the spinothalamic tract. Since somatosensory information is transported via the spinothalamic tract, it is strongly suggested that somatosensory information is sent to the anterior cerebellar vermis via the pontine nuclei receiving axon collaterals of the spinothalamic tract.

Key words> Spinothalamic tract, Collateral, Pontine nuclei, Thalamic ventral basal nucleus, Cerebellar vermis.