

京都大学	博士 (医学)	氏名	松田 和郎
論文題目	Single nigrostriatal dopamine neurons form widely spread and highly dense axonal arborization in the neostriatum (単一の黒質ドーパミン神経細胞は線条体において広範囲かつ高密度な軸索分布を形成する)		
(論文内容の要旨)			
<p>中脳ドーパミン系は、パーキンソン症候群・統合失調症などの疾患あるいは報酬行動・強化学習などに関与するとされる広域投射型モノアミン神経系の一つである。例えば、従来回復が極めて困難であるとされていた外傷後植物症患者の中に中脳ドーパミン神経系の選択的損傷が原因でパーキンソン症候群を呈するサブタイプがあり、ドーパミンの前駆体である L-ドーパを投与することによって劇的な回復を示す患者群が潜在していることが報告されている(参考論文 1-5)。中脳ドーパミン神経系は黒質線条体系と中脳皮質辺縁系に大別され、過去の古典的なトレーサー実験によってその大まかな投射経路は判明しているが、単一神経細胞の解像度における定量的・回路的な次元での解明はなされていない。</p> <p>本研究では、先行研究によって開発されたパルミトイル化膜移行シグナルを結合した緑色蛍光タンパク質(GFP)をコードする遺伝子組換えウイルスベクターを単一細胞トレーサーとして用いて、単一神経細胞の細胞体・樹状突起および軸索を完全に可視化することによってドーパミン神経系の投射様式の定量的解析を単一細胞レベルで行った。まず、ラット中脳黒質に適度に希釈したウイルスベクターを定位的手術によって注入した。次に、注入部位に見出された感染細胞がドーパミン神経であるかどうかを tyrosine hydroxylase の蛍光免疫標識を行って決定した。さらに、1半脳につき3個以下の感染が確認されたサンプルの全切片を抗GFP抗体と抗μオピオイド受容体抗体を用いて免疫組織化学的に二重染色した。μオピオイド受容体は線条体の striosome コンパートメントに分布しているので、この二重染色によって線条体の striosome/matrix 構造とドーパミン神経の軸索分布との関係を調べることができる。</p> <p>単一ドーパミン神経の全軸索を camera lucida 法により8個再構成したところ、ドーパミン軸索は線条体以外にほとんど投射せず、線条体のみを広範囲かつ非常に高密度に分布していることがわかった。定量的には、1個の中脳黒質ドーパミン細胞は 138,000~780,000μm (平均 466,000μm) の軸索を線条体に投射し、一側の線条体容積の 0.45-5.7%の細胞(平均 2.7%;細胞数にして約 75,000 個)にシグナルを伝達することが見出された。反対に線条体細胞の側からみると、1個の線条体細胞は 95~194 個の異なるドーパミン細胞からシグナルを受け取ることになった。したがって、従来の古典的トレーサー実験に基づいた報告と比較して本実験では 10 倍以上もの軸索を可視化しており、従来の研究がドーパミン神経の軸索分布を大きく過小評価していたことが明らかになった。さらにμオピオイド受容体との二重染色により、多少の preference はあるものの、単一ドーパミン細胞の軸索は striosome と matrix の両方に分布していて、単一ドーパミン信号がこの2つの線条体コンパートメントに同時に送られることも明らかにされた。今回の結果から、単一ドーパミン信号は、従来考えられていたよりも広範囲かつ高密度に、また striosome/matrix 構造とは比較的無関係に、線条体に分布していることが結論された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、先行研究によって開発されたパルミトイル化膜移行シグナルを結合した緑色蛍光タンパク質(GFP)をコードする遺伝子組換えウイルスベクターをトレーサーとして用い、ドーパミン神経系の投射様式の定量的解析を単一細胞レベルで行った。再構成された8個の単一ドーパミン細胞は平均466,000 μm の軸索を線条体に投射して一側の線条体容積の平均2.7%(細胞数にして75,000個)にシグナルを伝達し、反対に線条体細胞の側からみると1個の線条体細胞は95-194個の異なるドーパミン細胞のシグナルを受け取ることが見出された。この結果を古典的トレーサー実験に基づいた報告と比較すると、従来の10倍以上もの軸索を可視化しており、これまでの研究がドーパミン神経の軸索分布を大きく過小評価していたことが明らかになった。さらに μ オピオイド受容体との二重染色により、多少のpreferenceはあるものの、単一ドーパミン細胞の軸索はstriosomeとmatrixの両方に分布することも明らかにされた。本研究によって、単一ドーパミン信号は従来考えられていたよりも広範囲かつ高密度に、またstriosome/matrix構造とは比較的無関係に線条体に分布することが結論された。

以上の研究はドーパミン神経系を含む大脳基底核の神経回路網の解析に貢献し、パーキンソン病やその関連疾患群の病態理解にも寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成21年2月20日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降