

氏 名	なか 中 村 公 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2952 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Postnatal changes of vesicular glutamate transporter (VGluT) 1 and VGluT2 immunoreactivities and their colocalization in the mouse forebrain (マウス前脳における小胞性グルタミン酸輸送体 (VGluT) 1 および VGluT2 免疫活性の生後変化と軸索内共存)
論文調査委員	(主 査) 教 授 影 山 龍 一 郎      教 授 大 森 治 紀      教 授 伊 藤 壽 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

グルタミン酸は中枢神経系の主要な興奮性伝達物質であり、グルタミン酸作動性神経回路の発達には脳の回路形成における中心的な問題の一つである。従来、グルタミン酸作動性神経回路の発達は、グルタミン酸合成酵素や各種のグルタミン酸受容体に対する免疫組織化学法によって形態学的に調べられてきたが、これらの分子が軸索終末に特異的なものではないため、グルタミン酸作動性ニューロンの出力部位である軸索終末の生後発達に関して不明のままであった。近年同定された小胞性グルタミン酸輸送体 (vesicular glutamate transporter; VGluT) 1 および VGluT2 は、シナプス前性軸索終末に局在しグルタミン酸をシナプス小胞へ充填する機能を担っており、VGluT に対する特異的抗体はグルタミン酸作動性軸索終末の優れたマーカーである。また軸索終末における VGluT 蛋白質の発現は、発達過程のシナプスにおいてグルタミン酸の小胞放出が成立するための必要条件であると考えられる。そこで、申請者は VGluT1 および VGluT2 に対する単染色および二重染色の免疫組織化学法によって、マウス前脳におけるグルタミン酸作動性神経回路の生後発達について調べた。

VGluT2 免疫活性は生後 0 日から成熟期までを通じて前脳に広く分布し、とりわけ視床や視床下部を含む間脳領域で強陽性であった。VGluT2 の mRNA は間脳や下位脳幹領域に選択的に発現することが知られていることから、この結果はこれらの領域に由来する VGluT2 陽性の軸索終末が比較的早い時期に成熟することを示唆している。一方、VGluT1 免疫活性は、生後 0 日では嗅球や梨状皮質、海馬体、嗅内皮質、中隔など辺縁領域のみで強かったが、大脳新皮質や線条体、視床などその他の終脳および間脳領域では生後 1 週前後を中心として生後 3 週までに顕著な免疫活性の増大を示した。VGluT1 mRNA は大脳皮質を含む終脳領域に選択的に発現することが報告されており、VGluT1 免疫活性の顕著な増大は主として大脳新皮質錐体細胞の軸索終末の発達を反映するものと解釈できる。さらに、VGluT1 および VGluT2 に対する蛍光二重染色を行い、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて前脳各領域のニューロピルを観察したところ、第一次体性感覚野 4 層のパレル内部では生後 5 日から 10 日までの間一過性に、後内側腹側視床核では生後 0 日から 14 日までの間一過性に VGluT1 の免疫活性は VGluT2 免疫活性と単一の軸索終末様構造において高頻度に共存した。対照的に、嗅球の糸球体、線条体のパッチ領域、後外側腹側視床核は、いずれも中程度ないし強い VGluT1 および VGluT2 免疫活性が発達期を通じてニューロピルに混在する領域であるが、VGluT1 および VGluT2 免疫活性の単一の軸索終末様構造における共存はほとんど見られなかった。

以上の結果は、マウス前脳の生後発達において、VGluT2 陽性のグルタミン酸作動性軸索終末が VGluT1 陽性の軸索終末よりも早期に成熟すること、および一部のシナプスにおいて VGluT1 と VGluT2 が一過性かつ高頻度に共存することを示した。VGluT1 陽性の軸索終末と VGluT2 陽性の軸索終末とは異なった伝達物質放出特性を示すことがすでに指摘されている。このことから、VGluT1 と VGluT2 が一過性に共存するという結果は、成熟期に主として VGluT2 を使用するグルタミン酸作動性システムの一部において VGluT1 が一過性に発達期特有の機能を担っている可能性を示唆する。

## 論文審査の結果の要旨

小胞性グルタミン酸輸送体 (VGluT)1 および VGluT2 は軸索終末に局在し、グルタミン酸をシナプス小胞へ充填する機能を担っており、抗 VGluT 抗体はグルタミン酸作動性軸索終末の優れたマーカーである。本研究では VGluT の免疫染色を用いて、マウス前脳におけるグルタミン酸作動性神経回路の生後発達について調べている。VGluT2 免疫活性は生後 0 日から成熟期までを通じて前脳に広く分布し、特に視床を含む間脳領域で強陽性であった。VGluT2 mRNA は間脳や下位脳幹領域に選択的に発現することが知られていることから、この結果はこれらの領域に由来する VGluT2 陽性の軸索終末が比較的早い時期に成熟することを示唆している。一方、VGluT1 免疫活性は、生後 0 日には辺縁領域以外で弱く、生後 1 週前後に大脳新皮質・線条体・視床などで顕著に増強した。VGluT1 mRNA は大脳皮質を含む終脳領域に選択的に発現することが報告されており、VGluT1 免疫活性の顕著な増大は主として新皮質錐体細胞の軸索終末の発達を反映するものと解釈できる。

さらに、VGluT1 および VGluT2 に対する蛍光二重染色を行い、前脳の各領域を観察したところ、第一次体性感覚野 4 層および後内側腹側視床核で生後 7 日を中心に両 VGluT 免疫活性が高頻度に共存した。VGluT1 陽性と VGluT2 陽性のシナプスは異なった伝達特性を示すことが指摘されており、両者が一過性に共存するという結果は、VGluT2 を使用するシナプスの一部において VGluT1 が発達期特有の機能を担うことを示唆する。

以上の研究は、哺乳類の前脳における興奮性神経系の生後発達を形態学的に解析し、脳機能の解明に寄与するところが大い。

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18年1月23日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。