

京都大学	博士（医学）	氏名	田中 康代
論文題目	<b>Local connections of layer 5 GABAergic interneurons to corticospinal neurons</b> （大脳皮質第5層のGABA作動性抑制性神経細胞から皮質脊髄投射神経細胞への局所的な結合）		
（論文内容の要旨） 大脳皮質において、GABA作動性抑制性神経細胞は興奮性神経細胞と協働して複雑な局所ネットワークを形成している。これまで多くの種類の大脳皮質抑制性神経細胞が同定されているが、それぞれの種類の抑制性神経細胞が、同一投射先を持つ興奮性の神経細胞集団をどのように抑制しているのかについて、その詳細はわかっていない。 本研究では、運動関連領域にある皮質脊髄投射神経細胞への抑制性入力を形態学的に解析した。皮質脊髄投射神経細胞は、運動皮質の最終的な出力細胞であり、運動実行の際に重要な役割を果たしていると考えられている。その皮質脊髄投射神経細胞をもっとも強く抑制するのは、同領域にある第5層の抑制性神経細胞であり、fast-spiking (FS) 細胞とソマトスタチン陽性 (SOM) 細胞が主な構成要素で、全抑制性神経細胞の80%を占める。それ以外の残りの約20%はヘテロな集団であり、non-FS/non-SOM 細胞として本研究では扱った。 抑制性神経細胞の軸索の可視化については、抑制性神経細胞のみが蛍光タンパク質 Venus を発現する遺伝子改変ラットを用いて、大脳皮質のスライスを作成後、抑制性神経細胞のホールセル記録を行い細胞内染色することで実現した。それらの形態を再構成し、軸索の解析を行う過程で、第5層のFS細胞が軸索密度の高低で2群に分けられることを発見し、密度が高いものをFS1に、低いものをFS2に分類した。 前記の結果を踏まえて、FS1、FS2、SOM、non-FS/non-SOM 細胞が、それぞれどのように皮質脊髄投射神経細胞に投射しているのかを調べた。皮質脊髄投射神経細胞の細胞体・樹状突起については、これまでの研究で開発されたゴルジ染色様逆行性標識法を用いて可視化した上で、単一抑制性神経細胞の軸索終末様構造から、皮質脊髄投射神経細胞集団の細胞体・樹状突起への神経連絡を調べた。解析は、光学顕微鏡下で、黒く染色された軸索終末と赤く染色された細胞体・樹状突起が接する部位（アポジション）の数を定量することで行った。なお、このアポジションを別のサンプルにおいて電子顕微鏡で観察すると、全アポジションの74%が実際に抑制性シナプスを作っていることが確認された。 アポジション数の定量解析の結果、一つのFS1細胞はFS2、SOM、non-FS/non-SOM 細胞に比べて、2～5倍多く皮質脊髄投射神経細胞に入力していた。また、皮質脊髄投射神経細胞の細胞体への入力も、4種類の抑制性神経細胞の中でFS1、FS2細胞においてもっとも頻繁で（約30%）、SOM細胞においてもっとも少なかった（約10%）。一方、SOM細胞の軸索終末は他の抑制性神経細胞と比べて、皮質脊髄投射細胞の先端樹状突起へもっとも多く入力していた。これらの結果により、皮質脊髄投射神経細胞にとってもっとも抑制のインパクトが大きいのはFS1細胞であり、SOM細胞は抑制のインパクトこそ小さいものの、先端樹状突起に多く入力することから、FS細胞とは異なった抑制性制御を皮質脊髄投射神経細胞にかけていると考えられた。			

（論文審査の結果の要旨）

大脳皮質ではGABA作動性抑制性神経細胞が興奮性神経細胞と協働して複雑な局所回路を形成する。一次運動野5層の抑制性細胞は、fast-spiking (FS) 細胞とsomatostatin 陽性 (SOM) 細胞で全抑制性細胞の80%を占め、それ以外をnon-FS/non-SOM細胞として本研究では扱い、以下の結果を得た。

1) ホールセル記録と細胞内染色により5層のFS細胞を軸索密度の高いFS1、軸索密度の低いFS2に分けた。樹状突起の分布及び細胞の入力抵抗に両群間で有意差を認めた。

2) 皮質脊髄投射神経細胞 (CSN) への抑制性入力を形態学的に解析した。5層抑制性細胞をFS1, FS2, SOM, non-FS/non-SOM細胞の4種類に分け、黒く細胞内染色された抑制性の軸索終末が赤く逆行性標識されたCSNの細胞体・樹状突起に入力する様子(apposition)を定量的に観察した。なお電子顕微鏡観察により、appositionの74%でシナプス構造が確認された。解析の結果、FS1細胞は他群より2～5倍多くCSNに入力していた。CSN細胞体への入力は、FS1、FS2細胞において最も多く(全appositionの30%)、SOM細胞において最も少なかった(7%)。一方、SOM細胞の軸索終末は他群と比べ、CSNの先端樹状突起へ最も多く入力していた。これらの結果より、CSNへの抑制入力様式は多様であり、FS1細胞は多くのCSNを一度に抑制し、FS2細胞はより少数のCSNを細やかに抑制し、SOM細胞はCSNの先端樹状突起を抑制してその反応特性を調整していることが推測された。

以上の研究は抑制性細胞から皮質脊髄投射細胞への局所入力の解明に貢献し運動皮質機能の理解に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23年11月14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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降