

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	孫 在隣
論文題目	Preprodynorphin-Expressing Neurons Constitute a Large Subgroup of Somatostatin-Expressing GABAergic Interneurons in the Mouse Neocortex (マウス大脳新皮質ソマトスタチン陽性抑制性細胞の約半数は、プレプロダイノルフィンを発現する)		
(論文内容の要旨)			
<p>大脳新皮質には、グルタミン酸作動性の興奮性細胞と、<math>\gamma</math>-アミノ酪酸（GABA）作動性の抑制性細胞が存在する。そして、これらの神経細胞が複雑なネットワークを形成し、高次脳機能を実現すると考えられている。</p> <p>抑制性細胞は多種多様な形態・電気生理学的特性を示すことが知られているが、近年ではカルシウム結合蛋白質や神経伝達物質などの発現特性により分類することが一般的である。マウス大脳新皮質の抑制性細胞は、1）パルブアルブミン（PV）陽性細胞（約 40％）、2）ソマトスタチン（SOM）陽性細胞（約 30％）、3）その他（約 30％）、の三群に大別される。3）では、多くの神経化学マーカーが報告されてきたが、最近では血管作動性腸管ペプチド（VIP）が主に用いられる。これら神経化学マーカーにより分類された細胞種は、それぞれが神経ネットワーク内で異なる役割を担うことが明らかにされつつある。</p> <p>また、大脳新皮質の一部の神経細胞は、内因性オピオイドペプチドを発現することが過去に報告されている。オピオイドペプチドはその前駆物質（プレプロペプチド）が細胞内で処理され、軸索に輸送される過程でプロペプチドから最終的にオピオイドペプチドとなる。そのため、オピオイドペプチドに対して免疫組織化学染色を行うと、軸索終末はよく可視化されるものの、細胞体の観察は非常に困難である。本研究では、ダイノルフィン等の前駆物質であるプレプロダイノルフィン（PPD）に対して免疫組織化学染色を行うことで、細胞体を可視化し、その発現特性をマウス大脳新皮質において形態学的に解析した。</p> <p>明視野免疫染色像の観察により、PPD 陽性細胞は大脳新皮質の中間層から深層、特に第 5 層に多く分布することが分かった。また、樹状突起の形状から、PPD 細胞は双極もしくは多極細胞であり、興奮性錐体細胞とは明らかに異なっていた。加えて、蛍光 in situ hybridization 組織化学法と蛍光免疫染色法による二重染色を行い、PPD 細胞の 98％はグルタミン酸脱炭酸酵素（GAD67）を発現していることを第一次体性感覚野において明らかにした。これは PPD 細胞が GABA 作動性抑制性細胞であることを意味する。一方、抑制性細胞の約 15％が PPD 細胞であった。</p> <p>次に、PPD と主要な神経化学マーカーである PV、SOM、VIP との蛍光免疫二重染色を行ったところ、PPD 細胞の 98％は SOM 陽性であった。さらに、一部の SOM 細胞が発現する神経化学マーカーと PPD の共存関係を解析したところ、PPD 細胞の約 9 割が reelin に対して陽性だったが、その他のマーカーについてはほとんど陰性であった。逆に、SOM 細胞の約半数（46％）が PPD 陽性であり、PPD は SOM 細胞群を二分する新たな神経化学マーカーであることが明らかとなった。</p>			

PPD 細胞はダイノルフィンなどのオピオイドペプチドを産生すると考えられる。PPD 由来のペプチドは、主に G 蛋白共役型受容体である  $\kappa$  型オピオイド受容体（KOR）を介し、標的細胞の活動性を低下させる。大脳新皮質において KOR を発現する細胞種は同定されていないものの、その分布や密度から、新皮質深層（第 5・6 層）の錐体細胞が KOR を発現していると推察される。また、SOM 受容体も新皮質深層の錐体細胞に主に発現しており、KOR 同様に抑制的に働くことが分かっている。以上より、SOM と PPD を共発現する抑制性細胞は、GABA 受容体のみならず SOM 受容体や KOR をも介して、新皮質深層の錐体細胞の活動性を抑制することが示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

大脳新皮質の神経回路ネットワークは多様なニューロンから構成されている。新皮質の作動原理を解明するためには、どのニューロンがどのような神経伝達物質を用いているかの同定が必要不可欠である。

オピオイド系神経伝達物質（内因性の麻薬様化合物とも評される）の前駆物質の一つであるプレプロダイノルフィン（PPD）は、細胞体で合成された後、軸索輸送中に処理を受けて成熟したオピオイドペプチド（ダイノルフィン等）となって情報伝達に用いられる。本研究では、成体マウス第一次体性感覚野において、PPD を産生する細胞種を免疫組織化学法によって同定した。

PPD 産生細胞は  $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）作動性の抑制性ニューロンであり、さらに PPD 細胞は全てソマトスタチン（SOM）に対する免疫活性を認めた。SOM 細胞は抑制性ニューロンの約 3 割を占める主要な細胞群であるが、そのうち約半数が PPD 細胞であった。このことは、PPD 細胞が、オピオイドペプチドの他に、GABA や SOM といった他の神経伝達物質をも産生するニューロンであることを意味した。これら 3 種の物質はいずれも標的細胞を過分極させるものであり、PPD 細胞は 3 つの神経伝達物質を用いて効率的に標的細胞の活動を抑制することが示唆された。

以上の研究は大脳新皮質抑制性ニューロンの細胞種の一つを新たに同定したもので、新皮質神経回路網の構造基盤の解明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 28 年 2 月 19 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。