

京都大学	博士 (医学)	氏名	高橋 慧
論文題目	Preferential arborization of dendrites and axons of parvalbumin- and somatostatin-positive GABAergic neurons within subregions of the mouse claustrum (マウス前障においてパルブアルブミン陽性およびソマトスタチン陽性 GABA 作動性神経細胞が示す、亜領域に選択的な樹状突起及び軸索の走行)		
(論文内容の要旨)			
<p>前障は島皮質と大脳基底核の間に位置する神経核であり、マウスでは3つの亜領域(コア、背側シェル、腹側シェル領域)に分かれる。各亜領域内の興奮性グルタミン酸作動性神経細胞は、それぞれ異なる大脳皮質領域と双方向に結合し、注意制御、特徴的刺激的検出、感覚情報統合などの高次機能を担うとされる。一方、前障内の GABA 作動性神経細胞 (GABA 細胞) は、前障興奮性細胞と互いにシナプス結合することで前障内の局所回路を構成する。なかでも GABA 細胞のサブタイプを構成するパルブアルブミン発現細胞 (PV 細胞)、ソマトスタチン発現細胞 (SOM 細胞)、血管作動性腸管ペプチド発現細胞 (VIP 細胞) は電気生理学的な特性が異なるが、各亜領域での分布は明らかでない。さらにコア領域とシェル領域はそれぞれ PV と SOM への強い免疫活性を呈し、PV 細胞と SOM 細胞の神経突起の走行様式の違いが示唆されている。様々な脳機能を実現する前障の動作原理を理解するためには、前障内部の局所神経回路を明らかにすることが重要であり、本研究では前障 GABA 細胞やそのサブタイプの分布、また PV 細胞および SOM 細胞の樹状突起と軸索の走行様式の解明に取り組んだ。</p> <p>本研究ではまず、蛍光免疫組織化学法と蛍光 in situ hybridization 組織化学法を用いて前障内における GABA 細胞の分布を解析した。前障神経細胞のうち、9.1-11.2%が抑制性神経細胞マーカー glutamic acid decarboxylase 67 kDa isoform (GAD67) 発現細胞であり、各亜領域間で分布の差はなかった。また GAD67 発現細胞の 17.1-26.1%、26.9-32.1%、8.7-9.3%をそれぞれ PV 細胞、SOM 細胞、VIP 細胞が占めた。これらのサブタイプは重ならず、また殆どが GAD67 陽性を呈したことから、それぞれが独立した GABA 細胞集団を形成することが分かった。</p> <p>次に、PV もしくは SOM プロモーター下で DNA 組換え酵素 Cre を発現するノックインマウスと二種類のアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを組み合わせ、前障のコア領域または腹側シェル領域に位置する PV 細胞と SOM 細胞の形態解析を単一神経細胞レベルで行った。トランス活性化因子 (tTA) 発現 AAV ベクターを希釈し、tTA 及び Cre 依存的に緑色蛍光タンパク質を発現する AAV ベクターと混合してノックインマウスの前障に注入することで、少数の Cre 発現細胞を蛍光標識した。灌流固定後に 1-mm 厚の脳スライス標本を作成し、組織透明化処理した標本の Z スタック画像を共焦点レーザー顕微鏡にて取得し、樹状突起および軸索の全長と前障の各亜領域を 3 次元的に再構成した。その結果、PV 細胞と SOM 細胞の樹状突起と軸索は、コア領域とシェル領域それぞれの内部に展開し、コア領域-シェル領域間の境界を殆ど越えていなかった。さらに 3 次元再構築像を吻尾、腹背、内外方向それぞれに投影し、樹状突起と軸索の走行密度を Sholl 解析にて比較した結果、樹状突起は方向選択性が低い一方、軸索は吻尾方向に好んで進展することが分かった。</p> <p>以上の結果より、前障 GABA 細胞が各亜領域に均一な割合で存在し、PV 細胞および SOM 細胞の樹状突起と軸索がコア領域とシェル領域それぞれに選択的な分布を示すことが明らかになった。本研究は、PV 細胞と SOM 細胞が構成する局所回路がコア領域とシェル領域で異なり、それぞれの領域で独立した情報処理を実行している可能性を示唆するものであり、前障の局所神経回路の理解への寄与が期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

種々の高次機能を担う前障は、マウスでは3つの亜領域(コア、背側シェル、腹側シェル領域)に分類される。各亜領域の興奮性細胞はそれぞれ異なる大脳皮質領域と双方向に結合しており、前障の動作原理の解明には各亜領域における局所神経回路の理解が必要である。興奮性細胞に対する解析は進展する一方、抑制性細胞 (GABA 細胞) は各亜領域における分布や形態などの基本的特性が不明であった。

本研究は組織化学的手法を用いて、GABA 細胞は前障神経細胞の 10%を占め、GABA 細胞サブタイプでのパルブアルブミン発現細胞 (PV 細胞)、ソマトスタチン発現細胞 (SOM 細胞)、血管作動性腸管ペプチド発現細胞はそれぞれ GABA 細胞の 20%、30%、10%を占めることを示した。またこれらの細胞分布は亜領域間に大きな差がないことを見出した。

さらにウイルスベクターにより単一の PV 細胞や SOM 細胞を蛍光タンパク質で標識し、組織透明化技術により神経突起を 3 次元的に解析した。その結果、PV 細胞と SOM 細胞の樹状突起と軸索はコア領域とシェル領域間の境界を殆ど越えずに各亜領域の内部に分布することを明らかにした。また樹状突起は各方向に比較的均一に分布する一方、軸索は吻尾方向へ顕著に進展することを示した。

これらの結果は、前障の PV 細胞と SOM 細胞が担う情報伝達は、コア領域とシェル領域の間で独立していることを強く示唆する。

以上の研究は、前障内部の神経回路の理解に貢献し、前障の情報処理機構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、令和5年2月6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