京都大学	博士（医学）	氏　名	日置　寛之
論文題目	Chemically Specific Circuit Composed of Vesicular Glutamate Transporter 3- and Preprotachykinin B-producing Interneurons in the Rat Neocortex. (Vesicular Glutamate Transporter 3 と Preprotachykinin B を産生する大脳新皮質介在神経細胞が構成する特異的神経回路網)		

（論文内容の要旨）

哺乳類の中枢神経系においては、グルタミン酸が興奮性神経伝達物質の主要な物質であることは広く知られている。細胞体で合成されたグルタミン酸は軸索終末にてシナプス小胞へ取り込まれ、活動電位が生じた際にシナプス間隙へと放出される。シナプス小胞にグルタミン酸を取り込むタンパクである vesicular glutamate transporters (VGLUTs) は、2000 年から 2002 年にかけて 3 種類同定された。VGLUT1 は主に終脳領域の興奮性神経細胞に、VGLUT2 は主に間脳や脳幹の興奮性神経細胞に発現していることが現在までに明らかになっている。一方、VGLUT3 は大脳新皮質において mRNA の発現は報告されているが、その詳細は明らかにされていない。本研究では VGLUT3 に対する特異的抗体を作成し、免疫組織化学法を用いて、ラット大脳新皮質においてその形態学的解析を行った。

VGLUT3 に対する免疫活性は、神経終末様構造及び抑制性インターニューロン様の細胞体に、主に大脳新皮質 II/III 層の表層で認められた。蛍光二重染色法により、VGLUT3 陽性細胞のほぼ全てが gamma-aminobutyric acid (GABA)、preprotachykinin B (PPTB) に対して陽性であり、ラット大脳新皮質において抑制性インターニューロンの一部を構成していることが分かった。一方、VGLUT3 陽性神経終末様構造は、vesicular GABA transporter (VGAT)、もしくはセロトニン陽性神経終末様構造のいずれかと共存していた。そこで、中脳縫線核に順向性トレーサーである biotin dextran amine (BDA) を注入し、共焦点レーザー顕微鏡下で VGLUT3 と BDA の共存を調べたところ、大脳新皮質 II/III 層の表層の終末様構造において共存が高頻度で認められた。また、中脳縫線核に存在するセロトニン発現細胞を、5,7-dihydroxytryptamine の脳室内投与で化学的かつ特異的に破壊したところ、セロトニンと VGLUT3 に陽性である神経終末様構造はほぼ完全に消失したのに対し、VGAT と VGLUT3 に陽性である神経終末様構造に変化は認められなかった。よって、ラット大脳新皮質におけるセロトニンかつ VGLUT3 陽性神経終末様構造は中脳縫線核のセロトニン発現細胞に由来し、VGAT かつ VGLUT3 陽性神経終末様構造は大脳新皮質内在性の VGLUT3 陽性抑制性インターニューロンに由来することが明らかになった。さらに、VGAT かつ VGLUT3 陽性神経終末様構造の一部はバスケット様の構造を呈し、そのほぼ全てが PPTB 陽性神経細胞の細胞体と樹状突起近位部を取り囲んでいた。逆に、PPTB 陽性神経細胞の約半数が VGLUT3 陽性バスケット様構造により囲まれていた。この内、一部の PPTB 陽性神経細胞は VGLUT3 に対して陽性であり、また VGLUT3 陽性神経細胞の全てが VGLUT3 陽性バスケット様構造により囲まれていた。

以上の結果から、グルタミン酸が神経伝達物質もしくは神経修飾物質として、大脳新皮質抑制性インターニューロンから GABA と共に、中脳縫線核に由来する神経終末からセロトニンと共に大脳新皮質にて放出されている可能性が示唆された。また、大脳皮質内在性の VGLUT3 発現細胞は、PPTB 発現細胞と共に特異的神経回路網を皮質内で形成していることが本研究で明らかになった。

（論文審査の結果の要旨）

本研究ではvesicular glutamate transporter 3(VGLUT3)に対する特異的抗体を作成し、ラット大脳新皮質において、免疫組織化学法による形態学的解析を行っている。VGLUT3発現細胞のほぼ全てがGABA、preprotachykinin B(PPTB)に対して陽性であり、大脳新皮質において抑制性神経細胞の一部を構成していた。また、VGLUT3陽性神経終末様構造は、中脳縫線核に由来するセロトニン、もしくは皮質内在性のVGLUT3陽性抑制性神経細胞に由来するvesicular GABA transporter space(VGAT)陽性神経終末様構造の二つから構成されていた。さらに、VGATかつVGLUT3陽性神経終末様構造の一部はバスケット様の構造を呈し、そのほぼ全てがPPTB陽性神経細胞の細胞体を取り囲んでいた。逆に、PPTB陽性神経細胞の約半数がVGLUT3陽性バスケット様構造により囲まれていた。以上の結果から、グルタミン酸が神経伝達物質もしくは修飾物質として、皮質抑制性神経細胞からはGABAと共に、中脳縫線核に由来する神経終末からはセロトニンと共に大脳新皮質にて放出されている可能性が示唆された。また、皮質内在性のVGLUT3発現細胞は、PPTB発現細胞と共に特異的神経回路網を皮質内で形成していることが本研究で明らかになった。

以上の研究は大脳新皮質におけるVGLUT3の形態学的特性の解明に貢献し、大脳新皮質の神経回路網の解析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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成20年7月29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