

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	亀 田 浩 司
論文題目	Parvalbumin-producing cortical interneurons receive inhibitory inputs on proximal portions and cortical excitatory inputs on distal dendrites. (パルブアルブミン産生皮質ニューロンは近位樹状突起・細胞体で抑制性入力を、遠位樹状突起で興奮性入力を受ける)		
(論文内容の要旨)			
パルブアルブミン (PV) 産生皮質ニューロンは大腦皮質における抑制性細胞の主要な亜集団であり、高頻度に発火できること、その標的細胞の細胞体周辺に軸索を展開することから、標的細胞の神経活動を強力に抑制していると考えられている。また PV 産生ニューロンはGAP結合により互いに連結しており、PV 産生ニューロン群の協調した活動が皮質内における情報処理に多大な影響を与えているものと思われる。これまでの研究から、大腦皮質一次体性感覚野 (S1) の PV 産生ニューロンは視床の投射細胞からの興奮性入力を受けており、フィードフォワード抑制回路の素子として機能していることが示唆されているが、PV 産生ニューロンはその他にも皮質内の興奮性、抑制性細胞からの入力を受けており、これらの入力の定量的な解析はなされていない。 本研究では、最初に細胞体・樹状突起膜移行性シグナル付き緑色蛍光タンパク質 (myrGFP-LDLRct) を PV プロモータ制御下で発現させることにより、樹状突起の隅々まで GFP で標識された PV 産生ニューロンを有する遺伝子改変マウスを作出した。その後、皮質由来の興奮性入力（軸索終末）／視床由来の興奮性入力／皮質局所からの抑制性入力の指標となる小胞性グルタミン酸トランスポーター (VGluT) 1／VGluT2／小胞性 GABA トランスポーター (VGAT) の局在を免疫染色によって可視化し、S1 皮質の PV 産生ニューロンの細胞体や樹状突起への入力数（アポジション数）をそれぞれ計数した。その結果、樹状突起の単位長さ当りの VGluT1／VGluT2 陽性終末の入力数は近位と遠位で有意な差がなかったが、VGAT 陽性終末の入力数は近位の方が有意に多かった。樹状突起の単位表面積当りの入力数でみると、VGluT1 陽性終末は遠位で有意に多くなり、VGAT 陽性終末は近位に多いままであった。さらに、PV 産生ニューロンと各トランスポーター陽性終末が作るアポジション部位を電子顕微鏡で観察したところ、76-86%の部位でシナプス構造が観察されたことから、アポジション数はシナプス入力数をよく反映しているものと考えられた。 次に、S1 皮質の PV 産生ニューロンの樹状突起を3次元的に再構築し、その樹状突起の長さと細胞体の表面積を計測した。その値と各トランスポーターの入力数から、一個の PV 産生ニューロンへの皮質由来の興奮性入力／視床由来の興奮性入力／皮質内の抑制性入力は、平均でそれぞれ4488個／1110個／1463個と算出された。 最後に、興奮性入力／抑制性入力それぞれ細胞体へ入る場合と遠位の樹状突起に入る場合とでは、細胞体で観察されるシナプス後電位（PSP）の振幅にどれ程の差があるのかを調べるために、PV 産生ニューロンモデルを構築し、PSP のシミュレーションを行なった。その結果、興奮性入力の場合は遠位の樹状突起に入力された場合でも、細胞体に入力された際に観察される PSP の振幅の87%が保持されるのに対し、抑制性入力の場合は60%にまで減衰してしまうことがわかった。 以上の結果は、1) PV 産生ニューロンへの入力は皮質興奮性細胞からのものが最も多いこと、2) 皮質抑制性細胞からの入力数は視床からの興奮性入力数と同程度に多く、かつ入力部位は PV 産生ニューロンの細胞体付近に多いことを明らかにしたので、PV 産生ニューロンは皮質内回路において視床からの入力によるフィードフォワード抑制のみならず、皮質内か			

らの興奮性入力によるフィードバック抑制をする素子であり、加えて脱抑制回路の素子としても重要な働きをしていることが示唆された。			
(論文審査の結果の要旨)			
大腦皮質に存在するバスケット細胞は抑制性細胞の約半数を占め、錐体細胞の活動を強力に抑制している。本研究では、バスケット細胞への興奮性・抑制性入力を定量的に解析するため、バスケット細胞がパルブアルブミン遺伝子を発現することを利用して、情報入力部位である樹状突起膜を特異的に標識した遺伝子改変マウスを作出した。			
このマウスを用いて、一次体性感覚野の各層のバスケット細胞への皮質からの興奮性入力 / 視床からの興奮性入力 / 皮質内の抑制性入力を免疫細胞化学的手法により定量的に解析し、以下の所見を得た。1) どの層でも皮質からの興奮性入力が最も多く、視床からの入力が多い4層でも皮質からの入力が2倍以上多かった。2) 抑制性入力は近位樹状突起・細胞体に有意に多かった。			
結果2)に関連して、抑制性入力が細胞体と近位樹状突起に多かったことの機能的意味を検証するために、バスケット細胞モデルを構築し、シミュレーション実験を行った。興奮性、抑制性入力ともに入力部位が細胞体から離れるに従い細胞体で観察されるシナプス後電位の振幅は減衰したが、抑制性入力は興奮性入力より大きな減衰率を示し、近位入力を優先する合理性を持つことがわかった。			
以上の研究は大腦皮質内の主要な抑制性細胞であるバスケット細胞の制御機構を形態学的に解析したものであり、皮質内における抑制性細胞の機能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24年2月24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			