

氏 名（本籍）	川 ^{かわ} 野 ^の 道 ^{みち} 宏 ^{ひろ} （東京都）		
学 位 の 種 類	博 士（神経科学）		
学 位 記 番 号	博 甲 第 4153 号		
学位授与年月日	平成 18 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Particular Subpopulations of Midbrain and Hypothalamic Dopamine Neurons Express Vesicular Glutamate Transporter 2 in the Rat Brain （中脳および視床下部の特定ドーパミンニューロンは小胞性グルタミン酸輸送体 2 を発現する）		
主 査	筑波大学教授	理学博士	志 賀 隆
副 査	筑波大学教授	博士（医学）	一 谷 幸 男
副 査	筑波大学助教授	医学博士	岩 本 義 輝
副 査	筑波大学講師	博士（医学）	堀 孝 文

論 文 の 内 容 の 要 旨

（目的）

中脳ドーパミンニューロン系による情動，意欲，報酬行動等の発現の制御には，側坐核や扁桃体などの投射領域でのドーパミンとグルタミン酸の相互作用が重要であると考えられる。しかしながら，中脳ドーパミンニューロンがグルタミン酸を放出する可能性については，未だ十分な理解が得られていない。従って，ドーパミンニューロンによるグルタミン酸放出が証明されれば，中脳ドーパミンニューロンが果たす種々の脳機能に関連して新たな神経メカニズムの存在が明らかとなる。近年 3 種の小胞性グルタミン酸輸送体 (VGLUT1～3) が単離され，グルタミン酸作動性ニューロンを同定する最も信頼できる機能タンパク質と考えられている。本研究では VGLUT の組織化学的解析によって，中脳と前脳のドーパミンニューロンのグルタミン酸作動性神経伝達の可能性を検討した。

（対象と方法）

成熟 Sprague-Dawley 系雄ラットを麻酔下で Zamboni 変法液にて灌流固定後，前脳，中脳，橋，嗅球及び脊髄をパラフィン包埋し，5μm 厚の切片を作成した。VGLUT1～3 に対する放射性標識 cRNA プロブによる in situ ハイブリダイゼーション法を行い，各 VGLUT 遺伝子の発現を解析した。さらに，チロシン水酸化酵素 (TH) の免疫組織化学で同定したドーパミンニューロンでの各 VGLUT 遺伝子発現を解析した。また，VGLUT と TH 或いは小胞性モノアミン輸送体 (VMAT2) の 2 重蛍光免疫染色標本の共焦点レーザー顕微鏡観察を行い，ドーパミンとグルタミン酸の軸索内局在を検索した。さらに RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) によって各 VGLUT 遺伝子発現を解析した。

（結果）

中脳腹側部の in situ ハイブリダイゼーション解析により，この部位に VGLUT1 遺伝子が発現しないこと，

VGLUT2 遺伝子は広範かつ特定の分布パターンを示すこと、そして VGLUT3 遺伝子が特定領域に局限して発現することが明らかになった。RT-PCR 解析で、全長 VGLUT2 遺伝子発現が証明され、機能的 VGLUT2 mRNA の発現が示唆された。また、腹側被蓋野 (VTA) の TH 免疫陽性 A10 ドーパミンニューロンでは、特に吻側線状縫線核、尾側線状縫線核吻側部、及び束間核に VGLUT2 遺伝子の発現が観察された。一方、VGLUT2 遺伝子発現を示す TH 陰性ニューロンが吻側縫線核に認められた。前脳では、VGLUT2 遺伝子発現が後部視床下部領域の A11 TH 陽性ニューロンの約半数で認められ、A13 と A15 ドーパミンニューロン群でも VGLUT2 遺伝子発現を示す少数の TH 陽性ニューロンが確認された。

2 重免疫染色法を用いた解析で、A10 ドーパミンニューロンが投射する内側前頭前野、側坐核、線条体内側部、内側中隔核、嗅結節、扁桃体中心核、梨状葉皮質と内側手綱核、さらに A11 ドーパミンニューロンが投射する背側縫線、橋網様体及び胸髄側角において、VGLUT2 陽性反応が VMAT2 や TH 陽性反応と同一バリエーション内に共存することは極めてまれであることが明らかになった。

(考察)

本研究によって、A10 ドーパミンニューロンの一部に VGLUT2 遺伝子発現が認められたことから、ある特定の A10 ドーパミンニューロンがグルタミン酸を放出する可能性が示唆された。さらに、A10 ドーパミンニューロンには、VGLUT2 遺伝子を発現しない別のサブタイプの存在が示された。また、A10 および A11 ドーパミンニューロンの投射領域の軸索では、TH 免疫反応と VGLUT2 遺伝子発現が異なったバリエーションに存在することが明らかになり、ドーパミンとグルタミン酸の異なる放出機構が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では主に形態学的手法を用いて、中脳と前脳のドーパミンニューロンがグルタミン酸を神経伝達物質として用いる可能性について検討している。その結果、A10 ドーパミンニューロンに VGLUT2 遺伝子を発現するグルタミン作動性と VGLUT を発現しないものが存在し、さらに A10 や A11 ドーパミンニューロンの軸索で、ドーパミンとグルタミン酸が異なった機構で放出される可能性を示唆する結果を得た。

従って、A10 や A11 のドーパミンニューロンのグルタミン酸放出の可能性について新しい知見を提供しており、学位論文として高く評価できる。

よって、著者は博士（神経科学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。