

氏名(本籍)	おお もも ひで き 大 桃 秀 樹 (東京都)		
学位の種類	博 士 (神経科学)		
学位記番号	博 乙 第 2589 号		
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Morphological study of ontogenetic development of glutamatergic neurons in the main olfactory bulb (主嗅球におけるグルタミン酸作動性ニューロンの個体発生に関する形態学的研究)		
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	筑波大学講師	博士(医学)	尾 崎 繁
副査	筑波大学准教授	博士(心理学)	綾 部 早 穂

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

嗅覚受容は多くの動物にとって個体や種を維持する上で重要な神経機能である。一般の匂い分子の情報は、鼻腔の嗅細胞で感受され、嗅神経を介して嗅球の僧帽細胞や房飾細胞に伝えられる。すなわち、一般嗅覚情報は嗅細胞、僧帽細胞および房飾細胞という3つのグルタミン酸作動性ニューロンの神経結合で伝達され、これらのニューロンに対して傍糸球体細胞や顆粒細胞による局所回路が抑制性制御を行っている。これまで、グルタミン酸作動性ニューロンに関する形態学解析は遅れていたが、近年、小胞性グルタミン酸輸送体(VGLUT1、VGLUT2、VGLUT3)が発見され、グルタミン酸作動性ニューロンのマーカーとして形態学的研究に利用可能になった。そこで本論文では、嗅覚系を構成するグルタミン酸作動性ニューロンの胎生期から生後の発生とその役割を明らかにするために、ラットの主嗅球におけるVGLUT1およびVGLUT2の発現と局在を *in situ* hybridization 法と免疫組織化学により遺伝子とタンパク質のレベルで解析した。

(対象と方法)

Sprague-Dawley ラットを用い、胎生期から生後早期および成体におけるVGLUT1およびVGLUT2の発現と局在について、*in situ* hybridization 法と免疫組織化学法により遺伝子とタンパク質のレベルで解析した。

(結果)

VGLUT1 遺伝子は、嗅球形成開始後の胎生 17.5 日 (E17.5) に初めて、分化中の僧帽細胞と房飾細胞が存在する嗅球の僧帽細胞層 (MCL) の外側部と内側部に発現し、E18.5 から生後 3 日 (P3) までに MCL 全域に発現するようになった。P5 以後、MCL のほか外網状層や嗅糸球層へ移動中の小型細胞にも発現が確認された。免疫陽性反応は、遺伝子発現の 1 日後、E18.5 に最初に認められた後、成体まで僧帽細胞および外網状層と嗅糸球周囲に局在する小型細胞に継続して観察された。外網状層の遺伝子発現細胞は分布様式から見て房飾細胞と考えられ、僧帽細胞と共に成熟するとグルタミン酸作動性ニューロンとしてVGLUT1を発現すると思われる。この結果は、嗅球投射神経が神経伝達物質として使うグルタミン酸の輸送をVGLUT1が

担うことを示唆している。

VGLUT2 遺伝子発現は VGLUT1 に先行して E12.5 に、終脳の嗅球予定領域で確認された。E14.5 と E16.5 では終脳吻側部の外套層のほぼ全域で発現が認められた。E17.5 から P3 の間は、MCL において分化中の細胞に遺伝子が発現し、その後発現は漸減するが、継続して成体の嗅球にも認められた。P5 から P10 では、MCL から外網状層や嗅糸球層へ移動中の細胞と嗅糸球周囲の小型細胞で発現が認められた。一方、VGLUT2 免疫反応は、E17.5 から P3 の間、未成熟な僧帽細胞に認められたが、P7 以降は消失した。嗅球以外の領域では、E12.5 に遺伝子発現と免疫反応が嗅上皮とここから終脳吻側底部へ移動中の細胞塊に観察された。また、E14.5 の終脳では、終脳壁を貫通して脳室帯に達する陽性線維が確認された。VGLUT2 の終脳や嗅上皮における脳発生早期の発現は、嗅球の形態形成を含めて神経発生やシナプス形成において神経栄養因子として働くグルタミン酸の輸送に VGLUT2 が関わることを示唆している。

(考察)

本論文は、胎生期および生後発達期のラット嗅覚系ニューロンにおいて、VGLUT1 と VGLUT2 がそれぞれに特有の時空間的発現を示すことを明らかにした。これは嗅覚系の発生期の形態形成や生後の成熟期において、グルタミン酸が単に興奮性神経伝達物質として働くだけではなく、異なった作用を持つことを示唆している。また、嗅糸球周囲で同定された VGLUT1 や VGLUT2 発現を示す小型の神経細胞の少なくとも一部は、房飾細胞であると考えられる。嗅球のこの部位に分布する細胞を、一括して傍糸球体細胞として同定し、その多くが GABA 作動性ニューロンと判断してきたこれまでの考え方については、グルタミン酸作動性ニューロンの存在を示唆する本論文の結果を踏まえて、再考する余地があると思われる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

中枢神経系の主たる興奮性アミノ酸であるグルタミン酸を伝達物質として用いるグルタミン酸作動性ニューロンの発生に関する研究は、適切なマーカーの欠如により、遅れていた。本研究では、VGLUT1 と VGLUT2 をマーカーとし、遺伝子発現とタンパク質の局在の両面から、主嗅球でのグルタミン酸作動性ニューロンの解析を行った。その結果、VGLUT1 は主嗅球投射ニューロンが神経伝達物質としてのグルタミン酸の小胞性輸送を担い、VGLUT2 は主嗅球の発生において神経栄養因子として働くグルタミン酸の輸送に関与することを示した。さらに、嗅糸球周囲に分布する細胞の中にグルタミン酸作動性ニューロンが含まれることを示し、嗅覚情報処理における新たな知見を提供した点で高く評価できる。

平成 23 年 12 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、学力の確認を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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。