

氏名(本籍)	いわのまさあき 岩野正晃(神奈川県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲第3719号		
学位授与年月日	平成17年3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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Histochemical Studies on the Olfactory Pathways in the Silkworm Brain with the Support of Neuron Database</b> (ニューロンデータベースを活用したカイコガ脳の嗅覚神経経路の組織化学的研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	山岸宏
副査	筑波大学助教授	医学博士	中谷敬
副査	筑波大学助教授	理学博士	吉村建二郎
副査	東京大学教授	理学博士	神崎亮平

### 論文の内容の要旨

雄カイコガ (*Bombyx mori*) は、嗅覚受容器である触角で雌の性フェロモンを受容すると、定型的なジグザグ歩行パターンを解発し、雌に向かって定位する。この行動は、性フェロモン情報が、触角から嗅覚系一次中枢である触角葉、前大脳側部、そしてジグザグ歩行パターンの指令情報を生成する側副葉を経由する嗅覚神経経路を介して発現する。

先行研究によって、このような嗅覚神経経路を構成する700以上の神経細胞の形態および生理応答が、細胞内記録法や染色法によってすでに同定され、これらは「ニューロンデータベース」に登録されている。嗅覚神経経路を構成するこれらの神経細胞の神経伝達物質を同定することは、神経回路の機能を理解するうえで極めて重要であるが、いまだに行われていない。これは、従来の免疫染色法のみを使用した神経伝達物質の同定手法では、多数の神経細胞が同時に染色され、単一神経細胞レベルでの分離が困難であったことによる。そこで、筆者は以下の3つのステップを踏まえることにより、嗅覚神経経路における神経伝達物質を単一神経細胞レベルで明らかにした。

まず、上記の嗅覚神経経路の中で特に匂い識別に重要な触角葉と、匂い源探索行動の指令情報を生成する側副葉に着目し、共焦点レーザー顕微鏡を使用した免疫蛍光染色法によって、これらの脳領域における神経伝達物質の分布や、神経経路における分布を3次元的に高精度で検出した。その結果、触角葉においては、主な神経伝達物質の分布と、触角葉から嗅覚系二次中枢へいたる4つの経路において、嗅覚系投射神経路ごとに異なった神経伝達物質特性を示すことを明らかにした。また、側副葉においては、抑制性の神経伝達物質と考えられているGABAを、左右の側副葉間を連結する神経経路において確認した。

次に、この免疫染色法によって得られた形態情報と、単一神経細胞の電気生理的応答と3次元形態が体系的に蓄積され、さらにその実験後のサンプルが保存された「ニューロンデータベース」に登録されている単一神経細胞の3次元形態情報との形態学的な比較をおこない、その形態的類似性から単一神経細胞の神経伝達物質を推定した。

さらに、推定された単一神経細胞の神経伝達物質の完全な同定をおこなうために、データベースに登録され、免疫染色で明らかになった神経群と極めて高い形態的類似性を示した単一神経細胞の染色後の脳資料に対して、さらに免疫染色を行う、2重染色法を施用した。この手法の成功によって、触角葉におけるセロトニン免疫反応性遠心性神経の、免疫反応情報、単一神経細胞の詳細な形態、同単一神経の生理応答特性などの情報を統合することに成功し、神経回路内における同神経の機能解析を可能とした。

筆者は、これらの研究で確立した手法を駆使することによって、ジグザグ歩行パターンの指令情報を生成する側副葉神経群を構成する神経群についても詳細に解析し、カイコガの匂い刺激によって解発されるジグザグ歩行の指令情報が、両側の側副葉の持続的興奮応答の形成機構と、それらを相互抑制／相互興奮させる機構によって形成されることを示した。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、免疫染色法を主とした組織化学法と、ニューロンデータベースを併用することにより、単一神経細胞における神経伝達物質を同定する新たな実験手法を確立するとともに、同手法をカイコガの嗅覚系に適用することによって、神経回路の詳細な機能分析を行った。本手法を用いた分析により、触角葉においては、嗅覚系投射経路が4つ存在すること、またこれらの各投射経路は神経伝達物質の特性が大きく異なっていることをはじめて示した。また、側副葉の研究においては、カイコガのジグザグ歩行パターンの指令情報が両側の側副葉における持続的興奮の形成、左右の側副葉間における相互抑制／相互興奮を基盤とした神経機構により生成されることをはじめて示すにいたった。このようなまったく異なった手法を統合した本研究で得られた知見は、従来の組織学的手法・生理学的手法のみの研究では得難い知見であり、神経回路の機能解析の上で、両手法を統合した手法がきわめて有効であることを実証するとともに、昆虫の嗅覚情報処理や嗅覚行動の発現を指令する神経回路の詳細をはじめて明らかにした。本研究は、昆虫の脳における神経回路解析のための重要な方法論および資料を提供した点で高く評価できる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。