

# 論文審査の結果の要旨

氏名 戸塚 祐介

## 成績 合格

本論文の内容は2部構成になっており、成体脳における神経系前駆細胞が既存神経回路網からどのような神経刺激に対して応答し、生理的变化が生じるのかを解析した。中間径フィラメントであるネスチンは神経系前駆細胞のマーカーとして知られており、ネスチン-GFP トランスジェニックマウスを用いることで、神経系前駆細胞を同定した。そして電気生理学的手法を導入し、神経系前駆細胞と既存神経回路網との機能的関わりを解析することで、成体脳回路の持つ可塑性の理解に迫った。

第1部では、興奮性 GABA 入力成体海馬神経系前駆細胞のニューロン分化を促すことを明らかにした。成体海馬ニューロン新生過程において、まず神経幹細胞としての性質を持つタイプ1細胞から、ニューロンとしての性質を一部獲得し盛んに分裂を繰り返すタイプ2細胞が分化する。そしてこの細胞から新生ニューロンが生み出されていることがわかってきた。本研究では、海馬回路の活動が、これら神経系前駆細胞に働きかけることでニューロンへの分化が促され、ニューロン新生が促進されると考えた。そこで、ネスチン-GFP マウスを用いて、当研究室福田によって確立された GFP を指標にした前駆細胞の急性脳スライス内での同定、及びパッチクランプ法を適応した。そして、海馬神経回路からの刺激が前駆細胞に伝わるかどうかについて検討を行った。

その結果、タイプ1細胞では神経伝達物質を介した神経入力は観察されなかったが、タイプ2細胞では GABA を介したシナプス入力が観察された。解剖学的な観察からも、GABA ニューロンの末端がタイプ2細胞へ投射している結果が得られた。これまでに分裂中の前駆細胞にシナプスがあるという報告は無く、極めて新規性の高い発見となった。また動物が学習行動をしている時、海馬の GABA ニューロンが特殊なパターン（シータ波リズム）で同期発火することが知られており、このシータ波が記憶の形成に深く関わっていると考えられている。興味深いことに、実験的にシータ波と同じ刺激を海馬貫通繊維（海馬へのメインインプット）に加えると、GABA ニューロンが興奮し、タイプ2細胞に刺激が伝わるということがわかった。

また GABA 入力により、タイプ2細胞が脱分極することを明らかにした。通常成体脳内において、GABA は抑制性神経伝達物質であるが、タイプ2細胞では細胞内塩化物イオン濃度 ( $[Cl^-]_i$ ) が高いため、GABA 受容体が活性化することで細胞内からの  $Cl^-$  の流出が起こり、膜が脱分極する。膜の脱分極は引き続き、電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネルを開口させ、細胞内への  $Ca^{2+}$  流入を誘起した。この反応が引き金となり、ニューロン分化を誘導する転写因子 (NeuroD) の発現量が増加し、ニューロン分化が促進されることを示した。さらに、マウス個体を用いた評価系においても、GABA 性刺激を高める薬剤を投与することで、海馬新生ニューロンの数が増加することを併せて明らかとした。本研究により、成体海馬の神経系前駆細胞への興奮性 GABA 入力はニューロン分化を促すシグナルとして働き、新生ニューロンの数を増やしていることが示された。

第2部では、興奮性 GABA 入力成体大脳皮質神経系前駆細胞の BDNF 放出を促す可能性について述べられている。

これまでの研究から、大脳皮質においても分裂能を有する神経系前駆細胞の存在が認められてきた。当研究室の松村らにより、この細胞は培養系においては多分化能（ニューロンやグリア細胞への分化）を有することが示されてきたが、大脳皮質神経回路内における機能については全く不明であった。そこで本研究では、この神経系前駆細胞自身が既存神経回路網と機能的関わりを持つことで、大脳皮質神経回路の機能や可塑性に関わっているのではないかと考え、この細胞がいかなる神経入力を受け取り、またどのような生理学的役割を果たしているかについて解析することを目的とした。

パッチクランプ法による電流記録の結果、神経系前駆細胞において GABA 性シナプス入力が観察された。しかしこの細胞は、海馬のタイプ2細胞とは異なり、グリア細胞様の性質を示した。また解剖学的な解析からも、GABA ニューロンからの直接的な入力を受け取っていることが示され、神経系前駆細胞も皮質内での情報処理過程に重要な役割を果たしていることが示唆された。またこの細胞は細胞内 [Cl<sup>-</sup>] が高く、GABA が興奮性に作用することが明らかとなった。この興奮性シグナルは引き続き、細胞内への Ca<sup>2+</sup> 流入を誘起した。

では、大脳皮質の神経系前駆細胞への興奮性 GABA 入力はどのような生理学的効果をもたらすのか。これまでに、グリア細胞は液性環境維持や代謝的支援によるニューロンの支持と共に、神経入力を受け取り栄養因子などを産生することで、シナプス伝達を修飾することが示唆されてきた。そこで神経系前駆細胞における栄養因子の発現について調べた。その結果、この細胞は BDNF (brain-derived neurotrophic factor : 脳由来神経栄養因子) を発現していることが示唆された。BDNF は、GABA 性シナプス伝達の修飾に加えて、軸索末端に働きかけることで新たなシナプスの形成を誘導するなど、神経回路に可塑性をもたらす極めて重要な栄養因子である。

これまで成体大脳皮質神経回路における神経系前駆細胞の機能に関しては全く不明であったが、本研究により、この細胞は神経回路網からの興奮性 GABA 入力を受け取ることで、BDNF を放出していることが強く示唆された。放出された BDNF は、GABA 性シナプス伝達の効率を高める他、新たなシナプス形成を誘導することで、大脳皮質神経回路の再編成や可塑性を生み出すことに大きく関わっていると考えられる

本研究では、成体脳神経系前駆細胞と既存神経回路網との機能的関わりについての解析を行った。海馬および大脳皮質において、分裂能を有する神経系前駆細胞は共に興奮性 GABA 入力を受け取っており、神経回路の活動に伴いダイナミックな応答を示すことが初めて示された。この興奮性 GABA 入力は、前駆細胞のニューロン分化や神経栄養因子の放出を促す極めて重要な因子であることが結論付けられ、この性質が神経回路へ可塑性をもたらしていると考えられる。成体脳内における情報伝達システムはニューロン間だけではなく、神経系前駆細胞もまたシナプスを形成し、脳回路の機能発現に関わっていると考えられ、神経回路の活動に依存した脳の可塑性を理解する上で重要な知見が得られた。したがって、論文提出者は、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。