

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 成塚 裕美

申請者は、マウス嗅球において、投射ニューロンの細胞体近傍に特異的に樹状突起性抑制性シナプスを形成する **perisomatic-targeting** 抑制性介在ニューロンを発見し、その詳細な形態とシナプス形成の相手方について解析を行った。その結果、以下の知見が得られた。

1. 未分化な神経細胞に発現する **nestin** 遺伝子のプロモーターの制御下に **GFP** を発現する遺伝子改変マウスにおいて、成体嗅球の顆粒細胞層を観察したところ、強く **GFP** を発現する細胞が観察された（便宜上”**type S cell**”と呼ぶ）。**type S cell** は、**nestin** を弱く発現しているものの、**NeuN** や **GAD67** を発現し、スパインを有する長い樹状突起を持っていた。また、既知の顆粒細胞と同様に、軸索は観察されなかった。これらの形態的特徴から、**type S cell** は **nestin** を発現するものの、例外的に成熟した顆粒細胞であると考えられた。**type S cell** の樹状突起を観察すると、その先端は投射ニューロンの樹状突起が走行する外叢状層まで伸びておらず、僧帽細胞層にとどまっていた。また、**type S cell** の割合は全顆粒細胞の約 3.4% を占めていた。
2. 細胞内に色素を注入して単一 **type S cell** を標識した結果、その樹状突起の先端には巨大な球状構造 (**dendritic bouton**) があり、僧帽細胞の細胞体や **axon hillock** 付近に特異的に接触させていることが明らかになった。また、野生型マウスの嗅球においても、細胞内注入法によって **dendritic bouton** を持つ **type S cell** 様の顆粒細胞が標識され、その存在が明らかになった。
3. **GFP** 抗体を用いた免疫電顕による解析を行った結果、**type S cell** は **dendritic bouton** において、僧帽細胞の細胞体近傍とシナプスを形成しており、**perisomatic-targeting** タイプの細胞であることが明らかになった。このシナプスは双方向性のシナプスで、**dendritic bouton** 側から僧帽細胞の細胞体近傍への対称性シナプスと、僧帽細胞の細胞体から **type S cell** 側への非対称性シナプスが近接していた。
4. 僧帽細胞に注目すると、約 87%の僧帽細胞において、細胞体近傍に少なくとも 1 つ以上の **GFP** 陽性の **dendritic bouton** が観察された。また、**type S cell** に注目すると、細胞内注入で標識した **type S cell** のうち約 70%のものが、少なくとも 1 つ以上の **dendritic bouton**

を僧帽細胞の細胞体近傍に接触させていた。

5. 広範囲に位置する多数の僧帽細胞とシナプスを形成する **dendritic-targeting** 顆粒細胞とは対照的に、**type S cell** は、互いに近傍に位置する少数の僧帽細胞に **dendritic bouton** を接触させていることが明らかになった。

6. **type S cell** の細胞体が、顆粒細胞層の特定の部位に位置するかを調べた結果、顆粒細胞層の中でも上層と下層の間の中間層に選択的に位置していた。

7. **dendritic-targeting** 顆粒細胞では、成体マウスにおいても、全てのスパインとフィロポディアのうち、フィロポディアの占める割合は約 **28%** と高かった。一方、**type S cell** では、フィロポディアの割合が約 **9%** と低いことが明らかになった。

以上のように、本研究において申請者は、これまで報告されていなかった嗅球における **perisomatic-targeting** タイプの顆粒細胞を発見し、**dendritic-targeting** タイプの顆粒細胞とは形態的に異なっていることを示した。これにより、両サブタイプの顆粒細胞が機能的に分化している可能性が示された。本研究で明らかになった **type S cell** の知見は、嗅球神経回路における抑制性介在ニューロンのサブタイプ特異的な機能分化や、その統合的な働きの説明への足がかりになり、さらなる嗅球情報処理の解明に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。