

論文審査の結果の要旨

氏名 井出 陽子

本論文はマウス成体海馬における新生ニューロンの成熟過程について述べられている。

従来、哺乳類の脳はその構成要素のニューロンが分化能力を消失しているため、一度損傷すると再生しないと言われてきた。ところが、およそ 20 年前、海馬歯状回と側脳室下帯の 2 つの脳部位では成体でも神経幹細胞が存在し、これの増殖・分化によってニューロンが生まれ続けていることが発見された。その後、成体における神経幹細胞の増殖・分化機構、新生したニューロンの特性などが解明されてきた。しかし、これらのニューロン新生が海馬依存的行動にどのような影響を及ぼすのかという見地からは、未解明なことが多い。本研究では、海馬の新生ニューロンが神経回路網に統合される過程を追跡することでニューロン新生の機能性を解明することを目的とした。

海馬の神経幹細胞は、歯状回顆粒細胞下層という特定領域にのみ存在し、顆粒細胞と呼ばれるニューロンに分化することが知られている。本研究では、新生ニューロンをラベルするために、神経幹細胞特異的に発現する Nestin に着目し、Nestin 陽性細胞とそれから由来する新生ニューロンを GGFP(膜輸送シグナルを連結させた EGFP)でラベルする方法を用いた。これにより、細胞突起の観察が容易となり、樹状突起や軸索終末の観察が可能となった。

顆粒細胞は多くのスパイン(樹状突起棘)を持つ樹状突起を貫通線維へ伸ばす一方、‘苔状線維’と呼ばれる特殊な軸索を CA3 領域に伸ばし、small terminal や large bouton といった数種類の軸索終末を形成する。本研究の共焦点レーザー顕微鏡観察により、新生後 7 日の時点ですでに新生ニューロンがこれら 2 種類の軸索終末を有していることが発見され、その多くがグルタミン酸を放出するシナプス小胞を保有していることがわかった。通常、成熟した顆粒細胞の small terminal は抑制性介在ニューロンと、large bouton はハイラスでは興奮性介在ニューロンである苔状細胞と接続し、CA3 では錐体細胞と接続することから、顆粒細胞が如何に多様なニューロンに情報を伝達させるかを窺える。

本研究ではさらに、新生後 7 日目の若い新生ニューロンが成熟したニューロン同様に情報伝達を行い得るか、形態学的な解析を進めた。GGFP でラベルされた新生ニューロンの軸索終末を、透過型電子顕微鏡によって解析したところ、ニューロンが次のニューロンへ情報伝達するときに必要となるシナプスという構造を形成していることがわかった。そして新生後 7 日目の時点でこのシナプスは、成熟した顆粒細胞の軸索終末同様、

シナプス後細胞のスパインに対して非対称性シナプスを形成していることがわかった。軸索終末の総数は新生後 7 日以降に倍増はするものの、このように若い新生ニューロンの軸索終末がすでに機能的に働いているという所見が得られた。

また、新生後 7 日の若い新生ニューロンの細胞体や樹状突起の軸部の近傍に GABA やアセチルコリンの軸索終末が接近していることが、共焦点レーザー顕微鏡で観察された。先行研究により、新生ニューロンへ分化する前段階であるタイプ-2 細胞(神経幹細胞の一種)から GABA 入力を受け取ることが電気生理学的に解明されている。本研究ではさらに、二重免疫電顕法による解析を行い、アセチルコリンの軸索終末が新生後 7 日目の若い新生ニューロンとアポジション(接触)を形成しており、その中にはシナプスを形成しているものも観察された。よって、若い新生ニューロンが少なくとも GABA とアセチルコリンの入力を受け取ることが示唆された。

以上のことから、若い新生ニューロンは、少なくともアセチルコリンや GABA 入力を受け取り、それに応じてハイラスや CA3 に存在するニューロンにグルタミン酸を介して情報を伝達していることがわかった。一方、この時点では樹状突起でスパインは形成されておらず、貫通線維からのグルタミン酸の入力は受けていないと考えられる。よって若い新生ニューロンは、海馬内で成熟したニューロンとは異なった情報伝達を行っていると考えられる。これまで、行動学的手法を用いた実験では、新生後 1-2 週の新生ニューロンの痕跡条件付けや食嗜好における社会的伝達といった特定の海馬依存的学習行動への関与が報告されている。今回の形態学的解析により明らかとなった若い新生ニューロン特有の情報伝達は、これを支持する重要な知見となった。

なお、本論文は、京都大学大学院 医学系研究科 金子 武嗣教授、藤山 文乃准教授、京都大学 中央電顕室 古田(岡本) 敬子技官、熊本大学大学院 医学薬学研究部 玉巻 伸章教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。