

博士論文審査報告書

論文題目：Analyses on the neural network formation responsible for motor control in a simple vertebrate
「脊椎動物における運動制御回路形成の解析」

申請者：プリシラ・カーン・モリー (Pricila Khan Moly)

1. 論文内容の要旨

グリシンは脊椎動物の抑制性神経細胞のシナプスにおける神経伝達物質であり、運動のフィードバックやフィードフォワード制御などに重要な役割を果たしている。たとえば、そのシナプスを遺伝あるいは薬理的に阻害すると、びっくり病などさまざまな運動障害が起きる。しかしグリシン作動性神経回路の発生についてはまだよくわかっていない。本論文では、ヒトと基本的な体の構造が似ているが、より単純で分子遺伝学的解析にも適しているゼブラフィッシュを用いて、グリシン作動性神経回路の発生について単一細胞レベルで詳細な研究をおこなった。ゼブラフィッシュの後脳（哺乳類の延髄に相当）には、マウスナー細胞とよばれる興奮性の神経細胞が一对存在し、様々な感覚情報を集めて、いつ、どちらに逃げるかを決定する指令官の役割をしている。このマウスナー細胞は複数のグリシン作動性神経回路によって抑制制御されている事が電気生理学によって示されている。そこで、さまざまな発生時期の胚において、抗グリシン抗体とマウスナー細胞を染め出す抗体によって2重蛍光染色し、共焦点顕微鏡を用いて観察した。その結果、マウスナー細胞の側方樹上突起に、グリシン抗体陽性の神経軸索の接触が最初にかかる事をまず明らかにした。次に、この軸索をのぼしている細胞体がどこにあるかを探すため、グリシン作動性神経細胞のマーカーであるグリシントランスポータ2遺伝子制御配列下に GFP をつないだ DNA コンストラクトを受精卵に顕微注入する事によって、グリシン作動性神経細胞において GFP をモザイクに発現させた。その結果、脊髄にある巨大なグリシン作動性交連神経細胞がのぼす軸索がマウスナー細胞と接触する事が判明し、この細胞を McCoLA と命名した。また、これとは別に、抗グリシン抗体を用いて、後脳の第5節にあるグリシン作動性神経細胞が、発生初期には一对しかなく、互いに交叉したのち脊髄に軸索を延ばす特徴的な軸索経路をもつことから、ひとつひとつ同定可能である事を示し、GlyCoPLDr5 と命名した。脊椎動物において同定可能なグリシン作動性細胞がみつかったのは、これが初めてである。また、グリシントランスポータ2がないのでグリシン作動性神経細胞がないと、これまで考えられてきた前脳や中脳の領域でも、グリシン抗体陽性の細胞が、GABA 抗体陽性細胞と部分的に重なって存在する事を示し、これらの領域でもグリシンが何らかの役

割をもつ可能性を示唆した。

2. 論文審査結果

本論文では、脊椎動物における運動制御において重要な役割を担うグリシン作動性抑制性神経細胞の発生について、ゼブラフィッシュ胚をモデルとして詳細に調べている。そのために、抗グリシン抗体による免疫組織化学、グリシントランスポータ2プロモータ制御下で GFP を発現する DNA コンストラクトによる遺伝的モザイク解析などを組み合わせ、共焦点顕微鏡によって、単一細胞レベルでの神経突起同士の接触について詳細に観察した。その結果、マウスナー細胞に軸索をのぼして最初に接触するのは、脊髄のグリシン作動性交連神経細胞 McCoLA であることを明らかにし、さらに、同定可能な抑制性神経細胞 (GlyCoPLDr5) を脊椎動物ではじめて発見した。

本論文は脊椎動物の抑制性神経回路が初期発生においてどのように形成されるかを、一つ一つの細胞レベルで明らかにした最初の研究であり、今後、グリシン作動性神経回路形成を研究するための重要な基礎を見いだしたものとして評価できる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成23年6月14日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査： 八田 公平 印

副査： 渡辺 憲二 印

： 宮澤 淳夫 印

： 小田 洋一 印

(名古屋大学大学院理学研究科 教授)