HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マウス小脳パンソー構造の分子解剖学的研究 ： パンソーはプルキンエ細胞の軸索初節に対してGABA作動性の化学的抑制を行うための分子解剖学的基盤を欠く［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	岩倉, 淳
Description	配架番号：2075
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11203号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55713
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Atsushi_Iwakura_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　岩倉　淳

主査　教授　神谷　温之
審査担当者　副査　教授　渡邉　雅彦
副査　教授　吉岡　充弘
副査　教授　大場　雄介

学 位 論 文 題 名

マウス小脳パンソー構造の分子解剖学的研究：パンソーはプルキンエ細胞の軸索初節に対して GABA 作動性の化学的抑制を行うための分子解剖学的基盤を欠く
(Lack of Molecular-Anatomical Evidence for GABAergic Influence on Axon Initial Segment of Cerebellar Purkinje Cells by the Pinceau Formation)

小脳皮質において、GABA 作動性介在ニューロンであるバスケット細胞の軸索はプルキンエ細胞の軸索初節を幾重にも取り囲み、パンソーと呼ばれる構造を形成する。このユニークな構造はプルキンエ細胞軸索初節に対して電気的抑制を行うという仮説と、GABA を介した化学的抑制を行うという 2 つの仮説が存在する。電気的抑制仮説では、パンソーは電位依存性ナトリウムチャネルを欠く一方、電位依存性カリウムチャネルを豊富に発現し、バスケット細胞軸索同士が隔膜様接着を介して密着することから、パンソーが電流の吹き出し口となって過分極性の電場を形成しプルキンエ細胞の軸索初節の興奮性を受動的に抑制すると考えられている。しかし、GABA を介した化学的抑制に必要な神経化学的基盤については調べられていない。本研究はこの点について C56BL/6 マウスを用いた分子形態学的な解析を行った。通常電子顕微鏡法による観察では、プルキンエ細胞軸索初節の近位部はバスケット細胞軸索とわずかにしか接触せず、髄鞘が巻き始める部位までのほとんどがアストロサイトによって覆われていた。次に、抑制性シナプス伝達に関与する分子であるグルタミン酸脱炭酵素（GAD）、小胞膜抑制性アミノ酸輸送体（VIAAT）、アクティブゾーン関連分子であるバスーン、$GABA_A$ 受容体α1 サブユニット、抑制性シナプス接着分子であるニューロリジン 2 の発現をパンソー領域において調べた。包埋後免疫電子顕微鏡法により GAD と VIAAT を標識した金コロイドの数を計測すると、プルキンエ細胞軸索初節と接触するパンソーではプルキンエ細胞の細胞体シナプスを形成するバスケット細胞軸索の 5 分の 1 程度であった。バスーン、ニューロリジン 2、$GABA_A$ 受容体α1 サブユニットは細胞体シナプスに強く発現していたが、アンキリン G で標識される軸索初節には検出されなかった。したがって、パンソーはプルキンエ細胞軸索初節に対して GABA を介した化学的抑制ではなく、電気的抑制に代表

される他の機序による抑制を行うことを示した。

この発表に対して審査員から種々の質問がなされた。バスケット細胞がプルキンエ細胞に対し、軸索初節と細胞体では２つの異なった抑制をおこなっている理由についての質問に対し、発表者はバスケット細胞の発火に伴う軸索初節での抑制はそれとほぼ同時に行われる速い電気的抑制であるのに対し、細胞体での抑制は軸索初節における電気的抑制よりもわずかに遅れて行われる化学的抑制であることから、このような抑制のタイミングのずれがプルキンエ細胞の活動性を効率的に抑制するからではないかという考えを示した。プルキンエ細胞の軸索初節における電位依存性ナトリウムチャネルの密度に関する質問に対し、発表者は包埋後免疫電子顕微鏡を用いた解析結果を用いて、電位依存性ナトリウムチャネルがプルキンエ細胞の軸索初節細胞膜上に高密度で集積していることを説明した。プルキンエ細胞の軸索初節を覆うグリア構造に抑制に関する機能的役割があるのかどうかという質問があった。これに対して、発表者は過去にプルキンエ細胞の軸索初節がそれを覆うグリアによって抑制されることを証明した報告がないことを述べた上で、グリアが軸索初節の興奮性を調節する可能性については今後の研究課題の１つであるとした。パンソーでは Nav を欠き Kv が豊富に存在することに関しての質問に対し、発表者はパンソーを構成するバスケット細胞の軸索では活動電位の発生が抑えられる一方、Kv を介した外向き電流が発生しやすいため、バスケット細胞の軸索が電流の吹き出し口となる仕組みを説明した。シナプス構造の有無について過去の報告と異なる結果が示されていることに関しての質問に対し、発表者は実験に使用した動物種や解析方法の相違に起因している可能性を説明した。パンソーとプルキンエ細胞軸索初節の間における電気的抑制機序についての質問に対し、発表者はパンソーからの電流の吹き出しに伴って生じた正の電場がパンソー内部と比較して相対的に電気抵抗の低いプルキンエ細胞の軸索へと電流を流す結果、軸索初節の細胞膜を挟んで電位差が生まれることで軸索初節内部の電位が低くなることを説明した。この研究成果は Journal of Neuroscience 誌等でも高く評価され，審査員はプルキンエ細胞の軸索初節における抑制機構に関する基盤的研究であると評価し、本学位審査は終了した。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。