



Title	発達期マウスのプルキンエ細胞における「勝者」登上線維シナプスの分子解剖学的強化基盤〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	新田, 麻子
Description	配架番号 : 2941
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16550号
Issue Date	2025-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95846
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NITTA_Asako_review.pdf, 審査の要旨



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 新田 麻子

	主査	教 授	藤山 文乃
審査担当者	副査	准教授	夏賀 健
	副査	准教授	舟山 恵美

学 位 論 文 題 名

発達期マウスのプルキンエ細胞における
「勝者」 登上線維シナプスの分子解剖学的強化基盤
(Molecular and anatomical strengthening of “winner” climbing fiber synapses
in developing mouse Purkinje cells)

本研究は、発達期における活動依存的な神経回路の精緻化過程に関する組織学研究である。げっ歯類の小脳プルキンエ細胞は、生後初期に5本以上の登上線維の入力を受けるが、生後3週の終わりには1本の登上線維による単一支配が完成する。過去の電気生理学を中心とした研究により、生後9日目頃までに入力線維間の優劣が明らかとなり、1本の線維だけが樹状突起に進展して「勝者」となり残存するが、それ以外の「敗者」は全て除去されることがわかっている。しかし、単一支配の確立以前に生じる「勝者」の強化過程には未だ不明な点が多い。そこで申請者は、この強化過程を明らかにするために、生後1－3週齢の野生型マウスを用いて「勝者」と「敗者」線維が形成するシナプスの微細構造と分子発現について組織学的検討を行った。神経標識法と多重免疫染色を組み合わせた定量解析により、樹状突起へ移動を開始した「勝者」線維の樹状突起や細胞体シナプスで、シナプス後部のAMPA型グルタミン酸受容体の選択的増加を明らかにした。また、樹状突起シナプスでは、シナプス前終末で開口放出関連分子RIM1/2の発現が選択的に増加していることを示した。さらに、連続電顕を用いた三次元立体再構築により、「勝者」線維が形成するシナプスではシナプス前部・後部が複雑に分葉化している上、シナプス後肥厚の面積が増大するなどの選択的な形態学的強化も伴うことを明らかにした。以上の結果から、「勝者」線維のシナプス面積の増大と機能分子の発現増加を中心とする分子解剖学的な強化過程の存在が示唆された。

審査にあたり、まず副査の夏賀准教授より、「敗者」の最終的な除去メカニズムについて質問があった。申請者は、現在のところ未解明だが、有力な候補としてグリア細胞による貪食があげられると回答した。その根拠については、神経筋接合部での報告や、シナプス除去が盛んになる生後2週目に、グリアの貪食活性に関わるとされるリソソーム活性が上昇していることなどの傍証をあげて説明した。次いで、実験手法に関し「神経標識法により蛍光標識された線維は基本的に全て解析したのか」という質問もあった。申請者は、解析を正確に行うため、細胞体から樹状突起までの経路を明瞭に追跡できるものを選んで解析したこと、また、「敗者」のみが標識されている細胞、すなわち標識線維が細胞体にとどまるものは解析対象外としたが、それ以外は除外せず解析したと回答した。

次に、副査の舟山准教授より、登上線維の単一支配化メカニズム研究における、本研究の位置づけについて質問があった。申請者はまず、現在までにシナプスレベルで「勝者」と「敗者」の違いを明らかにした研究がなかったという背景を説明した。このため、「勝者」と「敗者」は主にシナプスの数による量的な違いだと予想されてきたが、申請者の研究結果は両者の間に質的な違いも生じるという新たな視点を提供するものであることを説明した。さらに「勝者」の強化開始は、勝敗が決定するよりも先か後か？という質問に対しては、勝敗の決定＝樹状突起での支配領域の確立、とすれば、「勝者」の強化は樹状突起への勝敗の決定よりも前に始まり、このことが支配領域確立の駆動力になっている可能性があるという回答した。舟山准教授からは、後日論文のフォーマットについての助言が申請者に送られている。

最後に、主査の藤山教授より、平行線維が VGlut1 とともに発生初期に発現している VGlut2 の免疫活性が、今回の実験で登上線維に発現する VGlut2 シグナル強度を標準化するにあたって影響を与えないかという質問があった。これに対し申請者は、実際は多少の影響はあるものの、原則的には切り分けられていると回答した。また、AMPA 型受容体の蛍光強度は、シナプスの受容体の数をどの程度反映しているかに関し質問があった。申請者は、本研究では免疫電顕による定量解析を行っていないという限界を述べた上で、AMPA 受容体の蛍光像はシナプス後部の足場タンパクである PSD95 と類似しており、シナプス後部での発現量を反映すると判断されると回答した。最後に、登上線維の「勝者」を決める最初のトリガーを決定するシグナル分子に関する質問に対しては、現時点でまだ同定されておらず、今後の検討課題であると回答した。

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十分な資格を有するものと判定した。