

氏名(本籍) 徳岡 晋太郎 (東京都)

学位の種類 博士(医学)

学位授与番号 甲第632号

学位授与日付 平成28年3月17日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 成体マウス脳における嗅覚系新生ニューロンの遊走に関する三次元構造解析

審査委員 教授 宮本 修 教授 藤本 亘 教授 猶本 良夫

#### 論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

ほ乳類脳の側脳室下帯(SVZ)で新生した細胞は吻側遊走経路を嗅球に向かって遊走し、嗅球各層のニューロンに分化することが知られているが、新生ニューロンが嗅神経回路へ組み込まれる詳細な過程については不明な点が多い。本研究の目的は、生後に新生するとされる嗅球傍系球体細胞と顆粒細胞の起源を生体細胞標識法により特定し、これらの新生ニューロンが遊走して嗅球に到達する過程を明らかにすることにある。成体マウスのSVZにCell Tracker Orange (CTO)を注入し、1~7日後に灌流固定後、脳の矢状断切片を作製した。この切片に対して、CTOに対する抗体、抗MASH-1抗体(神経前駆細胞のマーカー)、抗PSA-NCAM抗体(神経芽細胞のマーカー)による多重免疫染色を行い新生細胞の立体構造を同定し、さらに、透過型デジタル電子顕微鏡を用いて微細構造を解析した。その結果、遊走経路におけるCTO標識細胞はPSA-NCAM陽性の新生ニューロンであり、遊走経路の各部位において突起の形態と進展極性に多様性があることが分かった。続いて、嗅球ニューロンのマーカーであるtyrosine hydroxylase (TH)の遺伝子発現が遊走早期に見られることをTH-GFPマウスを使って明らかにした。

以上の結果から、SVZで新生したニューロンは遊走しながらその形態を変化させて嗅球に到達しており、特に、標識3日後の標本ではSVZでの新生から嗅球に到達するまでの全過程が同一切片で観察できた。さらに、化学的性質を決める遺伝子は形態変化より前に発現していることが判明した。このように、本研究で用いられた生体標識法とデジタル顕微鏡による微細構造解析法は、遊走と分化の過程を同一標本で詳細に観察できる利点があり、生理的状態だけでなく病理的状態における幹細胞による神経再生のメカニズム解明にも応用できるという意義がある。

## 学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位審査発表会においては、本研究の主目的である側脳室下帯で新生したニューロンが吻側遊走経路を遊走して傍糸球体細胞に分化する過程の解明が、生体標識法と最新のデジタル顕微鏡の手法を使って明確に示された。新生ニューロンは遊走経路の各部位で突起の形態と伸展極性を変化させながら嗅球に到達することが示され、その際、嗅球ニューロンのマーカーである TH 遺伝子が遊走の早期に発現していることが示された。これらのことから、化学的性質を決める遺伝子は、形態変化より前に発現し、分化の方向性が早い段階で決定されていることが考察された。学位申請者のプレゼンテーションの後、審査委員との質疑応答が行われた。病態時における新生ニューロンの挙動、*in vitro* での検討の可能性、神経前駆細胞や神経芽細胞の分裂・増殖の可能性、標識ニューロン遊走の経時的な変化、ほとんどの神経芽細胞は CT0 陽性である一方で神経前駆細胞が標識されていない理由、傍糸球体細胞において GABA とドパミンが共存している理由、新生ニューロンの顆粒細胞への分化について、など多彩な質問が行われた。これらの質問に対して申請者は、これまで得られている所属研究室あるいは他の研究室での先行研究の結果を踏まえながら的確に回答した。さらに、嗅覚障害時の SVZ におけるニューロン新生や遊走について今後検討する必要性、および、本研究手法を用いた様々な他の脳領域におけるニューロン新生や神経再生に関する研究への応用可能性についても言及した。

本研究の学術的重要性、研究手法の妥当性と応用性、結果の解析・洞察ともに学位論文として十分な水準に達しており、今後さらなる研究の発展が望めると考えられた。審査委員による合議の結果、本申請者の学位審査は合格と判定した。