

氏 名 常 川 直 子

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第704号

学位授与の日付 平成15年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Development of GABAergic neurons in mouse superior
colliculus

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 川口 泰雄
教授 伊佐 正
教授 小幡 邦彦
教授 村上 富士夫 (大阪大学)

論文内容の要旨

γ -Aminobutyric acid (GABA) is a major inhibitory neurotransmitter in the mammalian central nervous system (CNS). The levels of GABA and its synthetic enzyme glutamate decarboxylase (GAD) in superior colliculus (SC) are high. They investigated the early development of SC, including early GABAergic neurons, using GAD67-GFP knock-in (GAD67^{+/-} and GFP^{+/-}) mice to mark GABAergic neurons and observe their migration.

It was revealed by observation of cells labeled with BrdU that neurons in mouse SC generated from E 11.5 to E 15.5 with a peak at E 13.5. The generation of GABAergic neurons had a peak at E 12.5 and they migrated and spread throughout SC by E 16.5. By BrdU and DsRed2 labeling, the inside-out cell migration pattern was not evident in SC compared with that in neocortex. They observed the shape of cell bodies, arrangements, nestin-immunoreactivity of SC cells, and time-lapse of living GABAergic neurons. These observations indicated radial migration of GABAergic neurons and generation in the ventricular zone. They made cuts at an early stage that intercept either or both radial and tangential cell migration in SC, and the result of this experiment also supported our conclusion. It was also noticeable that the surface of the SC was covered with GABAergic fibres at an early stage, when GABAergic cells were not yet differentiated in SC.

論文の審査結果の要旨

中脳の上丘は大脳皮質と同じように、層構造を成している。上丘では、抑制性神経伝達物質 GABA とその合成酵素 GAD の含量が中枢神経系でも特に多い部位であり、その機能にも GABA が深く関与していることが報告されている。近年、大脳新皮質の形成において興奮性ニューロンが radial 方向に移動するのに対し、GABA ニューロンは ganglionic eminence から新皮質にむかって tangential 方向に主に移動することが報告された。そこで本研究では中脳の GABA ニューロンの発生も新皮質と同様な様式をとるのかどうか、中枢神経系に共通する移動様式があるのかを明らかにするため、神経化学部門で作成された GABA ニューロンを GFP で蛍光ラベルしたマウス (GAD67-EGFP ノックインマウス) を用いて、上丘 GABA ニューロンがどこで発現し、どのように上丘内に配置されていくのかを調べた。

発生中の上丘ニューロンをプロモデオキシウリジンで標識し、その誕生時期を調べたところ、上丘の細胞は大脳皮質よりも早期にできていることがわかった。蛍光物質を発現させるベクターで ventricular zone 近隣の細胞を標識した実験からは、大脳皮質と同じく inside-out 様式で細胞が配列されることが示唆された。上丘 GABA ニューロンの誕生は、E11.5 から始まり、E15.5 にはほぼ終わっていた。発生途上の GFP でラベルされた GABA ニューロンは脳室 (中脳水道) から外表に向かった紡錘形で、両端から突起をまっすぐ伸ばしていた。この形状により、GABA ニューロンは radial 方向へ移動しているのではないかと予測し、これを確認するため、radial 方向または tangential 方向の移動を妨げるような上丘切断実験と、移動中の GFP ニューロンのビデオ観察を行った。表面に平行に上丘内の一部に切り込みをしたところ、切断部で脳室側の GFP ニューロンの密度が上がり、表面側の細胞数が減少した。上丘から脳切片を作成し、培養液中に GFP ニューロンの移動を数時間観察すると放射状に動いていくものが見られた。移動速度は、皮質 GABA ニューロンより遅いことがわかった。これらの結果より上丘においては、大脳皮質とは異なり、GABA ニューロンも興奮性ニューロンと同様に radial migration によって発生することが明らかになった。

また、胎生で GABA ニューロンが上丘に分布するよりも早期に GABA 性の交連線維が表層に多数みられた。胎生後期には表層には少なくなり深層に存在し、徐々に発現してきた多数の GABA ニューロンの間に散在しみつめることが困難となった。

GABA ニューロンが主に radial migration によるものだということを調べ報告したものはこれまでにはなく、本研究は上丘の GABA ニューロンの発生が大脳新皮質とは異なるということ調べた最初の研究である。さらに中枢神経系の中でも胎生期の GABA ニューロン由来の交連線維に言及した研究はこれまでにはなく、その発達期における役割については不明な点も残るが興味深いことである。これらから、申請者の論文は学位論文として十分ふさわしいものであると審査委員会は判断した。

学位論文の内容の説明に対して、研究の背景、実験結果の解釈、得られた知見の意義、今後の研究の方向性などについて質疑応答が行われ、いずれに対する応答も満足すべきものであった。学位論文は明快な英語で論理的に書かれており、英語で論文を発表する能力も十分あるものと判断された。以上の結果から、申請者は学位を取得する水準に達しているものと審査委員会は判定した。