

氏 名 奥 村 哲

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第475号

学位授与の日付 平成12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 PATTERN OF SEROTONERGIC INNERVATION TO INTRINSIC AND  
OUTPUT NEURONS IN THE CAT NEOSTRIATUM

論 文 審 査 委 員 主 査 教 授 川 口 泰 雄  
教 授 小 幡 邦 彦  
教 授 森 茂 美  
教 授 彦 坂 興 秀 (順天堂大学)

### **Part 1: Relative distribution of cholinergic neurons vs. serotonergic fibers in the cat neostriatum**

The distribution of choline acetyltransferase (ChAT)-containing neurons and serotonin (5-HT)-containing nerve fibers in the cat neostriatum was investigated by use of immunohistochemical techniques. Both ChAT- and 5-HT-staining techniques were applied to alternate brain sections, thereby allowing a precise comparison of the distribution pattern of ChAT-immunopositive cells (ChAT cells) and 5-HT-immunopositive fibers (5-HT fibers). In the neostriatum, ChAT cells were strongly stained throughout their cell bodies and proximal (1<sup>st</sup>-order) dendrites. The majority of them were multipolar cells with a soma diameter of 20-50  $\mu\text{m}$  (long axis) X 10-30  $\mu\text{m}$  (short axis). In the caudate nucleus, ChAT cells were evenly and diffusely distributed except for the dorsolateral region of its rostral half, in which latter region they were distributed in loosely formed clusters. In the rostral portion of the putamen, the density of ChAT-cell distribution was like that in the medial region of the caudate nucleus. In contrast, this distribution was more dense in the caudomedial region of the putamen, adjacent to the globus pallidus. 5-HT fibers in the neostriatum were dark-stained, of quite fine diameter (< 0.6  $\mu\text{m}$ ), and they contained small, round varicosities (diameter, usually 0.5-1.0  $\mu\text{m}$ , but some >1.0  $\mu\text{m}$ ). Such 5-HT fibers were distributed abundantly throughout the caudate nucleus and putamen. In the rostrocaudal portion of the caudate nucleus, their density was high in its dorsal and ventral components, and low in the middle component. Throughout the putamen, 5-HT fibers were distributed homogeneously in the mediolateral and dorsoventral directions. In the caudal portion of the putamen adjacent to the globus pallidus, the 5-HT fibers had a higher density while maintaining their homogenous distribution pattern. In the two main divisions of the striatum, the so-called "patch" (AChE-poor) and "matrix" (AChE-rich) compartments, there was a near-even distribution of 5-HT fibers and terminals. The above results suggest that the 5-HT-dominated, raphe-striatal pathway is optimally arranged for modulating the activity of both the intrinsic and the projection neurons of the neostriatum.

### **Part 2: Distribution and fine morphology of neostriatal output neurons, and serotonergic innervation to the output neurons and cholinergic interneurons in the cat**

To characterize the distribution and fine morphology of neostriatal output neurons, retrograde neural tracer, biotinylated dextran amine (BDA) was focally injected into three major target nuclei of the striatum: the globus pallidus (GP), entopeduncular nucleus (EP) and substantia nigra pars reticulata (SNR). We found a general tendency that GP- and EP-projection cells to occur at highest density in the dorsal part of the caudate body and caudate head, respectively, whereas SNR-projection cells had their highest density in a more ventral portion of the head and body of the caudate nucleus. At those rostro-caudal levels where the density of GP-, EP- and SNR-projection cells were highest, the density of BDA retrogradely labeled cells in the putamen tended to be the highest. The majority of the labeled output projection neurons in the caudate nucleus were small to medium sized and multipolar in shape. The range of their soma diameters was 12-27  $\mu\text{m}$  (long axis) X 6-17  $\mu\text{m}$  (short axis). They had 4-8 primary (1<sup>st</sup>-order) dendrites. A number of spines on the

remote dendrites were also BDA-labeled. At the primary dendrites and the initial part of the secondary dendrites, spines tended to be absent. There was no significant morphological difference in the characteristics and the size of the retrogradely labeled output cells with BDA injections into the GP, EP and SNR. 5-HT- and ChAT- immunohistochemistry were also applied for the neostriatal sections to investigate 5-HT innervation to BDA-labeled output neurons and ChAT positive interneurons. ChAT positive cells were large-sized and aspiny. Somata and dendrites of output neurons projecting to the GP, EP and SNR and those of ChAT positive interneurons were densely surrounded by thin 5-HT fibers (C-fibers) and varicosities. In addition, the spines of striatal output neurons were closely apposed by a number of fine 5-HT varicosities.

## 論文の審査結果の要旨

大脳基底核は、運動や行動を調節する中枢の一つで、その異常はパーキンソン病などの重篤な疾患を引き起こすことが知られている。尾状核と被核は基底核の中で最も大きい核で、大脳皮質・視床から入力を受け、二つを合わせて線条体と呼ばれている。線条体が皮質・視床からの情報を適切に処理するためには、モノアミンの一つであるドーパミンという伝達物質が必要であることが知られている。そのため、ドーパミンの線条体内での存在部位や線条体ニューロンへの作用はよく調べられてきた。一方、大脳が正常に機能するのに大切な、もう一つのモノアミンであるセロトニンの線条体での分布や作用についてはこれまでほとんど分かっていない。

申請者は、線条体の機能にセロトニンがどのように関与しているかという観点から、セロトニンを発現する神経終末のネコ線条体内での分布を調べた。そのために、セロトニンを発現する神経終末の分布をただ記載するだけでなく、線条体内の機能的に異なる領域ごとに、また線条体のニューロンタイプごとに、セロトニン入力を検討した。

線条体には異なる皮質から入力を受け、出力先も異なるパッチとマトリックスと呼ばれる二種類の機能的に異なる領域（コンパートメント）がある。申請者は、線条体の隣り合う二つの切片のうち、片方をマトリックスのみを染め出すアセチルコリン合成酵素の抗体で、もう一方をセロトニンの抗体で免疫組織化学的に染色し、二つの切片を比較することでセロトニンの分布をコンパートメントごとに検討した。その結果、どちらのコンパートメントにもセロトニン線維が入力していることを明らかにした。

線条体の出力先には、淡蒼球、脚内核、黒質があり、それぞれの場所へは異なった投射型ニューロンが出力する。この三つの核は機能的に異なり、従って、それぞれに投射するニューロンを区別してその性質を明らかにする必要がある。申請者は、それぞれの核に投射するニューロンを、ビオチン化デキストランアミンと呼ばれるトレーサーで逆行性に標識し、その細胞体・樹状突起の全体像を染め出すことに成功した。また、同一切片上で、セロトニン軸索終末を免疫組織化学法で異なる色で区別して染め出し、投射ニューロンのタイプごとにその細胞体・樹状突起にセロトニン入力があるかどうかを検討した。さらに、線条体の重要な介在ニューロンであるアセチルコリン細胞へのセロトニン入力についても、アセチルコリン細胞の細胞体・樹状突起をアセチルコリン合成酵素の抗体を用いて同様に染め分けアセチルコリン細胞にセロトニン入力があるかどうかを検討した。その結果、三種類の投射ニューロンとアセチルコリン介在ニューロンのいずれの細胞体・樹状突起にもセロトニン終末がついていることが明らかになった。

本論文は、ネコ線条体でのセロトニンの分布を初めて詳細に記載した論文であり、機能が異なると考えられるパッチ・マトリックスと呼ばれるコンパートメント構造ごとに、またニューロンタイプごとにセロトニン入力を検討してあるので、線条体の今後の研究に貢献する意義は大きい。投射ニューロンと介在ニューロンを区別して調べただけでなく、投射ニューロンをその投射先ごとに区別しゴルジ様に染色したものにセロトニン免疫組織化学法を組み合わせ、タイプごとに入力を比較検討した点は技術的にも新しい。この研究によって初めて、ドーパミンばかりでなく、セロトニンも線条体の多様なニューロン群に作用する可能性が明らかになった。従って、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。

また、学位論文の内容の説明に対して、研究の背景、実験方法、実験結果の解釈、大脳基底核の研究におけるこの論文の意義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書かれており、その一部については申請者を筆頭著者とする英文論文が既に印刷中であることから、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。