

氏 名 SHUKLA Rammohan

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 1728 号

学位授与の日付 平成26年9月29日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 mRNA expression profile of serotonin receptor subtypes and
distribution of serotonergic terminations in marmoset brain

論文審査委員 主 査 教授 松崎 政紀
教授 山森 哲雄
准教授 渡辺 英治
部長 一戸 紀孝
国立精神・神経医療研究センター

論文内容の要旨
Summary of thesis contents

Serotonin is a monoamine neurotransmitter. The majority of serotonin is produced in the intestine and only a minor population (about 10%) in the brain, but there have been a number of reports that demonstrate critical modulatory roles of serotonin in the brain. Although the entire gene map atlas in the mouse brain has been constructed (<http://mouse.brain-map.org>), such map for the primate has not been available yet.

To better understand serotonin function in the primate brain, I examined the mRNA expression patterns of all 13 members of the serotonin receptor (5HTR) family, by in situ hybridization and the distribution of serotonergic terminations by serotonin transporter (SERT) protein immunohistochemical analysis in adult common marmoset (*Callithrix jacchus*) and compared the data with that of adult B6 mice and available gene map atlas for human cortex from Allen Institute. For the cortex the expression levels were semi-quantitatively analyzed using image-J image analysis software. Ten of the 13 5HTRs showed significant mRNA expressions in the marmoset brain. My study shows several new features of the organization of serotonergic systems in the marmoset brain. (1) The thalamus expressed only a limited number of receptor subtypes compared with the cortex, hippocampus, and other subcortical regions. (2) In the cortex, there were layer-selective and area-selective mRNA expressions of 5HTRs. (3) Visual cortex (V1) showed a conspicuous area specific expression of 5HT1A in layer IVC β and 5HT1F in layer IV, although, the expression of 5HT1A was not reported in previous studies of macaque V1. (4) Highly localized mRNA expressions of 5HT1F in presubiculum and lateral mammillary nucleus (LM) of hypothalamus and that of 5HT3A in CA field of hippocampus were observed. (5) There was a conspicuous overlap of the mRNA expressions of receptor subtypes known to have somatodendritic localization of receptor proteins with dense serotonergic terminations in the V1, the central lateral nucleus of the thalamus (CL), the presubiculum (PS), and the medial mammillary nucleus of the hypothalamus (MM). This suggests a high correlation between serotonin availability and receptor expression at these locations. (6) 5HTRs showed similarities of mRNA expression patterns in the V1 of marmoset and human. (7) There was a conspicuous difference in mRNA expression pattern between the marmoset and mouse cortices whereas the patterns of both species were much similar in the hippocampus.

The present study highlights several functional implications of serotonin system in the marmoset brain. (1) 5HT1A might be recruited for direct whereas 5HT4 might be recruited for indirect (feed forward) inhibition of layer II pyramidal neurons depending upon the known synaptic and extra synaptic transmission from Median

(別紙様式 2)
(Separate Form 2)

raphe (MRN) and dorsal raphe nucleus (DRN), respectively. (2) Based on the diversity of receptor expression in thalamus and cortex it seems that the serotonergic system has less pronounced effect in thalamic function of gating the information whereas more pronounced function in cortical function of integrating the information. (3) Dense serotonergic projection and expression of 5HTR subtypes with excitatory cellular effects in medial hypothalamus suggests that serotonin mainly has facilitatory function in these regions. (4) The expression of most 5HTR subtypes in the pyramidal layer of hippocampus suggests the recruitment of serotonin receptors for the modulation of glutamatergic transmission in the hippocampus. (5) The prominent innervation of serotonin in layer 1 and Stratum lacunosum moleculare (Slm) of hippocampus, where the apical tuft of pyramidal cells are located had no expression of any 5HTR subtype, suggesting that serotonin projection helps in a dendritic integration of pyramidal neurons to control gain in these regions.

In conclusion, the mRNA expression pattern of 5HTRs in the marmoset as compared with those in the mouse shows some significant differences in the cortex, which suggests certain primate specific roles of 5HTRs and the usefulness of the marmoset as a primate model in further studies of serotonergic modulations in higher brain functions that are specific to primates.

(別紙様式 3)
(Separate Form 3)

博士論文の審査結果の要旨

Summary of the results of the doctoral thesis screening

出願者 (SHUKLA, Rammohan) は、近年霊長類のモデル動物として関心の集まっている新世界ザルのコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) を用いて、神経伝達物質セロトニン受容体 (5HTR) 全てのサブタイプ 13 遺伝子の脳での発現パターンを *in situ* hybridization により解析し、免疫組織染色によるセロトニン終末の脳内分布との比較を行った。

セロトニン受容体 13 遺伝子のマーモセット前脳部に於ける発現を調べたところ、10 遺伝子が発現していた。そこで、マーモセット前脳部において、これら 10 遺伝子の詳細な発現パターンを明らかにした。これらの解析から、以下の特徴的発現パターンを示した。(1) 感覚入力の中継核である視床でのセロトニン受容体のうち主に発現しているものは、5HT1A, 5HT1B, 5HT6, 5HT7 (前者 2 つは細胞内で抑制性に、後者 2 つは、細胞内で興奮性に働く) のみであり、限られた種類のセロトニン受容体によってゲート制御をしていることが分かった。他方、大脳皮質、海馬、他の皮質下領域では、より多種類のセロトニン受容体が発現している。(2) 大脳皮質では、層特異的、領域特異的なセロトニン受容体の発現を観察した。特に、一次視覚野では、4 C β 層における 5HT1A や 6 層における 5HT1F の特異的発現を見出した。(3) 大脳皮質以外での非常に局在性の高い分布として、前海馬台と外側乳頭核における 5HT1F、海馬 CA 領域に於ける 5HT3A を見出した。(4) 細胞体樹状突起部における強いセロトニン受容体シグナルとセロトニン終末のオーバーラップを特に一次視覚野、視床外側中心核、前海馬台、内側乳頭核で観察した。(5) セロトニン受容体の一次視覚野に於ける発現は、霊長類であるヒトとマーモセットで良く似ている。(6) セロトニン受容体のマウスとマーモセットに於ける大脳皮質に於ける発現様式は異なるが、海馬においては、5HT1B を除いて、非常に良く似ている。

出願者は、これらの解析結果から、以下の考察を行った。(1) 抑制的なシグナル伝達を介在する 5HT1A は興奮性神経細胞に発現し、直接的にその活動を抑制し、また促進的シグナルを介在する 5HT4 は、抑制的神経細胞に発現し、間接的に 2 層錐体細胞の活動を抑制するが、前者は内側縫線核からのセロトニンシナプス伝達により、後者は、背側縫線核から投射するセロトニン神経末端からの拡散性伝達により、制御されている可能性を示唆する。(2) 大脳皮質と視床で使われているセロトニン受容体の種類が異なることから視床のゲート制御には、限られた種類の受容体が関与し、大脳皮質における情報統合には、より多くの種類のセロトニン受容体が関与していると考えられる。(3) 内側視床下部のセロトニン投射の強い領域では、促進的細胞内シグナルを介在するセロトニン受容体が発現していることから、セロトニンはこの領域では、主に促進的シグナル伝達に寄与していると考えられる。(4) 海馬錐体細胞層で大多数のセロトニン受容体が発現していることから、これらの受容体がグルタミン酸の伝達を調節している可能性が考えられる。(5) 大脳皮質 1 層と海馬網状分子層錐体細胞樹状突起先端部への強いセロトニン投射とこの層におけるセロトニン受容体 mRNA が検出されないことから、これらの層に投射する錐体細胞へのセロトニンの調節機構の存在を示唆する。

(別紙様式 3)

(Separate Form 3)

以上、出願者は、マーモセット脳において発現する全ての既知のセロトニン受容体とセロトニン投射の解析から、げっ歯類と比較した霊長類脳におけるセロトニン受容体の新しい幾つかの特徴的発現様式を明らかにした。セロトニンは、様々な精神疾患との関連が示されており、セロトニン及びその受容体の報告は既に多数報告されているが、本研究は、霊長類脳において、その全受容体の詳細な発現パターンを初めて包括的に詳細に示した点で、重要な意義があると考えられる。