

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論文題目

GABA / Gly signaling during degeneration and regeneration of mouse hypoglossal nerves

(マウス舌下神経における変性と再生の間の GABA/Gly 伝達について)

氏名 立津政晴 

論文要旨

緒言

成熟哺乳類の中樞神経系(CNS)において、GABAとグリシン(Gly)は主要な抑制性神経伝達物質であり、グルタミン酸作動性伝達を抑制する働きを持つ。

一方、発達中のCNSでは、GABAとGlyは栄養因子として作用し、神経系の形態形成に関与することが知られている。本研究で我々は、GABA/Glyの神経再生への関与を明らかにする目的で、マウスの舌下神経が変性、再生する過程での舌下神経核に注目しGABA/Glyシグナルの変化を形態学的に解析した。

方法

マウスの舌下神経(左側)軸索を3~5m m切除した群(切除群)と、軸索を切断し、直ちに縫合を行つて軸索の再生を促した群(縫合群)の2群に分け、舌下神経核を経時的に観察した。細胞構築はトルイジン青染色、神経再生の時間的経過はコレラ毒Bサブユニ

ツト(CTB)標識法、GABA/Glyシグナルは関与する各種分子に対する抗体を用いた免疫組織化学生、シナプスの形態は電子顕微鏡法によつて解析した。

結果

(1)切除群では運動ニューロンが21日以降消失した。このことから、マウス舌下神経核における運動ニューロンにとつて、軸索と舌との連絡が不可欠であることが明らかになつた。
以下、縫合群で解析した。

(2)シナプス前部を構成する分子の発現と局在には変化が見られなかつた。このことからシナプス前部でのGABA/Glyの合成、放出は、軸索の変性再生過程で変化ないことが明らかになつた。

(3)シナプス後部では3つの分子で変化が観察された。①コリニアセチルトランスフェラーゼ(ChAT:アセチルコリンの合成酵素)が手術直後に消失した。このことから、軸索切断後、アセチルコリンの合成と放出が停止す

ることが明らかになった。②運動ニューロン

細胞体と樹状突起表面に点状に局在していた

gephyrin (GABA/Gly受容体のアンカータンパク質)

が拡散し分布していた。このことから、軸索

が損傷されると受容体が拡散すると考えられ

た。③KCC2の発現が著明に減少した。このこ

とから、GABA/Glyは、軸索再生までの間、興奮

性に作用すると考えられた。

(4)電子顕微鏡観察により、興奮性抑制性と

もシナプスの離解が認められた。

考 察

以上の事から、軸索の変性再生中はGABA/Gly

は、プレシナップスからシナップス間に隙に正常に

放出されるが、離解した空間に広がり、シナ

ップス外に拡散分布している受容体に結合し、

興奮性に作用すると考えられた。この状態は

未成熟期と同じであり、GABA/Glyシグナルの時

計の逆戻り現象が、軸索の再伸長に関与する

と考えられた。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	課程博 * 論文博	第 号	氏名	立津政晴
論文審査委員		平成24年2月28日		
		主査教授	辻 葵 美	印
		副査教授	吉見直己	印
		副査教授	菊谷研一	印

(論文題目)

GABA / Gly signaling during degeneration and regeneration of mouse hypoglossal nerves

(論文審査結果の要旨)

上記の論文に関して、その研究に至る背景と目的、研究の内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。

1. 研究の背景と目的

GABA/Glyは成熟動物の中枢神経系では抑制性伝達物質として働き、グルタミン酸による興奮性伝達を抑制する。一方、発達期の脳では興奮性に作用し、シナプス形成など形態形成に関与することが知られている。本研究では、これらの作用に加えて、神経再生への関与を明らかにするため、マウスの舌下神経の変性・再生過程での舌下神経核に注目し、GABA/Glyシグナルの変化を分子形態学的に解析した。

2. 研究の内容

マウスの左側舌下神経軸索を(1)切除し変性させた群(切除群)、(2)軸索を切断し直ちに縫合し軸索再生を促した群(縫合群)、2群に分け舌下神経核を継続的に観察した。細胞構築はトルイジン青染色、神経再生の時間的経過はコレラ毒Bサブユニット(CBT)標識法、GABA/Glyシグナルは関与する各分子に対する抗体を用いた免疫組織化学、シナプス形態は電子顕微鏡法によって解析した。

その結果、以下のことが明らかになった。(1)切除群では運動ニューロンが21

日以降消失した。このことから、マウス舌下神経ニューロンの生存には、軸索の舌支配が必須であることが明らかになった。(2) プレシナップスを構成する分子の発現と局在には、変性・再生過程を通じて変化が見られなかった。このことから、プレシナップスでのGABA/Glyの合成、放出は、変化しないことが明らかになった。(3) ポストシナップスでは3つの分子に変化が認められた。①コリン・アセチル・トランスフェラーゼ (ChAT: アセチルコリンの合成酵素) が手術直後に消失した。このことから、軸索切断後、アセチルコリンの合成と放出が停止しすることが明らかになった。②運動ニューロン細胞体と樹状突起表面に点状に局在していた gephyrin (GABA/Gly受容体の足場タンパク質) が拡散した。このことから、軸索が損傷されると細胞体表面に分布する受容体が拡散することが明らかになった。③KCC2の発現が著明に減少した。このことから、GABA/Glyは、軸索再生までの間、興奮性に作用すると考えられた。そして、これらの変化は、軸索の再到達を契機として復活した。(4) 電子顕微鏡観察により、興奮性、抑制性ともシナップスの離解が認められた。

以上のことから、軸索の変性再生中は、GABA/Glyはプレシナップスからシナップス間隙に正常に放出されるが、離解した空間に広がり、シナップス外に拡散分布している受容体に結合し、興奮性に作用すると考えられた。この状態は、発達期と同じであり、GABA/Glyシグナルの時計の逆戻り現象が、軸索の再伸長に関与すると考えられた。

3. 研究成果の意義と学術的水準

今回の実験成果は、GABA/Glyシグナルの神経再生への関与をin vivoの実験系において示したものであり、新しい研究分野を拓くパイオニア的研究として国際的に評価できるものと考えられる。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。