

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月10日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580360

研究課題名（和文）鳥類と哺乳類の脳の相同性：グルタミン酸作動性神経細胞による証明

研究課題名（英文）Homology of cerebrum between birds and mammals: evidence by glutamatergic neuron

研究代表者

阿閉 泰郎 (ATOJI YASURO)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：90151084

研究成果の概要（和文）：鳥類と哺乳類の脳の相同性を比較するために、鳥類の中枢神経系に存在するグルタミン酸作動性神経細胞の局在と神経回路を形態的に解析した。その結果、鳥の海馬体は中隔にグルタミン酸投射をしていることから哺乳類のもの（アンモン角と歯状回）と相同であると判明した。また巣外套は同様に哺乳類の脳新皮質4層に相当する可能性がある。しかし他の多くの外套部位は未解決のまま残っている。

研究成果の概要（英文）：Glutamatergic localization and circuits were examined to compare homology of the cerebrum between birds and mammals. Avian hippocampal formation is homologue to Ammon's horn and dentate gyrus in mammalian cerebrum on the basis of glutamatergic projection to the septum. It is possible that the nidopallium is homologue to layer IV of the neocortex in mammals. However, homology of other pallial regions remains to be unknown.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：形態

1. 研究開始当初の背景

鳥類の海馬は隣接する海馬傍野と合わせて海馬体と考えられていたが、最近の研究から構造的も機能的にも明確に区別できないことが分かり、海馬と海馬傍野とあわせて、広義の海馬と解釈する考えが

支配的である。本申請でも海馬は広義の意味を表わす。鳥類の海馬の役割は哺乳類と同様に長距離におよぶ渡り、帰巢、あるいは貯食行動に関わる記憶・学習であることが明らかにされつつある(渡辺,2007)。しかしこれらの行動学的機能

を解剖学的に説明するための神経回路や相同性の点でまだ解明されていない問題が山積している。鳥の海馬は哺乳類と比べると構造上、二つの点で全く異なる。一つ目は鳥の海馬は内側から背外側にかけて認められる点である。人やサルの海馬は脳側頭葉の腹内側部に埋まっている。二つ目は、哺乳類海馬は脳皮質で完全に覆われ外から見るができないが、これに対し鳥の海馬は脳表面に存在し、脳の外から確認できる点である。また相同関係でも鳥類と哺乳類との意見が対立している。例えば、海馬を哺乳類のアンモン角に、海馬傍野は歯状回にそれぞれ相当するという考えと (Kahn et al., 2003)、逆に海馬は歯状回に当たり、海馬傍野はアンモン角に相当するという意見である (Atoji and Wild, 2004)。鳥類海馬の神経回路を解明するとともに合わせて哺乳類の海馬との相同性を論ずるためには、海馬の区画、神経細胞の分類、線維連絡、神経伝達物質などを明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

鳥類の海馬と巣外套の相同性について比較神経解剖学の立場から証明を試みる。海馬の証明は鳩を用い、グルタミン酸神経細胞の投射部位を小胞性グルタミン酸トランスポーター (vGLUT) とグルタミン酸受容体 (GluR1) の二重免疫染色することにより投射部位と受け入れ部位を解析する。また外套の相同性の証明は鶏を用いて、グルタミン酸作動性神経細胞の発生と発育段階の変化を vGLUT と GluR1 の免疫組織化学法と *in situ hybridization* 法により観察する。

3. 研究の方法

著者ら (2007) が行った小胞性グルタミン酸トランスポーター mRNA の *in situ hybridization* に基づき、鳥類の海馬にグルタミン酸作動性神経細胞が存在することが明らかになった。このグルタミン酸作動性神経細胞が中隔野に投射しているかどうかはトレーサー注入と組み合わせれば検索が可能であるが、*in situ hybridization* とトレーサーの二重染色は現実的には非常な困難を伴う。そこで今回の研究では小胞性グルタミン酸トランスポーターに対する抗体を作製し、海馬での免疫組織化学とトレーサー注入実験を組み合わせた二重染色により、グルタミン酸作動性神経細胞が中隔野に投射しているかどうか調べる。もし海馬の背内側部 (DM) にあるグルタミン酸作動性神経細胞が中隔野に投射していれば、背内側部 (DM) は哺乳類のアンモン角と相同である解釈でき、申請者らの仮説 (Atoji and Wild, 2004) を実証することになる。

4. 研究成果

計画に沿って研究を推進したが、計画通りのデータが必ずしも得られるとは限らず、未だ研究の途中段階の内容もある。以下、鳥類と哺乳類の脳の相同性を考える上で役立つ2つの研究成果の概要を述べる。

(1) 鳥類の中枢神経系におけるグルタミン酸作動性神経細胞を観察するために、2型小胞性グルタミン酸輸送体 (vesicular glutamate transporter 2, VGLUT2) に対するポリクローナル抗体を鶏で作製した。この抗体は鳩の VGLUT2 のアミノ酸配列の C 端側

562-581

(EEFVQEEVQDSYNYKEGDYS)を認識する。VGLUT2の分子量はウェスタンブロット法で約65kDaであることが判った。免疫組織学染色では、鳩の脳脊髄を調べた結果、VGLUT2は神経細胞体には観察されず、ニューロピル、数珠状あるいは神経細胞体周囲に点状に見られた。電子顕微鏡観察から、VGLUT-2は非対称性シナプス前終末に局在している。中枢神経系全体を広く観察すると、

VGLUT2陽性反応は脳から脊髄まで広く観察され、部位別では強い陽性反応は嗅球、脳外套の大部分(高外套、中外套、巢外套、弓外套、海馬体)、線条体、背側視床、視床下部、小脳皮質で見られた。小脳皮質では糸球体に顕著な反応が見られた。視蓋は中等度の陽性反応を示し、特に表層は数珠状の陽性産物が確認できた。脊髄は背角が中等度の陽性を示した。神経細胞体を取り巻く点状の陽性反応は延髄聴覚系の大細胞核と層状核で見られた。以上の結果から、鳩の脳脊髄ではグルタミン酸作動性神経細胞が広く投射していることが明らかになった。

上記の内容は鳥類のグルタミン酸作動性神経細胞の存在を示した最初の報告であり、世界の研究者がこのデータを利用することと思われる。今後は同じ鳥類で、歌を学習するゼブラ・フィンチを対象にVGLUT-2の分布様式を調べる予定である。

(2) 鳥類の中外套(mesopallium)は外套内で重要な位置を占めている。しかし他の脳内の部位と関連は知られていない。これを解明するために細胞構築法(cytoarchitecture)と線維追跡法

(tract-tracing method)を行った。中外套は前後方向に3部(前・中・後)に、また背腹方向に2部に分かれている。線維連絡の結果、中外套は三叉神経系、視蓋視覚系、聴覚系、多感覚系、辺縁系の5つの重核に分類できることが明らかになった。

この分類は今後外套を考える上で重要な部位になると考えられる。今後は5重核の神経伝達物資の検索を計画している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

- ① Atoji, Y.: Immunohistochemical localization of vesicular glutamate transporter 2 (vGluT2) in the central nervous system of the pigeon (*Columba livia*). J. Comp. Neurol. 519: 2887-2905, 2011.
- ② Atoji, Y. & M. J. Wild. : Afferent and efferent projections of the mesopallium in the pigeon (*Columba livia*). J. Comp. Neurol. 520: 717-741, 2012.

[学会発表](計9件)

- ① 阿閉泰郎: 鳩中間外套前部の投射様式。第32回日本神経科学大会 Neurosci. Res. 65 (Suppl.): S171, 2009. (名古屋)
- ② 阿閉泰郎: 鳩中枢神経における2型小胞性グルタミン酸トランスポーターの分布。第115回日本解剖学会 解剖誌 85 (Suppl.): 191, 2010. (盛岡)
- ③ 阿閉泰郎: 鳩中間外套前部の投射様

式。第 33 回日本神経科学大会
Neurosci. Res. 68 (Suppl.):
e267-e268, 2010. (神戸)

- ④ 阿閉泰郎: 鳩脳における 2 型小胞性グルタミン酸トランスポーターの電子顕微鏡的局在。第 116 回日本解剖学会 J. Physiol. Sci. 61(Suppl.):s292, 2011. (横浜)
- ⑤ 阿閉泰郎: 鳩の後外套における投射様式。第 34 回日本神経科学大会 Neurosci. Res. 68 (Suppl.): e152, 2011. (横浜)
- ⑥ Mohammad Rabiul Karim, Saito, S., Atoji, Y.: Molecular sequence and distribution of vesicular glutamate transporter 2 mRNA in the brain of the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). 第 34 回日本神経科学大会 Neurosci. Res. 68 (Suppl.): e321, 2011. (横浜)
- ⑦ Mohammad Rabiul Karim, Saito, S., Atoji, Y.: Molecular sequence and distribution of the NMDA receptor subunit NR1 mRNA in the central nervous system of pigeons (*Columba livia*). 第 117 回日本解剖学会・抄録集 p.145,2012. (甲府)
- ⑧ 阿閉泰郎・齋藤正一郎: ゼブラフィンチ脳における 2 型小胞性グルタミン酸トランスポーターの免疫組織化学的局在。第 117 回日本解剖学会・抄録集 p.145,2012. (甲府)
- ⑨ 齋藤正一郎・Karim, M. R.・阿閉泰郎: ハトのコルチ器のラセン神経節における小胞性グルタミン酸トランスポーターの発現について。第 117 回日本解剖学会・抄録集 p.146,2012. (甲府)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿閉 泰郎 (ATOJI YASURO)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号: 90151084

(2) 研究分担者

齋藤 正一郎 (SAITO

SHOUICHIRO)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号: 60325371

(3) 連携研究者
()

研究者番号：