

氏 名 ぐえん てい ばん ちゃん  
NGUYEN THI VAN TRANG

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富生命博甲第 158 号

学位授与年月日 令和 6 年 3 月 22 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院生命融合科学教育部 博士課程  
認知・情動脳科学専攻

学位論文題目

**Topographic Organization of Glutamatergic and GABAergic  
Parvalbumin-Positive Neurons in the Lateral Habenula**

(グルタミン酸作動性と GABA 作動性パルバルブミン陽性ニューロンの  
外側手綱核における局在とトポグラフィックな編成)

論文審査委員

(主査) 教授 森 寿

(副査) 教授 高雄 啓三

(副査) 教授 貝沼 茂三郎

(副査) 准教授 高橋 努

(指導教員) 教授 一條 裕之

様式 2

## 論文要旨

学位論文題目

(和文) グルタミン酸作動性と GABA 作動性パルバルブミン陽性ニューロンの  
外側手綱核における局在とトポグラフィックな編成

(英文) **Topographic Organization of Glutamatergic and GABAergic  
Parvalbumin-Positive Neurons in the Lateral Habenula**

氏名 NGUYEN THI VAN TRANG

## 〔目的〕

Parvalbumin (PV) neurons are well known to be involved in neuronal plasticity as GABAergic fast spiking neurons; on the other hand, they were also reported glutamatergic. The PV neurons are also a key for understanding the lateral habenula (LHb) plasticity; fewer PV neurons are shown in adult mice with anxiety and depression-like behaviors caused by early-life stress. To date, it has been unknown in the LHb what proportion of the neurotransmission machinery of the PV neurons is constituted. To clarify the characteristics of the PV neurons in the LHb, I investigated the PV neurons with expression of GABAergic, glutamatergic, serotonergic, cholinergic, and dopaminergic neurotransmitter markers.

## 〔方法並びに成績〕

Expression of cell type markers was examined by combining mRNA in situ hybridization chain reaction (HCR) and immunohistochemistry (IHC) on C57BL/6J mice. I elucidated the percentages of the glutamatergic markers (*vglut1*, *vglut2*, *vglut3*) and GABAergic markers (*gad1*, *gad2*, *vgat*, *gat*) positive PV neurons. In the LHb, the large percentage of the PV neurons were glutamatergic;  $76.08 \pm 1.20\%$  was *vglut2* positive. In contrast, the percentage of GABAergic neurons was small: *gad1* ( $1.42 \pm 0.33\%$ ), *gad2* ( $2.93 \pm 0.57\%$ ), *vgat* ( $1.14 \pm 0.22\%$ ), and *gat* ( $4.52 \pm 1.27\%$ ). Moreover, there existed the *vglut2* and *gad2* double positive PV neurons ( $2.51 \pm 0.48\%$ ) in the LHb. Therefore, the PV neurons in the LHb consisted of following subsets: glutamatergic, GABAergic, and both glutamatergic and GABAergic double positive. These proportions were different from other regions: the cingulate cortex, hippocampus, and basolateral amygdala. In addition, I did not detect the other neurotransmission markers in the LHb PV neurons.

The LHb were topographically different with the subsets of the PV neurons. The medial and lateral LHb were different in the expression of *vgat*; the percentages of the *vgat* positive PV neurons were significantly higher in the lateral LHb than in the medial LHb. On the other hand, the *vglut2* positive PV neurons are evenly distributed in the medial and lateral LHb. The anterior and posterior LHb were topographically different in the glutamatergic and GABAergic expressions. The percentage of the *vglut2* positive PV neurons was significantly higher in the posterior LHb, and the percentages of the GABAergic PV neurons (*gad1*, *gad2*, *vgat*, and *gat*) were significantly higher in the anterior LHb.

## 〔総括〕

I demonstrated that the PV neurons in the LHb are heterogenous although they are mainly glutamatergic. The proportions of the PV neuron subsets differ between the LHb and other brain regions. The GABAergic PV neurons were distributed mainly in the medial LHb, and the GABAergic and glutamatergic PV neurons were mainly distributed in the anterior and posterior LHb, respectively. The subsets of the PV neurons were topographically organized mediolaterally and anteroposteriorly inside the LHb, indicating their different function.

## 学位論文審査の要旨

【学位申請者氏名】 NGUYEN THI VAN TRANG

【学位論文題目】

(和文) グルタミン酸作動性とGABA作動性パルバルブミン陽性ニューロンの外側手綱核における局在とトポグラフィックな編成

(英文) Topographic Organization of Glutamatergic and GABAergic Parvalbumin-Positive Neurons in the Lateral Habenula

【学位論文審査委員】	職名	氏名
(主査)	教授	森 寿
(副査)	教授	高雄 啓三
(副査)	教授	貝沼 茂三郎
(副査)	准教授	高橋 努



【指導・紹介教員】 教授 一條 裕之

【判定】 合格

【審査の要旨】

[目的]

パルバルブミン(PV)は、非常に速い発火特性を示すGABA作動性の抑制性介在神経細胞の分子マーカーとしてよく知られている。一方でPV陽性神経細胞の一部がグルタミン酸作動性であることも報告されている。先行研究では、幼若期マウスに対するストレス負荷が、成体マウスでの不安や抑うつ症状を引き起こし、また情動行動の制御中枢として機能している外側手綱核(LHb)でPV陽性神経細胞数の減少を伴うことを明らかにし、LHbのPV陽性神経細胞が可塑性制御に関わる可能性を示唆した。しかしながら、LHbのPV陽性神経細胞の性質や分布は明らかではない。そのため、TRANG氏は本研究において、LHbのPV陽性神経細胞が発現する神経伝達制御関連分子mRNAの発現解析とLHb内での分布を検討した。

[方法並びに成績]

TRANG氏は、LHbのPV陽性神経細胞の発現分子を明らかにするため、抗PV抗体による免疫組織化学(IHC)と mRNA in situハイブリダイゼーション連鎖反応(HCR)とを用いて解析を行い、以下の結果を得た。

グルタミン酸作動性神経細胞のマーカーとして、小胞性輸送体(*vglut1*, *vglut2*, *vglut3*)の mRNA 発現を、GABA作動性神経細胞のマーカーとして、GABA合成酵素(*gad1*, *gad2*)、小胞性輸送体(*vgat*)、シナプス周囲でのGABA取り込み輸送体(*gat*)の発現を調べた。その結果、LHbのPV陽性神経細胞の多数(76%)は、*vglut2*を発現し、グルタミン酸作動性と考えられた。一方、*gad1*陽性(1.4%)、*gad2*陽性(2.9%)、*vgat*陽性(1.1%)、*gat*陽性(4.5%)であり、GABA作動性神経細胞は少数と考えられた。さらに *vglut2*と *gad2*の二重陽性細胞(2.5%)が検出された。以上のことから、LHbのPV陽性神経細胞は、グルタミン酸作動性、GABA作動性、両作動性の神経

細胞から構成されていることが明らかとなった。これら以外のセロトニン作動性(取り込み輸送体 *Slc6a4*)、コリン作動性(合成酵素 *CHAT*)、ドパミン作動性(合成酵素 *Th*)、それぞれの神経細胞のマーカーは検出されなかった。

LHbでは、部位特異的にPV陽性神経細胞の分布が異なっていた。PV陽性神経細胞は、LHbの内側軸ではGABA作動性 *vgat*陽性細胞が内側に比べ外側で有意に多いが *vglut2*陽性グルタミン酸作動性神経細胞は均一に分布していた。また、LHbの前後軸では、PV陽性神経細胞は *vglut2*陽性グルタミン酸作動性神経細胞の割合がLHb後部で高かった。対照的に、*gad1*, *gad2*, *vgat*, *gat*陽性GABA作動性神経細胞の割合は前部LHbで高かった。これらの所見は、PV陽性細胞の不均一性の2つの側面を示している。つまり、LHbのPV陽性神経細胞は、神経伝達機構において不均一であり他の脳領域とは異なり、さらに、PV陽性神経細胞のサブセットは、LHb内部で不均一に分布しトポグラフィックに組織化されており、それぞれの機能が異なる可能性が示唆された。

#### [総括]

本研究でTRANG氏は、外側手綱核(LHb)の可塑性制御に関連するパルバルブミン(PV)陽性神経細胞の性質を、神経伝達制御関連分子のmRNA発現をもとに解析した。その結果、LHbのPV陽性神経細胞の76%がグルタミン酸小胞性輸送体(*vglut2*)mRNAを発現し、グルタミン酸作動性であることが示唆された。また、LHb内でグルタミン酸作動性あるいはGABA作動性と考えられるPV陽性神経細胞の分布は均一ではなく特徴的な空間分布を示した。さらに、LHb内のPV陽性細胞中にグルタミン酸作動性かつGABA作動性と考えられる *vglut2*と *gad2*の二重陽性細胞を見出した。このように、情動の発達制御に関わるLHb内でPV陽性神経細胞の神経伝達機構に関わる分子のmRNAのトポグラフィックな発現を初めて明らかにした点は新規性が非常に高い。現時点では、マーカー遺伝子発現解析をもとにした形態学的研究にとどまっているが、今後、電気生理学的解析などの機能的解析、あるいは、PV陽性神経細胞特異的な遺伝子ノックアウトなどと結びつくことで、LHbのPV陽性神経細胞の機能や脳内神経回路への関与、行動学的意義などが明らかになる可能性があり、医学における学術的重要性も認められる。またLHbの機能異常は、ストレス応答や情動異常などのヒト疾患にも関わることから、神経発達障害やストレスによる精神疾患などの診断や治療につながる可能性もあり、今後の臨床的発展性も認められる。

以上より、本審査会は本論文を博士(医学)の学位に十分値すると判断した。