

Title	グリア増殖におけるヌクレオシド ジホスファターゼの誘導に関する研究
Author(s)	宮本, 修三
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35189
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	みやもと しゅうぞう 宮 本 修 三
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 7 1 8 6 号
学位授与の日付	昭 和 61 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	グリア増殖におけるヌクレオシド ジホスファターゼの誘導に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 中川 八郎 (副査) 教授 堀尾 武一 教授 御子柴克彦

論 文 内 容 の 要 旨

中枢神経系は大別してneuronとgliaの2種の細胞より構成されるが、両者の機能的相関についての知見は極めて少ない。また、グリア細胞の脳内代謝における役割もほとんど不明である。本研究は脳内のアンモニア産生機構に視点を置いて、ニューロン-グリア機能相関の解明を試みた。この目的のために、神経細胞を選択的に破壊するカイニン酸 (KA)をラット脳に投与し、その後におこる線条体の代謝上及び形態上の変化を追跡した。

実験結果；(1)KA処理を受けた線条体では、プリンヌクレオチド回路の基質 (GTP,IMP, アスパラギン酸) からのアンモニア産生が著明に増加した。(2)産生されるアンモニアの多くはGTPの分解により、その増加はグアニンヌクレオチド分解経路上の律速酵素であるL型ヌクレオシドジホスファターゼ (NDPase) 活性の上昇に依存した。また、その上昇は酵素蛋白質誘導の結果であることが示唆された。(3)KA投与後の経時的解析の結果、本酵素活性の増加は神経細胞の破壊にひきつづいて見られるグリア細胞の増殖とよく一致した。(4)活性染色法による組織化学的研究からKA投与後に増殖するグリア細胞に本酵素が存在することが判明した。

しかし、本研究に用いた活性染色法は他の非特異的フォスファターゼも同時に検出する可能性があるため、免疫組織化学的方法で上記の知見を確認することとした。そのため、ラット脳よりL型NDPaseを精製し、それに対する抗体を調製した。本精製酵素の諸性質は以下の通りである。

(1)分子量はSDS電気泳動、ゲル透過両方法によって45Kと求められ、単量体と考えられる。(2)等電点は4.6であり、活性の至適pHは7.5-8.0であった。(3)IDP, GDP, UDPを特異的に基質とした。(4)ATPにより著明な活性促進作用を受け、ピロリン酸によって強く阻害された。

上記の結果は脳L型酵素と肝ミクロゾーム酵素の高い類似性を示唆したので、材料の豊富な肝ミクロゾームから同酵素を精製し、その単クローン抗体を調製した。また、免疫ブロッティング法により、本抗体はL型酵素を特異的に検出し得ることを確認した。本単クローン抗体を用いた免疫組織学的方法による知見は以下の通りであった。

(1)KA投与部位周辺の多くのグリア細胞が高い反応性を示した。(2)電子顕微鏡による観察は、これらの陽性細胞がアストログリアに特異的なグリア繊維を含むことを示した。(3)抗体反応は主に小胞体膜上に局在した。

考察；以上の知見から、KA投与後に増殖するアストログリアにL型酵素が著しく誘導されることが明らかになった。かつ、グリア瘢痕を形成した後の繊維性アストログリアには高いNDPase活性が検出されなかったことから、本酵素はグリア細胞の増殖に関与する。また、本酵素は主に小胞体膜上に局在することからグリア繊維性蛋白質等の合成時における糖鎖修飾機構に関与する等の可能性が示唆される。

本研究は、グリオーシス状況下の増殖型アストログリアとグリア瘢痕に見られる繊維性アストログリアの間の性質の相違をNDPase活性の差として明らかにした。したがって、L型NDPaseが中枢組織におけるグリオーシスの一つのマーカーと見なし得ることが示唆される。さらに、神経細胞の変性後のL型NDPaseの誘導は非常に鋭敏であるので、その抗体を用いて脳疾患を初期に検出し得る可能性があり、脳の病理学的研究への応用も期待できる。

論文の審査結果の要旨

脳機能は神経細胞（ニューロン）と直接神経活動にあづからない神経膠（グリア）細胞の相互作用の上に成立っている。本研究はニューロン・グリアの相互作用を代謝面から解析すべく、実験的にニューロンの選択的破壊をおこない、その後におこるグリア細胞増殖過程の代謝の変化を追っている間に、肝型ヌクレオシドジホスファターゼ（NDPase）のみが特異的にグリア細胞に属する増殖型アストロサイトの消長と一致して変動することを見出し、その意義について考察を加えたものである。すなわち、ラット脳新線条体にカイニン酸を投与するとグルタミン酸作動性ニューロンを破壊する。この条件下には同部位におけるグアニンヌクレオチド由来のアンモニア産生能が著明に増大すること、その増大はNDPaseの活性上昇に原因があることを先ず明らかにし、ついで、活性染色法による組織学的研究の結果、本酵素活性は、神経細胞消失後に増殖するグリア細胞内に誘導されることを証明した。他方、脳内に存在するNDPaseのB（脳）およびL（肝）型アイソザイムのうち、後者のみが誘導されることを基質特異性に関する知見から推論した。これを確かめるため、脳からL型アイソザイムを均一に精製して、その諸性質を検討し、本酵素が肝ミクロゾーム画分の酵素と高い類似性を示すことを明らかにする一方、本酵素と特異的に反応する単クローン抗体を調製し、それを用いた免疫化学的手法により、カイニン酸処理後に誘導されるL型NDPaseはアストロサイトに限局することを証明した。

以上の研究は、グリア増殖とNDPase活性の相関を証明するとともに、グリア細胞の増殖進行下には

従来から知られているアストロサイトとは代謝機能上異なる増殖型アストロサイトの存在する可能性を初めて指摘するとともに、L型NDPaseがその指標となることを示したものである。これらの知見はニューロン・グリアの機能的相関の研究の手がかりを与へるとともに、本酵素の抗体が神経損傷部位の早期発見等に利用できる等、医学、神経生物学への貢献は大きいと考えられる。以上の理由から、本論文は理学博士の学位論文として十分価値ありと認められる。