

Title	Localization and developmental expression of novel protein kinase C $\delta$ gene
Author(s)	金, 炯珉
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38599">https://hdl.handle.net/11094/38599</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	金 炯 珉
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 9 1 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 9 月 17 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Localization and developmental expression of a novel protein kinase C $\delta$ gene (中枢神経系における novel protein kinase C $\delta$ 遺伝子の発現 —その局在と発生過程での量的変化について—)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 北村 幸彦  (副査) 教 授 青笹 克之 教 授 遠山 正彌

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

protein kinase C (PKC) は diacylglycerol と phorbol ester によって活性が調節される酵素群である。PKC は活性化に  $Ca^{2+}$  を必要とする conventional PKC (cPKC) と  $Ca^{2+}$  非依存性の novel PKC (nPKC) の二つのサブクラスに分類される。cPKC のサブタイプには  $\alpha$ ,  $\beta$  I,  $\beta$  II,  $\gamma$  があり, nPKC のサブタイプとして  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\eta$ ,  $\theta$  が同定されている。各サブタイプは独立の遺伝子にコードされ, それぞれの発現様式はサブタイプ間で生物学的機能が異なることを示唆している。

本研究では, nPKC  $\delta$  の中枢神経系における生物学的機能を解析するために, マウス脳における発生過程において nPKC  $\delta$  の mRNA の発現とその局在をノーザンブロットおよび in situ ハイブリダイゼーション (ISH) を用いて検討した。

### 【方法並びに結果】

1. 成熟マウスにおける nPKC  $\delta$  の mRNA が脳のどの部位において強く発現しているのかを調べるために, 中枢神経を大脳皮質・視床・小脳・橋・脊髄に分割してノーザンブロットを行った。約3.2kb の nPKC  $\delta$  の mRNA は視床においてもっとも強く検出され, 橋および小脳では中等度に認められたが, 大脳皮質および脊髄ではほとんど検出されなかった。
2. 1の結果をもとに, その発現部位を詳細に調べるために ISH を行った。成熟マウス脳の凍結切片上で nPKC  $\delta$  のジゴキシゲニン標識 RNA プロブを用いてハイブリダイゼーションを行った。nPKC  $\delta$  の mRNA のシグナルは視床の知覚性及び運動性中継核群と橋の蝸牛神経背側核に強く, 小脳の分子層の神経細胞の中等度に検出された。
3. マウス脳の発生過程と nPKC  $\delta$  の遺伝子発現の関連性について検討するために, 胎生後期から生後早期の脳における nPKC  $\delta$  の mRNA の発現をノーザンブロットを用いて検討した。nPKC  $\delta$  の mRNA の発現は胎生18日・生下時および生後1週の脳では微弱であったが, 生後2週で急激に発現量が増加し, 3・4週および成熟時の脳とほぼ同程度となった。

4. 3の結果をもとに、視床における nPKC $\delta$  の mRNA の発現が、発生過程でどのように変化するのかを ISH により検討した。胎生後期より生後早期の視床を含む脳組織の凍結切片を作成し、2と同様にジゴキシゲニン標識された nPKC $\delta$  の RNA プローブを用いてハイブリダイゼーションを行った。シグナルは胎生期および生下時の視床ではほとんど検出されず、生後1週の視床においては中心領域の限局した少数の細胞に観察されるのみであった。しかし生後2週の視床では多くの核群に強いシグナルが認められ、この時期における nPKC $\delta$  の mRNA の発現強度・発現細胞数はともに成熟マウスのレベルに達していることが示された。

#### 【総括】

1. 中枢神経系における nPKC $\delta$  の mRNA の局在は、視床核群・蝸牛神経背側核に強く、小脳分子層の神経細胞の中等度に認められ、cPKC やほかのサブタイプの nPKC とは異なった分布を示した。このことは nPKC $\delta$  の遺伝子産物が特定の神経細胞の機能に関係していることを示唆している。
2. 大脳における nPKC $\delta$  の mRNA の発現量は生後1週から2週の間で急速に増加し、視床におけるシグナルの強度・発現細胞の数もこの期間に急速に増大した。このことから nPKC $\delta$  遺伝子産物は特定の神経細胞の生後の分化・増殖に関与している可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

金炯珉君は、マウスの中枢神経系における novel protein kinase C  $\delta$  (nPKC $\delta$ ) 遺伝子の mRNA の局在と発達過程での量的変化について、ノーザンハイブリダイゼーションおよび in situ ハイブリダイゼーション法により研究を行なった。その結果、1. 中枢神経系における nPKC $\delta$  の mRNA は視床核群、蝸牛神経背側核および小脳分子層の神経細胞に強く発現し、PKC の他のサブタイプとは異なった分布を示した。2. 視床核群における nPKC $\delta$  の mRNA の発現細胞数と発現量は、生後1週から2週の間で急激な増加を示した。これらの事実は nPKC $\delta$  遺伝子産物が特定の神経細胞において機能し、その神経細胞の生後の分化・増殖に関与している可能性を示唆しており、本研究は学位に値すると思われる。