The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Expression of the Metabotropic Glutamate Receptor mGluRla and the Ionotropic Glutamate Receptor GluR1 in the Brain during the Postnatal Development of Normal Mouse and in the Cerebellum from Mutant Mice.
Author(s)	梁, 淑姬
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38887
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【3】

氏　　名	梁（りょう）　淑姫（よしみ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　11241　号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	Expression of the Metabotropic Glutamate Receptor mGluRla and the Ionotropic Glutamate Receptor GluR 1 in the Brain during the Postnatal Development of Normal Mouse and in the Cerebellum from Mutant Mice. **（マウス脳の各発育段階とミュータントマウス小脳における グルタミン酸受容体 mGluRla および GluR 1 の脳内分布）**
論文審査委員	（主査） 教　授　遠山　正彌 （副査） 教　授　塩谷弥兵衛　　教　授　三木　直正

論文内容の要旨

［目　　的］

グルタミン酸は中枢神経における興奮性の神経伝達物質のひとつであり，シナプスの可塑性において重要な役割をはたし，また種々の病態にも関与している。薬理学的研究からグルタミン酸受容体は代謝型とイオンチャネル型に大別され，後者はさらにNMDA型，non-NMDA型に分類される。筆者は代謝型 type1（mGluRla）およびnon-NMDA型 type1（GluR1）に対するポリクローナル抗体を作製し，発達過程及び小脳失調ミュータントマウスにおける受容体の脳内局在について解析した。

［実験方法］

1．抗体の作製

抗原としてmGluRlaのC末端15アミノ酸，GluR1のC末端14アミノ酸に相当する合成ペプチドを用いた。これらをBSAに結合して家兎に免疫した。精製して得られたIgGはmGluRlaに反応するものをM1,GluR1に反応するものをA1と名づけた。

2．免疫組織化学

生後（PND）0, 3, 7, 12, 21日および成熟正常マウス（ICR）と小脳失調ミュータントマウス（*weaver, Purkinje-cell-degeneration*（*pcd*））の脳の新鮮凍結切片（18μm）を作製し，Bouin液で固定した。またBouin液で灌流固定し作製したパラフィン切片（10μm）も用いた。切片はM1, A1, あるいは抗IP_3受容体 type1 モノクローナル抗体と反応させた後にbiotin-抗ウサギIgG抗体と，次いでavidin-HRPと反応させ，DAB／H_2O_2で染色した。

［結果と考察］

1）正常成熟マウス脳での発現

成熟ICRマウス脳においてM1抗体は嗅糸球層，視床，小脳分子層等と強く反応し，中程度の反応は線条体，淡蒼球，側坐核，海馬，乳頭体，下オリーブ核，大脳皮質等に認められた。またA1抗体は嗅糸球層，中隔核，海馬，歯状回，小脳分子層等と強く反応し，中程度の反応は線条体，側坐核，手綱核，扁桃核，大脳皮質等に認められた。

小脳においてM1抗体は分子層およびPurkinje細胞層に強く反応したが，A1抗体は分子層にのみ強く反応した。

海馬においてM1抗体はCA1領域および歯状回のhilusとは中程度に反応するものの，CA2-CA3領域との反応はかなり弱い。またA1抗体はCA1および歯状回領域と強く，CA2-CA3領域とはやや弱く反応する。海馬における受

容体蛋白質とmRNAの局在を比較すると，mGluRlaの発現パターン（CA1>CA2-CA3）はそのmRNAの発現パターン（CA1<CA2-CA3）とは異なっており，CA1錐体細胞の樹状突起のみならずCA3からのCA1への入力線維（交連-連合線維，Schaffer側枝）の末端にmGluRlaが発現する可能性が示唆される。一方，GluR1の発現パターンはfl-op型GluR1 mRNAの発現パターンによく対応していた。

またIP_3受容体type1の発現を認めない嗅糸球層や視床においてmGluRlaが発現していることから，これらの部位ではmGluRlaはIP_3受容体type1以外の系（ジアシルグリセロール／Cキナーゼ系等）と共役する可能性が考えられる。

2）マウス脳の生後発達過程に伴う変化

出生時においてM1, A1抗体との反応は微弱ながらも，成熟マウス脳で反応の認められる部位に観察され，その反応性はほぼ直線的に増加していた。

小脳では，M1抗体との反応がPND 3以降でPurkinje細胞体と樹状突起に認められた。A1抗体との反応はBergmannグリアと推定される部位に加えて，Purkinje細胞の樹状突起と推定される部位にも観察された。

海馬では，形態学的，電気生理学的に認め得るシナプス形成の経過に若干先行して両受容体の発現領域の拡大が観察された。

3）小脳失調ミュータントマウスを用いた解析

顆粒細胞が変性脱落する為に平行線維入力を欠く*weaver*では，正常マウスに比べると劣るものの，小脳分子層に両抗体との反応性を認めた。従って平行線維入力は両受容体の発現の維持に不可欠ではないと考えられる。

Purkinje細胞が変性脱落する*pcd*の小脳分子層では，M1抗体との微弱な反応が観察された。これはmGuRlaがPurkinje細胞以外の細胞（ゴルジ細胞，顆粒細胞，星状細胞）にも若干発現していることを示唆する。また*pcd*の小脳分子層ではA1抗体に対する反応の著減も観察された。この原因として，Bergmannグリア自体の絶対数の減少や，あるいは環境要因（Purkinje細胞の変性脱落）に影響されたGluR1発現の抑制が考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は，代謝型type1a（mGluRla）及びnon-NMDA型type1（GluR1）グルタミン酸受容体に対するポリクローナル抗体を作製し，発達過程及び小脳失調ミュータントマウスにおける受容体の脳内局在について解析したものである。グルタミン酸は中枢神経系のシナプスの可塑性に重要な役割を果たし，また種々の病態にも関与することから昨今注目されており，その受容体の脳内局在の解析はグルタミン酸を介した情報伝達系の分子生物学的研究に重要なデータを提供するものである。のみならず，本研究においては以下の興味深い知見が得られている。

1）mGluRlaとIP_3受容体の局在を比較し，mGluRlaの応答がIP_3／Ca^{2+}系以外の系と共役する可能性を示唆した。

2）海馬及び小脳における受容体の発現パターンが発達過程に伴って著明に変化する事を明らかにし，受容体の発現とシナプス形成との関連性を示唆した。

3）小脳失調マウス（*wv, pcd*）の小脳での受容体発現の解析により，平行線維入力はmGluRla及びGluR1の発現維持に必須とされない可能性や，バーグマングリア細胞におけるGluR1の発現にはNeuron-Glia Interactionが関与する可能性などを示唆した。

以上のことから，本研究は学位論文に値するものと評価される。