



Title	Localization of trkB mRNA in Postnatal Brain Development
Author(s)	正名, 好之
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38971">https://hdl.handle.net/11094/38971</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">大阪大学の博士論文について</a>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

氏 名	正 名 好 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 7 5 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 3 月 23 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	Localization of trkB mRNA in Postnatal Brain Development (生後脳発生における trkB mRNA の局在)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠 山 正 彌  (副査) 教 授 早 川 徹 教 授 塩 谷 弥 兵 衛

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

神経栄養因子、ニューロトロフィン (NT) ファミリーのシグナル伝達を担う受容体 (高親和性) は長らくその本体が不明であったが、近年レセプターチロシンキナーゼをコードする trk 遺伝子ファミリーがその候補として同定され注目を集めている。このファミリーの 1 員である trkB は NT ファミリーの内 BDNF, NT-3, -4, -5 (このうち NT-4, -5 は脳ではほとんど発現がない) を結合し得る。培養細胞を用いた実験からは、trkB 産物 (gp145<sup>trkB</sup>) が単独でシグナル伝達可能な高親和性受容体として働くという説と低親和性神経成長因子受容体 (L-NGFR) が共発現していなければならないという説があり未だ結論をみていない。また BDNF は生後発生の過程で漸増し、NT-3 は胎生期、生直後に高発現しその後急速に減少することが知られており、これらの動きと trkB の動態との関係は明らかとなっていない。我々はラット脳生後発生における trkB mRNA の発現の局在を調べ、これまで報告されている NT-3, BDNF, そして L-NGFR mRNA の発現の局在と比較し、脳生後発生過程において gp145<sup>trkB</sup> を介して作用する神経栄養因子の生理的意義と作用様式および L-NGFR の関与などについて検討した。

### 【方法ならびに成績】

各々 5 匹ずつの雄性 Wistar rat の生直後、生後 7 日、生後 14 日、そして成熟脳を取り出し 14  $\mu$ m の凍結切片とし、In situ ハイブリダイゼーションを行った。プローブはマウス trkB mRNA の 653-697 塩基と 1690-1734 塩基にそれぞれ相補的な 45mer のオリゴヌクレオチドプローブを用いた。これらのプローブは最近同定されたラット trkB cDNA の対応する箇所とそれぞれ 95% 以上の相同性があり、他の trk ファミリーメンバーとは 60% 以下の相同性しかなかった。これらのプローブを [ $\alpha$ -<sup>32</sup>S] dATP にて 3' 末端標識 ( $1.4\text{--}2.8 \times 10^5$  dpm/ $\mu$ g) して用いた。ハイブリダイゼーション、洗浄は定法に従い、シグナルの検出は乳剤オートラジオグラフィーにより行った。コントロール試験として 1) RNase (10  $\mu$ g/ml) 処理、2) 100 倍量の R1 ラベルしていない trkB プローブ、及び 3) 100 倍量の R1 ラベルしていない trkA プローブを用いた競合試験をおこなった。1), 2) ではシグナルが消失し、3) ではシグナルの変化を認めなかったことよりこれらのプローブが trkB を特異的に認識する事を確認した。trkB mRNA のシグナル強度はバックグラウンドの silver grain 数に対する細胞上の silver grain 数 (signal to noise ratio (S/N)) により強 ( $5 \leq S/N$ ), 中 ( $4 \leq S/N < 5$ ), 弱 ( $3 \leq S/N < 4$ ), 感度以下 ( $S/N < 3$ ) に分けた。trkB mRNA の発現はすべて神経細胞であり、各領域の発現強度の変動は以下に述べる如くであった。嗅球では生直後から成熟脳に至るまで弱

い発現から中等度の発現で推移した。大脳皮質では生直後脳で強度の発現を示したが徐々に減少し成熟脳では弱い発現となった。海馬においては生直後脳では発現強度は弱いが発生過程で徐々に増加し成熟脳では強度となった。中隔核や対角帯の垂直脚では生直後では中等度の発現であったが発生過程で急激に減少し成熟脳では感度以下となった。扁桃体では生直後から成熟脳に至るまで中等度の発現を示した。視床では生直後脳で強度の発現を示したが発生過程で急激に減少し、成熟脳では弱い発現から感度以下となった。小脳皮質では生直後から成熟脳までほぼ中等度の発現強度で推移した。

#### 【総括】

生下時、trkB mRNA は脳内に広範に発現しており、特に視床と大脳皮質で最も強く発現していた。成長につれて trkB mRNA の発現は海馬で唯一増加した以外は持続するか減少した。成熟脳では trkB mRNA は嗅球、大脳皮質、海馬、扁桃体、そして小脳皮質で発現していた。これらの所見を BDNF や NT-3 の mRNA の発現のパターンと比較すると gp145<sup>trkB</sup> では主に生後発生の早期で NT-3 signal を伝達し、後期で BDNF signal を伝達することが示唆された。また、成熟脳で trkB mRNA の発現部位を L-NGFR や BDNF の mRNA の発現部位と比較すると gp145<sup>trkB</sup> は L-NGFR を必要とせず、単独で高親和性受容体となり、そして、BDNF はオートクライン或いはパラクライン性のメカニズムで働くことが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、trkB mRNA の発現の局在をラット脳生後発生過程において明らかにしたものである。その結果を生後発生過程においてリガンドである BDNF や NT-3 の mRNA の局在と比較すると trkB 産物 (gp145<sup>trkB</sup>) は生後発生の早期には主に NT-3 のシグナルを伝達し、後期には主に BDNF のシグナルを伝達することが示唆された。また、成熟脳では trkB mRNA の発現部位を低親和性 NGF 受容体 (L-NGFR) や BDNF の mRNA の発現部位と比較すると gp145<sup>trkB</sup> は L-NGFR を必要とせず、単独で高親和性受容体となり、そして、BDNF はオートクライン或いはパラクライン性のメカニズムで働くことが示唆された。以上の内容は成長因子について論じる上で極めて重要なことであり、学位の授与に値すると考えられる。