



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | CHANGES OF NEUROTROPHIC FACTORS AND THEIR RECEPTORS IN RAT SUPRACHIASMATIC NUCLEUS AND ITS SURROUNDING REGIONS                                  |
| Author(s)    | 浅田, 明子                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1995, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/39056">https://hdl.handle.net/11094/39056</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           | あさ 浅 だ 田 あき 明 こ 子                                                                                                                                                                 |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (理 学)                                                                                                                                                                         |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 1 7 3 3 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<br>理学研究科生物化学専攻                                                                                                                                                   |
| 学 位 論 文 名     | CHANGES OF NEUROTROPHIC FACTORS AND THEIR RE-<br>CEPTORS IN RAT SUPRACHIASMATIC NUCLEUS AND ITS<br>SURROUNDING REGIONS<br>(ラット視床下部視交叉上核腹外側部に投射する網膜視床下部路の生<br>存維持に関わる神経栄養因子とその受容体) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 中川 八郎<br><br>(副査)<br>教 授 吉川 和明 教 授 畠中 寛                                                                                                                               |

### 論 文 内 容 の 要 旨

哺乳動物の概日時計は視床下部視交叉上核 (Suprachiasmatic nucleus, SCN) の背内側部に存在するのに対して、位相決定に重要な役割を果たしている網膜視床下部路 (Retinohypothalamic tract, RHT) は SCN の腹外側部に入力している。概日時計はこの RHT が伝える外界の明暗周期の情報に同調して、約 24 時間の周期を示すようになる。RHT が入力する SCN の腹外側部には神経栄養因子 (Neurotrophic factor, NTF) の低親和性受容体 (p75) が局在する。NTF がその神経栄養因子作用を発揮するためには、受容体との高親和性結合が必須だが、*trk* ファミリーの発現産物 Trk A, B, C がそれぞれ NGF, BDNF, NT-3 に対する高親和性受容体であることが示され、そのうち Trk A は p75 との共発現によって NGF の機能的受容体に転換する。低親和性受容体は他の NTF ファミリーに属する BDNF や NT-3 とともに NGF と同様の親和性を示すことから、p75 が Trk B, Trk C とともに共発現してこれらの NTF の機能的受容体となる可能性は高い。従って RHT の生存維持には NTF ファミリーが深く関わっていると考えられる。また、SCN の腹外側部のニューロンがエネルギー代謝調節に関与し、眼球摘出によって一時的にその機能低下がおこり、p75 が眼球摘出によって減少してくる時期もほぼ一致することから、RHT の情報の入力を受けているニューロンも NTF によって機能維持されていることが推測される。そこで、本研究では、SCN 腹外側部に投射している RHT の生存維持がどの NTF によって行なわれているのかを明らかにし、SCN 腹外側部のニューロンの機能維持に関わる NTF の同定を目的として眼球を摘出して RHT をのぞき、ニューロンが変性していく過程での NTF と Trk の挙動を指標とした。

ラット脳の SCN 領域の immunoblotting を行うと Trk A は全く検出されなかったのが Trk B と Trk C は検出された。片眼あるいは両眼を摘出したラットについても摘出 1 日後、2 日後、1 週間後で同様に解析すると両者共に大きな量的変化は認められなかったものの、Trk B の Truncated form が増加する傾向が認められ、これは特に両眼摘出のラットの方が片眼摘出ラットより顕著であった。Truncated form はグリアに多いことが知られていることから、このことは損傷を受けたニューロンが破壊され、シナプス連絡をしていた領域がグリアで埋められていく過程を示しているのではないかと考えられる。一方、Trk C には特に顕著な変化を捕えることは出来なかった。従って Trk ファミリーのうち Trk B が SCN の RHT の生存維持に関わっていると結論した。また、BDNF の変化を同様の方法で解析すると、両眼摘出したラットでは、徐々に減少する傾向を示したが、片眼摘出したラットでは健常動物と比較して摘出後いったん相対的に増加し、1 週間後に減少する結果が得られた。こうした NTF の変化は SCN 内の分布に

どのように反映されているかを免疫組織化学の手法を用いて解析した。片眼摘出1日後のSCNでは腹外側部を染色するとBDNFは、対側に比較して濃く、NT-5は欠落していることが観察された。NT-3にはこうした不均衡は認められないことから、NT-3に強い親和性を持つTrk CはRHTの維持にかかわらないことが示唆された。

片眼摘出時と両眼摘出時とでは、NTFの挙動に相違が認められた。入力する明暗刺激の量の差か、生き残っているニューロン、あるいはシナプスの影響かを検討するために、明暗刺激の入力を阻害することを目的として、恒常暗条件下で飼育した片眼摘出ラットを解析した。この条件下でもBDNFの相対量は、明暗周期下のラットで得られた結果と同様だった。組織染色では、SCNでのBDNFの濃度の差は認められたが、NT-5では差の判定は困難となった。このことは、NT-5の産生には明暗情報の入力に関わっていることを示している。次にニューロンあるいはシナプスが存在する条件下で明暗情報を遮断するために、Na<sup>+</sup>チャンネルの阻害剤であるTTX (Tetrodotoxin) を片眼に投与したラットについて組織染色を行った。その結果、NT-5のみが染色に左右差を生じた。これらの結果からBDNFの産生には、神経細胞の存在が最も重要であり、NT-5は明暗情報の入力が必要であることが示された。上記の研究から、SCNに入力するRHTの生存維持にはTrk BとそのリガンドであるBDNFおよびNT-5が関わっていることが示され、BDNFは形態的維持作用、NT-5は機能的な維持作用と相互に役割分担している可能性が示された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、視神経切断後のラットの視床下部視交叉上核の左右に存在するニューロトロフィン受容体の解析から、神経細胞自体とその機能の維持にそれぞれBDNFとNT-5が関わることを明かにした。これまでニューロトロフィンの神経細胞にたいする生存維持作用は、培養細胞系についての研究から推論されてきたにすぎないが、本研究によって生体内でも実際に効果が発揮されることを証明している点でこの論文は、学位に値するものとして評価できると考える。