



Title	Changes in growth inhibitory factor mRNA expression compared with those in c-jun mRNA expression following facial nerve transection
Author(s)	湯口, 貴導
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39835
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

氏 名	湯 口 貴 導
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 4 2 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 8 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Changes in growth inhibitory factor mRNA expression compared with those in <i>c-jun</i> mRNA expression following facial nerve transection (顔面神経切断後の成長抑制因子と <i>c-jun</i> 遺伝子発現との比較検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 早 川 徹 (副査) 教 授 遠 山 正 彌 教 授 久 保 武

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

完成された神経回路網では成長を抑制する因子の発現が認められ、損傷後には抑制系の因子が低下するのではないかと考え、以下の実験を行った。成長抑制因子 (Growth Inhibitory Factor, 以下GIF) はアルツハイマー病に関連して発見され、培養神経細胞に対し突起伸展を抑制し、成熟中枢神経系に豊富に存在することが報告されている。顔面神経損傷モデルを用いて、神経損傷後に顔面神経核に生じる G I F 遺伝子発現の変化を *in situ* hybridization 法を用いて検討した。顔面神経損傷時の顔面神経核における遺伝子発現の状態を比較検討するために immediate early gene の一つである *c-jun* 遺伝子発現も検討した。

〔方法〕

実験には Wistar 系雌ラット (体重200g, n=24) を用いた。抱水クロラル (300mg/kg) を腹腔内に投与した後、左耳介後方に約 7 mm の皮切を加え、左顔面神経を頭蓋外で露出切断し、再吻合を予防するために切断部遠位側をさらに 5 mm 切除した。顔面神経露出のみを行った群を対照として用いた。術後 1 日, 3 日, 7 日, 14 日, 28 日並びに 35 日目 (各群 3 匹) にネンブータル深麻酔下に脳を摘出し急速凍結固定を行い、顔面神経核を含む厚さ 10 μ m の冠状凍結切片を作成した。ラット GIF cDNA の 3' - non coding region をテンプレートとし ³²S-UTP を用いて GIF cRNA プロローベを作成した。ハイブリダイゼーション温度 55℃, 洗浄温度 65℃ の条件で *in situ* hybridization を行い GIF mRNA の発現変化をマクロオートラジオグラムにて比較検討した。発現細胞の確認はマイクロオートラジオグラムにより行った。さらに、同様のモデルで *c-jun* 遺伝子発現の変化を *c-jun* オリゴプロローベを用い、ハイブリダイゼーション温度 42℃, 洗浄温度 55℃ の条件で *in situ* hybridization を行った。

〔成績〕

全組織をアンチセンスプロローベとセンスプロローベによりハイブリダイゼーションした結果、アンチセンスプロローベにおいてのみ脳幹部に明かな GIF mRNA のシグナルが認められ、特異的反応と判断した。対照群では顔面神経核、前庭蝸牛核並びに、三叉神経脊髄路核に強い GIF mRNA の発現を認めた。発現細胞はマイクロオートラジオグラムにより神経細胞であることが確認された。顔面神経損傷後 3 日目より障害側顔面神経核における GIF mRNA の発現は明らかに低下し、少なくとも 5 週間目まで低下は持続していた。一方 *c-jun* mRNA は損傷後 1 日目より著しい発現を認め、5 週間目まで持続していた。

〔総括〕

GIFはその発見以来、グリア系細胞において発現されると報告されてきたが、本研究によりはじめて、神経細胞においても発現されることが明らかとなった。健常状態で顔面神経核にGIFが多量に存在していたことは、GIFが神経突起伸展を常に抑制し、調節している可能性を示すものである。顔面神経損傷後にGIF mRNAは著しく低下し、一方*c-jun* mRNAは神経細胞で著しく増加していた。このことは、神経損傷後に認められたGIF mRNAの発現低下が、単に顔面神経細胞の機能低下に伴い生じた現象ではなく、積極的に抑制し結果として神経細胞の突起伸展を促しているものと考えられた。神経再生と関連して近年さまざまな神経栄養因子が注目されているが、GIFのような成長を抑制する因子の変動にも着目する必要があるだろう。

論文審査の結果の要旨

近年、成長抑制因子（GIF）が発見され、培養神経細胞に対し突起伸展を抑制することが報告されている。

本研究は、神経再生過程における抑制系の因子の関与に注目し、顔面神経損傷後のGIF mRNAの発現変化を *in situ* hybridization 法を用いて検討している。その結果、成熟ラット顔面神経核にはGIFが多量に存在し、損傷後にその発現が著しく抑制されることが明らかとなった。このことは、GIFが神経突起伸展を常に抑制し調節している可能性を示すものであり、神経損傷後に神経細胞がGIFを積極的に抑制する事により結果として突起伸展を促すことが示唆された。さらに、GIFはその発見以来、グリア系細胞において発現されると報告されてきたが、はじめて神経細胞において発現されることが明らかとなった。本研究は神経系における抑制因子の重要性を示すものであり、学位に値するものと評価される。