



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12426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GIF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。抱水クロラール(300mg/kg)を腹腔内に投与した後、左耳介後方に約7mm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5mm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)にネンブター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10μmの冠状断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³⁵S-UTPを用いてGIF cRNAプローブを作成した。ハイブリダイゼーション温度55°C、洗浄温度65°C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。発現細胞の確認はミ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*オリゴプローブを用い、ハイブリダイゼーション温度42°C、洗浄温度55°C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ーブとセンスプローブによりハイブリダイゼーションした結果、アンチセンスプローブ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。発現細胞はミ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見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見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見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見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。