



Title	Differential distribution of mRNA encoding cAMP - specific phosphodiesterase isoforms in the rat brain
Author(s)	岩橋, 佳子
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39845
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	岩 橋 佳 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 4 2 0 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	Differential distribution of mRNA encoding cAMP - specific phosphodiesterase isoforms in the rat brain (cAMP 特異的ホスホジエステラーゼ mRNA のラット脳における局在)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 田 野 保 雄 (副査) 教 授 内 山 安 男 教 授 遠 山 正 彌

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) は、細胞内 2 次伝達分子である cAMP, cGMP を分解する酵素であり、これらの増減をコントロールすることにより細胞内シグナル伝達に重要な役割を果たしている。哺乳類の PDE は作用条件や特異性の相違により、現在 8 タイプに分類されており、更に各々はアミノ酸配列の相違により全体で 20 以上の isoforms に分かれファミリーを形成している。このうち cAMP 特異的ホスホジエステラーゼ (APDE) は学習と記憶、細胞の生死、免疫応答の活性化などに関与することが報告されている。また cAMP 伝達系が long-term potentiation (LTP) にかかわっていることも示唆されており、APDE は神経系で重要な役割を担っていると考えられる。そこで本研究では現在までに同定されている 4 つのラット APDE isoform mRNA のラット脳における局在を *in situ* ハイブリダイゼーション組織化学法を用いて検討し、他のタイプである Ca^{++} /CaM 依存性ホスホジエステラーゼ (CPDE) の 63kDa isoform と比較した。

方法

1) 対象

150g の雄 Wistar rat をペントバルビタールによる全身麻酔下に断頭し、速やかに脳組織を取り出した後ドライアイスで急速冷凍し、15 μm に薄切しシランコートスライドガラスに貼り付けて切片を作成した。

2) プローブ

各々の isoform に特異的な塩基配列に対して相補的な 46-54mer のオリゴヌクレオチドを合成し、3'-end labeling 法で [α - ^{32}S] dATP を標識し、これをプローブとして用いた。

3) *in situ* ハイブリダイゼーション

反応は 42°C で 12-16 時間行い、コントロールとして 100 倍量の非標識プローブを標識プローブと同時に反応させた。反応後は切片を 1 週間フィルムに曝露しマクロオートラジオグラフィーを行った後、乳剤をコートし暗箱で 4°C、4-5 週露出後現像し暗視野及び明視野顕微鏡で観察した。

成績

APDE 2-4, CPDE はラット脳全域において各々特異的な局在パターンを示した。一方、APDE 1 は明らかなシグナルが検出されなかった。APDE isoforms の中では、APDE 3 が嗅球、海馬、大脳皮質、視床、小脳

などほとんどの部位で最も強く発現していた。しかし例外がいくつかあり、歯状回ではA P D E 2が、小脳顆粒層ではA P D E 4が強く発現していた。A P D E 4の発現は全体的に弱かったが、嗅結節、側坐核では他の isoforms より強く発現していた。また、2種類以上のA P D E isoforms,あるいは1種類以上のA P D E isoformsと63kDa C P D Eが脳内の同じ領域に強く発現している部位が観察された。

総括

- 1) A P D E 1は脳内で明らかなシグナルが検出されなかった。A P D E 1は脳神経系に作用する isoform ではないと考えられた。
- 2) A P D E isoforms の中では、A P D E 3がほとんどの部位で最も強く発現しており、これが脳における主な isoform と考えられた。
- 3) 歯状回ではA P D E 2が、小脳顆粒層ではA P D E 4が強く発現しており、これは同部位におけるこれらの isoforms の特別な役割を示すものと思われた。
- 4) 2種類以上のA P D E isoforms,あるいは1種類以上のA P D E isoformsと63kDa C P D Eが脳内の同じ領域に強く発現している部位が認められた。このことより、以下の2つの仮説をたてた。
 - i) いろいろな神経伝達物質や神経修飾物質がそれぞれに異なる細胞内伝達経路を持っている可能性がある。
 - ii) 神経内でイオンの状態に応じて異なるP D Eが相補的に働く。即ち、細胞内のカルシウムイオン濃度が高い時にはC P D Eが、低い時にはA P D Eが活性化される。
- 5) A P D E isoforms の局在のパターンは特定の機能をもつ細胞群と直接結びつくものではなく、cAMPによるシグナル伝達は複雑な相互作用を有することが示された。

論文審査の結果の要旨

Phosphodiesterase (P D E)は細胞内2次伝達分子であるcNTPを分解することによりシグナル伝達を調整している。特にcAMPは神経系において学習と記憶やL T P (long-term potentiation)に関わっていることが知られており、cAMPを特異的に分解するcAMP-specific phosphodiesterase (A P D E)の脳内局在を調べることはその機能を知る上で重要な意義を持つものと思われる。

本研究はA P D Eの4種の isoform の mRNA のラット脳内分布をin situ hybridization組織化学法により詳細に比較検討したものである。その結果、各々のA P D E isoformは脳内で特異的な分布形態を示すことが明らかとなり、特にA P D E 3がA P D Eの中で重要な役割を担っていることが示唆された。また、各 isoform間で多くの領域における共存が認められ、cAMPシグナル伝達系が様々な条件に応じて多くの情報を調整していることが示唆された。

これらの結果はA P D Eの脳内における機能の重要性を示す価値ある知見であり、学位論文に値する。