



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12420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、15μmに薄切しシランコートスライドグ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-³²S]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。