



Title	Expression and activity-dependent changes of a novel limbic-serine protease gene in the hippocampus
Author(s)	陳, 祖林
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41039">https://hdl.handle.net/11094/41039</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	陳 祖 林
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 13315 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 5 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Expression and activity-dependent changes of a novel limbic-serine protease gene in the hippocampus (ニューロプシンの機能解析—中枢神経系および末梢臓器)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠山 正彌 (副査) 教 授 三木 直正 教 授 内山 安男

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目的]

大脳辺縁系は学習、記憶、認知機構等の高次神経機能をつかさどる領域として知られている。これらの高次神経機能を分子生物学より説明するため細胞外マトリックス蛋白質、細胞接着因子による神経細胞の接着、形態変化、突起伸展および細胞間の離反など生体内の動的な細胞変化を担う蛋白質としてマトリックスプロテアーゼのクローニングを試みた。すなわち、海馬領域が神経系で最も可塑性に富む組織であることから、その領域にあるプロテアーゼの発現に着目し、新規セリンプロテアーゼ遺伝子ニューロプシンを単離することに成功した。本研究では、ニューロプシンのクローニング、神経可塑性との関連及び末梢組織での分布について検討した。

#### [方法ならびに成績]

マウス海馬より新しいセリンプロテアーゼをクローニングするため、神経成長因子の  $\gamma$ -サブユニットのプロテアーゼドメインを参考にして 2 つのプライマーを作成した。成熟 ddY マウス海馬の mRNA をもちいた RT-PCR から新規遺伝子をクローニングし、ニューロプシンと名付けた。ニューロプシンは 260 アミノ酸残基からなるセリンプロテアーゼであり、 $\gamma$ -NGF、トリプシン、組織プラスミノゲンアクチベーター (tPA) と 41, 38, 18% の相同性を有していた。また同様に、セリンプロテアーゼとして必要な触媒部位と基質結合部位の構造を有することが推定された。

次に成熟マウス脳におけるニューロプシン遺伝子の発現パターンを *In situ* hybridization 組織化学法により検討した。ニューロプシンは成体マウス脳では、大脳辺縁系、特に海馬 CA1 から CA3 領域、扁桃体、中隔野、対角帯でのみ極めて強い発現が見られた。海馬 CA1 から CA3 領域でニューロプシンの発現は錐体細胞に局在することが認められた。次いで可塑性のモデルとして知られているキンドリングマウスを作製し、ニューロプシンの発現変化を *In situ* hybridization を用いて検討した。キンドリングは扁桃体電気刺激により定法に従い脳波と行動変化をモニターして完全にキンドリングを呈した動物を実験に供した。キンドリング動物においてはニューロプシンの発現の顕著な増加が海馬 CA1, CA3 及び扁桃体でみられた。又、海馬腹側部の CA3 野に直接低頻度電気刺激を加えると、ニューロプシンの発現レベルの低下が始まり、12 時間後に CA1 野で 38% の低下がみられた。一方、tPA は刺激後に発現は増加した。

両者ともに、48時間後にもとのレベルに戻った。

又、脳以外の組織においてニューロプシン遺伝子の発現を同様な方法で検討した。ニューロプシン遺伝子は皮膚、胃、食道などの器官におけるケラチノサイト、妊娠5.5日から10.5日までの子宮における脱落膜細胞に強い発現を認めめた。その他、胸腺、脾臓、肺には弱い発現が観察された。

以上の結果をまとめると、ニューロプシンは成体マウス脳内では、大脳辺縁系、特に海馬 CA1 から CA3 領域、扁桃体、中隔野でのみ強い発現が認められ、さらに、海馬領域への直接電気刺激により、その発現が上記領域で増強、あるいは抑制される。また、同遺伝子の脳内での発生時期に伴う発現領域、発現強度の変化を *In situ hybridization* により詳細に検討したところ、胎生期にはニューロプシン遺伝子は広範でかつ一過性の発現を示すことが明らかとなつた。この結果は、これまで推測されていた成体脳内でのニューロプシンの機能、すなわち学習、記憶機構への関与という機能に加え、本蛋白質が胎生初期における神経細胞の移動、シナプス形成に関与する可能性を示している。更に、当初は神経細胞に特異的と見られたが側脳室および第四脳室脈絡叢の上皮細胞、皮膚のケラチノサイトおよび妊娠子宮において見られた強いシグナル発現は、ニューロプシンが脳脊髄液の産生、皮膚角質化、妊娠などの重要な生理機能にも関与する可能性を示していると考えられ、多くの機能に関与する多機能蛋白質である可能性が明らかになつた。

#### [総括]

ニューロプシンの機能として神経および非神経組織に分けて示す。神経系ではニューロプシンは神経細胞体、特に錐体細胞に分布し、電気刺激に応じた遺伝子増強あるいは減弱される神経活動依存的な変化を示すことから、神経の伝達機構に直接関与するものと考えられる。一方、末梢組織では炎症によって遺伝子増強される皮膚のケラチノサイトでの発現や、妊娠時に子宮の脱落膜細胞において遺伝子発現が爆発的に増大することなどから活発な細胞移動、増殖などの機能に重要な役割を果たしているものと考えた。

### 論文審査の結果の要旨

陳祖林君はマウス脳より新規セリンプロテアーゼ、ニューロプシンをクローニングし、マウス脳神経系および末梢における遺伝子発現を検討した。

その結果、1. ニューロプシン mRNA は海馬を始めとする大脳辺縁系に局在し、辺縁機能に関係すること、2. 辺縁系に異常を起こすてんかんモデル動物では、ニューロプシン mRNA の増加が観察され、病態との関連が示唆されること、3. 皮膚・妊娠動物の子宮など末梢臓器に分布し、細胞の移動などの機能が推定されることを示した。

本研究により生体内で重要な機能を有すると考えられる新規プロテアーゼが発見され、これは学位論文に値すると思われる。