



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ラット海馬においてメタンフェタミン投与により誘導される新規最初期遺伝子mieg (methamphetamine induced immediate early gene) の単離と機能解析                                                 |
| Author(s)    | 都, 銀珠                                                                                                                                           |
| Citation     | 大阪大学, 1999, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/41629">https://hdl.handle.net/11094/41629</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           | 都 銀 珠                                                                                                   |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                               |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 4 4 5 5 号                                                                                           |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成11年 3 月 25 日                                                                                          |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科生理系専攻                                                                             |
| 学 位 論 文 名     | ラット海馬においてメタンフェタミン投与により誘導される新規最初期遺伝子 <i>mieg</i> (methamphetamine induced immediate early gene) の単離と機能解析 |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 三 木 直 正<br><br>(副査)<br>教 授 津 本 忠 治    教 授 遠 山 正 彌                                           |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

最初期遺伝子 (Immediate early genes ; IEGs) は、痙攣発作, LTP, 脳虚血発作, 覚醒剤投与などによって誘導されるもので、転写因子群と細胞の機能に直接影響すると考えられる effector 蛋白質をコードする遺伝子群の二つのグループに分けられる。Effector IEG の一つである Arc (activity-regulated cytoskeleton-associated protein) は、神経活動により樹状突起内で合成され、シナプス後のニューロンの可塑的变化に関与しているものと考えられる。本研究は、Arc の機能を調べるため、yeast two hybrid system を用いて、Arc と結合する蛋白質として単離したクローン *mieg* の構造と機能を検討したものである。

### 【方法ならびに成績】

*Mieg* は yeast two hybrid system を用いて Arc と相互作用する蛋白質の検索で陽性クローンとしては得られたが、全長 cDNA クローンのスクリーニングから Arc と結合したのは *mieg* クローンの 3' 非翻訳領域であることが分かった。しかし、*mieg* 発現がメタンフェタミン投与により脳組織で誘導されるのを見出したので、全長 *mieg* の cDNA の単離を行った。1141 アミノ酸残基からなるオープンリーディングフレームを取る 6.5kb のクローンが全長 *mieg* の cDNA として得られた。*Mieg* は DNA 塩基配列からヒト脳の EST クローン R 36326 と約 90%, またアミノ酸配列ではヒト脳の KIAA0470 蛋白質と約 80% の相同性を持っていた。*Mieg* 蛋白質は DNA 結合モチーフなどを含む既知の蛋白質のドメイン構造を持たないためその構造から機能を推定するはできなかった。

*Mieg* mRNA の発現を northern blot 法と *in situ* hybridization 法で解析した。*Mieg* は脳組織では大脳皮質、小脳、海馬および扁桃体で、末梢組織では胸腺で発現していた。

メタンフェタミンによる *mieg* 遺伝子の発現調節について検討するために、海馬および小脳からの全 RNA 20  $\mu$ g を用いて northern blot 解析を行った。海馬ではメタンフェタミン投与後 1 時間から発現が増加し、24 時間で対照レベルに戻った。小脳ではメタンフェタミン投与後 1 時間で一時的に発現レベルが減少するが、4 時間から発現が増加し、24 時間で対照レベルに戻った。両組織共に cycloheximide 前投与後メタンフェタミンを投与したところ、1 時間および 2 時間で superinduction されるのが認められた。メタンフェタミン投与後 1 時間の脳の *in situ* hybridization 法では、大脳皮質、海馬および扁桃体での発現の増加が認められたが、線状体での発現は見られなかった。*Mieg* はメ

タンフェタミン投与後早期に発現が上昇すること、また、cycloheximide 投与により superinduction されることから、最初期遺伝子の一つであると考えられた。

Mieg は PC12, NG108-15, C6 や SK-N-SH などの神経由来の培養細胞で強く発現していたが、非神経系細胞である COS7 や NIH3T3 ではほとんど発現していなかった。特に PC12 細胞を NGF 処理により交感神経様細胞に分化させると NGF 処理後 24 時間で mieg の発現が一時的に増加し、48 時間には対照レベルに戻った。この結果は mieg が細胞分化にも関連している可能性を示唆する。

#### 【総括】

メタンフェタミン投与により誘導される新しい最初期遺伝子 mieg を見出し、その構造と機能を解析した。Mieg 蛋白質は 1141 アミノ酸配列からなり機能を推定できるほど既知の蛋白質と相溶性のあるドメイン構造を持っていなかった。Mieg は胸腺と中枢神経系で特異的に発現しており、メタンフェタミン投与により、海馬、扁桃体および小脳で急速に誘導され、24 時間後に対照レベルに戻った。また、cycloheximide 前投与によって海馬と小脳で superinduction されることが認められた。mieg は神経系細胞でほぼ特異的に発現し、特に PC12 を NGF 処理により交感神経系細胞に分化させると一時的に発現が増加し、細胞分化への関与も示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究はメタンフェタミン投与により誘導される新しい最初期遺伝子 mieg を見出し、その構造と機能を解析したものである。Mieg 蛋白質は、1141 アミノ酸配列からなり、コンピュータ解析からは、ホモロジーのある蛋白質は見あたらなかった。Mieg は胸腺と中枢神経系で特異的に発現していた。メタンフェタミン投与により、海馬、扁桃体や小脳で急速に誘導され、24 時間後に対照レベルに戻った。また、cycloheximide 前投与によって海馬と小脳で superinduction されることが認められた。さらに、PC12 細胞を NGF 処理して交感神経細胞に分化させた時にも一時的に mieg の発現が上昇したことから、mieg が細胞分化にも関与している可能性も示唆している。本研究は、mieg がメタンフェタミン投与により、海馬などの辺縁系で誘導される新規最初期遺伝子であることを明らかにしたもので、メタンフェタミンなどによる精神症状発現や依存形成の解析に役立つものと考えられ、学位の授与に値するものと評価された。