

Title	Changes in mRNA for post-synaptic density-95 (PSD-95) and carboxy-terminal PDZ ligand of neuronal nitric oxide synthase following facial nerve transection
Author(s)	蔡, 栄浩
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42563">https://hdl.handle.net/11094/42563</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	蔡 榮 浩
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 1 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 3 年 3 月 2 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学 位 論 文 名	Changes in mRNA for post-synaptic density-95 (PSD-95) and carboxy-terminal PDZ ligand of neuronal nitric oxide synthase following facial nerve transection (ラット顔面神経切断後の PSD-95及び CAPON mRNA の発現変化)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠 山 正 彌  (副査) 教 授 越 智 隆 弘 教 授 吉 川 秀 樹

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

末梢神経の軸索切断後神経細胞には軸索伸展をはじめ様々な変化が起こるが未知の部分が多い。

軸索切断後二次運動ニューロンは一旦細胞体の持つ樹状突起が減少・退縮し、シナプス数が減少し、その後軸索が再生し再び筋肉と結合すると樹状突起が形成され、シナプス数も回復することが形態学的研究により既に知られている。一方一酸化窒素 (NO) はシナプスに於いてポストシナプスからプレシナプスへの伝達物質として働き、シナプスの機能や形成に関与していると考えられている。NO は一酸化窒素合成酵素 (NOS) によって合成されているが、ポストシナプスにおいて神経型 NOS (nNOS) は Post-synaptic density-95 (PSD-95) および Carboxy-terminal PDZ ligand of neuronal nitric oxide synthase (CAPON) によってその局在を制御され、それにより NO 産生活性を制御されていると考えられている。

今回我々は神経切断後のシナプス再形成に焦点をあて、PSD-95および CAPON の mRNA の発現変化を検索した。また神経軸索の逆行性トレーサーを用いて軸索の筋肉への到達時期、すなわちシナプス再形成の時期を検索した。

#### 【方法】

ラット顔面神経切断後 PSD-95、CAPON および nNOS の mRNA の発現変化を *in situ* hybridization 法を用いて検索した。時間経過は切断後1日から35日までとした。

また逆行性トレーサー (小麦胚芽凝集素: WGA) を用いて顔面神経核の運動ニューロンの筋肉への到達時期を検索した。具体的には前日に髭の下の筋肉と下唇にトレーサーを注射しておき、翌日屠殺し、顔面神経核で免疫組織学的に WGA を検出した。

蛋白レベルの nNOS の発現量を検索するため、nNOS とほぼ同等の分布を示すとされている Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase (NADPH-d) 染色を行った。

#### 【成績】

逆行性トレーサーを用いた実験で我々の用いたラットの顔面神経切断後モデルでは切断後7日目から14日目の間に切断された軸索が筋肉に到達していることが分かった。すなわち軸索切断後7日目以降14日目の間にシナプスの再形成が生じていると推察された。

PSD-95及び CAPON の mRNA は顔面神経核において運動神経細胞に定常的に発現していた。切断後両者とも

一過性に発現低下が起こり、軸索が筋肉に到達した時期；すなわちシナプスが再形成される時期とだいたい一致して発現量が回復していった。nNOSは定常的には検出されなかったが、軸索切断後7日目から21日目にかけて mRNA の発現上昇が見られた。NADPH-dによる nNOS の発現は切断後7日目から見られ28日目にかけて発現上昇が見られた。

以上より PSD-95および CAPON は nNOS のシナプス後肥厚部での局在を制御する事によりその活性を調節しシナプス形成や機能維持に関わっているという仮説を支持する結果が得られた。

#### 【総括】

本研究は PSD-95および CAPON の mRNA がシナプス数の増減に一致して発現量が増減していたことを示した。以上より PSD-95および CAPON は nNOS の活性を調節することによりシナプス形成や維持に関わっている可能性が示唆された。現在までの報告では nNOS が軸索切断後発現するがそれがどんな機能を果たしているか分かっていなかったが、本研究の結果から軸索切断後のシナプス再形成に関わっている可能性があることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究はラット顔面神経核の運動ニューロンにおける PSD-95及び CAPON の mRNA の発現が軸索切断により一過性に発現低下し、軸索が筋肉に到達した時期に発現が回復していったことを示した。PSD-95及び CAPON は後シナプス肥厚部において一酸化窒素産生を制御することによりシナプスの機能や形成を調節している蛋白質であり、本研究の結果は、運動ニューロンは軸索切断後細胞体及び樹状突起のシナプス数が一過性に減少し、軸索が筋肉へ到達すると回復するという今までの形態学的研究での報告を分子生物学的に裏付けたものとなっている。

本研究は軸索切断後の末梢神経再生のメカニズムとしてシナプス形成に焦点をあてた点でユニークな研究であり、学位に値するものとする。