



Title	Expression of hepatocyte growth factor and cMet in the rat sensory nervous system
Author(s)	橋本, 典夫
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43805">https://hdl.handle.net/11094/43805</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	橋本典夫
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第16877号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Expression of hepatocyte growth factor and cMet in the rat sensory nervous system (ラット知覚神経系での肝細胞増殖因子とcMetの発現)
論文審査委員	(主査) 教授 真下 節  (副査) 教授 吉矢 生人 教授 遠山 正彌

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

Hepatocyte growth factor (HGF) は1989年に肝再生因子としてクローニングされた。以後、肝細胞増殖活性以外にも、増殖、分化、抗アポトーシスなどの機能があることがわかり、現在 HGF 投与による閉塞性動脈硬化症や肝硬変などの疾患に対する臨床応用が期待されている。HGF は神経栄養因子としての働きも持つことが最近明らかになり、発生過程において重要な役割を果たしているとの報告がある。しかしながら成熟神経組織での発現分布および神経障害後の変化については不明であり、今回 HGF 及びそのレセプターである cMet の後根神経節、脊髄での発現、及び末梢神経障害後の変化について検討した。

#### 【方法】

Sprague-Dawley rat (200-250g) を用い、坐骨神経結紮モデルを作成した。naive および術後 1、4、7、14 日に脊髄、後根神経節、坐骨神経、腓腹筋を取り出した。HGF 及び cMet の特異的部部分配列をサブクローニングし、<sup>32</sup>P で標識した cDNA probe で Northern hybridization、<sup>35</sup>S で標識した cRNA probe で *in situ* hybridization histochemistry (ISHH) を行い、mRNA の発現を検討した。また、タンパクの局在を rabbit anti-cMet (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) の抗体を用いた免疫組織化学法で検討した。HGF の発現を詳細に検討するために後根神経節神経細胞の subpopulation である trkB、trkC との共存を検討した。

#### 【成績】

Northern hybridization により結紮部位の遠位では坐骨神経結紮後 4 日より、近位では 7 日より cMet の発現の増加が認められ、結紮後 14 日でも強い発現が認められた。細胞内局在を検討するために行った結紮後 7 日の ISHH でも cMet の発現が対側より増加した。免疫組織化学法でも同様の結果が得られ、シュワン細胞のマーカーとして rabbit anti-glial fibrillary acid protein (GFAP) (DAKO, Denmark) の抗体を用い、cMet との共存を検討し、cMet がシュワン細胞で増加していることが明らかになった。次いで、cMet のリガンドである HGF の発現の変化を Northern hybridization により検討した。HGF の発現は脊髄、後根神経節では認められたが、結紮後 7 日での mRNA レベルでの発現量の増加は認められなかった。また坐骨神経、腓腹筋では HGF の発現は認められなかった。

次に HGF の adult rat 後根神経節での発現について ISHH により検討した。trkA、trkB、trkC は後根神経節全神経細胞のそれぞれ、 $34.5 \pm 1.3$ 、 $6.1 \pm 0.5$ 、 $21.5 \pm 1.9\%$  (mean  $\pm$  S.D.) に発現し過去の報告にほぼ合致した。HGF は  $25.0 \pm 5.9\%$  で発現し、trkA、trkB、trkC とはそれぞれ  $80.5 \pm 2.4$ 、 $4.3 \pm 1.0$ 、 $26.9 \pm 2.8\%$  と共存した。後根神経節神経細胞は大きさにより機能が異なるため、細胞の大きさによる HGF の発現分布を検討したが明らかな局在はなかった。脊髄での cMet の発現は浅層および motoneuron に認められた。

#### 【総括】

坐骨神経障害後に障害された神経のシュワン細胞で cMet の発現の増加が認められ、HGF が後根神経節、脊髄に発現しているため HGF は末梢神経障害後のミエリン再生因子としての役割が期待される。HGF は後根神経節神経細胞の 25% で発現し、その多くが trkA と共に存し、またそのレセプターである cMet が脊髄後角に認められるため、知覚伝達に HGF が関与することが示唆される。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は hepatocyte growth factor (HGF) とそのレセプターである cMet の発現をラット末梢神経、脊髄で検討したものである。

Northern hybridization により神経障害後の cMet の発現が障害部位で増加し、HGF が脊髄、後根神経節で発現していることが確認された。

また *in situ* hybridization histochemistry (ISHH) により発現局在を検討したところ、HGF は後根神経節神経細胞に発現し、痛覚伝達に関与するとされる trkA と多くが共存した。また cMet の発現が脊髄浅層で認められたため HGF/cMet 系の知覚伝達の関与が示唆される。

本論文は初めて HGF が後根神経節での発現を報告したものであり、また末梢神経障害後の変化についても検討しており、学位に値すると考える。