

Title	Unilateral vestibular deafferentation-induced changes in calcium signaling-related molecules in the rat vestibular nuclear complex
Author(s)	増村, 千佐子
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47531
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	増村千佐子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第20990号
学位授与年月日	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Unilateral vestibular deafferentation-induced changes in calcium signaling-related molecules in the rat vestibular nuclear complex (ラット前庭神経核におけるカルシウム情報伝達関連分子の前庭代償への関与)
論文審査委員	(主査) 教授 久保 武 (副査) 教授 大平 充宣 教授 武田 雅俊

論文内容の要旨

[目的]

一側内耳破壊後に生じる眼運動や体平衡の異常は時間経過により自然回復することが知られている。この現象は前庭代償と呼ばれており、そのメカニズムは中枢神経系の可塑性のモデルとして広く研究されている。前庭代償の発現には一旦低下した障害側前庭神経核ニューロンの電気活動の回復が重要であることが知られているが、その背景となる分子生物学的メカニズムには未だ不明な点が多い。本研究では microarray 法、real-time PCR 法、行動薬理学的手法を用いて、前庭代償の分子メカニズムについて検討した。

[方法ならびに成績]

ラットの一側内耳破壊6時間後に前庭神経核を左右別々に取り出し、microarray 法を用いて左右前庭神経核で発現に差のある遺伝子の網羅的検索を行った。その結果、破壊側の前庭神経核で発現が増加しているいくつかの遺伝子が同定できた。その中でも以前から Ca^{2+} 拮抗薬が前庭代償を促進させるとの報告もあり、本研究では microarray でピックアップされた分子のうち L 型 Ca^{2+} チャネル $\alpha 2$ サブユニット、 Ca^{2+} ポンプ (PMCA2)、カルシニューリンに注目した。まずこれらの遺伝子発現の変化を real-time PCR 法を用いて追試し、次いで遺伝子発現の時間経過による変化(内耳破壊後6時間、24時間、50時間、2週間)を検討した。その結果、これらの分子は内耳破壊6時間後には破壊側前庭神経核で発現上昇していたが、24時間~2週間後には正常レベルに戻っていることが判明した。

次に、これらの変化が実際に内耳破壊に特異的に関連して起こった現象であることを確認するために、Bechterew 現象(前庭代償完了後に反対側の内耳破壊を行ったときに誘発される眼振や体平衡の障害が初回内耳破壊時とは左右逆転する現象)出現時の遺伝子発現についても検討した。一側内耳破壊2週間後の前庭代償完成期に反対側の内耳破壊を行い、左右前庭神経核における上記遺伝子発現を real-time PCR 法を用いて検討した結果、初回とは反対側の前庭神経核で同様に遺伝子発現の上昇を認めた。このことから、内耳破壊側前庭神経核における Ca^{2+} チャネル $\alpha 2$ サブユニット、PMCA2、カルシニューリンの遺伝子発現増加は内耳破壊に特異的に関連する現象であることが判明した。

次にこれらの分子の発現変化が実際に前庭代償の神経メカニズムに関与しているのかどうか、カルシニューリン拮抗薬(FK506)を用いた行動薬理実験を行った。FK506を1 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、あるいはコントロールと

して生食 0.2 ml を腹腔内投与し、その 30 分後に内耳破壊を行った。前庭代償の指標として内耳破壊で誘発される健側向き自発眼振数をカウントした。その結果、内耳破壊により誘発される自発眼振数は FK506 によって容量依存性に減少し、前庭神経核におけるカルシニューリンの発現上昇は前庭代償の促進に関与していることが判明した。

[総括]

一側内耳破壊後に破壊側前庭神経核でカルシウム関連遺伝子 (Ca^{2+} チャネル $\alpha 2$ サブユニット、PMCA2、カルシニューリン) の発現が一過性に上昇することが確認された。また、標的蛋白の脱リン酸化を促進し神経系の可塑性への関与も報告されているカルシニューリンの拮抗薬が前庭代償を遅延させた。以上まとめると、一側内耳破壊後に破壊側前庭神経核で発現上昇した Ca^{2+} チャネルを通して前庭神経核細胞内の一過性 Ca^{2+} 濃度上昇が起こり、 Ca^{2+} 依存性脱リン酸化酵素であるカルシニューリンの活性化とその発現が上昇する。カルシニューリンにより何らかの標的蛋白のリン酸化レベルが変化し神経系の可塑性 (=前庭代償) が誘発されるものと思われる。PMCA2 の破壊側前庭神経核での発現増加は細胞内 Ca^{2+} 濃度の過剰な上昇による細胞死を抑制する働きがあるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

一側の末梢前庭機能障害後の前庭代償に関する分子生物学的神経機序を解明するため、microarray を用いて一側内耳破壊 (UVD) 6 時間後前庭神経核 (VNC) で発現に左右差のある遺伝子を同定した。その中から Ca^{2+} 拮抗薬が前庭代償を促進させるとの以前の報告から、カルシウム関連伝達機構に関わる L 型 Ca^{2+} チャネル α サブユニット、 Ca^{2+} ポンプ (PMCA2)、カルシニューリンの 3 分子を標的分子とした。VNC での遺伝子発現の経時的変化を real-time PCR 法を用いて再検し、これらの遺伝子発現は UVD 6 時間後に microarray の結果と同様に破壊側で増加し、12 時間後には元の発現レベルに収束することを明らかとした。また、これらの遺伝子発現は、Bechterew 現象出現時には初回 UVD 時の鏡面像を呈したことから、これらの遺伝子発現変化が UVD の直接の影響によることが裏付けられた。

さらにカルシニューリン拮抗薬の前投与は、前庭代償を遅延し、一過性細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化によるリン酸化系のバランス変化が前庭代償の発現に関与する可能性が示唆され、今後の平衡機能障害の治療につながる研究であり、学位に値すると思われる。