



Title	Localization of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) expressing neurons in the central nervous system and its relationship to the stress response
Author(s)	谷内, 孝次
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48987">https://hdl.handle.net/11094/48987</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=" <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>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	谷内孝次
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第21847号
学位授与年月日	平成20年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Localization of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) expressing neurons in the central nervous system and its relationship to the stress response (GILZ発現ニューロンの中脳神経内局在とそのストレス応答について)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川秀樹 (副査) 教授 吉峰俊樹 教授 祖父江憲治

#### 論文内容の要旨

##### [目的]

グルココルチコイドは副腎皮質から分泌されるホルモンとして知られているが、生体が様々なストレスに晒された時にその分泌は増加する。血中グルココルチコイドの上昇に応答して全身の各臓器で発現上昇する遺伝子は多くのものが報告されている。今回我々が注目した因子である GILZ は glucocorticoid responsive element (GRE) をもつ遺伝子であるが、中枢神経での発現に関する報告はほとんどない。一方、血中グルココルチコイドの持続的高値はうつ病発症への関与が疑われている。うつ病発症の増加は、我が国の深刻な社会問題となっており、その発症メカニズム解明の土台として、中枢神経内のグルココルチコイド応答遺伝子の解析は必要である。

##### [方法ならびに結果]

我々は、in situ hybridization にて脳内での詳細な発現分布を検討した。発現パターンは、ニューロン（グリア細胞でなく）に発現するパターンであった。前脳～終脳～視床下部～下位脳幹～小脳～脊髄の広い範囲で多くのニューロンが発現しており、生理的・基本的な細胞イベントに関与している事が示唆された。又、多くの発現ニューロンの中でも、運動神経核に特に強い発現が見られた。次に脳内の複数の部位をそれぞれ切り出し、発現レベルを real time RT-PCR で検討した。In situ hybridization の結果と同様に脳内の広い部位で発現がみられた。次に2時間の水浸拘束ストレスをマウスに負荷して、発現変動を検討した。脳内のほとんどの部位で発現上昇したが、特に内側前頭前野や海馬といった精神的ストレス応答部位として知られる部位では強い上昇を示し、それらは統計的に有意であった。内側前頭前野でのタイムコースを検討するとストレス開始後1時間で2倍以上の発現上昇を示し、ストレス終了後6時間で平常時のレベルに戻っていた。副腎摘出マウスに対する水浸拘束ストレスではこの発現上昇が起こらなかったので、視床下部～下垂体～副腎皮質系の活性化によって GILZ が誘導されたことが確認できた。

##### [総括]

GILZ は、脳内の広い部位で発現がみられ、特に運動神経核では強い発現がみられた。また水浸拘束ストレスでは

脳内の精神的ストレス応答部位で強く発現上昇した。これらの結果から推測される GILZ の働きは、生理的・基本的な細胞イベントに関するもの、運動機能に関するもの、および、精神的ストレス応答に関するものと多彩なものである。作用メカニズムに関する知見を得るために、さらなる解析が必要である。

### 論文審査の結果の要旨

うつ病の発症数の増加、またその患者の自殺者の増加などが深刻な社会問題となっており、その解決法の模索が各方面で行われている。そのアプローチの一つとして、脳内のグルココルチコイド応答遺伝子の解析がある。なぜなら、心理的ストレス負荷時に副腎皮質からのグルココルチコイド分泌が促進される事や慢性的に心理的ストレスが負荷されている人は、血中グルココルチコイドが高値を示す事はよく知られた事実だからである。このことから、グルココルチコイドが病態の進行に何らかの重要な役割を果たす可能性がある。我々は、マウスに2時間の水浸拘束ストレスを負荷した直後のマウスの前頭前野を採取し、発現上昇する遺伝子をマイクロアレイにて解析した。1.25倍以上の上昇を示した遺伝子のうち、glucocorticoid responsive element (GRE) をもつ遺伝子である GILZ を解析の対象とした。GILZ は、血球系や免疫系で最近になって機能解析が進められている遺伝子であるが、中枢神経においては、ほとんど報告がない。in situ hybridization を行い、マウスの全脳～脊髄にいたるまでのスライスでの GILZ mRNA の発現部位を詳細に検討した。脳の非常に広い範囲で中程度以上の発現がみられとくに運動神経核で強い発現がみられた、しかしながら運動神経核以外でも強い発現レベルの神経核は少なからず存在した。これらのことから、発現パターンからその遺伝子機能をはっきりと推定する事は不可能と考えられた。機能解析は、今後の研究にゆだねるとして、さらに遺伝子発現パターンについて検証をすすめた。マウスに水浸拘束ストレスを負荷したところ、1時間後には血中グルココルチコイド濃度と GILZ の発現上昇が同期しておこり、8時間後にはベースラインレベルに復していた。また、脳内各部位別に検討したところ、特に内側前頭前野と海馬に強い上昇がみられ、これらは従来より心理ストレス関連領域として知られている部位であった。

公聴会では、吉峰教授より、遺伝子機能についての推論を尋ねて頂いたが、本研究の結果からは推論は困難である旨回答した。祖父江教授より、GILZ mRNA の発現上昇は、血中グルココルチコイドの上昇と比べて大きいように思うがとご指摘いただいた。我々は副腎皮質摘出マウスでは水浸拘束ストレスを負荷しても GILZ は上昇していないことを確認していることを回答した。また、蛋白の上昇の有無を質問して頂いたが、この件は蛋白レベルでも明確な上昇がある旨回答した。吉川教授よりは、機能解析の必要性を指摘頂いて、公聴会は終了した。

以上の経過により、本研究は学位に値すると考える。