

IA-13

ラット成体脳のニューロン新生領域におけるラミンのサブタイプの発現

高森 康晴、田村 泰久、片岡 洋祐、
山田 久夫
関西医科大学 医学部 解剖学第一講座(システム細胞科学)

【目的】ラミンは核膜の裏打ちをしている中間径フィラメントタンパク質であり、核膜の構造を強化していると考えられている。ラミン遺伝子にはラミン A/C、ラミン B1、ラミン B2 の3種類があることが知られている。発生期での細胞分化においてラミンのサブタイプの発現が変化すること、また成体においても細胞の分化程度によって発現するラミンのサブタイプが異なることがいくつかの組織で報告されている。しかし神経系におけるラミン発現の詳細な報告はなかった。そこでわれわれは成体でのニューロン新生の場である海馬歯状回の subgranular zone (SGZ)、および側脳室壁の subventricular zone (SVZ)でのニューロンの分化過程とラミンサブタイプの発現との関係について免疫染色により調べた。

【方法】動物は8週齢のSDラットを使用した。脳の切片の作製には、使用する抗体によってホルムアルデヒドによる灌流固定法とメタノール・アセトンによる薄切後固定法の2種類を使い分けた。抗体は各種ラミンの抗体、および PSA-NCAM(神経前駆細胞あるいは幼弱なニューロンのマーカー)、GFAP(アストロサイトおよび神経系幹細胞のマーカー)、NeuN(成熟ニューロンのマーカー)を使用した。間接蛍光抗体法で染色したあと、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

【結果と考察】海馬歯状回の SGZ や側脳室の SVZ における PSA-NCAM 陽性の幼弱なニューロンは、ラミン A/C は陰性、ラミン B2 は弱陽性、ラミン B1 は強陽性であった。成熟したニューロンは、ラミン A/C、ラミン B2 は強陽性であったが、ラミン B1 は弱陽性であった。以上のことから、成体脳におけるニューロンの分化過程において、発現するラミンのサブタイプのスイッチングがおきるものと考えられる。

IA-14

成熟ラット後根神経節ニューロンの末梢型コリンアセチル基転移酵素はアセチルコリン合成能をもつ

ベリエ ジャンピエール、相見 良成、松尾 明典、安原 治、木村 新、遠山 育夫、木村 宏
滋賀医科大学 分子神経科学研究センター

【目的】脊椎動物の後根神経節はアセチルコリン(ACh)合成を担うコリンアセチル基転移酵素(ChAT)活性をもつことが知られている。しかし、ChAT免疫組織化学では陽性反応が検出されにくいこと、また神経節に付着する前根由来のChAT活性の混入も否定できないこと等により、ChAT活性がどの細胞に由来するかは不明であった。我々の研究室では、末梢に優勢分布するChATのアイソザイム(pChAT)を見出し、それに対する特異抗体を作成した。本研究では、後根神経節ChAT活性はこのアイソザイムによるか否かを検証した。

【方法と結果】pChAT免疫組織化学で調べたところ、成熟ラット後根神経節ニューロンが強陽性に染まった。そこで、生化学的にChAT活性、アセチルコリンエステラーゼ(AChE)活性、およびACh含有量を測定した。これら3種とも検出限界を十分に上回る測定値が得られ、脳の各種領域で得られる測定値に匹敵するものであった。前根を外科的に切除した場合でも対応する後根神経節における3種の測定値は同程度に高いものであり、前根に含まれるChAT、AChE、AChの混入という可能性は否定された。次いで、RT-PCR法とウェスタンブロット法で検討したところ、後根神経節においてpChATが産生されることが証明できたが、従来型のChATは存在しないことが明らかとなった。さらに後根結紮を施した場合には、結紮尾側(神経節側)にはChAT活性ならびにpChAT陽性染色が認められたのに対し、結紮吻側(脊髄側)には両者ともが消失した。従って、pChATは神経節ニューロンの細胞体から脊髄に向かって軸索輸送されることが判明した。

【結論】後根神経節では節ニューロンがACh産生能をもつpChATを発現し、順行性軸索流により神経終末に向かってpChATを輸送する。

【考察】後根神経節のChAT活性とAChE活性は化学量論的にバランスがとれ、生理作用を発揮するのに十分なACh含有量が維持されている。しかし、ACh代謝回転は脳などに比べて遅いので、AChシナプス伝達とは別の機構においてpChATが機能すると考えられる。