

Na,K-ATPase 3 subunit in the goldfish retina during optic nerve regeneration

著者	Liu Z.W.
著者別名	劉, 中武
journal or publication title	博士学位論文要旨 論文内容の要旨および論文審査結果の要旨 / 金沢大学大学院医学研究科
volume	平成14年7月
page range	18
year	2002-07-01
URL	http://hdl.handle.net/2297/15684

学位授与番号	医博甲第1500号
学位授与年月日	平成14年3月22日
氏名	劉 中 武
学位論文題目	Na,k-ATPase alpha 3 subunit in the goldfish retina during optic nerve regeneration (キンギョ視神経再生中の網膜における Na,k-ATPase alpha 3 サブユニットについて)
論文審査委員	主 査 教 授 多 久 和 陽 副 査 教 授 河 崎 一 夫 教 授 東 田 陽 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

哺乳類中枢神経系の軸索再生は困難であるが、魚類など下等脊椎動物では中枢神経軸索も末梢神経と同様再生することができる。金魚では、視神経は切断後3~4週間で中枢視蓋に到達し、約4~6ヶ月で視覚が回復する。この視神経再生過程の分子機構を解明するために、金魚視神経切断後網膜に mRNA 発現量の増加する遺伝子をクローニングした。体長5~7cmの金魚を使い、視神経を切断し2~45日間飼育した。視神経切断5日目のキンギョ網膜 cDNA ライブラリーを作製し、正常網膜および視神経切断5日目の網膜から抽出合成した cDNA をプローブとして、differential hybridization 法でスクリーニングし、6個のポジティブクローンを得た。これら cDNA をシーケンスしたところ、1個は塩基配列が4520bpで、1022アミノ酸残基、分子量約112.8Kdaのタンパク質をコードしホモロジー検索および酵素活性部位、膜貫通ドメインなどの特徴より、キンギョ Na,K-ATPase alpha 3 サブユニットをコードしているクローンと判断した。mRNA 発現量は視神経切断後2日から増加し、5~10日でピークを示し、その後約45日で正常に復した。さらに *in situ* hybridization 法および特異抗体を用いた免疫組織染色法で mRNA およびタンパク質の局在や発現様式を調べた。その結果、正常網膜では Na,K-ATPase alpha 3 サブユニットはすべての神経細胞層に弱く発現していたが、視神経切断後5~20日間では神経節細胞層および視神経線維層にのみ強い発現増大が示された。一方、*in vitro* で視神経切断成熟網膜を3~4日間培養すると、神経節細胞から神経突起が伸びる。培地に特異的に Na,K-ATPase alpha 3 活性を抑制する低濃度のウワバイン (50~100 nM) を添加すると、神経突起の伸長が完全に抑えられた。また培地からウワバインを除くと、神経突起が再伸展した。

Na,K-ATPase alpha 3 サブユニットは主に神経細胞で発現し ATP を分解し Na⁺、K⁺の能動輸送を行い、膜再分極を維持する機能を担っている。その特異的阻害剤により神経突起伸長が完全にブロックされたことは、Na,K-ATPase alpha 3 サブユニットがキンギョ視神経の軸索再生伸長に関与していることを強く示唆する。以上、本研究は神経再生過程の分子機構の一端を明らかにした価値ある労作と評価された。