

氏名	山 口 瞬
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2036 号
学位授与の日付	平成 10 年 5 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科生理系専攻
学位論文題目	Regional Expression and Regulation of Alternative Forms of mRNAs Derived from Two Distinct Transcription Initiation Sites of the Rat mGluR5 Gene (ラットmGluR5遺伝子の二つの異なる転写開始点から産生されるメッセンジャーRNAの分布と発現調節)
	(主査)
論文調査委員	教授 成宮 周 教授 川口三郎 教授 中西重忠

### 論 文 内 容 の 要 旨

代謝型グルタミン酸受容体mGluR5は、神経細胞及びグリア細胞に発現し、神経の可塑性に重要な役割を果たしている。mGluR5のmRNAは、生後一週前後のラットの脳で強い発現が見られ、又ラット・アストロサイトの初代培養においては、EGF等の増殖因子存在下で誘導される。本研究は、mGluR5の発現調節機構を解析する目的で、ラットmGluR5遺伝子の5'上流のエクソン及びその近傍の領域を含むゲノムクローンを単離し解析を行ったものである。

mGluR5のcDNA 5'末端領域のクローニング及びプライマー伸長法を行い、mGluR5はゲノム上に1949塩基対離れた二つの第一エクソン(エクソン1A及びエクソン1B)をもち、いずれか一方からmRNAの転写が開始され、スプライシングにより共通のエクソン2、エクソン3につながることを明らかにした。また、プライマー伸長法により、エクソン1Aは少なくとも4箇所、エクソン1Bは少なくとも5箇所の転写開始点をもつことを示した。

これら二つの異なる第一エクソンを含むmRNAの分布及び生後の発達過程での発現変化を調べるため、エクソン1Aあるいはエクソン1Bに特異的なプローブを使ったノザンプロット及びin situハイブリダイゼーションを行った。その結果どちらのmRNAも成熟ラットの脳では共通した領域、すなわち嗅球、前嗅核、嗅結節、大脳皮質、海馬、外側中隔、側坐核、下丘、視床下部腹内側核、三叉神経脊髄路核、線状体に多く発現していた。さらに生後早い時期の脳では、どちらのmRNAも上記の領域に加え視床、上丘、視床下部、小脳を含めた広範な領域に発現が見られ、また成熟ラットに比べ著明に発現量が多くなっていた。この結果は、これら二つのエクソンが脳内での分布及び生後の発達過程において、似通った発現調節を受けることを示すものである。

一方、アストロサイトの初代培養系では、無血清培地では、エクソン1Bを含むmRNAの発現が優位であるが、増殖因子であるEGFあるいはbFGFの添加によりエクソン1Aを含むmRNAが著明に増加することをノザンプロットにより明らかにした。このことは、これら増殖因子によるmGluR5の誘導には二つのエクソン間で反応性に差があり、より反応性の高いエクソン1Aが大きな関与をしていることを示すものである。

エクソン1A及びエクソン1B近傍のゲノムDNA塩基配列の決定を行った結果、AP-1、AP-2、AP-3、PEA3、bHLH、GCF、GRE、GASモチーフといった多くの転写因子の結合モチーフが存在したが、その多くがエクソン1Aの近傍に存在し、エクソン1Bの近傍には少数しか存在せず、増殖因子に対する反応性の違いに関わっている可能性が考えられる。

以上の結果は、mGluR5の発現調節に二つの異なる第一エクソンが、共通する制御メカニズムと、増殖因子に対する反応性の違いといった異なる制御メカニズムを介して関与していることを示唆するものである。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は代謝型グルタミン酸受容体mGluR5の発現調節機構を解析する目的で、ラットmGluR5遺伝子の5'上流域の解析を行ったものである。mGluR5は、生後早い時期のラットの脳で強い発現を示し、又アストロサイト初代培養で増殖因子によって誘導される特徴を示す。本研究においては、mGluR5がゲノム上で1949塩基対離れた、二つの第一エクソンをもち、いずれか一方からmRNAの転写が開始されることを明らかにした。さらに、二つの第一エクソンは、成熟ラットの脳での発現領域や、生後早い時期での発現において、共通の調節を受けることを示した。それに対し、アストロサイトの初代培養系では、上流にある第一エクソンが増殖因子に対して強く反応することを示し、両エクソン間で反応性に差のあることを明らかにした。これらの結果から、mGluR5の発現調節には、二つの第一エクソンが共通する制御メカニズムと、増殖因子に対する反応性の違いといった異なる制御メカニズムを介して関与していると結論した。

以上の研究は、mGluR5の発現調節とゲノム構造の関係を明らかにしたものであり、神経科学の研究に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成10年4月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。