

審査の結果の要旨

氏名 李 悦欣

本研究は損傷誘導型の可塑性のモデルである片側内耳破壊後の前庭代償の分子機構を解明するため、二つ異なる方法を用いて前庭代償に伴う脳由来神経栄養因子 BDNF 遺伝子の発現様式の変化の検討を試みたものである。筆者はまずラット脳幹の内側前庭核や下オリーブ核などにおける BDNF mRNA の発現レベルを定量的 RT-PCR 法によって解析し、次に定量的 *in situ hybridization* 法により下オリーブ核における BDNF mRNA の発現誘導を詳細に解析したところ、下記の結果を得ている。

- 1、 定量的 RT-PCR 法により、前庭代償に伴い BDNF mRNA が内側前庭核において前庭破壊 6 時間後に破壊側のみに発現誘導されることが見いだされた。また、舌下神経前位核および下オリーブ核内側部においては前庭破壊から 3 時間後、破壊反対側に BDNF mRNA の発現誘導がみられた。これらの領域における BDNF の発現レベルの上昇は、少なくとも破壊後 24 時間継続し、72 時間後では通常発現レベルに戻っていた。
- 2、 前庭代償の指標として、片側内耳破壊の自発眼振の回復過程を調べたところ、自発眼振頻度は約 72 時間かけて徐々に消失することが確認され、BDNF 遺伝子の発現誘導の経時変化と相関がみられた。
- 3、 BDNF の発現との比較するため、片側内耳破壊後の *c-fos* 遺伝子の発現様式も調べた。その結果、内側前庭核においては *c-fos* mRNA は両側性に誘導されていた。*c-fos* の発現量は舌下神経前位核においても両側性に上昇していたが破壊反対側ではより高い発現誘導が認められた。一方、下オリーブ核においては、破壊反対側にのみ顕著な発現誘導が認められた。これら全ての領域では内耳破壊 3 時間後に *c-fos* mRNA の発現レベルがピークに達し、また 24 時間後には通常レベルまで戻っており、BDNF と比してより早い時間経過を示した。

- 4、 一方、BDNF の高親和性受容体である *trkB* mRNA は内側前庭核、舌下神経前位核、下オリーブ核のいずれにおいても破壊側および破壊反対側ともに内耳破壊による発現誘導がみられなかった。
- 5、 手術によるストレスおよび麻酔による遺伝子発現への影響の対照として、模擬手術を施したラットにおいても BDNF や *c-fos* の mRNA の発現レベル変化を調べた。その結果、これらの動物では術後 3 時間、6 時間にいずれにおいても BDNF と *c-fos* mRNA の発現誘導は認められなかった。
- 6、 定量的 RT-PCR 法によりもっとも顕著な発現誘導が見られた下オリーブ核における BDNF の発現誘導を定量的 *in situ* hybridization 法を用いて亜領域ごとに解析したところ、BDNF mRNA は亜領域毎に異なる発現誘導パターンを示すことがわかった。まず、*dorsal cap* と *ventrolateral outgrowth* においては、発現量は破壊反対側で未手術動物と比べ有意に上昇したのに対し、破壊側では低下した。一方、*beta nucleus* や *medial accessory olive* においては、反対側のみ有意に上昇した。また、*dorsomedial cell column* では発現量は両側で有意に上昇した。このような発現誘導は内耳破壊 72 時間後に通常レベルに戻った。最後に、*dorsal accessory olive*、*principal olive* または *rostral medial accessory olive* では BDNF mRNA 発現レベルの変化は認められなかった。模擬手術後 6 時間の動物はいずれの亜領域にも BDNF の発現誘導は認められなかった。

以上、本論文は定量的 RT-PCR 法や定量的 *in situ* hybridization 法を用いて前庭代償に伴う遺伝子の発現を検討することにより BDNF が前庭代償初期過程において特定の脳幹領域において誘導されることが明らかにされた。本研究は、これまで不明であった前庭代償過程中的神経回路再編成の分子機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。