

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

解剖学雑誌 (2003.09) 78巻3号:77~82.

中枢神経系のKallikreinファミリーserine protease

吉田成孝

中枢神経系の kallikrein ファミリー-serine protease

吉田成孝

旭川医科大学 解剖学第一

〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東2条1-1-1

電話 0166-68-2300

FAX 0166-68-2309

email syoshida@asahikawa-med.ac.jp

要約： serine protease は中枢神経系においても生理的、病理的な環境下で様々なはたらきをなす。特に、組織型 plasminogen activator (tPA)は中枢神経系内に広く発現し、神経系の発達、可塑性および細胞死に重要な役割を演じている。これに加えて、近年新たな serine protease が中枢神経内で同定されてきた。その代表的なものは kallikrein ファミリーに属する KLK8/neurosin と KLK6/protease M/neurosin/zyme である。neurosin は海馬の神経細胞に豊富に発現し、細胞外基質や細胞接着因子を切断することで海馬のシナプス可塑性に関与をしている。また、中枢神経の損傷時にはオリゴデンドロサイトに発現し、ミエリンタンパク質の分解に寄与していると考えられる。protease M はオリゴデンドロサイトに豊富に発現し、特に脳損傷時の機能が注目される。これらのプロテアーゼやそのインヒビターなどにより細胞外環境は複雑に制御されているものと考えられる。

Key words : serine protease、組織型 plasminogen activator (tPA)、kallikrein、neurosin、Protease M

はじめに

serine protease は活性中心にセリン残基を有する蛋白分解酵素で、消化や血液凝固系に重要なはたらきをしていることは言をまたない。組織型 plasminogen activator (tPA) は血液中の plasminogen を活性化して fibrin 分解をする線溶系酵素としてよく知られているが、中枢神経内にも豊富な発現が認められている。tPA mRNA は小脳プルキンエ細胞に豊富に発現をし、脳の他の領域では海馬錐体細胞の一部に発現する他、脳内の広い領域にわたり散在性に分布することが報告されている^{32, 33}。また、発生段階での豊富な発現と神経細胞の遊走や軸索伸長に重要な役割を果たしていることが知られている²⁶。近年明らかとなってきたのが tPA の中枢神経内で神経可塑性および神経細胞死に関する新たな知見である。tPA は眼優位性変化や^{15, 16, 21}海馬での長期増強^{7, 10, 14}に重要な関与をしていることが明らかとされている。眼優位性とは皮質視覚野における左眼と右眼からの入力が生後に一定のパターンを形成することで、生後早期に閉眼等の処置により、このパターンが変化することが知られており、これを眼優位性変化という。そして tPA ノックアウトマウスの海馬に興奮性神経毒素であるカイニン酸を投与しても神経細胞死が生じないことが報告された³¹。これは tPA が活性化した plasmin (もしくは plasmin により活性化された matrix metalloproteinase 等) が細胞外基質である laminin を分解することにより細胞死が生じていることが強く示唆されている³。この様に細胞外環境を修飾する因子として細胞外 serine protease が重要なはたらきをしていることは明らかである。

近年、中枢神経系においても新たな serine protease 分子が同定され、これらが kallikrein 遺伝子と大きなファミリーを形成していることが明らかとなった。Kallikrein は元來 kininogen から bradykinin などの kinin を切り出す serine protease である。kallikrein は全く分子構造が異なる血漿 kallikrein と組織 kallikrein があるが、組織 kallikrein に類似した serine proteases が中枢神経内にも発現していることが明らかとなった。本稿ではこれらについて考察する。

Kallikrein ファミリー-serine proteases と中枢神経系での発現

ヒト組織 kallikrein 型遺伝子は相同性が高い 3 種の遺伝子である KLK1 (組織 kallikrein)、KLK2、KLK3 (前立腺特異抗原、PSA) が従来から知られていた。これらに加えてヒト、ラットおよびマウス由来の新たな serine protease の cDNA クローニングの報告が相次いだ。さらに、ヒトゲノムプロジェクトの進行により、組織 kallikrein 遺伝子は 15 個の serine protease ファミリーを構成し、これらの遺伝子は染色体の 19q19.3-q13.4 にタンデムに配列することが明らかとなった。これらのヒト組織 kallikrein ファミリー遺伝子の命名法が決定されセントロメアに近い順に KLK1-KLK15 と決められた (但し、KLK2 と KLK15 は同定の経緯からこの順ではない)⁶ (Fig. 1)。

kallikrein ファミリー-serine protease の中でヒト、マウスもしくはラットの脳で mRNA もしくは蛋白質の発現が報告されているものは KLK6、KLK8、KLK9、KLK10、KLK11、

KLK12、KLK14 である。この中で *neuropsin*/KLK8 と *protease M*/KLK6 は中枢神経系に豊富に発現し、これらに対する機能解析も進んでいる。

Neuropsin の脳内発現と機能

neuropsin はマウス海馬より cDNA が単離された。in situ hybridization で mRNA 発現をみると海馬、扁桃体外側核、中隔核や前頭前野の神経細胞に局在していた。海馬においては CA1 と CA3 の錐体細胞にのみ発現が見られ、歯状回の顆粒細胞や海馬の介在ニューロンには発現が認められない(Fig. 2)。また、その発現は activity-dependent であることが特徴で、海馬を直接比較的低頻度 (10 Hz) で刺激することにより mRNA 発現が 3 – 12 時間にわたり有意な発現低下が見られた。逆に扁桃体に毎日比較的高い電気刺激を与えてけいれんを惹起する (キンドリング) ことにより海馬での有意な発現上昇をみた⁴⁾。キンドリングは電気刺激により歯状回や海馬などに異常な神経回路を生じさせる一種の神経可塑的な変化である。また、通常は発現がほとんど見られないか、あっても非常に低レベルの発現しか見られない嗅内野や皮質聴覚領野においてもキンドリングにより著明な発現増強が認められた²²⁾。キンドリングへ *neuropsin* が機能的に関与しているかを検討するために脳室内に抗 *neuropsin* 抗体投与を行ったところ、キンドリングの進行が有意に抑制された²⁰⁾。このことより、海馬をはじめとする脳内の *neuropsin* が神経可塑性に関与し、重要な役割ををしていることが考えられた。さらに、神経可塑性の典型的な例である長期増強に対する *neuropsin* の関与を検討した。長期増強を誘発するテタヌス刺激を行う際にマウスの海馬スライスにリコンビナント *neuropsin* を投与すると有意な長期増強の亢進が生じた (Fig. 3)。逆に抗 *neuropsin* 抗体投与を行うと長期増強が有意に抑制された¹²⁾。これらの事実から長期増強にも *neuropsin* が重要な役割を果たしていることが示唆される。

Neuropsin の酵素活性とノックアウトマウス

neuropsin は他の多くの serine protease と同様に細胞外に分泌されるプロテアーゼであるので、海馬の細胞外蛋白質が *neuropsin* の基質となりうるかどうかを検討した。その結果、fibronectin²⁷⁾や神経接着因子 L1 が最もよい基質であることが明らかとなった (Fig. 4)。これに対し、N-CAMや laminin を切断する活性はほとんどない。この様に選択的な細胞外因子の切断は細胞同士の接着構造を変化させ、さらには組織構築を変化させていると考えられる。そこで、*neuropsin* ノックアウトマウスを作成して組織構築の相違を検討した。その結果、ノックアウトマウスでは海馬 CA1 のシナプスの数が野生型マウスより少ないことがわかった。さらに、ノックアウトマウスではシナプス小胞を持ちながらシナプスを形成していない終末様構造が多く観察された⁹⁾。これより *neuropsin* が細胞外基質や細胞接着因子の切断によりシナプス形成を調節しているものと考えられる。

Neuropsin の病態下での機能

neuropsin は中枢神経系の病態においては全く異なった機能がある。中枢神経系を損傷すると、健常時とは全く異なりオリゴデンドロサイトに新たな発現が見られるようになる^{8, 30} (Fig. 5)。オリゴデンドロサイトはミエリン鞘を形成することから、neuropsin はミエリンのターンオーバーもしくはミエリタンパク質の分解に関与している可能性がある。実際に neuropsin ノックアウトマウスの視神経切断を行ってミエリンの変化を観察すると、このノックアウトマウスではミエリン変性に遅れが見られる (未発表データ)。

ヒトの疾患においても neuropsin の関与を示唆するデータがある。アルツハイマー病患者の海馬での様々な kallikrein 遺伝子 mRNA の発現を見たところ、neuropsin/KLK8 mRNA のみがアルツハイマー病にて発現の上昇が見られた²⁸。ただし、これが病因と関連しているのか、もしくは変性の結果であるか等これから解決していくべき問題である。

KLK6 の中枢神経での機能

遺伝子 KLK6 はヒトでは protease M¹⁾、neurosin³⁵⁾、zyme¹³⁾の3つの命名がなされ、ラットで MSP²⁵⁾、マウスで BSSP¹⁸⁾、mBSP¹⁷⁾の2つの命名というように様々な命名がされている。いずれの種においても脳における発現が最も豊富で、ラットとマウスでの検討ではオリゴデンドロサイトに発現が多い^{25, 34} (Fig. 6)。ラットとマウスのホモログでの生化学的な酵素活性の検討も行われており、細胞外基質では gelatin、laminin、fibronectin をよく切断する^{2, 17)}。また、myelin basic protein (MBP) と myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) などのミエリタンパク質に対する切断活性が認められている²⁴⁾。直接的な比較は難しいが neuropsin に比べ基質選択性はやや低い様である。さらに、ラットにおいては中枢神経系の病態での発現動態が検討されている。興奮性神経毒素であるカイニン酸投与での中枢神経傷害やミエリンに対する自己免疫疾患である多発性硬化症の動物モデルにおいて、著明な KLK6 mRNA と蛋白質の発現上昇が見られた²⁴⁾。興味深いことに、この様な病態下での発現細胞はオリゴデンドロサイトだけではなく、脳に浸潤している T 細胞やマクロファージなどの免疫系の細胞もこのプロテアーゼを発現する。

脳に発現するその他の kallikrein 関連プロテアーゼ

KLK10 はヒト小脳プルキンエ細胞、大脳皮質のニューロンとアストロサイトの一部に免疫反応陽性が見られたという報告がある²³⁾。KLK11 はヒトにおいては RT-PCR で小脳に³⁶⁾、in situ hybridization で海馬錐体細胞¹⁷⁾に発現が見られた。マウス脳での発現は northern blot により成体よりも胎児期に多いと報告されている¹⁹⁾。KLK9、KLK12、KLK14 に関しては RT-PCR による mRNA の発現が報告されているのみで、その詳細についてはこれからの検討を待つ段階である。

基質とインヒビター

これらの kallikrein 関連プロテアーゼの基質に関しては重要な問題ではあるが、これか

らの検討を要するものが多い。いずれも細胞外プロテアーゼであるので、基質は細胞外の蛋白質であることが考えられる。まず、想定される基質としては、**KLK8/neuropsin** や **KLK6/protease M/neurosin/zyme** のように細胞外基質や細胞接着因子があげられる。また、他の生理活性蛋白質の活性化因子として働いている可能性も考えられる。例えば、**KLK15** は主に前立腺で発現するプロテアーゼであるが、**KLK3/PSA** の **prosequence** を切断する活性化因子として同定されている²⁹⁾。**KLK1/kallikrein** が **kininogen** から **kinin** への活性化因子である点からも、他の **kallikrein** 関連プロテアーゼが **zymogen** などの細胞外因子の活性化因子である可能性も十分に考えられる。

蛋白分解酵素はインヒビターによる活性の制御が不可欠である。**KLK8/neuropsin** のインヒビターとして2つの蛋白質が同定されており、神経系でのプロテアーゼとインヒビターのバランスが細胞外環境の制御で重要であると考えられる¹¹⁾。1996年に同定された **neuroserpin** は **tPA** のインヒビター活性があるが、その変異が家族性痴呆症の原因であることが見出され注目されている⁵⁾。**tPA**、**KLK8/neuropsin**、**KLK6** でみられるように細胞外プロテアーゼは生理的な機能と病態下での機能とが全く異なっているように見える。様々な状況下で異なった基質に作用し、かつ異なったインヒビターによる制御を受けているのか等、神経系での細胞外基質中の様々な因子の動態を検討していくことがこれからますます重要になってくると考えられる。

文献

- 1) Anisowicz A, Sotiropoulou G, Stenman G, Mok SC, Sager R (1996) A novel protease homolog differentially expressed in breast and ovarian cancer. *Mol Med* 2: 624-636.
- 2) Blaber SI, Scarisbrick IA, Bennett MJ, Dhanarajan P, Seavy MA, Jin Y, Schwartz MA, Rodriguez M, Blaber M (2002) Enzymatic properties of rat myelencephalon-specific protease. *Biochemistry* 41: 1165-1173.
- 3) Chen ZL, Strickland S (1997) Neuronal death in the hippocampus is promoted by plasmin-catalyzed degradation of laminin. *Cell* 91: 917-925.
- 4) Chen ZL, Yoshida S, Kato K, Momota Y, Suzuki J, Tanaka T, Ito J, Nishino H, Aimoto S, Kiyama H, Shiosaka S (1995) Expression and activity-dependent changes of a novel limbic-serine protease gene in the hippocampus. *J Neurosci* 15: 5088-5097.
- 5) Davis RL, Shrimpton AE, Holohan PD, Bradshaw C, Feiglin D, Collins GH, Sonderegger P, Kinter J, Becker LM, Lacbawan F, Krasnewich D, Muenke M, Lawrence DA, Yerby MS, Shaw CM, Gooptu B, Elliott PR, Finch JT, Carrell RW, Lomas DA (1999) Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. *Nature* 401: 376-379.
- 6) Diamandis EP, Yousef GM, Clements J, Ashworth LK, Yoshida S, Egelrud T, Nelson PS, Shiosaka S, Little S, Lilja H, Stenman UH, Rittenhouse HG, Wain H (2000) New nomenclature for the human tissue kallikrein gene family. *Clin Chem* 46: 1855-1858.
- 7) Frey U, Muller M, Kuhl D (1996) A different form of long-lasting potentiation revealed in tissue plasminogen activator mutant mice. *J Neurosci* 16: 2057-2063.
- 8) He XP, Shiosaka S, Yoshida S (2001) Expression of neuropsin in oligodendrocytes after injury to the CNS. *Neurosci Res* 39: 455-462.
- 9) Hirata A, Yoshida S, Inoue N, Matsumoto-Miyai K, Ninomiya A, Taniguchi M, Matsuyama T, Kato K, Iizasa H, Kataoka Y, Yoshida N, Shiosaka S (2001) Abnormalities of synapses and neurons in the hippocampus of neuropsin-deficient mice. *Mol Cell Neurosci* 17: 600-610.
- 10) Huang YY, Bach ME, Lipp HP, Zhuo M, Wolfer DP, Hawkins RD, Schoonjans L, Kandel ER, Godfraind JM, Mulligan R, Collen D, Carmeliet P (1996) Mice lacking the gene encoding tissue-type plasminogen activator show a selective interference with late-phase long-term potentiation in both Schaffer collateral and mossy fiber pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 8699-8704.
- 11) Kato K, Kishi T, Kamachi T, Akisada M, Oka T, Midorikawa R, Takio K, Dohmae N, Bird PI, Sun J, Scott F, Miyake Y, Yamamoto K, Machida A, Tanaka T, Matsumoto K, Shibata M, Shiosaka S (2001) Serine proteinase inhibitor 3 and murinoglobulin I are potent inhibitors of neuropsin in adult mouse brain. *J Biol Chem* 276: 14562-14571.

- 12) Komai S, Matsuyama T, Matsumoto K, Kato K, Kobayashi M, Imamura K, Yoshida S, Ugawa S, Shiosaka S (2000) Neuropsin regulates an early phase of schaffer-collateral long-term potentiation in the murine hippocampus. *Eur J Neurosci* 12: 1479-1486.
- 13) Little SP, Dixon EP, Norris F, Buckley W, Becker GW, Johnson M, Dobbins JR, Wyrick T, Miller JR, MacKellar W, Hepburn D, Corvalan J, McClure D, Liu X, Stephenson D, Clemens J, Johnstone EM (1997) Zyme, a novel and potentially amyloidogenic enzyme cDNA isolated from Alzheimer's disease brain. *J Biol Chem* 272: 25135-25142.
- 14) Madani R, Hulo S, Toni N, Madani H, Steimer T, Muller D, Vassalli JD (1999) Enhanced hippocampal long-term potentiation and learning by increased neuronal expression of tissue-type plasminogen activator in transgenic mice. *Embo J* 18: 3007-3012.
- 15) Mataga N, Imamura K, Shiomitsu T, Yoshimura Y, Fukamauchi K, Watanabe Y (1996) Enhancement of mRNA expression of tissue-type plasminogen activator by L-threo-3,4-dihydroxyphenylserine in association with ocular dominance plasticity. *Neurosci Lett* 218: 149-152.
- 16) Mataga N, Nagai N, Hensch TK (2002) Permissive proteolytic activity for visual cortical plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 7717-7721.
- 17) Matsui H, Kimura A, Yamashiki N, Moriyama A, Kaya M, Yoshida I, Takagi N, Takahashi T (2000) Molecular and biochemical characterization of a serine proteinase predominantly expressed in the medulla oblongata and cerebellar white matter of mouse brain. *J Biol Chem* 275: 11050-11057.
- 18) Meier N, Dear TN, Boehm T (1999) A novel serine protease overexpressed in the hair follicles of nude mice. *Biochem Biophys Res Commun* 258: 374-378.
- 19) Mitsui S, Okui A, Kominami K, Uemura H, Yamaguchi N (2000) cDNA cloning and tissue-specific splicing variants of mouse hippostasin/TLSP (PRSS20). *Biochim Biophys Acta* 1494: 206-210.
- 20) Momota Y, Yoshida S, Ito J, Shibata M, Kato K, Sakurai K, Matsumoto K, Shiosaka S (1998) Blockade of neuropsin, a serine protease, ameliorates kindling epilepsy. *Eur J Neurosci* 10: 760-764.
- 21) Muller CM, Griesinger CB (1998) Tissue plasminogen activator mediates reverse occlusion plasticity in visual cortex. *Nat Neurosci* 1: 47-53.
- 22) Okabe A, Momota Y, Yoshida S, Hirata A, Ito J, Nishino H, Shiosaka S (1996) Kindling induces neuropsin mRNA in the mouse brain. *Brain Res* 728: 116-120.
- 23) Petraki CD, Karavana VN, Luo LY, Diamandis EP (2002) Human kallikrein 10 expression in normal tissues by immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 50: 1247-1261.
- 24) Scarisbrick IA, Blaber SI, Lucchinetti CF, Genain CP, Blaber M, Rodriguez M (2002)

- Activity of a newly identified serine protease in CNS demyelination. *Brain* 125: 1283-1296.
- 25) Scarisbrick IA, Towner MD, Isackson PJ (1997) Nervous system-specific expression of a novel serine protease: regulation in the adult rat spinal cord by excitotoxic injury. *J Neurosci* 17: 8156-8168.
- 26) Seeds NW, Siconolfi LB, Haffke SP (1997) Neuronal extracellular proteases facilitate cell migration, axonal growth, and pathfinding. *Cell Tissue Res* 290: 367-370.
- 27) Shimizu C, Yoshida S, Shibata M, Kato K, Momota Y, Matsumoto K, Shiosaka T, Midorikawa R, Kamachi T, Kawabe A, Shiosaka S (1998) Characterization of recombinant and brain neuropsin, a plasticity-related serine protease. *J Biol Chem* 273: 11189-11196.
- 28) Shimizu-Okabe C, Yousef GM, Diamandis EP, Yoshida S, Shiosaka S, Fahnestock M (2001) Expression of the kallikrein gene family in normal and Alzheimer's disease brain. *Neuroreport* 12: 2747-2751.
- 29) Takayama TK, Carter CA, Deng T (2001) Activation of prostate-specific antigen precursor (pro-PSA) by prostin, a novel human prostatic serine protease identified by degenerate PCR. *Biochemistry* 40: 1679-1687.
- 30) Tomizawa K, He X, Yamanaka H, Shiosaka S, Yoshida S (1999) Injury induces neuropsin mRNA in the central nervous system. *Brain Res* 824: 308-311.
- 31) Tsirka SE, Gualandris A, Amaral DG, Strickland S (1995) Excitotoxin-induced neuronal degeneration and seizure are mediated by tissue plasminogen activator. *Nature* 377: 340-344.
- 32) Tsirka SE, Rogove AD, Bugge TH, Degen JL, Strickland S (1997) An extracellular proteolytic cascade promotes neuronal degeneration in the mouse hippocampus. *J Neurosci* 17: 543-552.
- 33) Ware JH, Dibenedetto AJ, Pittman RN (1995) Localization of tissue plasminogen activator mRNA in adult rat brain. *Brain Res Bull* 37: 275-281.
- 34) Yamanaka H, He X, Matsumoto K, Shiosaka S, Yoshida S (1999) Protease M/neurosin mRNA is expressed in mature oligodendrocytes. *Brain Res Mol Brain Res* 71: 217-224.
- 35) Yamashiro K, Tsuruoka N, Kodama S, Tsujimoto M, Yamamura Y, Tanaka T, Nakazato H, Yamaguchi N (1997) Molecular cloning of a novel trypsin-like serine protease (neurosin) preferentially expressed in brain. *Biochim Biophys Acta* 1350: 11-14.
- 36) Yousef GM, Scorilas A, Diamandis EP (2000) Genomic organization, mapping, tissue expression, and hormonal regulation of trypsin-like serine protease (TLSP PRSS20), a new member of the human kallikrein gene family. *Genomics* 63: 88-96.

英文抄録

Kallikrein-family Serine Protease in the Central Nervous System

Shigetaka Yoshida

Department of Anatomy 1, Asahikawa Medical College

Midorigaoka-higashi 2-1-1-1, Asahikawa, Hokkaido, Japan

Zip code: 078-8510

TEL: 0166-68-2300

FAX: 0166-68-2309

email: syoshida@asahikawa-med.ac.jp

Serine proteases exert a variety of functions under physiological and pathological conditions. Tissue plasminogen activator (tPA) is expressed widely in the central nervous system (CNS) and play important roles in development, synaptic plasticity and neuronal cell death. In addition to this protease, recent studies have revealed the existence of new serine proteases in the CNS. In particular, two members of the kallikrein gene family, KLK8/neurosin and KLK6/protease M/neurosin/zyme are expressed abundantly in the CNS. Neurosin is expressed by the neurons of the hippocampal subfields CA1 and CA3 and shown to cleave extracellular proteins such as fibronectin and L1. This protease plays essential roles in synaptic plasticity such as long-term potentiation (LTP) and kindling. Application of recombinant neurosin significantly promoted LTP induction and anti-neurosin antibody reduced potentiation. Intraventricular administration of anti-neurosin antibody ameliorated kindling epilepsy. Neurosin-knockout mice (neurosin-KO) had significantly smaller number of synapses in the CA1 subfield of the hippocampus. These data suggest that neurosin plays an important role in synapse formation through modifying extracellular environments. After injury to the CNS, neurosin is expressed in oligodendrocytes around the lesion. Myelins in the severed optic nerve of neurosin-KO were more preserved than those of wild-type mice, suggesting that neurosin after injury is involved in myelin degradation. Another kallikrein member, protease M is constitutively expressed in the oligodendrocytes. Insult to the CNS increases protease M expression not only in the oligodendrocytes but also in the inflammatory cells such as macrophages. These proteases in balance with inhibitors are implicated in the modulation of the extracellular environment.

Key words: serine protease、tissue plasminogen activator (tPA)、kallikrein、neurosin、protease M

付図説明

Fig. 1

Human kallikrein gene locus. Arrows indicate the direction of transcription. Trivial names are shown in arrows.

Fig. 2

Expression of neuropeptide Y mRNA in the mouse brain. The mRNA is expressed specifically by the neurons in the hippocampus and the lateral nucleus of the amygdala (LA). Scale bar: 1 mm.

Fig. 3

Cleavage of fibronectin by neuropeptide Y. A: Fibronectin was incubated with neuropeptide Y for the time shown above the lanes and SDS polyacrylamide gel electrophoresis and western blotting were performed. The blotted membrane was probed with anti-fibronectin antibody. B: Putative cleavage sites of fibronectin is indicated by the arrows.

Fig. 4

The effect of neuropeptide Y on long-term potentiation (LTP). Tetanic stimulation was applied at the time shown by the arrow to hippocampal slices, and recombinant neuropeptide Y was given for the period shown by the bar.

Fig. 5

The expression of neuropeptide Y mRNA 3 days after severing to the fimbria that has input and output fibers of the hippocampus. The lesion was anterior to the section. Neuropeptide Y mRNA was induced in the fimbria on the operated side, whereas the expression in the neurons did not alter. Scale bar: 1 mm

Fig. 6

The expression of protease M mRNA in the cerebellum and lower brain stem. A: The expression is observed in the white matter (cw) of the cerebellum (CB) and fiber tracts such as trigeminal spinal tract (sp5) in the medulla. B and C Colocalization of protease M and PLP mRNAs shown by 5 μ m consecutive frontal sections of the pyramidal tract in the medulla. Section B was hybridized with a protease M probe, while the adjacent section, C, was hybridized with a PLP probe. Arrows indicate cells positive for both

protease M/neurosin PLP. Arrowheads show cells PLP-positive and protease M/neurosin-negative. Asterisks, blood vessels at the corresponding site. Scale bars: 1 mm (A), 200 μ m (B,C).

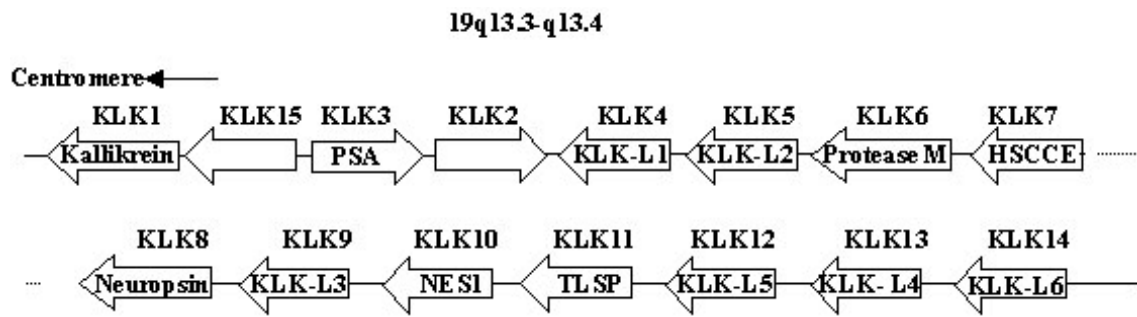


Fig. 1



Fig. 2

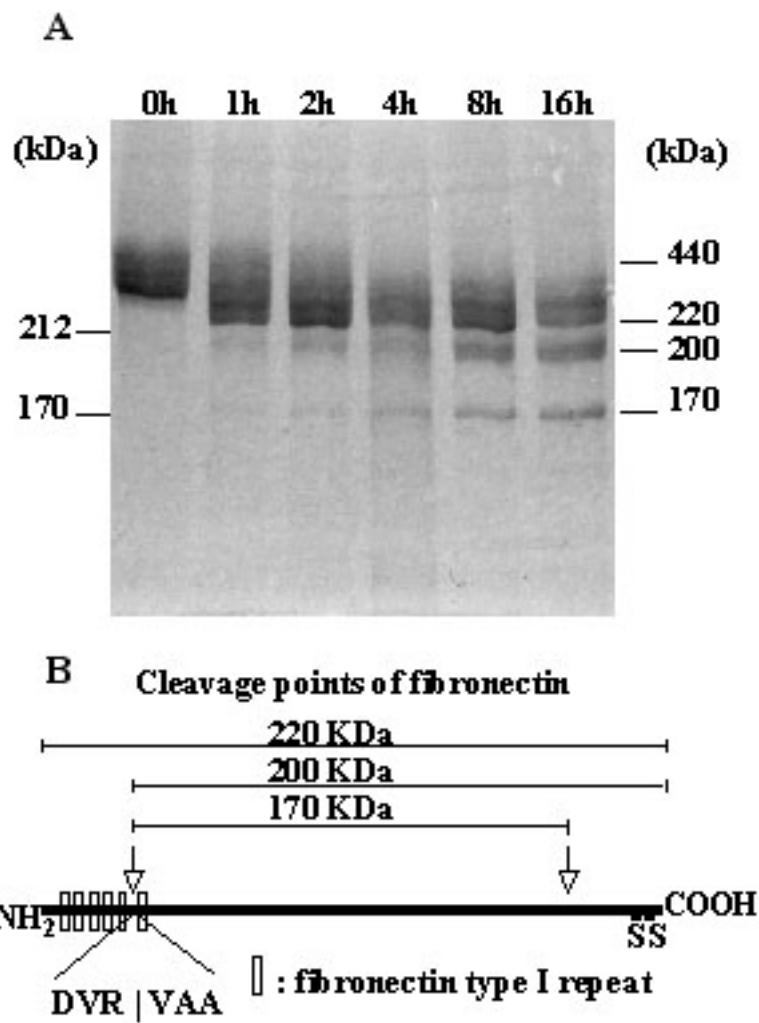


Fig. 3

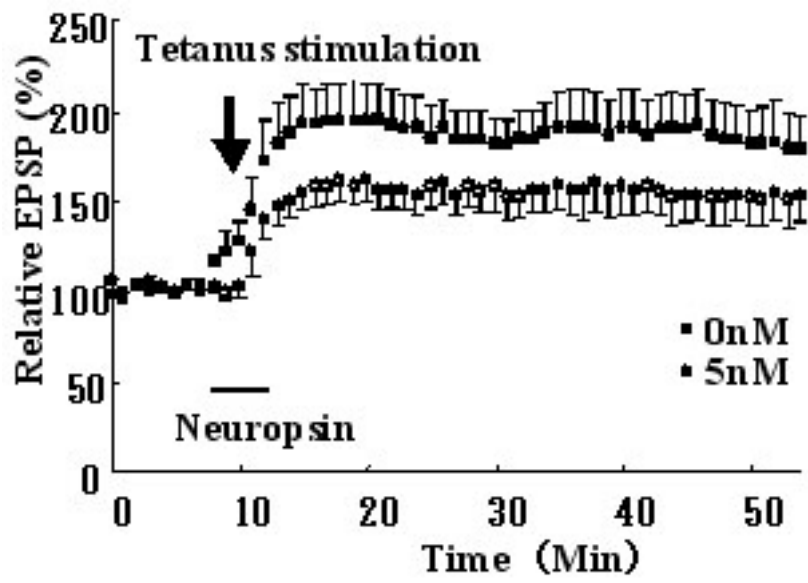


Fig. 4

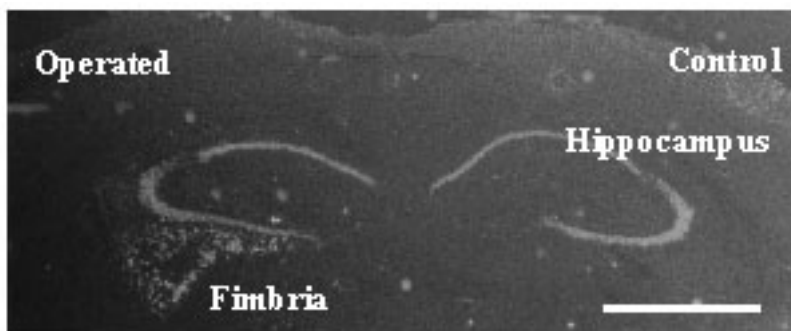


Fig. 5

