



Title	Up-regulation of Thioredoxin Expression in Motor Neurons After Nerve Injury
Author(s)	Khalil, Mansur
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41709
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	Khalil マニスール Mansur
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第14430号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学位論文名	Up-regulation of Thioredoxin Expression in Motor Neurons After Nerve Injury (損傷運動ニューロンにおけるチオレドキシンの発現促進)
論文審査委員	(主査) 教授 遠山 正彌
	(副査) 教授 三木 直正 教授 米田 悅啓

論文内容の要旨

【目的】

末梢の運動神経は神経損傷に対して強い耐性を有している。この耐性はいかなる分子基盤に基づくのかを解明するために、我々はディファレンシャルディスプレイ法などを用いて、損傷神経関連遺伝子の探索を行ってきた。その結果、(i)グルタミン酸毒性の減弱機構の作動、(ii)神経成長因子受容体やその下流のシグナル分子の作動、などが存在することを明らかにしてきた。一連の遺伝子探索を更に継続した結果、(iii)酸化ストレスに対する還元的修復機構の作動、(iv)スーパーオキサイドなどのフリーラジカルの消去系の作動、などの防御機構があらたに浮かび上がってきた。本研究では、これらのメカニズムに属するものとして新たに検出された、チオレドキシン(Trx)の神経損傷後に見られる発現動態を中心に解析し、さらにグルタチオン(GSH)関連の分子群やスーパーオキサイド消去系関連分子の発現動態に関しても併せて検討を行った。

【方法ならびに成績】

ラット舌下神経損傷モデルを用いた。軸索損傷後、確実に神経細胞が生存し再生する成熟ラット(Wistar, 150gm)と、軸索損傷により細胞死を生じる生後3日から1週間までの幼弱ラットの片側の舌下神経を切断し、一定の期間の後に起始核である舌下神経核でTrxやその他の遺伝子発現をin situハイブリダイゼイション法を用いて同定した。また、Trxについては特異的な抗体を用いて免疫組織学的な検討も行った。成熟ラットにおいて、Trx mRNAは軸索損傷6時間後から有意な発現上昇が認められた。術後3日から10日の間に最も高い発現が見られ、5週後には元の発現レベルに戻った。免疫組織化学においても同様な傾向が見られた。免疫組織化学では、Trxは細胞核の中に通常豊富に認められるが、軸索損傷後には細胞質内にも豊富な蛋白発現が認められた。このような神経軸索損傷に応答する遺伝子発現上昇は、GSH還元酵素をはじめMn-SOD, Catalase, GSH Peroxidaseなどにも認められた。一方、軸索損傷により細胞死にいたる幼弱動物では、これらの遺伝子発現動態に大きな違いが認められた。Trxは細胞死にいたる細胞においても一時的な発現促進を示すが、GSH還元酵素、Mn-SOD, Cu/Zn-SOD, Catalase, GSH Peroxidaseのいずれの遺伝子発現も急激な著しい減少を示した。

【総括】

成熟ラット舌下神経軸索損傷時には、Trx mRNA が極めて早い時期から発現上昇が見られた。この発現は、他の遺伝子群の発現に比べ早い応答であり、初期の細胞死防御に関与している可能性が考えられる。また、Trx は NFkB などの転写因子の調節にも関与していることが知られており、軸索損傷後の一連の転写因子の機能調節にも関与している可能性がある。Trx は通常核内に豊富に見られるが、軸索損傷後には細胞質内に極めて豊富に認められる。このことから、Trx は細胞質内の様々な蛋白の還元修復にも関与していると考えられる。このほか GSH 還元酵素においても同様の発現上昇が認められたことから、神経損傷後には GSH や Trx などの還元修復系が活発に作動していることが示唆された。また、スーパーオキサイドの消去系に属すると考えられる Mn-SOD, Catalase, GSH Peroxidase も神経損傷後には発現が亢進しており、細胞にとっては極めて毒性の高いラジカルを消去するための一連の酵素群の産生が増加していることが明らかになった。神経細胞が細胞死にいたる幼弱動物の系では Trx を除いてこれらの遺伝子の発現応答が全く逆向きに見られたことから、上述の遺伝子群の発現応答は、損傷を受けた神経細胞が生存するための重要な応答であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、末梢運動神経軸索損傷時に作動する分子群、特に細胞死防御機構に関与すると考えられる分子群について、その発現動態について検討したもので、神経傷害時に生じる酸化ストレスを受けた蛋白群の還元的修復のためチオレドキシンやグルタチオン関連分子の発現が亢進していることを証明したものである。さらに、スーパーオキサイドの消去系に関与している分子群も同様に発現が亢進していることを示しており、細胞にとって最も毒性の高いヒドロキシラジカルを產生させないためのメカニズムが活性化されていることがうかがえる。さらに、本研究ではこれらの損傷神経が存在してゆくために必要と考えられる遺伝子応答が、同じ舌下神経でも細胞死を生じる幼弱動物ではチオレドキシンを除いて発現応答が全く逆転している事実も示しており、これらの遺伝子発現が、損傷神経の生存にとって極めて重要な役割を担っていることを示唆している。以上により本論文は損傷運動神経細胞が細胞死を免れ生存するためのメカニズムの一部を示したものと考えられ、博士の学位に十分値するものと考えられる。