The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Activating transcription factor 3 (ATF 3) induction by axotomy in sensory and motoneurons : a novel neuronal marker of nerve injury
Author(s)	辻野, 宏明
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41849
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

【3】

氏　　名	辻　野　宏　明（つじ の ひろ あき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15208　号
学位授与年月日	平成12年3月24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	Activating transcription factor 3 (ATF 3) induction by axotomy in sensory and motoneurons : a novel neuronal marker of nerve injury （知覚および運動神経細胞軸索切断後の転写因子ATF 3の誘導：神経損傷の新規マーカー）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　遠山　正彌 （副査） 教　授　越智　隆弘　　教　授　吉川　秀樹

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

Activating transcription factor 3（ATF 3）は転写因子ATF／CREB familyの一員であり、多くの組織でストレスによって誘導されることが報告されている。今回我々は、末梢神経損傷後のATF 3の発現の特徴を明らかにする目的で以下の実験を施行した。

【方法ならびに成績】

(1)　ノーザンブロット法によるATF 3 mRNAの発現解析

無処置のコントロールラットの後根神経節（以下DRG）ではATF 3 mRNAの発現は認められなかったが、坐骨神経切断後のDRGではATF 3 mRNAの発現が誘導された。

(2)　in situ hybridization法による坐骨神経切断後のATF 3 mRNAの発現解析

DRGにおいては術後6時間まではATF 3 mRNAの発現は認められなかったが、術後12時間より誘導されはじめ術後1～14日をピークとしその後発現は減少するものの術後70日でもコントロールレベルより高値を示した。

脊髄前角においては術後12時間まではATF 3 mRNAの発現は認められなかったが、術後1日より誘導されはじめ術後3～7日をピークとしその後発現は減少し術後42日に発現はコントロールレベルにもどった。

(3)　spinal nerve切断後と坐骨神経切断後におけるATF 3 mRNAの発現の誘導

DRGに近いspinal nerve切断後では切断後6時間で発現誘導が明らかになったのに対し、坐骨神経切断後では切断後12時間で発現が誘導された。

(5)　軸索切断とATF 3の発現の関係

切断部に注入された逆行性トレーサーfluorogoldでラベルされたneuronとATF 3 mRNAを発現したneuronはほぼ一致した。

(6)　免疫組織化学法によるDRGおよび脊髄におけるATF 3蛋白の発現解析

コントロールのDRGおよび脊髄においてはATF 3蛋白の発現は認められなかったが、坐骨神経切断後ATF 3蛋白の発現がDRG neuron、脊髄前角のmotoneuronに認められた。また、脊髄後角においては坐骨神経切断後も電気刺激後もATF 3蛋白の発現は誘導されなかった。

(7)　2重免疫染色を用いた坐骨神経切断後のDRGと脊髄におけるc-junとATF 3の発現パターンの相違

DRGにおいてはATF 3はc-junよりも多くのpopulationのneuronに発現が認められた。脊髄前角においてはATF 3とc-junの発現はほぼ一致した。

(8) 足底へのホルマリン及びCFA注入後のDRGにおけるATF 3の発現

ホルマリン注入後DRGにおいてATF 3の発現が誘導されたが、CFA注入後はATF 3の発現は誘導されなかった。

【総括】

ATF 3は肝臓、心臓、腎臓などで直接損傷、虚血、toxinといったストレスによって発現が誘導されることが報告されてきた。ATF 3は細胞のストレスに反応し誘導される為ストレス反応に何らかの役割を果たしていると考えられるが、その機能に関してはいまだ十分に解明されていない。現在までにATF 3はhomodimerとしてATF／CRE siteに結合し転写の抑制に働き、c-junとのheterodimerとしてATF／CRE site、AP－1 siteに結合し転写の促進に働くことが報告されている。

今回の実験の結果によってATF 3は正常ではDRGや脊髄では発現していないが、軸索損傷後にDRG neuronや脊髄前角のmotoneuronに発現が誘導される事が明らかとなった。

また、軸索損傷後のATF 3の発現誘導の時期はいままでに報告されてきた他の臓器でのストレス後の発現誘導時期と比較すると遅かった、これの理由として発現誘導のメカニズムの違いが考えられる。軸索損傷後のATF 3の発現誘導は、今回の実験の結果で細胞体から損傷部までの距離依存的に誘導時期が変化する事から何らかの分子の軸索からの輸送のブロックがトリガーになっていると示唆される。

さらに、切断部に注入された逆行性トレーサーでラベルされたneuronのほぼすべてにATF 3の発現が誘導された結果から、軸索損傷をうけたすべてのneuronでATF 3は発現が誘導されると考えられた。また、軸索損傷で発現が誘導されるc-junの発現と比較すると、坐骨神経切断後脊髄前角のmotoneuronではATF 3とc-junの発現は一致したが、DRGではATF 3はc-junよりも多くのpopulationのneuronに発現が認められた。

ATF 3はc-junなど他の転写因子と比較すると軸索損傷、痛覚刺激、c-fiberに対する電気刺激などの刺激によっても脊髄後角のneuronで発現が誘導されない点も異なっていた。つまり、ATF 3はシナプスを介した発現は誘導されない事が示唆された。

足底へのホルマリンの注入ではATF 3の発現が誘導されたがCFAの注入では発現が誘導されなかった事実は、ホルマリンの様に組織およびそこに含まれる神経終末が損傷されると発現が誘導されるが、CFAのような炎症のみでは発現が誘導されない事が明らかになった。

以上の結果からATF 3は末梢神経の軸索損傷に際して、損傷されたneuronのみに発現が誘導される末梢神経損傷にたいする有用なマーカーとなりうると考えられた。

論文審査の結果の要旨

転写因子ATF／CREB familyの一員であるATF 3は現在までにいくつかの臓器およびcell lineでストレスによって誘導されることが報告されており細胞のストレス反応の過程で重要な役割をはたしていると考えられている。いままでATF 3の神経系における発現の特徴は明らかではなかった。本研究はnorthen blotting、in situ hybridization法、免疫組織化学法を用いてATF 3が末梢神経系において通常は発現していないが軸索損傷後、損傷を受けた神経細胞に誘導される事実を明らかにした。さらに、逆行性トレーサーとin situ hybridization法による二重標識を用いてATF 3が軸索損傷後すべての損傷神経細胞においてATF 3が誘導される事実を明らかにし、また、電気刺激や炎症といった神経細胞に対する直接損傷でないストレスに対してはATF 3が誘導されない事実を明らかにした。末梢神経における直接損傷に対してこの様な発現パターンをとる遺伝子は現在までに報告されておらず、ATF 3は末梢神経における軸索損傷の有用なマーカーとなりうるという本研究の成果は神経科学分野の研究のなかで広く応用される事が期待され非常に高く評価できる。

さらに、本研究はATF 3との間でダイマーを形成し転写調節に作用するc-JunとATF 3が軸索損傷後知覚神経細胞と運動神経細胞との間で異なった発現パターンを示す事実を報告している。知覚神経細胞と運動神経細胞が軸索損

傷後異なった運命をたどる事実、つまり軸索損傷後運動神経細胞はすべて生存するのに対し知覚神経細胞は一部が細胞死を起こすという事実を解明する上でこの研究成果は非常に興味深く示唆にとんでおり高く評価できる。

最後に、本論文は神経科学分野の国際誌として評価の高い Molecular and Cellular Neuroscience に掲載されている点からも国際的にも高い評価を得ており学位の授与に値すると考えられる。