

Title	IL-1 β promotes neurite outgrowth by deactivating RhoA via p38 MAPK pathway
Author(s)	轉法輪, 光
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48901
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	てん ぼう りん 轉 法 輪 光
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 8 4 5 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	IL-1 β promotes neurite outgrowth by deactivating RhoA via p38 MAPK pathway (IL-1 β は p38 MAPK 経路を介して RhoA の活性化を阻害し、神経突起伸展を促進する)
論文審査委員	(主査) 教 授 吉川 秀樹 (副査) 教 授 遠山 正彌 教 授 吉峰 俊樹

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

炎症性サイトカインの一つである interleukin-1 β (IL-1 β) は神経損傷後に発現が増加する。IL-1 β の神経系に対する影響に関しては、炎症により神経変性をもたらすという負の作用が知られているが、一方で Schwann 細胞の増殖や nerve growth factor 発現、神経細胞の生存に寄与することが知られている。神経突起の伸展は神経再生において重要な過程の一つであるが、IL-1 β の神経突起伸展に対する影響に関しては見解の一致は得られていない。そこで我々は神経細胞の突起伸展に対する IL-1 β の影響を調べた。

[方 法]

坐骨神経損傷後の IL-1 β の発現を調べるため、8 週齢の Wistar ラットの坐骨神経に圧挫損傷を加えて 1、3、7 日後にこれを採取し、免疫染色、Western blotting、ELISA を行った。

9、10 日齢の Wistar ラットの後根神経節細胞と、7~10 日齢の Wistar ラットの脳顆粒細胞を用いて neurite outgrowth assay を行った。IL-1 β と myelin-associated glycoprotein (MAG) を添加して 72 時間培養を行い、抗 neural class III β -tubulin 抗体を用いた免疫染色にて、最も長い突起の長さを axonal length として計測した。また、神経突起の伸展を制御する RhoA に対する IL-1 β の影響を調べるため、Rho assay を行った。脳顆粒細胞を用いて IL-1 β や MAG を添加して細胞溶解液を採取し、pull-down assay にて RhoA の活性を調べた。また、IL-1 β のシグナル伝達経路を調べるために、NF- κ B の阻害薬である SN50、および p38 MAPK の阻害薬である SB203580 を用いて neurite outgrowth assay、Rho assay を行った。

in vivo での IL-1 β の影響を調べるため、8 週齢の Wistar ラットの坐骨神経を切断、縫合後、浸透圧ポンプにて PBS または IL-1 β の局所投与を 2 週間行った。経過観察中に toe spreading test にて運動機能評価を、toe pinch test にて感覚機能評価を行い、術後 12 週にて坐骨神経を採取して抗 neurofilament 抗体を用いた免疫染色により再生軸索数および面積の計測を行った。

[結 果]

IL-1 β は損傷後1日をピークに損傷部付近および遠位部にて発現し、7日後にも認められた。Western blottingでは前駆体である pro-IL-1 β の発現のみが確認されたが、ELISAでは mature IL-1 β の発現も認められた。

Neurite outgrowth assay では、MAGの投与にて control と比べて短縮を認めたが、IL-1 β とMAGの投与では control と同レベルにまで突起伸展を認め、IL-1 β がMAGの効果を打ち消して突起伸展を促進していた。また Rho assay により、この効果がMAGによるRhoA活性化を阻害することによりもたらされていることが確認された。

シグナル伝達経路の検討であるが、SN50およびSB203580の両者はRhoAを活性化して神経突起伸展を阻害したが、IL-1 β はSB203580による効果を打ち消すことができず、IL-1 β はp38 MAPKを介して効果をもたらしていることが確認された。

*in vivo*でのIL-1 β の局所投与実験では、運動機能では差は見られなかったが、感覚機能の回復および免疫染色による軸索数および面積の計測にてPBSと比べて有意に優れており、IL-1 β が坐骨神経の回復を促進していた。

[総 括]

IL-1 β はp38 MAPKを介してRhoAの活性化を阻害することにより神経突起の伸展を促進し、神経再生をもたらすことが示された。

IL-1 β はSchwann細胞に対しては、増殖を促してBüngner bandの形成を促進し、またnerve growth factorの発現を増加させる。また神経細胞に対しては、軸索損傷後のapoptosisを阻害し、軸索伸展を促進する。これらの効果により、神経損傷後の再生を促進する働きを持つと考えられる。

一方でIL-1 β は炎症を介して再生を阻害することも報告されており、中和抗体やantagonistにより再生を促進する報告もされている。この相反する結果は、炎症の時期や強さによるものと考えられる。従って、炎症を適切な時期に、適切な程度に維持することが神経再生にとって重要であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

炎症性サイトカインであるinterleukin-1 beta (IL-1 β)は神経損傷後に発現が増加する。IL-1 β の神経系に対する影響に関しては、炎症により神経変性をもたらすという報告もある一方で、再生に寄与する様々な報告もされている。神経再生において神経の突起伸展は重要な過程の一つであるが、これに対するIL-1 β の影響は明らかとなっていなかった。本研究では、IL-1 β がmyelin-associated glycoproteinの効果を打ち消すことにより、神経の突起伸展を促進する効果を明らかにした。またこの効果は、p38 MAPKを介して神経突起伸展を制御するRhoAの活性化を抑制することによってもたらされることが示された。また、*in vivo*においてもIL-1 β が同様に神経突起伸展作用をもつことが示された。以上より、神経再生における軸索伸展のメカニズムの一つを明らかにすることができ、本研究は学位に値すると考える。