

Title	C-Jun N-terminal kinase induces axonal degeneration and limits motor recovery function after spinal cord injury in mice
Author(s)	芳村, 憲泰
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58933
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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

【27】	
氏 名	芳 村 憲 泰
博士の専攻分野の名称	博 士（医学）
学 位 記 番 号	第 2 4 9 8 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 1 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	C-Jun N-terminal kinase induces axonal degeneration and limits motor recovery after spinal cord injury in mice (JNK はマウスの脊髄損傷後の軸索退縮を促進し、運動機能回復を抑制する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉峰 俊樹 (副査) 教 授 吉川 秀樹 教 授 島田 昌一

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

C-Jun N-terminal kinase (JNK)は中枢神経系および末梢神経系において、ストレス刺激や損傷に反応して神経軸索の変性や神経細胞の細胞死を誘導する働きを持つことが知られている。また、増殖因子の刺激により神経軸索を新生あるいは再生に誘導することも知られている。これら神経軸索の変性・神経細胞の細胞死、また神経軸索の新生や再生などの現象は、脊髄損傷後にも認められるものであり、損傷後の組織学的修復、機能的回復において極めて重要な役割を持つ。しかし、脊髄損傷後のJNKの働きについては、殆ど知られていない。本研究の目的は、脊髄損傷後のJNKの役割を解明することある。

〔 方法ならびに成績 〕

C57BL6Jの8週齢の雌マウスを用いて、T9レベルでdorsal hemisectionモデルを作成した。最初に、JNKが脊髄損傷後の組織において活性化されることを、Western blottingを用いて確認した。次いで、損傷後のJNKの活性化される部位を確認するため、免疫組織染色を行った。活性化型JNKは主に背側皮質脊髄路の軸索で発現していた。以前の報告から、損傷を受けて切断された軸索は退縮し先端が瘤状になるという現象が知られている。活性化型JNKは主に背側皮質脊髄路の軸索で発現していたことから、JNKがこの軸索退縮に関与している可能性を考えた。JNKの働きを調べるため、JNKのinhibitorであるSP600125を、皮下留置型のポンプを用いて損傷部近傍へ持続的に投与した。そして皮質脊髄路を標識するために、マーカーであるBDAを損傷後2週間の時点で運動感覚野に注入した。その2週間後に灌流固定を行

い、組織学的評価を行った。また損傷から4週間の間、並行して運動機能を評価した。その結果、軸索の退縮はinhibitor投与群で優位に抑制されていた。灰白質への分枝も、inhibitor投与群において損傷部近傍で優位に温存されていた。また、運動機能については、損傷直後から4週間後まで経時的にBMS scoreで評価し、4週間後の時点でGrid walk testにて評価を行った。運動機能の回復は、上記いずれの評価項目においてもinhibitor投与群で優位に改善していた。以上より、JNKが軸索退縮を促進し、運動機能回復を抑制する方向に作用することが示された。JNKには1,2,3の3種類のisoformが存在することが知られている。JNK1および2は全身の組織に分布し、3は神経組織および精巣に局限して存在する。これら3種類のisoformが脊髄損傷後に活性化されるかどうかを、免疫沈降法を用いて調べた。その結果、JNK1および3が損傷後に損傷部近傍で活性化されることが示された。JNK1および3の、損傷後の働きを調べるため、各々のノックアウトマウスを用いて、上記と同様の実験を行った。その結果、JNK1および3双方のノックアウトマウスにおいて、コントロール群と比較して優位な運動機能の改善が示され、また軸索退縮は優位に抑制されたことが明らかになった。以上より、JNK inhibitor および1と3のノックダウンにより、脊髄損傷後の軸索退縮が抑制され、運動機能が改善することが示された。

〔 総 括 〕

本研究によって得られた重要な知見は、以下の通りである。一点目は、脊髄損傷後の軸索退縮という現象に関与する因子は知られていなかったが、その一つがJNKであることが示された。二点目としては、軸索退縮と運動機能の関係についてもあまり知られていなかったが、本研究により、軸索退縮が運動機能を抑制すること、軸索退縮を抑制することで運動機能が改善されることが示された点である。三点目は、脊髄損傷に対する治療法として、JNKのinhibitorであるSP600125がその選択肢となりうると示唆されたことである。

論文審査の結果の要旨

C-Jun N-terminal kinase (JNK)は中枢神経系および末梢神経系において、ストレス刺激や損傷に反応して細胞死を誘導する働きを持つことが知られている。今回我々は、JNKがマウスの脊髄損傷後における逆行性軸索退縮を調節することを示した。活性化JNKが、脊髄損傷後の皮質脊髓路(CST)において発現した。JNKの阻害剤であるSP600125を局所投与すると、脊髄損傷後のAPP（アミロイド前駆タンパク）の集積が阻害され、切断軸索の退縮が抑制されたとともに、軸索の分枝が温存された。また、SP600125を用いた治療により後肢の運動機能は改善されており、これがBMS scoreやgrid walk testによって示された。ニューロンのアポトーシス、グリア瘢痕の形成、脱髄、等においては優位な差が認められなかった。さらに、JNK1およびJNK3 ノックアウトマウスを用いた実験においても同様の傾向が示された。これらの結果により、JNK1とJNK3が、脊髄損傷後の軸索退縮と、運動機能回復の抑制に関与していることが示された。また、JNKの阻害剤は脊髄損傷に対する治療法の一つとなりうるということが示唆された。

上記論文が、博士課程学位論文に値すると評価された。