Osaka University Knowledge Archive

Title	Endothelin promotes neurite elongation by a mechanism dependent on c-Jun N-terminal kinase
Author(s)	上杉, 紀子
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59721
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【49】

氏　　名	上杉紀子（うえすぎのりこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学位記番号	第　２５８７５　号
学位授与年月日	平成25年３月25日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科生体生理医学専攻
学位論文名	Endothelin promotes neurite elongation by a mechanism dependent on c-Jun N-terminal kinase （エンドセリンはJNKを介して神経突起伸長を促進する）
論文審査委員	（主査） 教　授　山下　俊英 （副査） 教　授　金井　好克　　教　授　島田　昌一

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

エンドセリン（ET）は血管内皮細胞由来のペプチドとして発見され、血管平滑筋に作用し血管収縮を促す因子である。ETには３種類の異性体（ET-1、ET-2、ET-3）および２種類の受容体（A受容体、B受容体）が存在する。これらは循環器系のみならず神経系、消化器系においても発現し、多様な生理作用を担うことがこれまでに報告されている。近年ET欠損動物およびET受容体欠損動物において、末梢神経の走行に異常が報告され、このことから発生期の末梢神経回路構築にエンドセリンシステムが必要であることが示唆される。さらにETは神経細胞の生存や分化にも影響することが明らかにされているが、神経の伸長に対する作用については不明な点が多い。本研究では、大脳皮質由来の神経細胞を用い、ETが神経突起の伸長を促すか否か、ならびにその分子機序を明らかにすることを目的とする。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

はじめに、生後１日齢のWister ratより大脳皮質を切り出し、分散培養を行った。２４時間培養後、神経細胞マーカーであるTuj1およびET受容体抗体で免疫染色を行い、A受容体、B受容体がともに大脳皮質神経細胞に発現することを確認した。次にETの神経突起伸長作用を検証するため、培養液に各ET異性体を添加し、固定・Tuj1抗体で染色後、撮影し、神経突起長を画像解析ソフトImage Jを用いて計測した。ET-1の濃度を1nM、10nM、100nMの３段階に分けて実験したところ、濃度依存的に神経突起の伸長が促された。また、ET-2、ET-3についても同様の検討を行ったところ、すべての異性体が神経突起伸長作用をもつことが明らかになった。次に、この作用の分子機構を明らかにするため、各受容体の拮抗薬ならびに各種シグナル伝達阻害剤を用いて解析を行った。A受容体拮抗薬（BQ123）またはB受容体拮抗薬（BQ788）を事前に処置し、100nMのET-1存在下で培養したところ、BQ123処置によりET-1による神経突起伸長が抑制された。したがって、ET-1はA受容体を介して神経突起伸長を促進することが示された。次にシグナル伝達における代表的な経路の一つであるMAPKに着目し、検討を行った。ERK1/2活性化阻害剤（U0126）、JNK阻害剤（SP600125）、p38阻害剤（SB203580）をそれぞれ事前に処置し、ET-1存在下で培養したところ、SP600125処置によりET-1による神経突起伸長が抑制された。この結果から、ET-1による神経突起伸長の促進は、JNK経路を介して引き起こされることが示された。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究結果から、①ETはすべてのアイソフォームが大脳皮質神経細胞の突起伸長を促進すること、②ET-1による突起伸長はA受容体およびJNKシグナル経路を介して引き起こされることが明らかになった。本研究はエンドセリンの新たな生理作用を示し、個体発生あるいは再生過程における神経回路網の形成に関与する新たな分子機構を提唱するものである。

論文審査の結果の要旨

エンドセリン（ET）は血管内皮細胞由来のペプチドとして発見され、血管平滑筋に作用し血管収縮を促す因子である。ETには３種類のアイソフォーム（TE-1、ET-2、ET-3）および２種類の受容体（A受容体、B受容体）が存在する。ETは神経細胞の生存や分化にも影響することが明らかにされているが、神経の伸長に対する作用については不明な点が多い。申請者は、大脳皮質由来の神経細胞を用い、ETが神経突起の伸長を促すか否か、ならびにその分子機序を明らかにした。その結果、すべてのETアイソフォームが神経突起伸長作用をもつことが明らかになった。また、受容体拮抗薬ならびに細胞内シグナル伝達阻害剤を用いた解析により、ET-1はA受容体とJNKを介し、神経突起伸長を促すことが示された。

申請者の行った研究は、ETの新たな生理作用と機序を明らかにするものであり、今後、中枢神経系の難治性疾患の治療法確立へ大きく貢献しうるものである。したがって申請者を、博士（医学）の授与に値するものと認める。