

学位授与番号 乙第 1633 号
学位授与年月日 平成 19 年 6 月 6 日
氏 名 本間 啓子
学位論文題目 Early downregulation of IGF-I decides the fate of rat retinal ganglion cells after optic nerve injury
(IGF-I の早期低下が視神経損傷ラットの網膜神経節細胞の運命を決する)

論文審査委員 主査 教授 多久和 陽
副査 教授 東田 陽博
杉山 和久

内容の要旨及び審査の結果の要旨

網膜神経節細胞 (RGCs) は視神経が傷害を受けるとアポトーシスを起こす。一方、金魚の RGCs は傷害されても再生する。Bcl-2 ファミリーはアポトーシスや生存に関与するタンパク質で視神経傷害後の網膜での経時的変化やシグナル経路は十分解明されていない。そこで、本研究ではラット RGCs の細胞死シグナルの経時的変化について検討し、金魚のそれと比較した。

【方法】ラット (Sprague-Dawley 系) を用い、視神経を眼窩内でクラッシュした。生存細胞の検出は β III-チューブリンを用いて算出した。また、細胞死/生存シグナルタンパク質としてリン酸化 Akt (p-Akt)、リン酸化 Bad (p-Bad)、Bcl-2、Bax をウエスタンブロット法、免疫染色法で調べた。さらにカスパーゼ 3 活性の測定と、TUNEL 法でアポトーシス細胞の検出を行った。

【結果】ラットの視神経を傷害すると生存細胞数は 6 日目から有意に低下し、3 週まで急激に減少した。細胞死/生存シグナルの中で p-Akt と p-Bad は一番早期に 2 日目から有意に減少し、p-Akt は網膜の RGCs に局在していた。また、Bax は 6 日目から急激に増加し、RGCs に局在していた。さらに、カスパーゼ 3 活性は 6~8 日目から有意に増加した。次に Akt の上流の増殖因子の一つであるインスリン様増殖因子-I (IGF-I) について検討したところ、傷害後 1~2 日目に RGCs で低下が著しかった。また、IGF-I を成熟ラットの網膜組織片培養に添加したところ、RGCs からの神経突起の伸長が誘導された。この IGF-I の効果は、wortmannin により、濃度依存性に抑制された。また、IGF-I を眼球内に投与したところ in vivo で、細胞死の抑制と軸索再伸長が観察された。

【考察】ラットでは視神経傷害後、早期に IGF-I が RGCs で減少し、PI3K/Akt 経路を介して、p-Akt、p-Bad の低下が起こる。次いで、Bax、カスパーゼ 3 が増加し、アポトーシスを起こす。この細胞死は眼球内に IGF-I を投与すると、救済することが出来た。一方、金魚では、視神経傷害後の RGCs で IGF-I が増加し、その後、p-Akt の増加がおこることからも、傷害された RGCs の命運は IGF-I によっていることが示唆される。

以上、本研究は視神経損傷後の IGF-I の重要性を初めて明らかにした労作と評価された。