

Title	Effect of infra-ischemic hypothermia on the expression of c-Fos and c-Jun, and DNA binding activity of AP-1 after focal cerebral ischemia in rat brain.
Sub Title	ラット局所脳虚血モデルを用いた虚血中低脳温におけるc-Fos、c-Jun発現とAP-I DNA結合能の検討
Author	赤路, 和則(Akaji, Kazunori)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.10-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0010">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0010</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Effect of intra-ischemic hypothermia on the expression of c-Fos and c-Jun, and DNA binding activity of AP-1 after focal cerebral ischemia in rat brain.

(ラット局所脳虚血モデルを用いた虚血中低脳温における  
c-Fos、c-Jun発現とAP-1 DNA結合能の検討)

赤 路 和 則

## 内容の要旨

(目的) 即初期遺伝子の発現と、これらの遺伝子産物AP-1が一過性脳虚血後の神経細胞死にどのように関わっているかは明らかではない。我々は、rat局所一過性脳虚血におけるc-Fosとc-Junの発現、その2量体である転写因子AP-1のDNA結合活性を測定し、さらに神経細胞保護的に働く低脳温を加えることにより、これらの遺伝子発現、転写活性にどのような変化が生じるかを検討し、その役割を明らかにする。

(方法) 雄性Wistar Rat (体重300-320g) をhalothane浅麻酔下に非動化し、Koizumi-Longaのsuture methodにて右中大脳動脈閉塞を行った。閉塞は1時間とし、その後再灌流を行った。虚血中、21度の部屋に覚醒下で放置した群(常温群)と1度のcold roomに放置した群(低脳温群)とを比較検討した。再灌流3、6、24時間後に灌流固定を行い、線条体、海馬のlevelで切片を作製し、c-Fos、c-Jun抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。再灌流2日後に断頭し、TTC染色にて梗塞体積の測定を行った。また、再灌流3、72時間後に断頭し、皮質の組織を採取し、転写因子AP-1のDNA結合活性をEMSA法にて検討した。

(結果) 脳温(左後頭葉に埋め込んだtelemetric probeにより測定)は常温群では、40度以上に上昇、低脳温群では30度に低下した。梗塞体積は、線条体では差はないものの、低脳温群で、皮質において有意に縮小していた( $P < 0.001$ )。c-Fos発現は、皮質において、再灌流3時間後で、低脳温群で強く認めた。c-Jun発現は、両群間で、差を認めなかった。AP-1のDNA結合活性は、皮質において、再灌流3時間後で、低脳温群で増強していた( $P < 0.01$ )。

(結論) 低脳温により、梗塞周囲域で、c-Fos発現と転写因子AP-1のDNA結合活性が虚血後早期に増加し、梗塞体積が縮小した。神経細胞生存の原因が結果かは明らかではないが、局所脳虚血において、低脳温により保護された組織で、転写の変化が重要な役割を持つことが、本結果により示唆された。

## 論文審査の要旨

c-Fos、c-Junなどの即初期遺伝子(IEG)の発現は、一過性脳虚血後に神経細胞が生存するか否かに深く関わっている。c-Fosとc-Junの2量体であるAP-1は転写制御蛋白であり、特定のDNAに結合し、標的遺伝子の転写を促す。IEG発現とそれに伴う遺伝子制御が、有益か不利益かは明らかではない。また、虚血中低脳温の神経細胞保護作用は広く受け入れられている。本研究では、ラット局所一過性脳虚血で、c-Fos、c-Junの発現とAP-1のDNA結合活性に対する低脳温の効果を検討し、IEGとAP-1の役割を明らかにすることを目的とした。TTC染色の結果より、虚血周囲域、いわゆる「ischemic penumbra」である皮質では、低脳温は梗塞体積を著明に縮小させた。免疫組織化学染色により、低脳温群では、再灌流3時間後に皮質全体でc-Fosの強い発現を認めた。EMSAにより、低脳温群では、皮質のAP-1のDNA結合活性の増加を認めた。以上より、c-Fos発現とAP-1結合活性の増加が、低脳温の神経細胞保護に直接関与しているのか、虚血周囲領域での神経細胞生存の結果を反映しているのかは断定できないが、少なくともこれらの遺伝子、転写活性の変化が、神経組織の生死に重要な働きをしていることが明らかになった。

審査では、まず、免疫組織化学染色で、c-Fosが発現している細胞について質問された。拡大写真を提示し、神経細胞であるとの回答がなされた。これに対し、神経細胞で発現していることを証明するためにはマーカーとの二重染色が必要との指摘がなされた。次に、低脳温でのc-Fos蛋白増加の機序についての説明が求められた。過去の文献でc-fosのmRNA発現が低脳温により減少していることより、蛋白合成障害が改善したためにc-Fos蛋白が増加した可能性があるとの回答がなされた。これに対し、過去の文献は全く同じ実験条件ではないため、本研究において蛋白だけではなくmRNAの検討も必要であるとの指摘がなされた。また、転写因子AP-1の標的遺伝子について質問された。NGF、BDNF、bFGFや蛋白チロシンキナーゼ受容体trkBなどの、神経栄養特性を持ったいくつかの遺伝子産物の可能性があるとの回答がなされた。これに対し、これらの下流のメカニズムの検討が重要であるとの指摘がなされた。さらに、他のFos/Junファミリー遺伝子の検討、c-Fos蛋白の定量的評価も重要であるとの助言がなされた。

以上のように本研究は今後なお検討されるべき課題を残しているものの、局所脳虚血モデルでc-Fos発現とAP-1結合活性の増加が神経細胞生存と関連していることを示した点で、有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 河瀬 斌  
解剖学 仲嶋 一範 生理学 岡野 栄之  
分子生物学 清水 信義  
学術誌認担当者: 北島 政樹、仲嶋 一範  
審査委員長: 仲嶋 一範  
研究指導者: 石井 裕正 (内科学)

試問日: 平成16年 6月22日