

**【背景】**

脊髄損傷後の病態には様々なサイトカインが関与していることが報告されている。このうち Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )は細胞の増殖・運動・分化などを調節する多機能なサイトカインであり、TGF- $\beta$ が細胞膜の受容体に結合し、Smad 蛋白が活性化され、核内へのシグナル伝達が行われている。このシグナル伝達の異常が、線維症、免疫疾患、血管病変や骨軟骨疾患など様々な疾患と深く関与していることも報告されている。

**【目的】**

脊髄損傷後の TGF- $\beta$ の作用機序を解明する目的で、今回我々は、脊髄損傷マウスにおける TGF- $\beta$ /Smad シグナル伝達系の経時的变化ならびに発現部位の細胞局在について検討した。

**【対象・方法】**

マウス C57BL6 (18-20g, メス)を用い、Th8 椎弓切除後に 5g/mm<sup>2</sup>の重さで5分間圧力を加え脊髄損傷モデルを作製した。椎弓切除のみをコントロールとし、脊髄損傷後 1, 3, 6, 12, 24, 48, 96 と 168 時間後に脊髄損傷部位を検体として採取した。ELISA を用いて interleukin-6 (IL-6)と TGF- $\beta$ の経時的な発現変化を測定した。Western blotting にて、Smad3, phosphorylated Smad3 at the C-terminus (p-Smad3C)ならびに phosphorylated Smad3 at the linker regions (p-Smad3L)の経時的な変化を解析した。また、コントロールと脊髄損傷 2 日後において、Smad3 と p-Smad3C, L の発現部位につき免疫染色を用いて比較検討した。

**【結果】**

ELISA にて IL-6 は脊髄損傷直後から有意な一過性の増加を示した。一方、TGF- $\beta$ は徐々に増加し、受傷 2 日後のピーク以降漸減を示した。Western blotting にて、Smad3 はコントロールを含め脊髄損傷後もほぼ均一に検出されたが、p-Smad3C は脊髄損傷後に漸減し、p-Smad3L は脊髄損傷後に漸増を示した。免疫染色にて、Smad3 は神経細胞に存在し、p-Smad3C は脊髄前角の神経細胞において発現し、p-Smad3L は蛍光二重染色の結果、灰白質内のアストロサイトにおいて発現していることが分かった。

**【考察】**

脊髄損傷後に出現するサイトカインにより、障害部位にアストロサイトが分化・集積し、グリア瘢痕に関与していることや、その際、アストロサイト上でリン酸化 Smad3 が関与していることは既に報告されているが、今回の結果より、リン酸化 Smad3 は p-Smad3L であることが分かった。この p-Smad3L による間質細胞シグナルの活性化の結果、細胞外マトリックスが蓄積することで生じる脊髄損傷後の瘢痕形成への関与の可能性が示唆された。また、p-Smad3C による脊髄損傷後の前角神経変性への関与の可能性も示唆された。

**【結論】**

今回の結果より、脊髄損傷後 2 日目をピークに TGF- $\beta$ が産生され、p-Smad3C が漸減し、p-Smad3L が漸増することが分かった。Smad3 は神経細胞に存在し、p-Smad3C は脊髄前角の神経細胞に存在し、p-Smad3L は灰白質内のアストロサイトに存在することが分かった。以前より報告のあったアストロサイト上でのリン酸化 Smad3 は p-Smad3L であることが分かった。

本研究は TGF- $\beta$ /Smad シグナル伝達系の経時的变化ならびに発現部位の細胞局在について解明しており、今後、脊髄損傷のメカニズムを解明する際に役立つものと考えられる。以上より学位を授与するに値する論文であると判定した。