

## BMP5 expression in the adult rat brain

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2016-11-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 草川, 裕也 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/3041">http://hdl.handle.net/10271/3041</a>

博士(医学) 草川 裕也

論文題目

**BMP5 expression in the adult rat brain**

(成体ラット脳における BMP5 の発現)

論文の内容の要旨

[はじめに]

骨形成因子 **bone morphogenetic protein (BMP)** は、トランスフォーミング増殖因子  $\beta$  スーパーファミリーに属するタンパク質群であり、当初は骨組織や軟骨の分化を誘導する分子として同定されたものであるが、近年、初期発生の様々な局面で重要な役割を果たしていることが明らかとなっており注目を集めている。**BMP** は、細胞膜に存在するタイプ I、タイプ II の 2 種類のセリン/スレオニンキナーゼ型受容体を介してその作用を発現するが、**BMP** が、タイプ II 受容体に結合すると、タイプ I 受容体がリン酸化されて活性化し、さらに **Smad** 系を介して転写制御を引き起こすことによって標的細胞にシグナル伝達を行う。

**BMP5** は、**BMP** ファミリーの中の一分子であり、これまで、四肢の成長発達、骨・軟骨、軟部組織の形成に関与していると言われてきている。また、中枢神経系についても、培養系において、アストロサイトやニューロンの分化・成長を促進することが報告されており、重要な働きをしていることが想定されている。しかし、成体脳における **BMP5** の発現についてはこれまで報告されておらず、その機能に関しても明らかになっていない。そこで本研究では、免疫組織化学的手法を用いて成体脳における **BMP5** の発現分布を解析した。

[材料ならびに方法]

7 週齢の **Wistar** 系雄ラット ( $n=15$ ) にエーテル麻酔を施し、4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定を行い、脳組織を摘出した。組織は凍結後、クライオスタットを用いて薄切し、抗 **BMP5** 抗体を用いて、酵素抗体法および蛍光抗体法にて免疫組織染色を行った。また抗体の特異性を確認するために、常法に則り **ELISA** 法および **Western blotting** 法を行った。なお、本研究は浜松医科大学動物実験委員会に申請、承認を得ており、その倫理指針に従って実施した。

[結果]

#### 1) 抗 **BMP5** 抗体の特異性の証明

**ELISA** 法および **Western blotting** 法によって、抗 **BMP5** 抗体が特異的に **BMP5** タンパクを認識することを確認した。

#### 2) 成体ラット脳全体での **BMP5** の発現

酵素抗体法にて免疫組織染色を行った。**BMP5** の発現は、嗅球、大脳皮質、海馬、大脳基底核、視床、視床下部、中脳、脳幹、小脳、脊髄など成体ラットの脳全体に確認された。中枢神経系の大部分のニューロンにおいて、豊富な **BMP5** の発現が観察

された。また、それらのニューロンの樹状突起や軸索についても **BMP5** の発現が認められた。さらに、小脳の分子層や青斑核、孤束核などの神経可塑性の高い領域において豊富な **BMP5** の発現が、細胞体間の領域であり、樹状突起や軸索などが密に存在していると言われるニューロピルで観察された。加えて、アストロサイト、脳室周囲・脳室下帯の上皮細胞や脈絡叢、髄膜においても、**BMP5** の発現は強く認められた。

### 3) 蛍光二重染色法による細胞種の同定

ニューロンのマーカーである NeuN に対する抗体を用いた蛍光二重染色法により、大脳皮質、大脳基底核、視床、海馬のニューロンが、**BMP5** を発現していることを確認した。さらに、アストロサイトのマーカーである GFAP に対する抗体を用いた蛍光二重染色法により、脳梁、海馬のアストロサイトが **BMP5** を発現していることを確認した。また、神経軸索のマーカーである pan-NM に対する抗体を用いた蛍光二重染色法により、顔面神経や内耳神経の軸索が **BMP5** を発現していることを確認した。

#### [考察]

本研究では、世界ではじめて **BMP5** の生体ラット脳全体における発現分布を詳細に明らかにした。先行研究で、青斑核のノルアドレナリン作動性ニューロンの初期分化に **BMP5** が重要であることが報告されているが、今回の検討でも、成体ラットの青斑核のニューロピルには、**BMP5** の豊富な発現が認められ、ノルアドレナリン作動性ニューロンをはじめとして、様々なニューロンの分化や常態性の維持に、**BMP5** シグナルが関与していることが強く示唆された。

また、様々なニューロンの樹状突起においても **BMP5** は強く発現しており、樹状突起の形態維持やブランチングに関与する可能性が示唆された。さらには、興奮性前シナプスの受け手として重要であり、また、非常に繊細な構造である樹状突起スパインの形態維持にも関与する可能性が示唆された。加えて、興味深いことに様々なニューロンの軸索にも強い発現が認められた。これまでに、他の **BMP** について、軸索を介した順行性と逆行性のシグナル伝達が報告されており、**BMP5** においても同様の作用機序を有することが、強く示唆された。

さらに興味深いことに、グリア細胞であるアストロサイトにおいても **BMP5** は豊富に発現しており、アストロサイトの分化や形態の維持さらには機能調節などにも **BMP5** が関与している可能性が考えられた。さらには、**BMP5** は、髄膜や脈絡叢においても豊富な発現が認められたため、そこから放出された **BMP5** が髄液を介して遠隔の部位に輸送される可能性が示唆された。

#### [結論]

抗 **BMP5** 抗体を用いて成体ラットの中枢神経系全体における **BMP5** の発現分布を詳細に解析した。**BMP5** は、成体脳において広く脳全体に多様性を伴って発現していた。ニューロンのみならず、アストロサイト、髄膜等様々な種類の細胞に発現しており、**BMP5** が成体ラットの中枢神経系の機能維持に重要な役割を果たしていることが強く

示唆された。