



GDF11 expression in the adult rat central nervous system

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-05-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 林, 祐太郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003543

博士（医学） 林 祐太郎

論文題目

GDF11 expression in the adult rat central nervous system

（成体ラット中枢神経系における GDF11 の発現）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

growth differentiation factor 11 (GDF11) は bone morphogenetic protein 11 (BMP11) として知られ、また transforming growth factor β (TGF- β) スーパーファミリーに属するシグナル調節因子としても知られ、胚発生における前後軸の決定など発達段階での重要な役割を持つ。GDF11 の受容体としては、II 型受容体 (activin receptor kinase II A, II B)、I 型受容体 (activin receptor-like kinase 4 (ALK4)、ALK5、ALK7) が存在し、GDF11 が結合すると smad ファミリーをリン酸化することで細胞内へシグナル伝達を行う。GDF11 には細胞外競合アンタゴニスト (follistatin、decorin 等) が存在し、機能調節を受ける。GDF11 は脊髄における神経細胞の発生、網膜における神経節細胞、アマクリン細胞、視細胞などの発生、嗅上皮神経細胞の分化制御など、発生段階の脳において重要な役割を担っている。しかし、成体中枢神経系における GDF11 の発現と機能に関してはほとんど知られていない。そこで、本研究においては免疫組織化学的方法を用いて成体ラット中枢神経系における GDF11 の発現分布の解析を行った。

〔材料ならびに方法〕

1. 抗-GDF11 抗体の特異性を証明するために吸収試験を行った。さらに、GDF11 は GDF8 と非常に高い相同性を持つことが知られているため、ELISA 法を用いて抗-GDF11 抗体が GDF8 に結合しないことを確認した。
2. 免疫組織化学染色のために生後 7 週齢の Wistar 系雄ラットを用いた。深麻酔下で 4%パラホルムアルデヒド・0.2%ピクリン酸を含む 0.1 M リン酸緩衝液にて灌流固定を行い、脳組織を摘出した。凍結後、嗅球から脊髄までを冠状断 20 μm の厚さで薄切し、浮遊法および貼り付け法にて、免疫組織染色（酵素抗体法、蛍光抗体法）を行った。同様の手法で生後 1、2、3、7 週齢、6 ヶ月齢の Wistar 系雄ラット、生後 7 週齢の ddY 系雄マウスの灌流固定を行い、免疫組織染色（酵素抗体法）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. 吸収試験および ELISA 法

抗-GDF11 抗体を、その抗原部位の配列を含む合成ペプチドと反応させたのち、免疫染色を行ったところ、染色性の消失を認めた。また ELISA 法の結果、抗-GDF11 抗体は、GDF8 を認識せずに、濃度依存的に GDF11 のみを認識することが明ら

かとなった。

2.免疫組織化学染色

GDF11 の発現は、成体ラット中枢神経系において全体的に観察された。終脳、間脳、中脳、橋、延髄、小脳および脊髄の各領域における神経細胞の細胞体およびニューロピルで強い免疫反応が見られた。脳梁、大脳皮質において GDF11 陽性細胞はアストロサイトのマーカータンパク質であるグリア線維性酸性タンパク質も同時に発現しており、アストロサイトが GDF11 を発現していることを示していた。また、内側縦束、脊髄白質等において、軸索での免疫反応が観察された。

3.発達段階における変化とマウス脳との比較

1、2、3、7 週齢と 6 か月齢のラット大脳皮質、海馬においてはいずれも強い免疫反応が見られたが、発達段階による明らかな違いは見られなかった。7 週齢のラットおよびマウスの脳を用いて免疫反応を行ったところ、両者は類似しており種による明らかな違いは見られなかった。

〔考察〕

GDF11 に関する成体中枢神経系における報告はほとんどない。本研究における実験結果から、成体中枢神経系においても GDF11 が広範囲に存在することがわかった。

海馬歯状回、脳室下帯において強い GDF11 の免疫反応が観察された。これらの領域では、成体中枢神経系においても神経新生が生じていることが知られており、GDF11 はこれらの神経新生を調節している可能性が示唆された。背側蝸牛神経核表層、上丘表層、脊髄後角表層のニューロピルにおいて強い GDF11 の免疫反応が観察された。これらの領域の神経細胞は多様な入力を受け高いシナプス可塑性を持つことが知られていることから、GDF11 は長期増強効果、長期抑圧効果といったシナプス可塑性に関与している可能性が示唆された。また、アストロサイトにも GDF11 の免疫反応が見られたことから、アストロサイトから分泌された GDF11 は周囲の細胞に影響を与えるとともに、オートクライン的にアストロサイト自身の機能にも影響を与えていることが示唆された。

〔結論〕

抗-GDF11 抗体を用いて成体ラット中枢神経系における GDF11 の発現分布を調べた。中枢神経系全体の神経細胞およびその軸索に GDF11 の強い免疫反応が見られた。また、GDF11 陽性のアストロサイト、上衣細胞も観察された。これらの結果から、成体中枢神経系の広い範囲で GDF11 が重要な役割を果たしていることが示唆された。