



BMP10 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: 2023-04-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小川, 主税 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00004356

博士（医学）小川 主税

論文題目

BMP10 expression in the adult rat central nervous system

（成体ラット中枢神経系における BMP10 の発現）

論文の内容の要旨

[はじめに]

Bone morphogenetic protein 10 (BMP10) は transforming growth factor β (TGF- β) スーパーファミリーに属するシグナル分子であり、心臓の形成や、血管の新生・発達に関与する事が知られている。BMP10 の受容体として I 型受容体 (activin receptor-like kinase 1 (ALK1)、ALK3、ALK6)、II 型受容体 (BMP receptor type II, activin receptor-like kinase IIa) が知られており、BMP10 の結合により smad ファミリーがリン酸化され核内に移行することにより転写調節を行う。中枢神経系においては、大脳皮質の損傷時に BMP10 の発現が増加することが報告されているが、BMP10 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 BMP10 の発現分布の解析を行った。

[材料ならびに方法]

本研究は本学動物実験委員会の承認を得て行った(承認番号:第 2022010 号)。まず、抗 BMP10 抗体の特異性を検証するために吸収試験を行った。また、ウェスタンブロッティング法を用いて抗 BMP10 抗体が BMP10 を検出できるか確認した。さらに、BMP10 は BMP9 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 BMP10 抗体が BMP10 と BMP9 を識別できるかどうかを確認した。

免疫組織染色のために生後 7 週齢の Wistar 系雄ラット (n = 9) 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で 10 μ m (蛍光抗体法用) または 20 μ m (酵素抗体法用) 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 7、21 日齢の Wistar 系雄ラット (各々 n = 3) の灌流固定を行い、免疫組織染色 (酵素抗体法) を行った。

BMP10 が核に輸送される可能性を調べるために共免疫沈降法を行った。抗 BMP10 抗体を用いた免疫沈降法により BMP10 を含むタンパク質複合体を回収した。次に、ウェスタンブロッティング法を用いて、BMP10 を含むタンパク質複合体において核内輸送因子である importin- α が検出されるか確認した。

[結果]

吸収試験においては、抗 BMP10 抗体を、その抗原部位の配列を含む合成ペプ

チドと反応させた後に免疫染色を行ったところ、染色性の消失を認めた。また、ウェスタンブロッティング法で検出されたバンドサイズは約 40 kDa で、BMP10 の分子量と一致した。また ELISA 法の結果、抗 BMP10 抗体は、BMP9 を認識せずに、濃度依存的に BMP10 を認識した。以上のことより、抗 BMP10 抗体は特異的に BMP10 のみを認識することが明らかとなった。

成体ラット中枢神経系において免疫組織染色を行った結果、BMP10 の発現は脳、海馬、対角帯、脳室下帯、間脳、中脳、橋、延髄、小脳および脊髄の各領域で広く観察され、ニューロンの細胞体、核、及び軸索で強い免疫反応を認めた。また、脳梁の BMP10 陽性細胞において、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の発現を認め、アストロサイトが BMP10 を発現していることを示していた。さらに、上皮細胞、脈絡叢等においても BMP10 発現を認めた。さらに、発達中の大脳皮質における BMP10 の発現を検討したところ、7、21 日齢、7 週齢と発達に伴い BMP10 の発現は徐々に増加していた。また、共免疫沈降法を用いて分離した BMP10 を含むタンパク質複合体において importin- α が検出された。

[考察]

BMP10 に関する成体の中枢神経系における報告はほとんどなく、本研究における実験結果から成体の中枢神経系においても BMP10 が広範囲に存在することがわかった。BMP10 は大脳皮質の損傷時に発現が増加することが報告されているが、脳梁のアストロサイトで BMP10 の発現を認めたことから、アストロサイトが外傷性脳障害後の病態に関与している可能性が示唆された。また、アストロサイトから分泌された BMP10 は周囲の細胞に影響を与えるとともに、オートクラインの作用で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。

大脳皮質、海馬、対角帯に BMP10 の発現が観察された。これらの領域はアルツハイマー病に関連する領域であり、アルツハイマー病の進行に伴い BMP10 の I 型受容体である ALK1 の発現が減少する事が報告されているため、BMP10 シグナルの減少が病態に関与している可能性が示唆された。また、海馬の歯状回、脳室下帯において BMP10 の発現が観察された。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、BMP10 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。

細胞質だけではなく核でも BMP10 の発現を認めた。今回 BMP10 と核内輸送因子である importin- α との結合を認めたことから、BMP10 が核に輸送され転写調整因子として機能している可能性が示唆された。

[結論]

抗 BMP10 抗体を用いて成体ラット中枢神経系における BMP10 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 BMP10 の強い免疫反応が

見られた。また、**BMP10** 陽性のアストロサイト、上皮細胞、脈絡叢等においても **BMP10** の発現が観察された。これらの結果から、成体中枢神経系の広い範囲において **BMP10** が重要な役割を果たしていることが示唆された。