

博士(医学) 宮城道人

### 論文題目

Bone morphogenetic protein receptor expressions in the adult rat brain

(成体ラット脳における骨形成蛋白受容体の発現)

### 論文の内容の要旨

#### [はじめに]

Bone morphogenetic protein (BMP)は1960年代に骨誘導を引き起こすタンパク質として同定された。BMPに対応する受容体としてはタイプ1受容体としてBMP receptor (BMPR) IA、BMPRII、タイプ2受容体としてBMPRIIなどが報告されており、タイプ1受容体、タイプ2受容体が共役してSmad系を活性化し、転写活性を調節することが知られている。BMPシグナルの機能は多様で、腹側中胚葉誘導活性や、さまざまな組織・器官形成に関与していると報告されている。神経系においては、胎生期にBMPが神経幹細胞の分化を促進することや、中枢神経損傷後の再生における軸索伸展抑制作用があることが知られている。BMPに関しては、成体ラットでの脳・脊髄における発現分布について詳細に検討されているが、これまでにBMPRの発現分布について検討した報告はない。また、BMPRIAとBMPRIIの機能的差異については不明な点が多く、両者の発現分布を詳細に検討することにより、両者の機能的差異についても一定の考察を加えることが可能だと考えた。故に、我々は成体ラット脳、脊髄におけるBMPRの発現を詳細に検討した。

#### [材料ならびに方法]

雄性Wister系ラット7週齢を4%paraformaldehydeにて灌流固定した。脳、脊髄を採取し、これらの凍結冠状断切片を作製した。抗BMPRIA抗体、抗BMPRII抗体、抗BMPRII抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。また、Enzyme-linked immunosorbent assay及び、抗原を用いた吸収試験を行い、それぞれの抗体が対応するタンパクを特異的に認識することを示した。さらに、アストロサイトのマーカーである抗glial fibrillary acidic protein (GFAP)抗体と、それぞれの抗BMPR抗体との蛍光二重染色を行った。

#### [結果]

BMPRIA、BMPRII、BMPRIIは成体ラットの中枢神経系に広く豊富に発現していた。大脳皮質では、錐体細胞の細胞体とapical dendriteにBMPRIA、BMPRII、BMPRII全ての強い発現があった。海馬において、BMPRIAはアストロサイトでの強い発現が見られ、BMPRIIは錐体細胞のapical dendriteに強く発現していた。また、BMPRIIは錐体細胞の細胞体に強い発現が見られた。小脳では、Purkinje細胞の細胞体にBMPRIA、BMPRII、BMPRII全ての発現が見られた。また、Purkinje細胞のdendriteにおいてはBMPRIIの非常に強い発現が認められた。脊髄では、前角細胞にBMPRIA、BMPRII、BMPRII全ての発現があったが、

BMPRIIB は比較的 dendrite に強く発現する傾向があった。

また、BMPRIA、BMPRIIB、BMPRII は、内耳神経、脊髄後索などの求心性神経の軸索と、顔面神経、脊髄錐体路などの遠心性神経の軸索の両者に発現していた。多くのニューロンにおいては、BMPRIA は主に細胞体に発現しており、BMPRIIB は dendrite に優位に発現していた。ニューロン以外にも、アストロサイト、上皮細胞、脈絡層などで豊富な BMPRIA、BMPRIIB、BMPRII の発現が確認された。

#### [考察]

今回の研究により BMPRIA、BMPRIIB、BMPRII が、成体ラットの中枢神経系に豊富に発現していることが明らかとなった。我々はこれまで、リガンドである BMP2、BMP4 も中枢神経系で広く発現していることを報告しており、成体ラットの中枢神経系で BMP シグナルが重要な役割を果たしていることが示唆された。

タイプ 1 受容体である BMPRIA と BMPRIIB の役割の違いについては明らかになっていないが、今回の結果で、BMPRIA は細胞体に強く発現し、BMPRIIB は dendrite に強く発現するといった発現分布の相違が見られたことから、一つのニューロンの様々な部位で、異なる BMP シグナルが必要とされている可能性があると考えられた。

BMPR の軸索での発現について、過去にショウジョウバエの実験で BMP ホモログが筋由来の逆行性シグナルとして働き、シナプス成長や神経伝達物質の放出を促進することが報告されている。今回の実験で、BMPR が様々な種類の軸索に発現していることから、BMP が哺乳類でも同様に逆行性シグナルとして働き、シナプス形成やその可塑性に関与している可能性が示唆された。

#### [結論]

BMPRIA、BMPRIIB、BMPRII は成体ラットの中枢神経系に多様性を持って豊富に発現していた。BMP シグナルが中枢神経系の形態維持や機能に重要な役割を持つことが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

骨誘導を引き起こす骨形成蛋白 (Bone morphogenetic protein: BMP)には多数の分子種が存在し TGF- $\beta$  スーパーファミリーの多くを構成している。その発現は、骨・軟骨組織だけでなく神経系、心血管系、消化器系など広範で、BMP は形態形成を担うシグナル蛋白機能を有するサイトカインと考えられている。神経系において BMP は、胎生期の神経幹細胞の分化、中枢神経損傷後の再生における軸索伸展に関与している。一方、BMP の受容体 (BMPR) は、二つのタイプ 1 受容体 BMPRIA、BMPRIIB、およびタイプ 2 受容体 BMPRII が報告されており、タイプ 1 とタイプ 2 の受容体が共役して Smad 系を活性化し、転写活性を調節することが明らかになっている。すでに成体ラットでの脳・脊髄における BMP の発現分布は詳細に検討されているが、受容体の発現分布の報告はない。そこで申請者らは、成体ラッ

ト脳、脊髄における BMPR の発現分布を検討した。

雄性 Wister 系ラット 7 週齢の脳、脊髄の凍結冠状断切片を作製し、抗 BMPRIA 抗体、抗 BMPRIB 抗体、抗 BMPRII 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。その結果、BMPRIA、BMPRIB、BMPRII は成体ラットの中枢神経系に広く発現しており、多くのニューロンでは、BMPRIA は主に細胞体に、BMPRIB は樹状突起に優位に発現していた。また、いずれの BMPR もアストロサイト、および脳、脊髄の軸索で豊富な発現が確認された。

審査委員会では、申請者らの研究は、BMPR が成体ラットの中枢神経系に豊富に発現し、BMPRIA と BMPRIB の発現部位に差があることを明らかにしており、多様な BMP シグナルが中枢神経系の形態維持や機能において重要な役割を果たしていることを示唆した優れた研究であると高く評価した。

以上により、本論文は博士（医学）の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 宮嶋 裕明  
副査 難波 宏樹 副査 福田 敦夫