

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 3 年 5 月 7 日現在

機関番号：13802

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24141

研究課題名（和文）GDF11およびmyostatinの顎口腔領域における発現分布の解析

研究課題名（英文）GDF11 and myostatin expression in the oral and maxillofacial region

研究代表者

林 祐太郎（Hayashi, Yutaro）

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：50845055

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：GDF11、myostatinはTGF- β スーパーファミリーに属するシグナル調節因子であり、発生期における器官形成において重要な役割を持つことが知られている。しかし、これらの因子の成体中枢神経系での発現は明らかとなっていない。本研究ではTGF- β スーパーファミリーに属するfollistatin、BMP9の成体ラット中枢神経系での発現分布を明らかにし、成体での神経新生に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではTGF- β スーパーファミリーに属するfollistatinとBMP9の成体ラット中枢神経系での発現分布を明らかにし、成体神経新生への可能性が示唆された。これまでこれらの因子は発生期における重要な機能のみが明らかになっていたが、成体における分子生物学的な機能が明らかになることで認知機能の低下を代表とする加齢変化に対する創薬につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：GDF11 and myostatin are members of the transforming growth factor (TGF- β) superfamily. Although they play pivotal roles during development, little information is available for the expression in the adult central nervous system. This research revealed follistatin and BMP9 expression in the adult rat central nervous system and suggested the idea that they play important roles in the adult neurogenesis.

研究分野：脳神経解剖学

キーワード：TGF- β superfamily. GDF11 myostatin follistatin BMP9 adult neurogenesis

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

Growth differentiation factor 11 (GDF11)はbone morphogenetic protein 11 (BMP11)とも呼ばれるTGF- β スーパーファミリーに属するシグナル調節因子である。GDF11は発生期における体軸腹背側の決定、腎臓、胃、脾臓、膵臓の発生、また神経新生において重要な因子として知られている。近年では加齢とともに減少する若返りの因子として注目を浴びている。Parabiosis (並体結合)という若年マウスと老齢マウスの循環系を結合する実験で、老齢マウスのGDF11レベルが改善し、シナプス可塑性の改善、認知機能の改善が報告された。また、GDF11の補充によって老齢マウスの骨格筋におけるsatellite cell活性が上昇し筋組織が再生、老齢マウスの心肥大が抑制されたことが報告された。

MyostatinはGDF8とも呼ばれ、TGF- β スーパーファミリーに属するシグナル調節因子である。Myostatinは主に骨格筋から産生され、骨格筋の強い負の制御因子として知られている。ノックアウトマウスでは骨格筋の肥大を示し、またウシ、ヒツジ、イヌ、ヒトにおいて著明な筋肥大を示すmyostatin遺伝子の変異が報告されている。

GDF11とmyostatinは高い相同性を持つことで知られ、成熟ペプチド部で90%のアミノ酸配列が一致する。そのため特異性の証明されていない抗体を使用した論文も散見されるため、GDF11の若返りの因子としての機能に懐疑的な報告も見られた。申請者は、GDF11のラット中枢神経系での発現分布を、抗体の特異性を証明し明らかにしている(Hayashi et al. J Chem Neuroanat, 2018)(図1:ELISA法。GDF11およびmyostatinのタンパクを吸着させたプレートに使用する抗GDF11抗体を反応させ、GDF11のみ特異的に抗原抗体反応を認めた。)。またmyostatinのラット中枢神経系での発現分布を、抗体の特異性を証明し明らかにしている(Hayashi et al. J Chem Neuroanat, 2018)。

一方、顎口腔領域では様々な加齢変化による生理機能低下が見られる。唾液腺の萎縮による口腔乾燥、味覚閾値の上昇による味覚障害、舌筋の萎縮によるサルコペニアなどが挙げられる。これらの加齢変化は口腔不快感を引き起こし、著しいQOLの低下をきたす。顎口腔領域は三叉神経支配であるが、申請者はTGF- β スーパーファミリーの代表的なアンタゴニストであるchordinとnogginのラット三叉神経核での発現分布を明らかにしている(Hayashi et al. J Chem Neuroanat, 2016)。またBMP受容体であるBMPRI AとIBのラット三叉神経核での発現分布を明らかにしている(Hayashi et al. J Brain Sci, 2017)。

2. 研究の目的

本研究では様々な条件下でGDF11とmyostatinの顎口腔領域での発現分布を解析することを目的とする。

GDF11とmyostatinに関するこれまでの研究は、これらのタンパクが生体に与える影響の大きさを証明してきた。しかし、網羅的に発現分布を解析した論文は見られず、また顎口腔領域に絞って検討した研究は少ない。申請者らは予備実験よりGDF11とmyostatinが中枢神経系において、ニューロン、アストロサイト、アクソンと幅広く発現することを見出した。さらに末梢組織における詳細な発現分布の解析を行うことは、臨床応用までの研究の基盤を確立できると考える。

顎口腔領域の加齢変化によって生じる症状へは対症療法が主であるため、その発症メカニズムを解明することは加齢によるQOL低下を予防し、健康寿命延伸のための期待も大きい。

3. 研究の方法

本研究ではマウスを灌流固定し、舌、唾液腺(耳下腺、顎下腺)、咀嚼筋、歯肉などを摘出、凍結後薄切する。切片は浮遊法で免疫染色を行う。対象とするマウスを1週齢～12か月齢の間で行い、加齢による染色像の比較を行う。また蛍光二重染色法により発現する細胞種の同定を行う。各組織における染色の特色があれば、その組織特有の疾患モデルマウスを用いて免疫染色を行う。GDF11、myostatinの関連タンパクにて同様の免疫染色を行う場合はウエスタンブロッティング法、ELISA法を用いて抗体の特異性を証明する。

実験により各組織でのGDF11、myostatinの発現分布を解析し、加齢変化による発現の変化、疾患モデルマウスでの発現の変化を明らかにする。また、受容体activin receptor-like kinase (ALK)4/5/7、アンタゴニストであるfollistatinにおいてもその抗体の特異性を証明し発現分布を明らかにする。

4. 研究成果

- (1) 本研究では TGF- β スーパーファミリーに属するアンタゴニストである follistatin の成体ラット脳内での発現分布の解析を行った。
Follistatin は卵巣刺激ホルモンの分泌を阻害する因子として同定されたが、骨格筋肥大や精巣上体免疫制御において重要な役割を持つことで知られている。しかし、成体中枢神経系での機能はほとんど知られていない。本研究では免疫組織化学的手法を用いて成体ラット中枢神経系における follistatin の発現分布の解析を行った。Follistatin はほとんどのニューロンとその軸索に強い発現を認めた。さらにオリゴデンドロサイト、上衣細胞、いくつかのアストロサイトでの発現も認めた。これらの結果から follistatin は中枢神経系に広く分布し、重要な機能を担っている可能性が示唆された。
- (2) 本研究では TGF- β スーパーファミリーに属する BMP9 の成体ラット脳内での発現分布の解析を行った。
BMP9 は発生期における血管新生、肝形成、骨形成、糖代謝において重要な役割を持つことで知られている。しかし、成体中枢神経系での機能はほとんど知られていない。本研究では免疫組織化学的手法を用いて成体ラット中枢神経系における BMP9 の発現分布の解析を行った。BMP9 はほとんどのニューロンとその軸索に強い発現を認めた。さらにオリゴデンドロサイト、上衣細胞での発現も認めた。これらの結果から BMP9 は中枢神経系に広く分布し、重要な機能を担っている可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1 . 著者名 Ogawa Chikara、Mikawa Sumiko、Yamashita Kanna、Hayashi Yutaro、Masumoto Kazuma、Katou Fuminori、Sato Kohji	4 . 巻 105
2 . 論文標題 Follistatin expression in the central nervous system of the adult rat	5 . 発行年 2020年
3 . 雑誌名 Journal of Chemical Neuroanatomy	6 . 最初と最後の頁 101753 ~ 101753
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jchemneu.2020.101753	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1 . 著者名 Ogawa Chikara、Mikawa Sumiko、Hayashi Yutaro、Masumoto Kazuma、Katou Fuminori、Sato Kohji	4 . 巻 113
2 . 論文標題 BMP9 expression in the adult rat brain	5 . 発行年 2021年
3 . 雑誌名 Journal of Chemical Neuroanatomy	6 . 最初と最後の頁 101933 ~ 101933
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jchemneu.2021.101933	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------