

Title	Localization of basic FGF-like immunoreactivity in the hypothalamo-hypophyseal neuroendocrine axis
Author(s)	岩田, 弘
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38457">https://hdl.handle.net/11094/38457</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	岩 田 弘 <sup>ひろし</sup>
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 9 1 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 9 月 17 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Localization of basic FGF-like immunoreactivity in the hypothalamo-hypophyseal neuroendocrine axis (視床下部-下垂体神経内分泌系における塩基性線維芽細胞成長因子 (basic FGF) 様免疫陽性反応の局在)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠 山 正 彌 (副査) 教 授 塩 谷 弥 兵 衛    教 授 早 川 徹

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目 的]

線維芽細胞成長因子(FGF)は、1974年に Gospodarowicz によりウシの下垂体から線維芽細胞 (マウス BALB/c3T3) の増殖促進作用を指標にして発見されたタンパク質である。FGF は線維芽細胞および中胚葉由来の細胞に対して強い増殖促進作用を持つが、脳および下垂体に豊富に存在すること、および神経細胞にも強い突起伸展作用が認められることなどから神経栄養因子として近年注目を集めている。また最近、FGF とアルツハイマー病やパーキンソン病との関連も強く示唆されている。

FGF には等電点、分子種の異なる塩基性 FGF (bFGF) と酸性 FGF (aFGF) とが存在することが知られている。両者の全アミノ酸配列には高い相同性が認められており、そのため両者を弁別する特異的抗体の作製が困難であることなどから、脳内の分布に関しては現在までほとんど情報が得られていない。本研究は、神経細胞に対してより強い作用を有するとされている bFGF について、そのラット脳内局在を明らかにすることを目的とした。

#### [方法ならびに成績]

ウシの bFGF および aFGF の全アミノ酸配列の比較から、bFGF に特異的と考えられる N 末端12ペプチドを合成し、家兎に免疫して抗体を作製した。得られた抗体は bFGF を特異的に認識し、aFGF とは交差反応を示さなかった。ラット脳の各部位のホモジネートを用いた Western 解析の結果、対照として用いたウシ bFGF とほぼ同位置の分子量約17kDa のタンパク質が各部位に存在することが明らかとなった。その存在量は、下垂体、小脳、嗅球などに多いという結果が得られた。次にラットを灌流固定し、脳組織を摘出後、凍結切片を作製し免疫組織化学的に検討した。その結果、ラット脳内には豊富な bFGF 様免疫陽性反応が存在し、またその分布は特定の神経細胞および線維に局在することが観察された。これらの陽性反応が観察された細胞群は、大脳皮質ⅢおよびⅤ層に存在する錐体細胞、海馬の錐体細胞、赤核、プルキンエ細胞などであった。また、視床下部-下垂体路においても豊富な陽性構造が認められた。すなわち、視床下部の室傍核および視索上核の大型細胞および神経線維、正中隆起の内層線維などに陽性反応が認められた。また、一部の陽性細胞においてはバソプレッシンおよびオキシトシンと共存していた。

次に、ラット脳内 bFGF 産生細胞を同定するために、ラット bFGF 遺伝子に特異的なプライマーを合成し、PCR 反応後、プラスミドを構築し、これを鋳型としてジゴキシゲニン標識 RNA プローブを作製した。ラット脳各部位のホモジネートを用いた Northern 解析の結果、約 6 kb の mRNA が各部位に存在することが明らかとなった。それらの発現量は、海馬、大脳皮質などに多く下垂体、小脳に少ないという結果が得られた。さらに in situ ハイブリダイゼーション組織化学的検討を行なったところ、陽性反応は海馬の錐体細胞などごく一部の神経細胞に観察された。以上のことより、脳内には豊富な bFGF 様免疫陽性細胞が存在するものの、bFGF mRNA の発現は上記細胞以外では認めることはできなかった。

[総括]

bFGF を特異的に認識する抗体を作製し、かつこの抗体を用いた免疫組織化学的検討の結果、ラット脳内の神経細胞および神経線維に bFGF が豊富かつ不均一に存在することを明らかにした。また、bFGF mRNA に対する特異的 RNA プローブを作製し、かつこのプローブを用いた in situ ハイブリダイゼーション組織化学的検討の結果、ラット脳内ではごく一部の領域で bFGF mRNA が発現されていることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、FGF ファミリーの中でも中枢神経系の神経細胞に対し特に強い作用を有するとされる bFGF の脳内局在を検討したものである。Western 解析、免疫組織化学、Northern 解析および in situ Hybridization 組織化学の結果、脳内の幅広い領域の神経細胞が豊富かつ不均一に bFGF を含有し、発現していることを明らかにした。とりわけ、bFGF は視床下部-下垂体神経内分泌系の神経細胞に豊富に存在することより、これらの神経細胞の生存あるいは機能の維持に関与することが示唆される。本研究は中枢神経系における bFGF の生理的意義を明らかにするための基礎的かつ貴重な知見であり、学位に値すると考えられる。