

氏 名 楊 銘春

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲第759号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項

学 位 授 与 年 月 日 平成28年 9月14日

学 位 論 文 題 目 Mapping of mitochondrial ferritin in the brainstem of
Macaca fascicularis

(カニクイザル脳幹部におけるミトコンドリアフェリチンの
分布図)

審 査 委 員 主査 教授 等 誠司

副査 教授 勝山 裕

副査 教授 小笠原 一誠

論文内容要旨

※整理番号	766	(ふりがな) 氏名	楊銘春 ようめいしゅん
学位論文題目	Mapping of mitochondrial ferritin in the brainstem of <i>Macaca fascicularis</i> . (カニクイザル脳幹部におけるミトコンドリアフェリチンの分布図)		
<p>Background: Mitochondrial ferritin (FtMt) is a novel protein encoded by an intronless gene mapped on chromosome 5q23.1. Compared with the ubiquitously expressed traditional ferritin (H-ferritin and L-ferritin), FtMt has been found in fewer locations including the testis, heart and brain. Previous studies have reported that the expression of FtMt in mouse and human brain is predominantly localized to neurons and partly to glial cells, and FtMt exerts protective effects on neurons by maintaining normal function and regulates apoptosis in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. However, little information available about the distribution of FtMt-positive neurons in the brain.</p> <p>Purpose: To further explore the function of FtMt in neurodegenerative disease, we mapped the distribution patterns of FtMt-positive neurons in the monkey brainstem.</p> <p>Method: We designed a novel polyclonal antibody against human FtMt and characterized it via western blot analysis, immunoabsorption testing, and double immunofluorescence histochemistry. Then we used this new FtMt antibody to test the distribution patterns of FtMt by immunohistochemistry. Mapping of FtMt distribution in the monkey midbrain was performed using camera lucida. Double immunofluorescence histochemistry with tyrosine hydroxylase was employed to test the co-localization of FtMt with catecholaminergic neurons. For western blot analysis, the brainstem sample was obtained from two euthanized female cynomologus monkey (3 years 10 months, 2.67 kg; 12 years 2 months, 5.52 kg). For immunohistochemistry, brains were removed from four female cynomologus monkeys (age: 5–11 years; weight: 3.38–4.68 kg) following use for other non-pathological study by other researchers.</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

Result and Discussion: We demonstrated that FtMt immunoreactivity was preferentially observed in neuronal cells of the brainstem, where it was observed in the mitochondria and cytoplasm of somata and neuronal processes. The differences in the intensity and form of FtMt immunostaining appear to be consistent with mitochondrial density and neuronal activity. FtMt immunoreactivity was observed in the extrapyramidal system, sensory trigeminal nerve nuclei, some motor nuclei including ambiguous nucleus, dorsal motor nucleus of the vagus and hypoglossal nucleus, and some dorsal column nuclei such as the gracile nucleus and cuneate nucleus. In addition, double immunohistochemical stainings confirmed that FtMt immunoreactivity was co-localized with catecholaminergic neurons in the locus coeruleus (63.64%), substantia nigra pars compacta (69.18%), and ventral tegmental area (56.89%). Our observations may imply the different expression of FtMt in the TH-positive neurons in the VTA, LC and SN related to regional differences in sensitivity to oxidative stress. The distribution of FtMt which we found in the brainstem implies possible involvement of FtMt in several physiological mechanisms, especially in the catecholaminergic neurons, and the possibility of significant involvement in neurodegenerative disease.

Conclusions: In the present study, we designed and characterized a new human FtMt antibody, and with it created the first map of FtMt immunoreactivity in a monkey brainstem. This showed the widespread distribution of FtMt in various brainstem regions and co-localization with catecholaminergic neurons in the LC, SN, and VTA, suggesting that FtMt plays a significant role in catecholamine neurons and more importantly, it could be involved in neurodegenerative diseases such as Parkinsonism and ataxia. The map of FtMt immunoreactivity should give fundamental data to understand roles of FtMt in physiological and pathological brain functions.

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	766	氏名	楊 銘春
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと。)</p> <p>アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患患者脳で、発現上昇が認められることがあるミトコンドリアフェリチン (FtMt) に注目し、脳での発現パターンを詳細に検討することにより、FtMt の機能を明らかにすることを目指した研究である。この目的を達するため、ヒト FtMt の部分ペプチドをウサギに免疫することで特異的抗体を作製し、カニクイザル脳を用いて免疫組織学的に詳細な解析を加えた。</p> <p>その結果、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 作製した抗ヒト FtMt 抗体は、ホモロジーのあるフェリチン H 鎖とは交差反応せず、FtMt に特異的であった。 2. 抗ヒト FtMt 抗体によって、カニクイザル脳の錐体外路系神経核や三叉神経核、一部の運動核の神経細胞が免疫染色された。 3. 特に、黒室緻密部や青班核、腹側被蓋部などのカテコールアミンを神経伝達物質とする神経細胞に高頻度に共局在した。 4. FtMt は主にミトコンドリアに存在し、その発現はミトコンドリア量に比例すると考えられた。 <p>本論文は、これまで知られていなかった FtMt の脳における発現パターンを明らかにし、カテコールアミン系神経細胞が活性酸素によって細胞死することを防ぐメカニズムの一端を解析することにより、神経変性疾患の病態に関わる新しい知見を与えるものである。最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 599 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 28 年 8 月 29 日)</p>			