

ここで本研究では、神経幹細胞がアストロサイトへの分化能を獲得する過程およびその後アストロサイトへ分化する過程において、アストロサイト特異的遺伝子の遺伝子座の核内配置がどう変化するか、またその変化が遺伝子の発現制御ならびにアストロサイト分化にどのような影響をもたらすのか、を解析し、神経幹細胞の分化制御を新規観点から検討することを目的としている。胎生中期(胎生 11.5 日)、胎生後期(14.5 日)のマウス終脳より調製した神経幹細胞、およびそこから分化したアストロサイトを実験に使用した。複数の遺伝子座に対する DNA fluorescence in situ hybridization (FISH) 法および遺伝子座の会合を網羅的に解析する手法として近年開発された enhanced circular chromosome conformation capture (e4C) 法を組み合わせ、分化に伴いアストロサイト特異的遺伝子 *Gfap* の遺伝子座と会合または近接している割合が変動する遺伝子座を探索した。現在は FISH と e4C の結果を確認するため、特異的遺伝子座の会合を検出する手法である chromosome conformation capture (3C) 法を行っている。

4. 発生期マウス小脳における CD44 の発現解析

成瀬 雅衣, 横山 就一, 倉知 正

柴崎 貢志, 石崎 泰樹

(群馬大院・医・分子細胞生物学)

CD44 は細胞-細胞、細胞-細胞間基質を接着させる接着因子のひとつであり、我々は小脳に存在する LIF によってアストロサイトへ分化誘導できる前駆細胞が CD44 を発現している事を報告した (Cai *et al.*, 2012)。我々は、発生期小脳における CD44 陽性細胞の存在意義を検討するため、まず始めに免疫組織染色と Fluorescence-activated cell sorting (FACS) を使用してマウスの脳における CD44 の発現様式を解析した。発生期のマウスの脳組織では、小脳特異的に CD44 の強い発現が観察された。生後 3 日齢の小脳では、CD44 は GLAST 陽性である未分化なバグマングリア、アストロサイト前駆細胞に加えて、Sox2 陽性である神経幹細胞、Olig2 陽性であるオリゴデンドロサイト前駆細胞にも発現が観察された。生後 14 日齢まで発達が進むと、バグマングリアとオリゴデンドロサイトの CD44 発現は消失し、CD44 は白質の GFAP 陽性アストロサイトにのみ特異的な発現を示した。生後 3 日齢の小脳の CD44 発現細胞を FACS を用いて回収し neurosphere assay をおこなったところ、CD44 陽性細胞の一部は neurosphere を形成した。また、FGF-2 と heparin を添加して培養すると、生後 3 日齢の小脳の CD44 発現細胞はオリゴデンドロサイトへ分化した。以上の結果より、生後初期の小脳の未分化な CD44 陽性細胞は FGF シグナルによってオリゴデンドロサイ

トへ分化誘導される可能性が示唆され、小脳の発達にもなって CD44 は白質のアストロサイト特異的に局在を変化させることが示された。

5. ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤のスパイン保護作用

高木 瑛子, 清水 英雄, 石塚 佑太

白尾 智明 (群馬大院・医・神経薬理学)

アミロイド β ($A\beta$) や酸化ストレスによるシナプスの形態及び機能の障害がうつ病発症につながると考えられている。しかし近年、不溶性 $A\beta$ 繊維によるものではなく、可溶性 $A\beta$ オリゴマーにより神経及びシナプスの機能が阻害されているという報告がある。

ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC: Histone deacetylase) の阻害剤である SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid) の投与により *in vivo* における抗うつ効果が報告されている。本研究では、SAHA のストレスに対するスパイン保護効果に関して、マウスの海馬初代培養神経細胞に SAHA と $A\beta$ を添加することで、 $A\beta$ により引き起こされるシナプス異常を防ぐことができるか検討した。シナプスの正常機能維持の指標にはスパイン集積タンパク質である drebrin のクラスター数を用いた。

結果、SAHA 単独添加は drebrin クラスター数を変化させなかった。一方、可溶性 $A\beta$ オリゴマーは、drebrin クラスター数を減少させるが、SAHA の前処理によって drebrin クラスター数の減少を防いだ。

これらの結果から、SAHA はスパイン保護作用を持つことが示唆された。

6. Axonal transport of *Caps2* splice variant linked to BDNF coordination of brain circuit development and autism-related behavior in a mouse model

Tetsushi Sadakata and Teichi Furuichi

(Advanced Scientific Research Leaders Development Unit, Gunma University, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan)

Autism is a pervasive disorder of brain development characterized by impaired social interaction and communication. The potential molecular risk factors are poorly characterized in animal models. We previously identified dex 3, a rare splice variant of CAPS2, a protein essential for enhanced release of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) from neurons, which is missing an exon critical for axonal transport in *in vitro* neuronal cultures. CAPS2-dex 3 is overrepresented in patients with autism. Here, we generated *Caps2*-dex 3 mice and demonstrated a severe impairment of *in vivo* axonal trans-

port and BDNF release. Because of this specific deficit, circuit connectivity, measured by spine and interneuron density, was globally diminished. The collective impact of reduced axonal BDNF release during development was a striking and selective repertoire of deficits in social- and anxiety-related behaviors. Together, these findings represent the first mouse model of a molecular mechanism linking BDNF-mediated coordination of brain development to autism-related behaviors and patient genotype.

7. 多層性ロゼットを有する胎児性腫瘍と染色体19q13.42増幅

信澤 純人,¹ 横尾 英明,¹ 田中 優子¹
伊古田 勇人,¹ 平戸 純子,² 中里 洋一¹
(1 群馬大院・医・病態病理学)
(2 群馬大医・附属病院・病理部)

【背景】染色体19q13.42増幅が、ニューロピルと真性ロゼットに富む胎児性腫瘍 (ETANTR) と ependymoblastoma に共通し、高頻度で認められる遺伝子異常として最近報告された。そこでこれらを包括した、多層性ロゼットを有する胎児性腫瘍 (ETMR) が新たな腫瘍型として提唱され、染色体19q13.42増幅がその特異的分子マーカーになると考えられるようになった。しかし、多層性ロゼットを有する腫瘍には、AT/RT など他の胎児性腫瘍や immature teratoma などが稀ながら存在し、それらにおける染色体19q13.42増幅の検索は、現在のところほとんど報告されていない。【対象と方法】FISH法および differential PCR法を用いて、ETANTR 6例、ependymoblastoma 2例、medulloepithelioma 1例、AT/RT 5例 (2例は多層性ロゼットを含む)、immature teratoma 2例における染色体19q13.42増幅を検索した。【結果】6例中5例のETANTR中5例、2例中1例のependymoblastoma、1例のmedulloepitheliomaに染色体19q13.42増幅が認められた。しかし、多層性ロゼットを有する2例を含めた全5例のAT/RT、および2例のimmature teratomaには見られなかった。【考察】ETANTR、ependymoblastomaに加え、medulloepitheliomaもETMRの一部をなす可能性が示唆された。また、多層性ロゼットを含むAT/RTはETMRには含まれないことが示された。

8. 水チャネル、アクアポリン5のラット唾液腺における発現調節

須佐 岳人,^{1,2} 澤井 信彦,² 青木 武生²
横尾 聡,¹ 高田 邦昭,² 松崎 利行²
(1 群馬大院・医・顎口腔科学)
(2 群馬大院・医・生体構造学)

糖尿病や老化などの代謝異常、薬剤の副作用、顎口腔領域に対する放射線照射、シェーグレン症候群など唾液腺の機能障害により口腔乾燥症が発症する。口腔乾燥症を発症すると摂食、嚥下、発話など日常生活に支障を来し、著しくQOL (生活の質) を低下させる。

唾液成分の99%は水であり、唾液腺における水の輸送は重要である。唾液腺における水の輸送には水チャネル、アクアポリン (AQP) が関与しており、腺房細胞腺腔面の細胞膜にAQP5が分布する。AQP5ノックアウトマウスでは唾液の分泌量の低下が報告され、AQP5は唾液の主成分である水の分泌に重要な役割を果たすと考えられている。今回、われわれはラット唾液腺を用いて、AQP5の発現調節について検討を行ったので報告する。実験には9週齢Wistar系雄ラットの耳下腺および顎下腺を用い、環境や各種薬剤によるAQP5の発現量の変化について、免疫組織化学的手法およびウェスタンブロット法による解析を行った。

まず、3日間絶食環境におかれたラットではAQP5の発現量が低下することが判明した。これは絶食により唾液分泌が抑えられたためと考えられる。そこで絶食しながら薬剤による唾液分泌刺激を試みた。唾液のタンパク質成分の分泌を促進するイソプロテレノールを投与したところ、耳下腺・顎下腺ともに絶食によるAQP5の発現量の低下は認められなかった。一方、唾液の水成分の分泌を促進するピロカルピンを投与したところ、耳下腺ではAQP5の発現は低下したままであったが、顎下腺では絶食環境におかれながらもAQP5の発現量の低下が認められなかった。このようにラットにおける唾液腺のAQP5の発現は種々の条件で大きく変動することがわかってきた。

9. 膵β細胞に発現するRab27エフェクターExophilin7は非ドッキング顆粒からのインスリン分泌を制御している

王 昊, 石崎 玲, 徐 君
河西 和雄, 五味 浩司, 泉 哲郎
(群馬大・生調研・遺伝生化学分野)

低分子量GTPase Rab27及びそのエフェクターであるExophilinファミリーは、インスリン分泌などの調節性分泌経路で多様に機能している。これまでに我々は、Granuphilin/Exophilin2が細胞膜上に存在するSNARE