

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

タンパク質 Syntaxin と結合してインスリン顆粒を細胞膜へドッキングさせると同時にインスリン分泌を抑制していることを示してきた。しかし、膵 β 細胞からのインスリン分泌の表現型は Rab27 変異と Granuphilin 欠損とで異なり、膵 β 細胞には Granuphilin 以外の Rab27 エフェクターが存在すると考えられた。

Granuphilin と同様のドメイン構造を持つ Exophilin7 が膵 β 細胞に発現し、インスリン顆粒に局在していた。しかし、Exophilin7 は Granuphilin とは異なり Syntaxin とは結合せず、インスリン顆粒を細胞膜上にドッキングさせる能力は無かった。Exophilin7 は Granuphilin とは異なる方法でインスリン顆粒を制御しているのではないかと考え Exophilin7 遺伝子欠損マウスを作製し解析した。

Exophilin7 遺伝子欠損マウスから単離した膵島のインスリン分泌能を調べたところ、グルコース刺激では差が認められなかったが、脱分極刺激下において分泌能が低下していることが分かった。また、Exophilin7/Granuphilin 二重欠損マウスの解析からドッキング顆粒がほとんど存在しない状態では生理的な分泌刺激であるグルコース刺激下で分泌能が低下していることが分かった。

これらの結果から、Granuphilin はインスリン顆粒を細胞膜にドッキングさせると同時にインスリン分泌を抑制する一方、Exophilin7 は細胞膜から離れて存在する非ドッキング顆粒の分泌を正に制御していることが分かった。

10. 酸化ストレス可視化モデルマウスの開発

及川 大輔^{1,2} 赤井 良子^{1,2} 徳田 美緒²
岩脇 隆夫^{1,2,3}

- (1 群馬大学
先端科学研究指導者育成ユニット)
- (2 理化学研究所 基幹研究所
岩脇独立主幹研究ユニット)
- (3 科学技術振興機構 さきがけ)

【背景・目的】 酸化ストレスとは、生体内で過剰な活性酸素種が産生し、その消去システムとのバランスが乱れた状態を指す。そのような状態ではタンパク質、脂質そして DNA が障害を受け、さまざまな細胞内器官の機能に支障が生じる。近年では、酸化ストレスやその応答経路が、幾つかの神経変性疾患やガン、炎症性疾患など様々な病気に加え、老化や疲労に関連することが示唆されている。しかしながら、これまで酸化ストレスを動物個体レベルでモニター可能なレポーターシステムは構築されてこなかった。そこで、この問題を克服する研究に取り組んだ。**【方法】** 遺伝子工学技術を用いて、酸化ストレス応答分子の 1 つである Nrf2 に蛍光または発光

レポーター遺伝子を連結させ、酸化ストレス応答性プロモーターの制御下で発現できる遺伝子組換えマウスを作製した。**【結果】** マウスに導入した人工遺伝子は試験管レベルの実験において薬剤誘導性の酸化ストレスに対して内在性酸化ストレス応答反応と同様に反応し、理想的なレポーター活性を示した。この遺伝子を実際に導入したマウスでも薬剤誘導性酸化ストレスに対して生きてきたままレポーター活性を示した。さらに、このマウスは紫外線誘導性の酸化ストレスに対して期待通りレポーター活性を示した。また、これら実験は同一マウスを用いて何度でも行うことができた。**【考察・結論】** このマウスを用いれば、様々な健康障害に関わる酸化ストレスを生体レベルで簡便に調査できる。しかも、このマウスは生理環境下で生じるような弱いストレスレベルにも対応している。また研究のやり方によっては長期にわたる同一マウスでの解析が可能である。本研究で開発されたこのツールは今後の様々な医学研究において有用であると信じている。

11. ヒト気道上皮細胞におけるムチン産生制御機構の解明

オロソー ソロンゴ, 滝沢 琢己

荒川 浩一 (群馬大院・医・小児科学)

気道での粘液の過剰分泌は、慢性気道炎症性疾患における気道閉塞の主要な原因であり、その制御機構を理解することは病態理解の上で重要である。慢性気道炎症のもとでは、気道における主要な粘液産生細胞である杯細胞の増加がみられる。杯細胞は気道上皮基底細胞からの分化やクララ細胞や線毛細胞からの分化転換によって産生されることが考えられる。すなわち、杯細胞増生の過程では、細胞分化と類似した変化が起こっていると想定される。一方、細胞分化の過程では DNA の配列変化を伴わない DNA メチル化やヒストン翻訳後修飾などのいわゆるエピジェネティック変化が重要であることが知られるが、杯細胞過形成に伴うエピジェネティック修飾の変化はこれまでほとんど明らかとなっていない。我々は粘液の主要構成成分ムチンのうち気道で最も発現の多い MUC5AC が、ヒト気道上皮細胞株 H292 において TGF- α とウイルス感染により相乗的に増加することを明らかにしたが、一方で同様の刺激を加えても MUC5AC 発現が認められない細胞群が存在することを見出した。そこで、この MUC5AC 非発現群と発現群との間にエピジェネティクス修飾の相違があるのかどうか解析することで、杯細胞の分化におけるエピジェネティクス修飾の役割を明らかにできるのではないかと考えて本研究を開始した。TGF- α にて刺激した H292 を抗 MUC5AC 抗体にて染色した後、FACS ソーティングにて MUC5AC