

6. 成熟ニューロンにおける複製依存性ヒストンの発現解析

魚崎 祐一, 伊藤 謙治, 野口 東美
荒川 浩一, 滝沢 琢己

(群馬大院・医・小児科学)

クロマチンの基本単位であるヌクレオソームは4種のコアヒストン H2A, H2B, H3, 及び H4 に DNA が巻き付いて構成されている。ヒストン H4 を除くそれぞれのコアヒストンには僅かな数のアミノ酸残基が異なるバリエーションが存在する。近年、ヒストンの翻訳後修飾に加え、ヒストン自身の異なるバリエーションへの交換も転写や DNA 修復などのクロマチン制御、更には細胞分化に関与する重要な機構であることが報告されている。一方、ニューロンでは神経活動依存的に種々の遺伝子が発現誘導され、記憶などの脳の高次機能に重要な役割を果たしている。我々は、マウス海馬ニューロンにおいて神経活動依存的に発現誘導される遺伝子を網羅的に解析し、これまで DNA 複製時のみ発現すると考えられているヒストン H3.2 をコードする遺伝子 *Hist1h3f* のニューロンにおける発現上昇を見出した。ニューロンは周産期前後までに誕生後、一生の間分裂しない特殊な細胞であり、この分裂しないニューロンにおいて複製依存性ヒストンの転写が増強することを指摘した先行研究はない。そこで、本研究では成熟ニューロンにおいて、神経活動依存的ヒストン遺伝子発現が転写制御並びにヒストン代謝に及ぼす影響を検討することを目的としている。胎生 17 日マウス由来海馬ニューロンを 10 日間培養し、ピキユキュリンによりグルタミン酸受容体を刺激した後に *Hist1h3f* mRNA の発現上昇を定量的 PCR にて確認した。更に細胞核から低濃度の塩化ナトリウム溶液で溶出される蛋白質分画に神経活動依存性にヒストン H3 の増加を認めた。すなわちクロマチンに緩く結合あるいは遊離した H3 が増加していると考えられた。この増加は蛋白質合成阻害剤により消失することから新規蛋白質合成に依存した現象であることが示唆された。現在、新規合成蛋白質代謝標識により H3 の発現増加を確認している。

7. 幼弱期ストレスにより生じるグルタミン酸受容体発現量の変化

戸谷秀太郎, 高鶴 裕介, 天野 出月
鯉淵 典之 (群馬大院・医・応用生理学)

母子乖離 (Maternal-deprivation; MD) マウスは慢性ストレス障害の研究において有用なモデルの一つである。MD マウスを用いた研究ではこれまでに、ストレス関連ホルモンの分泌異常や情動に関連する領域 (海馬, 扁桃体, 前頭前野など) における神経形態異常が報告されている。また、発表者らのこれまでの研究により、情動

とは直接関係のない体性感覚野領域においてもシナプスの不安定化が起こっており、知覚過敏症がみられることがわかっている (Takatsuru et al., 2009)。しかしながら、これらの背景にある分子メカニズムについては不明点が多い。そこで、発表者らは、分子生物学的手法を中心に、MD マウスで見られたシナプス不安定化の原因について研究を続けている。MD マウスは生後 2 日目から 14 日目まで、1 日 3 時間、仔マウスを母親から離すことで作成し、生後 6–10 週令で実験を行った。In vivo microdialysis 法を用いた研究で、MD マウスの体性感覚野では興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の過剰放出が起こっていることがわかった。また、MD マウスに対してシナプス可塑性変化を誘発するような急性ストレス刺激を加えた場合、グルタミン酸受容体の各サブユニットの発現量が対象群マウスと異なることが、ウェスタンブロットティング法を用いたタンパク定量でわかった。以上の結果により、MD マウスでは、慢性ストレスによってグルタミン酸系神経回路に分子レベルで異常が生じていることがわかった。今後、グルタミン酸サブユニット特異的な治療薬を開発することによって、慢性ストレスにともなう精神疾患の治療法が開拓できる可能性が示唆された。

8. Health Effects of Aruk Rice in Diabetic Model Mice

Dian Kartika Sari,^{1,2} Novian Febiyanto,^{1,2}

Irma Melyani Puspitasari,¹ Ardini S.

Raksanagara,² Dewi M.D. Herawati,²

Deni K. Sunjaya,² Chiho Yamazaki,¹

Satomi Kameo¹ and Hiroshi Koyama¹

(1 Department of Public Health, Gunma University Graduate School of Medicine)

(2 Universitas Padjadjaran, Faculty of Medicine, Indonesia)

【Introduction】 Type 2 diabetes is becoming a major health concern nowadays. It is imperative to evaluate certain food effects on glycemic response in order to search alternative diet for diabetes. “Aruk rice” is a traditional food in Indonesia made from cassava and usually consumed as rice substitute. The starch of “aruk rice” can be expected to control diabetes. Here we investigated health effects of “aruk rice” on type 2 diabetes. **【Methods】** KKAY male mice (6 weeks old) were fed with high fat diet (HFD; 35% fat) in order to make them diabetic. After 2 weeks, the mice were divided into two groups (n=10). The 1st group was continually fed HFD with cornstarch as carbohydrate source (control group), whereas the 2nd group was fed HFD with “aruk rice” as

carbohydrate source (“aruk” group). These different diets were given for 4 weeks. Food intake, body weight and blood glucose were measured weekly. Other measurements; fasting insulin, adiponectin, etc. were assessed at the end of experimental period. **【Results and Discussion】** The food intake, weight gain and non-fasting blood glucose were almost similar in both groups. The fasting blood glucose and insulin levels of control group tended to be higher than “aruk” group ($p=0.478$; $p=0.221$). The AUC for blood glucose of “aruk” group was likely to be smaller ($p=0.701$) and adiponectin level was apt to be lower ($p=0.702$) than control group but statistically not significant. Based on HOMA-IR and QUICKI calculation, mice fed “aruk rice” tended to less insulin resistant ($p=0.329$) and more insulin sensitive ($p=0.461$) than mice fed cornstarch. “Aruk” group had strong trend to have higher GPx activity ($p=0.093$) and selenium concentration ($p=0.535$ for plasma; $p=0.346$ for liver) than control group. In this study the experimental diet was only given for 4 weeks, so that the efficacy might not be enough to result in significant effect on the variables measured. Also, inadequate sample size may lessen the power analysis to detect statistical differences. However, the data demonstrates that “aruk rice” has tendency to have more benefits in glycemic and antioxidant features compare to cornstarch. So, it is possible to develop “aruk rice” as the alternative diet for diabetes control.

9. Selenium Enrichment in Mung Bean Sprouts

Rusiati,^{1,2} Deni K. Sunjaya,² Irvan Afriandi,²

Dewi M.D. Herawati,² Chiho Yamazaki,¹

Satomi Kameo¹ and Hiroshi Koyama¹

(1 Department of Public Health, Gunma University Graduate School of Medicine)

(2 Universitas Padjadjaran, Faculty of Medicine, Indonesia)

【Introduction】 Selenium (Se) is an essential nutrient that is important to human nutrition and health. Mung bean sprouts, daily consumed by Indonesian people, are vegetables containing high vitamins, minerals, and phytochemicals that are easy to be cultivated but contain small amounts of selenium. It is expected to increase its nutritional value and health benefit if these sprouts are enriched with Se. This study aims to evaluate the Se accumulation in Se enriched mung bean sprouts. **【Methods】** Mung beans were cultivated in three conditions; 1)

beans were soaked for one night (12 hours) in Se solutions as sodium selenite with concentrations: 1.0, 5.0, or 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ then moisturized twice a day (morning and evening) with selenite solution. 2) Beans were soaked for one night in 1.0, 5.0, or 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sodium selenite then moisturized twice a day with tap water. 3) Beans were soaked for one night in tap water then moisturized twice a day with 1.0, 5.0, or 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sodium selenite. Cultivation was done at 25°C for 5 days. After harvested, the sprouts were washed, put into plastic bags and stored at -80°C until extraction. Before measured by using modification of Watkinson method, mung bean sprouts were frozen with liquid nitrogen then grinded to make them homogenous. **【Results and discussion】** Soaking or moisturizing with sodium selenite increased the total Se content in mung bean sprouts. The result showed that mung bean sprouts soaked and moisturized with Se solution had the highest Se concentration (mean 0.51 $\mu\text{g}/\text{gr}$, 2.58 $\mu\text{g}/\text{gr}$ or 5.19 $\mu\text{g}/\text{gr}$ Se from 1.0, 5.0, or 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sodium selenite, respectively). Soaking these sprouts with Se in the beginning of cultivation period did not increase much Se concentration because the bean is morphologically still covered by hard layer of seed coat that might prevent transportation of Se into the bean. However, soaking is important process in cultivating sprouts. In addition, compared to other sprouts enriched with 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sodium selenite reported previously, mung bean sprouts did not accumulate high Se but it is adequate to fulfill Se recommended dietary allowance for female (26 μg), male (34 μg) and Se supplementation (200 $\mu\text{g}/\text{day}$).

10. 関節リウマチ患者における骨質の検討

米本由木夫, 岡邨 興一, 金子 哲也

大倉 千幸, 小林 勉, 高岸 憲二

(群馬大院・医・整形外科)

【目的】 近年, 骨密度と独立した骨折のリスク因子として骨質の存在が注目されている. ペントシジンやホモシステインは代表的な骨質マーカーであり, 関節リウマチ患者ではしばしば高値を示すと報告されている. 今回, 骨質マーカーと生物学的製剤の有無, 疾患活動性との関連につき検討を行った. **【方法】** 対象は当科でペントシジン及びホモシステインを測定した関節リウマチ患者 88 例のうち, 腎機能障害や糖尿病患者を除いた 73 例. 血中ペントシジン, 血中ホモシステイン, intact PINP, TRACP-5b, CRP, ESR, MMP-3, DAS28-ESR, DAS28-CRP, CDAI, SDAI, 腰椎及び大腿骨近位 BMD を測定し