

一 般 演 題

1. A Role for BMP4 Signaling Pathway in Mouse Neural Stem Cell Survival

Hanako Yamamoto, Masashi Kurachi,
Masae Naruse, Koji Shibasaki and
Yasuki Ishizaki
(Department of Molecular and Cellular Neuro-
biology, Gunma University Graduate School
of Medicine)

We previously reported that bone morphogenetic protein 4(BMP4) does not promote differentiation of CD44-positive astrocyte precursor cells (APCs) into mature astrocytes but greatly promotes their survival in the presence of Fibroblast growth factor-2 (FGF-2). Although only few studies have examined the survival-promoting effects of BMPs in the nervous system, it has been shown that BMPs act as important survival factors in various kinds of cells including those constituting primordial follicles. While the anti-apoptotic effects of BMPs have been described in these reports, the molecular mechanism by which they inhibit apoptotic death remains unclear.

We isolated neural stem/progenitor cells (NSCs) from ganglionic eminence of postnatal day 0 mouse brain, and examined the effects of BMP4 on their proliferation and survival. BMP4 did not promote their proliferation but promoted their survival, just as in the case of CD44-positive APCs. Microarray analysis suggested us some candidate molecules in the signaling pathway downstream of BMP4. Among them, we focused on Id1 and Bcl-xL. Expression of both genes was promoted in presence of BMP4, and this promotion was reduced by dorsomorphin. We will present the data and discuss the mechanism by which BMP4 promotes survival of NSCs by enhancing Bcl-xL expression via BMP4-Smad1/5/8-Id1 signaling pathway.

2. 多光子励起レーザー顕微鏡 FVMPE-RS を用いた *in vivo* imaging の実例

高鶴 裕介¹, 金子 涼輔², 鯉淵 典之¹
(1 群馬大院・医・応用生理学)
(2 群馬大院・附属生物資源センター)

近年の光学技術の進歩により、フェムト秒パルスレーザーを発生することのできるチタンサファイアレーザーを搭載した多光子励起レーザー顕微鏡 (Multiphoton laser microscopy; MPLM) による研究が盛んになってきている。MPLM は、生体に与えるダメージを最小限に抑えつつ、深部の構造物を観察できるという特徴を持っている。このため特に、遺伝子改変技術などを組み合わせた *in vivo* imag-

ing に適しており、これまでわからなかった多くの生命現象がリアルタイムで観察できるようになってきている。群馬大学に導入された MPLM はオリンパス社製の次世代機 (FVMPE-RS) と従来機 (FV1200) の複合機で、1 台のチタンサファイアレーザー (MaiTai DeepSee) を 2 台の顕微鏡で共有するシステムである。特に FVMPE-RS は、ミラーコーティングの改善などにより、従来観察が困難であった赤色蛍光色素の描出が容易に行えるなどの特徴を持っている。今回の発表では、FVMPE-RS を用いた実際の運用例を紹介する。特に、遺伝子改変により赤色蛍光色素を発現するマウスの脳の *in vivo* imaging に新しい技術を組み合わせた撮像方法を中心に紹介する予定である。

3. 海馬初代培養神経細胞発達における甲状腺ホルモンの役割

矢島 弘之, 天野 出月, 高鶴 裕介
宮崎 航, 鯉淵 典之
(群馬大院・医・応用生理学)

甲状腺ホルモンは、中枢神経を含む多くの臓器の発達や機能維持に重要な役割を果たしている。周産期の甲状腺ホルモン欠乏は、クレチン病 (先天性甲状腺機能低下症) を引き起こし、不可逆的な中枢神経障害が起こることが知られている。これまで甲状腺ホルモンの脳発達への影響を評価するため、齧歯類がモデルとして広く用いられてきた。そして、行動学的実験・電気生理学の実験などから、甲状腺ホルモンが強い影響を及ぼす領域の一つに海馬があることが明らかになった。しかし、海馬における甲状腺ホルモンの作用メカニズムは依然として不明な点が多い。そこで本研究では、海馬初代培養細胞を用いて神経の成熟過程における甲状腺ホルモンの作用を明らかにすることとした。妊娠 16-18 日目のマウスから胎仔を取り出し、海馬神経細胞の初代培養 (Banker 法) を行った。培養で用いる無血清サプリメントには甲状腺ホルモン (triiodothyronine, T3) が含まれるため、陰イオン交換樹脂である Resin を用いて T3 を除去し、甲状腺ホルモン非存在下の培地で培養した。この培地中に甲状腺ホルモンを異なる濃度で添加し、濃度依存的な海馬神経細胞への影響を解析した。その結果、甲状腺ホルモンを添加していないものと比較し、培養細胞の生存率の増加傾向が確認された。今後、樹状突起の伸長、シナプス形成数など免疫組織化学的解析を用いて細胞形態について詳しく検証を行っていく予定である。