

4. 神経炎症により神経細胞特異的 NSE プロモーター活性が神経細胞からグリア細胞へと可逆的に変化する

澤田 悠輔, 今野 歩, 長岡 潤

平井 宏和 (群馬大院・医・脳神経再生医学)

Neuron-specific enolase (NSE) は神経細胞で特異的に発現している解糖系酵素である。そのため、NSE 遺伝子上流 1.8 kb は神経細胞へ遺伝子導入する際のプロモーターとして知られている。NSE プロモーター制御下で Green Fluorescent Protein (GFP) を発現するアデノ随伴ウイルス血清型 9 型 (AAV9) ベクターをマウス小脳に、ハミルトンシリンジを用いて直接投与して 1 週間後に観察したところ、本来予想された神経細胞ではなく、グリア細胞の一種であるバグマングリア優位に GFP を発現している領域を見出した。この領域はシリンジで穿刺した針跡に沿って存在していた。針跡周囲は機械的損傷を受けており、マイクログリアの密度も増加していたことから、組織損傷で惹起された炎症により NSE プロモーター活性が神経細胞からグリア細胞へと変化した可能性が考えられた。こうした現象と炎症との関連性を調べるために Lipopolysaccharide を投与し炎症を促進させたところ、バグマングリア優位な GFP 発現領域は大幅に拡大した。一方で、炎症が治まる AAV9 ベクター投与 3 週間後では、マイクログリア密度の減少と一致して、バグマングリア優位な領域は消失し、神経細胞優位な領域へと置換されていたことから、炎症の消失に伴い、NSE プロモーター活性がグリア細胞から神経細胞へと復帰したと考えられた。また、グルコースを除去した培地でグリオーマ細胞を培養すると、NSE 産生が増強したことから、障害環境下ではグリア細胞内で解糖系が活性化していることが分かった。本研究により、組織損傷を受けると、解糖系酵素がグリア細胞で活性化される一方で、神経細胞で不活化され、グリア細胞で産生された乳酸が、障害を受けた神経細胞を保護するためのエネルギー源として供給されるという病態生理学的機構の存在が明らかになった。

5. Distribution and Clearance of Retained Gadolinium in the Brain of a Mouse Model

A. Adhipatria P. Kartamihardja^{1,4},

Takahito Nakajima¹, Satomi Kameo²,

Hiroshi Koyama² and Yoshito Tsushima^{1,3}

- (1) Department of Diagnostic Radiology and Nuclear Medicine, Gunma University Graduate School of Medicine)
- (2) Department of Public Health, Gunma University Graduate School of Medicine)
- (3) GIAR Research Program for Diagnostic and Molecular Imaging)
- (4) Department of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, Universitas Padjadjaran, Indonesia)

【Background and Aim】 Gadolinium-based contrast agents (GBCAs) are particularly useful for detecting aggressive or metastatic brain tumors and vascular lesions. However, recent studies demonstrated that the use of linear GBCAs in patients is associated with hyperintense dentate nucleus and globus pallidus on T1-weighted MRI. Therefore, we investigated the distribution and clearance of retained gadolinium (Gd) in various parts of the brain after intravenously administering a Gd-based contrast agent (GBCA) in normal and renal failure mouse models. **【Methods】** Two different mouse models: normal (n=12) and renal failure (n=2) were used. Clinical GBCAs (Gd-DTPA-BMA, 5 mmol/kg or Gd-DOTA, 5 mmol/kg) were intravenously administered five times per week for 4 weeks. Both groups were divided into two subgroups based on the time-point for sample collection: 3 days (3d) and 45 days (45d) after the last injection. Normal saline (5 mL/kg) was intravenously administered to mice of the control groups in the same manner. Samples of the following parts of the mouse brain were obtained on dissection: olfactory bulb, cerebral cortex, hippocampus, thalamus, midbrain, cerebellum, pons and medulla. ¹⁵⁸Gd concentrations in each sample were quantified using inductively coupled plasma mass spectrometry. **【Results】** The olfactory bulb had the highest Gd concentration in both Gd-DTPA-BMA and Gd-DOTA groups. Gd retention was higher in the Gd-DTPA-BMA group than in the Gd-DOTA group (p<0.01). In the Gd-DTPA-BMA group, Gd retention in the 3d subgroups of normal and renal failure models were similar (p=0.4). At 45d, Gd in the Gd-DTPA-BMA group was not eliminated from the renal failure model (p=0.1), while that in the Gd-DOTA group was eliminated from both the normal and renal failure mouse models (p<0.01). **【Conclusions】** Gd distributions in the brain for both

groups were similar, regardless of the renal function and GBCA type. The Gd concentration was highest in the olfactory bulb of both groups. In the Gd-DOTA group, Gd was eliminated from the brain in both mouse models, while in the Gd-DTPA-BMA group, Gd clearance was limited.

6. プレーリーハタネズミのつがい形成に関する脳領域における外傷性ストレスの影響

新井 亜紀, 三井 真一

(群馬大院・保・リハビリテーション学)

心的外傷後ストレス障害 (PTSD) は外傷体験に起因する精神障害のひとつであり, その薬物治療における第一選択剤はセロトニン再取り込み阻害剤 (SSRI) である。成人の男女間の密接な関係性は物理的及び心理的健康にとって重要である。以前の研究では, ベトナム戦争を経験した退役軍人の多くが PTSD の症状を呈し, パートナーとの別離, 離婚の傾向が高くなるという報告がある。我々は以前にこのような状況を再現するための動物モデルを報告した。一夫一婦制の齧歯類であるプレーリーハタネズミは, 拘束ストレス, 強制水泳, エーテル麻酔から構成される single prolonged stress (SPS) によってつがい形成が阻害された。阻害されたつがい形成は SSRI であるパロキセチンの投与によって復元された。

また, 我々はプレーリーハタネズミのつがい形成において重要な役割を担っているオキシトシン (OXT) およびバソプレシン (AVP) を免疫組織化学的に分析した。オスのプレーリーハタネズミに SPS 処置を行った日を 0 日目とし, 翌日から 10 日間パロキセチン (0.5 mg/kg) を 1 日 2 回経口投与した。この期間中, 7 日目に被験ハタネズミはメスハタネズミと同居を開始し, このメスをパートナーとした。10 日目には被験ハタネズミのパートナー嗜好性を検証するために Partner preference test を行い, テスト後はパートナーと別ケージで飼育した。14 日目に被験ハタネズミに 10 分間パートナーを提示し社会的刺激を与え, その 90 分後に大脳を摘出した。OXT または AVP と cFos を免疫組織化学的に二重に染色し, 視索上核 (SON) と室傍核 (PVN) で測定した。

OXT と cFos の SON における二重陽性細胞の数が SPS 処置群で有意に増加した。しかし, パロキセチンの投与の有無に関しては細胞数に有意な差は認められなかった。AVP と cFos の二重陽性細胞数については SON と PVN のいずれにおいても有意な差は認められなかった。cFos の免疫染色性に関しては現在いくつかの脳領域で詳細な分析が行われており, 総会において提示される。

7. Motopsin/PRSS12 と Sez-6 遺伝子はそれぞれ PC12 細胞における神経突起を促進させる

茂原 美穂, 三井 真一

(群馬大院・保・リハビリテーション学)

Motopsin はヒトやマウスの海馬や大脳皮質等に局在するセリンプロテアーゼで, その遺伝子欠損は重篤な知的障害を引き起こすことが知られている。Motopsin 欠損マウスの海馬神経細胞において, 長期増強に伴うシナプス新生が抑制されることや CREB のリン酸化が減少すること等が報告されている。Motopsin は神経細胞に局在する膜貫通型蛋白質 seizure related gene (sez)-6 と相互作用することが知られている。Sez-6 欠損マウスの大脳皮質錐体ニューロンでは短縮化した樹状突起の著しい増加やシナプス密度の減少が報告されている。これらのことから, motopsin や sez-6 は神経回路の形成に重要な役割を果たしていると考えられている。

本研究では, sez-6 および motopsin が神経突起発達における働きを明らかにするため, 薬剤 (doxycycline, 以後 dox) により発現を誘導できる tet-off システムを用い, PC12 細胞の形態解析を行った。Dox 非添加時に sez-6 と GFP を発現し, dox 添加時には発現抑制されるように, pTRE/sez-6 ベクターをデザイン・作製した。エレクトロポレーション法によってテトラサイクリン制御性トランス活性化因子を発現している PC12 細胞を pTRE/sez-6 および pTRE/motopsin で形質転換した。得られた PC12 細胞株 PC12/sez-6 と PC12/motopsin のそれぞれのクローンを解析した。いずれも dox 添加後約 4 日で目的遺伝子の発現が抑制されたが, dox 添加培地より dox を除去しても目的遺伝子の発現誘導は見られなかった。そこで, 増殖培地中で予め目的遺伝子の発現を誘導あるいは抑制した後, 神経成長因子を含む分化培地に移して 48 時間後に形態観察を行った。その結果, sez-6 発現下では, 発現抑制下と比較して神経突起の数, 全長, 分岐数が増大していた。しかし, 突起 1 本あたりの長さには差はなかったため, 神経突起と分岐の数が増えていると考えられる。Motopsin 発現下では, 神経突起の数, 全長, 分岐数に比べて突起 1 本辺りの長さも増大していた。

今回の結果はいずれも先行研究と矛盾するものではないが, 表現系の違いから両者による神経突起伸長促進は別の機構が働いている可能性が示唆された。

8. 唾液分泌に重要な細胞膜タンパク質 AQP5, NKCC1, および TMEM16A の絶食による発現量の変化

谷口 明慧^{1,2}, 黒川 潤¹, 本間 実¹

向後 寛¹, 向後 晶子¹, 須佐 岳人^{1,2}

横尾 聡², 松崎 利行¹

(1 群馬大院・医・生体構造学)

(2 群馬大院・医・顎口腔科学)

【背景と目的】 アクアポリン 5 (AQP5) は唾液腺腺房細胞