

ゲノム修飾などにより厳密に制御されている。一方近年、従来のエピジェネティック修飾に加えて遺伝子座の核内での配置も遺伝子発現の制御に重要であることが指摘されているが、神経幹細胞の分化能変動の制御に遺伝子座の核内配置がどう関与しているのかは全く不明である。そこで本研究では、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。e4C については現在解析中ではあるが、少なくとも FISH で確認された遺伝子座の変動を確認することができている。

9. SIRP α は腎糸球体上皮細胞の形態と蛋白尿制御に関与する

高橋 哲史,¹ 廣村 桂樹,¹ 富岡 麻衣¹
 浜谷 博子,¹ 坂入 徹,¹ 青木 武生²
 大西 浩史,³ 的崎 尚,⁴ 野島 美久¹
 (1 群馬大院・医・生体統御内科学)
 (2 群馬大院・医・生体構造学)
 (3 群馬大・生調研・バイオシグナル分野)
 (4 神戸大学大学院医学研究科シグナル統合学分野)

近年、腎糸球体上皮細胞(足細胞)のアクチン骨格維持や蛋白尿の制御に、スリット膜関連蛋白のチロシンリン酸化が強く関与していることがわかってきた。SIRP α (SHPS-1) はチロシン脱リン酸化酵素である SHP-1/2 結合蛋白として同定された受容体型膜蛋白である。最近、スリット膜近傍も含めて足細胞に SIRP α が強く発現することが報告され、足細胞の機能に関与していることが想定される。我々は SHP-1/2 結合部位を欠失させた SIRP α を発現する変異型マウスを用いて、SIRP α の足細胞における役割について検討した。変異型マウスは野生型と比較して軽微ではあるが有意なアルブミン尿の増加を認めた。光顕では腎の有意な形態学的変化を認めず、免疫染色でも足細胞マーカーである *nephrin*,

synaptopodin, *podocalyxin* などの発現に変化はなく、WT1 陽性の足細胞数にも相違はなかった。しかし電顕による観察では変異型で足突起の平坦化が見られ、単位糸球体基底膜長あたりの足突起数の減少を認めた。さらに足細胞障害時における SIRP α の役割を検討するため、腎炎モデルを作成した。巣状糸球体硬化症のモデルとなる片腎摘+アドリアマイシン腎症では、変異型マウスで著明なアルブミン尿の増加を認め、糸球体硬化の有意な増加がみられた。ストレプトゾトシンによる糖尿病性腎症では、変異型マウスにおいてアルブミン尿の増加に加え、GBM の肥厚も認められた。以上より、SIRP α を介したチロシン脱リン酸化シグナルは、足細胞の形態や蛋白尿の制御において重要な役割を果たしているものと考えられた。

10. 男性ホルモンによる代謝機能制御機構の解析

佐藤 隆史,¹ 沢津橋 俊,¹ 佐々木 努²
 溝端 健亮,¹ 三宅 由花,¹ 齋田 佳織¹
 森 和俊,³ 北村 忠弘,² 加藤 茂明⁴
 北川 浩史¹
 (1 群馬大・生調研・核内情報制御分野)
 (2 群馬大・生調研・代謝シグナル分野)
 (3 京都大学大学院理学研究科)
 (4 東京大学分子細胞生物学研究所)

【はじめに】 近年男性におけるアンドロゲンの作用は、性分化のみならず代謝機能の維持にも必須であることが示唆されている。アンドロゲン作用の鍵分子であるアンドロゲン受容体のノックアウトマウス (ARKO マウス) は遅発性の肥満を呈し、その主要な原因としてはこのマウスで観察されるレプチン抵抗性があげられる。近年、生体内における小胞体ストレスの蓄積がレプチン抵抗性を伴う肥満の発症に関与し得ることが報告された。そこで我々は、雄 ARKO マウスのレプチン抵抗性とそれに伴う肥満が、小胞体ストレス増加に起因する可能性を検討した。【方法】 雄 ARKO マウスに小胞体ストレスを消去する効果を持つ薬剤を継続的に投与し、遅発性肥満とレプチン抵抗性への効果を検討した。さらに、レプチンの標的組織である視床下部において雄 ARKO マウスにおける小胞体ストレス応答シグナルの異常について検討した。【結果および考察】 雄 ARKO マウスでは薬剤投与で小胞体ストレスを消去することによりレプチン抵抗性とそれに伴う肥満が改善されることを見出した。また雄 ARKO マウスの視床下部では小胞体ストレス応答シグナルの一部が破綻しており、転写制御レベルでのアンドロゲンシグナルと小胞体ストレス応答シグナルクロストークの重要性が示された。このことから、アンドロゲン作用破綻による肥満には小胞体ストレスが直接的

にかかわることが明らかとなり、この相互関係の老化抑制メカニズムへ関与が今後注目される。

11. Granuphilin と Syntaxin-1a 二重欠損マウスを用いたインスリン分泌機構の解析

王 昊,¹ 石崎 玲,¹ 藤原 智徳²
赤川 公朗,² 泉 哲郎¹

(1 群馬大・生調研・遺伝生化学分野)
(2 杏林大学医学部細胞生理学教室)

低分子量 G タンパク質 Rab27a は、膵 β 細胞からのインスリン分泌を調節している。その Rab27a と結合するエフェクター分子 Granuphilin は、分泌顆粒膜上の Rab27a と細胞膜に存在する SNARE タンパク質 Syntaxin-1a とを橋渡しすることによってインスリン顆粒を細胞膜にドッキングし、分泌を抑制していると考えられている。インスリン顆粒開口放出における、Granuphilin と Syntaxin-1a の機能関係を解明するため、両分子二重欠損マウスを作製し表現型を比較した。インスリン分泌能は、Granuphilin 欠損マウスで亢進し、Syntaxin-1a 欠損マウスで低下していたが、二重欠損マウスでは分泌能が亢進していた。また、Granuphilin, Syntaxin-1a はいずれもインスリン顆粒の細胞膜ドッキングに必須であると報告されているが、電子顕微鏡観察の結果、Granuphilin 単独欠損は Syntaxin-1a 単独欠損より、ドッキング顆粒消失に対する効果が有意に強いことがわかった。これらのことから、Granuphilin は Syntaxin-1a 以外の SNARE タンパク質とも結合していることが考えられた。そこで、細胞膜に局在する Syntaxin-1a, -2, -3, -4 との結合を調べた。Granuphilin は、Syntaxin-1a だけではなく Syntaxin-2, -3 とともに結合していることがわかった。以上のことから、Granuphilin は、細胞膜に存在する複数の Syntaxin との相互作用を介して、インスリン顆粒の細胞膜ドッキングや融合を制御していることが示唆された。

12. マウスマラリア赤内期感染防御における CD8⁺T 細胞の関与

今井 孝, 石田 英和, 平井 誠
鈴江 一友, 久枝 一

(群馬大院・医・国際寄生虫病学)

【目的】 CD8⁺T 細胞は標的細胞の MHC class I 分子と抗原ペプチドの複合体を認識する。マラリア感染において肝臓内型原虫に対しては CD8⁺T 細胞が防御免疫の一翼を担っていることが知られているが、赤血球内型(赤内期)に対しては MHC class I 分子が赤血球上に認められないことから否定的である。本研究では赤血球内型原虫に対する感染防御における CD8⁺T 細胞の関与につ

いて再検討を行なった。**【方法と結果】** C57BL/6 マウスに *P. yoelii* の弱毒株を感染させた。感染を耐過したマウスに強毒株で追加免疫をした免疫マウスから CD8⁺T 細胞を放射線照射マウスに移入し、強毒株を感染させた。ナイーブマウスの T 細胞を移入されたマウスはすべてが死亡したのに対し、免疫マウスの T 細胞を用いた場合には CD4⁺T 細胞のみならず CD8⁺T 細胞のみが移入されたマウスにおいても強毒株感染後一時的にわずかな虫血症が観察されたものの、直ちに原虫が排除されることが確認された。パーフォリン KO マウスに弱毒株を感染させると半数が死亡し、移入実験においては CD4⁺T 細胞では野生型と同じパラシテミアカーブを描くが、CD8⁺T 細胞では初期の虫血症が KO マウスの方が重篤であり、治癒に時間がかかるものもいた。免疫 CD8⁺T 細胞移入後に抗 IFN- γ 抗体を投与し強毒株を感染させるとマラリア感染防御が完全にキャンセルされた。また免疫 CD8⁺T 細胞移入後にマクロファージの貪食を阻害する目的でカラギーナンを投与し強毒株感染することですべてのマウスが死亡した。この結果からマウスマラリア赤血球ステージにおいて CD8⁺T 細胞も感染防御に関わっていることが示唆され防御機序についてはパーフォリンの関与があり、IFN- γ の産生によるマクロファージの活性化が重要であることが示された。

13. 気道上皮細胞のウイルス感染モデルにおける INF- γ のムチン分泌抑制の分子基盤

小柳 貴人,^{1,2} 滝沢 琢己,¹ 中嶋 直樹¹
八木 久子,¹ 小林 靖子,¹ 荒川 浩一¹

(1 群馬大院・医・小児科学)
(2 新潟大学大学院医歯学総合研究科小児科学)

ウイルス感染は気管支喘息などの慢性気道炎症性疾患における主要な増悪因子であり、気道内の過剰粘液産生の原因となる。我々はこれまでヒト気道上皮細胞株 NCI-H292 にて、ウイルス感染モデルである合成 dsRNA (Poly I: C) 刺激が、TGF- α による気道内の主要ムチン MUC5AC 遺伝子の発現を相乗的に増強することを報告してきた (J Immunol 2009)。一方、INF- γ は抗ウイルス活性を有するサイトカインであるが、気道ムチン産生における役割は不明であった。今回我々は、Poly I: C と TGF- α を用いたウイルス感染モデルにおいて、INF- γ がムチン MUC5AC の発現を抑制することを見出し、その分子基盤について検討したので報告する。

NCI-H292 細胞において、Poly I: C と TGF- α の相乗効果により増強した MUC5AC 遺伝子発現が INF- γ の存在下では有意に抑制された。また、RNAi 法により INF- γ の信号伝達経路を担う JAK1 および STAT1 を