

ここで本研究では、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。現在は FISH と e4C の結果を確認するため、特異的遺伝子座の会合を検出する手法である chromosome conformation capture (3C) 法を行っている。

4. 発生期マウス小脳における CD44 の発現解析

成瀬 雅衣, 横山 就一, 倉知 正
柴崎 貢志, 石崎 泰樹

(群馬大院・医・分子細胞生物学)

CD44 は細胞-細胞、細胞-細胞間基質を接着させる接着因子のひとつであり、我々は小脳に存在する LIF によってアストロサイトへ分化誘導できる前駆細胞が CD44 を発現している事を報告した (Cai *et al.*, 2012)。我々は、発生期小脳における CD44 陽性細胞の存在意義を検討するため、まず始めに免疫組織染色と Fluorescence-activated cell sorting (FACS) を使用してマウスの脳における CD44 の発現様式を解析した。発生期のマウスの脳組織では、小脳特異的に CD44 の強い発現が観察された。生後 3 日齢の小脳では、CD44 は GLAST 陽性である未分化なバグマングリア、アストロサイト前駆細胞に加えて、Sox2 陽性である神経幹細胞、Olig2 陽性であるオリゴデンドロサイト前駆細胞にも発現が観察された。生後 14 日齢まで発達が進むと、バグマングリアとオリゴデンドロサイトの CD44 発現は消失し、CD44 は白質の GFAP 陽性アストロサイトにのみ特異的な発現を示した。生後 3 日齢の小脳の CD44 発現細胞を FACS を用いて回収し neurosphere assay をおこなったところ、CD44 陽性細胞の一部は neurosphere を形成した。また、FGF-2 と heparin を添加して培養すると、生後 3 日齢の小脳の CD44 発現細胞はオリゴデンドロサイトへ分化した。以上の結果より、生後初期の小脳の未分化な CD44 陽性細胞は FGF シグナルによってオリゴデンドロサイ

トへ分化誘導される可能性が示唆され、小脳の発達にもなって CD44 は白質のアストロサイト特異的に局在を変化させることが示された。

5. ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤のスパイン保護作用

高木 瑛子, 清水 英雄, 石塚 佑太
白尾 智明 (群馬大院・医・神経薬理学)

アミロイド β ($A\beta$) や酸化ストレスによるシナプスの形態及び機能の障害がうつ病発症につながると考えられている。しかし近年、不溶性 $A\beta$ 繊維によるものではなく、可溶性 $A\beta$ オリゴマーにより神経及びシナプスの機能が阻害されているという報告がある。

ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC: Histone deacetylase) の阻害剤である SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid) の投与により *in vivo* における抗うつ効果が報告されている。本研究では、SAHA のストレスに対するスパイン保護効果に関して、マウスの海馬初代培養神経細胞に SAHA と $A\beta$ を添加することで、 $A\beta$ により引き起こされるシナプス異常を防ぐことができるか検討した。シナプスの正常機能維持の指標にはスパイン集積タンパク質である drebrin のクラスター数を用いた。

結果、SAHA 単独添加は drebrin クラスター数を変化させなかった。一方、可溶性 $A\beta$ オリゴマーは、drebrin クラスター数を減少させるが、SAHA の前処理によって drebrin クラスター数の減少を防いだ。

これらの結果から、SAHA はスパイン保護作用を持つことが示唆された。

6. Axonal transport of *Caps2* splice variant linked to BDNF coordination of brain circuit development and autism-related behavior in a mouse model

Tetsushi Sadakata and Teichi Furuichi
(Advanced Scientific Research Leaders Development Unit, Gunma University, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan)

Autism is a pervasive disorder of brain development characterized by impaired social interaction and communication. The potential molecular risk factors are poorly characterized in animal models. We previously identified dex 3, a rare splice variant of CAPS2, a protein essential for enhanced release of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) from neurons, which is missing an exon critical for axonal transport in *in vitro* neuronal cultures. CAPS2-dex 3 is overrepresented in patients with autism. Here, we generated *Caps2*-dex 3 mice and demonstrated a severe impairment of *in vivo* axonal trans-