

PII-04

ラット脳内における HAP1 の時空間的発現パターンと stigmoid body 形成に関する形態学的解析

藤永 竜太郎, 魚住 加奈子, 竹下 幸男, 柳井 章江, 國分 啓司,
松尾 義久, 篠田 晃

山口大学大学院医学系研究科機能神経解剖学

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) はハンチントン病関連蛋白質として同定され、生理条件下で観察される直径 1 ～ 3 μ m の脳内神経細胞質封入体 stigmoid body (STB) のマーカー分子としても注目されている。近年、STB は神経保護作用を持つ構造であることが示唆されているが、その生理機能や時空間的出現変化は全く明らかにされていない。本研究では、脳内 HAP1 の発現と STB 形成の形態学的関係を明らかにするために、4% パラホルムアルデヒドで固定した雄ラット脳凍結切片を用いて、抗 HAP1 抗体を用いた免疫組織化学法による HAP1-immunoreactive STB (HAP1-I STB) の分布解析と胎生期、発達期及び加齢に伴う HAP1-I STB の出現変化の解析を行った。胎生期、新生仔、成獣及び老齢ラットにおける HAP1-I STB はほぼ同様の分布パターンを示していた。胎生 15 日において、HAP1 は主に細胞質に diffuse に発現しており、STB はほとんど観察されなかった。胎生 17 日頃から小型の HAP1-I STB が内側視索前野を中心に神経細胞質内に出現し始め、出生時には、扁桃体や分界条床核、内側視索前野及び視床下部全域、中脳中心灰白質、青斑核、弧束核などの広い領域に多数観察された。HAP1-I STB の大きさ及び数共に生後 2 週間以内にピークに達し、成獣から老齢にかけてその数は減少する傾向にあった。興味深いことに、内側扁桃体後背側核や分界条床核主核では、HAP1-I STB の出現が遅延しており、生後 4 日目以降になって急激に増加した。一般に、神経細胞内の HAP1 の発現形態は diffuse なものから胎生後期に STB 形成へと変化した。内側扁桃体後背側核や分界条床核主核においては胎生 17 日～生後 3 日目にかけて STB 形成が抑制されており領域特異的局所環境が存在している可能性が示唆された。

PII-05

ラット脳における SAFB1/2 の局在解析

橋本 隆, 松田 賢一, 河田 光博

京都府立医科大学大学院解剖学教室生体構造科学部門

Scaffold attachment factor B (SAFB) 1 および 2 は核マトリックス結合タンパクとして同定され、その多岐にわたる細胞機能の一つとしてエストロゲン受容体 (ER) α との結合を介した転写活性調節が知られている。これまでに SAFB1/2 のユビキタスな組織分布について、中枢神経系での mRNA の強い発現が報告されているものの、脳の各領域における局在や機能についてはほとんど不明である。そこで本研究では、ラット脳における SAFB1/2 タンパクについての詳細な局在を検討した。14 週 Wistar 系オスラットを 4%PFA にて灌流固定し、摘出した脳組織より凍結切片を得て SAFB1/2 に特異的な抗体を使用して酵素抗体法を行った。SAFB1/2 共に脳領域全般に渡る免疫陽性反応が観察された。扁桃体内側核や手綱核など ER α の高発現領域において強い SAFB1/2 の免疫反応を認めた。また、神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトのマーカータンパクに対する抗体を用いた蛍光二重染色法により、SAFB1/2 がこれらの分子と共存することが免疫組織化学的に明らかになった。さらに初代培養神経細胞およびグリア細胞を用いて SAFB1/2 の細胞内分布を検索した結果、SAFB1 の免疫反応は核内に限局していたが、SAFB2 では細胞質を含む細胞全体において分布することが分かった。以上より、SAFB1 および 2 は脳組織において広範な発現分布を示した。また、ER α との共存が見られたことから、エストロゲン作用を介した細胞機能にも関与していることが示唆された。