

B-3 白内障を伴わない遺伝性てんかんラット (IGER/IW) 垂系の開発とその神経病理学的 異常について

伊原信夫¹、天野 殖²

ICR基礎研究所¹、滋賀医科大学病理²

遺伝性てんかんラット(Ihara's genetically epileptic rat:IGER)は、演者により分離開発された遺伝性白内障ラット(IGCR)の系統より派生したミュータントであり、白内障とてんかん発作の両者を自然発症する。生後11週令期にまず白内障が出現し、ついで4ヵ月令期以降にてんかん発作が出現する。白内障は劣勢遺伝様式をとることが明らかになっているが、最近てんかんも又劣勢遺伝様式を示すことが明らかにされた。

今回演者らは(1)これら両者の遺伝子(群)の機能的ならびに染色体上の位置的関連性はどうか、(2)白内障発症過程ないし視力障害の出現が脳の発育過程又はてんかん発症とどのように関わっているかを明らかにする目的で、これら両者の表現型を遺伝子型として分離する研究を進めてきたので報告する。

分離の方法：Wistar/Izumoの雌を交雑交配親として使用した。これとIGER雄を交配しF1世代を得た。F1雌とIGER雄との戻し交配を行いF2世代を得た。この際白内障を発症していない雌を選択し、同様に戻し交配を行いF3世代を得る。同様に戻し交配を重ねF6世代を得た。この世代のはほぼ全例の雄がてんかんを自然発症することを確認した上、以後の世代では白内障を発症しておらず、かつ雄ではてんかんを発症するという条件での兄妹交配を累代的に行った。白内障は兄妹交配F1からF12に至る段階まで散発的にかつ同腹兄妹に集中する傾向を有するという様式で出現した。しかしながら以後の世代ではてんかん遺伝子(群)のフェノタイプの出現のみを観察しており、白内障の発現は見られなかった。基本的に白内障遺伝子(群)とてんかん遺伝子(群)を分離することが出来、白内障とてんかんは各々独立した遺伝子(群)によって発現すると考えられた。
神経病理学的所見：白内障とてんかんの両者を発現する動物の海馬では神経細胞の異常集積や神経細胞の配列異常などの微少形成異常(microdysgenesis)が認められる。てんかんのみを発症する新しく分離された垂系の海馬においても同様の微少形成異常が明らかであった。微少形成異常がてんかん発現に重要な役割を持つことが類推された。

B-4 ラットpentylenetetrazol誘発発作による転写制御 因子NF-AT, AP-1の脳内発現と免疫抑制剤 cyclosporin A単回投与の影響

岡山大学医学部分子細胞医学研究施設神経情報学部門

○浅沼幹人、近藤洋一、小川紀雄、森 昭胤

昨年我々は、免疫抑制剤cyclosporin A (CsA)単回投与がラットpentylenetetrazol (PTZ)誘発発作の重症度を有意に軽減し、さらにPTZによる海馬、扁桃核での転写制御因子AP-1 (Fos/Jun蛋白複合体)の遺伝子上流域TRE結合活性の著明な発現誘導がCsA単回投与でほぼ完全に抑制されることを示し、けいれん発作への細胞性免疫反応の関与の可能性を明らかにした。CsAはcyclophilinとcomplexを形成し、calcineurinに結合しその脱リン酸化活性を阻害し、転写制御因子NF-ATの核内移行を阻害し、NF-ATのinterleukin 2遺伝子上流域NF-AT siteへの結合を抑制しその免疫抑制能を発揮する。また、核内でNF-ATはAP-1と重合あるいは作用し合って転写調節を行うと考えられている。そこで今回、CsA単回投与によるPTZ誘発AP-1活性抑制の作用機序と、NF-ATのDNA結合活性への影響について分子生物学的に検討した。

方法：7週齢SD系ラットに溶媒(V)またはCsA (5 mg/kg, s.c.)を単回投与し(VP, CsP群)、2時間後にPTZ (75 mg/kg, i.p.)を投与した。PTZ投与2時間後の海馬、扁桃核の最初期遺伝子*c-fos*, *c-jun* mRNAはNorthern blot analysisで、Fos, Jun蛋白はWestern blot analysisで、AP-1, NF-ATの遺伝子上流域TRE, NF-AT site結合活性はelectrophoretic mobility-shift assayで測定した。

結果：CsP群では、VP群でみられた海馬、扁桃核TRE結合AP-1の著明な発現誘導がほぼ完全に抑制されたが、PTZによる*c-fos*, *c-jun* mRNA, およびFos, Jun蛋白自体の発現はCsA単回投与に影響されなかった。また、海馬、扁桃核でのNF-ATのDNA結合活性はTRE結合AP-1の発現誘導と同様に、VP群で増加し、CsP群ではその活性増加が抑制されていた。

考察：CsA単回投与はPTZ誘発発作潜時を延長させ、重症度を軽減させるが、このCsAによる発作軽減には、脳内でのFos, Jun蛋白のリン酸化・重合あるいは核内移行の阻害という蛋白レベルでのAP-1への作用、さらに末梢と同様のcalcineurinを介したNF-ATへの核内移行阻害作用が関与していると考えられた。けいれん発作にこれらの免疫反応に関わる転写制御因子の発現誘導が関与しており、免疫抑制剤はこれらの転写制御因子の発現阻害を介して発作を軽減することが示唆された。

B