

することで脂質メディエーターの細胞内、生体内での役割を明らかにしてきた。これらの経験を元に神経系に発現する GPCR のリガンド探索を目指して実験を開始した。様々な GPCR の一次構造との相同性比較を行い、これまでに報告のない受容体も含めて約 20 種類の孤儿受容体の発現ベクターを構築した。それらを一過性、あるいは、安定的に哺乳動物細胞に発現させ、細胞膜への受容体の発現とリガンド探索をおこなっている。一部を除いた多くの孤儿受容体は細胞膜への発現が極めて低いレベルにとどまり、これがリガンドの同定を困難にする要因の一つになっていることが明らかとなった。今後はこれらの GPCR の細胞膜への移行のメカニズムとリガンドの同定を目指して実験を行っていきたいと考えている。

#### P124 cPLA2 遺伝子欠損マウスの海馬 CA1 領域のシナプス可塑性

星野明美<sup>1,2</sup>、加藤邦夫<sup>3</sup>、魚住尚紀<sup>1,2</sup>、清水孝雄<sup>1,2</sup> (1 東京大院医、2CREST・JST、3 東大医精神科)

cPLA2 は中枢神経系に広範囲に分布し、カルシウム依存性に活性化されて脂質の代謝に関係する酵素である。特にアラキドン酸の活性に関与する酵素として信号伝達系に関与する役割がよく知られていて、虚血や細胞障害後に上昇することから細胞死との関わりが注目されている。cPLA2 の遺伝子欠損マウスの生理学的役割を検討するために遺伝子欠損マウスを製作し、海馬スライス標本を用いて CA1 領域での神経可塑性に与える影響を電気生理学的に調べてみた。前シナプスの機能の指標となる paired-pulse inhibition では欠損マウスと野生型には差がみられなかった。また LTP の大きさには差がみられなかったが、LTD が誘導されにくい傾向がみとめられたことから、シナプス可塑性に対してアラキドン酸やその代謝物が関与する可能性が示唆された。

#### P125 アラキドン酸 5-リポキシゲナーゼの細胞内局在と移行に関する解析

花香博美<sup>1,2</sup>、和泉孝志<sup>1,3</sup>、清水孝雄<sup>1,2</sup> (1CREST・JST、2 東大院医、3 群大医)

ロイコトリエン (LT) 合成系路の初発酵素である 5-リポキシゲナーゼ (5-LO) は、アラキドン酸から 2 段階の反応を触媒し、LTA4 を合成する。5-LO は細胞により細胞質と核質における局在の割合が異なり、細胞がカルシウム上昇などの刺激を受けると膜 (特に核膜) に移行することが報告されている。だが、5-LO の細胞内局在と膜移行のメカニズムに関しては不明な点が多い。我々は EGFP と野生型又は変異型の 5-LO との融合タンパク質 (GFP-5LO) を用いて細胞内局在の制御機構を見いだした。また、GFP-5LO を安定的に発現させた CHO-K1 細胞において、さまざまな刺激による経時的な 5-LO の膜移行を解析し、カルシウム増加やストレス刺激による核外輸送と核膜移行の機構を見いだした。

#### P126 血小板活性化因子受容体欠損マウスにおける神経細胞移動

徳岡 (三田村) 涼美、石井聡、清水孝雄 (CREST・JST、東大院医)

ヒトの滑脳症の原因遺伝子である Lis1 遺伝子は PAF 分解酵素の 1 つである PAF アセチルヒドロラーゼ Ib 型 (PAF-AH) の  $\beta$  サブユニットをコードし、この欠損により神経細胞移動に異常が起こる。本研究では、PAF とその受容体の神経細胞移動における役割を明らかにすることを目的に、PAF 受容体欠損マウスを用いた解析を行った。小脳顆粒細胞の培養系を用いた実験により、PAF 受容体欠損マウスの神経細胞移動速度が、野生型マウスよりも低く、かつ野生型マウスの顆粒細胞へ PAF 受容体拮抗薬 (WEB2086) 投与により移動が遅くなることがわかった。培地中へ mc-PAF (PAF 受容体アゴニスト) を添加した際の神経細胞移動速度への影響

が、野生型マウスと PAF 受容体欠損マウスとでは異なることも明らかとなった。

#### P127 ロイコトリエン D<sub>4</sub> によるミクログリアの活性制御

○平林哲也<sup>1,2</sup>、岸本幸治<sup>1,2</sup>、浅井賢二<sup>1,2</sup>、小笠原英明<sup>1,2</sup>、和泉孝志<sup>1,3</sup>、清水孝雄<sup>1,2</sup>

1)CREST・JST, 2)東大院医, 3)群馬大医

脂質メディエーターのロイコトリエン D<sub>4</sub> (LTD<sub>4</sub>) は、脳虚血-再灌流後に産生される。神経系における LTD<sub>4</sub> の機能を理解するために、その標的細胞と効果を検討した。細胞内カルシウム濃度上昇を指標として、ミクログリアが LTD<sub>4</sub> に応答することを見いだした。受容体アンタゴニストを用いた薬理学的特性および遺伝子発現解析により、LTD<sub>4</sub> に対する応答は CysLT<sub>1</sub> 受容体を介していることが分かった。さらに、LTD<sub>4</sub> の濃度勾配形成により、ミクログリアは化学走化性を示した。これらの結果から、脳の障害に伴って局所に産生された LTD<sub>4</sub> は、ミクログリアの遊走能を高めて傷害部位に集合させる機能を持つと考えられる。

#### P131 アフリカツメガエルの発現クローニング法を用いた前方神経外胚葉由来神経化因子の検索

長田真一、大森慎也、稲森雅子、平良眞規 (東大・院理・生物科学、CREST・JST)

BMP シグナルの不活性化により、外胚葉細胞がどのように神経組織へと分化していくのかについては不明な点が多い。我々は、アフリカツメガエルの発現クローニング法を用い、神経外胚葉由来の神経化因子を検索した。前方神経外胚葉特異的 cDNA ライブラリーから 200 個のプール (計約 40000 クローン) を作製し、各プールから合成した mRNA を 1 細胞期胚の動物極に微量注入した。胞胚期に外胚葉外植体を切り出し、尾芽胚期に汎神経マーカーである *nfp-1* の発現を RT-PCR、または *in situ* ハイブリダイゼーションで調べた。その結果、200 プールのうち、21 プールに *nfp-1* の発現を誘導する活性を検出した。この発現スクリーニングの詳細な結果と、得られた分子の神経化、脳におけるパターン形成との関わりについて報告する。

#### P132 bHLH 型転写抑制因子 XHR1 の中脳・後脳境界形成における役割

信賀順、○伊藤万里、平良眞規 (東大・院理・生物科学、CREST・JST)

アフリカツメガエル前部神経外胚葉の cDNA ライブラリーのスクリーニングにより、HES 型転写抑制因子をコードする遺伝子 *XHR1* (*Xenopus Hes-related gene 1*) を単離した。*XHR 1* は中脳・後脳境界 (MHB) 領域に特異的に発現しており、初期原腸胚期において、*Xotx2* と *Xgbx-2* の発現領域が接する以前から予定 MHB 領域ですでに発現が認められた。mRNA 顕微注入実験においてドミナントネガティブ型 *XHR1* の過剰発現により *XPax-2*、*En-2* の発現が減少し、野生型 *XHR1* を共発現することにより、それがレスキューされた。また MHB 領域への野生型 *XHR1* の異所的な発現は *En-2* の発現を拡大した。これらの結果から、予定 MHB の領域化は従来考えられていたモデルとは異なり、*Xotx2* と *Xgbx-2* の発現境界の形成以前から始まっていること、およびその領域化に *XHR1* が必要であることが示唆された。