

分子間自己リン酸化に伴い酵素活性が促進される。Tyr 16あるいはTyr 32と推定されるユニークドメイン内の自己リン酸化部位を確定し、そのリン酸化が酵素活性に与える影響を調べる目的で、ラット c-Yes をコードするがん原遺伝子 *c-yes* をクローニング後、上記 Tyr を Phe に置換した変異型 (Y16F, Y32F) および野生型を Sf9 昆虫細胞に発現させた。3 種類の c-Yes を均質に精製後、自己リン酸化させ、トリプシン消化二次元ペプチドマップで解析した。その結果、ユニークドメインの Tyr 32 とキナーゼドメインの Tyr 424 が主な自己リン酸化部位と判明したが、ユニークドメインのリン酸化は酵素活性に影響がなかった。

11. Enhanced calcium influx in hippocampal CA3 neurons of spontaneously epileptic rats

(自然発症てんかんラット (SER) 海馬 CA3 ニューロンにおけるカルシウム流入の増大)

天野宏子 (薬理学)

SER は強直性痙攣と欠伸様発作の両発作を示す二重突然変異体である。この動物の海馬 CA3 錐体細胞においては苔状線維刺激により長時間持続性の脱分極シフト、頻回発射が生じ、 Ca^{2+} チャンネル活性化による Ca^{2+} 流入増大によると考えられる。今回この事を証明するため fura-2 を用い細胞内 $[Ca^{2+}]_i$ の変化を検討した。高濃度 KCl 刺激により、正常および SER 海馬 CA1, CA3 及び顆粒層 (DG) において用量依存性に $[Ca^{2+}]_i$ は増大したが、SERCA3 野において他野よりも有意な増大が認められた。KCl 刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 増大は L 型 Ca^{2+} ブロッカーにより抑制された。以上より、SERCA3 野ニューロンにおいて Ca^{2+} チャンネルの機構異常が確認され、このことがてんかん発作の一因であると考えられる。

12. Inhibition by L-3, 4-dihydroxyphenylalanine of hippocampal CA1 neurons with facilitation of noradrenaline and γ -aminobutyric acid release

(ノルアドレナリンおよびガンマアミノ酪酸遊離亢進を介した海馬 CA1 ニューロンの L-3, 4-ジヒドロキシフェニルアラニンによる抑制)

Muhammad Akbar (薬理学)

パーキンソン病治療薬の L-DOPA がドーパミンの前駆体のみならず、それ自体が神経伝達物質あるいは修飾物質として働いていると考えられるため、このことを明らかにする目的で電気生理学的研究を行った。

ラット海馬切片を用い、シェーファー側枝を双極刺激電極にて刺激した時に誘発される集合活動電位

(PS) を CA1 野より記録し、この PS に対する L-DOPA 等の薬物の作用を検討した。

PS は L-DOPA により用量依存性に抑制され、この抑制作用はアミノ酸脱炭酸酵素阻害薬の存在下でも認められ、DOPA cyclohexylester (DOPA 特異的結合部位阻害薬) により拮抗された。

さらに、L-DOPA の抑制作用はピククリンおよびフェントラミンにより抑制された。

6-fluoronorepinephrine (α アゴニスト) も PS を抑制し、この抑制はピククリンによって拮抗された。しかし、フェントラミンはムシモールによる PS の抑制に影響を与えなかった。

以上より L-DOPA はノルアドレナリン神経末端の α 受容体に作用して、ノルアドレナリンを遊離し、これがさらに GABA 神経に作用し GABA を遊離することにより CA1 細胞の抑制が起こると考えられる。

13. Functional role of the nitric oxide in the nasal mucosa of the guinea pig after instillation with lipopolysaccharide

(リポポリサッカライド投与後のモルモット鼻粘膜における一酸化窒素の機能的役割)

上田敏之 (耳鼻咽喉科学)

モルモット48匹を、鼻腔へLPSを投与したLPS群、dexamethasoneとLPSを投与したDEX群、L-NAMEとLPSを投与したL-NAME群、control群の4群に無作為に分けた。投与は1日1回3日間連続で施行し、最初の投与から1, 3, 7, 14日後に各群3動物を深麻酔後断頭し、鼻粘膜を摘出しSEMにて観察した。また3日後の鼻粘膜にNOの蛍光指示薬DAF-2DAを単独、またはL-NAME, EITと共に導入した。また3日後の鼻粘膜で線毛打頻度(CBF)を測定した。SEMによる検討で、LPSによる鼻粘膜の障害においてNOが重要な役割を果たしていると考えられた。DAF-2DAによる検討で、正常動物でもNOは主にiNOSより産生されていて、LPSにより多数の線毛細胞にiNOSがさらに誘導されNO産生が増加したと考えられた。CBFによる検討で、高濃度のNOはCBFを減少させると考えられた。

14. The relationship of α B-crystallin and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease

(アルツハイマー病における α B-クリスタリン蛋白と神経原繊維変化との関係)

毛敬潔 (内科学第三)

Alzheimer 病神経細胞内に神経保護作用を持った

α B-crystallin 蛋白が出現する原因を明らかにする目的で、 α B-crystallin 陽性神経細胞と神経細胞の脱落、老人斑及び神経原線維変化との関連性を検討した。対象は臨床病理学的に Alzheimer 病と診断された4症例。 α B-crystallin 免疫染色を用いて4症例の大脳皮質における α B-crystallin 陽性神経細胞の分布とその特徴を検索した。 α B-crystallin 陽性神経細胞の出現頻度の高い部位は高度の神経細胞脱落を認める辺縁系と傍辺縁系であった。大脳皮質14ヶ所における α B-crystallin 陽性神経細胞密度と Methnamin 銀染色で老人斑（古典型と彌漫性）の密度及び Gallyas-Braak 染色で神経原線維（細胞内と細胞外）の密度を比較し、一次回帰法を用いて検討した。 α B-crystallin 陽性神経細胞密度と細胞外神経原線維変化密度とのみ有意な正の相関を認めた。 α B-crystallin の出現が高度に神経細胞が脱落している残存神経細胞内に発現していたことより、周囲の神経細胞死と深く関連していると考えた。 α B-crystallin 免疫染色と Gallyas-Braak 法の二重染色で観察したところ α B-crystallin 陽性神経細胞質内に ring 状の特異な神経原線維変化が形成されることが明らかになった。 α B-crystallin は細胞死と関連して出現し、発現細胞の長期維持と関わっている可能性があるが、過度に沈着することで細胞質内に神経原線維変化が出現することを明らかにした。

15. Genetic studies in Parkinson's disease with an α -synuclein/NACP gene polymorphism in Japan

（日本人パーキンソン病における α -シヌクレイン/NACP 遺伝子多型の検討）

和 泉 唯 信（内科学第三）

パーキンソン病 (PD) はもっとも多い神経変性疾患の一つである。PD 患者の脳幹部残存ニューロンに認められる好酸性細胞内封入体はレビー小体とよばれ、パーキンソン病の病理学的特徴である。 α -synuclein (α -SYN)/NACP はレビー小体の主要構成成分であり、そのプロモーター領域に二塩基繰り返し配列の多型が明らかにされた。今回、日本人 PD 患者群 (200名) と正常対照群 (250名) でその多型を検討した。標準的な方法で対象の末梢血より白血球を分離し、その DNA を抽出した。既知のプライマー REP 1 と REP 2 を用い、REP 2 を [γ - 32 P] ATP にて標識し、目的とする多型を含む部分を PCR 法にて増幅した。増幅した遺伝子産物をポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、269 bp=アリル 1, 271 bp=アリル 2, 273 bp=アリル 3, 267 bp=アリル 0, 265 bp=アリル-1,

263 bp=アリル-2と決定した。遺伝子型の頻度は、PD 患者群は2/0 (25.5%), 0/0 (21.5%), 2/1 (15.5%) の順に多く、正常対照群は2/0 (24.4%), 1/0 (18.8%), 0/0 (16.8%) の順に多かった。アリル頻度は両群間で有意差を認めず ($\chi^2=8.37$, $p=0.14$), どのアリルもアリル効果を示さなかった。この多型は日本人 PD 発症への関与は大きくないことが示唆された。

16. Axil, a member of the Axin family, interacts with both glycogen synthase kinase 3 β and β -catenin and inhibits axis formation of *Xenopus* embryos

(Axin ファミリーの一員である Axil はグリコーゲン合成酵素リン酸化酵素 3 β と β -カテニンに結合し、アフリカツメガエルの体軸形成を抑制する)

山 本 英 樹 (生化学第一)

私は Wnt シグナル伝達経路におけるグリコーゲン合成酵素リン酸化酵素 3 β (GSK-3 β) の作用機序を解明するために、GSK-3 β に結合する蛋白質の同定を試みた。その結果、新規蛋白質を2種類同定した。一つは Wnt シグナル伝達を抑制する Axin と同一であった。他の一つは Axin と44%の同一性があることから、私はこれを Axil (Axin like) と名付け、生化学的解析を行った。Axil は838アミノ酸からなり、組織全般に発現していた。Axil は GSK-3 β と β -カテニンに結合し、GSK-3 β による β -カテニンのリン酸化を促進した。さらに、Axil の mRNA をアフリカツメガエルの背側に注入すると体軸形成の異常が認められた。また、Axil は Xwnt-8 によるアフリカツメガエルの二次体軸形成を抑制した。以上の結果から、Wnt シグナル伝達において Axil は GSK-3 β や β -カテニンと複合体を形成し、GSK-3 β による β -カテニンのリン酸化を促進することによって β -カテニンの分解を制御して、その結果、アフリカツメガエルの初期胚における体軸形成を制御することが示唆された。

17. Complex formation of adenomatous polyposis coli gene product and Axin facilitates glycogen synthase kinase-3 β -dependent phosphorylation of β -catenin and down-regulates β -catenin

(APC/Axin 複合体はグリコーゲン合成酵素リン酸化酵素 3 β 依存性の β -カテニンのリン酸化と分解を促進する。)

檜 井 俊 英 (内科学第二)

Wnt シグナルにおいて Axin は、GSK-3 β , APC, β -カテニンと複合体を形成し GSK-3 β による β -カテ