

濃度 ($[Mg^{2+}]_i$) を蛍光色素法で測定した。通常、 $[Mg^{2+}]_i$ は 0.9 mM 程度であるが、予め細胞内の Mg^{2+} を減らしてから、生理的溶液 (1 mM Mg^{2+} を含む) で灌流すると、 $[Mg^{2+}]_i$ は徐々に回復する。 $[Mg^{2+}]_i$ の回復過程は時間経過に対する指数関数で近似できたので、時間 0 の時の微分値を Mg^{2+} 流入速度として解析した。流入開始 (時間 0) 時の $[Mg^{2+}]_i$ が 0.35 ± 0.02 mM の時、 Mg^{2+} 流入の平均速度は 0.27 ± 0.04 μ M/s (10 例) となった。

哺乳類細胞では、 Mg^{2+} 流入経路が TRPM7 チャンネルである可能性が示唆されているが、まだ明らかではない。最近、TRPM7 チャンネルが δ オピオイド受容体拮抗薬であるナルトリベンによって活性化されることが報告された [1]。そこで我々は、ナルトリベンが Mg^{2+} 流入速度に与える影響について検討した。50 μ M のナルトリベン存在下で、 Mg^{2+} 流入速度は 0.57 ± 0.12 μ M/s (流入開始時 $[Mg^{2+}]_i = 0.37 \pm 0.02$ mM, $n=7$) と有意に促進された。ナルトリベン存在下の $[Mg^{2+}]_i$ 回復過程の中には、一旦、元のレベルを超えて上昇してから、ゆっくりと減少して元のレベルに戻る例も観られた。以上の結果と、前回報告した TRPM7 阻害剤によって Mg^{2+} 流入速度が低下した結果 [2] から、心室筋細胞において生理的な Mg^{2+} 流入に TRPM7 チャンネルの役割が重要であると示唆された。

[1] Hofmann T, et al. *Pflugers Arch.* 466 : 2177-89, 2014

[2] Tashiro M, Inoue H, Tai S, Konishi M. *J Physiol Sci* 64 : S225, 2014

P2-34.

Characterization of model mice for nuclear envelopathies

(病態生理学)

○林 由起子、鈴木 茂文、川原 玄理

【Background】 Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD) is characterized as muscular dystrophy, cardiomyopathy with conduction defects, and early joint contractures, caused by mutations in *EMD*, *LMNA*, and others. We produced double mutant mice of *Emd* KO (ED) and *Lmna* KI (H222P), EH.

【Objective】 To characterize EH mice.

【Methods】 Clinical features of EH were observed.

Pathological analyses were performed using skeletal and cardiac muscles. Gene expression analyses were done using atrium from pre-symptomatic mutant mice.

【Results】 The life span of EH is a bit longer than H222P, and around 7 weeks. EH shows prominent skeletal muscle involvement. In contrast, surprisingly, cardiomyopathy is not prominent. Gene expression analyses revealed elevation of the genes associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) and ATP sensitive potassium channels in both ED and H222P, but not in EH, whereas strong mechanical overload was suggested in EH.

【Conclusion】 Different response to the mechanical stress may cause different gene expression and clinical phenotypes. Further analyses are required to know the roles of each nuclear envelope proteins and their interaction in each tissue.

P2-35.

bFGF を投与したマウス皮膚欠損創における S100A9 蛋白の発現

(皮膚科学)

○川口 敦子、前田 龍郎、原田 和俊
坪井 良治

【背景】 創傷治癒過程の炎症後期では、表皮角化細胞や線維芽細胞などから放出された炎症性サイトカインがマクロファージの浸潤を誘導する。局所に浸潤したマクロファージは創傷治癒関連因子を放出し、線維芽細胞や血管内皮細胞を活性化させ、肉芽組織を形成する。S100A9 は表皮角化細胞や線維芽細胞などから分泌される蛋白である。生体内では S100A9 は S100A8 と複合体を形成しており、培養表皮角化細胞に S100A8/A9 複合体を添加すると TNF- α 、IL-1、IL-6、CXCL1、CXCL2 といった炎症性サイトカインを放出することが報告されている。また創傷治癒過程では表皮損傷後 2 週間以内に表皮角化細胞に S100A9 が発現すると報告されている。一方、糖尿病患者の慢性潰瘍では健常者の潰瘍と比べ S100A9 の発現が上昇していたとの報告があり、過剰な S100A9 の発現は創傷治癒を遷延させる可能性がある。このように創傷治癒過程における S100A9 の関与は不明な点が多いが、創の閉鎖には

局所での炎症反応が必須であり、S100A9 が炎症反応を適切に調節することで創傷治癒過程に重要な役割を果たしている可能性を考えた。

【目的】 創傷治癒過程における S100A9 の役割を明らかにする。

【方法】 マウスの全層皮膚欠損創に肉芽組織を促進させる作用のある bFGF 製剤を投与し S100A9 の発現を解析した。また肉芽組織から mRNA を抽出し、遺伝子 array により炎症性サイトカインの発現を検討した。

【結果】 I) 全層皮膚欠損創に bFGF を投与すると創縁の再生上皮と肉芽組織において S100A9 蛋白が発現していることを確認した。II) bFGF 投与群の方が未投与群と比べて TNF- α mRNA、IL-1 β mRNA の発現が亢進していた。III) 創傷治癒過程の炎症期に相当する創作製約 5 日後では、創辺縁の再生上皮及び肉芽組織において、未投与群と比較すると bFGF 投与群の方が S100A9 mRNA の発現量が増加し、S100A9 蛋白の発現も亢進していた。

【考察】 S100A9 蛋白は創傷治癒過程で重要な役割を担っている可能性が示唆された。

P2-36.

角膜上皮内ランゲルハンス細胞の動態とタイトジャンクションとの関係

(大学院博士課程 3 年眼科学)

○高橋 広樹

(眼科)

服部 貴明、後藤 浩

【目的】 角膜上皮には皮膚と同様にタイトジャンクションやランゲルハンス細胞が存在する。しかし、角膜内のランゲルハンス細胞が、どのように抗原を認識しているかは不明である。今回、正常マウス角膜におけるランゲルハンス細胞の細胞体の局在と樹状突起の形態、および樹状突起とタイトジャンクションの関係について検討した。

【方法】 C57BL/6 マウスの角膜を採取し、免疫組織化学染色を Whole mount で行った。ランゲルハンス細胞のマーカーには抗 MHC-II 抗体、タイトジャンクションのマーカーには抗 ZO-1 抗体を使用した。観察は共焦点レーザー顕微鏡を用いて行った。30 個のランゲルハンス細胞を撮影し、細胞体の位置を

表層細胞層、翼細胞層、基底細胞層に分類し、検討した。

【結果】 ランゲルハンス細胞の細胞体は 77% が基底細胞層に、23% が翼細胞層に存在していたが、表層細胞層には存在しなかった。樹状突起は表層細胞層まで確認されたが、最表層に存在するタイトジャンクションまでは伸展していなかった。

【結論】 正常角膜におけるランゲルハンス細胞の細胞体は基底細胞層に局在し、樹状突起を表層に向けて伸展させているがタイトジャンクションにまでは及んでいない。今後は角膜炎などのモデルを用い、ランゲルハンス細胞の動態を詳細に検討していく予定である。

P2-37.

実験的増殖硝子体網膜症モデルにおける Decorin の役割

(眼科)

○馬詰和比古、山川 直之、高橋 広樹
後藤 浩

【目的】 プロテオグリカン的一种であるデコリンは、TGF- β 1 と結合し、その活性を阻害するとされている。また、TGF- β は眼内増殖性疾患に対して抑制的に働くことが知られている。今回我々は、培養豚網膜色素上皮細胞を用いた実験的増殖硝子体網膜症モデルを用い、デコリンの眼内増殖性疾患に対する影響を検討したので報告する。

【対象と方法】 豚網膜色素上皮シート解析を用いて、デコリンによる細胞シートの伸長を測定し、免疫化学組織染色で上皮間葉移行 (EMT) を EMT マーカーである S100A4 によって確認した。また、豚コラーゲン 1 を用いた増殖膜収縮解析で、コラーゲンゲルの収縮率と増殖膜のアクチンストレスファイバをファロイジン-アクチン染色で比較検討した。

【結果】 豚網膜色素上皮シート (RPE シート) 成長分析では、デコリンによる遊走能および増殖能の有意な抑制作用が確認された。RPE シート上の S100A4 による免疫染色では、デコリンによる明らかな EMT の抑制は認められなかった。しかしながら、筋線維芽細胞のマーカーである平滑筋アクチンの染色は、デコリンを用いた群で明らかに抑制されていた。また、デコリンは増殖膜収縮解析で増殖膜の