

動脈硬化は血管壁における慢性炎症と考えられている。また、動脈硬化症の進展に関与している脂質代謝異常が、サイトカインと関連していることが報告されている。

抗炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL) -10の動脈硬化における役割と治療への応用の可能性について検討した。なお、動脈硬化は慢性疾患であることから、IL-10の作用を検討するために、長期間の蛋白質発現が可能なアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた。

#### 方法と結果

マウス IL-10を発現する AAV ベクターを構築した (AAV-IL-10)。C2C12細胞 (マウス骨格筋芽細胞) に AAV-IL-10を感染させ、IL-10の産生を Western blot 法及び ELISA 法にて検出した。IL-10遺伝子導入 C2C12細胞の培養液を J774細胞 (マウス単球) に添加したところ、LPS 刺激による TNF- $\alpha$ , IL-6, および MCP-1の産生が抑制されていた。このことから、IL-10遺伝子導入 C2C12細胞から産生される IL-10は、抗炎症作用を有することが *in vitro* で確認された。

次に、高コレステロール食を負荷した ApoE 欠損マウスの前脛骨筋に  $1 \times 10^{12}$  g.c. の AAV-IL-10を注入した。血清 IL-10は遺伝子導入後 2ヶ月間安定に発現された。上行大動脈における動脈硬化病変を oil red-O 染色で評価した結果、AAV-IL-10投与群で動脈硬化病変面積が 31%減少した。その機序として、動脈硬化病変局所および血清における MCP-1発現の抑制とともに、血清 IL-10濃度依存性の血清コレステロール値低下が考えられた。

最後に、IL-10が血清コレステロール値を下げる機序を検討した。HepG2細胞 (ヒト肝細胞) において、IL-10は濃度依存性にコレステロールの産生を抑制した。また、定量的 RT-PCR 法により HMG CoA 還元酵素の発現抑制が明らかとなった。

#### 結論

AAV-IL-10の単回の筋肉内注入によって IL-10が長期間安定して発現し、これによる抗炎症作用および脂質代謝改善作用を介して動脈硬化

症の進展が抑制された。IL-10の多面的作用を応用した動脈硬化性疾患の新規治療法の開発が期待される。

#### 脳神経分化に伴い発現調節を受ける神経性 RNA 結合タンパク質 (Drb1) の機能解析

地域医療学系 生殖発達医学  
3 学年 野崎 靖之

目的, 方法 RNA 結合タンパク質は、標的 RNA へ結合し、RNA の翻訳調節、スプライシング、安定性制御、局所輸送等に関与することにより、生物個体の発生・分化過程において重要な働きをしている。最近、本学で単離した新規神経性 RRM 型 RNA 結合タンパク質 (Drb1: Developmentally-regulated RNA-binding protein 1) はその遺伝子の発現様式から神経分化の過程に密接に関与することが推測されている。そこで本研究では、新規神経性 RNA 結合タンパク質 (Drb1) の機能を解析するために抗体を作製し、この抗体を用いたタンパクブロット法、免疫細胞染色、及び免疫組織染色法により細胞内局在と組織分布を検討した。

結果 精製した抗ヒト Drb1抗体を用いたラット、マウス脳組織のタンパクブロット法では 53 kDa のタンパク質を検出した。この分子量は Drb1cDNA からの予測分子量と一致した。PC12細胞の免疫細胞染色法では Drb1は主に核に局在し、細胞質にも顆粒状に存在した。マウス E12, E16, P0, P1, P12の脳組織を用いたタンパクブロット法では Drb1タンパク質は E12マウス胎仔脳に強く発現し、発達段階に伴いその発現は減少した。E12マウス胎仔脳を用いた免疫組織染色では、Drb1タンパク質は終脳、中脳、視床に発現していた。P0マウス脳では、神経幹細胞のマーカーである Nestin や成熟神経細胞のマーカーである NeuN のどちらとも異なる染色パターンを示した。

1. 考察 培養細胞では Drb1タンパク質は核優位に局在したことから核内ではスプライシングに関与している可能性がある。また、タンパクブロット法では Drb1タンパク質はマウス脳において E12で最も強く発現し、発達とともに発現量は減少した。このことは

Drb1タンパク質が神経分化に関与する可能性を示唆している。今後マウス培養神経細胞を用いた免疫組織染色法でDrb1発現細胞を同定し、標的RNAを決定することが必要である。