

---

演題名 NDRG1のマウス網膜での役割

氏名 ○羽二生久夫 佐野令奈

所属 信州大学医学部統合生理学講座・眼科学講座

---

【目的】N-mycによって発現が抑制される遺伝子として知られているN-myc downstream-regulated gene-1 (NDRG1)が、近年、発生や腫瘍の血管新生に関与していることが報告されている。

そこで、出生後のマウス網膜におけるNDRG1の発現変化と未熟児性網膜症モデルである出生後の高酸素暴露による相対的虚血状態における血管新生時のNDRG1の関与を検討したので、ここに報告する。

【方法】出生後1, 3, 5, 7, 9, 14, 21, 35日以上(アダルト)のC57BL/6マウスの網膜を採取した。また、高酸素暴露マウスは出生後、7~12日目の5日間、70%酸素チャンバーで親マウスとともに飼育した。採取した網膜に細胞溶解液を加えてホモジネート後、上清をサンプルとした。

2次元電気泳動は1次元目として4%IEFガラスチューブゲル(pH3-10 NL:135 mm)で行い、2次元目は11%SDS-PAGEを行った。泳動したゲルはCBB染色し、Progenesis画像解析ソフトでNDRG1の発現量を定量化した。

相対的虚血状態後のNDRG1の発現量変化は抗NDRG1抗体を用いて、ウエスタンブロットによって調べた。

また、NDRG1の網膜における局在はマウスから眼球を摘出し、固定後、パラフィン切片を作製し、抗NDRG1抗体を用いた免疫組織染色によって観察した。

【結果】出生後のマウス網膜におけるNDRG1の発現量変化は出生後1日目から9日目まで3倍以上、発現量の増加を示し、その後、減少していき、出生後9日目をピークとした一時的な発現量の増加であった。

高酸素暴露マウスでは出生後14, 17, 21日目(高酸素暴露後2, 5, 9日目)でコントロールと比較し、全ての時点で発現量が増

加している傾向が見られた。

【考察】NDRG1は腎臓や神経組織をはじめ、広範囲に発現していることが報告されている。ラット大脳における43kDa NDRG1タンパク質の発現は出生後、一過性のタンパク質発現の増加後、減少するパターンであり、今回の我々の網膜における発現パターンとほぼ同様であった。これらを併せると、NDRG1は神経の発達段階で限局的な役割を果たしている可能性がある。

一方、NDRG1のもう一つの役割として低酸素などのストレス刺激によって発現が増加し、悪性腫瘍における血管新生への関与を示唆する報告が増えている。我々は腫瘍とは異なる相対的な虚血状態における網膜でのNDRG1の発現量をウエスタンブロットで調べたが、やはり増加傾向があり、未熟網膜症における血管新生への関与の可能性が示唆された。

【結語】網膜におけるNDRG1タンパク質の発現を調べることにより、2つの機能、すなわち、発達における役割とストレスに対する役割が明らかになった。今後、この2つの機能のメカニズムと関連性を明らかにしていきたい。