

マウス胎児脳組織の腎皮膜下移植に関する検討

矢野 雅司
徳島大学技術支援部

1. はじめに

動物実験では、ある蛋白質の影響を見るために遺伝子を欠損させた動物を利用する方法がある。しかし、その遺伝子によって発現する蛋白質が生命を維持するのに必要なものであった場合は、その遺伝子を欠損した動物は生存することが難しい。

今回筆者は、生後すぐに死んでしまう遺伝子欠損マウスの脳を感染実験に使用するために、生存している胎児期に脳を取り出して別のマウスの腎臓皮膜下へ移植する方法を検討したので報告する。

2. プロトコル

まず C57BL/6 マウスを mating してプラグ（妊娠の有無）を確認する。

次に、プラグ確認後 13 日目に母マウスから E13.5 の胎児を取り出す。その胎児から脳を抽出し粉碎してシリンジに入れる（図 1 a）。

移植用に用意した別の C57BL/6 メスマウスに麻酔をかけ、そのマウスの片方の腎臓の皮膜下にシリンジを使って胎児の脳を移植する（図 1 b）。

移植 40 日後に移植したマウスから腎臓を取り出し脳が生着しているか確認する（図 1 c）。

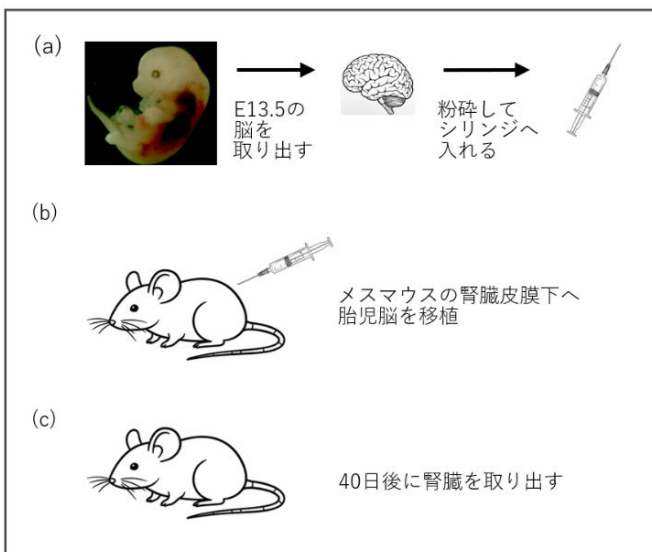


図 1 プロトコル

3. 移植 40 日後に腎臓を取り出す

胎児脳を移植したマウスから左右両方の腎臓を取り出した。移植後の腎臓の皮膜下に移植した脳が正着している様子が確認できた（図 2 左）。もう片方の腎臓には移植していないので移植脳は見られない（図 2 右）。

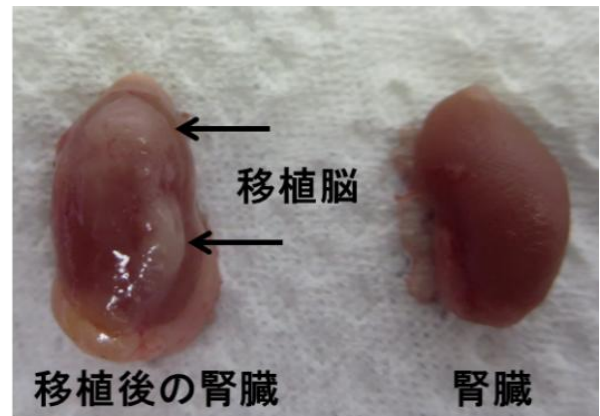


図 2 移植 40 日後に取り出した腎臓

4. 組織切片での確認

4.1 HE 染色

HE 染色で腎臓皮膜下に移植した脳組織がどのようになっているのか切片を作成して HE 染色を行った（図 3）。移植して 40 日が経過した後も、腎臓から与えられる栄養素によって腎臓皮膜下に生着していることが確認できた。

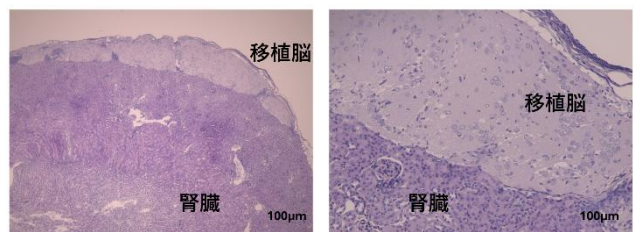


図 3 移植 40 日後に取り出した腎臓の HE 染色像

4.2 免疫組織染色

移植後の腎臓の凍結切片を作成して、免疫組織染色を行った(図4)。脳内のアストロサイトのマーカーである GFAP に対する抗体で染色すると、腎臓部分には蛍光が見られないが、移植脳の部分には多くの蛍光が見られた。また、ニューロン特異的核タンパク質のマーカーである NeuN に対する抗体での染色では同様に移植脳部分に蛍光が見られた。さらに、神経内分泌細胞のマーカーである Synaptophysin に対する抗体で染色すると同様に移植脳部分に蛍光が見られた。

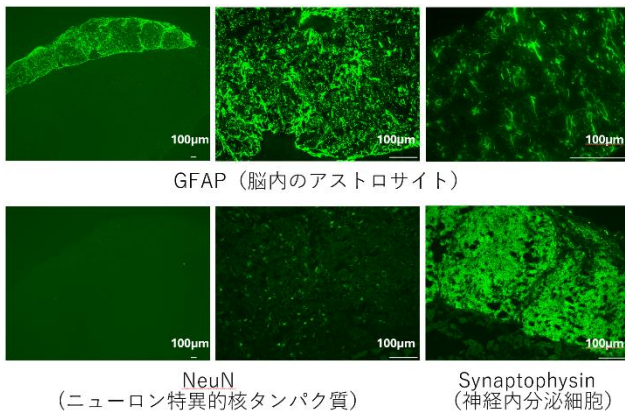


図4 移植後の腎臓の免疫組織染色像

5. 結果

胎児の脳を移植したマウスから取り出した腎臓において、脳が正着していることが確認できた。また、免疫組織染色の結果から移植した胎児脳において、腎臓では発現しないが脳において発現するタンパク質(GFAP、NeuN、Synaptophysin)が発現していることが確認された。このことから、移植した脳の細胞であっても正常の脳と同様なタンパク質が発現することから、脳における感染実験にも応用できる可能性がある。

6. 今後

今回、別のマウスの腎臓へ胎児の脳を移植して生着することが確認されたので、次はその移植されたマウスにプリオン感染をさせて移植した脳へプリオン感染されるのか観察してみたいと考えている。また、プリオン感染にオートファジーが関与している可能性が示唆されているが、オートファジー欠損マウスは生後すぐに死んでしまうため感染実験を

行うことは難しい。そこで今回検討した胎児脳を移植する方法を用いて、オートファジー欠損マウスの胎児脳を移植したマウスに感染実験を行い、プリオン感染にオートファジーが関与しているか検討することが可能となる。

謝辞

本報告におきまして、先端酵素学研究所 神経変性病態学分野の皆様には大変お世話になりました。この場を借りてお礼を申し上げます。また本ポスターに用いたイラストは、Google の画像生成 AI モデルによって作成されました。