

日本解剖学会

第68回中国・四国支部学術集会

会期：平成25年10月19日（土）、20日（日）

会場：鳥取大学医学部（米子キャンパス）

1

就実大学薬学部生2名の解剖実習

○洲崎悦子¹、田邊裕子¹、徳永智典¹、隅田 寛²、豊村隆男¹、小野浩重¹、森 秀治¹、青山裕彦³ ¹就実大学薬学部、²広島国際大学保健医療学部診療放射線学科、³広島大学歯薬保健学研究科解剖学および発生生物学

就実大学薬学部5年生2名が広島大学医学部で3日間の解剖実習を行った。今年で3年目となり、これまで着目してきた腹部血管系に加えて観察が不十分であった骨盤内の血管系について1体の御献体を用いて剖出し、実態を理解することを試みた。

腹部の血管系として、腹腔動脈、上腸間膜動脈、下腸間膜動脈、及び経口投与された薬物が吸収されて通ることになる腹部静脈へ門脈系を剖出して確認した。腹腔動脈の分岐については、直接、左右の下横隔動脈、左胃動脈、後臍動脈、脾動脈が分岐し、総肝動脈が胃十二指腸動脈と固有肝動脈へと続き、固有肝動脈から右胃動脈が分岐していた。固有肝動脈は細く、まず左枝が分岐し、さらに胆のう動脈と右枝に分岐した。肝臓へは、細い固有肝動脈に加えて、左胃動脈の延長として左副肝動脈が存在し、同時に、上腸間膜動脈からも右副肝動脈が分岐しているという変異が観察された。その他、後臍動脈と右副肝動脈とを連絡する血管のループが存在していた。

骨盤内の剖出しは困難であったが、坐薬が静脈内注射と同等の効果があることに寄与する血管として、中直腸動脈を見つけることを試みた。また、別の御献体について背側から臀部を剖出することで、内陰部動脈が下直腸動脈を分岐して直腸下部に至る様子や、またその周囲に下直腸静脈や内陰部静脈を確認した。

その他、頸部や胸部において、腕神経叢、迷走神経や反回神経、横隔神経、腹部や骨盤内で下腸間膜神経節、腰仙骨神経幹、仙骨神経、大腿神経等の神経も確認でき、学生達にとっては学びの多い解剖実習となった。

2

ラット中心灰白質外側部から脚橋被蓋核コリン作動性ニューロンへの投射

岡 達郎、横田茂文、浅野裕彦、安井幸彦
鳥根大学医学部・解剖学講座神経形態学

中脳中心灰白質外側部（IPAG）が循環・呼吸などの自律機能調節に関与することは以前より知られているが、その背景にある神経路については不明な点が多い。そこで今回我々は、IPAGからの下行性投射のうち、同じく自律機能調節への関与が示唆されている脚橋被蓋核のコリン作動性ニューロンへの直接投射について、軸索輸送を利用した神経路標識法と免疫組織化学を併用して、形態学的解析を行った。その結果、脚橋被蓋核、とくにその緻密部において、IPAGからの投射線維終末とコリンアセチル転移酵素（ChAT）免疫陽性ニューロンの分布が一致していた。さらに、IPAG線維はChAT陽性ニューロンの樹状突起および細胞体と非対称性シナプスを形成していた。IPAGでは、その辺縁部を除けばGABA作動性ニューロンよりもグルタミン酸作動性ニューロンの方が圧倒的に多いことを合わせて考えると、IPAGは脚橋被蓋核緻密部のコリン作動性ニューロンに対して興奮性の影響を及ぼしていることが示唆された。

3

一次求心ニューロンによる精製A型ボツリヌス毒素の取り込みと軸索輸送

丸濱功太郎、寺山隆司、杉本朋貞
岡山大学・院・医歯薬・口腔機能解剖学

我々は精製A型ボツリヌス毒素（BoNT/A）の疼痛抑制効果に着目し、これまでに末梢に投与したBoNT/Aが神経障害性疼痛モデルラットの痛覚関連行動を軽減すること、また三叉神経節において神経伝達物質遊離を抑制することを報告した。しかし、神経障害性疼痛に対する臨床応用への期待が高まるBoNT/Aが疼痛抑制効果を発現する詳細なメカニズムは未だ不明である。本研究では、末梢に投与したBoNT/Aの三叉神経における取り込み機構ならびに輸送メカニズムを検討した。

Sprague-Dawley系ラットの培養三叉神経節細胞に、蛍光標識したBoNT/A重鎖を加え、細胞内におけるBoNT/Aの局在を、またラット頸部中央に蛍光標識したBoNT/A重鎖を投与し、摘出した三叉神経節細胞におけるBoNT/Aの局在を共焦点レーザー顕微鏡装置にて観察した。投与20分後、培養三叉神経節細胞内に標識の局在が観察された。また末梢投与60分後、同側三叉神経節細胞内において標識の局在が観察された。さらに、コルヒチン前投与により、三叉神経節細胞内の標識蛍光強度が有意に低下した。本結果は、末梢に投与したBoNT/Aが一次求心ニューロンに取り込まれ、軸索輸送により細胞体に到達することを示すものである。

本研究は、輸送されたBoNT/Aが、神経障害性疼痛の発症への関与が示唆される一次求心ニューロン細胞体の存在する神経節内の神経伝達物質遊離を抑制する可能性を示唆するものである。

4

フグ目魚類の脊髄

上原正人¹、酒井治己²、土井啓行³、保坂善真¹

¹鳥取大学農学部獣医解剖学、²水産大学校生物生産学科、³下関市立しものせき水族館

【目的】 一般的に、魚類脊髄は脊柱管全長に伸長している。しかし、フグ目魚類の脊髄は著しく短縮し、マンボウ科の脊髄は頭蓋腔内に終わっているために、事実上、存在しない。本研究の目的は、フグ目のすべての科の脊髄を観察し、脊髄の著しい短縮はフグ目共通の現象であるのかを明らかにすることである。**【材料と方法】** フグ目を構成するすべての科（9科）の26種について肉眼的およびパラフィン切片、H-E染色標本により組織学的に観察した。**【結果と考察】** ギマ科、ベニカワムキ科、ウチワフグ科の脊髄は、一般的魚類同様に短縮しなかった。後2科はフグ目で最も原始的とされ、ギマ科は形態的にこれらの科と類似している。他の6科の脊髄は著しい短縮を示し、馬尾と終糸を形成した。マンボウ科とハコフグ科の脊髄は、頭蓋腔内ないし第一椎骨内で急激に縮小し、円筒形の終糸に移行した。脊柱管のほぼ全長は終糸と馬尾によって占められていた。フグ科、ハリセンボン科、カワハギ科の脊髄は頭側の数椎骨内で急激に扁平化し、扁平な終糸に移行した。したがって、終糸移行部より尾側の脊柱管は扁平な脊髄とその背、腹側にそれぞれ位置する背、腹根束で占められていた。モンガラカワハギ科とイトマキフグ科の脊髄は徐々に扁平化し、扁平な脊髄の背腹に背腹根束を伴った。フグ科などと異なり、脊髄は急激な扁平化を示さず、また、扁平化した脊髄は比較的厚く、終糸とは言い難かった。フグ目の脊髄は終糸と馬尾を形成するものと一般的魚類に類似したものが多かった。この違いを生む要因が明らかになるならば、哺乳類の終糸と馬尾の形成要因の解明にも寄与するであろう。

5

The role of WGA for decreasing the accumulation of Aβ: A new approach to promote transsynaptic transport of Aβ in the rat

Jun-Qian Liu¹, Takanori Miki¹, Yoshiki Matsumoto², Ken-ichi Ohta¹, Shingo Suzuki¹, Katsuhiko Warita¹, Motoki Tamai¹, Yoshiki Takeuchi¹

¹Department of Anatomy and Neurobiology, Faculty of Medicine and

²Laboratory of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kagawa University

Wheat germ agglutinin (WGA) is known to be transported from neuronal cell bodies to terminals and pass through synapses. In the present study, co-injection of fluorescence-labeled WGA (FWGA) and Amyloid-β (Aβ) into right side of the vagus nerve (VN) at the cervical portion of the rats resulted in heavy labeling of these substances in the nodose ganglion (NG) and nucleus of solitary tract (NST) compared to the injection of either FWGA or Aβ alone. It was of interest that the labeling is characterized by existence in cytoplasm of neurons of the NG and NST. Further observations by the laser scanning confocal microscope showed that co-localization of FWGA and Aβ is present in close vicinity to the nucleus of neurons of the NST. In the immunohistochemical electron microscopic experiments, co-injection of WGA with Aβ resulted in heavy accumulation of reaction product (RP) in axon terminals and dendrites in the neuropil of the NST. The majority of these terminals and dendrites indicated to contain large (0.20-0.40 μm in diameter)-sized RP in addition to small (0.03-0.09 μm)- and medium (0.10-0.15 μm)-sized RP found in the case of injection of Aβ. Interestingly, large-sized RP transported to neurons of the NST formed a complex with the same-sized RP. The present findings indicate that WGA is a valuable tool to decrease the accumulation of Aβ by transsynaptic transport and offers new perspectives for its application in the Alzheimer's disease.

6 Neuronal expression of the “sporadically lurking HAP1-immunoreactive (SLH) cells” in the hippocampus, with special reference to the relationship with progenitor cell markers, GABA and steroid receptor.

Md. Nabiul Islam, Ryutaro Fujinaga, Akie Yanai, Keiji Kokubu, Mir Rubayet Jahan, and Koh Shinoda (Division of Neuroanatomy, Department of Neuroscience, Yamaguchi University Graduate School of Medicine)

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is a neural huntingtin interactor that is widely expressed as a core molecule of the stigmoid body in the limbic and hypothalamic regions and has putative protective functions against some neurodegenerative diseases. HAP1-immunoreactive (HAP1-ir) cells remain to be identified in the hippocampus. In this study, we determined the distribution of hippocampal HAP1-ir cells in light and fluorescence microscopy and characterized their morphological relationships with steroid receptors, adult neurogenesis and the GABA-ergic system in adult Wistar rats. HAP1-ir cells, which were sporadically distributed particularly in the subgranular zone (SGZ) of the dentate gyrus and in the interface between the stratum lacunosum-moleculare and stratum radiatum of Ammon's horn, were identified as the “sporadically lurking HAP1-ir (SLH)” cells. The SLH cells showed no clear association with neural progenitor/proliferating/migrating cell markers of adult neurogenesis, such as Ki-67, PCNA, DCX, and GFAP in the SGZ, while all the SLH cells expressed NeuN. More than 90% of the SLH cells expressed nuclear estrogen receptor (ER) α , but neither ER β nor the androgen while more than 60% of them exhibited GABA immunoreactivity. We conclude that SLH cells, which should be stable against apoptosis due to putative HAP1 protectivity, might be involved in estrogen-dependent maturation, remodeling and activation of hippocampal memory and learning functions via ER α and partly through GABAergic regulation.

7 再生を制御する普遍的分子機構の解明：昆虫の脚再生からヒト器官再生を目指して

板東哲哉¹, 濱田良真², 富岡憲治², 野地澄晴³, 大内淑代¹ (¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞組織学分野, ²岡山大学大学院自然科学研究科, ³徳島大学)

ヒトやマウス、鳥類など高等脊椎動物の再生能は乏しいが、両生類や昆虫では、四肢が切断されても完全に再生する。我々は、再生現象に普遍的な分子機構を明らかにするために、幼虫期に脚が再生する不完全変態昆虫「フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus*」を実験モデル系として研究を行っている。コオロギ幼虫の脚を切断すると、傷の修復、再生芽の形成、位置情報の認識、再パターン形成の各過程を経て、失われた部分のみが付加的に再生される。再生に特異的なプロセスは、再生芽の形成と位置情報の認識であり、これらの過程に関わる分子群の同定が特に重要と考え解析を進めている。

現在までに、JAK/STAT シグナルが再生芽細胞の増殖を促進すること、平面内細胞極性を制御する Dachous/Fat シグナルが、再生芽細胞の増殖抑制と位置情報の保持に必須であることを明らかにした。これら遺伝子の多くはヒトとコオロギで共通であり、コオロギが新しい遺伝子を獲得することで脚再生を可能にしているのではなく、ヒトやコオロギに共通した遺伝子の発現の違いが再生能の違いを生み出していることが示唆された。コオロギを用いた再生研究から明らかにされた分子メカニズムは、器官再生を制御する進化的に保存された機構であり、再生を可能にする遺伝子発現調節の詳細な分子メカニズムの解明につながると考えている。

8 ヒト Oct4 遺伝子発現解析における問題点の克服

宮本朋幸^{1,2}, 小阪美津子^{1,3}, 水野伸彦³, 大野英治², 大塚愛二¹

- 1) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科人体構成学分野
- 2) 加計学園細胞病理学研究所
- 3) 岡山大学産学官融合センター細胞医学研究室

Oct4 (POU5F1) 遺伝子は初期胚や ES 細胞、生殖細胞などの全能性維持に関わる転写調節因子であり、iPS 細胞の作出にも必須であることが知られている。全長型 Oct4A に加え、マウスでは眼組織幹細胞において Oct4 variant (Oct4Blong, B, C) 型が発現しており、マウス C 型蛋白質はマウス線維芽細胞の足場非依存的増殖を誘導する活性を持つ事を我々は報告した (JBC, 283(45), 2008)。ヒトにおいても Oct4 variant (A, B, B1) 型の存在が報告されている。更にヒト Oct4 variant 型は、近年癌治療の標的として重要視されている癌幹細胞との関連が報告されているが、ヒト Oct4 遺伝子には塩基配列が類似している偽遺伝子 (pseudogene) が存在する。特に偽遺伝子 Oct4P1, P3, P4 については Oct4 との塩基配列の同源性が 97-98% と極めて高く、通常の PCR プライマーでは排除が困難である。ヒト幹細胞や癌細胞の研究において Oct4 遺伝子転写産物を正確に検出することは極めて重要と思われる。今回我々は偽遺伝子を排除可能な PCR プライマーを設計し、ヒト癌細胞株において Oct4 遺伝子発現を解析したので報告する。

9 側板中胚葉の発生運命

・朝吉吉楽, 青山 裕彦

広島大学大学院医歯薬保健学研究所解剖学及び発生生物学研究室

脊椎動物の胚発生で一過性に見られる側板中胚葉は壁側板と臓側板に分かれる。壁側板は体壁の漿膜や結合組織を形成する。四肢の骨格の起源も側板中胚葉壁側板である。一方、臓側板は臓側腹膜や腸間膜、および消化管の筋や結合組織をはじめとする多くの内臓を構成する組織の起源となる。このように、将来の発生運命、その機能が異なる両者であるが、発生の初期に壁側板、臓側板を分ける境界が発生の進行と共にどこに移動するのかが明瞭でない。本研究では側板中胚葉の臓側板と壁側板がそれぞれ何になるかを知るために、GFP 遺伝子を、トランスポゼースの作用によってゲノムに組み込み、ニワトリ 2 日胚の上半と下半の間の体幹で側板中胚葉を局所的に標識し、その発生運命を追跡した。遺伝子はエレクトロポレーションによって導入した。GFP 遺伝子導入後 8 時間で胚を固定し、導入時の電極の位置と標識部位の関係を調べたところ、3 通りの標識が可能であることが分かった。この時期の側板中胚葉は 2 葉に分かれて見えるが、中腎管は背側葉と腹側葉との折返りのところではなく、背側葉の折れ返り部よりやや外側にある。標識は①中腎管近傍から外側の背側葉、②中腎管近傍から内側の背側葉、及び腹側葉、③腹側葉のみの 3 部に局限していた。この系を用い、7 日胚 (HH31-HH32) で標識されている組織を検索したところ、①は体壁の結合組織を、②は生殖腺、腸管壁など主に内臓を、③は腸管壁を形成していた。従って、従来から言われているとおり、中腎管近傍を境界線として背側葉の外側が側板中胚葉の壁側板、残りの部分が側板中胚葉の臓側板と考えられる。

10 多次元尺度構成法 (Multidimensional scaling MDS) による尿管上皮発生における Interkinetic nuclear migration (INM) の解析

○元矢 知志¹, Rafiq Ashiq Mahmood², Jahan Esrat², 松本 暁洋², 宇田川 潤³, 大谷 浩²

¹島根大学大学院医学系研究科医科学専攻博士課程, ²島根大学医学部解剖学講座発生生物学, ³滋賀医科大学解剖学講座生体機能形態学部門

多次元尺度構成法 (Multidimensional scaling, MDS) は、多変量解析の一種で、対象間の (非) 類似性の程度を示す測度に対し、対象を多次元空間内の点として表し、点間の距離が観測された (非) 類似性 ((dis)similarity) と最も良く一致するように点の布置を定める方法であり、現象間の (非) 類似性を視覚化できる。

Interkinetic nuclear migration (INM) は、脳の神経上皮細胞など外胚葉由来上皮の発生過程において、頂表面側 (apical side) から基底側 (basal side) を、細胞核が細胞周期と同期して移動する現象で幹細胞増殖調節機構として注目されている。

当教室では、多くの器官の基盤的構造である上皮管腔組織に着目し、内胚葉由来組織であるマウス胎仔の中腸において、BrdU 投与後時間経過を追った細胞核の位置変化に関する BrdU 免疫染色所見を MDS 法により解析し、INM が観察されることを報告した (Yamada et al. 2013)。今回、中胚葉由来上皮管腔組織であるマウス胎仔尿管においても INM が存在するか、同様に解析を行った。その結果、未確定ながら尿管でも INM が観察され、中腸とは異なる周期性などの特徴が示唆された。したがって、INM は神経上皮細胞等外胚葉由来上皮、中腸等内胚葉由来上皮に加え、中胚葉由来の上皮管腔組織である尿管においても観察され、かつ組織によって異なる特性を持つことが示唆された。

11 喉頭機能模型の製作

○長通秀仁¹, 新谷 豪¹, 賀山奈美子¹, 加納由理¹, 下江宰司², 里田隆博²

1. 広島大学歯学部 口腔保健学科 口腔工学専攻 4 年生
2. 広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 口腔健康科学講座

喉頭の披裂軟骨の動きは非常に複雑である。発声時には声帯靭帯を近接させ、息こらえ時および嚥下時には、前庭靭帯を完全に閉じる。またささやき時には、披裂軟骨は近接せずその間を空気が通過する。また、高い声を出す時には、声帯靭帯を緊張させるために輪状甲状筋の斜部により甲状軟骨を前方滑走させ、また輪状甲状筋の直部により甲状軟骨を前方に倒す。また、舌骨上筋群の作用により、喉頭全体を前上方に拳上させて声帯靭帯を緊張させる。一方、低い声を出す時は、声帯筋を収縮させて声帯靭帯を緩める。

今回、喉頭の筋の作用および披裂軟骨の動きを説明するために、わかりやすい模型を作成した。模型は、下顎骨、甲状軟骨および舌骨は針金を用いて作製した。輪状軟骨および披裂軟骨は紙粘土で作製した。輪状披裂関節は、回転運動と水平運動の動きを表現するため、硬いパネを用いた。喉頭の筋は、紐およびワイヤーを用いた。声帯靭帯と前庭靭帯は、ウレタンスプリングを用いた。この模型により喉頭の筋の機能をうまく説明することができた。

12 左胸郭の形成異常による胸郭不全症候群の一例

○谷口順平¹, 海藤俊行², 中根裕信², 名黒知徳², 稲賀すみれ², 岡崎健治²¹鳥取大学医学部医学科 3年²鳥取大学医学部解剖学講座

【目的】2013年度の鳥取大学医学部系統解剖・マクロ病理実習において見出された胸郭の変形例について詳細に観察を行い、考察を試みた。

【結果】本症例は81歳日本人女性で、死因は肺炎であった。左胸郭は上半部が変形し狭小化が認められた。頸肋と第1肋骨、第2と第3肋骨には異常な癒合・分岐が観察された。第4肋骨もS字状に変形し、ほぼ正常な形状の第5肋骨との間(第4肋間)は開大していた。脊柱は左凸の側弯を呈し、側弯症の重症度を示す Cobb角は50度以上であり、高度の側弯症と考えられた。左肩甲骨は矮小化し、下角は開大した第4肋間に嵌り込んでいた。筋では、左側の大胸筋胸部部が菲薄であり、左側の僧帽筋下部が部分的に欠失していた。肺の重量は、右肺が680g、左肺が110gであり、左肺は著しく扁平であった。肺組織のHE染色では、左肺は肺泡構造がほとんど認められず線維化が顕著であり、呼吸機能は著しく低かったと推測された。右肺は代償性に肥大して脊柱を越えて左側に張り出していた。縦隔は左方に偏位しており、心臓や大血管が左胸腔の大部分を占めていた。

【考察】本症例では、左胸郭の変形と左肺の低形成が認められた。左胸郭の変形の原因は肋骨の先天的形成異常と側弯症であり、その結果左胸腔の形成が妨げられて左肺の低形成と呼吸機能不全が起こったと推測された。本症例は、胸郭の形成異常により肺の成長と呼吸機能が障害される胸郭不全症候群 (Campbell et al., 2003) である可能性が考えられた。

13 TNF- α 誘導破骨細胞分化における PKR の役割平島 寛司¹, 寺町 順平², 羽地 達次²徳島大学歯学部歯学科 6年¹徳島大学大学院 HBS 研究部 口腔組織学分野²

【目的】タンパク質リン酸化酵素である二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ (PKR) は、TNF- α や LPS などに応答し、細胞の防御機構やアポトーシスに関与している。我々は歯周病等の炎症部位において PKR の発現が上昇しており、破骨前駆細胞において TNF- α が PKR の発現を誘導することを見出した。しかし、TNF- α による破骨細胞形成における PKR の役割については不明である。今回我々は、破骨細胞分化における PKR の役割を解明するため、破骨細胞前駆細胞株である RAW264.7 細胞を用いて解析を行った。

【方法】RAW264.7 細胞に RANKL による前処理を行った後、TNF- α を添加し、PKR 阻害剤(2AP)による影響を、破骨細胞分化必須因子である NFATc1 および c-fos の発現について検討した。さらに、TNF- α のシグナル伝達経路に 2AP がどのような影響を及ぼすのかウェスタンブロット法にて解析した。

【結果と考察】TNF- α 処理は単独では RAW264.7 細胞の破骨細胞形成を誘導しないが、RANKL による前処理を行うと破骨細胞形成を促進した。TNF- α による破骨細胞形成は、2AP 処理により顕著に抑制された。さらに NFATc1 と c-fos の発現も抑制され、破骨細胞分化マーカーの発現も抑制された。破骨細胞形成において重要な役割を果たしている NF- κ B および MAPK 経路は、2AP 処理によりそれらの活性化が顕著に抑制された。以上のことから PKR は TNF- α による破骨細胞形成に重要な影響を果たしていることが示唆された。

14 骨芽細胞におけるプロテインホスファターゼ PP2A の新規標的因子の探索

○阿久津純一¹, 岡村裕彦², 羽地達次²¹徳島大・歯学部・歯学科 5年²徳島大・大学院 HBS 研究部・口腔組織学分野

【目的】蛋白質のリン酸化・脱リン酸化は、細胞内における重要な情報伝達手段である。PP2A は、脱リン酸化を行うセリン/スレオニンホスファターゼであり、触媒サブユニット (PP2A C α) を中心に三量体を形成することで広い基質特異性を示し、細胞機能に関与する。我々はこれまで PP2A C α が骨関連因子の発現を介して骨芽細胞の分化を制御する新たな因子であることを報告した。本研究は骨芽細胞における PP2A C α と相互作用する新規標的因子の探索を目的とする。

【方法】マウス骨芽細胞 MC3T3-E1 由来 PP2A C α 遺伝子の cDNA を鋳型に、PCR による遺伝子の増幅を行った。増幅した遺伝子を pGEX-3E ベクターに組み込み、大腸菌 BL21 を形質転換した。発現誘導させた大腸菌から可溶性・不溶性画分を調整し、ウェスタンブロットング法により目的とする蛋白質の発現を調べた。

【結果と考察】大腸菌による PP2A C α の発現系を構築した。SDS-PAGE 及びウェスタンブロットング法の結果、目的蛋白質 (GST-PP2A C α) は不溶性蛋白質として発現した。現在、Vector や宿主の変更と PP2A A subunit と共発現させることで目的蛋白質を安定化させ可溶化することを試みている。可溶性蛋白質として得られたならばアフィニティークロマトグラフィーにより発現タンパク質をカラムに吸着させ、カラム内で様々な分化段階の骨芽細胞抽出液と相互作用させることで新規相互作用蛋白質の獲得と同定を試みる。

15 歯周病変における破骨細胞形成における二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼの役割

寺町順平¹, 篠原宏貴², 稲垣裕司², 永田俊彦², 羽地達次¹¹徳島大学 大学院 HBS 研究部 口腔組織学分野²徳島大学 大学院 HBS 研究部 歯周歯内治療学分野

【目的】二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ (PKR) は、TNF- α , LPS などに応答し細胞の防御機構やアポトーシスに関与する蛋白質リン酸化酵素である。我々は以前 PKR が RANKL による破骨細胞形成に重要な役割を果たしていることを報告したが、歯周病局所での PKR の役割については不明である。そこで歯周病における PKR の役割をラット歯周炎モデルおよび各種細胞培養系を用いて歯周病原性 LPS の PKR に及ぼす影響を検討した。【方法】ラット上顎第二大臼歯を結紮して実験的歯周炎を惹起させ、歯周組織における PKR の発現をウェスタンブロット (WB) 法で調べた。次に LPS 誘導破骨細胞形成における PKR の役割を TRAP 染色, WB 法にて解析した。さらにヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) を培養し, P. gingivalis 由来 LPS を培地に添加した後, RANKL 発現と破骨細胞形成を WB 法と TRAP 染色で調べた。【結果と考察】歯周炎を惹起させた歯周組織では PKR の発現が上昇した。破骨前駆細胞および HGF では, LPS と TNF- α により PKR の発現が誘導された。LPS による破骨細胞形成は PKR 阻害剤 (2AP) 処理により解除され, 破骨細胞分化必須因子である NFATc1 の誘導も阻害された。また LPS は HGF において RANKL および IL-6 の発現を誘導し, さらに破骨細胞前駆細胞と共培養したところ破骨細胞形成を誘導したが, その作用は 2AP 処理により解除された。破骨前駆細胞および HGF において, 2AP は LPS による MAP キナーゼ経路や NF- κ B の活性化を抑制した。以上より, PKR は歯周病の炎症局所で直接的もしくは間接的に破骨細胞の形成に関与していることが示唆された。

16 プロテインホスファターゼ PP2A は骨芽細胞の分化と機能を調節する

岡村裕彦, 楊 誦, 羽地達次

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・口腔組織学分野

PP2A は細胞の分化・増殖やアポトーシスに関与するセリン/スレオニンプロテインホスファターゼである。PP2A は触媒サブユニット (PP2A C α) を中心に三量体を形成し、様々な蛋白質の脱リン酸化に関与する。今回、我々は骨芽細胞の分化と機能における PP2A C α の役割について検討した。【方法】1.マウス頭蓋部皮下に PP2A 阻害剤 (オカダ酸) を投与し、頭蓋冠の骨密度・骨添加量についてマイクロ CT と組織学的手法を用いて解析した。2. shRNA により PP2A C α の発現を抑制した MC3T3-E1 (shPP2A) を樹立し、ALP, von Kossa および alizarin red 染色により骨芽細胞の分化・石灰化能を評価した。3. shPP2A 細胞における骨分化マーカーの発現についてリアルタイム PCR とウェスタンブロットを用いて解析した。4. shPP2A 細胞の分化における Osterix の役割を siRNA 法により調べた。5. shPP2A 細胞の破骨細胞分化誘導能について関連因子の発現と TRAP 染色を指標に評価した。【結果と考察】オカダ酸投与群では頭蓋冠の骨密度・骨添加量が増加した。shPP2A 細胞は分化・石灰化能が亢進し、Osterix, Bone sialoprotein および Osteocalcin 等の骨分化マーカーの発現が増加した。Osterix 発現の阻害により、shPP2A 細胞の分化が抑制された。shPP2A 細胞では RANKL/OPG の比が減少し、破骨細胞誘導能が低下していた。以上の結果より、PP2A C α は骨芽細胞の分化・石灰化能と破骨細胞誘導能を調節する重要な因子であることが分かった。

17 Histone demethylase Jmjd3 regulates osteoblast differentiation via transcription factor Osterix

Yang Di, 岡村裕彦, 羽地達次

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・口腔組織学分野

Post-translational modifications of histones including methylation play important roles in cell differentiation. Jumjoni domain-containing 3 (Jmjd3) is a histone demethylase, which specifically catalyzes the removal of trimethylation of histone H3 at lysine 27 (H3K27me3). In this study, we examined the expression of Jmjd3 in osteoblasts and its roles in osteoblast differentiation. Jmjd3 expression in the nucleus was induced in response to the stimulation of osteoblast differentiation. Silencing of Jmjd3 expression by siRNA and shRNA transfection suppressed osteoblast differentiation through the expression of bone-related genes including Osterix, Runx2, Osteopontin, Bone sialoprotein (BSP), and Osteocalcin (OCN). Local administration of siJmjd3 suppressed bone formation in the mouse calvaria. Silencing of Jmjd3 increased the level of H3K27me3 on the promoter region of Osterix. Introduction of the exogenous Osterix rescued the defect of osteoblast differentiation in the Jmjd3 knock-down cells. Our findings indicate that Jmjd3 plays important roles in osteoblast differentiation and regulates the expressions of BSP and OCN via transcription factor Osterix.

18 デコリンによる細胞分化調整の可能性

保坂善真¹⁾、田村純一²⁾、上原正人¹⁾

1)鳥取大学・農学部・獣医解剖学、2)同・地域学部・地域環境学

【背景】デコリンをsiRNAでノックダウンした間葉系幹細胞 (siDT) を骨分化誘導培地で培養すると脂肪細胞へと分化する。この現象はin vitro/vivo双方の環境で確認できデコリンが間葉系幹細胞の系譜の決定に関わっている可能性を示すがその機構の詳細は不明のままであった。本研究では細胞 (骨芽細胞、脂肪細胞) 分化でのデコリンの役割を明らかにする。【材料と方法】マウス間葉系幹細胞 KUSA-A1 と siDT を用いた。これらを骨分化誘導培地で培養分化過程での細胞応答を解析した。また骨誘導因子とデコリンとの結合能を水晶発振子マイクロバラン (QCM) 法で解析した。【結果と考察】骨分化誘導培地で培養した siDT は、KUSA-A1 と比較して骨分化マーカー発現は培養期間を通じて低く、骨マトリクスをほとんど検出できなかった。その一方で Oil Red O 陽性細胞が多数出現し、脂肪分化マーカー PPAR γ の mRNA 発現量が高かった。siDT の骨分化誘導培地中にデコリンを添加して培養を継続すると、濃度依存的に骨分化が促進され逆に脂肪分化は抑制された。使用した骨分化誘導培地はインスリン、グリセロリン酸、デキサメタゾン等を含有しており、これらの因子とデコリンとの結合を QCM 法で検索したところ、インスリンと特異的に結合した。さらにフローサイトメトリー解析の結果、脂肪分化に関わる因子 PI3K/Akt シグナル伝達が抑制されていることが明らかとなった。以上の結果はデコリンがインスリンと結合することで同受容体への結合を抑制し、間葉系幹細胞の分化を調整している可能性を示唆する。

19 脂肪酸結合蛋白質 FABP3 による情動・認知行動調節メカニズム

山本由似¹⁾、徳田信子¹⁾、澤田知夫¹⁾、福永浩司²⁾、大和田祐二¹⁾
山口大学医学系研究科器官解剖学分野¹⁾
東北大学大学院薬学研究科薬理学分野²⁾

【目的・方法】多価不飽和脂肪酸は、神経系の発達、高次脳機能調節に深く関与している。近年、脳内の脂質代謝異常が、精神疾患に関与する可能性が示唆されている。多価不飽和脂肪酸の細胞内輸送には、脂肪酸結合蛋白質 (FABP) が必須である。これまでに、FABP3 欠損 (FABP3KO) マウスでは、外界からの情報処理に関わる前部帯状皮質 (ACC) において、転写因子 CREB のリン酸化反応と神経栄養因子 BDNF の発現が低下することを見出している。本研究ではその神経化学機序について、FABP3KO マウスを用いて検証した。

【結果・考察】FABP3KO マウスは、野生型マウスに比較して、不安様行動及び認知機能の障害が認められた。野生型マウスを用いた免疫組織化学的検証から、ACC における FABP3 陽性神経細胞は、GABA 合成酵素のグルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) 67 と強く共局在した。マイクロダリアシス法を用いた解析から、FABP3KO マウスの ACC では、野生型マウスに比較して興奮性アミノ酸のグルタミン酸の放出が低下し、一方で抑制性アミノ酸の GABA は低下した。以上の結果から、FABP3 は ACC の抑制性神経細胞において脂質恒常性を制御し、情動及び認知行動に重要な役割を果たしていることが示唆された。

20 マウスにおける雄の性機能を制御する脊髄 gastrin-releasing peptide 系の解析

坂本浩隆、齊藤和裕、越智拓海、佐藤慧太、田村 圭、坂本竜哉

岡山大学・理・臨海実験所/共同利用拠点 (UMI)

我々はこれまでに、ラット腰髄において gastrin-releasing peptide (GRP) ニューロンが勃起や射精といった雄の性機能を制御することを報告した。今回、この脊髄 GRP 系の脊椎動物における普遍性を明らかにする目的で、まず、同じげっ歯類であるマウスにおける脊髄 GRP 系の存在を神経解剖学的に解析した。その結果、ラットと同様にマウス腰髄においても、GRP ニューロンは腰髄 L3-L4 レベルに細胞体が存在し、腰髄 L5-L6 レベルに位置する勃起や射精を司る自律神経核にまで軸索を到達させていた。また、これらは共にラットと同様の雄優位の性的二型であった。次に、雄マウスの腰髄 L3-L4 レベルにおいて、GRP とアンドロゲン受容体 (AR) に対する二重免疫染色を行い、GRP・AR の共発現率を解析した。その結果、ラットと同様にマウスにおいても、脊髄 GRP ニューロンは AR を極めて高い確率で共発現していることが明らかになった。一方、ラットと異なりマウスではゲノム修飾等の遺伝子操作法が確立している。そこで本研究では、ネスチンプロモータを利用して神経系の細胞のみでコンディショナルに AR 遺伝子が欠損している AR^{NesCre} KO マウスを用いて同様の解析を行った。その結果、AR^{NesCre} KO マウスは野生型の雄に比べ GRP 陽性を示す細胞体数の減少、およびその投射先である下位腰髄 (L5-L6 レベル) での GRP 陽性線維に有意な減少がみられた。

以上の結果から、脊髄 GRP 系はげっ歯類に普遍的に存在し、神経系における直接的な AR シグナルが脊髄 GRP 系の性差構築に重要であることが示された。

21 雄の性行動時にオキシトシンは脊髄 gastrin-releasing peptide ニューロンを活性化させる

越智拓海、佐藤慧太、坂本竜哉、坂本浩隆

岡山大学・理・臨海実験所/共同利用拠点 (UMI)

我々はこれまでに、ラット腰髄において gastrin-releasing peptide (GRP) ニューロンが勃起や射精といった雄の性機能を制御することを報告した。一方、オキシトシン (OXT) がヒト男性では射精等の性機能に関与することが示唆されてきた。ラットにおいては室傍核に細胞体が存在する OXT ニューロンが脊髄にまで投射している。本研究ではこれまでに、腰髄において OXT ニューロン線維は、(1) 雄優位の性的二型を示し、(2) 脊髄 GRP ニューロンに近接して分布することなどを明らかにした。以上より、間脳 OXT 系と脊髄 GRP 系との機能的結びつきが強く示唆されるが、雄の性行動時の脊髄における OXT の動作メカニズムは不明である。本研究では、雄の性機能制御における脳-脊髄神経ネットワークの動作メカニズムを、性行動時の脊髄における OXT 作用に着目して解析を行った。

まず、性行動後、雄ラットにおける脊髄 GRP ニューロンの神経活性を、phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (pERK) 発現を指標に解析した。結果、性行動後、脊髄 GRP ニューロンにおける pERK 発現が有意に増加した。次に、ラット腰髄にも腹下腔に OXT を局所・微量投与し、脊髄 GRP ニューロンにおける pERK 発現への OXT の作用を解析した。結果、OXT 投与は脊髄 GRP ニューロンにおいて pERK 発現率を上昇させた。これらことから、雄の性行動時に腰髄で放出された OXT は脊髄 GRP ニューロンにおける pERK 発現を誘起し、脊髄 GRP 系を活性化すると考えられた。

以上の結果から、間脳 OXT ニューロンの投射先のひとつである腰髄で放出される OXT は、脊髄 GRP 系を活性化することで雄の性機能を調節していることが示唆された。

22 ヒトプロサポシン遺伝子を培養細胞にトランスフェクションさせ過剰発現させる試み

鍋加 浩明¹⁾、下川 哲哉¹⁾、松田 正司¹⁾
¹⁾愛媛大・院医・解剖学・発生学

プロサポシン (Prosaposin) はサポシン A~D の前駆体蛋白質であり、細胞質のリソソーム内で蛋白質水解性に切り出されて各サポシンを生ずる。一方、プロサポシンは単なるサポシンの前駆体蛋白質であるだけではなく、神経細胞においてプロサポシン自身が神経栄養因子として作用すると報告されている。しかしながらその作用機序の詳細は未解明である。

当研究室はこれまでにラットプロサポシン遺伝子を培養細胞株にトランスフェクションし、ラットプロサポシン蛋白質を過剰発現させる事に成功している。本発表では、新たにヒトプロサポシン遺伝子をヒト神経培養細胞株 SH-SY5Y にトランスフェクションし、ヒトプロサポシン蛋白質を過剰発現させ、細胞の形態変化を観察したので報告する。本実験ではヒトプロサポシン cDNA 全長を発現するベクターの他、赤色蛍光蛋白質 DsRed との融合蛋白質を発現するベクターも作成した。DsRed 融合蛋白質は蛍光顕微鏡で検出可能であるため、培養しながら発現細胞のタイムラプス撮影が可能となる。

23 肝 Kupffer 細胞の食食能やサイトカイン産生に脂肪酸結合タンパク質 FABP7 が関与する

河村沙樹 宮崎啓史 澤田知夫 大和田祐二
(山口大学大学院医学系研究科器官解剖学)

【目的】これまで我々は FABP7 ノックアウトマウス (KO) で肝 Kupffer 細胞 (KC) によるアポトーシス細胞の食食が低下していること、また四塩化炭素 (CCl₄) 投与による肝傷害領域への KC の行動に変化が見られることを報告した。今回はさらに、KC の食食関連レセプターの発現、および CCl₄ 肝傷害モデルにおけるサイトカイン産生の違いについて検討した。

【結果】KC 粗精製分画を用いた mRNA 測定では、食食関連レセプター (CD204, CD36, TAM レセプター) の発現が KO マウスにおいて低下傾向を示し、特に CD36 ではその傾向が強く見られた。KO マウスでは CCl₄ 投与後の TGF- β および TNF- α の産生に低下がみられた。また、MCP-1 の産生と KC の数も低下していた。

【結論】KO マウス KC では食食関連レセプターの中で特に CD36 の発現の低下傾向が認められ、KC の食食能に関与することが示された。また、KO マウスの肝傷害モデルでの TGF- β 、TNF- α 及び MCP-1 の発現低下は、炎症反応やマクロファージ遊走の惹起において FABP7 欠損が KC の機能に影響を及ぼすことを示唆している。

24 Effects of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) on mucosae

©Dolgoruren Aldartsogt¹, Kikui Yamashita¹, Kazumi Sagayama², Kazuo Sakuma³, Shine-Ōd Daikhsuren¹, Kaori Sumida¹, Shinichiro Seki¹, Takahumi Masui¹ and Seichiro Kitamura¹ ¹Department of Oral and Maxillofacial Anatomy, ²Department for the Promotion of Industry-Academia-Government Collaboration, University of Tokushima ³Institute of Beam Bioscience and Bioinformatics

[Introduction] Chaga mushroom is a type of fungus that grows in a white birch tree. Chaga mushroom extract contains the triterpenoid saponins such as pycosterols with antitumor activity, water-soluble lignin as a sort of polyphenol with antiviral and antioxidant effects, and β -D-glucan as polysaccharide with immunomodulating activity. [Objectives] The purpose of this study was to elucidate how Chaga mushroom affected on mucosae. [Materials and methods] The effects of Chaga extract on the cell proliferation, metabolic activity and gene expression of mucosa by using WST8, apizym test and microarray assay. [Results and discussion] The proliferation of the epithelial cells of mucosa was activated. The energy metabolic enzymes of alkaline phosphatase, naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, acid phosphatase, the lipid metabolic enzymes of lipase, esterase, esterase-lipase, and the protein metabolic enzymes of leucine and valine amino peptidase were activated. Still more, the gene expressions related with insulin sensitivity and epithelial cell differentiation were reinforced. [Conclusion] It was considered that Chaga mushroom activated the differentiation of mucosa related with the enzyme activities of energy, lipid and protein metabolism.

25 細胞膜修復時におけるアネキシン、MICAL1 およびアネキシン結合タンパク S100 タンパクの動態とエクソサイトーシス

三宅 克也¹, 松田 知栄², 濱田 萌¹, 川合 克久¹, 江上 洋平¹, 林 由起子³, 荒木 伸一¹ (¹香川大・医・組織細胞生物, ²産業技術総合研・バイオメディカル研, ³東京医科大学・神経生理)

細胞膜は運動などの生理的負荷により常に傷つき修復を繰り返している。この膜損傷部から流入するカルシウムイオンが、細胞内小胞を融合させながらエクソサイトーシス(exocytosis)を引き起こし、損傷部へ膜を供給して膜修復を行うと考えられている。しかしながら、これらの細胞内の小胞膜の起源は混沌としている。一方、FGFなど膜に区切られず細胞質に存在する可溶性タンパク質はどのように分泌されるのかよくわかっていない。本研究では、GaAsP高感度検出器と多光子レーザー顕微鏡を使用し、GFPタグを付けたMICAL1, FGF1, アネキシンA1, -A2, -A4, -A5, -A6, -A7, およびアネキシン結合タンパク S100A11, -A10 を発現させた培養細胞(BS-C-1, C2C12), ならびに生体内に近い筋線維を用いてLIVEイメージングを行った。その結果、細胞内のアネキシン, MICAL1 およびS100タンパクが、細胞外Ca²⁺存在下の条件で膜損傷部周辺に強く集積し波状に損傷部へ向かい、小胞が集まり融合する様子が確認された。さらに、細胞内から過剰に供給された細胞膜がGFPを含む細胞質をちぎりながら分泌する様子(ectosome shedding)が観察され、膜修復に伴うエクソサイトーシス(ectocytosis)と考えられた。

26 水銀アーク光源蛍光顕微鏡をベースとした photo-manipulation システムの構築

荒木伸一¹, 池田結香¹, 加藤琢磨², 川合克久¹, 江上洋平¹, 三宅克也¹

香川大学 医学部 ¹組織細胞生物学・²泌尿器科学

Microscopic Photo-Manipulation (MPM)は、植物に含まれる光受容ドメインを機能分子と融合させることで光刺激による機能分子活性の可逆的制御を可能とし、その機能を顕微鏡下で可視化、解析する方法である。通常、MPMは特定の細胞領域をレーザー照射することができる共焦点レーザー顕微鏡のphotobleaching機能を用いて行われるが、今回、我々は、一般の電動蛍光顕微鏡を用いたソフトウェアでのプログラミングで簡単にMPMを行うシステムを構築した。

倒立型電動顕微鏡(Leica DMI6000)をベースとし、蛍光観察および光刺激光源は、高圧水銀アークランプを使用した。電動の励起視野絞りを利用して光刺激部位のサイズと画像取得時のサイズを選択した。蛍光キューブ電動ターレットには、光刺激用にCFPフィルター、蛍光画像取得用にRFPおよびYFPフィルターを備えた。画像取得にはOrca FLash2.8カメラを使用した。これら全ての顕微鏡機能を連動制御するようにMetaMorphイメージングソフトウェアのジャーナル機能でプログラミングし、自動で多波長タイムラプス画像取得とインターバルでの光刺激ができるように構築した。RAW264マクロファージにPhoto-activatable Rac1のプラスミド(pTriEx/mCherry-L0V-Rac1 Q61L)をNeon遺伝子導入装置で導入し、12-24時間後にRac1活性光制御実験を行った。このシステムを用い、光刺激によりラメディオグリア伸展、ラッピングなどRac1依存性の細胞運動を安定して誘起、制御することができた。講演では、このシステムの利点・応用についても紹介する。

27 幼若期の生活リズムの乱れが成長に与える影響

澤田 直樹, 坂田 ひろみ, 福井 義浩
徳島大学大学院 HBS 研究部機能解剖学分野

幼若期の生活リズムの乱れが成長に与える影響を明らかにするため、異なる時間帯に母獣と仔を分離する母仔分離モデルを作製し、仔の体重増加、脂肪蓄積、摂餌量および肝臓における遺伝子発現を調べた。哺乳中の仔ラットの7-21日齢に、母獣との同居を、常に行うNT群、明期のみの12時間に制限したL群、暗期のみの12時間に制限したD群を作製した。21日齢に離乳した後は全群で固形飼料を自由摂取させた。L群は6週齢まではNT群より体重が少なかったが、7週齢以降はその差が認められなくなった。一方、D群は10週齢でもNT群より体重が少なかった。10週齢において、精巢上体脂肪および後腹膜脂肪量は、L群はNT群との差が認められなかったが、D群は少なかった。摂餌量は、L群がNT群と同様であるのに対し、D群は少なかった。19日齢における肝臓の遺伝子発現を調べた結果、NT群と比較して、L群は時計遺伝子の発現リズムが反転していた。また、D群は時計遺伝子と相互作用を持つ代謝関連遺伝子であるPGC-1 α の発現が亢進していた。10週齢では肝臓の時計遺伝子、代謝関連遺伝子の発現に3群間の差は見られなかった。

以上より、母仔分離を行う時間帯を変えることで、仔ラットの概日リズムに変化を生じること、さらにその影響は成長後の摂餌量および体重増加に影響を及ぼす可能性が示唆された。

28 Salt-inducible kinase 3 (SIK3) による代謝と概日リズム同時制御

早坂直人^{1,2}, 徳田功³, 竹森洋⁴, 篠田晃¹
¹山口大院医学研究科・機能神経解剖, ²JST さきがけ, ³立命館大学・理工・機械工学, ⁴医薬基盤研・代謝疾患関連タンパク探索

SIKはエネルギーセンサーとして知られるAMP kinase (AMPK)関連リン酸化酵素ファミリーの一部であり、3つのアイソフォームが知られるが、特に進化的保存性の高いSIK3の機能については未解明であった。SIK3ノックアウト(KO)マウスでは重篤な骨形成異常、代謝異常が認められ、生後1日目で9割以上が死亡する。我々は以上の表現型に加えて、行動、摂食、代謝等の概日リズムにも異常をきたすことを見出した。SIK3 KOマウスでは、概日リズム位相が野生型と比較して約6時間後退していた。また、暗条件下でも活動リズム周期や位相が安定せず、夜間の活動量低下と昼間の活動量や摂食量の有意な上昇が観察された。また、光再同調実験では、光に同調するリズムと非同調(自由継続)の二つの活動リズムが乖離する個体も見られた。概日リズム制御中枢(視床下部視交叉上核、SCN)の培養スライスをを用いた時計遺伝子Per2の発光リポーター(Per2-luciferase)解析では、KO SCN細胞間のリズム同調に異常が認められ、また、KOマウス脳から採取した細胞株では、リズム同調の減弱や周期の不安定性が観察された。更にSIK3は、PER2の分解に関与している可能性が新たに示唆された。

以上の結果から、SIK3は代謝制御に重要な役割を果たすのみならず、概日リズム制御にも必須のリン酸化酵素であることが示唆された。本研究は、新たな時計関連遺伝子の発見であると同時に、近年注目されている、概日リズムと代謝のリンクを明らかにする上で、双方で中心的役割を果たす共通因子を見出したものとも言える。

29 ウナギ視索前野における血液脳関門欠損部位：哺乳類脳の終板脈絡器官との比較

椋田崇生¹, 濱崎佐和子^{1,2}, 小山友香¹, 竹井祥郎², 海藤俊行³, 井上貴史³
¹広島大学大学院総合科学研究科行動科学講座, ²東京大学大気海洋研究所生理学分野, ³鳥取大学医学部解剖学講座

哺乳類脳の前脳には、血液脳関門(BBB)を欠く脳弓下器官(SFO)と終板脈絡器官(OVLT)があり、これらは血中ホルモンを受容して末梢の情報を脳に伝える。哺乳類では、血中アンギオテンシンII(Ang II)がSFO/OVLTに作用すると、強い渴感を惹起させ、飲水行動を誘発することは良く知られている。海産魚も哺乳類と同様に、血中Ang IIが脳に作用すると飲水する。しかし、魚類前脳ではBBBを欠く領域がほとんど検討されておらず、Ang II誘発性の飲水は、Ang IIがBBBを欠く延髄の最後野(AP)に作用することで“反射的”に引き起こされると考えられてきた。そこで本研究では、魚類の飲水調節機序を解明するモデルであるウナギを用いて、前脳で血管透過性の高い領域を探索した。ウナギの血中にエバンスブルー(EB)を投与すると、APや下垂体、松果体のほかに、視索前野の一部でEBの蓄積を認めた。免疫染色によって、この領域でカテコールアミン作動性またはコリン作動性ニューロンが検出された。透過型電子顕微鏡による観察では、窓有性毛細血管と広い血管周囲腔を認めた。哺乳類OVLTはパソプレシン作動性ニューロンの局在する室傍核に神経を投射する。そこで、パソプレシン様免疫陽性反応を示すウナギの室傍核相当部位にデキストランアミンを微量投与すると、EBの蓄積を認めた領域の細胞体が逆行性に標識された。これらの結果は、ウナギ視索前野の一部は哺乳類OVLTと相同な部位であることを示しており、魚類の飲水において、新たな神経調節機序が存在する可能性を示唆している。