

日本解剖学会

第91回近畿支部学術集会

会 期：平成27年11月28日（土）

会 場：京都工芸繊維大学・総合研究棟

1 LPS 炎症刺激時における脳室周囲器官の神経幹および前駆細胞の挙動

古部瑛莉子、¹ 森田光洋、² 宮田清司¹¹ 京都工芸繊維大学大学院・工芸科学研究科・応用生物学専攻、² 神戸大学大学院・理学研究科・生物学専攻

長らく、成体哺乳類の脳で神経幹細胞が存在するのは海馬歯状回と側脳室下帯のみであると考えられていた。しかし近年、脳室周囲器官にも神経幹細胞が存在することが明らかになった。神経幹細胞の機能的意義として、海馬歯状回では記憶の形成、側脳室下帯は嗅覚依存行動に関与することなどが分っている。脳室周囲器官に存在する神経幹細胞については、分泌系脳室周囲器官である正中隆起に存在する神経幹細胞が弓状核に神経細胞を供給し、体重調節に関わることが判っているが、感知系脳室周囲器官である終板器官、脳弓下器官、最後野に存在するものについてはほとんど解明されていない。我々は Nestin-CreERT2/CAG-CAT loxP/loxP-EGFP マウスおよび増殖細胞を検出する BrdU を用いた免疫組織化学により、終板器官、脳弓下器官、最後野には Nestin 陽性のアストロサイト様神経幹細胞と、ependymal cell layer に存在し、脳実質側に伸びる長い突起を有したタニサイト様神経幹細胞の2種類の神経幹細胞が存在することを明らかにした。また、脳室周囲器官は、感染時において細菌由来のリポ多糖(LPS)を血中から受容し、脳内免疫応答の開始点となることが知られている。そこでLPS(1mg/kg)をマウスに単回腹腔内投与し、免疫刺激を与えたところ、LPSを投与した群ではそうでない群と比較して神経幹細胞および前駆細胞ともに顕著にその増殖が抑制されていることが分った。

2 感知系脳室周囲器官における炎症情報伝達機構について

森田・竹村晶子、中原一貴、辰巳晃子、奥田洋明、和中明生
奈良県立医科大学・医学部・第二解剖学講座

細菌菌体成分の LPS により全身の炎症状態を作り出すと、感知系脳室周囲器官で炎症性サイトカイン IL-1 β の発現が上昇する。この IL-1 β シグナリングが、体温調節中枢である視索前野を介した発熱に必要である。感知系脳室周囲器官は一般的な血液脳関門を持たないが、自由に分子が透過するわけではなく、分子量によって透過様式が異なることをこれまでの研究で認めている。LPS や炎症性サイトカインはいずれも分子量が 1 万以上であるが、相当する分子量のトレーサーは、感知系脳室周囲器官の解剖学的特徴である毛細血管の周りの大きな血管周囲腔に留まった。末梢由来の LPS がどのような仕組みで脳室周囲器官実質における IL-1 β 発現を誘導するか明らかにするために、血管周囲腔に着目した。感知系脳室周囲器官の血管周囲腔には Iba1 陽性のマクロファージ様細胞が存在し、末梢由来の大分子量トレーサーはこのマクロファージ様細胞に食食されていた。また LPS 投与後脳実質での IL-1 β 発現に先行して、血管周囲腔のマクロファージ様細胞において IL-1 β の発現が認められた。以上の結果より、血管周囲腔のマクロファージ様細胞は血中の LPS や炎症性サイトカインの情報を脳実質へ伝達する役割を持つことが示唆された。

3 オリゴデンドロサイトのストレス応答と抑肝散

宮田信吾¹、清水尚子¹、田中貴士¹、松村彬世¹、川上あゆみ¹、遠山正彌¹
¹ 近畿大学・東洋医学研究所・分子脳科学研究部門
² 大阪府立病院機構

うつ病をはじめとする精神疾患の発症には様々なストレス等の環境要因が大きく関与することが知られている。すなわち、ストレス応答系である視床下部-下垂体-副腎軸 (HPA axis) が繰り返し受けるストレス等により過剰に刺激され続けることで調節不全に至り、うつ病などの精神疾患が発症するというストレス仮説が以前から想定されている。しかし、その分子機序や脳の機能的変化はこれまでに明らかにされていないのが現状である。我々は、これまでに慢性ストレス暴露による HPA axis 系の異常により、オリゴデンドロサイト特異的な応答機構が活性化することを報告してきた。また、抑肝散がストレス応答系に関与するか否かについて HPA axis 活性化を指標に検討したところ、抑肝散前処理ストレス群で血中のコルチコステロン量上昇を有意に抑制した。この結果から、抑肝散は HPA axis の正常化に関与する可能性を示唆していると共に HPA axis 調節因子の一つグルココルチコイド受容体(GR)の新規機能の可能性が考えられた。そこで我々は、オリゴデンドロサイトにおける抑肝散による GR 調節機構の可能性について検討したので報告させて頂きたい。

4 オリゴデンドロサイトの発達に対する PlexinB1 受容体の関与

加藤はづき、内藤彩賀、中田茉佑、川田明佳、稲垣忍
大阪大学大学院・医学系研究科・保健学専攻・神経生物学研究室

オリゴデンドロサイトは中枢神経系の髄鞘形成細胞である。髄鞘はニューロンを伝導していく電気的なシグナルを絶縁することで跳躍電動を誘導し、活動電位の伝導速度を高めている。Sema4D は反発性の軸索ガイダンス因子である。生後発達期の脳では、Sema4D はオリゴデンドロサイトに発現しており、Sema4D KO によりオリゴデンドロサイトのアポトーシスが抑制され、オリゴデンドロサイト数が増加することが報告されている。この Sema4D の受容体として知られているのが PlexinB1 と CD72 であるが、私たちは PlexinB1 に注目した。そこで、Sema4D によるオリゴデンドロサイト数の増加抑制やアポトーシスの抑制に関与する受容体が PlexinB1 であるかどうかを検討するために発達期の PlexinB1 KO マウスを用いて実験を行い、PlexinB1 KO マウスの大脳皮質と脳梁において一過性にオリゴデンドロサイト数が増加することを見出した。さらにオリゴデンドロサイト数増加の原因としてアポトーシス抑制、オリゴデンドロサイト増殖能の増加などを検討している。

5 脳梗塞下の microglia 活性化における Sema4D-PlexinB1 経路の影響の解析

渡邊文也、澤野俊憲、石口満津子、稲垣忍
大阪大学大学院・医学系研究科・保健学専攻・神経生物学研究室

microglia は脳内固有の免疫細胞である。正常な脳内において、microglia は小さな細胞体と細く枝分かれした突起を持った形態 (ramified microglia) を示すが、脳内に異常が発生すると、突起は退縮しアメーバ状の形態 (ameboid microglia) に変化する。Sema4D は反発性軸索ガイダンス因子として同定されたタンパク質であるが、免疫系における作用も注目されている。microglia においても Sema4D の受容体である PlexinB1、CD72 の双方が発現していることから、microglia の活性化においても Sema4D が関与していることが予想される。そこで当研究室では、中大脳動脈閉塞脳梗塞モデル (MCAO マウス) を作製し、梗塞巣付近の microglia を WT マウスと Sema4D KO マウス間で比較した。すると Sema4D KO マウスにおいて、①活性化 microglia の形態である ameboid-microglia の減少、②細胞傷害性を示す一因である iNOS 発現 microglia の減少と脳組織中 Nitrite 濃度の減少、③ microglia の増殖の亢進が観察された。また梗塞巣付近の大脳皮質において、細胞死の減少が観察された。次に、これらの現象が Sema4D の受容体である PlexinB1 を介しているかを検証するために、PlexinB1 KO マウスを使用し、同様の実験を行った。その結果、PlexinB1 KO マウスにおいて、ameboid microglia の減少や microglia における iNOS 発現の減少など Sema4D KO マウスと同様の傾向が観察された。よって、脳梗塞下の microglia 活性化には Sema4D-PlexinB1 経路が関与していることが示唆された。

6DRG ニューロン突起起始部を被うグリア細胞の組織学的研究

小池 太郎、平原幸恵、山田久夫
関西医科大学・医学部・解剖学第一講座

大型の脊髄神経節（DRG）ニューロン突起起始部は起始部グリアと名付けられたグリア細胞に被われる。このグリア細胞は他の末梢神経系グリア細胞と形態学的に区別されているが、55 年前の報告（Pannese 1960）以降このグリア細胞を対象とした論文は見当たらない。そのため細胞の特徴はよくわかっていない。本研究ではこの細胞の特徴を明らかにするため、若年成獣ラットを免疫組織化学的に検索した。まず末梢神経系グリアおよび大型ニューロンを染色したところ、大型ニューロンの突起起始部（約 100μm）に起始部グリアが 10 細胞程度存在し、それ以遠の領域は有髄シュワン細胞に包まれていた。また、ニューロンの細胞体はサテライトグリアに被われていた。次に各グリア細胞種特異的のマーカーによる染色を施したところ、起始部グリアのうちニューロンの細胞体に近い位置に分布するものはサテライトグリア特異的のマーカーである Kca2.3 に陽性を示した。一方、ニューロンの細胞体から離れた位置に分布するものの一部は、髄鞘形成前のシュワン細胞マーカーである Oct-6 陽性であった。Oct-6 陽性細胞が髄鞘形成に関与するかを確かめるため BrdU 投与実験をおこなった。BrdU 投与 1 時間後では BrdU は Oct-6 陽性細胞に認められた。BrdU 投与 2 週間後では最も起始部グリアに近い位置の有髄シュワン細胞に BrdU が認められた。これらの結果から、起始部グリアと定義される細胞は、少なくともサテライトグリアと同様の性質を持つ細胞と髄鞘形成能を持つ細胞の 2 種類の細胞から構成されていると考えられた。

7急性腎障害における早期診断因子としての超音波検査による腎輝度の有用性の検討

村田真野^{1,2)}、杉山紀之¹⁾、前村憲太郎¹⁾、大槻勝紀³⁾
¹⁾ 大阪医科大学・生命科学講座・解剖学教室
²⁾ 市立ひらかた病院・小児科
³⁾ 大阪医科大学

【背景・目的】急性腎障害（AKI: Acute Kidney Injury）は急速に腎機能が低下する病態であり、未だに死亡率が高いことが知られている。腎機能のおもな指標は血清クレアチニン(Cr)である。血清 Cr は腎障害から 12-24 時間後に上昇するため、これが上昇している時点では AKI への治療介入が遅れていることが多い。そのため血清 Cr 値より鋭敏な AKI の早期診断因子の探索が精力的に行われている。AKI の診断バイオマーカーとして既に NGAL などが実用化されているが、血液尿検体で測定するために頻回に採取することが難しい。われわれは Cr が上昇する前に超音波検査で腎実質輝度が上昇している AKI 症例を臨床で経験する。そこで、AKI の早期診断因子として超音波検査における腎輝度の有用性を検討した。【方法】われわれは AKI モデルとして虚血再灌流(IRI: Ischemia-Reperfusion Injury)マウスを作製した。IRI 2, 6, 12, および 24 時間後に超音波検査による腎輝度、血清 Cr、および尿中 NGAL を測定した。また、虚血時間と輝度との関連を探索するために腎組織学的評価を行った。【結果】腎輝度は IRI 2 時間後に有意な上昇を認めた。血清 Cr は IRI 12 時間後に、尿中 NGAL は IRI 6 時間後に有意な上昇を認めた。また、腎輝度と腎組織学損傷度は虚血時間に伴って上昇していることを確認した。【考察】腎輝度は血清 Cr や尿中 NGAL よりも早期に上昇していた。超音波検査は血液尿検査より侵襲性が低くリアルタイムで評価が可能である。これらのことから、超音波検査における腎輝度は AKI の早期診断因子として有用である可能性が示唆された。

8Differential distribution of the renal nerve cells in the rat kidney.

Maeda, S., Minato, Y., Kuwahara-Otani, S., Tanaka, K., Hayakawa, T., and Yagi, H.
Department of Anatomy and Cell Biology, Hyogo College of Medicine

Renal nerve plexus comprise efferent and afferent fibers, and control urine production and body fluid homeostasis. Efferent fibers to the kidney include sympathetic nerve fibers from their main ganglia, such as prevertebral suprarenal ganglia (SrG) and paravertebral sympathetic chain ganglia (ChG) T11 to L1 (Maeda et al., 2014). In the present study, we examined the topological innervation from these ganglia to the renal parenchymal segments in the rat kidney. Alexa Fluoro (AF) 488 and AF555 conjugated cholera toxin beta subunit (CTb) were injected into the anterior (cranial) segment and posterior (caudal) segment of the kidney, respectively. Three days after injection, the left sympathetic ganglia were fixed and embedded in gelatin. AF488 positive cells were significantly abundant in the SrG and AF555 positive cells were in the ChG T13, suggesting that the cell distribution of these ganglia correspond to the innervation of their fibers into the renal segments. On the other hand, CTb-AF555 was injected into SrG to observe the preganglionic neurons. The thoracic and lumbar spinal cords were fixed and embedded in gelatin, and serial frozen sections were obtained. AF-positive cells were distributed in T6 to L2, especially in T10 to T13, indicating that the preganglionic neurons which control the SrG postganglionic neurons may be in the lower thoracic spinal cords.

9前方左咽頭弓に存在する心臓領域の発生異常によって完全大血管転位(TGA)が起こる

馴松麻悠¹⁾、上村竜也¹⁾、山岸敏之¹⁾、福井充²⁾、中島裕司¹⁾
¹⁾大阪市立大学大学院・医学研究科・器官構築形態学、²⁾推計学

円錐動脈幹の発生には前方咽頭弓の中胚葉性間葉に存在する前方心臓領域(AHF)と心膜体腔の臓側中胚葉に存在する二次心臓領域(SHF)が関与する。よって特定の AHF/SHF の発生異常が特定の円錐動脈幹奇形の発生要因となることが示唆される。本研究の目的は胎児に心奇形を起こすレチノイン酸(RA)をビーズに含浸させ、ニワトリ胚の AHF、SHF に局所投与し TGA 発症に係る責任領域を明らかにすることである。ステージ 12 胚の AHF への RA 投与によって TGA と両大血管右室起始(DORV)が発症し、SHF への投与によって総動脈幹遺残(PTA)が発症した。さらに左 AHF のみに RA を作用させると TGA が高頻度に発症した。RA は蛍光標識した AHF の円錐動脈幹への移動と培養した AHF の心筋分化を抑制した。以上の結果からステージ 12 胚(初期心ループステージ)の左 AHF の発生異常によって TGA が発症することが示唆された。この発生ステージはマウスで 8.5 日、ヒトではカーネギーステージ 10 - 11 に相当する。

10ニワトリ胚の左精巣に特異的な細胞運命の追跡

表原拓也¹⁾、南 貴一¹⁾、万谷洋平²⁾、梅村ゆりあ¹⁾、西田美穂²⁾、平野哲史¹⁾、吉岡秀文³⁾、北川 浩³⁾、横山俊史¹⁾、星 信彦¹⁾

¹⁾神戸大・院農・分子形態、²⁾神戸大・院農・組織生理、³⁾兵教大・院学教・認識形成

【緒言】ニワトリ胚において、性腺発生の早い段階では雌雄とも左性腺で皮質が肥厚するなどの左右差がみられる。その後、雌ではその左右差が拡大し左側にのみ機能的な卵巣が形成されるのに対し、雄では皮質が次第に消失し左右両側に精巣が形成される。しかしながら、雄左性腺の皮質を構成する細胞がどのように消失するのかは不明なため、その運命を追跡した。

【方法】雄ニワトリ胚の性腺の表面を蛍光色素 PKH26 で標識した後、器官培養を行った。また、上皮間葉転換(EMT)マーカーなどに対する免疫組織化学的解析、ならびに超微形態学的解析を行った。

【結果・考察】髄質のセルトリ細胞で発現する DMRT1 が皮質の上皮細胞でも発現しており、皮質の DMRT1 発現細胞が精巣索のセルトリ細胞と連続していることが認められた。器官培養後、左性腺の髄質内に PKH26 標識細胞が低頻度ながら観察され、それらはセルトリ細胞マーカー陽性であった。また、皮質の上皮細胞において間葉系細胞マーカーである Vimentin が検出され、精巣索と接続している領域では上皮細胞マーカーである E-cadherin 陰性上皮細胞がみられた。透過型電子顕微鏡下で精査すると、皮質から精巣索に向かって細胞質を伸長している細胞がみられ、その先端方向に細胞骨格繊維が収束していた。これらの結果から、雄の左性腺で肥厚した皮質を構成する細胞は、髄質、とくに精巣索へ移動しセルトリ細胞へと分化することが示唆された。

11ニワトリの性腺形態における左右差形成メカニズムの解明

南 貴一¹⁾、表原拓也¹⁾、田淵圭章²⁾、梅村ゆりあ¹⁾、平野哲史¹⁾、横山俊史¹⁾、北川 浩³⁾、星 信彦¹⁾

¹⁾神戸大・院農・分子形態、²⁾富山大・生命科学先端研究センター、³⁾神戸大・院農・組織生理

【緒言】ニワトリを含む多くの鳥類の性腺形成過程には、哺乳類とは異なる特徴的な事象が存在し、雄では精巣が左右両側に形成されるのに対して、雌では卵巣が左側のみ形成される。この左右差形成に関するメカニズムの詳細は未だ明らかになっていないため、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析およびパスウェイ解析による性腺左右差形成メカニズムの解明を試みた。【方法】孵卵 7 日の雌雄ニワトリ白色レグホーン種から左右性腺を別々に採取した後、RNA 抽出を行い、5 個体分の RNA プールを作製した。それらに対してマイクロアレイを行った後、パスウェイ解析を行い、遺伝子ネットワーク図を作製した。【結果・考察】マイクロアレイの結果、雌右性腺において最も高発現を示した遺伝子は 81 個、最も低発現を示した遺伝子は 177 個であった。これらの遺伝子群についてパスウェイ解析を行い、“細胞増殖”をキーワードとして遺伝子ネットワーク図を作製した。その中から、雌性腺の左右差形成メカニズムに関与していると推測される遺伝子として、雌右性腺において低発現であり細胞増殖を促進する遺伝子、あるいは高発現であり細胞増殖を抑制する遺伝子を選出した。今後、これらの候補遺伝子について詳細に調べることで性腺の左右差形成メカニズムの解明に関する手がかりとなることが期待される。

12 性逆転系統 (B6-XY^{POS}) マウスにおける性腺分化と遺伝的背景

梅村ゆり¹⁾, 表原拓也¹⁾, 平野哲史¹⁾, 久保田直人¹⁾, 柳井翔吾¹⁾,
増田なつみ²⁾, 湯浅秀人²⁾, 万谷洋平²⁾, 北川 浩²⁾, 横山俊史¹⁾, 星 信彦¹⁾
¹⁾神戸大・院農・分子形態, ²⁾神戸大・院農・組織生理

【緒言】哺乳類の性は Y 染色体上の遺伝子 *Sry* の有無により決定されるが、性決定/性分化の過程は、雄化と雌化のせめぎあいの中で極めて微妙なバランスの上に成立しており、それが崩れると容易に性逆転/性転換することが知られている。C57BL/6J (B6J) マウスに、*Mus domesticus poschiavinus* 由来の Y 染色体を導入した B6J-XY^{POS} マウスの性腺は、75%が卵巣、25%が卵精巣に分化するとの報告がある。しかしながら、当研究室の NIH 系の B6N-XY^{POS} マウスには、既報と異なり、両側に精巣を有し、妊娠能をもつ個体 (T/T) や真性半陰陽個体 (O/T) も出現した。そこで、性分化関連遺伝子の時空間的発現を、野生型 (B6N) と比較検討した。【材料と方法】胎齢 11.5-12.5 日および性成熟期付近における B6N-XY^{POS} 性腺の性分化関連遺伝子発現を免疫組織化学的に検索した。【結果】B6N-XY^{POS} 性腺の胎子期における *Sry*, *Sox9* 発現は、野生型性腺と比較して 2-3 ts (尾体節数) 遅く、B6J-XY^{POS} 性腺よりも早かった。また、T/T 個体の精巣は、野生型と同様の精細管構造および精子形成像がみられ、妊娠能を裏付ける結果となった。一方、O/T 個体の精巣では変性した精細管および Foxl2 の異所性発現がみられた。卵巣では、正常な組織像はみられず、出血像や成長に伴う卵胞数の著しい低下がみられた。【考察】胎子期の B6N-XY^{POS} 性腺における *Sry*, *Sox9* 発現のわずかな遅れが既報との表現型の差につながると考えられ、最近明らかにされている B6J と B6N との遺伝的背景差も関与する可能性が示唆された。

13 細胞周期制御における絨毛遺伝子 *INV* の役割

茂田昌樹, 横山尚彦
京都府立医科大学・学院医学研究科・体機能形態学部門

【目的】絨毛腎を発症する *InvΔC* マウス (*Inv* 変異マウスに *Inv* の C 末端が欠失した *InvΔC* を発現させたマウス) における γ H2AX の発生段階におけるマウス腎臓での発現を免疫蛍光染色で調べたところ、生後 P1 から P30 で増加していることがわかった。この γ H2AX の発現パターンが細胞周期変化に依存するかどうか、*InvΔC* に Fucci マウスを交配させて作製した Fucci: *InvΔC* マウスを用いて、現在検討中である。本発表では *INV* と、細胞周期制御、DDR シグナルとの関連性について議論したい。

【方法と結果】

【考察】

14 脊髄介在ニューロンが発現する Netrin-4 は中枢感作を引き起こす

早野素史, 山下俊英
大阪大学大学院・医学系研究科・分子神経科学教室

痛覚伝達の中継基地である脊髄後角ニューロンの神経興奮 (中枢感作) は慢性疼痛の主要な原因の一つと考えられている。我々は軸索ガイダンスファミリーの一つである Netrin (ネトリン)-4 が後角2層の興奮性介在ニューロン特異的に発現していることを見出し、Netrin-4 が疼痛病態の形成・維持に関与している可能性について検証した。

Netrin-4 遺伝子欠損ラットを用いて神経障害性疼痛モデル (座骨神経部分絞扼モデル) を作製し、痛み関連行動をテストしたところ機械性および熱性アロディニアの顕著な緩和が観察された。同様の鎮痛効果は疼痛慢性期に Netrin-4 の siRNA もしくは機能阻害抗体を髄腔内投与することでも得られた。また Netrin-4 タンパク質を脊髄髄腔内に投与したところ、神経障害を与えていないにも関わらず脊髄後角内の神経興奮とアロディニアを引き起こした。更にこの Netrin-4 の疼痛シグナルは、脊髄後角ニューロンに発現する Unc5B 受容体に結合することで引き起こされることを示唆する実験結果も得られた。以上の結果から、脊髄後角介在ニューロンから分泌される Netrin-4 が Unc5B 受容体との結合を介して中枢感作を引き起こす、という神経障害性疼痛の新たな分子メカニズムの存在が示唆された。

15 CPEB1 は 3'UTR を介して自身の mRNA 樹状突起局在化と局所翻訳を制御する

大江 総一, 田中 進, 山田 久夫
関西医科大学・医学部・解剖学第一講座

われわれは、CPE 配列をもつ標的 mRNA に結合し翻訳を抑制する RNA 結合タンパク質 CPEB1 の翻訳制御に着目して研究をおこなっている。まず CPEB1 mRNA の細胞内局在を *in situ* hybridization 法にて検索したところ、正常マウスの終脳皮質や海馬の錐体ニューロンの樹状突起に顆粒状に存在し、この顆粒状所見はピロカルピン投与によるてんかん重積状態で増加していた。また、培養ニューロンでは、CPEB1 mRNA の樹状突起局在化には 3' UTR が関与し、CPEB1 mRNA が翻訳抑制因子である FMRP や CPEB1 自身と樹状突起内で共局在することも明らかとなった。GFP の 3' 側に CPEB1 mRNA 3' UTR 配列を挿入してマウス神経芽細胞腫 Neuro2a 株細胞に導入したところ、GFP に比べタンパク質量が有意に減少し、翻訳が抑制されたと考えられた。CPEB1 と FMRP を siRNA にてノックダウンした Neuro2a 細胞ではタンパク質量が増加したことから、CPEB1 の翻訳抑制に FMRP や CPEB1 が関与すると考えられる。FMRP や CPEB1 によって制御される CPEB1 の翻訳抑制が、ニューロンの刺激応答の多様性に貢献している可能性について、今後明らかにしていきたい。(本研究の大部分は前所属・自治医大解剖学講座解剖学部門の野田教授・西村准教授・三木講師のもとでおこなわれた。)

16 側坐核の NPY 発現とうつ様行動への 5-HT_{2c} 受容体 RNA 編集の関与

青木実空, 渡邊義久, 辻村敦, 田中雅樹
京都府立医科大学 脳血管系老化センター・基礎老化学

5-HT_{2c} 受容体 (5-HT_{2c}R) は 7 回膜貫通型 G 蛋白質共役型受容体で、側坐核、扁桃体、海馬、視床下部など中枢神経系に広く発現し、摂食・睡眠・情動などに関与している。5-HT_{2c}R mRNA は RNA 編集酵素 ADARs によって核内で RNA 編集を受け、5ヶ所のアデノシンがイノシンに変換される可能性があるため、24 種類のアイソフォームを発現しうる。これまでに精神疾患患者や自殺者の死後脳において 5-HT_{2c}R の編集頻度に変化があるという報告があり、情動と RNA 編集に関係があることが示唆されるが、その詳細なメカニズムは未だ解明されていない。

今回、我々は C57BL/6 の未編集型のみを発現する遺伝子改変マウス (INI マウス) と野生型マウス (WT マウス) を用いて、生化学的・行動学的、さらには AAV で局所的に neuropeptide Y (NPY) を過剰発現させたマウスを用いるなど多角的に解析を行うことによって、5-HT_{2c}R RNA 編集とうつ病との関係を検索した。強制水泳試験の結果、INI マウスは WT と比較してうつ傾向を示し、薬剤感受性が高いことがわかった。脳各領域のモノアミンを定量したところ、INI マウスの側坐核、線条体、扁桃体で 5-HT 量の有意な減少が認められ、さらにストレス関連ペプチドの比較において INI マウスの側坐核で NPY mRNA の有意な減少を認めた。そこで側坐核 NPY 遺伝子過剰発現マウスの行動解析をしたところ、強制水泳でうつ様行動が抑制された。これらのことから、側坐核の NPY 発現は 5-HT_{2c}R の RNA 編集によって調節されている可能性があり、その発現がうつ様行動と関連していることが示唆された。

17 RNA 結合タンパク質 hnRNP K のアルギニンメチル化修飾が樹状突起への mRNA 輸送を制御する

森泰丈¹, 猪口徳一¹, 遠山正彌^{2,3}, 佐藤真^{1,3}
¹ 大阪大院・医・解剖学 (神経機能形態), ² 近大・東洋医学研究所・分子脳科学, ³ 大阪大院・連合小児・分子生物遺伝学

α CaMKII mRNA は樹状突起に輸送され、局所翻訳を受ける代表的な mRNA である。我々は α CaMKII mRNA を樹状突起に輸送するメカニズムを解明する目的で、樹状突起輸送のシス領域として機能する α CaMKII mRNA の 3'-非翻訳領域 (3'-UTR) に結合するタンパク質の網羅的な解析を行なった。 α CaMKII 3'-UTR の配列を有する RNA プローブを用いてラット脳ホモジネートに対する pull-down assay を行なうことにより、3'-UTR に結合する多様な RNA 結合タンパク質を同定した。そのなかで hnRNP K は 3'-UTR の特定の領域に豊富に結合することから、 α CaMKII mRNA の輸送への関与が示唆された。そこで、ラット海馬ニューロンにおいて hnRNP K をノックダウンし、 α CaMKII mRNA の細胞内分布を解析したところ、樹状突起への mRNA 輸送は有意に抑制された。この輸送抑制は hnRNP K の 2 種類のバリエント Ka と Kb のうち、Kb により回復可能であったが、Ka では回復効果を認めなかった。さらに Ka と Kb の生化学的な相違について解析を進めたところ、 α CaMKII mRNA と結合する hnRNP K は Kb バリエントであり、Kb はアルギニンメチル化酵素である PRMT1 によりメチル化を受けることにより α CaMKII mRNA とより強く結合することが分かった。また、PRMT1 をノックダウンしたニューロンにおいても、 α CaMKII mRNA の樹状突起への輸送が抑制されることから、アルギニンメチル化された Kb タンパク質が α CaMKII mRNA の樹状突起への輸送を制御していることが示された。

18 生理学的条件下におけるラットパイエル板濾胞被蓋上皮における Toll-like receptor-4 の発現と M 細胞への分化との関係について

湯浅秀人¹⁾, 万谷洋平¹⁾, 増田なつみ¹⁾, 西田美穂¹⁾, 河野潤一²⁾, 横山俊史³⁾, 星 信彦³⁾, 北川 浩¹⁾
¹⁾神戸大・院農・組織生理, ²⁾神戸大・院農・感染症制御, ³⁾神戸大・院農・分子形態

【目的】ラットパイエル板 (PP) における常在細菌の増殖と濾胞被蓋上皮 (FAE) における Toll-like receptor (TLR) の発現および M 細胞への分化への影響について組織学的に精査した。【材料と方法】7 週齢の雄 Wistar 系ラット 15 匹から回腸の PP およびその周辺組織を摘出し, TLR-2, -4 および-9 に対する抗体を用いた酵素抗体間接法およびグラム染色をおこなった。【結果】細菌の存在しない 5 例の PP と細菌 (グラム陰性) の存在する 10 例の PP が得られた。細菌の存在しない PP のリンパ濾胞基部から中部の FAE には遊離縁が TLR-2, -4 ないし-9 陽性を呈する M 細胞が散在したが, 濾胞頂部では少なかった。リンパ濾胞の FAE 全長には TLR-2, -4 ないし-9 陽性の線条縁を有する微絨毛円柱上皮細胞 (MV) がわずかに散在したが, M 細胞の出現部位より下方の FAE には TLR 陽性の MV がほとんど出現しなかった。これに対して, 細菌増殖を伴う PP では, 細菌がリンパ濾胞の頂部から中部ないし基部にまで増殖した FAE では細菌の存在しないリンパ濾胞と比べて M 細胞は濾胞基部から中部に多数散在し, 濾胞頂部でもわずかに多かった。また, リンパ濾胞頂部の FAE に TLR-2, -4 ないし-9 陽性の線条縁を有する MV が少数出現するとともに, M 細胞の存在部位よりも下方に TLR-4 陽性の線条縁を有する MV が多数出現し, 中には TLR-4 陽性の微細顆粒および膜陽性の小胞を多数有するものも少数出現した。【結論】グラム陰性菌の増殖に応じて FAE 全域で TLR の発現が増加することが示唆されるとともに, MV における TLR-4 の発現に連動して M 細胞への分化が誘導されることが示唆された。

19 ラット呼吸器系粘膜を覆う液層に含まれる lysozyme および sPLA2 の分泌源の同定

増田なつみ¹⁾, 万谷洋平¹⁾, 西田美穂¹⁾, 湯浅秀人¹⁾, 河野潤一²⁾, 横山俊史³⁾, 星 信彦³⁾, 北川 浩¹⁾
¹⁾神戸大・院農・組織生理, ²⁾神戸大・院農・感染症制御, ³⁾神戸大・院農・分子形態

【目的】呼吸器系の粘膜を覆う液層には lysozyme や sPLA2 等の抗菌物質が含まれるとされているが, 分泌源の全容については明らかではないため, ラットを実験モデルとして呼吸器系全長を免疫組織化学的に調べた。【材料と方法】7 週齢の Wistar 系ラット雄 5 匹の鼻粘膜, 喉頭, 気管, 気管支および肺のパラフィン切片を作製し, lysozyme および sPLA2 に対する抗体を用いた酵素抗体間接法をおこなった。【結果】鼻粘膜から気管支に至る杯細胞の分泌顆粒および無線毛無微絨毛上皮細胞の遊離縁側の細胞質が lysozyme および sPLA2 陽性であった。線毛上皮細胞の線毛および微絨毛上皮細胞の微絨毛が lysozyme および sPLA2 陽性を示したが, 細胞質は陰性であった。基底細胞は陰性であった。肺胞では, 大肺胞上皮細胞および肺胞大食細胞の細胞質内顆粒が lysozyme 陽性を示した。扁平肺胞上皮細胞の細胞質は陰性であった。付属上皮外腺のうち, 鼻腺では終末部の漿液細胞 (SC), 介在導管の上皮細胞に加えて導管の上皮細胞 (DC) が lysozyme および sPLA2 陽性であった。喉頭腺では, 終末部の SC および粘液細胞に加えて DC が lysozyme および sPLA2 陽性であった。気管腺では, 終末部の SC に加えて DC が lysozyme および sPLA2 陽性であった。前記の外分泌腺の導管内腔には lysozyme および sPLA2 陽性を示す内容物が残存していた。【結論】呼吸器系における lysozyme および sPLA2 の分泌源が同定されるとともに, 呼吸器系のほぼ全域にわたる粘膜上の液層に lysozyme および sPLA2 を介する対微生物防御機構が備わることが明らかになった。

20 ラット回腸における間質細胞 telocyte に関する超微形態学的研究

万谷洋平¹⁾, 西田美穂¹⁾, 湯浅秀人¹⁾, 増田なつみ¹⁾, 横山俊史²⁾, 星 信彦²⁾, 北川 浩¹⁾
¹⁾神戸大・院農・組織生理, ²⁾神戸大・院農・分子形態

【目的】Telocyte は 2010 年 Popescu らによって命名された新規の間質細胞であり, 全身の様々な器官に存在することが報告されている。本研究では, ラットの回腸における telocyte の超微形態について精査するとともに, 他の細胞との関係についても調べることを目的とした。【材料と方法】7 週齢の雄 Wistar 系ラット 5 匹の回腸を摘出し, 粘膜固有層を透過型電子顕微鏡下で観察した。【結果】Telocyte はわずかな細胞質と楕円形の核を有しており, 細胞質には自由リボソーム, 少数のミトコンドリアや粗面小胞体のみとめられた。Telocyte の細胞体からは複数の極めて薄い細胞突起 (telopode) が粘膜固有層内に長く伸長していた。Telopode は数珠状を呈し, 細胞小器官を含まない極めて薄い区間 (podomer) と, 拡張した粗面小胞体やミトコンドリア等を含むわずかに拡張した区間 (podom) の繰り返しから構成されていた (名称は Popescu (2011) による)。Telopode は腸陰窩底部に最も高頻度でみとめられ, 腸絨毛では基部でのみまれにみとめられた。また, telocyte が粘膜固有層内で好酸球, 形質細胞や平滑筋細胞と近接する像がみとめられるとともに, Paneth 細胞が基底膜を貫通して伸長した細胞突起と telopode との近接像もみとめられた。【結論】ラットの回腸に存在する telocyte の超微形態学的特徴が明らかになるとともに, telocyte は粘膜固有層内では腸陰窩周囲に多く存在しており, その細胞突起を腸絨毛へ向かって伸長することが示唆された。また, ラット回腸の telocyte は粘膜固有層内の細胞や Paneth 細胞のような上皮細胞との間の細胞間ネットワークを構築している可能性が考えられた。

21 マウス舌ケラチノサイトの初代培養と細胞分化に伴う ephrin-B1 と EphB2 の発現

小原有加里, 小川和重
大阪府立大学・生命環境・獣医解剖

【背景と目的】重層扁平上皮の EphB/ephrin-B に関する報告はほとんど見当たらない。我々はマウスの各種組織・器官の重層扁平上皮を対象に ephrin-B と EphB サブクラス発現と局在を検討し, 舌背上皮で舌乳頭の形状に対応した ephrin-B1, EphB2, Ki67 発現の強弱があることを見出した。本研究では, 舌ケラチノサイト(KC)の初代培養を行い, 分化・増殖と細胞構築の観点から ephrin-B1/EphB2 の働きを調べることを目的とした。【材料と方法】ICR マウス(数週齢)の舌を材料に, Collagenase で細胞を分散後, マウス KGF を添加した市販のヒト KC 用培養液(KGM Gold, Lonza)で培養した。得られた KC を分化用培養液(1.3mM CaCl₂ と 10%FBS を添加)および EphB2-Fc, ephrin-B1-Fc 添加して 72 時間培養し, KC の分化指標分子(Keratin 14, Involucrin)と ephrin-B1, EphB2 の発現を RT-PCR で比較・検討した。【結果と考察】低 Ca(0.1mM)の KC 用培養液では, 線維芽細胞の増殖が抑制されるため, 継代により KC の純度を上げることができたが, 継代が進むにつれて大型で非増殖性の KC が増加した。分化用培養液の培養で Involucrin 発現の有意な上昇と Keratin 14 発現の有意な低下が認められ, 培養で KC の分化を進めることができた。分化が進んだ KC は ephrin-B1 発現が有意に低下, EphB2 は有意に上昇したため, ephrin-B1 は未分化な KC に, EphB2 は分化が進んだ KC で強く発現することが示唆された。また, ephrin-B1-Fc 添加で Keratin 14 発現が, EphB2-Fc, ephrin-B1-Fc, Fc 添加で Involucrin 発現が有意に上昇したため, EphB2 シグナルによる KC 分化抑制の可能性が示唆された。

22 脾臓の赤脾髄マクロファージと赤脾髄線維芽細胞の初代培養

西野慎吾, 佐伯法学, 小川和重
大阪府大・生命環境・獣医解剖

【背景と目的】我々はこれまでに, 赤脾髄線維芽細胞(RP-Fb)に発現する EphA2 は RP マクロファージ(Mφ)の枯渇により, アップレギュレートすることを見出した。RP-Fb は, インテグリンリガンド ICAM-1 陽性で, ケモカイン CXCL12 を分泌して CXCR4 発現細胞を誘引することが報告されている(Mueller and Germain, Nat Rev Immunol, 2009)。一般に, Mφ はインテグリン LFA-1 と CXCR4 陽性である。これらの点から, 「RP-Mφ の定着に RP-Fb に発現する EphA2 が関与する。」と仮説を立てた。仮説検証のため RP-Mφ と RP-Fb の初代培養の確立を本研究の目的とした。【材料と方法】マウス脾臓の細胞をコラゲナーゼで分散後, 10%FBS 添加 DME(Mφ と Fb)あるいは RPMI-1640(Mφ)で培養し, ディッシュへの接着性の違いから Mφ と Fb の分離を試みた。位相差顕微鏡で細胞の純化度を評価し, マーカー分子など対象分子の発現状態を RT-PCR などで検討した。【結果と考察】ディッシュに強い接着性を示す細胞と中等度の接着性を示す細胞の分離・増殖し, それぞれ Mφ 様と線維芽細胞様の形状を呈していた。Mφ 様細胞は, CD115(M-CSF 受容体), CD206(Mφ マンノース受容体)を発現し, セルアナライザーによる F4/80 発現解析で単一ポピュレーションの陽性細胞であることから, RP-Mφ の分離・増殖に成功したと判断した。一方, 線維芽様細胞は ICAM-1 を発現していた。RT-PCR により, 両細胞ともに数種の EphA と ephrin-A サブクラスを発現することも判明した。現在, 仮説検証のために細胞生物学的実験を進めている。

23 単球様細胞 U937 の EphA2 はインテグリン-インテグリンリガンドを介して細胞接着を制御する。

佐伯法学, 西野慎吾, 小川和重
大阪府大・生命環境・獣医解剖

【背景と目的】白血球のインテグリン(Ig)は血管内皮細胞(EC)への接着と EC 層通過, 基質への接着を制御する。我々は, 「EphA2/ephrin-A1 は単球/マクロファージ(Mφ)の EC 層通過を制御する」と仮説を立て研究を進めている。本研究では, EphA2 が Ig-Ig リガンドの接着機構に関与するか単球様細胞 U937 で検討した。【材料と方法】キナーゼを含む細胞内ドメインを EGFP に置換した EphA2(EphA2ΔC-EGFP)を発現する U937 の亜株を作製し, (1)親株と亜株の EphA2 と Ig(αL, αM, α4, β1, β2)発現を RT-PCR とセルアナライザーで検討した。(2)Ephrin-A1-Fc と Ig リガンド(ICAM1, VCAM1, Fibronectin, Collagen)の両分子の吸着領域と Ig リガンド単一吸着領域が交互に現れる基質を作製し, 親株と亜株で両領域に対する接着性を比較した。(3)ICAM1-Fc, VCAM1-Fc を Bait として使用した Pull-down assay により EphA2 と Ig-Ig リガンドの結合性を検討した。【結果と考察】(1)亜株における内因性 EphA2 と Ig の発現強度に親株との差は認められず, 外因性 EphA2 は内因性の約 5 倍であった。(2)親株と亜株共に, ephrin-A1-Fc+Ig リガンド吸着領域に接着する細胞の密度は Ig リガンド単一吸着領域と比べ有意に高く, この細胞密度の差は亜株で顕著であった。(3)Ephrin-A1-Fc の培養液への添加により EphA2ΔC-EGFP は ICAM1-Fc, VCAM1-Fc および β2 Ig と強く結合することが判明した。以上の結果から, EphA2 の細胞外ドメインは ephrin-A リガンドとの結合により, Ig-Ig リガンドを介して細胞接着を制御していることが示唆された。

24 ラット三叉神経節細胞内電位記録標識法による棍棒状終末の機能形態学的解析

外村 宗達, 榎原 智美, 黒田 大地, 熊本 賢三
明治国際医療大学・解剖学ユニット

ラットの顔面部のヒゲ洞毛は、三叉神経一次感覚ニューロンが多様な神経終末を形成し、ヒゲの様々な動きを受容している。本研究では、*in vivo* でラットの三叉神経節単一神経細胞体の細胞内電位を記録し、受容野を同定して神経トレーサー注入を行い、単一一次感覚ニューロンの電気生理学的特性と末梢から中枢に至る形態的全貌を同時に解析した。洞毛内で標識された終末は、棍棒状終末($n=16$)、メルケル終末($n=12$)、槍型終末($n=7$)、樹状終末($n=4$)、スバインー終末($n=1$)であった。棍棒状終末は輪状静脈洞の高さで1~2本の短い軸索終末として終末する。一方、中枢軸索は約20本の側枝を脳幹の主感覚から脊髄路核に至る三叉神経核に伸ばしていた。洞毛の準超薄連続切片の再構築では、上皮性毛包に付着する馬蹄形の輪状塊の基部に、約50の棍棒状終末が毛軸を取り囲むように柵状に並列していた。この終末は輪状塊と密接し、上皮性毛包とはわずかに隔てられていた。また、ヒゲのエアパフ刺激に対して棍棒状終末は 292.3 ± 95.6 Hz ($\text{mean} \pm \text{SD}$, $n=8$, 13 trials) の不規則なスパイク間隔で発火し、他の終末 (135.1 ± 73.2 Hz, $n=13$, 29 trials) と比較して著しく高頻度な発火を示した ($P<0.001$)。一方この発火特性を示す終末は、スピーカーを改良した振動刺激装置で一定周波数の振動を毛軸に与えると、振動周波数(300Hz, 500Hz)に同期した均等なスパイク間隔で発火した。これらのことより、輪状静脈洞に浮かぶ輪状塊は周辺組織の動きや振動を除去する緩衝装置として作用し、棍棒状終末は毛軸の微細な動きや振動などを的確に受容することが示唆された。

25 5-HT3 受容体を介した新しい膀胱知覚亢進メカニズム

竹澤健太郎、近藤誠、島田昌一
大阪大学大学院・医学系研究科・神経細胞生物学講座

【背景・目的】5-HT3 受容体(5-HT3R)は神経系に発現し痛覚制御に関与している。我々は Htr3a-EGFP 遺伝子改変マウス(Tg)を用いた組織学的検討、および 5-HT3R ノックアウトマウス(KO)を用いた機能解析により、膀胱機能における 5-HT3R の役割を解明したので報告する。【方法】(1) Htr3a-EGFP Tg を用いて 5-HT3R の分布を解析した。(2) 正常状態及び膀胱炎モデルにおける、野生型マウス(WT)と 5-HT3R-KO の膀胱機能を、aVSOP 法及びエコー併用膀胱内圧測定法と比較した。また膀胱炎モデルで誘導される脊髄後角 c-Fos 発現を比較した。(3) 膀胱炎モデルで誘導される脊髄後角 c-Fos(+)細胞と 5-HT3R(+)神経線維の分布を検討した。(4) 5-HT3R 作動薬、拮抗薬投与に伴う膀胱機能変化を解析した。【結果】(1) 5-HT3R は L6 DRG の神経細胞、膀胱に分布する神経線維、脊髄 L6 後角表層、深層の神経線維に発現していた。(2) 正常状態では WT と 5-HT3R-KO の膀胱機能に差を認めなかったが、膀胱炎モデルでは 5-HT3R-KO は WT と比較し膀胱容量や排尿間隔が大きく、脊髄後角 c-Fos(+)細胞が少なかった。(3) 膀胱炎モデルで誘導された c-Fos(+)細胞は、脊髄後角深層に存在し、多くが 5-HT3R(+)神経線維と接合していた。(4) 5-HT3R 作動薬投与により膀胱容量、排尿間隔が減少した。一方 5-HT3R 拮抗薬投与により、膀胱炎モデルでは膀胱容量や排尿間隔の増大がみられた。【結論】5-HT3R を介した膀胱知覚亢進機構は膀胱炎に伴う膀胱知覚亢進に重要な役割を果たしており、5-HT3R が間質性膀胱炎などの膀胱知覚亢進疾患に対する新たな治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

26 視床線条体投射とストリオソーム・マトリックス構造

藤山文乃、雲財知
同志社大学大学院・脳科学研究科・神経回路形態部門

視床から線条体への投射は、主として髄板内核群(とくに正中中心核と束傍核)からおこなことが知られているが、室傍核や結合核といった正中核群からも少なからぬ投射を受けている。私たちは視床から線条体への興奮性入力はマトリックスに比べるとストリオソームへの入力は3分の1程度であることやシナプス構造が違ふことなどを報告しており(Fujiyama et al., Eur J Neurosci. 2006)、このことから視床線条体入力においてストリオソームとマトリックス各々に特徴的なネットワークがあるのではないかと考え、膜移行性シグナルをつけたウイルスベクターによる単一ニューロントレースを行った。その結果、束傍核はマトリックスに優位に、正中核群からはストリオソーム優位に、束傍核以外の髄板内核群からはストリオソームとマトリックスに同程度の投射があることが明らかになった。さらに、ストリオソームやマトリックスに特異的に投射する視床亜核の大脳皮質への投射先は、その視床亜核が投射している線条体のコンパートメントに優位に投射している皮質領域であることを解明し、線条体のストリオソーム・マトリックス構造は、視床と大脳皮質から、時間差で同質の情報を受け取っている可能性があることが示唆された。

27 ラット視床下核ニューロンの新線条体インターニューロンへの入力

越水義登¹, 中村公一¹, 古田貴寛¹, 田中琢磨², 金子武嗣¹
¹京都大学大学院・医学研究科・高次脳形態学
²東京工業大学大学院・総合理工学研究科

視床下核は大脳基底核に属し、ラットでは淡蒼球、脚内核と黒質に興奮性の軸索側枝を送っていることが知られている。我々はラット視床下核ニューロンを単一ニューロンレベルで軸索末端まで可視化して軸索側枝の分布を明らかにし、視床下核ニューロンが淡蒼球、脚内核と黒質だけでなく、定常的に線条体にも軸索側枝を送っていることを見出した(Koshimiuz et al., 2013, J Comp Neurol)。線条体には95%を占める投射ニューロンと5%を占めるインターニューロンが存在することが分かっている。線条体で視床下核ニューロンが形成した軸索終末の形態学特徴から、視床下核ニューロンは投射ニューロンではなくてインターニューロンを標的としていると考えられた。そこで、我々は免疫組織化学染色法を駆使して視床下核ニューロンとインターニューロンとの神経結合を新線条体で調べた。その結果、視床下核ニューロンの軸索終末の約8割がインターニューロンの樹状突起と近接していた。また、視床下核ニューロンとインターニューロンの近接部位は興奮性シナプスを形成していた。これらの結果は視床下核ニューロンが線条体に興奮性側枝を送って主にインターニューロンと神経結合していることを示唆している。

28 パーキンソン病関連分子 α -Synuclein が示す多様な脳内発現プロファイルについて

田口勝敏、渡邊義久、辻村敦、田中雅樹
京都府立医科大学・脳血管系老化研究センター・基礎老化学部

α -Synuclein はパーキンソン病(PD)の病理所見であるレビー小体の主要構成分子であり、遺伝子の変異あるいは重複が家族性PDの発症をもたらすことから、その発症に関わる重要な責任分子の一つであると考えられている。これまでに α -Synuclein の高い発現が凝集体形成の危険因子になるとの報告もあり、その発現量は神経変性に深く関与することが推察される。一方、生理条件下では、 α -Synuclein は前シナプスに局在しており、シナプス小胞の開口放出に関わると考えられているが、その詳細な機能については未だ不明な点が多い。本研究では、PDの進行に伴って障害を受けやすい脳部位に着目し、マウス脳内における α -Synuclein の発現解析を行った。嗅球の傍糸球体細胞や迷走神経背側運動核、黒質緻密部に存在するドーパミン作動性神経の細胞体において、その高い発現を確認することができた。また、興奮性シナプスの多くは α -Synuclein 陽性であるのに対して、抑制性シナプスにおける発現は脳部位によって大きく異なっていた。抑制性シナプスにおける α -Synuclein は嗅球の外叢状層、淡蒼球、黒質網様部において強く発現していたが、大脳皮質や海馬、視床、視床下核では検出することはできなかった。以上の結果はPDの進行に伴って障害を受けやすい上述の部位では、ヒト脳においても α -Synuclein の高い発現が推察されるだけでなく、その発現が脳部位あるいは神経細胞の種類によって厳密に制御されていることを示している。 α -Synuclein の発現メカニズムを知ることによってその生理機能と共に、PDにおける病変の脳内伝播経路をより詳細に解明することができると期待される。

29 マウス脳に新たに発見・同定した視床下部領域について

堀井 謹子¹, 笹川 誉世¹, 橋本隆², 西 真弓¹
¹奈良県立医科大学・医・第一解剖
²福井大学・医・形態機能医科学

脳の視床下部は現在、神経核や領域を合わせ十数個の区域に分けられている。今回我々は、マウス脳アトラスや過去の研究によっては同定されていない新たな領域をマウス視床下部に発見し、その神経化学的特性、回路、機能の解明を目指し研究を行った。本領域は、室傍核と脳弓の狭間、視床下部前核の背側に位置する。このような神経解剖学的な位置特性から、我々は本領域に“Perifornical area of the anterior hypothalamus”(PeFAH)と名付けた。免疫組織学的解析ならびにDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析によって、PeFAHはenkephalinとurocortin 3を共発現するニューロンや、calretinin陽性ニューロンから構成されることが明らかになり、いずれもGABA陰性ニューロンであった。ニューロントレーサーを用いた回路標識の結果、enkephalin/urocortin 3⁺ニューロンは外側中隔への投射性ニューロンであること、またPeFAHは外側中隔のcalbindin陽性GABA陽性ニューロンから入力を受けていることが明らかとなった。更に、c-Fos発現を指標とした神経活動解析の結果、PeFAHニューロンは新奇環境暴露や拘束、攻撃行動によってその活動が上昇するが、絶水や絶食、それに続く再飲水や再摂食によっては顕著な活動上昇が認められなかった。また、イボテン酸投与によるPeFAHの損傷は、不安様行動に異常をもたらす傾向が観察された。これらの結果から、PeFAHニューロンは外側中隔を介して、ストレス負荷時の情動制御に関与する可能性が示唆された。