

# 講座， 研究施設の主要研究業績

## 〈医学科〉

### 講座（特設診療科を含む）

## 基礎医学

### 解剖学講座 肉眼・神経

教授：河合 良訓 神経解剖学  
講師：橋本 透 肉眼解剖学・放射線解剖学

#### 教育・研究概要

##### I. 神経系の研究

中枢神経系の正常機能や疾患を理解するためには、個々の機能を実現している神経回路の構成とその作動原理を解明することが重要であるという観点に立って研究を推進している。

延髄孤束核の微小神経ネットワークの基本構成を明らかにするために、パッチクランプ法と細胞内染色法やその他の手法を用いて定量的ニューロンタイプング解析を行い、シナプス結合性との関連を相関解析している。これまでに以下のことを明らかにし、微小神経回路の構築原理と機能ダイナミクス、およびその相関性に関して継続発展的に研究を行っている。

##### 1) 回路形成ニューロンの形態学的化学的特徴の定量定性化

神経突起の分岐や広がり、細胞サイズ、機能分子の発現プロフィールの分析結果から、孤束核を構成する神経細胞は、細胞体のサイズ（細胞体面積  $150 \mu\text{m}^2$  を境界に）によって小型と中～大型の少なくとも二つのグループから構成されることがわかった。細胞体のサイズの違いは、軸索側枝の広がりも反映していた。小型ニューロンの軸索側枝は孤束核内に広く分布し、他の孤束核ニューロンと広範にシナプスを形成することを示唆していた（平均軸索分岐数 31.5）。一方、中～大型ニューロンは、軸索側枝の発達が悪く（平均軸索分岐数 1.04）、主に孤束核外に投射する投射型グルタミン酸ニューロンであり、その細胞体は内側亜核に局在する。小型ニューロンは、さらに GABA 細胞とグルタミン酸細胞に

分けられ、前者の軸索は孤束核内のみにとどまる。細胞体の局在は前者が主に交連亜核、内側亜核に偏在するのに対して、後者は核内に一様に分布し、その軸索には孤束核内に分布するもの以外に核外に投射する主軸索が存在する。

##### 2) 興奮性・抑制性シナプス入力パターンの特徴とネットワーク構成

シナプス後電流を解析すると、成熟動物の小型ニューロンと中～大型ニューロンの間では、グルタミン酸性（興奮性）シナプス後電流と GABA 性（抑制性）シナプス後電流の出現頻度の相対比率に大きな差異が認められた。すなわち、興奮性シナプス入力の比率は小型ニューロンの約 96% に対し、中～大型ニューロンでは約 31% であった。以上、形態学的電気生理学的所見を総合すると孤束核内の局所神経ネットワークの極めて特徴的な構成が明らかとなってきた。すなわち、グルタミン酸性小型ニューロンは、その軸索側枝でお互いにシナプス結合して再帰性（共鳴性）興奮回路を形成し、強い持続性の興奮性シナプス活動を維持している。これらのニューロンの投射性軸索は内臓知覚伝導路の一部を構成する。この回路で生成される興奮性シナプス活動は、GABA ニューロンを介して、反転した形で中～大型のニューロンに伝えられる。中～大型ニューロンはこのように tonic な抑制性バックグラウンドシナプス活動を有し、圧受容・化学受容反射等の末梢知覚入力を核外（腹外側延髄や視床下部等）に統合中継し、反射回路の一部を構成していることがわかった。このように、成獣の孤束核では興奮性および抑制性の局所神経回路が極めて分化した形で機能していることがわかった。

##### 3) 局所回路の生後分化

成獣でみられる分化した局所神経ネットワークは、生後発達の過程で胎生型から成獣型に急速に変化することによって構築されてくることがわかった。すなわち、成獣ラットにおいては、自発性の興奮性（グルタミン酸性）もしくは抑制性（GABA 性）シナ

プス活動のうちどちらか一方の際立った優位性が、ニューロタイプの違いに応じて観察される。一方、生直後（生後1～3日）の孤束核ニューロンでは、ほとんど全ての単一細胞から、ニューロタイプの違いに関係なく、興奮性シナプス後電流と抑制性シナプス後電流の双方がほぼ一定の比率（興奮性比率：68～75%）で観察されることが確認された。すなわち、生直後の孤束核ニューロンは、その細胞の形態と関係なくシナプス結合を形成していること（未分化な局所ネットワークの存在）が示唆された。また、このような胎生型から成熟型への神経ネットワークの移行が生後6～7日に急速に起こることもわかった。この時期は、圧受容反射や化学受容反射が機能し始める時期と一致し、自律神経機能に関する反射機能の発現には、局所神経ネットワークの成熟がともなうことを示唆している。われわれは、この時期を内臓知覚系における臨界期と見なし、臨界期前後に起こる回路構成変化の様々な局面の解析を進めている。

延髄孤束核において生後1週を境にして急速なシナプス結合の再編成には必要なシナプス結合の強化と不必要なシナプス結合の除去が含まれていると考えられる。そこで次の3つの観点から臨界期における回路再編成の解析を試みている。(1) 臨界期に一致した遺伝子発現調節：生後発達に伴うシナプス関連機能分子の遺伝子発現の網羅的検索。速いGABA性シナプスに直接関与するA型GABA受容体サブユニットやNMDA受容体サブユニット等の遺伝子発現を調べた結果、臨界期に一致した発現変化は認められなかった。このことは回路再編成が遺伝プログラムによって規定されるのではなく、神経活動に依存した現象であることを示唆していた。(2) シナプス除去の電子顕微鏡学的解析：臨界期に一致した軸索細胞体型のGABA性シナプス数の減少、ニューロン細胞体近傍での孤児性GABA性ブトンの出現、アストロ細胞突起によるニューロン細胞体の被覆等の所見を得た。(3) 活動依存的シナプス再編成。今後、(3)の可能性に関して解析を進める予定である。

4) 局所回路シナプス結合様式、ニューロンの幾何学的 (geometric) 特徴、回路ダイナミクスの3者間の相関関係解析

局所回路シナプス結合様式は、回路を構成するニューロン間のシナプス連結によって形成される。シナプスは軸索と樹状突起の間に形成されるため、その結合様式は細胞体の位置や軸索・樹状突起の存在密度等の geometric なパラメータによって規定さ

れる。

これら geometric な定量的パラメータと、電気生理学的に記述されるシナプス後電流、スパイク発生様式、閾値下膜電位等の回路ダイナミクスの定性定量的特徴との相関関係を解析している。局所回路における情報処理の意味を考察する。

## II. 実習遺体や出土標本を利用した研究

実習遺体、当教室が保有する各種作成標本や出土標本を用いて各種計測を行い、変異の意義や計測値の時間的変遷の意義を検討している。

### 「点検・評価」

1. コース基礎医科学Ⅰのユニット「細胞から個体へ」の講義・実習、コース基礎医科学Ⅱのユニット「神経系」をはじめ、「循環器系」、「泌尿器系」、「生殖器系」講義および「形態系実習」、症候学演習の医学科カリキュラムを分担した。また、看護専門学校における「解剖生理学」の講義も担当している。解剖学実習では、実習時間の短縮に伴う実習指針の改定、手順の簡略化を検討し、その成果が得られつつある。

2. 講座の研究活動を活性化するために、実験室・実験機器等の大幅な整備拡張を行ってきており、実験データを蓄積しながら、その定量解析をとおして研究成果として公表している。研究者の育成を視野に入れながら、より質の高い研究を目指してアクティビティーを維持していく必要がある。

反省：Peer-reviewを経た、国際競争力のある原著論文・研究成果を継続的に発信する必要がある。

## 研究業績

### III. 学会発表

- 1) 桂田功一、木下一雄、樋口謙次、深田実里、姉崎由佳、田中真希、保木本崇弘、山田健治、村松正文、竹川 徹、高木 聡、河合良訓、解剖学的知見とリハビリテーションについて—解剖学実習を通して得た小殿筋の新たな知見。第48回成医会柏支部例会。柏、2013年7月。
- 2) 根岸義勝、河合良訓。延髄孤束核における投射型ニューロンの特徴 (Features of projecting neurons of the nucleus of the tractus solitaries)。第120回日本解剖学会総会・全国学術集会/第92回日本生理学会大会合同集会。神戸、3月。
- 3) 平野和宏、木下一雄、河合良訓、安保雅博。解剖学的観察を用いた内転筋群における股関節回旋作用の検討。第49回日本理学療法学術大会。横浜、6月。

## IV. 著 書

- 1) 荒川廣志, 河合良訓. 各論1: 嚥下機能内視鏡検査  
1. 経鼻内視鏡検査に必要な解剖・生理. 鈴木博昭,  
加藤孝邦, 椿原彰夫 (川崎医療福祉大), 藤島一郎 (浜  
松市リハビリテーション病院), 東口高志 (藤田保健  
衛生大), 上野文昭 (大船中央病院), 櫻井 薫 (東京  
歯科大) 監修. 嚥下機能評価研修会テキスト. 東京:  
NPO 法人PEG ドクターズネットワーク, 2014. p.33-7.

## 解 剖 学 講 座 組 織 ・ 発 生

教 授: 岡部 正隆	解剖学・発生学
教 授: 橋本 尚詞	形態学・細胞生物学
講 師: 鈴木 英明	先天異常
講 師: 重谷 安代	神経発生学・進化発生学

### 教育・研究概要

#### I. 先天性運動失調マウスの解析

昨年度, 運動失調マウスの発症の原因として Inc-RNA である Gm13912 の第 2 インترونにおける 7048bps の欠損が浮上してきたが, C57BL/6N に 7 回戻し交配を行った交雑系で phenotype と genotype の関係を調べたところ, Gm13912 における欠損が homo であるのに phenotype が正常な個体が見いだされた。この phenotype が正常で Gm13912 欠損 homo 個体は, これまで用いていた rs13476698 の SNP も発症型の homo であり, これらの遺伝子座が発症の原因ではないことが明らかになった。そこで, 遺伝子配列の解析結果を詳細に見直したところ, 発症個体に共通して遺伝子の insertion が起きている部位が 2 カ所見つかった。現在, これらの挿入部位を跨ぐ PCR の primer を設計し, 解析を進めている。

#### II. Wilms 腫瘍を合併する日本人型染色体不安定症候群の遺伝子解析

Mosaic Variegated Aneuploidy 症候群 (以下 MVA) はまれな劣性遺伝性疾患で, 体細胞の染色体数が不安定になり小頭症や成長障害等の症状を示す。日本人症例の表現型は特徴的で海外症例とは異なる。これまで海外症例で *BUB1B*, *CEP57* が責任遺伝子として同定されているが, 日本人症例では全例, 片アレルに *BUB1B* のコード領域に変異を認め, もう一方のアレルの変異は *BUB1B* 転写開始点から 44kb 上流にある非コード領域の SNV による hypomorphic 変異が報告されている。しかし, *BUB1B* hypomorphic 変異や *BUB1B* と協調して働く *BUB3* の hypomorphic 変異のマウス疾患モデルでは日本人症例に特徴的な Wilms 腫瘍, 非常に強い大脳皮質低形成, Danady-Walker 奇形などの症状が現れていない。

我々は上述した理由から日本人型 MVA の発症には別の遺伝子変異または多型が関与している (二遺伝子遺伝性の可能性) と考え, 自験例について両親