

規喜, 武井謙吉, 富田祥輝, 小幡 徹, 山本保博 (日本医大). (シンポジウム) 各種メディエーター (anandamide, 2-AG, HMBG-1, PAI-1 等) 値の変動から見た敗血症性ショック症例における PMX-DHP の効果判定についての検討. 第 11 回エンドトキシン血症救命治療研究会. 東京, 2月.

- 13) 小幡 徹, 野村真弓, 斉藤敬太, 岩井健一, 岡本靖久, 鹿瀬陽一, 瀧浪将典. エンドトキシンの新しい高感度測定法開発. 第 11 回エンドトキシン血症救命治療研究会. 東京, 2月.
- 14) 斉藤敬太, 小幡 徹, 野村真弓, 都丸慶子, 岩井健一, 岡本靖久, 鹿瀬陽一, 瀧浪将典. 実験的敗血症モデルにおける COX-2 の意味について. 第 11 回エンドトキシン血症救命治療研究会. 東京, 2月.
- 15) 鹿瀬陽一, 小幡 徹, 野村真弓, 斉藤敬太, 岩井健一, 岡本靖久, 瀧浪将典. 新しいエンドトキシン高感度測定法を用いた臨床試料の測定. 第 11 回エンドトキシン血症救命治療研究会. 東京, 2月.
- 16) Kase Y, Obata T. Removing endocannabinoids and reducing oxidative stress with polymyxin-immobilized fibers in patients with specific shock. 27th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine. Brussels, Mar. [Crit Care 2007; 11(Suppl 2) : 119]
- 17) Sakamoto Y, Mashiko K, Obata T, Yamamoto Y (Nihon Medical Univ). Mechanism and effectiveness of polymyxin B-immobilized fiber columns for removing mediators (HMBG-1, 2-arachidonoyl glycerol, anandamide, PAI-1, protein C and IL-6) in septic shock patients. 27th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine. Brussels, Mar. [Crit Care 2007; 11(Suppl 2) : 117]
- 18) 佐々木博之. (招待講演) 酢酸ウラン代替染色法. 第 103 回電子顕微鏡技術研究会. 東京, 4月.
- 19) 荒井久子, 菊地恵美, 斉藤英希, 佐々木博之. 酢酸ウラン代替染色法の検討 (III). 医学生物学電子顕微鏡技術学会第 22 回学術講演会. 浜松, 5月.
- 20) Ito Y, Kurosawa M, Kuroda K, Yamamoto T, Sasaki H. Occludin and claudin-1 participate the formation of epidermal tight junction and the barrier function in human keratinocytes. American Society for Cell Biology, 46th Annual Meeting. San Diego, Dec.

分子神経生物学研究部・器官発生研究室

講師: 岡部 正隆 解剖学・発生学

研究概要

器官発生研究室は 2005 年 2 月に分子神経生物学研究部に設立された。本年 4 月より木村巧研究技術員が配属された。今年度は以下の研究活動を行った。

I. 脊椎動物の肺の起源に関する研究

陸上脊椎動物と魚類には内部が空気で満たされた器官, 肺とウキブクロが存在する。肺もウキブクロも消化管の一部が突出したものであり, 二つはこれまで相同器官であると考えられてきた。他方で, 肺は対になった構造であるのに対し, ウキブクロは単一の袋である。肺は消化管の腹側から突出するのに対し, ウキブクロは背側から突出する, などの重要な相違点も存在する。内臓器官は化石として残らないため, 古典的な古生物学ではこれらの器官の相同性を十分に明らかにすることはできていない。我々は比較分子発生学の手法を用いてこの問題にアプローチしている。我々はまずアフリカツメガエル, オーストラリアハイギョ, ポリプテルス, ゼブラフィッシュの肺・ウキブクロにおける遺伝子発現を比較した。その結果, 陸上脊椎動物の肺の発生に中心的役割を果たすことが知られている 3 つの遺伝子, TBX4, FGF10, NKX2.1 がゼブラフィッシュのウキブクロの発生においても発現していることがわかった。また, アンチセンスオリゴを用いた FGF10 の機能阻害は, ゼブラフィッシュのウキブクロ発生を阻害することもわかった。これらのことから, 肺とウキブクロの発生には共通した分子が使われていることがわかった。このことは, 二つの器官の原型となる器官が, 陸上脊椎動物と魚類の共通祖先においてすでに存在し, 肺とウキブクロが実際に相同器官であることを強く示唆している。

II. アポトーシスが誘導する代償性細胞増殖

再生能力を持った組織において偶発的な細胞死が起こると, 生き残った細胞は損失を埋め合わせるために代償性の増殖を行う。例えば, ショウジョウバエの翅成虫原基の半分以上の細胞にアポトーシスを誘導しても, 代償性細胞増殖により最終的に正しい大きさ形態を持った翅が発生する。アポトーシス誘導シグナルの存在下でエフェクター・カスパーゼを阻害し, 翅原基の細胞を“死にかけ”にすると,

JNK シグナルの活性化を伴う細胞非自立的な過増殖が誘導される。このことは代償性細胞増殖がアポトーシスプログラムに組み込まれたシステムであると考えられている。我々は遺伝学的手法を用いて代償性細胞増殖にかかわる分子カスケードを明らかにした。細胞にアポトーシス・シグナルが入ると、開始カスパーゼ DRONC が活性化、その下流で JNK シグナル伝達系が活性化する。JNK シグナルは細胞増殖因子の転写を活性化し、アポトーシス細胞は増殖因子を分泌する。これを受け取った周辺細胞が増殖することによって、代償性細胞増殖が引き起こされるということがわかった。

III. ニワトリ胚を用いたヒト腎臓再生の基礎的研究

我々の最終目標は、末期腎不全に対する究極の治療として、自己のヒト間葉系幹細胞 (hMSC) を異種動物胚内で腎臓全体に分化させることである。しかし、腎臓は後腎間葉と尿管芽という二つの異なる組織が相互作用して形成される臓器であり、その過程は複雑である。本学腎臓・高血圧内科の横尾らは、ラット胚内の後腎間葉部位に hMSC を移植し、hMSC を後腎間葉由来であるネフロンに分化させることに既に成功している。しかしこの方法では hMSC は尿管芽由来である尿管・集合管には分化しない。それは尿管芽になる細胞の運命は、後腎間葉が形成される時期よりも早い段階で既に決定しているからである。昨年度の研究では、初期胚の操作が可能でニワトリ胚を用いて、hMSC を尿管および集合管に分化させるために移植すべき部位である尿管芽原基を同定した。今年度は、尿管芽原基に移植した hMSC がニワトリ胚内で尿管や集合管に分化できるかどうかを検討した。hMSC をそのまま移植しても、細胞の移動はみられず、腎臓の細胞への分化は起こらなかった。そこで hMSC を人為的に分化させるために、尿管芽原基に強く発現している遺伝子である *Pax2* を導入してから移植した。すると、hMSC は尾側に移動し、尿管芽の親組織であるウォルフ管に分化することが確認できた。今後はさらに発生を継続させることにより、hMSCs を尿管芽、さらには尿管、集合管へと分化させることを試みる。

IV. カラーユニバーサルデザインの普及啓発活動

先天赤緑色覚異常は、日本人男性 5%、女性 0.2% に認められ、日本には 300 万人以上、世界には 2 億人以上がこれに該当する。インターネットの普及やカラー印刷コストが安価になることにより、近年急激

に色の違いによる情報提供が増えたが、色覚が他の人と異なることにより、情報がきちんと伝わらないことが多く見受けられるようになった。こうした色覚の違いに配慮して情報がきちんと伝わるようにつくられたデザインをカラーユニバーサルデザインと呼ぶ。本研究室は NPO 法人カラーユニバーサルデザイン機構とともに普及啓発活動を行っている。

「点検・評価」

本年度は研究室設立の 2 年目であり、すべての研究課題において一定の進展がみられた。引き続き、研究室を活性化させるために大学院生、一般研究員を募ることが課題である。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Yokoo T, Fukui A, Ohashi T, Miyazaki Y, Utsunomiya Y, Kawamura T, Hosoya T, Okabe M, Kobayashi E. Xenobiotic kidney organogenesis from human mesenchymal stem cells using a growing rodent embryo. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1026-34.
- 2) Williams DW, Kondo S, Krzyzanowska A, Hiromi Y, Truman JW. Local caspase activity directs engulfment of dendrites during pruning. *Nat Neurosci* 2006; 9: 1234-6.
- 3) Kondo S, Senoo-Matsuda N, Hiromi Y, Miura M. DRONC coordinates cell death and compensatory proliferation. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 7258-68.

II. 総説

- 1) 清水 裕, 岡部正隆. 消化管の進化的起源—刺胞動物ヒドラにおける基本構造と機能—. *蛋白質核酸酵素* 2007; 52: 112-8.
- 2) 岡部正隆. 副甲状腺の起源. *Medical Science Digest* 2007; 33: 648-9.

III. 学会発表

- 1) 近藤 周, 岡部正隆, 広海 健, 三浦正幸. アポトーシスが誘導する代償性細胞増殖はカスパーゼと JNK シグナルによって制御される. 日本発生生物学会第 39 回大会. 広島, 6 月.
- 2) 福井 亮, 横尾 隆, 岡部正隆. 尿管芽原基の同定—ニワトリ胚を用いて—. 日本発生生物学会第 39 回大会. 広島, 6 月.
- 3) Okabe M. Transition from aquatic to terrestrial life and evolution of the vertebrate pharynx.

日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋, 12月,

- 4) Fukui A, Yokoo T, Kawamura T, Hosoya T, Okabe M. Identification of ureteric bud progenitors using chicken embryos. 39th American Society of Nephrology. San Diego, Nov.
- 5) Yokoo T, Fukui A, Utsunomiya Y, Kawamura T, Okabe M, Hosoya T. Generation of erythropoietin-producing self organs using human mesenchymal stem cells. 39th American Society of Nephrology. San Diego, Nov.

神経科学研究部・神経病理学研究室

教授: 栗原 敏
(兼任)

講師: 福田 隆浩 神経病理学, 神経内科学

講師: 藤ヶ崎純子 神経病理学

研究概要

I. 中枢神経系における MLC1 蛋白質の局在と動態

目的: Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts (MLC) では, MLC1 遺伝子変異を認める症例がある。今回, 抗 MLC1 抗体を作成し, MLC1 蛋白質の中枢神経系における局在を明らかにし, その機能を考察した。

対象および方法: ヒト MLC1 cDNA 蛋白質転写領域の PCR 産物を vector に組み込み, 大腸菌にて His-Tag 融合 MLC1 蛋白質を合成後, Tag のアフィニティ精製を行った。His-Tag 融合 MLC1 蛋白質とアジュバントを Balb/c マウスに投与し, 抗 MLC1 抗体を作製後 Western blot 法にて確認。明らかな神経疾患のないヒト 3 剖検例, MLC の 1 剖検例, 脳卒中易発性高血圧自然発症ラット (SHR/SP) 200 頭の脳脊髄を対象に一般組織学的検索を行い, 抗 MLC1 抗体, GFAP, aquaporin 1 (AQP1), aquaporin 4 (AQP4) 等に対する抗体を用い, 免疫組織化学的に検索した。

結果および考察: 明らかな病変のない脳脊髄では, 血管周囲および軟膜化, 上衣下の星状膠細胞突起末端に MLC1 および AQP4 が局在し, AQP1 は軟膜下の星状膠細胞突起末端と脈絡叢細胞に認められた。SHR/SP の浮腫を伴う急性期梗塞巣では, MLC1 および AQP1, AQP4 の免疫染色性は低下し, 反応性星状膠細胞の増生する梗塞巣では, 星状膠細胞胞体に MLC1 は強く発現していた。膜蛋白質 MLC1 は, 水チャネルである膜蛋白質 AQP4 と同じ分布であった。梗塞の浮腫発現時も両蛋白質の動態は同じで, 機能の共通性が示唆される。中枢神経系では, MLC 症例は MLC1 mRNA の変異を認めていないにもかかわらず, MLC1 蛋白質の発現低下を認め, 蛋白質発現を抑制する因子の存在を示唆させた。

II. 脊髄小脳失調症 7 型におけるアミロイド前駆体タンパク質の動態

脊髄小脳失調症 7 型 (SCA7) は網膜色素変性, 小