

講座， 研究部および研究室の主要研究業績 〈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

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。

延髄孤束核の局所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定性的ニューロントイピング解析を行い機能との関連を解析している。これまでに以下のことを明らかにしてきた。

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，ニューロン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，ニューロンタイプの

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性プソンの出現、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. グリア系の研究

神経回路の形成や再編成には、神経細胞だけでなくグリア細胞も積極的に関与する可能性が示唆されている。われわれはその可能性を探るために、神経回路の発達形成や再編成にともなう、グリア細胞、特にアストロ細胞の突起の形態的变化に注目して研究を進めている。回路形成にともなうグリア細胞のさまざまな物質の動態変化とともにシナプス構造との関連について調べている。

III. 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」「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、看護学科、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、実験データを研究成果として公表して行く段階に入っている。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・研究成果を発信し続ける必要がある。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Tashiro Y, Yanagawa Y, Obata K, Murakami F. Development and migration of GABAergic neurons in the mouse myelencephalon. *J Comp Neurol* 2007; 503(2): 260-9.
- 2) Tashiro Y, Kawai Y. Glial coverage of the small cell somata in the rat nucleus of tractus solitarius during postnatal development. *Glia* 2007; 55(16): 1619-29.
- 3) Yoshioka M, Kawai Y. Activity-dependent reorganization of local circuitry in the developing

visceral sensory system. *Neuroscience* 2007; 150 (4): 905-14.

III. 学会発表

- 1) 岡田知明, 太城康良, 河合良訓. ラット延髄孤束核のシナプス発達と圧受容器反射の獲得. 第113回日本解剖学会全国学術集会. 大分, 3月.
- 2) 太城康良, 岡田知明, 河合良訓. ラット延髄孤束核における軸索細胞体型シナプスの発達. 第113回日本解剖学会全国学術集会. 大分, 3月.
- 3) Negishi Y, Kawai Y. Expression of neurocan in the rat nucleus of tractus solitarius during postnatal development. 第30回日本神経学会大会. 横浜, 9月. [*Neurosci Res* 2007; 58(Suppl. 1): s206]
- 4) Yasura T, Kawai Y. Activity-dependent glial coverage in the rat nucleus of tractus solitarius during postnatal development. 第30回日本神経学会大会. 横浜, 9月. [*Neurosci Res* 2007; 58(Suppl. 1): s80]

V. その他

- 1) 河合良訓監修, 原島広至著. 骨単 map & 3D. 東京: エヌ・ティー・エス. 2007.
- 2) 岡田友明, 太城康良, 河合良訓. ラット延髄孤束核のシナプス発達と圧受容器反射の獲得. 慈恵医大誌 2007; 122(6): 242.

解剖学講座 組織・発生

教授: 岡部 正隆	解剖学・発生学
准教授: 橋本 尚詞	形態学・細胞生物学
講師: 立花 利公	解剖学・微細形態学
講師: 重谷 安代	神経発生学・進化発生学

教育・研究概要

I. 肺とウキブクロの進化発生学的研究

哺乳類の肺と魚類のウキブクロは空気を貯めるための器官で、両者とも消化管からの突起物として発生する。肺と魚類のウキブクロは古くから相同器官であると推測されてきたが、解剖学的な相違点も多い。例を挙げると、肺は消化管の腹側に位置するのに対し、ウキブクロは背側に位置する。肺は左右一対であるのに対し、ウキブクロは単一の袋である。内臓は化石に残らない組織であるため、この仮説は進化学的な証拠に乏しく、十分に検証されているとは言えない。本研究では分子進化発生学的手法を用いてこの仮説を検証した。*NKX2.1*, *FGF10*, *TBX4* および *TBX5* は哺乳類の肺発生に関わる重要な遺伝子である。それらの相同遺伝子は、ゼブラフィッシュのウキブクロにおいても特異的な発現が確認された。モルフォリノを用いて *FGF10*, *TBX4*, *TBX5* の遺伝子機能を阻害するとウキブクロが形成されなかった。この結果は肺とウキブクロの発生の分子メカニズムが進化的に保存されていることを示し、相同器官仮説を強く支持するものである。

II. 副甲状腺をモデルとした新奇器官獲得プロセスの解析

ヒトを含む脊椎動物は副甲状腺を含む様々なカルシウム調節器官を有するが、進化の過程でどのような発生プログラムの変化が新しいカルシウム調節器官を生み出したのかは明らかでない。我々は副甲状腺の発生に必要な *Gcm2* 遺伝子が、真骨魚であるゼブラフィッシュでは副甲状腺の起源である鰓以外に体表塩類細胞でも発現していることを明らかにした。また、組織特異的な *Gcm2* 誘導機構を明らかにするために、ゼブラフィッシュ *Gcm2* のエンハンサー解析を行い、*Gcm2* 遺伝子翻訳開始点上流 8kb 付近、下流 37kb 付近の二か所に体表塩類細胞特異的エンハンサーが存在することを見出した。同定した二か所のエンハンサー領域と四足動物の *Gcm2* 周辺配列について比較解析をしたが、四足動物で保