

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

教育・研究概要

I. 脳卒中易発性高血圧自然発症モデルラット脳における音響学的安全性の神経病理学的検討

急性虚血性脳血管障害の治療の最終目標は閉塞血管の再開通である。rtPAは有用だが、効果は緩やかで再開通は不完全で、副作用として出血がある。また、使用できる症例は、発症3時間以内という制限がある。それ故、rtPAの使用制限を改善させ、副作用の発症を押さえる補助的付加治療が必要とされている。超音波療法は、全身性の出血危険度が低く、照射部位に効果特異的であることから、補助的付加治療法として近年注目されているが、高周波超音波(2 Mhz)では血栓融解効果は不十分であり、低周波数超音波(1 Mhz未満)の経頭蓋照射では、頭蓋内出血や局所温度上昇、直接的組織障害などの問題がある。今回、高血圧に伴う脳血管障害疾患のよい病態モデルである脳卒中易発性高血圧ラット(SHRSP)における低周波数超音波照射の安全限界を明らかにした。対象のSHRSPおよびWistar rat(WR)に種々の条件の低周波数超音波を照射し組織学的に検索。皮質壊死がSHRSPの周波数500 kHz、強度1.5 W/cm²群と周波数268 kHz、強度34-42 W/cm²群の超音波照射部位直下の大脳皮質に存在。一方、WRには組織学的変化を認めず、低周波数超音波照射により、高血圧による血管障害性中枢神経病変が存在するSHRSPラットの易傷害性が明らかとなった。hsp70陽性細胞が、SHRSPの周波数500 kHz、強度0.72 W/cm²群4.5%、周波数500 kHz、強度1.0 W/cm²群8.3%、周波数500 kHz、強度1.5 W/cm²群14.3%、周波数297 kHz、強度0.7 W/cm²群18.5%、周波数268 kHz、強度34-42 W/cm²群68.8%の症例に存在。hsp70免疫組織化学的検索が、照射24時間後の超音波障害の指標として有用であり、低周波数超音波において、強度が低ければ、中枢神経系への障害は低いことを明らかとした。

II. プロテアソーム阻害により神経系細胞に形成される Ubiquitin-SUMO 陽性構造物と核内ドメインとの関連

様々な神経変性疾患に関連してユビキチン(UBQ)陽性の凝集体が神経細胞内に出現することは、細胞内におけるプロテアソーム依存性蛋白分解系への負荷に関連している。神経細胞ではプロテアソーム依存性蛋白分解が阻害されると、細胞質内と核内にUBQ陽性の凝集体が出現するが、核内凝集体のみがユビキチンモチーフ蛋白であるSUMO-1を構成成分とする。これらの核内凝集体は核内ドメインであるNuclear bodies(NBs)と関連しており、ポリグルタミン病や核内封入体病で出現する核内封入体と類似性がある。この本年度の研究において、NBsと関連をもつと同時に、転写とスプライシングの調節に関わる機能ドメインであるsnRNA gene locus、核小体のdense fibrillar componentに関連して形成されることを新たに見だし、ポリグルタミン病における転写、スプライシングの異常とUBQ化とSUMO化が連動して制御している核内での蛋白分解系の異常が関連していることを示唆する所見を得た。

「点検・評価」

1. 急性虚血性脳血管障害の治療の最終目標は閉塞血管の再開通である。急性虚血性脳血管障害の治療でのrtPAの使用制限を改善させ、副作用の発症を押さえる補助的付加治療としての超音波療法における使用安全域を本年度明らかにした。今後、急性虚血性脳血管障害の超音波療法における閉塞血管の再開通に最適な条件を検索する。

2. 今後はSUMO化、特にSUMO-2によるpolySUMO化による異常蛋白の分解の制御がポリグルタミン病の病態にどのように関与しているかを検討する。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Shimada Y, Fukuda T, Aoki K, Yukawa T, Iwamuro S, Ohkawa K, Takada K. A protocol for immunoaffinity separation of the accumulated ubiquitin-protein conjugates solubilized with sodium dodecyl sulfate. *Anal Biochem* 2008; 377(1): 77-82.
- 2) Kanai H, Marushima H, Kimura N, Iwaki T, Saito M, Maehashi H, Shimizu K, Muto M, Masaki T, Ohkawa K, Yokoyama K, Nakayama M,

Harada T, Hano H, Hataba Y, Fukuda T, Nakamura M, Totsuka N, Ishikawa S, Unemura Y, Ishii Y, Yanaga K, Matsuura T. Extracorporeal bioartificial liver using the radial-flow bioreactor in treatment of fatal experimental hepatic encephalopathy. *Artif Organs* 2007; 31(2): 148-51.

III. 学会発表

- 1) 福田隆浩, 秋山暢丈, 斉藤三郎. 中枢神経系における MLC1 蛋白質の局在と動態. 第 48 回日本神経病理学会. 東京, 5月. [*Neuropathology* 2007; 27(2): 173]
- 2) 福田隆浩, 水野聡子 (東京女子医科大学), 古幡博. 病的血管に対する超音波の影響—SHR/SP による評価. 厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業身体機能解析・補助・代替機器開発研究推進事業「脳血管障害の診断解析治療統合化システムの開発」に関する研究成果発表会. 京都, 3月.
- 3) 藤ヶ崎純子, 藤ヶ崎浩人, Lebre AS¹⁾, Breidert T¹⁾, Brice A¹⁾ (INSERM U679), Camonis JH (INSERM U528), Duyckaerts C (Hopital de la Pitie-Salpetriere). 脊髄小脳失調症 7 型におけるアミロイド前駆体ファミリー蛋白の細胞内分布. 第 48 回日本神経病理学会. 東京, 5月. [*Neuropathology* 2007; 27(2): 165]

V. その他

- 1) 伊藤保彦, 福田隆浩. 脊髄性痺みを呈した抗アクアポリン 4 抗体陽性横断性脊髄炎の 25 歳女性例. *脊椎脊髄ジャーナル* 2007; 20(7): 865-8.
- 2) 森 良介, 坂井春男, 加藤正高, 飛田敏郎, 中島真人, 福田隆浩, 福永眞治, 阿部俊昭. 再手術後 7 年を経過して spinal metastasis を来した olfactory neuroblastoma の 1 例. *Neurol Surg* 2007; 35(5): 503-8.
- 3) 高木 聡, 藤ヶ崎純子, 橋詰良夫 (愛知医科大学), 横地正之 (東京都立荏原病院). ステロイドが有効な脊髄炎を繰り返した 69 歳女性例の脊髄生検像. *Brain Nerve* 2007; 59(8): 893-906.

神経科学研究部・神経生理学研究室

教授: 加藤 総夫 神経生理学・神経薬理学

教育・研究概要

I. シナプス前神経伝達物質放出関連分子の機能解明

シナプス前からの神経伝達物質放出は脳機能の重要な基礎要素過程である。シナプス前終末に発現する伝達物質放出関連分子群の機能解明を可能とする実験系として確立した *in vivo* 頸部節状神経節ニューロン RNA 干渉法を応用し, 脳内シナプス前アデノシン A1 受容体ならびに P2X 受容体 P2X3 サブユニットをノックダウンした結果, 標的分子 mRNA 量の低下 (<15%), 脳切片における標的タンパク発現の減少, および, 一次求心ニューロンと孤束核 2 次ニューロン間シナプス伝達に及ぼすこれらの受容体の活性化の影響の量的ならびに質的変化の誘発に成功した (文部科学省科学研究費補助金・萌芽研究の補助を受けた)。

II. アストロサイトーニューロン機能連関の解明

延髄孤束核シナプス伝達制御におけるグリオトランスミッター ATP の意義を検証するため, laser photolysis 法を用いた脳スライスにおける時間・空間限局的細胞外 ATP 投与方法を用い, シナプス前に発現する P2X 受容体のサブタイプが遅感脱作型 P2X_{2/3} 型であり, しかも一次求心線維終末に発現している事実を確認した。孤束核においてアストロサイトが特異的突起伸長パターンを示し, それらの薬理的な活性化がおそらくは ATP 放出を介したシナプス前 P2X 受容体の活性化とグルタミン酸放出促進によるシナプス伝達亢進を誘発する事実を世界で初めて証明した (日本学術振興会科学研究費補助金・基盤研究 B および文部科学省科学研究費補助金・特定領域「グリア-ニューロン回路網」の補助を受けた。一部は解剖学講座との共同研究)。

III. 慢性痛における情動障害の脳機能の解明

痛みによって誘発される負情動の生成および増強機構を解明するために, 慢性神経因性疼痛モデル動物において, 脊髄後角疼痛特異的ニューロン由来結合腕傍核經由入力線維と扁桃体中心核ニューロン間シナプス伝達を評価した。1 活動電位に対するシナプス前からの放出総小胞数の増加がシナプス増強の分子機構である可能性を確認した (日本学術振興会