

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. 松果体実質細胞腫瘍の腫瘍マーカー

松果体実質腫瘍 (PPT) では, synaptophysin や NSE, NFP, class III β -tubulin, tau protein, PGP9.5, chromogranin, serotonin, retinal S-antigen, rhodopsin などが免疫組織化学法で検出されるが, その感度および特異性は様々である。松果体実質細胞がメラトニンを合成することから, その律速酵素である hydroxyindole O-methyltransferase (HIOMT) に対する抗体を作成し, PPT および PNET, 髄芽腫 (MB) における発現を検索した。ヒト網膜 RNA より得られた HIOMT の cDNA を用い HIOMT 蛋白質を合成精製。マウス (Ms) およびウサギ (Rb) に免疫し, 抗体を精製し, ELISA 法, Western blot 法, 免疫細胞化学法にて評価。ヒト組織内での HIOMT 分布を明らかにするため, 剖検および生検で得られ病理学的に異常のない組織において, 免疫組織化学的に検索した。また, PPTs 6 症例, PNETs 3 症例, MBs 8 症例において作成した抗 HIOMT 抗体および retinal S-antigen, SYP, NFP, MIB1 の抗体による免疫組織化学法と HE 染色標本を組織病理学的に評価した。抗 HIOMT 抗体は, HIOMT トランスフォーム FreeStyle293 細胞において, 免疫細胞化学法にて細胞を特異的に染色し, Western blot 法にて 38kDa の band を確認した。ヒト組織では, 網膜細胞, 松果体実質細胞, Edinger-Westphal 核神経細胞, 脈絡叢細胞, ミクログリア, マクロファージ, 甲状腺濾胞上皮細胞, 副甲状腺実質細胞, 副腎皮質細胞, 肝細胞, 腎尿細管細胞, 上部消化管の腸管内分泌細胞に認められた。PPTs において, pineocytoma 1 例, PPTID 4 例, pineoblastoma 1 例の全例に HIOMT 陽性細胞を認め, pineocytoma, PPTID の pineocytomatous 領域, PPTID の pineoblastomatous 領域, pineoblastoma の順にその発現細胞数は減少した。PNETs 3 例中 1 例, MBs 8 例中 4 例に HIOMT 陽性細胞を認めるもその発現細胞数は少なかった。HIOMT 免疫組織化学は, PPTs の診断及び組織学的評価を行う上で有用と考

えられた。

II. 脊髄小脳失調症 7 型細胞モデルを用いた発現アレイ解析

脊髄小脳失調症 7 型 (SCA7) は網膜変性, 小脳失調を特徴とする遺伝性神経変性疾患で, ポリグルタミン病に属する。異常に伸長したポリグルタミン鎖を含む原因遺伝子産物 ataxin-7 の発現により病態が惹起される。変異 ataxin-7 の発現によって神経細胞での遺伝子発現が変動し, SCA7 の病態に関与する可能性が指摘されている。そこで変異 ataxin-7 の発現誘導に伴っておこる遺伝子発現の変化を網羅的に検索するために発現アレイ解析を行った。テトラサイクリン制御システムを利用した変異 ataxin-7 を発現する細胞モデルを用い, DNA マイクロアレイを用いて遺伝子の発現変動を比較した。検索した約 40,000 の遺伝子において, 変異 ataxin-7 の発現誘導に伴い約 600 の遺伝子の発現が亢進し, 約 300 の遺伝子の発現が抑制された。発現が抑制された遺伝子の中には, 網膜視細胞に特異的に発現, 視細胞の機能に関与する遺伝子が含まれており, SCA7 の網膜変性の病態に関連している可能性が示唆された。

「点検・評価」

1. high grade な松果体実質細胞腫瘍は, 他の中枢神経系の未分化な腫瘍との鑑別が困難で, hydroxyindole O-methyltransferase (HIOMT) の存在を証明することにより, 診断可能となったことは, 画期的である。また, 正常脳組織において中脳の Edinger-Westphal 核神経細胞に HIOMT が存在し, ストレスや痛みに対する反応さらに体内時計など生理的機序に関与していることが示唆される。今後, 種々の疾患における HIOMT や他の生理活性物質との関連を検索する。

2. 今後, SCA7 の網膜変性に関与しうる遺伝子の発現変動について, SCA7 細胞モデル, 動物モデルを用いて検討する。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Akiyama N, Ohno Y, Fukuda T, Manome Y, Saito S. Enhancing activity of N-glycosylation for constitutive proteins secretions in non-polarized cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 381 (4): 612-8. (Epub 2009 Feb 25)
- 2) Kobayashi A, Arima K, Ogawa M, Murata M,

Fukuda T, Kitamoto T. Plaque-type deposition of prion protein in the damaged white matter of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease MM1 patients. *Acta Neuropathol* 2008; 116(5): 561-6.

III. 学会発表

- 1) 金澤 康, 藤ヶ崎純子, 宇都宮一典, 田嶋尚子. 糖尿病性末梢神経障害に対する Rho kinase 阻害薬の効果. 第 125 回成医学会総会. 東京, 10 月.
- 2) 金澤 康, 藤ヶ崎純子, 宇都宮一典, 田嶋尚子. 糖尿病性末梢神経障害に対する Rho kinase 阻害薬の効果. 第 19 回日本末梢神経学会学術集会. 名古屋, 9 月. [末梢神経 2008; 19(2): 247-9]
- 3) 藤ヶ崎純子, 高田耕司. 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 陽性構造物と核内機能ドメインとの関係. 第 49 回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 5 月. [NEURO-PATHOLOGY 2008; 28(2): 186]
- 4) 福田隆浩, 水野聡子(東京女子医科大学), 古幡 博. 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的安全性の神経病理学的検討. 第 49 回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 5 月. [NEURO-PATHOLOGY 2008; 28(2): 217]

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

当研究室の独自の研究テーマである ① 情動形成神経ネットワークにおけるシナプス可塑性, および, ② グリア-ニューロン連関の細胞機構に関する研究, を進めるとともに, 他講座などとの共同研究を進め以下の成果を挙げた。

I. 慢性痛における情動障害の脳機構の解明

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。単一求心線維に発生する 1 活動電位によって生じ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事実を証明し, これを裏付けるシナプス形態の変化(シナプス後肥厚面積の増大と形状の複雑化)が生じている事実を突き止めた(科学研究費補助金・特定領域総合脳, 基盤 C, ならびにノバルティス科学振興財団の補助を受けた。生理学研究所重本隆一教授らおよび整形外科学講座と共同研究を進めた)。

II. 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, 今年度は脳内シナプス前 P2X 受容体 P2X3 サブユニットをノックダウンした。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シナプス前 P2X 受容体活性化の影響の質的变化の誘発に成功した(科学研究費補助金・挑戦的萌芽研究の補助を受けた)。

III. 虚血・低酸素時におけるニューロン間シナプス伝達維持におけるグリア細胞の意義の解明

アストロサイトはニューロンに対するエネルギー供給源であると考えられているがその分子実体は十分解明されていない。近年, アストロサイトで生成