

Week 2010: 43rd Annual Meeting & Scientific Exposition. Denver, Nov.

- 7) Yokote S, Yokoo T, Matsumoto K, Ohkido I, Kawamura T, Hosoya T. Transplantation of metanephros suppresses the vascular calcification in rats with adenine-induced renal failure. American Society of Nephrology: Renal Week 2010: 43rd Annual Meeting & Scientific Exposition. Denver, Nov.
- 8) 横尾 隆. (教育講演2) 腎臓再生による抜本的腎不全治療法の開発. 第62回日本泌尿器科学会西日本総会. 鹿児島, 11月.
- 9) 松本 啓, 横尾 隆, 横手伸也, 川村哲也, 大橋十也, 辻 収彦, 岡野 James 洋尚, 岡野栄之, 細谷龍男. E2F1 トランスジェニック自殺誘導マウスを用いた純粋ヒト腎臓再生法の開発. 第1回分子腎臓フォーラム. 東京, 9月.
- 10) 横尾 隆. (特別講演) 再生医療と移植医療の融合による抜本的腎不全治療法の開発. 第14回北海道移植フォーラム. 札幌, 7月.
- 11) 横尾 隆. (シンポジウムII: 再生臓器への適応) 異種組織の適応現象を利用した腎臓再生法の開発. 第14回日本適応医学会学術集会. 東京, 7月.
- 12) 横尾 隆. 透析回避を目的とした機能腎臓再生法の開発. 第22回小児腎臓病漢方研究会. 大阪, 7月.
- 13) 横尾 隆. (シンポジウム2: 臨床応用に向けた腎臓再生) In vivoでの腎臓再生. 第53回日本腎臓学会学術総会. 神戸, 6月.
- 14) 横尾 隆. 日本人に適した高血圧治療薬の位置づけ. New Trends in Hypertension. 東京, 6月.
- 15) Matsumoto K, Yokoo T, Nagashima H, Matsunari H, Iwai S, Yokote S, Hosoya T, Ohashi T, Kobayashi E. Xeno-metanephros can be used as a scaffold of producing host animal's erythropoietin. The 12th Asian Pacific Congress of Nephrology. Seoul, June.
- 16) Yokoo T. (Symposium 08: Acute Kidney Injury: Basic) MSC and their utility for renal failure. The 12th Asian Pacific Congress of Nephrology. Seoul, June.
- 17) 横尾 隆. 移植可能な実践的臓器再生法の開発. 第22回神奈川移植医学会. 横浜, 5月.
- 18) 横尾 隆. 組織再生から臓器再生へのパラダイムシフト-腎臓再生へのあくなき挑戦-. 東京理科大学臓器再生セミナー. 東京, 4月.
- 19) 横尾 隆. (シンポジウム1: 臨床に繋がる再生医療の現状と近未来) 医学と工学の融合による自己幹細胞由来腎臓再生法の実現化. 日本医工学治療学会第26回学術大会. 東京, 4月.

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. 教育概要

3年生の「医学英語専門文献抄読」および「症候学演習」, 「感染・免疫チュートリアル」を担当した。4年生では, 臨床医学I「神経」および「病理学各論実習」, 「臨床医学演習」を担当し, 講義・実習共に神経病理学の理解と応用力を学生が学べるよう努めた。6年生選択実習では, 病理学講座に配属される学生1ユニットあたり2コマを担当し, 神経病理学を教育した。卒後教育として, CPCにおいて神経病理を担当した。また, 神経病理肉眼所見あるいは組織所見を生前の画像と対比した剖検例検討会を, 神経内科の研修医・学生および病院病理部研修医を対象に毎週木曜日に開催し, 神経疾患の理解を深める機会を提供している。

II. 研究概要

1. ライソゾーム病におけるポリユビキチン化の病態

【目的】 プロテアソームおよびオートファジーに関与するポリユビキチン化の病態をライソゾーム病において検索した。【対象と方法】 対象としてポンベ病 (PD), プロサポシン欠損病 (TSAP), ニーマンピック病c型 (NPC), ファブリー病 (FD), ハンター病 (HD), Sly病 (SD) の疾患モデルマウスおよびヒトのPD, FD, ゴーシェ病 (GD) を対象とした。各疾患の主要な臓器のホルマリン固定パラフィン包埋標本において, ubiquitin, K48 polyubiquitin, K63 polyubiquitin, p62, LC3, LAMP2 に対する抗体を用いた免疫組織化学的検索を行った。【結果】 PDモデルマウスの横紋筋, 心筋には, 生後8週よりp62陽性凝集物が発現し, LC3陽性, K63陽性凝集物が増加した。K48陽性凝集物は発現するも, K63に比べ少ない傾向が見られた。TSAPモデルマウスでは, 中枢神経系の神経細胞を中心に生後12日目よりubiquitin陽性封入体が発現する。p62陽性凝集物やLC3陽性, K48陽性, K63陽性凝集物は認められるも少数であった。NPCモデルマウスにおいても中枢神経系を中心にubiquitin,

p62, LC3, K48, K63 陽性凝集物をコレステロール蓄積神経細胞に認めた。ヒト NPC においても同様の傾向を認める。FD, HD, SD のモデルマウスおよびヒト FD, GD では、LAMP2 陽性ライソゾームの増加と空胞化を認めるも ubiquitin や p62, LC3 は陰性であった。【考察】ライソゾーム病において欠損酵素および蓄積物質が異なることにより、ユビキチン化、そして、K48 あるいは K63 のポリユビキチン化の程度が異なり、ユビキチンプロテアソーム系あるいはオートファジーリソソーム系の蛋白分解が関与している可能性が示唆された。

2. 希少な症例の診断・研究

稀な疾患である Niemann-Pick disease type c を剖検にて診断した。死亡時 16 歳、女性。13 歳以降知的障害・運動機能低下が進行し、痙攣重積にて入院。異常行動、持続性異常肢位を呈した。頭部 CT, MRI では明らかな異常を認めず、抗痙攣薬による汎血球減少から肺胞出血を併発し、死亡。神経学的に意識障害、体幹四肢の筋緊張の低下、嚥下障害、深部腱反射亢進、自律神経障害が存在。神経病理所見として脳重量：1,130g。明らかな脳萎縮を認めないが、中枢神経系および末梢神経系の神経細胞胞体内に Filipin 染色陽性の cholesterol の著明な沈着と ubiquitin 陽性顆粒、0.1–0.5 μ m 直径の membranous cytoplasmic bodies の存在。ubiquitin 陽性顆粒は、K48 polyubiquitin および K63 polyubiquitin に陽性で、LC3 や p62 も陽性であった。hippocampal tauopathy と nigral α -synucleinopathy を合併していた。NPC1 mRNA の異なる Allele 上の exon 13 G1990A (V664M) と exon 23 G3557A (R1186H) の変異が存在し、Niemann-Pick disease type c と診断した。

現在まで報告のない、筋萎縮性側索硬化症に Intracellular polyglutamin inclusion in astrocytes and neurons を合併した症例を剖検にて診断した。死亡時 77 歳、男性。右上肢麻痺にて発症後、両側上肢、嚥下障害が進行した。神経学的に、舌萎縮著明、線維束萎縮。両上肢著明な筋萎縮、筋力低下。四肢深部腱反射亢進を認めたが、認知症なし。神経病理所見として脳重量：1,260g。脊髄前根の萎縮。脊髄外側皮質脊髄路の白濁。上位運動ニューロン病変として、Betz cells の脱落・グリオシス。残存 Betz cells 胞体内 TDP43 陽性封入体。内包後脚・大脳脚中央・錐体路・脊髄皮質脊髄路の軸索脱落・髄鞘染色性低下・グリオシス・マクロファージ浸潤を認めた。下位運動ニューロン病変として、三叉神経運動核・顔面神経核・舌下神経核・脊髄前角細胞の脱

落・グリオシス。同部位の残存神経細胞胞体内に Bunina 小体および TDP43 陽性封入体。マクロファージ浸潤を認めた。Alzheimer disease 病変は、Braak & Braak stage B, stage III/IV であった。また、中枢神経系の星状膠細胞優位に核内好酸性封入体が存在。少数ではあるが、神経細胞胞体内にも核内封入体は認められる。封入体は、特に、大脳皮質、線状体、扁桃体、小脳皮質に目立った。

3. 生体内凍結法を用いたラット末梢神経の形態解析

様々な末梢神経障害の病態を解析する為に、モデル動物を用いた解析が行われている。モデル動物を用いて末梢神経を組織学的に観察する場合、通常のパラホルムアルデヒド固定、パラフィン包埋標本では、標本作製過程で軸索の収縮等が生じ、目的とする構造の形態観察が難しい場合がある。我々は、生体内凍結法を用いてラットの末梢神経の標本作製し、通常の方法で固定、包埋した標本と比較し、その利点について評価した。露出したラットの坐骨神経を、液体窒素にて冷却した液化プロパンにより迅速に凍結、凍結資料を 2%パラホルムアルデヒド/アセトン中で凍結置換固定し、パラフィン包埋ブロックを作製した。薄切した切片を用いて HE, Bodian, KB 染色、および免疫染色を行い観察した。生体内凍結法によって作製した末梢神経では、通常の方法よりも軸索の収縮が少なく、軸索径が保持されるため、組織構築の観察が容易であった。有髄線維では HE, Bodian, KB 染色にて Ranvier 絞輪の構造が良好に観察されたが、Schmidt-Lanterman (S-L) 切痕の構造は同定し難かった。S-L 切痕に分布する E-cadherin, β -catenin による免疫染色を行ったところ、S-L 切痕の構造が良好に観察された。生体内凍結法では、循環動態を遮断することなく生理的な環境を保ったまま生体組織を形態学的に観察する方法である。生体内凍結法により末梢神経の構造は良好に保持され、通常の方法に加え、免疫染色を組み合わせることで、構造の詳細な同定が可能であった。

「点検・評価」

神経病理学研究室の業務は、研究、診断、教育である。

教育は基本的に昨年度と変わらない。3年生の「医学英語専門文献抄読」では英語文献を読む上で重要な点を解説し、週一回の抄読により、医学英語に馴染む訓練で成果を出している。「症候学演習」および「感染・免疫チュートリアル」では、チューター

として学生が症候を理解できるよう誘導・指導した。4年生では、臨床医学I「神経」にて4コマおよび「病理学各論実習」にて2コマ担当し、6年生選択実習とともに、神経系疾患における病理形態を学生が理解できるよう指導した。「臨床医学演習」では、チューターとして学生が症例を理解できるよう誘導・指導した。卒業教育として、CPCにおいて神経病理を担当した。また、神経病理肉眼所見あるいは組織所見を生前の画像と対比した剖検症例検討会を、神経内科の研修医・学生および病院病理部研修医を対象に毎週木曜日に開催し、神経疾患の理解を深める機会を提供している。

神経病理診断業務および病理解剖では、本院および分院の病院病理部に積極的に協力し、確実かつ迅速に神経系の病理診断業務を行い、臨床の要求に添えている。経験のない希少な疾患であっても、形態学のみならず、分子生物学的方法あるいは生化学的方法を駆使し正確な診断を行っており、診断能力に関しては評価されて良い。

研究に関しては、人体病理を中心に研究活動を行っており、ライソゾーム病の病態の理解、特にオートファジーライソゾーム系およびユビキチンプロテアソーム系の関与に関し新しい知見を見いだしている。共同研究として、パーキンソン病モデルマウスでの病態解明や頭部外傷におけるオートファジーライソゾーム系およびユビキチンプロテアソーム系の関与を検索し、神経細胞障害にこれらの系が関与していることを見いだしている。また、形態学的評価を行う上で価値のある方法である、生体内凍結法を応用し、末梢神経障害の病態解明を今後進めていく。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Kyosen SO, Iizuka S, Kobayashi H, Kimura T, Fukuda T, Shen J, Shimada Y, Ida H, Eto Y, Ohashi T. Neonatal gene transfer using lentiviral vector for murine Pompe disease: long-term expression and glyco-gen reduction. *Gene Ther* 2010; 17(4): 521-30.
- 2) Fukuda T, Akiyama N, Ikegami M, Takahashi H, Sasaki A, Oka H, Komori T, Tanaka Y, Nakazato Y, Akimoto J, Tanaka M, Okada Y, Saito S. Expression of hydroxyindole-O-methyltransferase enzyme in the human central nervous system and in pineal parenchymal cell tumors. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010; 69(5): 498-510.
- 3) Kobayashi H, Takahashi-Fujigasaki J, Fukuda T, Sakurai K, Shimada Y, Nomura K, Ariga M, Ohashi T,

Eto Y, Otomo T, Sakai N, Ida H. Pathology of the first autopsy case diagnosed as mucopolidosis type III α/β suggesting autophagic dysfunction. *Mol Genet Metab* 2011; 102(2): 170-5.

- 4) Takahashi-Fujigasaki J, Breidert T¹⁾, Fujigasaki H (Musashino Red Cross Hospital), Duyckaerts C¹⁾, Camonis JH (INSERM, U528), Brice A¹⁾(¹INSERM UMRS 975), Lebre AS (INSERM U781). Amyloid precursor-like protein 2 cleavage contributes to neuronal intranuclear inclusions and cytotoxicity in spinocerebellar ataxia-7 (SCA7). *Neurobiol Dis* 2011; 41(1): 33-42.

III. 学会発表

- 1) 福田隆浩, 秋山暢丈, 齋藤三郎, 高橋 均, 岡 秀宏, 佐々木惇, 田中雅彦, 小森隆司, 秋元治朗, 田中優子, 中里洋一, 松果体実質細胞腫瘍の腫瘍マーカーその3. 第51回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 4月. [NEUROPATHOLOGY 2010; 30 (Suppl.): 90]
- 2) 福田隆浩, 河越しほ, 衛藤義勝. Fabry病 knock-outマウスの神経病理. 第51回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 4月. [NEUROPATHOLOGY 2010; 30 (Suppl.): 91]
- 3) 藤ヶ崎純子, 藤ヶ崎浩人(武蔵野日赤病院). 脊髄小脳失調症7型細胞モデルにおけるNCKX1, Phactr2の発現変動. 第51回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 4月.
- 4) 石澤 将, 藤ヶ崎純子, 金澤 康, 的場圭一郎, 川浪大治, 横田太持, 田嶋尚子, 宇都宮一典. Sphingosine1-phosphate 刺激に伴う腎尿細管細胞でのRho/Rho kinase系を介したMAPK系, アクチン形成, 接着因子への影響. 第53回日本糖尿病学会年次学術集会. 岡山, 5月.
- 5) 鹿 智恵, 羽野 寛, 千葉 諭, 藤ヶ崎純子, 小峰多雅, 林 勇介, 竹内行浩, 池上雅博. 原発性肺癌の発生における8番染色体短腕領域の染色体変化と各組織型との関係. 第99回日本病理学会総会. 東京, 4月.
- 6) 金澤 康, 藤ヶ崎純子, 石澤 将, 的場圭一郎, 横田太持, 五條 淳, 谷口幹太, 蔵田英明, 田嶋尚子, 宇都宮一典. 糖尿病性末梢神経障害の成因におけるRho kinase系シグナルの連関. 第53回日本糖尿病学会年次学術集会. 岡山, 5月.
- 7) Kanazawa Y, Utsunomiya K, Ishizawa S, Matoba K, Gojo A, Yokota T, Kurata H, Tajima N, Takahashi-Fujigasaki J. Enhanced Rho kinase activity altered E-cadherin distribution in peripheral nerves of streptozotocin-induced diabetic rats. 70th Scientific Sessions American Diabetes Association. Orlando, June.

- 8) 金澤 康, 藤ヶ崎純子, 田嶋尚子, 宇都宮一典. 糖尿病性末梢神経障害における接着性因子と Rho/Rho kinase 系シグナルとの連関. 第 21 回日本末梢神経学会学術集会, 仙台, 9 月.
- 9) 金澤 康, 藤ヶ崎純子, 石澤 将, 的場圭一郎, 川浪大治, 横田太持, 田嶋尚子, 宇都宮一典. 糖尿病性の末梢神経における Rho/Rho kinase 系シグナルの亢進による接着因子の変化. 第 25 回日本糖尿病合併症学会, 大津, 10 月.
- 10) 石澤 将, 藤ヶ崎純子, 金澤 康, 的場圭一郎, 川浪大治, 横田太持, 田嶋尚子, 宇都宮一典. Sphingosine1-phosphate 刺激に伴う ROCK を介した腎尿管細胞への影響. 第 22 回日本糖尿病性腎症研究会, 東京, 12 月.

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
講師 渡部 文子 神経生理学

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機構に関する研究, 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, 学内外の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, 脊髄神経結紮ならびにストレプトゾシン誘発慢性神経障害性疼痛モデル動物を作成し, 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そのシナプス伝達増強機構を解明した(科学研究費補助金・基盤研究 B (代表研究者・加藤)の補助を受けた(生理学研究所重本隆一教授ら, 整形外科講座, 星薬科大学・薬物治療学との共同研究)。また, 脊髄後角シナプス伝達の可塑性における P2X 受容体ならびにグリア細胞の意義を明らかにした(慶応義塾大学・医・整形外科・内科学との共同研究)。さらに, 神経障害性疼痛モデルにおける腕傍核-扁桃体シナプス伝達増強の固定化に, TRPV1 チャネル発現末梢 C 線維が必須である事実を突き止めた。

II. 恐怖情動の形成・消去に関わる神経機構の解明

情動依存的学習の形成と消去は, トラウマによる恐怖体験からの回復や治療法の開発などに直結することが期待され, 近年活発に研究が進められている。扁桃体局所神経回路におけるその基盤機構を解明するため, 情動記憶の形成と消去の基盤となる扁桃体シナプス伝達の解析を進めるとともに, 情動依存的学習行動における生理的意義を検討するため, 恐怖条件付け学習行動解析システムを用いて条件付け動物における扁桃体機能の変化を評価した(科学研究費補助金・基盤研究 C (代表研究者・渡部) および科学技術振興機構 JST さきがけ研究(代表研究者・渡部)による補助を受けた)。