

- anti-spermine aptamer. The 37th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry. Yokohama, Nov.
- 10) Ohkido M, Matsufuji S. Defect of antizyme 1 affects activated hematopoiesis elicited by acute anemia in adult mice. 2nd International Conference on the Role of Polyamines and their Analogs in Cancer and other Diseases. Rome, Dec.
- 11) 小黒明広, 松藤千弥. RNA アプタマーを用いたスベルミン検出系の開発. BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会). 神戸, 12月.
- 12) 村井法之, 村上安子, 松藤千弥. Antizyme 2 accelerates c-Myc degradation in the cells. BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会). 神戸, 12月.
- 13) 小黒明広, 松藤千弥. RNA アプタマーを用いたポリアミン検出系の開発. 日本ポリアミン学会第2回年会. 宇都宮, 1月.
- 14) 大城戸真喜子, 松藤千弥. アンチザイム1ノックアウトマウスにおける骨髓造血細胞の解析. 日本ポリアミン学会第2回年会. 宇都宮, 1月.
- 15) 村上安子, 大城戸真喜子, 滝澤浩子, 村井法之, 松藤千弥. ノックアウトマウスを用いたアンチザイムインヒビター1 (AIn1) の発現解析. 日本ポリアミン学会第2回年会. 宇都宮, 1月.
- 16) 村井法之, 村上安子, 松藤千弥. アンチザイム2は細胞内でc-Mycの分解を促進する. 日本ポリアミン学会第2回年会. 宇都宮, 1月.
- 17) 松藤千弥. 細胞内ポリアミン濃度の変動と維持. 日本ポリアミン学会第2回年会. 宇都宮, 1月.

IV. 著 書

- 1) Ivanov IP (Univ. Col. Cork), Matsufuji S. Part II: Frameshifting - Redirection of linear readout 13. Autoregulatory frameshifting in antizyme gene expression governs polyamine levels from yeast to mammals. In: Atkins JF, Gesteland RF eds. Recoding: Expansion of Decoding Rules Enriches Gene Expression (Nucleic Acids and Molecular Biology: 24). New York: Springer, 2010. p.281-300.

薬 理 学 講 座

- 教 授: 靱山 俊彦 中枢シナプスの生理学および薬理学
- 教 授: 木村 直史 呼吸・循環調節の生理学・薬理学, 医学教育
- 講 師: 大野 裕治 内分泌薬理学
- 講 師: 西 晴久 内分泌薬理学, アレルギー学
- 講 師: 石川 太郎 中枢神経の生理学および薬理学

教育・研究概要

I. 大脳基底核・前脳基底核シナプス伝達に関する研究 (靱山俊彦)

前脳基底核は中枢アセチルコリン性ニューロンの起始核であり, 記憶, 学習, 注意等の生理的機能と密接に関係するとともに, その病的状態としてアルツハイマー病との関連が示唆されている。また, 線条体は運動制御を司る中枢として, パーキンソン病等大脳基底核関連疾患と関連している。これらの中脳部位の興奮性および抑制性シナプス伝達機構および修飾機構につき, ニューロン同定の新たな手法を導入しつつ, 電気生理学的解析および形態学的解析を行ない, 伝達物質遊離制御における特定のドーパミン受容体と特定のカルシウムチャネルの選択的共役, およびその生後発達変化を明らかにした。また, 細胞内リン酸化酵素系の異常によって大脳基底核機能, シナプス伝達の異常が生じることを明らかにした。今後は大脳基底核, 前脳基底核シナプス伝達における転写因子等の情報伝達系の関与を解明すべく, 研究を進めている。

大脳基底核シナプスおよび神経回路の再生機構の詳細は不明である。実験的に脳虚血状態を起こしたラットおよびパーキンソン病モデルラットを用いて, 傷害された線条体神経細胞, シナプス再生経過および再生機構を明らかにする目的で, 形態学および電気生理学的解析を行なった。本プロジェクトによる基礎的データが, 脳梗塞等の疾患に対する新たな治療法開発につながることを期待したい。

II. 水生脊椎動物の神経性呼吸調節に関する研究 (木村直史)

完全水棲のピパ科のカエルは比較呼吸生理学的に興味深い特徴を有しており, 他の無尾目両生類と異なり, 口腔呼吸サイクルを発現せず, 口腔内に空気

を吸入する前に肺から呼吸を排出し、哺乳類の横隔膜との相同性が推測されている固有の筋群（第3脊髄神経の枝の支配を受ける）を有する。ピバ科カエルが口腔呼吸サイクルを欠く仕組みを調べるために、*Xenopus laevis* の摘出脳幹脊髄標本から呼吸性運動性活動を導出した。間歇的な肺換気運動に相当するバースト群は、*Xenopus* の第 V, IX, X 脳神経および舌下神経に発現した。一方、口腔呼吸サイクル様の規則的な活動は、第 V および第 X 脳神経に発現したが、舌下神経と第 3 脊髄脳神経には見られなかった。以上の結果から、*Xenopus* は口腔呼吸サイクルを形成する能力を脳幹内に保持しているが、呼吸性運動性出力の一部にこれを欠くと考えられた。

III. 分泌型タンパク質の設計 (大野裕治)

マウス IL-31 を HEK 細胞に発現させると、ほぼ 100% が細胞外に分泌された。そこでこの性質を利用し、緑色蛍光タンパク質 (EGFP) と融合タンパク質にしても分泌されることを確認した。さらに IL-31 の分泌シグナルを検討したところ、シグナルペプチドと最初の糖鎖結合部位までの 28 アミノ酸が重要であった。核移行シグナルを持つ p53 や膜タンパク質であるアクアポリンなどのタンパク質もこの 28 個のアミノ酸を N-末に結合させることにより、細胞外に分泌された。

IV. ヒト株化肥満細胞を用いたヒスタミン放出機構に関する研究 (西 晴久)

I 型アレルギー機構に作用すると考えられる細胞外プリン、およびその受容体であるプリン受容体の機能を調べるため、ヒト肥満細胞由来株化細胞の LAD2 を入手して細胞培養システムを立ち上げ、以下の処置および実験を行った。

- ・独自の抗体及び抗原を用いた高親和性 I 型 IgE 受容体 (FcεRI) 刺激方法の確立
- ・プリン受容体 mRNA 発現の解析
- ・FcεRI への刺激に対する細胞外プリンの作用の薬理的解析：
 - 脱顆粒 (ヒスタミン・βヘキソサミニダーゼ) 測定
 - 細胞内 Ca イオン濃度測定
- ・shRNA 用プラスミドを設計・構築しての RNA 干渉実験：
 - 細胞内タンパクをノック・ダウンした LAD2 における細胞外プリンの作用解析

V. 小脳苔状線維の高頻度発火について (石川太郎)

顔面領域からの体性感覚信号は橋小脳路および三叉神経小脳路を介して小脳へ送られる。これらの投射線維は苔状線維を形成して小脳皮質の顆粒細胞層に投射している。これまでの研究において、ラットのヒゲおよび口唇部皮膚への体性感覚刺激により、苔状線維に瞬間最大頻度 700Hz を超える非常に高頻度のバースト発火が惹起されることが知られていた。しかし、このような高頻度発火が上述の 2 つの投射経路のどちらにより小脳に到達しているかは分かっていなかった。そこで我々は急性脳スライス標本において顕微鏡観察下に同定された橋核および三叉神経核の投射ニューロンの発火特性を調べる実験を行った。その結果、橋核ニューロンは脱分極刺激に対して、上述のような 700Hz を超える高頻度発火を示さなかった。一方で、三叉神経核においては少なくとも一部の投射細胞が 700Hz 以上の最大瞬間発火頻度を示した。このことにより、非常に高頻度の活動電位発火は橋核ではなく三叉神経核に由来することが示唆された。

VI. ケトン食療法における抗けいれん作用の機序解明 (川村将仁)

ケトン食療法は高脂肪、低炭水化物食により血中ケトン体を増加させ、擬似絶食状態を引き起こす食事療法であり、近年、薬剤耐性の難治性てんかん患者にも効果があることが報告されてからその有用性が注目されつつある。しかしながら、ケトン食療法の抗けいれん作用の機序は未解明である。ケトン食療法は、(1) 血中ケトン体増加を引き起こす。しかし、ケトン体自身は神経活動に直接影響を及ぼさない、(2) 低血糖を引き起こし、その程度はケトン食療法の抗けいれん作用と相関する、(3) 脳内 ATP の増加を引き起こすことが報告されている。ケトン食療法における抗けいれん作用の機序を解明するために、ラット急性海馬スライス標本において、CA3 錐体細胞より全細胞パッチクランプ記録を行った。海馬 CA3 錐体細胞において細胞内 ATP 濃度が十分もしくは高濃度存在する時は、細胞外グルコース濃度低下により pannexin-1 チャネルが開き ATP が細胞外に放出され、アデノシンに加水分解された後アデノシン A₁ 受容体を活性化し、CA3 錐体細胞に過分極を引き起こすことが示された。この細胞外グルコース濃度低下により引き起こされる海馬 CA3 錐体細胞のオートクリン調節はケトン食療法における抗けいれん作用の機序の一つと考えられた。

Ⅶ. 小脳傍片葉領域における視覚応答について (志 牟田美佐)

我々のこれまでの研究により、小脳の傍片葉領域には視覚系の信号が入力しており、顆粒細胞の約80%が視覚刺激に応答することが知られていたが、この領域におけるプルキンエ細胞の応答は詳しく調べられていなかった。そこで我々は麻酔下ラットのプルキンエ細胞から記録を行った。その結果、視覚刺激によりプルキンエ細胞の「単純スパイク」の発火頻度に変化が起こることが示された。現在、これらのプルキンエ細胞の「複雑スパイク」がどのような視覚刺激により誘発されるかを検討中である。

「点検・評価」

1. 教育

教職員は全員、講義・薬理学実習および症候学演習に参加している。初山は教学委員、基礎医科学Ⅱコースのユニット生体と薬物、機能系実習および臨床基礎医学Ⅰコースのユニット病態と薬物のユニット責任者、基礎医科学Ⅱ総合試験委員をつとめた。木村は教学委員、試験委員会委員長、カリキュラム委員会副委員長、医師国家試験対策実行委員、コース医学総論ⅠおよびⅡのコース責任者等をつとめた。大野は症候学演習運営委員、西は医学卒業総括試験委員、基礎医科学Ⅱ総合試験委員等をそれぞれつとめた。石川は基礎医科学Ⅱ口頭試験委員をつとめ、川村は基礎医科学Ⅱ口頭試験委員および症候学演習運営委員をつとめた。薬理学実習については、長年の積み重ねにより *in vivo*, *in vitro* 共に充実した実習となっているが、実習を担当する教員の育成が今後の課題となっている。

2. 研究

本講座では、中枢シナプス伝達に関する研究をはじめとする上記Ⅰ～Ⅶの各研究が、各々独立した小グループによって行なわれている。

研究に関係した委員会関係では、初山は動物実験委員、木村は東京慈恵会医科大学雑誌編集委員長、JMJ 編集委員をつとめた。大野は遺伝子組換え実験安全対策委員および遺伝子組換え実験安全対策委員会の安全主任者をつとめた。

研究業績

Ⅰ. 原著論文

1) Momiyama T. Developmental increase in D1-like dopamine receptor-mediated inhibition of glutamatergic transmission through P/Q-type channel regulation in the basal forebrain of rats. *Eur J Neurosci* 2010; 32(4): 579-90.

2) Sasaki J¹, Kofuji S¹, Itoh R¹, Momiyama T, Takayama K², Murakami H¹, Chida S¹, Tsuya Y¹, Takasuga S¹, Eguchi S¹, Asanuma K¹, Horie Y¹, Miura K¹, Davies EM³, Mitchell C³ (³Monash Univ.), Yamazaki M², Hirai H² (²Gunma Univ.), Takenawa T (Kobe Univ.), Suzuki A (Kyushu Univ.), Sasaki T¹ (¹Akita Univ.). The PtdIns(3, 4) P(2) phosphatase INPP4A is a suppressor of excitotoxic neuronal death. *Nature* 2010; 465(5): 497-501.

3) Yoshikawa G¹, Momiyama T, Oya S¹, Takai K¹, Tanaka J¹, Higashiyama S (Ehime Univ.), Saito N¹, Kirino T (Res. Inst. Internat. Med. Center of Japan), Kawahara N¹ (¹Univ. of Tokyo). Induction of striatal neurogenesis and generation of region-specific functional mature neurons after ischemia by growth factors. *Laboratory investigation. J Neurosurg* 2010; 113(4): 835-50.

Ⅱ. 総説

1) 初山俊彦. 【シナプスをめぐるシグナリング】 チャネル カルシウムチャネルの多様性 カルシウムチャネルサブユニットの多様な機能. *生体の科学* 2010; 61(5): 414-5.

2) Masino SA¹, Kawamura M, Jr., Ruskin DN¹ (¹Trinity Coll.), Gawryluk J², Chen X², Geiger JD² (²Univ. North Dakota). Purines and the anti-epileptic actions of Ketogenic diets. *Open Neurosci J* 2010; 4: 58-63.

Ⅲ. 学会発表

1) Momiyama T, Sato A¹, Katsuki M¹, Sasaoka T¹ (¹Natl. Inst. Basic Biol.). Motor activity and GABAergic synaptic transmission of dopamine receptor knock-out mice. 7th Forum of European Neuroscience (FENS). Amsterdam, June.

2) 初山俊彦. カーボンナノチューブ電極を用いたドーパミン性ニューロン細胞体からのドーパミン遊離検出. *Neuro 2010* (第33回日本神経科学大会・第53回日本神経科学学会大会・第20回日本神経回路学会大会). 神戸, 9月. [*Neurosci Res* 2010; 68 (Suppl. 1): e116]

3) 川村将仁, Ruskin DN¹, Masino SA¹ (¹Trinity Coll.). 海馬 CA3 錐体細胞における Pannexin-1 チャネルを介した ATP 放出機構. *Neuro 2010* (第33回日本神経科学大会・第53回日本神経科学学会大会・第20回日本神経回路学会大会). 神戸, 9月.

4) 西 晴久. ヒト副腎皮質株化細胞 NCI-H295R のコルチコイド産生における細胞外 Ca²⁺ の重要性. 第123回日本薬理学会関東部会. 下野, 10月. [*日薬理誌*

2011 ; 137(1) : 16P]

- 5) Kawamura M Jr., Ruskin DN¹⁾, Masino SA¹⁾(¹Trinity Coll.). The basic mechanism of a ketogenic diet: A purinergic autocrine regulation of CA3 pyramidal neurons. Neuroscience 2010 (SfN's 40th Annual Meeting). San Diego, Nov.
- 6) 初山俊彦. ラットドーパミン性ニューロン細胞体からのドーパミン遊離と活動電位との同時記録. 第88回日本生理学会大会/第116回日本解剖学会総会・全国学術集合同大会. 横浜(誌上開催), 3月. [J Physiol Sci 2011; 61 (Suppl. 1) : S167]
- 7) 初山俊彦. ラット中脳単一ドーパミン性ニューロン細胞体からのドーパミン遊離検出. 第84回日本薬理学会年会. 横浜(誌上開催), 3月. [J Pharmacol Sci 2011; 115 (Suppl. 1) : 116]
- 8) 西 晴久. ヒト副腎皮質由来 H295R 細胞のコルチコイド産生における細胞内 Ca²⁺ 上昇持続の重要性. 第84回日本薬理学会年会. 横浜(誌上開催), 3月. [J Pharmacol Sci 2011; 115 (Suppl. 1) : 223]
- 9) 川村将仁, Ruskin DN¹⁾, Masino SA¹⁾(¹Trinity Coll.). てんかん療法 ketogenic diet におけるアデノシン A₁ 受容体の関与. 第84回日本薬理学会年会. 横浜(誌上開催), 3月.

IV. 著 書

- 1) 初山俊彦訳. 第II編: 神経細胞と筋細胞の生理学 7. 神経伝達物質と神経修飾物質. 岡田泰伸監訳. ギャノン生理学. 原書23版. 東京: 丸善, 2011. p.153-75.

病 理 学 講 座

教 授: 羽野 寛	人体病理学: 特に肺・肝の臓器病理学
教 授: 福永 眞治 (病院病理部出向中)	人体病理学: 診断病理, 軟部腫瘍, 産婦人科領域
教 授: 酒田 昭彦 (病院病理部出向中)	人体病理学: 特に肝とリンパ網内系の病理
准教授: 鈴木 正章	人体病理学: 特に泌尿生殖器・乳癌の病理
准教授: 池上 雅博 (病院病理部出向中)	人体病理学: 特に消化管の病理
准教授: 千葉 諭	人体病理学: 特に肝・骨髄・循環・膝・胎生形態学の病理
准教授: 鷹橋 浩幸	人体病理学: 特に泌尿生殖器, 分子病理学, 診断病理学
講 師: 野村 浩一 (病院病理部出向中)	人体病理学: 特に婦人科の病理
講 師: 金網友木子 (病院病理部出向中)	人体病理学: 特に腎組織病理
講 師: 原田 徹 (病院病理部出向中)	人体病理学: 特に肺腫瘍, 臓器基本構築

教育・研究概要

I. 肝臓に関する研究

1. アルコール性脂肪肝と非アルコール性の脂肪肝・脂肪性肝炎を対象に, 初期および後期段階の脂質酸化ストレス状況について検討した。その結果, 初期酸化ストレスは特に脂肪滴周囲で微細顆粒状に, 後期酸化ストレスは肝細胞内と貧食マクロファージ内で微細から粗大顆粒状に発現していた。いずれの病型とも酸化ストレス下にあったが, 脂肪肝から脂肪性肝炎への進展には後期脂質酸化ストレスが関与している可能性が示唆された。

2. 閉塞性黄疸における増生細胆管の起源に関する免疫組織学的研究を続行した。今までにCK7, hepatocyte の免疫染色の結果から, 増生細胆管は肝細胞に由来し, 肝細胞の direct transdifferentiation によると結論した。今回は肝細胞のCK7および肝細胞抗原の共発現に関して, 蛍光2重染色にて再確認した。また, 胆汁 drainage により胆汁鬱帯を軽減した症例では, CK7 発現の肝細胞は著しく減少し, 細胆管の増生は停止し, 増生細胆管は一方で減少, 一方で残存するものは既存の小葉間胆管上