

アンチザイム1ノックアウトマウスにおける胎仔期造血幹細胞の評価. 日本ポリアミン学会第4回年会. 松島, 1月. [日本ポリアミン学会第4回大会研究発表プログラム 2013:34]

- 11) 柳田明日美¹⁾, 藤枝裕大¹⁾, 小黒明広, 松藤千弥, 河合剛太¹⁾(¹千葉工大). スペルミンに結合するRNAアプタマーの結合様式のNMR法による解析. 日本ポリアミン学会第4回年会. 松島, 1月.
- 12) 村井法之, 村上安子, 松藤千弥. アンチザイム2によるc-Mycの分解促進機構とその意義. 日本ポリアミン学会第4回年会. 松島, 1月.
- 13) 村井法之. 動物細胞におけるポリアミン恒常性の維持機構—アンチザイムを中心に—. 日本農芸化学会2013年度大会. 仙台, 3月.

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, セロトニン受容体を介するシナプス伝達修飾機構, さらにはフェロモン受容に関与する新規チャネル結合型受容体の機能を解明すべく, 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, 形態学的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)

あくびは, 哺乳類において長い吸気と短い呼気を

伴うことから、呼吸に関連した行動と信じられてきた。しかしながら、水生のカメ目、両生綱、および肺を有する空気呼吸魚は、あくびの間、決して喉頭口を開口しない。肺を欠くサメ類もあくび様行動を発現することが知られている。サメ類の‘あくび’は（第一鰓弓に由来すると考えられる）顎と残る鰓弓の伸展によって特徴づけられる。そこで、サメ類のあくびに類似した行動をより原始的な無顎類のヤツメウナギで探索した。ヤツメウナギは、水槽の壁を吸引するのを止めたとき、時に鰓弓と体の吻側部を伸展した。脊椎動物の‘あくび’は、鰓弓もしくは鰓弓由来の構造物の伸展運動として再定義されるかもしれない。

III. エンドゼピンに関する研究（大野裕治）

エンドゼピンは中枢神経系においてベンゾジアゼピン受容体に結合し、GABA-A受容体のGABAの結合を阻害し不安を引き起こす物質として知られている。このような細胞外での機能以外に我々は副腎皮質細胞内でエンドゼピンまたはその代謝産物が産生され、作用していることを発見した。ウシ副腎皮質細胞よりこのタンパク質をクローニングし、大腸菌に産生させたが、機能が発揮できないことがわかり、糖鎖結合等の翻訳後修飾が関与していることも考えられるので、ヒト胎児腎細胞由来のHEK293細胞に発現させその機能を検討したい。

IV. ヒト株化副腎皮質細胞を用いたプリン受容体刺激によるグルコルチコイド分泌に関する研究（西 晴久）

ヒト株化副腎皮質細胞のH295Rを用い、副腎皮質のグルコルチコイド分泌とプリン受容体～殊にP2Y1型プリン受容体（P2Y1R）～の機能について解析した。まずはH295RにおいてshRNA法を用いたP2Y1R mRNAのノックダウンを試み、P2Y1Rタンパクの発現レベルの定量から、同細胞のP2Y1R mRNAのノックダウンに成功したことが確かめられた。P2Y1RをノックダウンしたH295Rでは、P2Y1R選択性プリンアナログの2MeSATPによるグルコルチコイド分泌（GC分泌）が、ノックダウンしていないH295Rの場合と比較して有意に減弱した。これより、P2Y1RはGC分泌に関連することが示唆された。H295Rでは他の細胞外プリンのGC分泌能が著しく低い、その要因が細胞膜上のヌクレオチド分解酵素の作用にあるのか否かを確かめるため、H295Rの細胞外ヌクレオチダーゼ発現と細胞刺激実験条件下での細胞外ATPと

ADPの分解を調べた。その結果、同細胞において細胞外ヌクレオチダーゼの発現がmRNAおよびタンパクレベルで確認できた。一方で、ルシフェリノールシフェラーゼ活性測定、および放射性ヌクレオチドを用いた細胞外ヌクレオチド分解検出実験から、H295Rにおける細胞外ヌクレオチダーゼによる細胞外プリンの分解（代謝）は、GC分泌を阻害するほど急速ではないことがわかった。以上より、H295Rに発現するP2Y1Rは同細胞のGC分泌に関連していることが明らかとなった。

V. 橋核ニューロンの発火パターン（石川太郎）

大脳皮質からの感覚および運動の信号は脳幹の橋核を介して小脳へ送られる。この中継核である橋核の神経細胞におけるシナプス伝達と発火パターンの特徴を知るために、麻酔下ラットの橋核主細胞からホールセル記録を試みた。その結果、これらの細胞は4～5 Hzのいわゆるシータ域帯の周期でバースト状のシナプス入力を受けていることが明らかとなり、さらにこれに伴って自発的な発火をしていることが判明した。

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チャネルが開口し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. 大脳小脳連関における周期的活動の同期 (志牟田美佐)

大脳皮質からの信号は、小脳皮質顆粒細胞に到達しているが、顆粒細胞からの細胞内記録によりこれを精査した例はない。そこで、大脳皮質の体性感覚野の電場電位記録と同時に、小脳皮質顆粒細胞からホールセル電位固定法により単一細胞記録を行った。その結果、大脳皮質の活動と小脳へのシナプス入力とは同期性を持っていることが明らかになり、特にシータ域帯の周期的活動に同期が見られることが明らかになった。

「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科学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、医学総論ⅠおよびⅡのコース責任者、医学総論Ⅰ演習およびⅡ演習のユニット責任者、基礎医科学Ⅰ・生体調節のしくみのユニット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。研究手法の進歩により、古典的薬理学解析手法に習熟した研究者、教員が全国的に減少しているが、実習を通じて古典的手法を継承し続けたいと考えている。

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 *Jikeikai Medical Journal* 編集委員長、東京慈恵会医科大学雑誌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

Ⅱ. 総説

- 1) Masino SA¹⁾, Kawamura M Jr, Ruskin DN¹⁾ (¹Trinity Coll.), Geiger JD (Univ. North Dakota),

Boison D (Legacy Res. Inst.). Purines and neuronal excitability: Links to the ketogenic diet. *Epilepsy Res* 2012; 100(3): 229-38.

- 2) Masino SA¹⁾, Kawamura M Jr, Cote JL¹⁾, Williams RB¹⁾, Ruskin DN¹⁾ (¹Trinity Coll.). Adenosine and autism: a spectrum of opportunities. *Neuropharmacology* 2013; 68: 116-21. Epub 2012 Aug 24.

Ⅲ. 学会発表

- 1) Kawamura M Jr. Metabolism and purinergic autocrine regulation. *Purine* 2012: Adenine Nucleosides and Nucleotides in Biomedicine ~Purinergic Signaling in New Strategy of Drug Discovery~. Fukuoka, May.
- 2) Momiyama T, Nishijo T. Serotonin-induced inhibition of IPSCs in basal forebrain cholinergic neurons of the rat. 8th FENS Forum of Neuroscience. Barcelona, July.
- 3) 西 晴久. ウシ副腎皮質束状層細胞におけるプリン受容体に関する研究. 日本動物学会第83回大会. 豊中, 9月.
- 4) 西條琢真, 初山俊彦. セロトニンはラットの前脳基底核においてコリン作動性ニューロンへのGABAも遊離を5-HT1B受容体を介して抑制する. 第35回日本神経科学大会. 名古屋, 9月. [*Neurosci Res*]
- 5) 佐藤朝子¹⁾, 初山俊彦, 笹岡俊邦¹⁾ (¹北里大). ドーパミンD1受容体欠損およびドーパミンD2受容体欠損マウスの運動量の詳細解析. 第35回日本神経科学大会. 名古屋, 9月. [*Neurosci Res*]
- 6) Ishikawa T, Shimuta M. *In vivo* firing pattern of neurons in the pontine nuclei. 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. Nagoya, Sept.
- 7) 西條琢真, 初山俊彦. 前脳基底核アセチルコリン性ニューロンへのGABA遊離に対する5-HT1B受容体を介するシナプス前抑制. 第86回日本薬理学会年会. 福岡, 3月. [*J Pharmacol Sci* 2013; 121(Suppl.1): 135]
- 8) Nishi H. The effects of purinergic agonists on allergic degranulation in human-derived mast cell line, LAD2. 86th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society. Fukuoka, Mar. [*J Pharmacol Sci* 2013; 121(Suppl.1): 196]
- 9) Kawamura M. Adenosine-mediated inhibition of excitatory transmission during ischemia at different temperatures in the hippocampus. 86th Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society. Fukuoka, Mar.
- 10) 初山俊彦. 中枢神経系の構成と機能. 第90回日本生理学会大会. 東京, 3月.

- 11) Shimuta M, Ishikawa T. Periodic synaptic currents and their integration in neurons in the pontine nuclei. 90th Annual Meeting of the Physiology Society of Japan. Tokyo, Mar. [J Physiol Sci 2013; 63(Suppl.1) : 186]

IV. 著 書

- 1) 初山俊彦訳. 第三編. 中枢神経作用薬 10. 中枢神経興奮薬. 柳澤輝行 (東北大), 丸山 敬 (埼玉医大) 監訳. イラストレイテッド薬理学. 原書 5 版. 東京: 丸善, 2012. p.150-60.
- 2) Kawamura M Jr, Ruskin DN¹⁾. 4. Adenosine and autocrine metabolic regulation of neuronal activity. In: Masino S¹⁾ (Trinity Coll.), Boison D (Legacy Res. Inst.), editors. Adenosine: a key link between metabolism and brain activity. New York: Springer, 2012. p.71-85.
- 3) 石川太郎, 初山俊彦, 遅いシナプス後電位. 田中啓治¹⁾, 御子柴克彦¹⁾ (理化学研究所) 編集委員長. 脳科学辞典 (<http://bsd.neuroinf.jp/wiki/>). 2012.

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 <small>(病院病理部へ出向中)</small>	人体病理学: 診断病理, 軟部腫瘍, 産婦人科腫瘍
教 授: 酒田 昭彦 <small>(病院病理部へ出向中)</small>	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 <small>(病院病理部へ出向中)</small>	人体病理学: 特に消化管の病理
准教授: 千葉 論	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
准教授: 野村 浩一 <small>(病院病理部へ出向中)</small>	人体病理学: 特に婦人科の病理
講 師: 金網友木子 <small>(病院病理部へ出向中)</small>	人体病理学: 腎生検組織を中心とした形態的解析
講 師: 原田 徹 <small>(病院病理部へ出向中)</small>	人体病理学: 特に呼吸器疾患, 肝疾患
講 師: 鹿 智恵	がんの発生・進展に関連する責任遺伝子の検索: 特に肝癌, 肺癌
講 師: 小峯 多雅	人体病理学: 肝臓, 腎臓の三次元的構造解析

教育・研究概要

I. 肝臓に関する研究

1. 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に関する研究

NASH の precirrhotic stage においてその組織傷害が時間の経過とともにどのように変化していくかについての研究を前年度までに行なってきた。この研究は 3 次元的に肝を観察することによって行った研究であるが、肝に惹起された線維化と血管の走行が如何に変化するかに注目した研究でありこの結果をまとめ雑誌に報告した。その要点は、中心静脈周囲におきた線維化が進展し、隣接する中心静脈周囲の線維化と統合し線維性架橋を形成する。これが肝全体にわたって進行すると、結果的に門脈域を囲むような線維化が形成されることになる。この stage においても中心静脈域と門脈域との線維性架橋は少