

# 講座，研究施設の主要研究業績

## 〈医学科〉

### 講座（特設診療科を含む）

## 基礎医学

### 解剖学講座 肉眼・神経

教授：河合 良訓 神経解剖学  
講師：橋本 透 肉眼解剖学・放射線解剖学

#### 教育・研究概要

##### I. 神経系の研究

中枢神経系の正常機能や疾患を理解するためには、個々の機能を実現している神経回路の構成とその作動原理を解明することが重要であるという観点に立って研究を推進している。

延髄孤束核の微小神経ネットワークの基本構成を明らかにするために、パッチクランプ法と細胞内染色法やその他の手法を用いて定量的ニューロンタイプ解析を行い、シナプス結合性との関連を相関解析している。これまでに以下のことを明らかにし、微小神経回路の構築原理と機能ダイナミクス、およびその相関性に関して継続発展的に研究を行っている。

##### 1. 回路形成ニューロンの形態学的化学的特徴の定量定性化

神経突起の分岐や広がり、細胞サイズ、機能分子の発現プロフィールの分析結果から、孤束核を構成する神経細胞は、細胞体のサイズ（細胞体面積  $150 \mu\text{m}^2$  を境界に）によって小型と中殻大型の少なくとも二つのグループから構成されることがわかった。細胞体のサイズの違いは、軸索側枝の広がり、長さの反映も反映していた。小型ニューロンの軸索側枝は孤束核内に広く分布し、他の孤束核ニューロンと広範にシナプスを形成することを示唆していた（平均軸索分岐数 31.5）。一方、中～大型ニューロンは、軸索側枝の発達が悪く（平均軸索分岐数 1.04）、主に孤束核外に投射する投射型グルタミン酸ニューロンであり、その細胞体は内側亜核に局在する。小型ニューロンは、さらに GABA 細胞とグルタミン酸細胞に

分けられ、前者の軸索は孤束核内のみにとどまる。細胞体の局在は前者が主に交連亜核、内側亜核に偏在するのに対して、後者は核内に一様に分布し、その軸索には孤束核内に分布するもの以外に核外に投射する主軸索が存在する。

##### 2. 興奮性・抑制性シナプス入力パターンの特徴とネットワーク構成

シナプス後電流を解析すると、成熟動物の小型ニューロンと中～大型ニューロンの間では、グルタミン酸性（興奮性）シナプス後電流と GABA 性（抑制性）シナプス後電流の出現頻度の相対比率に大きな差異が認められた。すなわち、興奮性シナプス入力の比率は小型ニューロンの約 96% に対し、中～大型ニューロンでは約 31% であった。以上、形態学的電気生理学的所見を総合すると孤束核内の局所神経ネットワークの極めて特徴的な構成が明らかとなってきた。すなわち、グルタミン酸性小型ニューロンは、その軸索側枝でお互いにシナプス結合して再帰性（共鳴性）興奮回路を形成し、強い持続性の興奮性シナプス活動を維持している。これらのニューロンの投射性軸索は内臓知覚伝導路の一部を構成する。この回路で生成される興奮性シナプス活動は、GABA ニューロンを介して、反転した形で中～大型のニューロンに伝えられる。中～大型ニューロンはこのような tonic な抑制性バックグラウンドシナプス活動を有し、圧受容・化学受容反射等の末梢知覚入力を核外（腹外側延髄や視床下部等）に統合中継し、反射回路の一部を構成していることがわかった。このように、成獣の孤束核では興奮性および抑制性の局所神経回路が極めて分化した形で機能していることがわかった。

##### 3. 局所回路の生後分化

成獣でみられる分化した局所神経ネットワークは、生後発達の過程で胎生型から成獣型に急速に変化することによって構築されてくることがわかった。すなわち、成獣ラットにおいては、自発性の興奮性（グルタミン酸性）もしくは抑制性（GABA 性）シナ

プス活動のうちどちらか一方の際立った優位性が、ニューロンタイプの違いに応じて観察される。一方、生直後（生後1～3日）の孤束核ニューロンでは、ほとんど全ての単一細胞から、ニューロンタイプの違いに関係なく、興奮性シナプス後電流と抑制性シナプス後電流の双方がほぼ一定の比率（興奮性比率：68～75%）で観察されることが確認された。すなわち、生直後の孤束核ニューロンは、その細胞の形態と関係なくシナプス結合を形成していること（未分化な局所ネットワークの存在）が示唆された。また、このような胎生型から成熟型への神経ネットワークの移行が生後6～7日に急速に起こることもわかった。この時期は、圧受容反射や化学受容反射が機能し始める時期と一致し、自律神経機能に関する反射機能の発現には、局所神経ネットワークの成熟がともなうことを示唆している。われわれは、この時期を内臓知覚系における臨界期と見なし、臨界期前後に起こる回路構成変化の様々な局面の解析を進めている。

延髄孤束核において生後1週を境にして急速なシナプス結合の再編成には必要なシナプス結合の強化と不必要なシナプス結合の除去が含まれていると考えられる。そこで次の3つの観点から臨界期における回路再編成の解析を試みている。1）臨界期に一致した遺伝子発現調節：生後発達に伴うシナプス関連機能分子の遺伝子発現の網羅的検索。速いGABA性シナプスに直接関与するA型GABA受容体サブユニットやNMDA受容体サブユニット等の遺伝子発現を調べた結果、臨界期に一致した発現変化は認められなかった。このことは回路再編成が遺伝プログラムによって規定されるのではなく、神経活動に依存した現象であることを示唆していた。2）シナプス除去の電子顕微鏡学的解析。臨界期に一致した軸索細胞体型のGABA性シナプス数の減少、ニューロン細胞体近傍での孤児性GABA性ブトンの出現、アストロ細胞突起によるニューロン細胞体の被覆等の所見を得た。3）活動依存的シナプス再編成。今後、3）の可能性に関して解析を進める予定である。

#### 4. 局所回路シナプス結合様式、ニューロンの幾何学的（geometric）特徴、回路ダイナミクスの3者間の相関関係解析

局所回路シナプス結合様式は、回路を構成するニューロン間のシナプス連結によって形成される。シナプスは軸索と樹状突起の間に形成されるため、その結合様式は細胞体の位置や軸索・樹状突起の存在密度等のgeometricなパラメータによって規定さ

れる。

これらgeometricな定量的パラメータと、電気生理学的に記述されるシナプス後電流、スパイク発生様式、閾値下膜電位等の回路ダイナミクスの定性定量的特徴との相関関係を解析している。局所回路における情報処理の意味を考察する。

## II. 実習遺体や出土標本を利用した研究

実習遺体、当教室が保有する各種作成標本や出土標本を用いて各種計測を行い、変異の意義や計測値の時間的変遷の意義を検討している。

また、他講座や他学の研究者や医療従事者のために、ご遺体や標本を積極的に活用いただき、研究や手技向上のために役立つように心がけている。最近では海外の研究者からの人骨標本計測依頼が多くなっている。具体的には、最近では、ご遺体を使用した耳鼻咽喉科頭部解剖、リハビリテーション科全身解剖、内視鏡科頸部解剖、泌尿器科骨盤解剖、放射線科四肢解剖、再生医学研究部頭部解剖などの共同研究が行われ、保管人体標本を使用して、医用エンジニアリング研究部の他、東京歯科大学解剖学講座、ハワイ大学マノア校、テネシー大学との共同研究も行われた。

### 「点検・評価」

1. コース基礎医科学Ⅰのユニット「細胞から個体へ」の講義・実習、コース基礎医科学Ⅱのユニット「神経系」をはじめ、「循環器系」、「泌尿器系」、「生殖器系」講義および「形態系実習」、症候学演習の医学科カリキュラムを分担した。また、看護専門学校における「解剖生理学」の講義も担当している。解剖学実習では、実習時間の短縮に伴う実習指針の改定、手順の簡略化を検討し、その成果が得られつつある。

2. 講座の研究活動を活性化するために、実験室・実験機器等の大幅な整備拡張を行ってきており、実験データを蓄積しながら、その定量解析をととして研究成果として公表している。研究者の育成を視野に入れながら、より質の高い研究を目指してアクティビティーを維持していく必要がある。

反省：Peer-reviewを経た、国際競争力のある原著論文・研究成果を継続的に発信する必要がある。

## 研究業績

### III. 学会発表

1) Negishi Y, Kawai Y. (Poster sessions: Viscerosensory system) Topographic organization of projection

neurons in the nucleus of the tractus solitaries. 第 38 回日本神経科学大会. 神戸, 7 月.

- 2) Negishi Y, Kawai Y. (一般演題 (ポスター): 神経系 3) Morphological features among axon varicosities from different origins in the caudal nucleus of the tractus solitaries. 第 121 回日本解剖学会総会・全国学術集会. 福島, 3 月.

## 解剖学講座

### 組織・発生

教授: 岡部 正隆	解剖学・発生学
教授: 橋本 尚詞	形態学・細胞生物学
講師: 鈴木 英明	先天異常
講師: 重谷 安代	神経発生学・進化発生学

## 教育・研究概要

### I. 先天性運動失調マウスの解析

先天性運動失調マウスでは筋の固有知覚を伝えている知覚神経に変性像が見られることが分かっているが、脊髄前角の運動ニューロンは詳細に調べられていなかった。そこで、本年は脊髄前角の運動ニューロンの異常の有無を検討した。脊髄前角運動ニューロンは数が多いとは言えず、通常の  $3 \sim 5 \mu\text{m}$  のパラフィンあるいは樹脂切片では数個しか認められず、詳細に検討するには数十枚の連続切片を作製して観察する必要がある。そこで、厚切り切片を作製し、Cresyl Violet で染色して蛍光を共焦点レーザー顕微鏡 (LSM) で観察することにした。切片の厚さは  $150 \mu\text{m}$  までは均等に染色され、LSM で全厚の蛍光を捉えることができたが、 $200 \mu\text{m}$  になると中心部は染色が弱く、蛍光が十分に検出できなくなった。そこで切片の厚さを  $150 \mu\text{m}$  とし、4 週, 10 週, 20 週の発症個体と見かけ正常個体の L4~L5 の脊髄分節を取り出し、 $150 \mu\text{m}$  の連続切片を 10~12 枚作製し、蛍光染色して脊髄前角の運動ニューロン全体を観察した。その結果、運動ニューロンの数に大きな変化は見られず、変性像も観察できなかったことから、脊髄前角の運動ニューロンには変化は生じていないことが明らかになった。

### II. 日本人型 Mosaic Variegated Aneuploidy 症候群 (MVA) の遺伝子解析

MVA はまれな劣性遺伝性疾患で、体細胞の染色体数が不安定になり小頭症や成長障害等の症状を示す。日本人症例の表現型は特徴的で海外症例とは異なる。これまで海外症例で *BUB1B*, *CEP57* が責任遺伝子として同定されているが、日本人症例では全例、片アレルに *BUB1B* のコード領域に変異を認め、もう一方のアレルの変異は *BUB1B* 転写開始点から 44kb 上流にある非コード領域の SNV による hypomorphic 変異が報告されている。しかし、*BUB1B* hypomorphic 変異や *BUB1B* と協調して働く *BUB3* の hypomorphic 変異のマウス疾患モデル