



日本下垂体研究会レター

2015 年 1 月 30 日
創刊号

日本下垂体研究会

事務局: 034-8628 青森県十和田市東二十三番町35-1

北里大学獣医学部獣医生理学研究室 事務局長 汾陽光盛

<http://www.jichi.ac.jp/jspr> mitsumor@vmas.kitasato-u.ac.jp

創刊に寄せて

日本下垂体研究会事務局長
汾陽光盛

この号の内容

- 1 創刊に寄せて
- 2 第29回学術大会報告
- 3 総説 I
- 4 総説 II
- 5 吉村賞受賞研究の紹介
- 6 最優秀発表賞受賞研究の紹介①
- 7 最優秀発表賞受賞研究の紹介②
- 8 最優秀発表賞受賞研究の紹介③

日本下垂体研究会の歴史は古く、1976年に専門の枠を超えて14名の呼びかけ人による「下垂体研究者の集まり」にまで遡ります。それ以来名前を「下垂体研究者の集い」、「下垂体研究会」、「日本下垂体研究会」と変えて現在に至ります。約40年間、毎年学術集会を開催してきました。研究会には、医学、薬学、理学、水産学、農学、獣医学など様々な分野から下垂体研究者が参加します。下垂体は内分泌系の master gland として様々に研究されてきましたが、多角的に下垂体を捉えるために我が国で本会の果たした役割は小さくありません。この度、元事務局長で編集担当幹事の屋代隆教授を中心にして、研究会の活動をより広く共有するために「下垂体研究会レター」を刊行する運びとなりました。日本下垂体研究会発展の大きな一歩となることは間違いありません。

下垂体研究会の歴史

下垂体研究会では、今後、年1回の、学術集会もますます充実させてゆきます。

下垂体研究会の歴史は大きく3つに分けられます。回数を研究会となつてからまた1に戻って数えていますが、昨年の八王子大会は通算39回目になります。

1. 「下垂体研究者の集い」期 (1976-1985)
第1回から第10回
第9回 (1984) は「International Symposium on Pituitary Gland」として開催
2. 「下垂体研究会」期 (1986-1999)
第1回から第14回
3. 「日本下垂体研究会」期 (1999-)
第15回から
第18回 を「Brain-Pituitary 2003」として日本神経内分泌学会第30回学術集会と共催
第20回 を「Brain-Pituitary 2005」として日本神経内分泌学会第32回学術集会と共催
第23回 を日本神経内分泌学会第35回学術集会と共催

第 29 回学術大会報告

東京農工大学農学部 獣医生理学研究室 教授
渡辺 元

第 29 回日本下垂体研究会学術大会に多くの皆様が参加していただき、誠にありがとうございました。まずは心より御礼申し上げます。

2015 年 8 月 8 日（金）から 10 日（日）まで、東京八王子市にあります大学セミナーハウスで開催いたしました。本学術集会の恒例となっておりました温泉もなく、蒸し暑い東京での開催で、皆様が来ていただけないのではないかと大変心配しておりました。要旨を切りを延長して、最終的には 33 題の口頭発表と 100 名近い方々に参加していただきました。近くには居酒屋などもなく、毎夜行われた File on the desk 兼懇親会にも多くの方が参加していただきました(写真 1)。明治大学の加藤幸雄先生にコーディネートしていただいたシンポジウム「下垂体の発生と分化」は、早稲田大学名誉教授の菊山榮先生を教育講演にお招きし、本学会の歴史と最新の知見を融合させたタイムリーな企画となりました。吉村賞を受賞された坂井貴文先生の「下垂体隆起部の細胞生物学的研究」の御講演とも呼応し、私が下垂体研究会に加わったばかりの頃に感じた研究の醍醐味を再認識させていただきました。

台風 11 号によって交通手段が乱れ、ご苦労された方もいるかと思いますが、8 月 8 日（土）夜に行われたエクスカッション多摩動物公園ナイトゾーの時には雨もやんで、短い時間でしたが夜の動物園を楽しんでいただけたと思います(写真 2)。来年は富山大学の松田恒平先生を会長として宇奈月温泉で行われます。是非とも参加し、また皆様と熱き議論を交わしたいと思います。ありがとうございました。



写真 1 File on the desk.



写真 2 エクスカッション：多摩動物公園ナイトゾー

第 29 回学術集会は盛況のうちに無事終えることができました。



吉村賞受賞講演（坂井貴文先生）



第 29 回学術集会 最優秀発表受賞者

総説 I

濾胞星細胞と下垂体研究会

前山形大学医学部第一解剖学教室
白澤 信行

早稲田大学の石居進先生に連れられて東京慈恵会医科大学の門をくぐった 1979 年春が、下垂体前葉にある濾胞星細胞の名前を聞いたはじめてでした。いかにも医学部と言った古く権威のある第二解剖学教室教授室で吉村不二夫先生から、「濾胞星細胞は下垂体前葉の幹細胞であるから(幹細胞であるはずだから)証明してください」との研究課題をいただきました。下垂体はどこにあるのか定かでない知識で、濾胞星細胞について知るはずもないものでした。早速調べてみると、Farquhar M.G. (1957)によって ACTH 細胞の亜型として報告された濾胞星細胞は、①ホルモンが濃縮された分泌顆粒を持たない無顆粒性細胞であること、②前葉の小葉で細胞突起を伸ばした星状の細胞が集団を形成すること、③濾胞・微絨毛・線毛・細胞間結合装置(Gap-junction)を持つことなど、電子顕微鏡での観察に頼らなければならない特徴ばかりでした。一方、濾胞星細胞の機能については、①前葉全体に Gap-junction で相互にネットワークを作ること(Vila-Porcile E., 1972)、②吉村先生が提唱していた前葉細胞の幹細胞であること(Yoshimura F. et al., 1977)の報告のみでした。

大学院時代はインターフェロンの研究でウイルスを増殖させるための細胞培養と生化学的分析しか学んで来なかった私にとって、電子顕微鏡観察は未知の世界でした。焦点が合わない濾胞星細胞の電子顕微鏡写真を撮りながら、濾胞星細胞が幹細胞ならば細胞分裂能が高いかもしれないから、取りあえず下垂体の細胞培養を試してみようと思った。しかし、培養結果は上皮様と線維芽様の細胞が観察され、上皮様細胞の一部は TRH や LHRH で形態変化が見られましたが、線維芽様細胞は下垂体本来のものか良く分からないものでした。同年の夏に前橋で開催された第 4 回下垂体研究者の集いで、単層培養における形態変化について発表しました。これが、下垂体研究会のデビューでした。今では、この良く分からない線維芽様細胞が大切な濾胞星細胞の特徴でしたが、いわゆる間葉性線維芽細胞と区別が出来ませんでした。当時も下垂体研究者の集いでは活発な討論がなされ、同年代の研

究者からの厳しい質問や諸先輩からの適切な指導がありました。いずれも研究発表に欠けている点を如何に補うかについて大変有意義でした。研究会後に、下垂体前葉の細胞分裂能を *in vitro* と *in vivo* で調べるとの目標を立てました。一年後、各種ホルモン抗体で染色された分裂細胞数から染色されない細胞数を算出し、非ホルモン産生細胞(多分、濾胞星細胞)の細胞分裂頻度が比較的高いことが分かりました。これは、1980 年の第 5 回下垂体研究者の集いで発表しました。しかし、濾胞星細胞は電子顕微鏡でしか同定出来ず、視野の狭い電子顕微鏡では下垂体全体の濾胞星細胞を把握することが出来ませんでした。困った時は下垂体研究会の発表と夜の討論会に頼るようになりました。諸先輩の助言により、翌年は電子顕微鏡で細胞分裂像を数多く撮り、濾胞星細胞の細胞分裂能が幼弱ラットではかなり高いことを発表しました。

一方、脳から飽和硫酸で抽出した S100 タンパク質がラット濾胞星細胞の指標となることが発表され(Nakajima T. et al., 1980)、光学顕微鏡レベルでの濾胞星細胞を同定することが可能になりました。成熟ラットの下垂体を S100 タンパク質抗体で染色すると、濾胞星細胞が突起を伸ばし、LH 細胞を包むようにして網目状に広がっていることが分かります。しかし、成熟ラットと同様に幼弱ラットでも電子顕微鏡下では濾胞星細胞が前葉全体存在するにも拘らず、S100 タンパク質抗体陽性細胞数が少なく、生後 1 週までは全ての前葉細胞が陰性になってしまいます。S100 タンパク質はヒトを始めとして様々な成熟動物の下垂体の濾胞星細胞に認められますが、ラットの親戚と思っていたマウス下垂体では S100 タンパク質陽性の濾胞星細胞はありません。ヒトの濾胞星細胞については、東海大学の長村義之先生が腫瘍との病理学関係で詳しく研究されておられました。また、幹細胞としての濾胞星細胞を考える上で、S100 タンパク質抗体陽性のホルモン分泌細胞を二重抗体染色法で搜しましたが、ラットでは観察することが出来ませんでした。唯一、ヤギの下垂体では GH 細胞が S100 タンパク質陽性でした

が、残念なことに濾胞星細胞は S100 タンパク質陰性でした(Shirasawa N. et al., 1986)。その後、下垂体研究者の集いで濾胞星細胞について発表してきましたが、S100 タンパク質陰性の幼弱時の濾胞星細胞と成熟後の S100 タンパク質陽性の濾胞星細胞は機能が異なる点から、濾胞星細胞は手強い相手でした。幹細胞としての幼弱型濾胞星細胞と S100 タンパク質陽性の成熟型濾胞星細胞を分けて考えなければなりません。研究に行き詰まると、下垂体研究会の発表後の討論で有意義な助言をもらい、その後の研究の活力になりました。

成熟型濾胞星細胞の機能については、S100 タンパク質陽性細胞が前葉で網目状のネットワークを形成し、細胞間には情報伝達に参与する Gap-junction があることから、何らかの情報伝達に参与していると考えられます。名古屋市立大学の曾爾 彊先生と共同で、濾胞星細胞の分布と LHRH 情報の伝達について様々な手法を用いて解析してきました。その間、濾胞星細胞の指標物質は S100 タンパク質の他に、Annexin-1 (Traverso V et al, 1999), Aquaporin-4 (Kuwahara S et al, 2010), Aquaporin-5 (Matsuzaki T et al, 2011), Glutamate transporters (Berger & Hediger, 2000), E-Cadherin (Kikuchi K et al, 2006), Notch & Jagged (Tando Y et al, 2013), Connexin 43 (Yamamoto T et al, 1993), GFAP (Horvath & Kovacs, 2002)などが報告されていることから、成熟型濾胞星細胞の機能は幹細胞の機能とは異なった様々な機能を担っている可能性が示唆されています。成熟ラットの濾胞星細胞はグルタミン合成酵素を持ち、ホルモン分泌細胞が合成して傍分泌で情報伝達をしているグルタミン酸を脳の星状膠細胞と同様にグルタミンに変換している可能性が示唆されました(Shirasawa & Yamanouchi, 1999)。成熟型濾胞星細胞の機能については、埼玉大学の井上金治先生の開発した S100b-GFP transgenic rat (Itakura E et al., 2007)を用いて、自治医科大学の屋代隆先生のグループが研究を進めて研究会で発表しています。特に細胞間の情報伝達を Paracrine と Matricrine の観点から解析し、ホルモン分泌細胞の機能維持に参与していることが数多く報告しています。濾胞星細胞の機能については、非常に興味深い方向に進んでおり、今後の発展を楽しみにしています。

しかし、余りにも S100 タンパク質にこだわり過ぎた結果、吉村不二夫先生から与えられた課題の幹細胞としての濾胞星細胞についての研究から遠ざかってしまったようです。胎生期から S100 タンパク質陰性の胎生期から生後 1-2

週間の濾胞星細胞については手がつけられない状態です。この時期の濾胞星細胞の機能に焦点を当てなければならないのですが、電子顕微鏡観察による同定方法しかなく、光学顕微鏡で観察できる指標物質がないために未だ明らかになっていません。しかし、下垂体研究会に出席するたびに、下垂体細胞の幹細胞に関する研究が確実に進んでいることがわかります。明治大学の加藤幸雄先生のグループは、下垂体細胞の発生分化過程での各種遺伝子発現の系列と S100 タンパク質の発現とを合わせて解析し、研究会で発表されています。S100 タンパク質陽性になる前の濾胞星細胞が幹細胞であるか否かについて、出来るだけ速く解決されることを期待しています。

幼弱型濾胞星細胞は、①S100 タンパク質陽性でないこと、②濾胞星細胞の一部が成長とともに S100 タンパク質陽性になること、③成熟ラットの下垂体にも S100 タンパク質陰性の濾胞星細胞が少なからず存在することなどの特徴があります。吉村先生から課題をもらった時は余り信じていませんでしたが、この年になって幼弱型濾胞星細胞が前葉細胞の幹細胞であることを期待しています。近年、ES 細胞や iPS 細胞からの分化誘導が進んでいます。幹細胞から下垂体ホルモン産生細胞を分化誘導する過程で、各種遺伝子発現の変化とともに組織の微細構造を電子顕微鏡で観察すれば、濾胞星細胞様の構造が認められるかもしれません。

下垂体研究の中で極めて小さな分野の濾胞星細胞の話になってしまいましたが、視床下部-下垂体-標的器官系の広範な領域の研究者が集う日本下垂体研究会は、世界的にも下垂体研究を牽引しています。若い研究者が下垂体研究会に参加して、活発な討論と協力によって、ますます下垂体研究を発展させてくれることを期待しています。(PubMed で検索出来るので、文献は省略しました。)

総説Ⅱ

V_{1b} バゾプレッシン受容体研究 Update ～受容体複合体形成による新たな機能の獲得～

自治医科大学薬理学講座分子薬理学部門 興水崇鏡

1. はじめに

神経下垂体ホルモンであるバゾプレッシンは、視床下部の視索上核や室傍核に含まれる大細胞神経で産生され、血漿浸透圧の上昇と血管圧受容器からの刺激により、下垂体後葉から分泌される。血液中のバゾプレッシンは、腎臓の遠位尿細管と集合管に作用して強力な抗利尿効果を示す。一方、視床下部の同じ部位に存在する小細胞神経で産生されたバゾプレッシンは、正中隆起で毛細血管系に入り、下垂体前葉の corticotroph に作用して ACTH の分泌刺激となる。この下垂体前葉 ACTH 産生細胞でバゾプレッシンの受容体となるのが V_{1b} 受容体である。血管平滑筋や肝臓に発現する V_{1a} や、腎臓の V₂ 受容体と並び、V_{1b} 受容体はバゾプレッシンの多彩な生理作用を担っている¹⁾。バゾプレッシン受容体の刺激により惹起される主な細胞内シグナル伝達経路は、V_{1a} 及び V_{1b} 受容体では、Gq タンパク質との共役を介して phospholipase C が活性化され、細胞内イノシトール 3 リン酸、ジアシルグリセロール、細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇を来す。また V₂ 受容体は、Gs タンパク質を活性化し cAMP の上昇を起こす。ヒトに対する臨床応用の面から捉えると、腎 V₂ 受容体を標的とした治療薬が早くから応用されており、血管系の V_{1a} 受容体は止血や昇圧を目的として、また子宮平滑筋の V_{1a} 受容体は、早産防止を目的として治療薬が開発あるいは応用されている。これら V_{1a}、V₂ 受容体サブタイプに比べ、生体内で下垂体前葉の corticotroph に最も高い発現が見られる V_{1b} 受容体を治療標的とする薬物の開発は未だ成功していない。本稿では、主に下垂体に発現する V_{1b} 受容体について、最近の研究の動向を紹介し、臨床応用の可能性について考察する。限られた紙面の都合上、中枢神経系やその他の末梢臓器における V_{1b} 受容体の役割については、他の総説も参考にさせていただきたい²⁻⁵⁾。

2. バゾプレッシンと CRH による ACTH 分泌

下垂体前葉からの ACTH 分泌は、主に Corticotropin-releasing hormone (CRH) によって調節され、バゾプレッシンによる修飾を受けている。CRH の受容体は 2 種類 (CRHR₁ と CRHR₂)

が知られ、前者が下垂体と中枢に発現し、ACTH 分泌やストレス応答などに関与する。また、CRHR₂ は、摂食行動や心機能に関わる事が知られている。どちらの CRH 受容体も Gs タンパク質と共役し、細胞内 cAMP 濃度の上昇を惹起する。以前より、ACTH 分泌における CRH とバゾプレッシンの相互作用が知られ、両者が共存した場合には、片方が単独で刺激する場合よりも多くの ACTH 分泌を来すことが指摘された⁶⁾。そのメカニズムは最近まで細胞内のシグナルクロストークによって部分的に説明されていた。すなわち、CRH とバゾプレッシンの両者の刺激は、protein kinase C、細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇、アラキドン酸の産生、CRH による cAMP 産生の増強などを介して ACTH 分泌を増加させると考えられてきた。CRH が cAMP を上昇させて ACTH を分泌させるため、V_{1b} 受容体をバゾプレッシン単独で刺激した際に cAMP を上昇させるかについて調べられたが、組織サンプルや V_{1b} を生来発現する細胞では上昇は見られなかった。しかし、CHO、HEK、COS 細胞では、ラット V_{1b} 受容体を強制発現させた場合に、バゾプレッシン単独で cAMP の上昇が観察されている⁷⁾。

3. V_{1b} 受容体と CRHR₁ 受容体の相互作用

この 10 数年来、V_{1b} や CRHR₁ 受容体が属する G タンパク質活性型受容体ファミリーは、単独の遺伝子産物が複合体を形成して機能することが判明した。その場合、同じ受容体単体が複合体 (ホモマー) を形成することに加えて、同一細胞上で異種複合体 (ヘテロマー) を形成し、機能的な多様性を獲得する⁸⁾。ヘテロマー受容体は任意の GPCR 間で常に起こる訳ではなく、例えばアミノ酸配列上は良く似ている α_1 アドレナリン受容体サブタイプ (α_{1A} 、 α_{1B} 、 α_{1D}) 間でも、 α_{1A} と α_{1B} サブタイプの間では起こりにくく、その他の組み合わせでは受容体複合体を形成しうる事が判明している⁹⁾。複合体を形成することに伴う機能変化は多岐に及ぶ。すなわち、複合体形成により、リガンドに対する親和性の変化、G タンパク質共役の効率変化、受容体局在の変化、刺激後の受容体内在化機構の変化、G タンパク質に依存せず β アレスチンに依存するシグナル伝

達の効率変化、などが複合体に参加する受容体の様々な組み合わせにより起こりうる。

受容体複合体が形成されることが予測される場合に、生体内でのホルモンの役割にどの程度関与しているかを明らかにするために、片方の受容体を欠損させたモデル動物の解析が役立つ。 V_{1b} 受容体欠損マウス ($V_{1b}KO$) では、ACTH の基礎値が低下あるいは測定条件によっては変化が無く、CRH 単独による ACTH 分泌には影響が無いものの、バゾプレッシン単独による ACTH 分泌は見られなかった^{10, 11)}。 $V_{1b}KO$ では、バゾプレッシンと CRH の相互作用による ACTH の分泌増加は起こらず、CRH 単独と同程度の分泌量であった¹¹⁾。よって CRHR1 と V_{1b} 受容体が共存する事が、バゾプレッシンと CRH の協調効果による ACTH 分泌の増加に必須であると考えられる。

4. 受容体相互作用の解析

実際に V_{1b} と CRHR₁ 受容体が同じ細胞に共発現した場合に、受容体機能にどのような変化が起こるのかについて、下垂体と同様に両受容体が発現する事が知られる副腎髄質クロム親和性細胞と HEK 細胞を用いて解析された^{12, 13)}。ウシ副腎髄質クロム親和性細胞では、全体の約 52% が V_{1b} 特異的蛍光リガンドと抗 CRHR₁ 抗体の両方で染色され、受容体が共存していた。この細胞では単独の受容体が刺激された場合、 V_{1b} 受容体は IP_3 の産生を促して cAMP 産生には関与せず、CRHR₁ 受容体は cAMP 産生を亢進し IP_3 の産生には関与しなかった。このクロム親和性細胞は、バゾプレッシンまたは CRH の刺激でカテコラミンを分泌するため、両方で同時に刺激した場合の効果について調べられた。バゾプレッシン、CRH とともに単独では分泌を起こさない 10 pM という低い濃度で、同時に刺激された場合に、ど

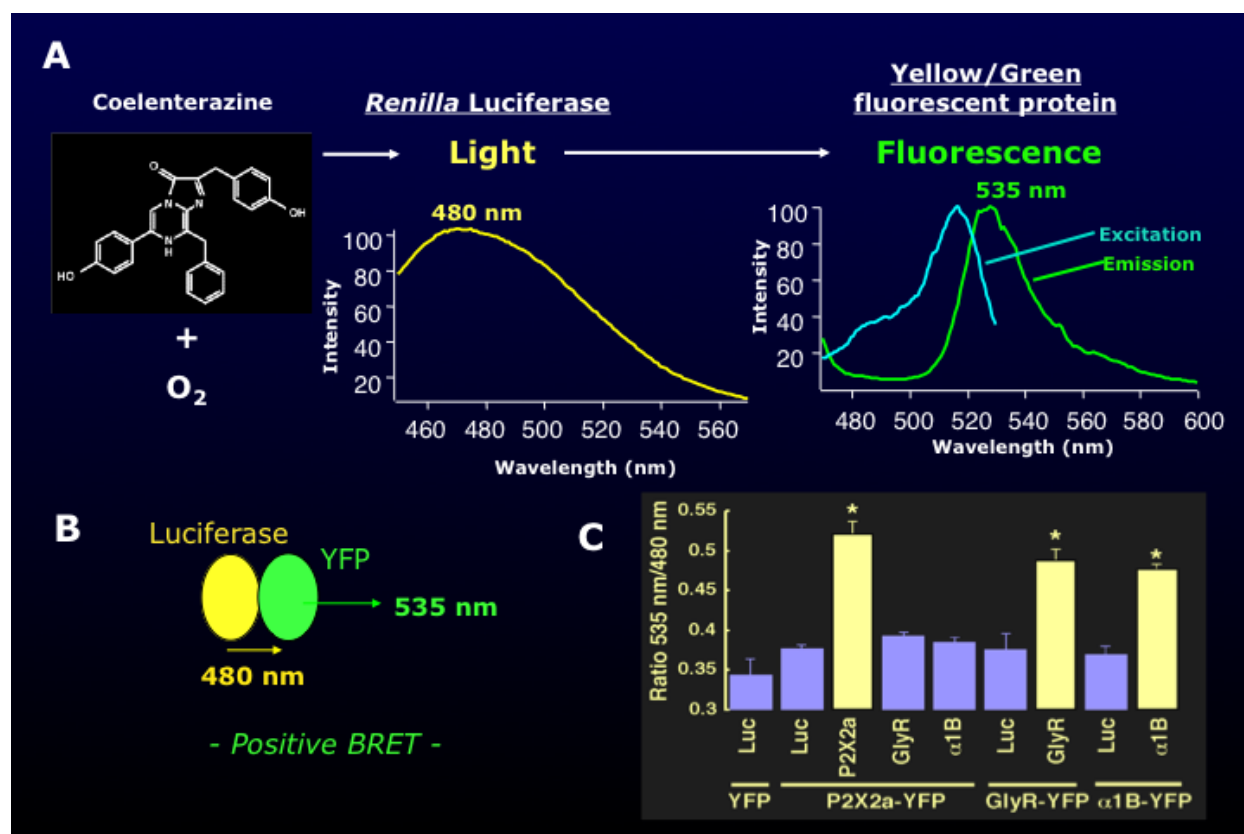


図1 生物発光共鳴エネルギー移動 (bioluminescence resonance energy transfer, BRET) と解析例
A) 発光基質となるセレンテラジンにより、ウミシイタケルシフェラーゼ (Renilla Luciferase) から 480 nm をピークとする発光が得られる。一方、YFP は 535 nm 付近をピークとする蛍光を発する。B) ウミシイタケルシフェラーゼと YFP が、100 Å より近傍に位置した場合、発光のエネルギーによって YFP が 535 nm をピークとする蛍光を発し BRET が起きている事が分かる。C) 各種細胞膜受容体を用いた BRET アッセイの例。Luc はウミシイタケルシフェラーゼ、P2X_{2a} は ATP 受容体チャネル、GlyR はグリシン受容体チャネル、 α_{1B} はアドレナリン受容体を示す。いずれもホモマー複合体を形成することが示された。(*, $P < 0.05$, vs. YFP-Luc)

ちらかが単独で最大濃度で刺激された時と同程度の強いカテコラミン分泌が観察された。すなわち、バゾプレッシンによる濃度-反応曲線は、CRH が共存する事により左方へ移動し、CRH による濃度-反応曲線は、バゾプレッシンが存在する事により、最大反応が 45%増加していた。 V_{1b} 受容体刺激による Protein kinase C の活性化は、バゾプレッシンと CRH の相互作用に部分的に関与していた。

V_{1b} 受容体と CRHR₁ 受容体が直接相互作用を行うか否かについて、生物発光共鳴エネルギー移動 (bioluminescence resonance energy transfer, BRET) を指標に解析された。すなわち、受容体カルボキシル基末端に蛍光タンパク (yellow fluorescent protein, YFP)、または発光タンパク質 (ウシイタケルシフェラーゼ、Rluc) を融合させ、お互いが 100 Å 以内に存在すると起こる、ルシフェラーゼ発光からの共鳴エネルギー移動を YFP の蛍光として検出する (図 1)。 V_{1b} -Rluc と CRHR₁-YFP をともに発現させた細胞では、有意に高い BRET のシグナルが観察された。すなわち、生細胞においてこの 2 つの受容体は非常に近接して存在することが強く示唆された。 V_{1b} -Rluc の発現量を一定とし、CRHR₁-YFP の発現量を増加させた場合、BRET から得られる YFP の蛍光強度は一定で飽和したのに対し、非特異的な V_{1b} -Rluc と GABA_B-YFP からの蛍光強度は有意に低値で飽和は見られなかった。また、逆の組み合わせとなる V_{1b} -YFP と CRHR₁-Rluc でも高い BRET シグナルが観察された¹³⁾。

V_{1b} と CRHR₁ 受容体の複合体による機能的な変化は、リガンド結合と cAMP 産生の 2 つの点で観察された。まず第 1 に、両受容体を共発現させた細胞では、放射性標識 [³H]アルギニンバゾプレッシン ([³H]AVP) の結合が、CRH によって有意に低下した。逆に放射性標識 CRH ([¹²⁵I]CRH) の結合は AVP の影響を受けなかった。第 2 に、CRH による cAMP 産生の最大値は、AVP が共存する事によって有意に高値となった。この AVP の効果は phospholipase C や PKC とは無関係であった。すなわち、下垂体における CRH とバゾプレッシンの協調的な ACTH 分泌亢進効果の機序として、ヘテロマー複合体による cAMP 産生能の亢進が考えられた。

5. 薬理的シャペロン分子

興味深いことに、CRHR₁ に対する薬物が、 V_{1b} と CRHR₁ 複合体受容体の細胞内局在を変化させた。 V_{1b} と CRHR₁ 複合体受容体は細胞膜のみならず、細胞質内の小胞体にも局在が観察される。 V_{1b} と CRHR₁ を共発現させた場合にのみ、

CRHR₁ に特異的な薬物である SSR125543 によって、細胞膜上の [³H]AVP 結合量が増加した。これは、脂溶性の SSR125543 が細胞内に入り、小胞体の V_{1b} -CRHR₁ 複合体受容体に結合して構造変化を起こさせ、細胞膜に誘導したと考えられた。このような受容体の局在を変化させる化合物を薬理的シャペロン (pharmacological chaperon) と呼んでいる。バゾプレッシン受容体では、これまで幾つかの薬理的シャペロンが報告されている。 V_2 受容体遺伝子に変異して、フォールディングが変化した変異受容体が細胞内に留まってしまう場合は、体内の水の保持が障害され、多尿多飲を主訴とする遺伝性腎性尿崩症となる。SR121463A や VPA-985 といった低分子化合物は、変異 V_2 受容体 (例えばアミノ酸 185-193 の欠損や、アミノ酸置換変異 L59P、L83Q、Y128S、S167L、A294P、P322H など) の細胞膜への発現を増加させる事が知られ治療薬としての使用が試みられている。また、実験的に変異を起こさせ細胞内に留まる変異 V_{1b} 受容体は、SSR149415 という特異的 V_{1b} 受容体拮抗薬で細胞膜上に移行させる事が出来る。 V_{1b} と CRHR₁ の複合体受容体に対する薬理的シャペロンにより、ACTH の分泌を介したストレス応答が改善できる可能性がある。

6. おわりに

ラットやマウスを主とした哺乳類における研究だけでなく、鳥類でも CRH とバゾトシンによる ACTH 分泌の相乗効果が知られている¹⁴⁾。この場合、 VT_2 バゾトシン受容体と CRH 受容体は複合体を形成し、受容体が刺激されると複合体間の距離はさらに短縮する事が知られる。また、CRH とバゾトシンの同時刺激で cAMP 産生が有意に亢進する。よって下垂体の受容体レベルでの CRH とバゾトシンの相互作用は、種を超えて保存されていると考えられる。 V_{1b} 受容体や CRH 受容体は、下垂体だけでなく中枢を含め全身の各種臓器に局在が見られるため、個々の場所において自身以外の受容体とヘテロ複合体を形成し、思わぬ作用を示す可能性がある。そのような作用は、医薬品の開発において、新しい薬の効果や副作用の正しい理解を深める事に役立つと考えられる。

参考文献

- 1) Laycock JF, Perspectives on vasopressin, Laycock, JF, Editor. 2010, World Scientific Publishing Co.: Singapore.
- 2) Albers HE, 2014, Species, sex and individual differences in the vasotocin/vasopressin system: Relationship to neurochemical signaling in the

- social behavior neural network. *Front Neuroendocrinol*.
- 3) Hasunuma I, Toyoda F, Okada R, Yamamoto K, Kadono Y, and Kikuyama S, 2013, Roles of arginine vasotocin receptors in the brain and pituitary of submammalian vertebrates. *Int Rev Cell Mol Biol*, 304, 191-225.
 - 4) Koshimizu TA, Nakamura K, Egashira N, Hiroyama M, Nonoguchi H, and Tanoue A, 2012, Vasopressin V1a and V1b receptors: from molecules to physiological systems. *Physiological Reviews*, 92(4), 1813-64.
 - 5) Roper J, O'Carroll AM, Young W, 3rd, and Lolait S, 2010, The vasopressin Avpr1b receptor: molecular and pharmacological studies. *Stress*, 14(1), 98-115.
 - 6) Gillies GE, Linton EA, and Lowry PJ, 1982, Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. *Nature*, 299(5881), 355-7.
 - 7) Orcel H, Albizu L, Perkowska S, Durroux T, Mendre C, Ansanay H, Mouillac B, and Rabie A, 2009, Differential coupling of the vasopressin V1b receptor through compartmentalization within the plasma membrane. *Mol Pharmacol*, 75(3), 637-47.
 - 8) Ferre S, Casado V, Devi LA, Filizola M, Jockers R, Lohse MJ, Milligan G, Pin JP, and Guitart X, 2014, G protein-coupled receptor oligomerization revisited: functional and pharmacological perspectives. *Pharmacol Rev*, 66(2), 413-34.
 - 9) Koshimizu TA, Tsujimoto G, Hirasawa A, Kitagawa Y, and Tanoue A, 2004, Carvedilol selectively inhibits oscillatory intracellular calcium changes evoked by human $\alpha 1D$ - and $\alpha 1B$ -adrenergic receptors. *Cardiovasc Res*, 63(4), 662-72.
 - 10) Tanoue A, Ito S, Honda K, Oshikawa S, Kitagawa Y, Koshimizu TA, Mori T, and Tsujimoto G, 2004, The vasopressin V1b receptor critically regulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity under both stress and resting conditions. *J Clin Invest*, 113(2), 302-9.
 - 11) Lolait SJ, Stewart LQ, Jessop DS, Young WS, 3rd, and O'Carroll AM, 2007, The hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to stress in mice lacking functional vasopressin V1b receptors. *Endocrinology*, 148(2), 849-56.
 - 12) Young SF, Griffante C, and Aguilera G, 2007, Dimerization between vasopressin V1b and corticotropin releasing hormone type 1 receptors. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 27(4), 439-61.
 - 13) Murat B, Devost D, Andres M, Mion J, Boulay V, Corbani M, Zingg HH, and Guillon G, 2012, V1b and CRHR1 Receptor Heterodimerization Mediates Synergistic Biological Actions of Vasopressin and CRH. *Molecular Endocrinology*.
 - 14) Mikhailova MV, Mayeux PR, Jurkevich A, Kuenzel WJ, Madison F, Periasamy A, Chen Y, and Cornett LE, 2007, Heterooligomerization between vasotocin and corticotropin-releasing hormone (CRH) receptors augments CRH-stimulated 3',5'-cyclic adenosine monophosphate production. *Mol Endocrinol*, 21(9), 2178-88.

吉村賞受賞研究の紹介

下垂体隆起部の細胞生物学的研究

埼玉大学大学院理工学研究科
坂田一郎、相澤清香、坂井貴文

1. 概要

腺性下垂体 (adenohypophysis) は主部 (pars distalis)、中間部 (pars intermedia) そして隆起部 (pars tuberalis) から構成されている。隆起部は、正中隆起の腹側に隣接し、正中隆起を取り囲むようにして薄い細胞の層として存在している。下垂体隆起部と正中隆起の境目には、下垂体門脈系の1次毛細血管網が入り込んでいるという解剖学的知見から、隆起部で産生された因子が下垂体門脈系を介して前葉に達し、前葉のホルモン産生細胞に作用するという機構が古くから示唆されていた。しかしながら、隆起部は小さな組織であり、隆起部のみを摘出する手術が不可能であること、さらに隆起部だけに薬剤を投与・注入することができないことから、いまだ生理機能が未知である組織である。筆者らは、ニワトリを用いた隆起部の発生学的研究と、ラット隆起部の細胞生物学的研究を続けており、本稿では、これまでに筆者らが明らかにしてきた隆起部の細胞生物学的特徴について述べる。

2. 隆起部の発生

腺性下垂体の発生は大きく3つの過程に分けられる。シグナル勾配により口腔外胚葉が陥入しラトケ嚢が生じる形態形成に始まり、増殖と位置決定による下垂体原基のパターン形成、そ

して最終的にホルモン産生細胞への分化という過程を経て、成熟下垂体の形成に至る。下垂体主部の発生の研究は進んでいるにも関わらず、隆起部発生に関する報告は少ない。筆者らはニワトリ胚を用いて研究を行い、胚発生期における下垂体隆起部の形態形成過程を明らかにすること、さらに下垂体隆起部を構成する細胞の性質を明らかにするための研究を行ってきた。腺性下垂体発生時の α -glycoprotein hormone subunit (α GSU) mRNA の時間的・空間的発現を詳細に解析した結果、 α GSU mRNA 発現細胞は3.5日胚 (E3.5) のラトケ陥入部側方で観察され、E4.0になるとその発現領域は後方と前方へ広がり、陥入部腹側にリング状の分布が観察された (Takagi, et al. 2008)。その後、E6.0で α GSU mRNA を発現している下垂体原基の側方が間脳底に向かって上方へと伸長し始め、E8.0で間脳底に達した後、さらに上方と尾側へ伸びて間脳底の一部を覆った。この伸長部、すなわち下垂体隆起部原基では、 α GSU mRNA の強い発現が維持されていた (Inoue, et al. 2013)。これらのことから、ニワトリ胚下垂体隆起部は、下垂体原基の側方に由来し、胚発生期を通じて α GSU mRNA を高発現することが示された。さらに、隆起部に高発現する α GSU mRNA の発現領域と、下垂体前葉細胞分化に不可欠とされる Lhx3、水晶体のマーカーである δ -crystallin の mRNA

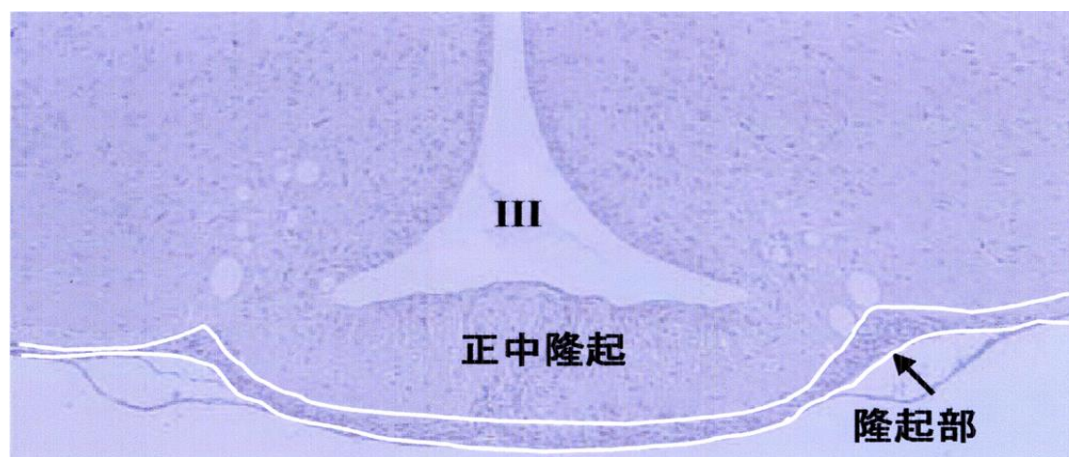


図1. ラット隆起部
隆起部は、正中隆起を覆うように薄い細胞層として存在する。

発現領域を比較したところ、Lhx3 mRNA は α GSU mRNA 発現領域を含む下垂体原基全域で発現していたのに対し、 δ -crystallin mRNA は α GSU mRNA の発現領域にのみ重なって観察された。下垂体隆起部原基は、少なくとも発生の初期段階においては、下垂体と水晶体への分化能を持つことが示唆された(Inoue, et al. 2012)。

3. 隆起部の細胞構成

哺乳類の隆起部は、主に甲状腺刺激ホルモン (Thyroid stimulating hormone; TSH) 産生細胞、性腺刺激ホルモン産生細胞と濾胞星状細胞から構成され、他の下垂体ホルモンである成長ホルモン産生細胞、プロラクチン産生細胞、副腎皮質刺激ホルモン産生細胞を欠いている(Gross 1984)。ヒトでは、隆起部は性腺刺激ホルモン産生細胞が多く、90 %程度を占める。ラット隆起部 (図 1) のホルモン産生細胞のほとんどは TSH 細胞であり、その割合は 95 %程度であることが知られている。筆者らは、ラットを用いて、隆起部の TSH 細胞は、主部の TSH 細胞とは形態学的また細胞生物学的特徴が異なることを明らかにした(Sakai, et al. 1992)。すなわち、主部の TSH 細胞は多角形で、TSH で免疫組織化学を行うと細胞質全体が均一に染色されるのに対し、隆起部の TSH 細胞は小型球形で、ゴルジ装置が発達し分泌顆粒が少ない (図 2)。このことは、隆起部 TSH 細胞は機能亢進状態にあり、構成性分泌を行っていることを示唆している。また、主部の TSH 細胞が TR-2 β 受容体を発現し、甲状腺ホルモンのネガティブフィードバックにより制御を受けるのに対して、隆起部 TSH 細胞は TR-2 β 受容体を発現しておらず、主部と隆起部の TSH 細胞は異なった制御

下にあることが明らかとなった(Sakai, et al. 1999)。下垂体主部から分泌される TSH は血液循環を介して甲状腺に作用することは広く知られているが、隆起部で産生される TSH も同様に甲状腺に作用するのかについては不明である。さらに、隆起部 TSH 細胞には主部では発現していないメラトニン受容体タイプ 1 (MT1) を高発現していることから、日周的または季節的リズムが隆起部を介して内分泌リズムに影響を与えている可能性も近年議論されている(Nakao, et al. 2008)。一方、近年、隆起部から分泌された TSH が正中隆起のタニサイトや隆起部からクモ膜下腔に繋がる intracellular channel を介して直接脳脊髄液中へ放出される可能性が想定されており(Guerra, et al. 2010)、隆起部 TSH が直接脳を制御することも考えられ、新たな生理作用解明のために、今後より詳細な研究が必要であると思われる。

4. 隆起部 TSH 細胞の発現と分泌調節機構

前述したように隆起部には TSH 細胞が多く、メラトニン受容体が高発現していることから、我々は隆起部 TSH の日内変動及びメラトニンの効果について検討を行った。隆起部 TSH β と α GSU mRNA 発現は、同様の日内変動を示し、ZT0, 4, 24 において低く、ZT12 から ZT20 で高発現していることを明らかにした。また、メラトニンの投与によって TSH β と α GSU mRNA 発現は顕著に低下したが、TSH 免疫染色性は逆に増強されたことから、隆起部 TSH 発現及び TSH 分泌はメラトニンにより抑制的に制御されることが考えられる(Aizawa, et al. 2007)。

これまで、隆起部のみをサンプリングすることは、組織の小ささゆえに困難であったが、

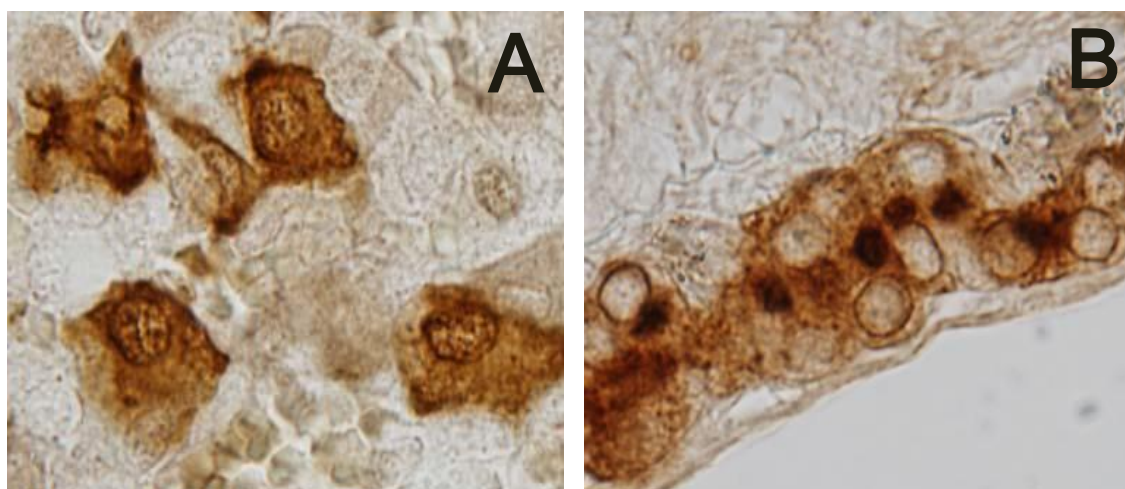


図 2. ラット下垂体主部 (A) と隆起部 (B) の TSH 産生細胞
TSH に対する抗体を用いた免疫組織化学を行った。主部の TSH 細胞は多角形で、細胞質全体が均一に染色される。一方、隆起部の TSH 細胞は小型球形で、ゴルジ装置が強く染色される。

近年 Lazar Microdissection (LMD) 法を用いることによって隆起部のみを採取することができるようになった。筆者らは、隆起部 TSH の新たな発現・分泌調節機構を明らかにするために、LMD 法により採取した隆起部から RNA を抽出して全発現遺伝子をマイクロアレイ法で調べることで、隆起部に発現する遺伝子の網羅的解析を行った。その結果、イオンチャンネル共役型グルタミン酸受容体カイニン酸型 2 (KA2) が高発現していることを見出し、さらに細胞外からグルタミンを取り込むグルタミントランスポーターのひとつである ATA2 と、グルタミン酸の代謝、合成に関わるグルタミナーゼ Glus 及び Glis2 が隆起部に高発現していることを明らかにした。そこで、隆起部 TSH に対するグルタミン及びグルタミン酸の効果を検討するために、隆起部スライス培養実験を行ったところ、グルタミンまたはグルタミン酸処理により隆起部 TSH β mRNA 発現は有意に増加した。興味深いことに、グルタミンは添加後 4 時間から TSH β mRNA 発現を増加させたが、グルタミン酸は添加後 2 時間から TSH β mRNA 発現を増加させた。これらの結果から、隆起部ではグルタミントランスポーターにより細胞外から取り込まれたグルタミンがグルタミン酸に変換され、オートクラインもしくはパラクライン様式によってイオンチャンネル型受容体 KA2 に作用し、TSH β mRNA 発現が促進されることが示唆された (Aizawa, et al. 2012)。

5. 隆起部マイクロアレイから得られた新しい知見

隆起部の新たな生理機能の解明には、隆起部で特徴的に発現する因子を同定することが重要であると考え、マイクロアレイのデータから隆起部に高発現する遺伝子の探索を行った。ペプチドホルモンや分泌性タンパク質に着目してデータベースを精査したところ、ニューロメジン U (NMU) と Insulin-like growth factor 5 (IGFBP5) が高発現していることを見出した。NMU は主に消化管で産生され、エネルギー調節に関与するペプチドホルモンとして知られていたが、その分泌制御機構などは不明であった。そこで、まず形態学的解析を行い、隆起部 NMU 発現は TSH 産生細胞において見られる事を明らかにした (図 3)。次に、NMU の日内変動とメラトニンによる影響を検討した結果、NMU mRNA 発現は ZT12 に高値となる日内変動を示し、さらに、メラトニンの投与によって抑制されることが示された。一方、隆起部

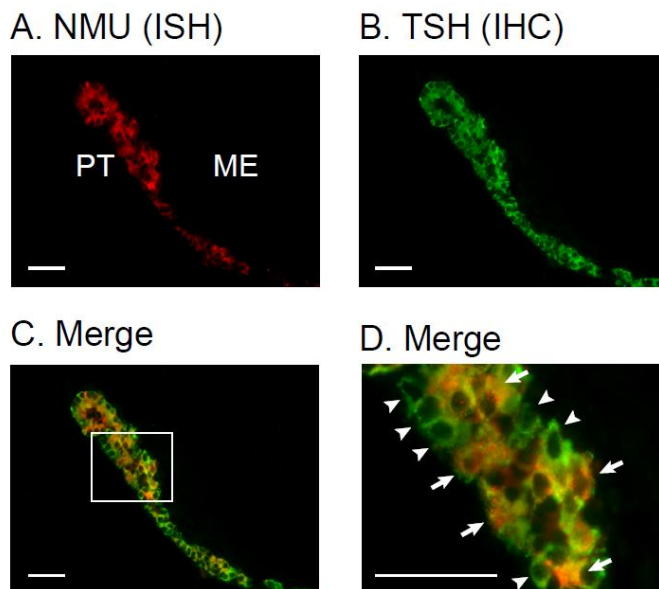


図 3. ラット隆起部における NMU 発現細胞の局在
NMU 発現細胞は隆起部に広範囲に局在し、TSH 産生細胞と共局在していた。(Aizawa et al. PLoS One 8 e67118.)

NMU は絶食といったエネルギー状態の変化によっては変化しなかった。さらに、隆起部から分泌された NMU の作用点を調べるために、NMU 受容体発現の脳内での局在を *in situ* hybridization 法を用いて検討した結果、NMU 受容体タイプ 2 (NMUR2) が、第三脳室上衣細胞に局在していることが明らかとなった (Aizawa, et al. 2013)。今後、隆起部の NMU の生理作用については更なる研究を行う必要があるが、隆起部 NMU は intracellular channel を介して直接脳脊髄液中へ放出された後に第三脳室上衣細胞の NMUR2 に作用することで、何らかの生理作用を発揮するのではないかと想定している。

同様の手法を用いて IGFBP5 を解析したところ、IGFBP5 mRNA 発現は TSH 産生細胞では見られず、濾胞星状細胞 (FS) 細胞のマーカーである s100 タンパク質と共局在していたことから、IGFBP5 は隆起部 FS 細胞で発現している事が示された。また、隆起部 IGFBP5 mRNA 発現は日内変動を示さず 1 日を通して一定の発現レベルを示し、メラトニン投与や絶食による影響も見られなかった。一般的に IGFBP は IGF と結合し IGF 受容体よりも高い親和性を有しており、IGF の Bioactivity を調節する働きを持つことが知られている。IGF 受容体 (IGF1r と IGF2r) が脳内に広範囲に発現していること、及び IGF2 は隆起部で発現しておらず脳軟膜や脈絡叢に局在していること、さらに脳脊髄液中にもその存在が確認されていることを合わせて考え

ると、隆起部から分泌される IGFBP5 は脳軟膜や脈絡叢から産生・分泌される IGF2 と結合することによって中枢で生理作用を発揮するという新しい作用経路の存在が示唆される。以上のように、NMU と IGFBP5 の脳内への作用経路を明らかにすることは、隆起部の生理機能を明らかにするために重要な課題であると考えられる。

6. まとめと今後の展望

筆者らは隆起部の調節機構とその生理的機能を明らかにするために長年研究を続けている。隆起部は、他の組織にはない解析の困難さ故に、未だ機能の全貌が明らかになっていない組織と言える。しかしながら、これまでの研究から、隆起部は日周や季節的な変動を仲介する部位として重要な機能を担っていることが示され、筆者等の研究からは隆起部で産生される TSH や NMU などのホルモンが中枢へ作用するという新しい作用機序が予想されるなど、新しい生理作用と作用経路の可能性が示唆されている。今後、隆起部に特異的に発現する因子を見出し、遺伝子改変動物を作出するなどして隆起部組織の破壊実験や隆起部特異的遺伝子の過剰発現を試みることで隆起部の生理作用の解明が進むことを期待している。

7. 参考文献

1. Aizawa S, Hoshino S, Sakata I, Adachi A, Yashima S, Hattori A & Sakai T 2007 Diurnal change of thyroid-stimulating hormone mRNA expression in the rat pars tuberalis. *J Neuroendocrinol* **19** 839-846.
2. Aizawa S, Sakai T & Sakata I 2012 Glutamine and glutamic acid enhance thyroid-stimulating hormone beta subunit mRNA expression in the rat pars tuberalis. *J Endocrinol* **212** 383-394.
3. Aizawa S, Sakata I, Nagasaka M, Higaki Y & Sakai T 2013 Negative regulation of neuromedin U mRNA expression in the rat pars tuberalis by melatonin. *PLoS One* **8** e67118.
4. Gross DS 1984 The mammalian hypophysial pars tuberalis: a comparative immunocytochemical study. *Gen Comp Endocrinol* **56** 283-298.
5. Guerra M, Blazquez JL, Peruzzo B, Pelaez B, Rodriguez S, Toranzo D, Pastor F & Rodriguez EM 2010 Cell organization of the rat pars tuberalis. Evidence for open communication between pars tuberalis cells, cerebrospinal fluid and tanycytes. *Cell Tissue Res* **339** 359-381.
6. Inoue M, Aizawa S, Higaki Y, Kawashima A, Koike K, Takagi H, Sakai T & Sakata I 2013 Detailed morphogenetic analysis of the embryonic chicken pars tuberalis as glycoprotein alpha subunit positive region. *J Mol Histol* **44** 401-409.
7. Inoue M, Shiina T, Aizawa S, Sakata I, Takagi H & Sakai T 2012 Detailed analysis of the delta-crystallin mRNA-expressing region in early development of the chick pituitary gland. *J Mol Histol* **43** 273-280.
8. Nakao N, Ono H, Yamamura T, Anraku T, Takagi T, Higashi K, Yasuo S, Katou Y, Kageyama S, Uno Y, et al. 2008 Thyrotrophin in the pars tuberalis triggers photoperiodic response. *Nature* **452** 317-322.
9. Sakai T, Inoue K & Kurosumi K 1992 Light and electron microscopic immunocytochemistry of TSH-like cells occurring in the pars tuberalis of the adult male rat pituitary. *Arch Histol Cytol* **55** 151-157.
10. Sakai T, Sakamoto S, Ijima K, Matsubara K, Kato Y & Inoue K 1999 Characterization of TSH-positive cells in foetal rat pars tuberalis that fail to express Pit-1 factor and thyroid hormone beta2 receptors. *J Neuroendocrinol* **11** 187-193.
11. Takagi H, Nagashima K, Inoue M, Sakata I & Sakai T 2008 Detailed analysis of formation of chicken pituitary primordium in early embryonic development. *Cell Tissue Res* **333** 417-426.

最優秀発表賞受賞研究の紹介 ①

GnRH-(1-5)による KNDy ニューロンを介した GnRH/LH 分泌促進機構

名古屋大学大学院生命農学研究科 生命技術科学専攻
生殖科学研究室 家田菜穂子

キスペプチンは、2001年に日本の研究グループによって発見された生理活性ペプチドである (Ohtaki *et al.*, 2001)。脳内では主に、前腹側室周囲核と視床下部弓状核のふたつのニューロン群でキスペプチンが産生される。キスペプチン受容体が GnRH ニューロンに発現すること、また、キスペプチンが GnRH と LH の分泌を強力に促進することから、キスペプチンは視床下部-下垂体-性腺軸の頂点にたつ神経ペプチドとして注目を集めている。数多くの状況証拠から、前腹側室周囲核と弓状核のキスペプチンニューロン群は、それぞれ GnRH/LH のサージ状分泌とパルス状分泌をコントロールする中枢として、役割を分担しているという説が有力である。

私は、キスペプチンニューロンの活動を制御する上流の神経シグナルを新たに同定することにより、哺乳類の卵胞発育と排卵を制御する中枢メカニズムを明らかにできると考えている。そこで私は、キスペプチンニューロンに発現する神経ペプチドの受容体を網羅的に解析し、いくつかの興味深い結果を得た。

当研究室では近年、相同組み換えによりキスペプチン遺伝子 (*Kiss1*) を赤色蛍光タンパク質 tdTomato で置き換えた遺伝子改変ラットを作出した (Uenoyama *et al.*, 2015)。tdTomato がホモ型の *Kiss1* ノックアウトラットでは、雌雄とも生殖能力が消失するが、*Kiss1* と tdTomato を 1 allele ずつ持つヘテロ型の個体は、野生型と同様に正常な生殖機能を示す。よって、このヘテロ個体を利用すれば、キスペプチンニューロンが tdTomato により可視化されたモデルとして活用できる。このヘテロ個体の弓状核から tdTomato を指標としてキスペプチンニューロンのみを取り出し、発現する受容体遺伝子を解析したところ、GnRH の部分ペプチドに対する受容体が発現することを発見した。そこで、GnRH 部分ペプチドの生理機能を明らかにするため、ラットの第三脳室に投与したところ、投与後すぐに LH 分泌の上昇が認められた。一方で、*Kiss1* ノックアウトラットに GnRH 部分ペプチドを投与しても、LH 分泌にはなんら変化が見られなかったことから、この GnRH 部分ペプチドの LH 分泌促進能は、下垂体のゴナド

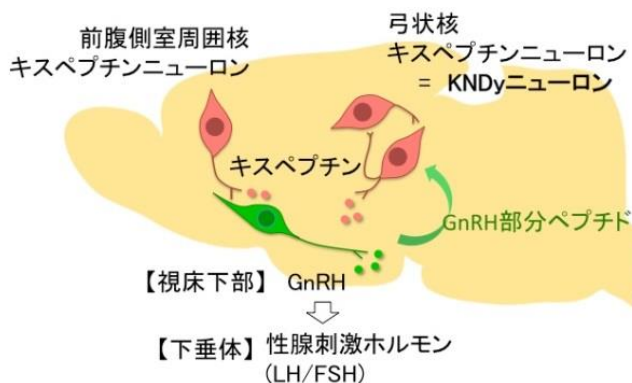
トロフを介してではなく、キスペプチンニューロンを介することが明らかとなった。これらの結果から、GnRH 部分ペプチドは弓状核キスペプチンニューロンに直接作用し GnRH/LH の分泌を促進することが明らかとなった。

キスペプチンと GnRH の関係は、これまで「キスペプチンニューロンから GnRH ニューロンへ」という絶対的な一方のみであると考えられてきた。しかし本研究から、「GnRH ニューロンがキスペプチンニューロンへフィードバックする」という、新たなメカニズムの存在が明らかとなった。過去の報告では、ラットにおいて、LH サージの間に弓状核キスペプチンニューロンが活性化されることが示されており

(Kinoshita *et al.*, 2005)、GnRH が大量に放出されるサージの発生中に、このショートループ・フィードバックが起こっているのではないかと考えている。今後は、キスペプチン・GnRH ニューロン間のショートループ・フィードバック機構が果たす生理的な役割の解明が期待される。

【引用文献】

Ohtaki *et al.*, (2001) *Nature*, 411:613-617.
Uenoyama *et al.*, (2015) *Journal of Neuroendocrinology*, DOI: 10.1111/jne.12257.
Kinoshita *et al.*, (2005) *Endocrinology*, 146:4431-4436.



最優秀発表賞受賞研究の紹介 ②

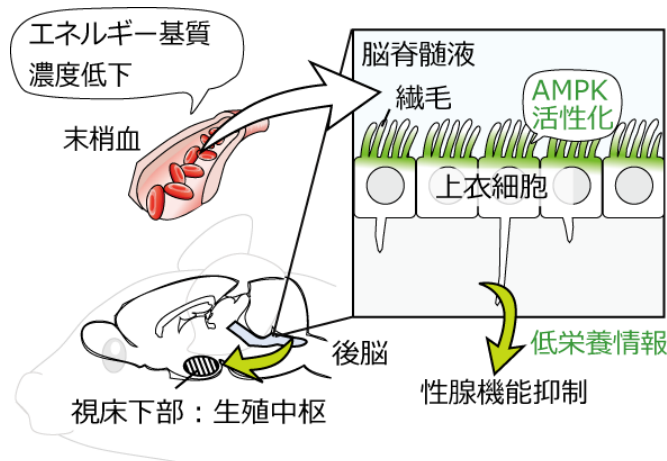
性腺機能制御に関わる後脳上衣細胞の
AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) の役割名古屋大学大学院生命農学研究科 生命技術科学専攻
生殖科学研究室 美辺詩織

ほ乳類では、飢餓時や慢性的な低栄養では性腺機能が抑制される。これは、動物が次世代確保（繁殖）より個体の生存を優先する適応戦略である。動物の脳には、エネルギー状態を感知し、性腺機能を抑制したり、摂食行動を引き起こす機構が備わっている。私達はこれまで、後脳に分布する上衣細胞が低栄養状態を感知し、性腺機能抑制を引き起こす為のエネルギーセンサー細胞であると提唱してきた。上衣細胞は、脳室を裏打ちし脳脊髄液に接する繊毛性のグリア細胞であり、グルコースやケトン体の膜輸送体タンパクを発現する。脳脊髄液に含まれるエネルギー基質濃度は、末梢血中濃度を反映するため、脳脊髄液に直接接する上衣細胞は末梢のエネルギー状態に関する情報を得るのに非常に都合が良い細胞である。

私は、上衣細胞におけるエネルギーセンシングの細胞内メカニズムを解明するため、後脳上衣細胞の AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) に着目し、いくつかの実験を行った。AMPK は真核細胞において高度に保存されているセリン/スレオニンキナーゼであり、低グルコースのような低栄養ストレスに応答して AMP 依存的に活性化される。雌ラットを用いて、AMPK の活性化剤を後脳第四脳室に投与し、無拘束無麻酔の状態で血中黄体形成ホルモン (LH) の動態を観察したところ、AMPK 活性化剤投与の直後からパルス状 LH 分泌の抑制が認められた。このことは、後脳の AMPK の活性化を介して、動物の生殖機能をネガティブに制御する機構があることを示している。また、AMPK の脳内での局在を検索したところ、特に脳室周囲の上衣細胞の繊毛に AMPK が高いレベルで発現していることが明らかとなった。繊毛は上衣細胞の脳脊髄側に位置し、脳脊髄の流れをつくり出すために波打って動く部分である。ここに AMPK が発現することは興味深い。さらに、私は AMPK の活性化が上衣細胞に及ぼす影響を *in vitro* で観察した。この実験の為に、まず緑色蛍光タンパク Venus で可視化されたトランスジェニック (Tg) マウスを作出した。この Tg マウスから後脳の脳室周囲のみを切り出

し、細胞間のインタラクションをなくすためディスパースしたのち、AMPK の活性化剤を作用させた。すると可視化した上衣細胞の多くで、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が認められた。近年のグリア細胞に関する研究により、グリア細胞も実は非常に動的な細胞であり、細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存的にさまざまな伝達物質を放出することが報告されている。これらのことから、低栄養時には、後脳上衣細胞が脳脊髄液を介して個体のエネルギー状態を感知し、AMPK の活性化による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を介して低栄養情報を視床下部の生殖中枢へと伝達し性腺機能を抑制すると思われる。

本研究により明らかとなった性腺機能を制御する脳内エネルギーセンシングメカニズムは、高乳牛における受胎率の低下やヒトの摂食障害による無月経などに関わる可能性も考えられ、治療・予防法の開発への応用が期待される。



最優秀発表賞受賞研究の紹介 ③

Collagen producing cells in human anterior pituitary gland; normal pituitary gland and pituitary adenoma

Division of Histology and Cell Biology, Department of Anatomy, Jichi Medical University School of Medicine
Alimuddin Tofrizal

Extracellular matrix (ECM) provides mechanical integrity, rigidity, and elasticity that are essential for the function of cells. It is important for cell survival, proliferation, differentiation, and migration of cells in various tissues. Collagen is a major component of the ECM. Human pituitary adenomas have been known clinically to show variation of consistency of tumors tissue, and TSH producing adenomas frequently show clinical hard in consistency. However, it is not known whether the tissue consistency in adenomas is related to the ECM. To clarify this, we identified the collagen producing cells in control tissue and pituitary adenomas by means of *in situ* hybridization and immunohistochemistry. Human tissue samples were obtained during surgery at Toranomon Hospital. We performed *in situ* hybridization for collagen type I and collagen type III, and double stained for alpha smooth muscle actin (α SMA), which is expressed in pericytes, myoepithelial cells and myofibroblasts. In addition, we performed *in situ* hybridization for regulator of G-protein signaling 5 (RGS5), which is a pericyte marker and also expressed in myoepithelial cells and/or endothelial cells under pathological conditions. This study showed that the collagen producing cells in normal human pituitary were pericytes, which were α SMA (+) and RGS5 (+), and located closely to capillaries. In pituitary adenomas, we were able to classify 4 types of collagen producing cells based on their histology and molecular markers, 1) myoepithelial-like cells, which was α SMA (+), RGS5 (+) and located next to epithelia, 2) pericytes, 3) myofibroblasts, which was α SMA (+), RGS5 (+) and located in the middle of fibrous matrix, 4) fibroblasts, which was α SMA (-) and RGS5 (-). In the intra tumoral part, the majority of collagen producing cells was myoepithelial-like cells and pericytes and myofibroblasts were minor (Fig1). In tumor capsule, the majority of collagen producing cells was myofibroblasts and numbers of fibroblasts were a few. These results suggest that there are alterations of collagen producing cells between normal human pituitary gland and in the human pituitary adenomas. This is the first report of collagen producing cells in normal human pituitary and human pituitary adenomas.

(This study is collaboration with Shozo Yamada MD, PhD. Head of Department of Hypothalamic and Pituitary Surgery, Toranomon Hospital, Tokyo.)

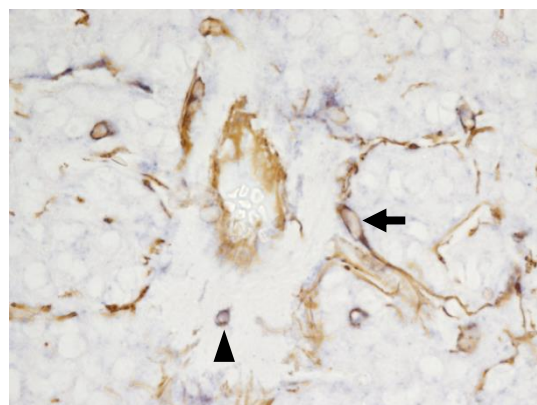


Fig1. Collagen producing cells in TSH producing adenoma (a typical hard type adenoma) Collagen type I mRNA (*Col1a1*) was detected by *in situ* hybridization (blue) and α SMA was detected by immunohistochemistry (brown). *Col1a1* was expressed in myoepithelial-like cells (arrow) and myofibroblasts (arrowhead).

編集後記

新年も1ヶ月が過ぎ、残寒の中、新たな気持ちで研究に励まれていることと存じます。本年が日本下垂体研究会会員の皆様にとって実り多い年になりますよう、お祈り申し上げます。

さて、この度、自治医科大学の屋代教授を編集長とした編集部を立ち上げ、日本下垂体研究会レターを創刊する運びとなりました。本誌は、日本下垂体研究会のニュースレターです。日本下垂体研究会の活動状況、下垂体研究のホットトピックスを会員の皆様にお知らせするために発行致します。ニュースレターの発行は年1回で、印刷版に加えてWeb掲載（PDF形式、ダウンロード可）させていただきます。

本号には、創刊に寄せて、学術集会報告、総説Ⅰ、総説Ⅱ、吉村賞受賞研究の紹介、最優秀発表賞受賞研究の紹介を掲載しております。下垂体は脳の下面に存在する比較的小さな器官ですが、その研究分野は前葉、中葉、後葉、隆起部、視床下部による制御機構および葉内の細胞外基質に関する研究と多様です。本号においても坂井先生に隆起部の研究や奥水先生に後葉ホルモンの研究に関する記事をご投稿いただきました。また、第29回学術集会で発表賞を受賞された大学院生の方々にもアクティブな研究内容をご紹介いただきました。原稿をご投稿くださいました先生方に、この場をお借りして御礼申し上げます。会員の皆様には、本号を通して昨年で開催されました日本下垂体研究会第29回学術集会の熱気を再度思い起こしていただき、第30回学術集会を最新の研究成果と活発な討論で盛り上げていただきたくお願い申し上げます。また、日本下垂体研究会レターもより充実した情報発信の場となるように編集部も日々、努力してまいります。今後とも宜しくお願い致します。

（東 森生）



日本下垂体研究会レター編集部

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1
自治医科大学医学部解剖学講座(組織学部門)
電話: 0285-58-7314
Fax: 0285-44-5243
編集長 : 屋代 隆 tyashiro@jichi.ac.jp
編集委員: 菊池元史 kikuchim@jichi.ac.jp
東 森生 azumam@jichi.ac.jp