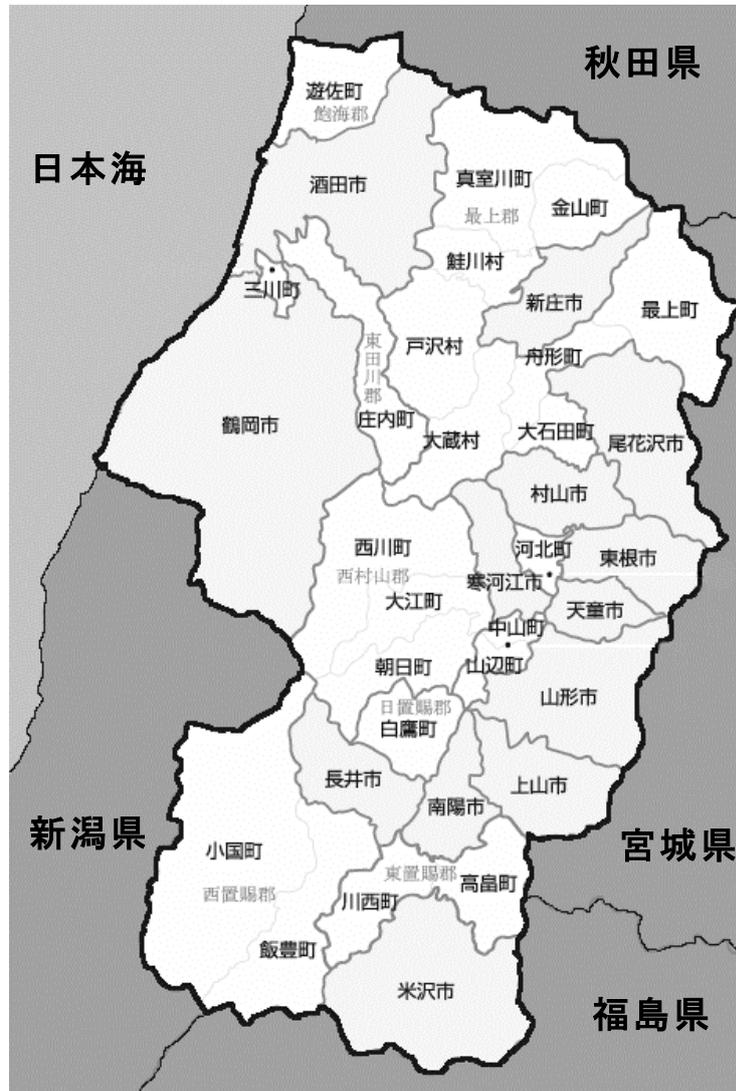


日本下垂体研究会 第 27 回学術集会
プログラム・講演要旨集

平成 24 年 8 月 9 日(木)~11 日(土)

天童ホテル



日本下垂体研究会 第 27 回学術集会

プログラム・講演要旨集

2012 年 8 月 9 日（木） ～ 11 日（土）

天童ホテル

〒994-0025 山形県天童市鎌田本町 2-1-3

「日本下垂体研究会事務局」からのお願い

学会期間中に、下垂体研究会事務局の受付を設けます。受付には、会員名簿と会費納入状況の書類を準備いたします。この機会に、年会費の確認と支払い、会員登録状況の確認、育英資金の支給などを受け付けます。特に、評議員の先生方には、ご自身の所属と会費納入状況の確認とともに、所属学生さんについて異動や会費の確認をお願い致します。

表紙は山形県地図です。山形県は日本海を向いた頭部の形をしています。頭部前方の日本海には伊豆七島の式根島よりやや小さな飛島があります。頭上は秋田県、鼻と口から顎にかけて新潟県、頸から下は福島県、後頭部は宮城県と接しています。学術集会が開催される天童市は耳介の後部に位置します。鼻部は鶴岡市、額は「おしん」が奉公に出た港町酒田市、眼は三川町になります。三川町は庄内平野の小さな町ですが、冬期に雪崩注意報が発令される山形県では雪崩の起きない唯一の田園地域で、山形県全体が黄色の注意報に変わる中、常に白くぬける部分で有名です。眼からのびる視神経は庄内町ですから、庄内町・鶴岡市・西川町・大蔵村の境にそびえ立つ月山が下垂体の部分に相当します。山形新幹線で山形駅を過ぎると、左手遠方に残雪を望む山が月山です。日本下垂体研究会会員の皆様に山形県の形と月山の位置を理解していただければ幸いです。

日本下垂体研究会 第 27 回学術集会 開催要領

1. 会期

平成 24 年 8 月 9 日（木） 一般講演、幹事会
平成 24 年 8 月 10 日（金） 一般講演、評議委員会・総会、
吉村賞授賞式、吉村賞授賞者講演、山寺観光、懇親会
平成 24 年 8 月 9 日（土）教育講演、シンポジウム、最優秀発表賞授賞式

2. 会場

天童温泉 天童ホテル
994-0025 山形県天童市鎌田本町 2-1-3
023-654-5511 Fax: 023-654-5517
<http://www.tendohotel.co.jp>
Email: postmaster@tendohotel.co.jp

3. 参加受付

8 月 9 日（木）13:00 より玄関ロビーで受付を行います。学術集会参加費と懇親会費を現金にてお支払いください。会計終了後、受付にて名札をお受け取りください。名札は次回の学術集会で使用しますので、お帰りの際にご返却ください。

4. 参加費

一般会員： 5,000 円	非 会 員： 7,000 円
学生会員： 2,000 円	賛助会員： 10,000 円

5. 懇親会費

一般会員： 5,000 円	非 会 員： 5,000 円
学生会員： 3,000 円	賛助会員： 10,000 円

6. 宿泊

部屋割りは受付時にお渡しいたします。お支払いはホテルのフロントにてお願いいたします。なお、チェックインは 15 時以降、チェックアウトは 11 時までとなります。

7. 講演の形式

吉村賞受賞講演と教育講演の発表時間は 40 分、シンポジウムの発表時間は 30 分です。また、一般講演はすべて口頭発表とし、発表時間は 10 分、質疑応答は 3 分です。会場には Windows XP を搭載した PC を一台用意します。Microsoft Office PowerPoint 2008 で作動確認したファイルをご準備ください。異なる OS や別バージョンの PowerPoint で作製した場合は、上記の環境で問題なく作動することをご自身でチェックしてください。作製した PowerPoint ファイルを USB フラッシュメモリに保存してお持ちください。9 日に発表される方は一般講演の開始までに、10 日以降に発表・講演される方は休憩時間または講演終了後に会場です写を行います。ご自身の PC を持ち込まれる場合は事前に

お知らせください。接続に必要なアダプターはご持参ください。

8. ファイルオンザデスク

9日(木)の夕食後、10日(金)の懇親会の後にはファイルオンザデスクを行います。一般講演にご使用したPowerPointの印刷板をご持参ください。

9. 会場までの交通手段(参考)

[JR 天童駅から天童ホテルまで]

徒歩約10分程です。

ホテルの送迎バスも新幹線到着時刻に合わせて手配します。

[JR 東京駅から JR 天童駅まで]

JR 東京より山形新幹線 約3時間(最短2時間40分)

つばさ131号:東京駅9:24 → 天童駅12:05

つばさ133号:東京駅10:08 → 天童駅13:12

(東海道山陽新幹線 のぞみ104号:岡山駅6:08 → 東京駅9:33)

[JR 仙台駅から JR 天童駅まで]

JR 仙台駅より仙山線と奥羽線(仙台—山形乗り換え—天童)約2時間

仙台駅10:50 → 山形駅11:57

つばさ133号:山形駅13:02 → 天童駅13:12

JR 仙台より高速バスで JR 山形駅 約1時間10分

JR 山形駅より奥羽線で JR 天童駅

[山形空港より]

大阪伊丹空港 10:55 → 山形空港 12:10

山形空港から乗り合いタクシー 約1,500円

[山形駅から天童温泉までタクシー利用]

山形駅からタクシー 約5,000円

[自家用車ご利用のかた]

東北自動車道・山形自動車道(浦和料金所～村田IC～山形北)

山形北より国道13号を北上15分ほど

東北自動車道(浦和料金所～福島飯坂)

福島飯坂より国道13号で米澤経由 1時間30分ほど

10. 閉会後の交通手段

ホテル受付に問い合わせください。

11. 最優秀発表賞の審査

1次審査を経て5題の候補演題が選出されます。これらの口頭発表は審査委員により審査され、その評点をもって最優秀発表賞受賞者を決定します。審査員には、最優秀発表賞の第2次審査対象演題(プログラムに示しています)についての審査をして頂きます。

12. 吉村賞受賞講演

高橋 明義 先生（北里大学海洋生命科学部）
「魚類メラノトロピン類に関する研究」

13. 教育講演

東村 博子 先生（名古屋大学大学院生命農学研究科）
「種を超えて生殖を制御する神経ペプチド：キスペプチン」

14. シンポジウム

「魚類における神経内分泌現象研究の最新動向

—脳・末梢ホルモンによるエネルギー代謝と下垂体制御システム—

高橋 明義 先生（北里大学海洋生命学部）

黒川 忠英 先生（独立行政法人水産総合研究センター）

松田 恒平 先生（富山大学大学院理工学研究部生命融合科学教育部）

15. 連絡先

990-9585 山形市飯田西 2-2-2

山形大学医学部 解剖学第一講座内

日本下垂体研究会 第27回学術集会事務局

事務局：小林 裕人 E-mail: kob-h@med.id.yamagata-u.ac.jp

Tel: 023-628-5202 (Fax: 023-628-5205)

会長：白澤 信行

日本下垂体研究会 第27回学術集会 日程表

	8月9日	8月10日	8月11日
700		700 朝食	700 朝食
800			
900		830 一般演題(18-26)	900 教育講演
1000		1030 休憩	940 休憩
1100		1045 一般演題(27-34)	950 シンポジウム
1200			1130 休憩
1300	1300 受付開始	1230 昼食	1140 最優秀発表賞表彰式
1400	1420 開会の辞	1330 評議員会・総会 吉村賞授賞式・講演	1200 閉会の辞
1500	1430 一般演題(1-8)	1445 移動準備	3日目終了
1600	1615 休憩	1515 山寺観光	
1700	1630 一般演題(9-17)		
1800		1730 休憩	
1900	1830 休憩荷物移動	1900 懇親会	
2000	1930 夕食		
2100	2100 幹事会と ファイルオンザデスク	2130 ファイルオンザデスク	
2200			
2300	1日目終了	2日目終了	

日本下垂体研究会 第 27 回学術集会 プログラム

2012 年 8 月 9 日 (木) ~ 11 日 (土)

天童ホテル, 山形県天童市

8 月 9 日 (木)

参加受付 13:00 ~

開会の辞 14:20 ~ 14:30

一般講演 14:30 ~ 16:15 8 演題 (各 13 分) *最優秀発表賞応募演題

Session I

座長：加藤 幸雄 (明治大学)、坂田 一郎 (埼玉大学)

1. 下垂体前葉におけるプロテオグリカン遺伝子発現細胞の同定

○堀口幸太郎、Rahimi Syaidah、Dini Ramadhani、菊地 元史、屋代 隆
自治医科大学医学部解剖学講座 (組織学部門)

*2. Expression of laminin isoforms in rat anterior pituitary gland during the prenatal and postnatal development

○ Dini Ramadhani, Takehiro Tsukada, Motoshi Kikuchi, Takashi Yashiro
Division of Histology and Cell Biology, Department of Anatomy, Jichi Medical University School of Medicine

*3. Laminin up-regulates fibromodulin expression in folliculo-stellate cells of rat anterior pituitary gland

○Rahimi Syaidah, Kotaro Horiguchi, Dini Ramadhani, Ken Fujiwara, Takashi Yashiro
Division of Histology and Cell Biology, Department of Anatomy, Jichi Medical University School of Medicine

4. 下垂体前葉 LH 細胞のラミニン分泌に対する濾胞星状細胞の関与

○塚田岳大、Dini Ramadhani、幸喜 富、藤原 研、屋代 隆
自治医科大学医学部解剖学講座 (組織学部門)

Session II

座長：野崎 眞澄 (新潟大学)、石井 寛高 (日本医科大学)

5. 月周産卵魚クサフグにおける GnRH、キスペプチンおよび GPR54 遺伝子の周期的発現

○安東宏徳¹, Md. Shahjahan², Satoshi Ogawa², Ishwar Parhar²

¹新潟大・理・臨海, ²Sch. Med. Health Sci., Monash Univ.

6. 深海魚ザラビクニンにおけるメラニン凝集ホルモンの分布

○阿見彌典子¹, 稲見光海里¹, 杉藤彰¹, 池口新一郎², 三宅裕志¹, 天野勝文¹, 高橋明義¹

¹北里大学海洋生命科学部, ²のとじま臨海公園水族館

7. 背地適応時におけるキングョ下垂体中葉のソマトラクチン 2 分子種の発現動態

○東 森生^{1,4}, 浜口 晃吉², 高橋 明義³, 内山 実¹, 松田 恒平¹

¹富山大・院理工・生体制御, ²富山大・理・生物, ³北里大・海洋生命, ⁴日本学術振興会特別研究員

8. クロスタウナギ下垂体の GTH mRNA レベルならびに GTH タンパク質レベルに対するエストロゲン投与の効果

○野崎眞澄¹・本田香織¹・内田勝久²・下谷豊和¹・西山真樹¹

¹新潟大学理学部附属臨海実験所, ²宮崎大学農学部海洋生物環境学科

休憩 16:15 ~ 16:30

一般講演 16:30 ~ 18:30 9 演題 (各 13 分)

Session III

座長：金崎 春彦（島根大学）、中村 和昭（国立成育医療研究センター）

9. アネキシン A5 ノックアウトマウスの下垂体機能について

○汾陽光盛¹, 尾崎 優¹, 水品智菜¹, 寺島涼太¹, 植木紘史^{1,2}, ドワンザイ・リエンラクオン³, 米澤智洋¹, 久留主志朗¹, Bent Brachvogel⁴, Ernst Pöschl⁵

¹北里大学獣医生理, ²東大大学院医学研究科, ³Mahanakorn University of Technology, ⁴Medical Faculty, University of Cologne, Germany, ⁵University of East Anglia, Norwich, UK

10. 下垂体ゴナドトロピン産性腺腫における

ホルモン産生のエピジェネティクス制御機構の解析

○緒方綾子¹, 井野元智恵², 田原重氏³, 寺本明³, 中村直哉², 長村義之⁴, 竹腰進¹,

¹東海大学医学部 基礎医学系生体防御, ²同 基盤診療学系病理診断学,

³日本医科大学脳神経外科, ⁴国際医療福祉大学病理診断センター

11. ラット円形精子細胞特異的な HSV1-TK 遺伝子異所性発現の制御因子の探索

○関田雅世¹, 陳黙¹, 蔡立義⁶, 加藤たか子³, 樋口雅司³, 八子英司¹, 吉田彩舟¹, 大

西美帆子³、紀藤圭治^{1,2}、北村邦男⁴、堀米恒好⁵、和泉俊一郎⁷、布田孝代⁷、高橋千果⁷、加藤幸雄^{1,2}

¹明治大・院、²明治大・農、³明治大・研究知財、⁴埼玉医大・保健医療、⁵新潟大・理 ⁶中国無錫婦幼保健医院・生殖医学センター、⁷東海大学・医

12. 抗ウイルス遺伝子 myxovirus resistance 1 (Mx1)変異体の細胞増殖抑制作用

○寺島涼太、米澤智洋、久留主志朗、汾陽光盛

北里大学・獣医生理

Session IV

座長：針谷 敏夫（明治大学）、藤原 研（自治医科大学）

*13. 走査型電子顕微鏡による下垂体前葉細胞の同定

○甲賀大輔¹、久住聡¹、暮地本宙己²、渡部剛²、牛木辰男¹

¹新潟大学大学院 医歯学総合研究科 顕微解剖学分野

²旭川医科大学 解剖学講座 顕微解剖学分野

14. Morphological characteristics of pericytes and new desmin-immunopositive perivascular cells in the anterior pituitary gland of postnatal rats

○Depicha Jindatip, Ken Fujiwara, Tom Kouki, Megumi Yatabe, Floren Ly, Takashi Yashiro

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

*15. GnRH 刺激を受けたラット下垂体前葉性腺刺激ホルモン産生細胞に出現する粗面小胞体の変化

○暮地本 宙己¹、甲賀 大輔²、穂坂 正博³、牛木 辰男²、渡部 剛¹

¹旭川医科大学 解剖学講座 顕微解剖学分野、²新潟大学大学院 医歯学総合研究科 顕微解剖学分野、³秋田県立大学 生物資源科学部 応用生物科学科 分子細胞機能研究グループ

16. ラット下垂体隆起部における NeuromedinU 発現の日内変動とメラトニンによる制御

○相澤清香、長坂麻衣、坂井貴文、坂田一郎

埼玉大学 大学院理工学研究科

17. 胃 Estrogen 合成分泌の日内変動と下垂体

○小林 裕人、吉田 沙織、孫 英傑、白澤 信行、内藤 輝

山形大学医学部 解剖学第一講座

休憩と荷物移動 18:30 ~ 19:30

夕食 19:30 ~ 21:00

幹事会 21:00 ~ 22:00

ファイルオンザデスク 21:00 ~ 23:00

8月10日（金）

朝食 7:00 ~ 8:30

一般講演 8:30 ~ 10:30 9演題（各13分）

Session V

座長：前多 敬一郎（東京大学）、奥水 崇鏡（自治医科大学）

18. 後脳上衣細胞に感知される栄養シグナルの伝達経路の同定

○出浦 慎哉¹、美辺 詩織¹、上野山 賀久¹、前多 敬一郎²、東村 博子¹

¹名古屋大学生命農学研究科、²東京大学大学院農学生命科学研究科

19. 後脳上衣細胞レポーター遺伝子導入マウスの作製

○美辺詩織¹、出浦慎哉¹、春田つばさ¹、後藤哲平^{1,2}、三宝誠²、富田江一²、平林真澄²、上野山賀久¹、前多敬一郎³、東村博子¹

¹名大院生命農、²生理学研究所、³東大院農学生命

20. ヤギ視床下部視索前野および弓状核に由来する不死化神経細胞株の作出

○松田二子、末富祐太、上野山賀久、前多敬一郎、東村博子、大蔵 聡
名古屋大学大学院生命農学研究科、東京大学大学院農学生命科学研究科

21. 下垂体後葉ホルモンによるアデニレートサイクラーゼシグナルの調節機構

○奥水 崇鏡

自治医科大学医学部分子薬理学部門

Session VI

座長：汾陽 光盛（北里大学）、竹越 進（東海大学）

22. 子宮内膜症とダイオキシン：腹水中のPCDFsとPCDDs濃度が相関か？！

○高橋千果、蔡立義、近藤朱音、布田孝代、和泉俊一郎

東海大学医学部専門診療学系産婦人科

23. 下垂体ゴナドトロフ及びラクトロフにおける Neurokinin B、Dynorphin A の作用について

○ミジドルジ ツェルメグ、金崎春彦、折出亜希、スクバツタル ウヌルジャルガル、宮崎康二

島根大学 医学部 産科婦人科

*24. GT1-7 細胞に発現する GABA 受容体の発現・機能解析

○棟朝亜理紗^{1,3}、梶尾円香¹、石井寛高^{1,2}、加藤昌克^{1,4}、宮本武典³、佐久間康夫^{1,4}

¹日本医科大学医学部生理学講座（システム生理学）、²日本医科大学大学院医学研究科解剖学・神経生物学分野、³日本女子大学大学院理学研究科物質・生物機能科学専攻、⁴東京医療学院大学

25. ラット GnRH ニューロンに発現する GABA 受容体の発現解析

○石井寛高^{1,2}、尹成珠¹、加藤昌克^{1,3}、佐久間康夫^{1,3}

¹日本医科大学医学部生理学講座（システム生理学）、²日本医科大学大学院医学研究科解剖学・神経生物学分野、³東京医療学院大学

26. GnRH ニューロンに対するメラトニンの性ステロイド用効果

○中沢和美、菊池公孝、塚田ひとみ、簡野康平

東海大学医学部附属大磯病院

休憩 10:30 ~ 10:45

一般講演 10:45 ~ 12:30 8 演題（各 13 分）

Session VII

座長：高橋 純夫（岡山大学）、黒谷 玲子（山形大学）

27. 周産期心筋症、妊娠高血圧症候群におけるバソインヒピンおよびカテプシン D の解析

○廣田飛鳥¹⁾、渡辺つかさ¹⁾、中嶋亮順¹⁾、鈴木美香¹⁾、大田千景²⁾、神谷千津子²⁾、池田智明²⁾、石田充代¹⁾、針谷敏夫¹⁾

¹⁾ 明治大学大学院、農学研究科、生体機構学研究室

²⁾ 国立循環器病研究センター、周産期科

28. マイクロアレイを用いたラット濾胞星状細胞における遺伝子発現解析

—新規傍分泌因子ミッドカインの同定—

○藤原 研、Depicha Jindatip、堀口 幸太郎、塚田 岳大、屋代 隆

自治医科大学医学部解剖学講座（組織学部門）

29. 下垂体 Notch シグナル伝達系に及ぼすニコチンの作用

○鳥海健太郎¹, 高木達也², 中村直哉¹, 長村義之³, 竹腰進²

¹東海大学医学部 基盤診療学病理診断学, ²同 基礎医学系生体防御,

³国際医療福祉大学病理診断センター

30. 成体ラット下垂体における Notch シグナリング

○菊地 元史¹, 丹藤 由希子², 藤原 研², 屋代 隆²

¹自治医科大学・医学部・教育学研究室, ²同・解剖学講座組織学部門

Session VIII

座長：菊地 元史（自治医科大学）、上野山 賀久（名古屋大学）

*31. 下垂体新規転写因子 PRX1・PRX2 は下垂体形成に異なる機能を持つ

○樋口雅司^{1,2}, 加藤たか子², 八子英司³, 陳黙³, 吉田彩舟^{3,4}, 加藤幸雄^{1,2,3}

¹明治大・研究知財, ²明治大・生殖内分泌研, ³明治大・院・農研, ⁴学振特別研究員 DC

32. 転写因子 Prx1 および Prx2 の転写制御機構解析

○渋谷汐里¹, 上春浩貴², 樋口雅司^{3,4}, 吉田彩舟^{1,5}, 菅野尚子¹, 石川晶雄^{1,5}, 加藤たか子³, 加藤幸雄^{1,2,3}

¹明治大・院・農研, ²明治大・農, ³明治大・生殖内分泌研, ⁴明治大・研究知財, ⁵学振特別研究員 DC

33. 下垂体新規転写因子 PRX1・PRX2 の機能解析および結合特性の解析

○津田光芳¹, 樋口雅司^{2,3}, 加藤たか子³, 三ツ石英生¹, 陳黙¹, 八子英司¹, 吉田彩舟^{1,4}, 諏佐崇生³, 加藤幸雄^{1,2,3}

¹明治大・院・農研, ²明治大・研究知財, ³明治大・生殖内分泌研, ⁴学振特別研究員

34. マウス下垂体における SCGB3A2 の役割の解明

○宮野佑樹、島麗香、坂原聖士、阿部宏之、黒谷玲子
山形大学大学院 理工学研究科 バイオ化学工学専攻

昼食 12:30 ~ 13:30

評議員会・総会 13:30 ~ 14:00

吉村賞授賞式 14:00 ~ 14:45

座長：屋代 隆（自治医科大学）

吉村賞受賞者講演 高橋 明義（北里大学海洋生命学部 教授）

「魚類メラノトロピン類に関する研究」

休憩 14:45 ~ 15:00

山寺研修会 15:00 ~ 17:30

懇親会 19:00 ~ 21:30

ファイルオンザデスク 21:30 ~ 23:00

8月11日(土)

教育講演 9:00 ~ 9:40

座長：野上 晴雄（筑波大学）

東村 博子（名古屋大学大学院生命農学研究科 教授）

「種を超えて生殖を制御する神経ペプチド：キスペプチン」

休憩 9:40 ~ 9:50

シンポジウム 9:50 ~ 11:30

座長：高橋 明義（北里大学海洋生命科学部）

松田 恒平（富山大学大学院理工学研究部）

「魚類における神経内分泌現象研究の最新動向

—脳・末梢ホルモンによるエネルギー代謝と下垂体制御システム—

S1: 特定波長光が魚類の神経内分泌系に影響を及ぼす可能性について

高橋 明義（北里大学海洋生命学部）

S2: 突然変異誘発育種法の魚類への応用という視点からのレプチン受容体ノックアウトメダカの解析

黒川 忠英（独立行政法人水産総合研究センター）

S3: キンギョにおけるジアゼパム結合阻害物質由来ペプチドの摂食・情動行動の制御と下垂体ホルモン分泌の調節

松田 恒平（富山大学大学院理工学研究部生命融合科学教育部）

休憩 11:30 ~ 11:40

最優秀発表賞表彰式 11:40 ~ 12:00

閉会の辞 12:00 ~ 12:05

吉村賞受賞者講演

魚類メラノトロピン類に関する研究

高橋明義

北里大学海洋生命科学部

魚類の下垂体からは、一部の例外を除いて哺乳類におけるものと同系列のホルモンが分泌される。腺性下垂体ホルモンには高分子のタンパク質がグループを形成する成長ホルモン分子族と糖タンパク質ホルモン分子族がある。さらに、前駆体から翻訳後プロセッシングにより生じるグループ、すなわちプロオピオメラノコルチン (POMC) 由来ペプチド群がある。神経性下垂体ホルモンにはバソプレッシン系とオキシトシン系のペプチドホルモンに加えてメラニン凝集ホルモン (MCH) がある (MCH が上に記した例外のひとつである。)。これまでに、POMC 由来ペプチド群と MCH を対象として研究を進めてきた。現在までに得られた興味深い結果を紹介する。

I プロオピオメラノコルチンの分子進化

POMC はコルチコトロピン (ACTH), メラノトロピン (MSH), およびエンドルフィン (END) の共通前駆体であり、分子内に複数の MSH 単位を有することを特徴とする。条鰭類, 肉鰭類, 軟骨魚類および無顎類を研究対象として POMC の構造解析を進めた結果, END は常に POMC のカルボキシル末端部に存在するが, MSH 単位の数は分類群ごとに異なることを見出した。これらの結果にもとづいて POMC の分子進化を提唱した。すなわち初期脊椎動物の POMC には 3 種の MSH 単位が存在し, アミノ末端からカルボキシル末端に向かって γ -MSH, α -MSH, β -MSH が配置していた。これら 3 種の中では α -MSH と β -MSH が祖先分子から分化し, ついで γ -MSH が α -MSH から分化した。肉鰭類にはこの構成が継承された。軟骨魚類では β -MSH から δ -MSH が分化し, MSH 単位が 4 個に増えた。条鰭類では γ -MSH に変異が蓄積しつつ, 最後にはこれが欠失して MSH 単位が 2 個に減少した。無顎類では遺伝子重複後, MSH 単位をそれぞれ 1 個および 2 個有する ACTH 前駆体と MSH 前駆体に分化した。このように, POMC は END 単位をカルボキシル末端部に保持しつつ, MSH 単位の消長によって多様化したと考えられる。

II メラノトロピンの作用機序

α -MSH は前駆体の POMC から翻訳後プロセッシングにより生じる。そのアミノ酸配列はアセチル化 ACTH₁₋₁₃ アミドである。 α -MSH の色素拡散活性はアミノ末端遊離の desacetyl- α -MSH よりも概ね高いことから, 従来はアミノ末端のアセチル化が活性発現に重要であるとされてきた。しかし, カレイ類のヒラメとマツカワを用いた研究により, アセチル化とメラノコルチン受容体 (MCR) の関係に関わる重要な現象を見出した。すなわち, これらカレイ類の皮膚に存在する 2 種類の色素細胞のうち, 黄色素胞では α -MSH と desacetyl- α -MSH は両方とも色素拡散活性を発揮する。しかし, 黒色素胞では desacetyl- α -MSH は活性を発揮す

るが、 α -MSHは無効である。

一方カレイ類では、4種類存在するMCRのうち、黄色素胞ではMC5Rが発現し、黒色素胞ではMC1RとMC5Rが発現する。この結果にもとづいて、黒色素胞における α -MSHの活性消失にMCRのヘテロダイマーの関与を示唆する以下の説を提唱した—MC1RとMC5Rが同一細胞で発現するとヘテロダイマーが形成される。これに対するdesacetyl- α -MSHの親和性は保たれる。しかし、 α -MSHの親和性は激減する。

Ⅲ メラニン凝集ホルモンとメラノトロピンの相互関係

視床下部で産生され神経性下垂体から分泌されるMCHは色素凝集を刺激して体色を明化し、下垂体ホルモンであるMSHは色素拡散を刺激して体色を暗化する。MCHとMSHは逆の作用により色素胞を刺激する「色素胞刺激ホルモン」である。カレイ目マツカワを研究材料として、MCH遺伝子およびMSHの前駆体であるPOMC遺伝子の発現、ならびにこれらペプチドホルモンの血中動態を調べ、MCHとMSHの相互関係に関する興味深い結果を得ることができた。

MCHは*in vitro*と*in vivo*の両方で色素凝集活性を示す。また、脳内MCH mRNA含量と脳・下垂体・血液中のMCH濃度は背地色に応じて変動する。一方、MSHの色素拡散活性は*in vitro*では認められるが、*in vivo*では認められない。また、POMC遺伝子発現と血中MSH濃度の動態は必ずしも背地色の変化に対応しない。以上の結果を総合すると、マツカワの色素運動はMCHと交感神経系の支配下であり、これらの作用が強まるときに体色が明化し、弱まるときに体色が暗化する。一方、MSHの作用は定常的であり、MCHと交感神経系の活性が弱い時に相対的にMSHの活性が高まる。すなわち、体色調節（色素運動）に対してMCHは調節的に作用し、MSHは構成的に作用すると考えられる。

以上の受賞対象研究は北里大学水産学部（現海洋生命科学部）において行った卒業論文研究を端緒として始まった。研究材料はシロサケの脳下垂体であり、最初に単離したペプチドはPOMCのアミノ末端ペプチドであった。等電点電気泳動で単離を確認した感激は今でも鮮明に蘇る（pI4.1）。これが切っ掛けとなり、魚類におけるメラノトロピン類の研究を現在も続けている。爾来、上に記したように下垂体研究に僅かではあるが貢献できているものと自負している。北里大学で薫陶を頂いた、第1回吉村賞受賞者でもある川内浩司名誉教授を初め、これまでに多大なるご指導ご助言を賜った関係各位に厚くお礼申し上げる。

教育講演

種を超えて生殖を制御する神経ペプチド：キスペプチン

種を超えて生殖を制御する神経ペプチド：キスペプチン

東村 博子

名古屋大学大学院生命農学研究科

キスペプチンは、ヒトをふくめたほ乳類の生殖機能制御に中心的な役割をはたすペプチドとして注目されている。キスペプチンは、Gタンパク共役型受容体のひとつであるGPR54の内因性リガンドとして、2001年に発見されたペプチドであり、腫瘍転移（metastasis）抑制遺伝子として知られるKiss1遺伝子によってコードされていることから、発見当初はメタスチンと命名された。2003年に、アメリカとフランスの2つの研究グループが、GPR54遺伝子の変異をホモにもつヒトが、性成熟に達しないことを報告し、さらにGPR54KOマウスが、性成熟に達しないことが示されたため、このペプチドが性成熟に不可欠なペプチドであると考えられた。また、げっ歯類を用いた研究を中心に、このペプチドが強力な性腺刺激ホルモン放出因子であることや、性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）ニューロンにGPR54の発現が確認され、キスペプチンはGnRHニューロンの上位から直接GnRHニューロンを支配し、その放出を介して性腺刺激ホルモン分泌を刺激することが示された。その後、キスペプチン-GPR54系は性成熟のみならず、成熟個体における生殖機能維持にも中心的な役割をもつことが明らかとなってきた。

ラットの脳において、キスペプチンニューロン細胞体はふたつの神経核に局在しており、その分布には雌雄差がある。雌ラットでは、前腹側室周囲核（AVPV）および視床下部室傍核（ARC）に、雄ではARCのみに細胞体が認められる。エストロジェンはAVPVにおけるキスペプチン発現を増加させ、一方ARCではその発現を抑制する。また、いずれの神経核に分布するキスペプチンニューロンにも、エストロジェン受容体が共存している。さまざまな状況証拠から、AVPVを起始核とするキスペプチンニューロンはGnRH/黄体形成ホルモン（LH）サージの制御を通じて排卵を制御すると考えられる。一方、ARCのキスペプチンニューロンは、GnRH/LHパルスを第一義的に支配し、卵胞発育や性ステロイド分泌を制御するとの考えが有力である。このように、性ステロイドによるGnRH/LH分泌への正および負のフィードバックのメカニズムや、サージとパルスの発生機構が、キスペプチンの登場により解明されつつある。さらに、自然排卵動物だけでなく、交尾排卵動物を含めた様々な種の動物においてキスペプチンニューロンの役割が確かめられつつあり、このペプチドは種を越えて生殖を制御する重要な因子である考えられる。

本講演では、キスペプチン研究の歴史的な背景から、キスペプチン発現のエピジェネティックな制御メカニズムを含め、キスペプチンニューロンがGnRH/LHのサージ状およびパルス状分泌制御を介して生殖機能を制御する第一義的因子であることについて言及したい。

シンポジウム

「魚類における神経内分泌現象研究の最新動向
—脳・末梢ホルモンによるエネルギー代謝と下垂体制御システム—」

S1: 特定波長光が魚類の神経内分泌系に影響を及ぼす可能性について

○高橋明義¹・山野目健²・阿見彌典子¹・水澤寛太¹・天野勝文¹

(¹北里大学海洋生命科学部, ²岩手県水産技術センター)

色覚を有する生物は鮮やかな色彩の世界に棲んでいる。体の色と模様を周囲に同調させて生きているものもある。魚類にも優れた体色調節能を有する種が存在する。ある種のカレイは周囲の砂礫に色模様を合わせる[1]。サケマスは体色は背地色の明度と色調に同調する。キンギョの体色も明度の影響を受けてある程度変化する。このような体色の変化は脳と下垂体を中心とする神経内分泌系と神経系の協調によって調節される。皮膚の色素細胞にはペプチドホルモンや神経伝達物質の受容体が存在する。翻って、これらの受容体が存在する細胞や組織の機能は、色素細胞でなくとも、光環境の影響を受けるはずである。

養殖カレイ類では、通常は白いはずの無眼側でメラニンが合成される「黒化」と呼ばれる異常着色が頻出する。血中メラニン凝集ホルモン (MCH) 濃度が上昇する白背地では無眼側のメラニン合成が抑制されるとの発想で、マツカワ (*Verasper moseri*) を長期飼育したところ、黒化が軽減された [2]。加えて興味深いことに、白背地群の成長は黒背地群よりも優れていた。これらの結果は MCH が食欲もしくは成長に関わる組織にも作用を及ぼすことを示唆する。白背地では黒背地に比べてマツカワの摂餌行動が活発になることから、白背地が食欲を亢進したものと一応は考えられる。すなわち食欲中枢の存在する視床下部に MCH 受容体 mRNA が存在するため、ここに産生量が増加した MCH が作用したことになる [3]。しかし、脳室内投与の影響を検討していないため、MCH とマツカワの食欲を関連づける直接証拠は未だない。

自然光を光源とする緑色フィルター透過光下の飼育によっても、マツカワの成長は促進される [4]。発光ダイオード (LED) 光の場合は緑色光と青色光が有効である。特筆すべきはどちらを光源とした場合でも、成長に対する特定波長光の効果は、他の光の色に対してのみならず、自然光よりも優れていることである。特定波長光と神経内分泌系の関係は、MCH を主たる対象として現在研究中である。最近研究を開始したキンギョにおいては、青 LED 光被照射魚の脳内 MCH mRNA 含量は、緑および赤 LED 光被照射魚よりも高いことを認めている。さらにニジマスにおいても緑色光 (フィルター透過光) が摂餌行動を活発化させ、成長を促進することを認めている。

以上のように、ホルモンと遺伝子についてのデータは断片的ではあるが、特定波長光が神経内分泌系を介して魚類生理に影響を及ぼすことが明らかになりつつある。本シンポジウムでは当該研究の基礎と応用における可能性を考える。

[1] Mizusawa *et al.* Gen. Comp. Endocrinol. 2011; 171: 75–81.

[2] Yamanome *et al.* Aquaculture 2005; 244: 323–329.

[3] Takahashi *et al.* Gen. Comp. Endocrinol. 2007; 151: 210–219.

[4] Yamanome *et al.* J. Exp. Endocrinol. 2009; 311A: 73–79.

S2: 突然変異誘発育種法の魚類への応用という視点からのレプチン受容体ノックアウトメダカの解析

○黒川忠英¹・菅田慎一²・村下幸司²・吉浦康寿²

(¹水産総合研究センター 東北区水産研究所、²同 増養殖研究所)

水産養殖では、ウナギ、ブリ、マグロなど天然稚魚を捕獲して養殖用種苗に用いる不完全養殖が多く、マダイやサケマス類のような完全養殖がなされている種でも、育種された系統が養殖産業に活用されている事例はあまり多くない。一方、農業分野では日々様々な品種が作出され、ゲノム情報などの活用も進んでいる。現在我々は、農業分野で利用されている突然変異誘発育種法を魚類へ応用する試みを、生研センターのイノベーション創出基礎的研究推進事業で資金を得て行っており、今回はそのような視点から見たレプチン受容体ノックアウト (KO) メダカの解析結果を紹介する。

レプチンは、ほ乳類の脂肪組織で作られる食欲抑制ホルモンとして知られているが、魚類ではレプチン遺伝子の発現は脂肪組織よりも肝臓で主に認められるなど、その生理機能については必ずしも明確になっていない。そこでまず、メダカゲノムにおけるレプチン (LEP) とレプチン受容体 (LEPR) 遺伝子の数を確認したところ、LEP は 2 種類、LEPR は 1 種類であることが明らかになった。このことから、LEPR の KO 変異体メダカを作出することにより、レプチンによる食欲抑制系が解除された食欲旺盛で高成長なメダカが得られることを期待した。既存の ENU(アルキル化剤の一種、N-ethyl-N-nitrosourea) 処理によるメダカ突然変異体ライブラリー¹⁾ をスクリーニングしたところ、レプチン結合ドメイン内でシステインが終止コドンに置換した変異体を得られた。この LEPR KO メダカは、ホモ化しても不稔にはならず、形態的な変化は認められなかった。

LEPR KO メダカの成長を野生型メダカと比較したところ、成体 (18 週齢) の最終体重に有意差は見られなかったが、LEPR KO メダカの稚魚期-幼魚期の体重は有意に大きく、その期間の成長速度が増加していた (例: 孵化後 5 週齢で体重が 2 倍)。そこで、単位時間当たりの摂餌量を比較したところ、LEPR KO メダカのそれは 1.7 倍多いことが明らかになった。つまり、LEPR KO メダカは予想通り食欲が促進され摂餌量増加により成長速度が増加したと考えられる。次に、摂餌前後の肝臓の代謝産物をメタボローム解析により比較したところ、LEPR KO メダカは、同化だけでなく異化も野生型に比べて促進している傾向が得られた。このように、ほ乳類の知見とは異なる部分も認められることから、今後餌料効率を含めた成長や脂肪蓄積に関する解析を行う予定である。

今回得られた LEPR KO メダカの形質は、必ずしも養殖魚の形質としてみた場合すべてが優れているわけではないが、このような育種手法はやはりメリットがあると考えられる。1. メダカでその遺伝子の変異体の表現型を確認することができる。2. 異なる変異体を掛け合わせてホモ化できるため、その優位な形質を容易に組み合わせることができる。3. 系統化する場合に近交による弊害をさけることができる。などである。

今後、遺伝子の変異とその機能的な情報がさらに蓄積すれば、このような育種法はより有効な手段となると考えられる。

- 1) Taniguchi, Y., S. Takeda, M. Furutani-Seiki, Y. Kamei, T. Todo, T. Sasado, T. Deguchi, H. Kondoh, J. Mudde, M. Yamazoe, M. Hidaka, H. Mitani, A. Toyoda, Y. Sakaki, R. H. Plasterk and E. Cuppen (2006) Generation of medaka gene knockout models by target-selected mutagenesis. *Genome Biol.* 7: R116.

S3: キンギョにおけるジアゼパム結合阻害物質由来ペプチドの摂食・情動行動の制御と下垂体ホルモン分泌の調節

○松田恒平^{1,2}、和田亘平¹、東 森生¹、Jérôme Leprince³、Marie-Christine Tonon³、Hubert Vaudry³

(¹富山大・院理工・生体制御、²富山大・院生命融合・生体情報、³Univ. of Rouen)

ジアゼパム結合阻害物質 (DBI) はベンゾジアゼピン受容体の内因性リガンドとしてラット脳よりはじめて単離されたポリペプチドである。オクタデカニューロペプチド (ODN) は DBI から産生されるアミノ酸 18 残基よりなる神経ペプチドであり、げっ歯類において情動行動や摂食行動に影響を及ぼす [1, 2]。一方、DBI は哺乳類のみならず、鳥類、両生類および魚類においても存在する。しかしながら、これらの非哺乳動物における DBI 由来ペプチドの生理機能は不明である。そこで本シンポジウムでは、キンギョにおける ODN の生理作用を探った結果について紹介する。

キンギョ DBI の一次構造を単離した cDNA 配列より推定し、ODN の脳内発現部位を調べつつ、合成したキンギョ ODN を用いてキンギョの摂食行動と情動行動に及ぼす ODN の影響を探った。さらに、多数の ODN 含有神経線維が下垂体中葉にも投射することから、下垂体中葉ホルモンのソマトラクチン分泌に及ぼす影響も調べた。キンギョ脳より得た DBI cDNA は 723 bp の塩基配列を有しており、87 アミノ酸残基よりなる DBI が推定された。DBI mRNA は脳の広範な領域に発現していたが、ODN 抗血清による免疫染色では、視床下部外側隆起核にのみ ODN 含有神経細胞体が認められ、ODN 含有神経線維が終脳、間脳、中脳、神経下垂体および下垂体中葉領域に観察された。推定された DBI よりキンギョ ODN を合成し、キンギョの摂食行動に及ぼす影響を調べたところ、ODN は摂食抑制作用を有し、この作用は代謝型エンドゼピン受容体 (新規 G タンパク質共役型受容体) を介することが分かった。また、白黒水槽を用いた白黒嗜好テストを開発して情動行動に及ぼす影響を探ったところ、ODN は不安様行動を惹起し、この作用には中枢型ベンゾジアゼピン受容体が関与することが明らかになった。下垂体に投射する ODN 含有神経線維が中葉のソマトラクチン (SL) 産生細胞近傍に見出されることから、SL 分泌と合成に及ぼす ODN の影響を調べた。ODN は SL 分泌を促し、この作用は代謝型エンドゼピン受容体と Gq タンパク質を介してホスホリパーゼ C/イノシトール 3 リン酸/プロテインキナーゼ C 情報伝達経路によって起こることが分かった。しかしながら、ODN は SL mRNA 発現には影響しなかった。

これらの結果より、キンギョにおいて ODN は摂食行動、情動行動、下垂体機能に影響を与える視床下部因子として機能することが非哺乳類において初めて明らかとなった [3-6]。

[1] De Mateos-Verchere *et al.* Peptides 1998; 19: 841-848.

[2] De Mateos-Verchere *et al.* Eur. J. Pharmacol. 2001; 414: 225-231.

[3] Matsuda *et al.* Neuroscience 2007; 150: 425-432.

[4] Matsuda *et al.* J. Mol. Neurosci. 2010; 42: 74-79.

[5] Matsuda *et al.* Neuroscience 2011; 181: 100-108.

[6] Azuma *et al.* J. Neuroendocrinol. 2012; submitted

一般演題および最優秀発表賞審査応募演題

一般演題 28 題

最優秀発表賞審査応募演題 6 題

1. 下垂体前葉におけるプロテオグリカン遺伝子発現細胞の同定

○堀口幸太郎、Rahimi Syaidah、Dini Ramadhani、菊地 元史、屋代 隆

自治医科大学医学部解剖学講座（組織学部門）

細胞周囲に存在する細胞外マトリクス（ECM）は、すべての器官、組織に存在し、細胞を接着させて足場となる支持構造物として機能する。さらに、シグナルとして細胞に受容されることで、形態変化、移動、増殖、分化などの機能変化を引き起こす重要なファクターとしても存在する。ECM の一つであるプロテオグリカンは、特異的なコアタンパクにグリコサミノグリカン鎖がついた分子で、その構造と機能から、1) small leucine-rich 型（SLRP）、2) 細胞膜型、3) 基底膜結合型、4) モジュラー型の4つのファミリーに分類され、その数は数十にもなる。これらの発現解析は、皮膚、軟骨、腎臓、肝臓などで盛んに行なわれているが下垂体前葉における報告は、ほとんどない。本研究では、ラット下垂体前葉におけるプロテオグリカン遺伝子発現解析を初めて試みた。まず、SLRPと細胞膜型プロテオグリカンに焦点を当て、リアルタイムRT-PCRを行い、さらに組織学的手法により発現細胞の同定を行った。その結果、SLRPファミリーの中で、Decorin、Biglycan、Fibromodulin、Lumican、Proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein、Osteoglycin が濾胞星状細胞とペリサイト（周皮細胞）から発現していることが明らかとなった。一方、細胞膜型プロテオグリカンは、Syndecan 2 がACTH産生細胞から、Syndecan 4 が濾胞星状細胞から発現していた。今後、これらのプロテオグリカンが、下垂体前葉細胞にどのような機能を及ぼすかを明らかにしていく予定である。

(最優秀発表賞審査応募演題)

2. Expression of laminin isoforms in rat anterior pituitary gland during the prenatal and postnatal development

○ Dini Ramadhani, Takehiro Tsukada, Motoshi Kikuchi, Takashi Yashiro

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

Laminin is a key component of basement membrane. Currently 19 laminin isoforms, which are assemblies of 3 chains (α , β , and γ), have been identified in mammals and they regulate cell differentiation, migration, and proliferation in a variety of tissues/organs. Our previous study showed that gonadotrophs produce 2 types of laminin isoforms (laminin 111 and 121) and endothelial cells produce 2 types of laminin isoforms (laminin 411 and 311) in adult anterior pituitary gland. However, the specific laminin isoforms have not been identified during the development of pituitary gland. The aim of this study is to identify the laminin isoforms, which are involved in pituitary development, by histochemical approaches. Immunohistochemical analysis showed that laminin deposition was first observed beneath the oral ectodermal cell layer at embryonic stage 12.5 (E12.5). By in situ hybridization, we revealed that the laminin isoforms are laminin 511, 521, 522 and 523. In E19.5 along with the development of vacuatures, the laminin alpha4 chain started to express in the endothelial cells. Laminin alpha1, which expressed in gonadotrophs of adult pituitary, was also expressed in some endothelial cells from E19.5 and disappeared after postnatal stage. Interestingly, the laminin alpha1 was re-expressed in the gonadotrophs from postnatal day 10 until adult. The results suggest that laminin isoforms might be involved in the pituitary development and functions by altering the isoform expression profile in each stage.

(最優秀発表賞審査応募演題)

3. Laminin up-regulates fibromodulin expression in folliculo-stellate cells of rat anterior pituitary gland

○Rahimi Syaidah, Kotaro Horiguchi, Dini Ramadhani, Ken Fujiwara, Takashi Yashiro

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

Extracellular matrix (ECM) is widely known as an important component for cell functioning, and proteoglycans are ECMs protein composed of a specific core protein being substituted with one or more covalently linked glycosaminoglycan chains. Fibromodulin, which is one of small-leucine-rich-proteoglycans and a major member of preteoglycan family, is known to have roles in cellular signaling pathway. Recently, we revealed that fibromodulin is produced by pericytes and folliculo-stellate (FS) cells of anterior pituitary gland. This suggests that fibromodulin might play roles as a paracrine factors to regulate the function of the anterior pituitary cells. Meanwhile, FS cells are known to change its activity by laminin, an ECM component. In this study, we therefore investigated whether fibromodulin expression in FS cells is affected by laminin. We isolated FS cells of transgenic rat that express green fluorescent protein (GFP) specifically in FS cells (S100b-GFP rats) by cell sorting and used the primary culture for immunostaining, real-time RT-PCR, and immunoblotting. As a result, we confirmed that fibromodulin was expressed in FS cells and laminin induced this expression. These new findings suggest that one type of ECM (laminin) induced the other type of ECM (proteoglycan) expression in the anterior pituitary cells and fibromodulin may regulate the function of the cells as a new paracrine factor.

4. 下垂体前葉 LH 細胞のラミニン分泌に対する濾胞星状細胞の関与

○塚田岳大、Dini Ramadhani、幸喜 富、藤原 研、屋代 隆

自治医科大学医学部解剖学講座（組織学部門）

細胞外マトリックス(ECM)は下垂体前葉において、構造維持だけではなく、細胞の機能維持にも重要である。本研究室では、下垂体前葉の ECM 構築をより *in vivo* に近い環境で調べるため、近年、下垂体前葉細胞の 3 次元培養を確立した。先行研究の結果、濾胞星状(FS)細胞を除いて前葉細胞を培養すると FS 細胞を加えた培養と比べて細胞塊が不定形となり、細胞密度も疎になることがわかった。そこで、本研究では、FS 細胞が下垂体前葉内の ECM 構築に関与していると仮説を立て、FS 細胞の割合を 0, 5, 10, 20% と変えて前葉細胞を培養し、基底膜 ECM の主要構成成分であるラミニンの免疫染色を行った。その結果、FS 細胞の数が増えるとともに細胞外のラミニン沈着が著しく増加した。同時に、細胞塊中の一部の細胞にもラミニンの陽性反応がみられ、FS 細胞数の減少とともにラミニン陽性細胞の数が有意に増加した。次に、ラミニン陽性細胞を同定するために各種ホルモンで免疫染色を行ったところ、ラミニン陽性細胞は LHbeta のみと共局在した。LH 細胞は、ラミニンの alpha 1 鎖を特異的に発現していることから、*real-time PCR* を用いてラミニン alpha 1 鎖の mRNA の発現量を調べたところ、FS 細胞の有無にかかわらずラミニンの mRNA 量に優位な差は見られなかった。さらに、FS 細胞のみを培養して得られた *conditioned medium* を培養液中に添加して、FS 細胞なしで前葉細胞を培養すると、ラミニン陽性細胞の数がコントロール群に比べて有意に減少し、細胞外へのラミニン沈着も確認された。このことから、FS 細胞からの液性因子が LH 細胞で合成されるラミニンの放出に不可欠であることが強く示唆された。

5. 月周産卵魚クサフグにおける GnRH、キスペプチンおよび GPR54 遺伝子の周期的発現

○安東宏徳¹, Md. Shahjahan², Satoshi Ogawa², Ishwar Parhar²

¹新潟大・理・臨海, ²Sch. Med. Health Sci., Monash Univ.

クサフグは、春から夏にかけて2週間に1回、新月と満月の日に海岸の特定の場所に集まり産卵する。クサフグを産卵期前後の数ヶ月間にわたって採集し、脳内の生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)、キスペプチン(kiss2)およびGPR54の遺伝子発現量の変化を調べた。3種類のGnRH遺伝子のうち、GnRH1遺伝子の発現量は、雌雄共に産卵期および産卵直後の魚において著しく上昇し、この変化は下垂体中のFSH β サブユニットとLH β サブユニットのmRNA量および血液中の性ステロイドホルモン濃度の変化とよく一致した。一方、他の2種類のGnRH遺伝子はそれぞれ異なる変化を示した。キスペプチンとGPR54の遺伝子発現量は、共に産卵期や産卵直後の魚で高まり、GnRH1と強い正の相関を示した。また、キスペプチンとGPR54遺伝子は、共に視索前野の少数のニューロンで発現していた。キスペプチンはGnRH1を介してFSHとLHの発現を調節することにより、性成熟と産卵を制御すると考えられる。また、kiss2とGPR54遺伝子は、同期した明瞭な日周変動と概日変動を示し、キスペプチンの作用は時間と光に強く依存することが示唆された。さらに、両者の概日変動パターンは、4種類のメラトニン受容体遺伝子の変動パターンとよく一致した。キスペプチンとGPR54の発現は、概日時計によって調節されると共に、メラトニンによって調節されることが示唆された。

6. 深海魚ザラビクニンにおけるメラニン凝集ホルモンの分布

○阿見彌典子¹, 稲見光海里¹, 杉藤彰¹, 池口新一郎², 三宅裕志¹, 天野勝文¹, 高橋明義¹

¹北里大学海洋生命科学部, ²のとじま臨海公園水族館

メラニン凝集ホルモン (MCH) は, シロザケの下垂体から単離された体色を明化するホルモンである. その後, 哺乳類では摂食に関与することが示され, 現在では多機能ホルモンとされている. 硬骨魚類において MCH ニューロンは視床下部の外側隆起核 (NLT) と第三脳室背側上部 (LVR) の 2 カ所に存在する. また, 神経繊維は脳内に広く分布する一方で, NLT に存在する細胞体からは下垂体へ神経繊維が投射する. 哺乳類を含む他の動物では MCH 神経繊維の下垂体への投射はほとんどない. 下垂体から MCH が分泌され体色調節に関与する現象は硬骨魚類に特有とされている. ホルモンの分泌は周囲の環境要因の影響を受けるため, 魚種それぞれの生態に応じて機能が変化する可能性がある. そこで本研究では, 水深 200m ほどで産卵し, 成長にともない深海へ移動する深海魚, ザラビクニンにおける MCH の体色調節への関与を考察するために MCH の分布を調べた. その結果, MCH ニューロンは視床下部の LVR 付近にのみ検出された. 脳内における神経繊維は稀であり, 下垂体への投射は見られなかった. 以上のことから, MCH の体循環による体色調節機能はザラビクニンには存在しないことが示唆された. 太陽光がほとんど届かない深海魚には体色調節能の必要性が低く, 関連するホルモンの作用も未発達であること (あるいは, 退化したこと) が考えられる.

7. 背地適応時におけるキングョ下垂体中葉のソマトラクチン 2 分子種の発現動態

○東 森生^{1,4}、浜口 晃吉²、高橋 明義³、内山 実¹、松田 恒平¹

¹富山大・院理工・生体制御、²富山大・理・生物、³北里大・海洋生命、⁴日本学術振興会特別研究員

両生類や爬虫類、鳥類、哺乳類の下垂体中葉は主に α -黒色素胞刺激ホルモン (α -MSH) 産生細胞より構成される。一方、硬骨魚類の下垂体中葉には、 α -MSH 産生細胞に加えて、ソマトラクチン (SL) 産生細胞が存在する。SL は 1991 年に発見された成長ホルモン/プロラクチンファミリーに属する魚類特有の腺性下垂体ホルモンである。2004 年には硬骨魚類のモデル動物の 1 種であるゼブラフィッシュを用いた解析により、SL は 2 分子種 (SL- α と SL- β) 存在することが見出された。これまで、SL は硬骨魚類の多様な生理機能に関与する可能性が報告されてきたが、SL- α と SL- β の生理機能の異同に関する報告はない。最近、我々は、キングョの SL- α と SL- β の生理機能を明らかにすることを目的とし、各 SL に対する特異抗体を作成し、下垂体中葉における SL- α と SL- β の各産生細胞の局在を精査した。免疫組織学的手法やシングルセル PCR による解析の結果、キングョ下垂体中葉には SL- α 産生細胞、SL- β 産生細胞および両 SL を産生する細胞の 3 種の SL 産生細胞が存在することを明らかにした。また、解析の過程で、飼育環境の背景色の違いにより下垂体の各 SL 発現が変動することを見出した。白背景で飼育したキングョの体色は明化し、黒背景では暗化する (背地適応)。この背地適応時における下垂体の SL- α の各 mRNA 発現量は黒背景飼育個体において高く、一方で SL- β mRNA 発現量は白背景飼育個体において高かった。背景色を白から黒、黒から白へと変化させることで各 SL mRNA 発現量は相反して変動し、キングョの背地適応時における体色の暗化に SL- α が、明化に SL- β が関与する可能性が示唆された。大会では、 α -MSH の前駆体であるプロオピオメラノコルチンの発現動態と比較し、各ホルモン産生細胞の局在の相違についても報告する。

8. クロヌタウナギ下垂体の GTH mRNA レベルならびに GTH タンパク質レベルに対するエストロゲン投与の効果

○野崎眞澄¹・本田香織¹・内田勝久²・下谷豊和¹・西山真樹¹

¹新潟大学理学部附属臨海実験所、²宮崎大学農学部海洋生物環境学科

ヌタウナギは脊椎動物の進化の最初期に出現した無顎類の遺存種であり、生殖内分泌系の進化を考えるうえで重要な動物である。最近、我々はクロヌタウナギの下垂体から、顎口類の糖タンパク質ホルモン (LH, FSH, TSH) の祖先ホルモンと考えられる機能的な生殖腺刺激ホルモン (GTH) を単離同定した。そこでヌタウナギにおけるステロイドホルモンの視床下部-下垂体系に対するフィードバック作用を調べるため、雌雄の幼弱クロヌタウナギにエストロゲンを投与して、下垂体における GTH の α 鎖と β 鎖の mRNA 量とタンパク質量をそれぞれ対照群と比較した。1) ゴマ油に溶いたエストロゲンを3日目毎に1ヶ月間腹腔内投与したところ、対照群に比べて、下垂体の GTH α 鎖、GTH β 鎖とも、免疫陽性細胞数と含量が著しく増加した。このことは、エストロゲン投与により下垂体からの GTH 分泌が強く抑制されたことを示唆している。一方、2) エストロゲン投与後、1日、2日、4日、14日目に下垂体を取り出し、GTH の mRNA 量を RT-PCR で調べた結果、エストロゲン投与後2日目を除き、GTH α 鎖と β 鎖はいずれの群も対照群と差はなかった。投与後2日目では、 α 鎖の mRNA 含量は対照群と差はなかったが、 β 鎖の mRNA 含量は有意に増加していた。これらの結果は、エストロゲン投与により GTH α 鎖、 β 鎖とも合成が抑制されなかったことを示唆している。以上の結果より、エストロゲンは下垂体からの GTH の分泌を抑制的に調節することで、視床下部-下垂体-生殖腺軸の調節に関与していることが示唆された。

9. アネキシン A5 ノックアウトマウスの下垂体機能について

○汾陽光盛¹、尾崎 優¹、水品智菜¹、寺島涼太¹、植木紘史^{1,2}、ドワンザイ・リエンラクオン³、米澤智洋¹、久留主志朗¹、Bent Brachvogel⁴、Ernst Pöschl⁵

¹北里大学獣医生理、²東大大学院医学研究科、³Mahanakorn University of Technology, ⁴Medical Faculty, University of Cologne, Germany, ⁵University of East Anglia, Norwich, UK

アネキシン A5 (Anxa5) は、リン脂質結合タンパク質であるアネキシンファミリーの一員である。Anxa5 が下垂体前葉ゴナドトロフに発現していること、Anxa5 の mRNA 合成が GnRH によって促進されることなどを報告してきた。最近、Anxa5 ノックアウトマウス (KO) で胎盤に血小板血栓が出来やすく、妊娠中に産仔数の減少すること、不育症のモデルとなり得ることを報告した。今回は、Anxa5-KO の形質を調べる過程で発見した下垂体での変化について報告する。まず Anxa5-KO で乳腺の発育が悪く、泌乳量も少ないことを発見した。正常野生型マウス (WT) の下垂体を Anxa5-KO に移植すると、乳腺の発育が用量反応的に促進されたことから、乳腺にはプロラクチンに対する感受性のあることが示された。そこで、末梢血中のプロラクチンを測定すると、Anxa5-KO で WT に比べて有意に低いことが明らかになった。下垂体細胞の初代培養を行うと、Anxa5-KO 由来細胞で WT に比べてプロラクチン分泌量が少なかった。更に GnRH 作動薬を加えると Anxa5-KO 由来細胞で反応性が低く、LH 放出量が少なかった。下垂体重量を比較すると、Anxa5-KO が有意に軽く、下垂体の組織構築への Anxa5 の関与が推定された。下垂体組織切片をヘマトキシリン・エオジンで染色すると、Anxa5-KO でエオジンに対する染色性が低かった。ACTH、PRL、GH、LH β の免疫組織化学を行うと、Anxa5-KO で PRL と GH の細胞内局在の大きく異なるのが観察された。下垂体から RNA を抽出し、下垂体ホルモン mRNA をリアルタイム PCR で検出すると、Anxa5-KO で特に GH と FSH β mRNA の少ないことが示された。以上のごとく、Anxa5-KO では、複数のホルモン分泌に影響し、下垂体の組織構築にも関わる変化のもたらされていることが示された。

10. 下垂体ゴナドトロピン産性腺腫における ホルモン産生のエピジェネティクス制御機構の解析

○緒方綾子¹, 井野元智恵², 田原重氏³, 寺本明³, 中村直哉², 長村義之⁴, 竹腰進¹,

¹東海大学医学部 基礎医学系生体防御, ²同 基盤診療学系病理診断学,

³日本医科大学脳神経外科, ⁴国際医療福祉大学病理診断センター

黄体形成ホルモン (LH) 及び卵胞刺激ホルモン (FSH) は、下垂体前葉に局在するゴナドトロピン産生細胞内において GATA-2、SF-1、Pitx-1 などの転写因子に制御を受け産生・分泌される。一方、ヒトゴナドトロピン産生腺腫では LH の産生が減少し、FSH の産生が優位となることが広く知られているが、その分子的機序は不明である。本研究では、ゴナドトロピン産生腺腫 (28 症例) における FSH、LH 遺伝子のプロモーター領域のエピジェネティックな変化を想定し、バイサルファイトシークエンス法による DNA メチル化解析を施行した。転写制御に最も重要なプロモーター領域 (coding region の 500bp 上流領域) に存在する CpG 配列は、FSH 遺伝子では 1 箇所、LH 遺伝子では 15 箇所であり、LH 遺伝子プロモーター領域がメチル化に対する感受性が高い配列を有していた。メチル化解析を行った結果、LH 遺伝子プロモーター領域は高度にメチル化されていたが、FSH プロモーター領域の CpG のメチル化の頻度は、LH と比較すると軽度であった。LH β プロモーター領域の転写開始点近傍の CpG 配列にメチル化が生じている場合には LH β の遺伝子発現が顕著に低下しており、一方、同部位が非メチル化の場合には LH β の遺伝子発現が正常と同程度であり、腫瘍化に伴う LH β 発現低下には転写開始部位近傍のメチル化の有無が重要な役割を果たしていることが推察された。主要な 3 種の DNA メチル基転移酵素 (DNMT1、3a、3b) の発現解析を行ったところ、DNMT3a が正常下垂体に比較して著明に増加しており、本酵素がゴナドトロピン産生腺腫細胞における DNA メチル化に重要な役割を担っていることが示唆された。

11. ラット円形精子細胞特異的な HSV1-TK 遺伝子異所性発現の制御因子の探索

○関田雅世¹、陳黙¹、蔡立義⁶、加藤たか子³、樋口雅司³、八子英司¹、吉田彩舟¹、大西美帆子³、紀藤圭治^{1,2}、北村邦男⁴、堀米恒好⁵、和泉俊一郎⁷、布田孝代⁷、高橋千果⁷、加藤幸雄^{1,2}

¹明治大・院、²明治大・農、³明治大・研究知財、⁴埼玉医大・保健医療、⁵新潟大・理 ⁶中国無錫婦幼保健医院・生殖医学センター、⁷東海大学・医

【背景】我々は、単純ヘルペスウイルス 1 型-チミジンキナーゼ(HSV1-TK)遺伝子上流にブタ FSH プロモーターを連結して作製したトランスジェニック(TG)ラットが、精子形成不全による雄性不妊を示す事を報告している。

また組織化学的解析から、その原因が FSH プロモーターに依存せず HSV1-TK 遺伝子に内在するプロモーターによって精巣で異所性に発現するためであることを確認した。つまり、精巣における内在的な因子が HSV1-TK 遺伝子の異所性プロモーターの発現調節に関与している事が示唆される。

そこで本研究では HSV1-TK 遺伝子の異所性発現機序の解明を目的に精巣の核タンパク質を用いた結合因子の探索を行った。

【方法】全長 255 塩基長の HSV1-TK 転写開始点上流 (F0) を F1、F2、F3 に分けビオチン標識 DNA フラグメントを作製した。また、成熟ラット精巣から核タンパク質画分を調節した。標識 DNA フラグメントと核タンパク質を反応後、アビジン標識鉄ビーズにより結合因子を SDS-PAGE にて分離し、ゲルより候補バンドを切り出したのち質量分析を行った。

【結果】F1、F2、F3 への結合タンパク質の電気泳動パターンから多くの共通バンドやフラグメント特異的な結合を示すバンドが観察された。それらを質量分析に供したところ、Sfpg、Cul3、Hnrnpk、Sycp3、Matr3、Ddx1 など DNA に直接または間接的に結合する性質の因子が候補に浮かび上がった。

【考察】以上の結果から、精巣には HSV1-TK 転写開始点上流に結合する複数の DNA 結合性タンパク質が存在しており、その中の転写調節因子が HSV1-TK の異所性の発現調節に関与すると考えられる。今後、候補因子による F1、F2、F3 に対する転写作用をレポーターアッセイにより解析する予定である。

12. 抗ウイルス遺伝子 myxovirus resistance 1 (Mx1)変異体の細胞増殖抑制作用

○寺島涼太、米澤智洋、久留主志朗、汾陽光盛

北里大学・獣医生理

Mx1 は、IFN α によって誘導される代表的な抗ウイルス遺伝子である。実験動物マウスでは、Mx1 遺伝子に欠失があり、偽遺伝子化していると考えられてきた。我々は IFN α がマウスゴナドトロフ由来 L β T2 細胞の増殖を抑制すること、この作用に Mx1 の関与することを見出した。さらに、マウス Mx1 には欠失型 mRNA 以外に複数の変異体のあること、特にイントロン部分を含んで ORF を形成する mRNA (コンポジット型) のあることを明らかにした。そこで、本研究ではコンポジット型 Mx1 転写産物の発現動態と細胞増殖に与える影響を検討した。まず、IFN α と GnRH 作動薬 (GnRHa) を L β T2 細胞に投与すると、IFN α が欠失型 Mx1mRNA とコンポジット型 Mx1mRNA を同程度に増加させたのに対し、GnRHa 投与ではコンポジット型 Mx1mRNA の増加が少なく、シグナルの種類によって転写後修飾の調節されることが示唆された。Mx1 に欠失のない野生型マウス種 MSM/Ms の Mx1 転写産物を調べると、MSM/Ms マウスでも全く同じ配列のコンポジット型 Mx1mRNA の発現していることが明らかになった。MSM/Ms マウスに IFN α を投与すると、調べた一部の組織でコンポジット型 Mx1 mRNA が増加した。完全長、欠失型、コンポジット型の Mx1 発現ベクターを構築し、それぞれ L β T2 細胞に導入すると、完全長ベクターは細胞数に影響しなかったのに対し、欠失型 Mx1 ベクターは9日間の培養で細胞数は約半分、コンポジット型 Mx1 ベクターで約 1/3 に減少し、転写産物によって機能の異なることが明らかになった。以上の本研究の結果から、シグナルトランスダクションによる転写後修飾の調節機序が存在し、同一遺伝子の異なる機能の発現を促していることが示唆された。

(最優秀発表賞審査応募演題)

13. 走査型電子顕微鏡による下垂体前葉細胞の同定

○甲賀大輔¹, 久住聡¹, 暮地本宙己², 渡部剛², 牛木辰男¹

1. 新潟大学大学院 医歯学総合研究科 顕微解剖学分野

2. 旭川医科大学 解剖学講座 顕微解剖学分野

下垂体前葉は、成長ホルモン産生細胞(GH 細胞)、乳腺刺激ホルモン産生細胞(PRL 細胞)、性腺刺激ホルモン産生細胞(GTH 細胞)、副腎皮質刺激ホルモン産生細胞(ACTH 細胞)、甲状腺刺激ホルモン産生細胞(TSH 細胞)の 5 つのホルモン産生細胞と、濾胞-星状細胞(FS 細胞)からなる。これらの細胞の分類は、これまで透過電顕と免疫電顕法を組み合わせで詳しく報告されてきた。本研究では、これらの細胞の細胞内微細構造を三次元的に解析する目的で、走査電顕による下垂体前葉細胞の観察を行った。実験材料として雄の成熟ラットを用い、試料作製法は、田中らが開発したオスミウム浸軟法(Tanaka and Mitsushima 1984)に準じた。オスミウム浸軟法は、走査電顕によるゴルジ装置や小胞体、ミトコンドリアなどの膜性小器官の立体構造解析に有効な手法である。まず、実験動物をネンブタールで麻酔し、0.5%グルタルアルデヒド液と 0.5%パラホルムアルデヒド液の混合液(0.1M 磷酸緩衝液)で灌流固定を行った。その後下垂体を摘出し、両刃のカミソリで 2 分割した後、1%OsO₄ 液(0.1%磷酸緩衝液)で 1 時間固定した。次に 50%ジメチルスルフォキシドに浸漬した状態で、凍結切断を行い、0.1% OsO₄ 液(0.1M 磷酸緩衝液)で 70 時間オスミウム浸軟処理を行った。さらに試料は、1%タンニン酸、1% OsO₄ 液(0.1%磷酸緩衝液)で導電染色し、エタノール上昇系列で脱水後、臨界点乾燥、金属コーティングを行い、日立 S-5000 電界放出型走査型電子顕微鏡にて観察した。その結果、オスミウム浸軟法で処理した組織を高分解能走査電顕で観察することで、細胞小器官の立体観察が可能となった。さらに、従来の透過電顕で報告されている所見と比較することにより、得られた細胞や分泌果粒の形状、細胞小器官の特徴から、各細胞の典型的なもの同定を試みた。

14. Morphological characteristics of pericytes and new desmin-immunopositive perivascular cells in the anterior pituitary gland of postnatal rats

○Depicha Jindatip, Ken Fujiwara, Tom Kouki, Megumi Yatabe, Floren Ly, Takashi Yashiro

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

Pericytes are perivascular cells that encircle the capillaries with their processes and covered with a vascular basement membrane formed by pericytes themselves and endothelial cells. Recently, we succeeded in identifying pericytes in anterior pituitary gland of adult rats and found that they had a collagen synthesis function (Fujiwara et al. 2010). In addition to pericytes, there was another cell type which located in perivascular space of the gland. These cells also projected processes to the capillaries and were stained positively against anti-desmin antibody, a pericyte marker. However, they had no basement membrane and their fine structures were different from typical pericytes. This new cell type was labeled a desmin-immunopositive perivascular cell (Jindatip et al. 2012). To get profound knowledge of pituitary pericytes and desmin-immunopositive perivascular cells, the present study aimed to investigate the characteristics of these perivascular cells in postnatal development of rat anterior pituitary glands. Immunohistochemistry of desmin was performed on cryosections of postnatal rats at day 5 (P5), 10 (P10), 20 (P20), and 30 (P30). Transmission electron microscopy was conducted to demonstrate fine structures of these cells in pituitary development. The results of desmin immunohistochemistry and immunoelectron microscopy revealed that pericytes and desmin-immunopositive perivascular cells already appeared since P5. The number of these perivascular cells increased, and immunostaining became more intense at P10, whereas the number decreased and immunostaining progressively reduced at P20 and P30. Transmission electron microscopy presented the developed cell organelles of pericytes and desmin-immunopositive perivascular cells at P5 and P10. In addition, we found another immature cell type in the perivascular space. They had elongated rough endoplasmic reticulum, a number of mitochondria, and no basement membrane. Moreover, polysomes and lysosomes were predominantly seen in such cells. These findings indicate that the perivascular cells are highly active in early postnatal rats for the vascular formation and for structural development of the anterior pituitary gland.

(最優秀発表賞審査応募演題)

15. GnRH 刺激を受けたラット下垂体前葉性腺刺激ホルモン産生細胞に出現する粗面小胞体の変化

○暮地本 宙己¹, 甲賀 大輔², 穂坂 正博³, 牛木 辰男², 渡部 剛¹

¹ 旭川医科大学 解剖学講座 顕微解剖学分野, ² 新潟大学大学院 医歯学総合研究科 顕微解剖学分野, ³ 秋田県立大学 生物資源科学部 応用生物科学科 分子細胞機能研究グループ

ラットの下垂体前葉性腺刺激ホルモン (LH/FSH) 産生細胞における分泌蛋白の生合成・分泌は、細胞膜上で性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) により活性化される GnRH レセプターを介した細胞内シグナル伝達経路により制御されている。このように特異的な調節因子で機能状態が制御される特性を活かし、私達は去勢術や GnRH 誘導体による刺激を受けたラットの LH/FSH 産生細胞で生じる粗面小胞体の経時的変化を、光顕および電顕レベルの免疫組織化学を用いて解析した。

去勢術後のごく初期および Leuprorelin など GnRH アゴニスト持続投与開始直後には、LH/FSH 産生細胞が強く刺激され、管状の粗面小胞体が複雑な網工を形成し集積した構造が出現した。この特異な小胞体塊の出現は一過性で、各処置後 1 週間が経過するまでに消失した。一方、Antide のような GnRH アンタゴニストを持続投与した場合には、上述した特異な粗面小胞体塊は出現しなかった。そこで、GnRH アゴニスト投与後に出現する特異な小胞体塊におけるさまざまな小胞体機能分子の局在を検討したところ、小胞体分子シャペロンの BiP やカルネキシンに加えて、小胞体関連蛋白質分解 (ERAD) に関わる HRD1 や SEL1L、レトロトランスロコン候補である Derlin1 などの分子が、この小胞体塊に集積しているのを認めた。

以上の所見から、GnRH レセプターを介したシグナル伝達経路の活性化が直接的な引き金となり、高次構造に異常のある不良品分泌蛋白質の処理に関わる特殊な粗面小胞体のサブコンパートメントが、LH/FSH 産生細胞内で一過性に誘導されることが示唆された。

16. ラット下垂体隆起部における NeuromedinU 発現の日内変動とメラトニンによる制御

○相澤清香, 長坂麻衣, 坂井貴文, 坂田一郎

埼玉大学 大学院理工学研究科

NeuromedinU (NMU) はヒトでは 25 アミノ酸、ラット、マウスでは 23 アミノ酸残基からなるペプチドホルモンであり、脳腸ホルモンのひとつとして知られている。NMU 受容体 1 型 (NMU1R) は腸において高発現しており、2 型 (NMU2R) は中枢神経系での発現が確認されている。ラット脳室内への NMU 投与は、摂食抑制及びエネルギー消費量の増大をもたらすことが報告されているが、中枢における NMU 発現の制御メカニズムは不明な点が多い。

本研究では、はじめに free-floating in situ hybridization (ISH) 法を用いてラット脳における NMU 発現部位を網羅的に検討した。その結果、NMU に対するシグナルは下垂体隆起部でのみ検出され、ラット脳における NMU の主な産生部位は隆起部であることが明らかになった。下垂体隆起部はメラトニン受容体 (MT1) を高密度にもつ特徴を示すことから、メラトニンや明暗周期の変化を内分泌系に仲介する部位であると考えられている。そこで、隆起部 NMU 発現の日内変動を ISH 法および定量的 PCR 法を用いて検討した。隆起部における NMU mRNA 発現は明期に高く、暗期に低くなる概日リズムを示し、さらに、その発現はメラトニン投与によって著しく低下した。以上の結果より、ラット隆起部における NMU 発現は光周期の制御下にあることが示唆された。また、NMU2R は脳内では第三脳室上衣細胞層で高発現しており、弓状核においても発現していた。今後は、隆起部で産生された NMU の脳内 NMU2R への作用経路を検討する必要がある。

17. 胃 Estrogen 合成分泌の日内変動と下垂体

○小林 裕人、吉田 沙織、孫 英傑、白澤 信行、内藤 輝

山形大学医学部 解剖学第一講座

【目的】ラット胃の壁細胞は Estrogen 合成酵素の Aromatase により Progesterone から多量の 17β -Estradiol を合成し、門脈へと分泌している。門脈に分泌された高濃度 17β -Estradiol の多くは肝臓で消費され、一部の 17β -Estradiol が体循環へと流入する。しかし、Estrogen 合成分泌の調節因子や各器官との関連性には不明な点が多く残されている。本研究は胃 Estrogen 合成分泌の日内変動と、肝臓の Estrogen receptor α (ER α) と下垂体 ER α への影響を明らかにすることを目的とした。【方法】自由摂食と自由飲水の照明 7:00-19:00 で飼育した 10 週令の Wistar 系雄ラットを用いた。8:00, 12:00, 16:00, 20:00, 24:00, 4:00 の 4 時間毎に組織採取を行った。血中の 17β -Estradiol 量は Estradiol EIA kit を用いて測定した。胃粘膜上皮中の Aromatase タンパク質量は免疫組織化学法と Western blotting 法で検討した。遺伝子発現の検討は胃粘膜上皮から総 RNA を抽出後、逆転写した cDNA を鋳型として Real-time PCR 法を用いて行い、8:00 の発現量を 1 として比較した。これらの結果に回帰分析を用いて相関関係を調べた。【結果】 1) 門脈血中の 17β -Estradiol 量は 24:00 で最も高く、12:00 で最も低く、動脈血中の 17β -Estradiol 量も同様の傾向を示した。2) 1 日の門脈血中と動脈血中の 17β -Estradiol 量の変化には、正の相関関係が認められた。3) 胃の Aromatase 酵素タンパク質量は各時間に有意な差は認められず、免疫組織化学による抗体陽性細胞面積も同様の結果を示した。4) 胃 Aromatase 遺伝子発現は 8:00 と比較して 24:00 で約 2 倍に増加していた。5) 胃 Aromatase 遺伝子発現の変化と血中 17β -Estradiol 量とは正の相関関係が認められた。6) 肝臓 ER α の遺伝子発現は 24:00 から 4:00 にかけて減少し、下垂体 ER α の遺伝子発現は 20:00 にかけて上昇した。7) 肝臓 ER α の遺伝子発現と門脈血中 17β -Estradiol 量、下垂体 ER α の遺伝子発現と動脈血中 17β -Estradiol 量は、それぞれ相関が認められなかった。【考察】胃の Estrogen 合成分泌の日内変動を調べた結果、日周期が存在することが明らかとなった。この胃の Estrogen 合成分泌の変動は門脈と動脈血中の 17β -Estradiol 量の変動にも関与しているが、肝臓と下垂体中 ER α と量とは相関しなかったことから、胃から常に一定量の 17β -Estradiol が合成分泌されていることが考えられた。

18. 後脳上衣細胞に感知される栄養シグナルの伝達経路の同定

○出浦 慎哉¹、美辺 詩織¹、上野山 賀久¹、前多 敬一郎²、東村 博子¹

¹名古屋大学生命農学研究科、²東京大学大学院農学生命科学研究科

低栄養状態では、動物の摂食は亢進し性腺機能が抑制される。これまで我々は、後脳の脳室を裏打ちする上衣細胞には末梢血中のグルコース濃度変化を感知するエネルギーセンサー細胞としての役割があることを示した。さらに、延髄弧束核(NTS)から視床下部室傍核(PVN)に投射するノルアドレナリン(NA)ニューロンが低グルコース状態における性腺機能抑制を仲介することを報告した。そこで本研究では、後脳上衣細胞がNAニューロンにシグナル伝達し、さらにどの神経核に情報を伝達するか否か明らかにすることを目的とした。成熟雄ラットを用い、トランスシナプティックトレーサーである小麦胚芽レクチン(WGA)を第4脳室(4V)、またはPVNに投与し、48時間後に灌流固定した。得られた脳切片を用い、WGAおよびNAニューロンのマーカーであるdopamine- β -hydroxylase(DBH)抗体を用いた二重免疫組織化学を行った。WGAを4Vに投与した個体では、4Vおよび中心管の上衣細胞においてWGA免疫陽性細胞が認められた。さらにNTSのDBH陽性ニューロン、PVN大細胞領域および小細胞領域、および摂食中枢のひとつである視床下部腹内側核(VMH)においてWGA免疫陽性が確認された。一方、WGAをPVNに投与した個体では、NTSのDBH陽性ニューロン、および中心管の上衣細胞特異的にWGA陽性が認められ、さらにVMHと生殖制御中枢のひとつである視床下部弓状核(ARC)にWGA陽性が認められた。また、WGA陽性が認められた中心管の上衣細胞にはDBH陽性の軸索突起が隣接すること観察した。以上の結果から、後脳の中心管の上衣細胞とNTSのNAニューロンは密接なコネクションを持ち、PVNや、VMH、およびARCなど摂食および生殖制御中枢に栄養シグナルを伝達することが示唆された。

19. 後脳上衣細胞レポーター遺伝子導入マウスの作製

○美辺詩織¹、出浦慎哉¹、春田つばさ¹、後藤哲平^{1,2}、三宝誠²、富田江一²、平林真澄²、上野山賀久¹、前多敬一郎³、東村博子¹

¹名大院生命農、²生理学研究所、³東大院農学生命

脳室を裏打ちするグリア細胞の一種である上衣細胞は、近傍のニューロンの栄養支持細胞として機能することが知られており、グルコースやケトン体の膜輸送体を発現する。これまで我々は、ラット第4脳室へのグルコース代謝阻害剤投与によりパルス状 LH 分泌が抑制されることや、後脳上衣細胞の細胞内カルシウム濃度が細胞外グルコース濃度低下により上昇することを報告してきた。これらの結果から、後脳上衣細胞は低栄養時に摂食行動や性腺機能を制御するために必須のエネルギーセンサー細胞であるとの仮説を立てた。そこで本研究では、後脳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 *in vitro* にて解析するため、上衣細胞の可視化を目指し、同細胞特異的に蛍光タンパク質を発現するトランスジェニック (Tg) マウスの作出を目的とした。上衣細胞特異的マーカーであるヴィメンチン遺伝子 (Vim) のプロモーター (Vim 上流 3.2 kb) 制御下で、レポーター遺伝子である緑色蛍光タンパク Venus を発現する DNA コンストラクト (Vim-Venus) を作成し、この DNA コンストラクトを、マイクロインジェクション法により受精卵に導入した。5 系統の Vim-Venus 始祖系統が得られ、その F1 世代 Tg マウスを表現型解析に用いた。その結果、1 系統において、側脳室、第 3 脳室、中脳水道、第 4 脳室、および中心管の上衣細胞に明瞭な Venus の蛍光が検出された。残りの 4 系統では、Venus 発現が見られないか、あるいは一部の上衣細胞にのみ認められた。本研究により上衣細胞を可視化した Tg マウスが樹立されたことから、今後は、このモデル動物を用いて、後脳上衣細胞におけるエネルギーセンシングシステムの細胞内メカニズムの解明が可能となった。

20. ヤギ視床下部視索前野および弓状核に由来する不死化神経細胞株の作出

○松田二子、末富祐太、上野山賀久、前多敬一郎、東村博子、大蔵 聡

名古屋大学大学院生命農学研究科、東京大学大学院農学生命科学研究科

【目的】哺乳類の視床下部視索前野および弓状核には GnRH ニューロン、キスペプチンニューロン等の生殖機能制御を司る神経細胞が局在している。しかし、これらのニューロンについて細胞レベルでの機能解析は十分に行われておらず、有用な細胞株の作出が望まれる。本研究ではヤギ視床下部初代培養細胞を不死化し、神経細胞株の樹立を試みた。【方法】3 週齢の雄シバヤギの脳から視床下部の視索前野と弓状核をそれぞれ切り出し、初代培養細胞を得た。24 時間後、レンチウイルスベクターを添加して、SV40 large T 抗原遺伝子およびネオマイシン耐性遺伝子を初代培養細胞に導入した。72 時間後、G418 含有培地に交換して 2 週間培養を続け、遺伝子導入された細胞を選抜した。選抜後に得られた細胞群のクローニングを実施し、各細胞クローンから RNA を抽出した。RT-PCR にて神経細胞マーカー (neuron specific enolase)、グリア細胞マーカー (glial fibrillary acidic protein) の発現を解析し、神経細胞由来の細胞クローンを特定した。

【結果・考察】シバヤギ視床下部初代培養細胞はレンチウイルスベクター感染後強い増殖能を持つようになり、SV40 large T 抗原遺伝子の導入によって細胞の不死化が起こったことが示唆された。視索前野と弓状核それぞれより、良好な増殖能を持つ細胞クローンを 50 個以上得た。RT-PCR による遺伝子発現解析により、グリア細胞マーカーは発現しないが、神経細胞マーカーは強く発現する細胞クローンを特定した。これらの細胞クローンは神経突起を有し、形態的特徴からも神経由来であることが示唆された。今後さらに神経ペプチド等の発現を測定することにより、哺乳類の生殖機能制御メカニズムを *in vitro* で解析可能な細胞株が得られると期待される。

21. 下垂体後葉ホルモンによるアデニレートサイクラーゼシグナルの調節機構

○輿水 崇鏡

自治医科大学医学部分子薬理学部門

下垂体後葉ホルモンバゾプレッシン (AVP)、オキシトシン (OT) が、主に Gq 蛋白質に共役する V1a、V1b バゾプレッシン受容体、および OT オキシトシン受容体を刺激し、Gs 蛋白質を介さず間接的にアデニレートサイクラーゼ (AC) を調節する機序については未だ未解明な点が多い。今回我々は、OT または V1b 受容体を介した AC の反応性変化について、主に受容体発現細胞系を用いた実験から得られた知見を報告する。

ヒト神経芽腫由来の SK-N-SH 細胞は、機能的な AVP/OT 受容体として OT 受容体のみを、オピオイド受容体ファミリーとして μ 受容体のみを発現する。モルヒネで μ 受容体を刺激すると、急性期には細胞内 cAMP 濃度は低下するが、処置が 24 時間以上になる場合、フォルスコリンによる AC の反応性は亢進し、モルヒネ依存状態の細胞モデルとなる。一方でこの細胞において OT 受容体は、Gq と Gi 蛋白質に共役し、OT 単独による持続的な刺激の結果、モルヒネと同様に AC の反応性が亢進することが判明した。これまでにもソマトスタチン受容体などオピオイド受容体以外で Gi 蛋白質に共役する受容体を持続刺激すると同様の反応亢進が報告され、この課程には転写因子 CREB の役割が示唆された。作成した細胞モデルを用い、クロマチン免疫沈降法に続くマイクロアレイ解析を行うことによって、CREB が結合する DNA 領域はヒトゲノム上に計 1913 箇所存在し、その 85% は遺伝子プロモーターまたはエクソン、イントロンを含む遺伝子近傍に位置することが判明した。興味深いことに、SK-N-SH 細胞とヒト HEK293 細胞に共通する CREB 結合部位は 128 箇所しか存在せず、全体の 6.7% に過ぎなかった。さらに、 μ 受容体と V1b 受容体を発現させた HEK293 細胞ではモルヒネと AVP の両方の処理によってモルヒネ単独よりも AC の反応性が上昇した。よって、OT と V1b 受容体は Gq に共役するにもかかわらず AC の反応性を修飾し、その起点となる CREB 下流の標的遺伝子群は、転写因子結合部位の細胞間の比較から効率的に抽出できることが示された。

22. 子宮内膜症とダイオキシン：腹水中の PCDFs と PCDDs 濃度が相関か?!

○高橋千果、蔡立義、近藤朱音、布田孝代、和泉俊一郎

東海大学医学部専門診療学系産婦人科

はじめに：子宮内膜症とは、子宮内膜あるいはそれと類似する組織が子宮内腔以外の骨盤内及び他の組織で増殖する疾患である。生殖年齢女性のおよそ 10%–15%に発生し、月経困難や不妊症の原因となる。その成因として逆流した月経血中の子宮内膜細胞が腹腔に移植されるという子宮内膜移植説と腹膜中皮がエストロゲンや月経血の刺激を受け子宮内膜組織に分化するという体腔上皮化生説などが挙げられるが、発生病理はいまだに解明されていない。近年多くの動物実験及び分子レベルの研究結果より、ダイオキシンを代表とする環境ホルモンと子宮内膜症との関係が注目されている。

方法：当院で腹腔鏡検査を試行した女性（29-46 歳）で同意が得られた 17 例の血清および腹水を採取した。子宮内膜症と診断した群（n=10）、内膜症のない群（n=7）で 7 種類の PCDD、10 種類の PCDF、のダイオキシンについて、また 12 種類の PCB ダイオキシン類似化合物について濃度を測定し比較検討した。

結果：血清からはほとんどのダイオキシン及びダイオキシン類似化合物が検出された。腹水では、12 種全ての PCBs と一部の PCDDs、PCDFs が検出された。統計結果により、腹水中 PCDFs が検出されかつ PCDDs に高レベルの暴露であった患者に子宮内膜症のリスクが高いことが示唆された(P=0.035, OR=2.5, 95% CI=1.17-5.34)。

結論：ダイオキシンが腹水中で子宮内膜組織と共存することでその微小環境を変化させ、子宮内膜症の発生及び促進に関与すると推測された。今後ダイオキシンと子宮内膜症の関係をさらに究明するために、大規模かつ厳密な正常健康対照群の臨床追試実験が必要と考えられる。

23. 下垂体ゴナドトロフ及びラクトロフにおける Neurokinin B、Dynorphin A の作用について

○ミジドルジ ツェルメグ、金崎春彦、折出亜希、スクバツタル ウヌルジャルガル、宮崎康二

島根大学 医学部 産科婦人科

【目的】 GnRH の分泌を制御するキスペプチンニューロンの存在が明らかとなり、ラットでは視床下部弓状核キスペプチンニューロンが GnRH パルスジェネレーターであるとされ、Neurokinin B (NKB) が促進的に、Dynorphin A (DynA)が抑制的にキスペプチンニューロンを制御し、キスペプチンを介して GnRH パルスを発生させていると考えられている。NKB 及び DynA の受容体は下垂体前葉にも存在するが、今回我々はこれらのペプチドの下垂体前葉細胞への直接作用について検討した。

【方法】 ゴナドトロフ及びラクトロフモデルとして $L\beta T2$ 及び GH3 細胞を用いた。受容体発現はウェスタンブロッティング法で確認し、ゴナドトロピン及びプロラクチン発現はルシフェラーゼベクターを用いたプロモーターアッセイで測定した。Extracellular signal-regulated kinase (ERK)活性はリン酸化抗体を用いたウェスタンブロッティング法で評価した。

【成績】

$L\beta T2$ 及び GH3 細胞には NKB、DynA の受容体である NK3 受容体、KOR 受容体が存在した。 $L\beta T2$ 細胞においてゴナドトロピン LH β 及び FSH β サブユニットは NKB 及び DynA により発現が変化せず、GnRH によるサブユニット発現の増加にも影響を与えなかった。一方 GH3 細胞において NKB は単独でプロラクチン発現を増加させなかったが、TRH によるプロラクチン発現を濃度依存的に促進した。TRH による ERK 活性化反応も NKB により促進した。DynA はプロラクチン発現、ERK 活性に影響を与えなかった。

【結論】

NKB は下垂体プロラクチン産生細胞に直接作用し、TRH の効果を増強する可能性が示された。

(最優秀発表賞審査応募演題)

24. GT1-7 細胞に発現する GABA 受容体の発現・機能解析

○棟朝亜理紗^{1,3}、梶尾円香¹、石井寛高^{1,2}、加藤昌克^{1,4}、宮本武典³、佐久間康夫^{1,4}

¹日本医科大学医学部生理学講座（システム生理学）、²日本医科大学大学院医学研究科解剖学・神経生物学分野、³日本女子大学大学院理学研究科物質・生物機能科学専攻、⁴東京医療学院大学

GT1-7 細胞は、視床下部神経細胞由来の細胞株であり、GnRH を発現・分泌することから GnRH ニューロンのモデルとして使用されている。神経伝達物質である GABA は GT1-7 細胞においても GnRH ニューロンと同様に興奮性に作用し、GnRH 分泌を制御する。しかし、GT1-7 細胞に発現する GABA 受容体サブユニットの構成は一部しか解析されていない。それゆえ、本研究では GABA 受容体サブユニットの発現を RT-PCR 法で網羅的に解析するとともに GABA 受容体の機能を電気生理学・生化学的手法を用いて解析を行った。

RT-PCR 法による発現解析から、GT1-7 細胞ではイオンチャネル型（A・C 型）GABA 受容体サブユニットの $\alpha 2-5$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 、 $\gamma 1$ 、 $\gamma 3$ 、 δ 、 ϵ 、 π 、 θ 、 $\rho 1$ 、 $\rho 2$ が発現しており、さらに、代謝型（B 型）GABA 受容体サブユニットの B1、B2 双方が発現していることが判明した。GABA 受容体阻害剤を用いた電気生理学的解析から機能的な A・C 型 GABA 受容体の発現を確認した。さらに、B 型 GABA 受容体特異的作動薬・拮抗剤を用いた cAMP アッセイにより、B 型 GABA 受容体の機能的発現も確認した。

GT1-7 細胞は、GnRH ニューロンとは異なる GABA 受容体サブユニットの発現パターンを示すが、機能的な A-C 型 GABA 受容体を発現しているため、GABA 受容体を対象とした分子生物学・生化学・薬理的解析に使用しうることが判明した。

25. ラット GnRH ニューロンに発現する GABA 受容体の発現解析

○石井寛高^{1,2}、尹成珠¹、加藤昌克^{1,3}、佐久間康夫^{1,3}

¹日本医科大学医学部生理学講座（システム生理学）、²日本医科大学大学院医学研究科解剖学・神経生物学分野、³東京医療学院大学

神経伝達物質である GABA は、GnRH ニューロンではイオンチャネル型 GABA 受容体を介して興奮性に作用し、GnRH 分泌を制御する。イオンチャネル型 GABA 受容体の特性は、サブユニットの構成により規定されるが、GnRH ニューロンにおいてそれは一部しか解析されていない。さらに、代謝型 GABA 受容体の発現も詳細に解析されていない。それゆえ、本研究ではラット GnRH ニューロンにおけるイオンチャネル型・代謝型 GABA 受容体サブユニットの発現を Multi-cell RT-PCR 法により網羅的に解析を行った。

成獣 GnRH-EGFP トランスジェニックラットから脳を取り出し、分散後に蛍光を指標に GnRH ニューロンを採取し、5 細胞プール後、逆転写反応を行った。そして、0.25 細胞分（イオンチャネル型 GABA 受容体）または 1 細胞分（代謝型 GABA 受容体）の cDNA とラット GABA 受容体特異的プライマーを用いて PCR を行った。

イオンチャネル型 GABA 受容体サブユニットは、 $\alpha 1-4$ 、 $\beta 1-3$ 、 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 ϵ 、 θ が発現しており、特に $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\beta 3$ 、 $\gamma 2$ 、 ϵ の発現量が高く、発現量においては性差や性周期による有意な差は観察されなかった。代謝型 GABA 受容体に関しては B1、B2 双方が発現していた。

以上からラット GnRH ニューロンでは多様な GABA 受容体サブユニットが発現していることが判明し、イオンチャネル型 GABA 受容体は特に $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\beta 3$ 、 $\gamma 2$ 、 ϵ で構成され、代謝型 GABA 受容体は B1、B2 双方で構成されていることが示唆された。

26. GnRH ニューロンに対するメラトニンの性ステロイド用効果

○中沢和美、菊池公孝、塚田ひとみ、簡野康平

東海大学医学部付属大磯病院

メラトニン投与は短日性繁殖動物において繁殖行動を惹起する。今回我々は、性ステロイドホルモン非存在下で、生殖機能の中枢である GnRH ニューロンへのメラトニンの効果を検討した。

方法：9週令の S-D 系雌ラットの卵巣を摘出し、3週間後にメラトニン 20 μg あるいはメラトニン溶媒と同一濃度のエタノール添加生理食塩水を腹腔内に投与した。1時間後に正中隆起一下垂体隆起部 complex を実体顕微鏡下にて切除し、高濃度 K 添加 KRB 培養液中で1時間培養した。培養後、組織は PBS 液中でホモジナイズし、遠沈後上清中および培養液中の GnRH 濃度を RIA 法にて測定した。別に、高濃度 K 添加の GnRH 分泌への影響を検討した。P<0.05 を有意差ありとした。

結果：卵巣摘出により正中隆起一下垂体隆起部 complex 内 GnRH 濃度は有意に減少した。しかし、メラトニン投与は1時間後に GnRH 濃度を有意に増加させ、分泌能力も同様に有意に回復させた。高濃度 K 溶液は GnRH の放出を刺激したが、組織の反応は KRB のみの場合とその傾向は保たれていた。20 μg のメラトニンを腹腔内に投与すると1時間後に血中濃度は 1 ng/ml を凌駕した。

考察および結論：ラットの生殖機能に季節性はないと思われているが、冬季の血中 LH 濃度は高いとする報告がある。下垂体隆起部はメラトニンのレセプターが高密度に存在し GnRH ニューロンの末端が存在する正中隆起に隣接する場所である。今回の研究の結果は、性ステロイドホルモンの関与なしで、メラトニンがエストロゲンとは独立してそれと類似した作用を持つことが判明した。その作用点は下垂体隆起部のメラトニンレセプターを介することが考えられる。詳細な機序解明は、今後のさらなる見当が必要である。

27. 周産期心筋症、妊娠高血圧症候群におけるバソインヒビンおよびカテプシン D の解析

○廣田飛鳥¹⁾、渡辺つかさ¹⁾、中嶋亮順¹⁾、鈴木美香¹⁾、大田千景²⁾、神谷千津子²⁾、池田智明²⁾、石田充代¹⁾、針谷敏夫¹⁾

¹⁾ 明治大学大学院、農学研究科、生体機構学研究室

²⁾ 国立循環器病研究センター、周産期科

バソインヒビン (Vi) とは、プロラクチン (PRL) がアスパラギン酸プロテアーゼであるカテプシン D (CathD) によって切断された N 末端側の約 16kDa の断片である。Vi は PRL とは異なり、血管内皮細胞のアポトーシスの促進や血管新生の阻害といった作用がある。

この Vi の作用により、様々な疾患が引き起こされる可能性が報告されており、妊娠高血圧症候群 (PIH) と周産期心筋症 (PPCM) もそのひとつである。PPCM と PIH はともに妊娠後期から産褥期にかけて発症する妊娠関連疾患であり、特に PPCM では死亡例も報告されているため、その発症機構と診断基準を明確にすることが急務である。本研究は、PIH と PPCM 患者血中において、Vi および CathD を検出し、両疾患との関連性を見出すことを目的とし、PPCM 患者および PPCM との合併率 40%以上である PIH 患者において、血中の Vi 値、及び CathD 活性を測定した。比較対象として健常妊娠女性の血中 Vi 値及び CathD 活性を測定した。また、Vi 値、及び CathD 活性と心機能や血圧との相関関係を比較した。

検体は健常妊娠者、PIH 患者に関しては出産前、出産後、出産 1 ヶ月後に採取した血清または血漿を用いた。また PRL 分泌抑制処置をした PPCM 患者の検体は、それぞれ出産直後、出産 1 ヶ月から 1 年後の血清または血漿を用いた。Vi の測定は、PRL の N 末端側を認識する抗体を用いて免疫沈降を行い、電気泳動により 16~18kDa 付近のピークを検出した。その後その波形から Vi 含有量を推定した。CathD は検体中の酵素活性を測定した。Vi 値、及び CathD 活性と心機能や血圧との相関関係の比較には、ピアソンの積率相関係数を用いた。

その結果、PPCM 患者では Vi 値および CathD 値が有意に高いことが、また PIH 患者では Vi 値、CathD 活性ともに高い傾向があることが明らかになった。また PPCM 患者では Vi 値と心機能低下に相関が見られ、PIH 患者では CathD 活性と血圧に相関が見られた。

28. マイクロアレイを用いたラット濾胞星状細胞における遺伝子発現解析 —新規傍分泌因子ミッドカインの同定—

○藤原 研、Depicha Jindatip、堀口 幸太郎、塚田 岳大、屋代 隆

自治医科大学医学部解剖学講座（組織学部門）

下垂体前葉内の非ホルモン産生である濾胞星状細胞（FS 細胞）は突起状の細胞質でホルモン産生細胞を取り囲むように存在する。その機能として、ホルモン産生細胞の前駆細胞、貪食作用、傍分泌因子を介したホルモン産生細胞の機能調節、などが想定されてきているが、未だ十分には明らかにされていない。そこで、本研究では、FS 細胞の機能を明らかにすることを目的として、FS 細胞で発現する遺伝子を網羅的に解析した。S100b-GFP トランスジェニックラットの下垂体前葉細胞からセルソーティングによりFS 細胞を純化し、DNA マイクロアレイにより発現遺伝子を同定した。その結果、GFP 陽性細胞特異的発現遺伝子群には既報の FS 細胞特異的に発現する遺伝子（S100b protein, vimentin, annexin A1, aquaporin 4, glutamine synthase）が含まれていることが確認された。続いて、傍分泌因子に焦点を当て、FS 細胞特異的に発現する分泌性タンパク質を解析した。下垂体前葉で発現することが知られている成長因子で Fgf1, Fgf2, Tgfb2, Vegfa などが GFP 陽性細胞で発現していた。さらに、この分泌タンパク質遺伝子発現プロファイルにミッドカイン(MK: midkine)が含まれていることを発見した。リアルタイム PCR 法、Western blotting 法により MK は GFP 陽性細胞分画で特異的に発現し、in situ hybridization 法により FS 細胞が MK mRNA を発現していた。MK はヘパリン結合性成長因子で、胚の上皮組織、神経組織、間充織で高い発現を示すが、成体ではその発現は限られていることが知られている。MK は細胞増殖、生存、移動を促進する、などの機能が報告されてきており、今後、下垂体前葉における FS 細胞が産生する MK の機能を明らかにする必要がある。

29. 下垂体 Notch シグナル伝達系に及ぼすニコチンの作用

○鳥海健太郎¹, 高木達也², 中村直哉¹, 長村義之³, 竹腰進²

¹東海大学医学部 基盤診療学病理診断学, ²同 基礎医学系生体防御,

³国際医療福祉大学病理診断センター

下垂体前葉のホルモン産生細胞は、特異的な転写因子・共役因子の組み合わせにより 3 つの細胞系譜に機能分化することが判ってきている。一方、Notch シグナル伝達系が、下垂体前葉ホルモン産生細胞の細胞系譜に沿った機能分化に重要な役割を果たしていることが報告され、ホルモン発現制御機構における Notch の役割に注目が集まっている。最近、ニコチンが Notch シグナル伝達系の活性化因子として働く γ -セクレターゼの活性を抑制することが培養細胞の実験によって明らかとなった。このことからニコチンが Notch シグナル伝達系を介して下垂体ホルモン産生細胞の機能分化に影響を及ぼすことが推定されるが、その詳細は不明である。ニコチンの下垂体 Notch シグナル伝達系および下垂体ホルモン産生に及ぼす生理的作用を明らかにすることを目的とし、ニコチンのマウス下垂体における Notch 受容体、リガンドおよび下垂体ホルモンの発現変化に及ぼす作用を、リアルタイム RT-PCR 法および免疫組織化学法により検討した。7 週齢の B6C3BF1 雄マウスを用い、ニコチン (0.4 mg/kg/day) を皮下投与した。投与終了後、RNA を抽出し、Notch および下垂体ホルモンの発現解析にリアルタイム RT-PCR 法を施行した。また、下垂体組織をホルマリン固定後、パラフィン切片を作成し、Notch 受容体、リガンドおよびホルモンに対する抗体を用い免疫組織化学を施行した。ニコチン投与により雄マウス下垂体における Notch1、2、4 および Jagged 1、DLL1 の mRNA が有意に減少した。また、ゴナドトロピンの mRNA 発現がニコチン投与により有意に増加したが、他の下垂体ホルモンの発現には変化は認められなかった。これらのことからニコチンによって、下垂体 Notch シグナル伝達系分子の発現が抑制されることが明らかとなり、また、ニコチンがゴナドトロピン産生細胞の機能分化に関与していることが示唆された。以上の結果から、ニコチンが Notch シグナル伝達分子の発現および下垂体ホルモン産生細胞の機能分化に関与する可能性が示された。

30. 成体ラット下垂体における Notch シグナリング

○菊地 元史¹、丹藤 由希子²、藤原 研²、屋代 隆²

¹自治医科大学・医学部・教育学研究室、²同・解剖学講座組織学部門

器官の形態形成を制御する様々な情報伝達系のひとつに、細胞同士の接着を起点とする Notch シグナリングがある。Notch シグナリングの主要な役割は、前駆細胞の増殖、分化を制御することであることが様々な器官で報告されている。下垂体においては、Notch シグナリングが胎児期のラトケ嚢を構成する細胞に広範に働いていること (Raetzman et al. 2004)、成体下垂体から分離される"side population cell"に特異的に働いていること (Chen et al. 2006) が報告されているが、成体における組織学的な分布は、報告がなかった。本研究では、Notch 受容体及びリガンドの組織学的発現解析を行い、次に、前葉細胞における Notch シグナリングの細胞増殖への関与を解析した。60 日齢のラット下垂体の凍結切片を作成し、in situ hybridization 法によって、既知の Notch 受容体及びリガンドすべての発現解析を行った。結果、受容体として、Notch1 及び Notch2、リガンドとして、Jagged-1 及び Jagged-2 の発現が認められた。この in situ hybridization に各種ホルモン及び S100 β タンパクの免疫組織化学を重ねることによって細胞種を同定したところ、Notch 受容体及びリガンドの発現は、S100 陽性細胞に局限し、ホルモン産生細胞にはみられなかった。Notch シグナルの標的遺伝子 Hes1 の発現も S100 陽性細胞特異的に観察された。次に、前葉 S100 陽性細胞の増殖への Notch シグナルの影響を調べた。S100 陽性細胞特異的に GFP を発現する遺伝子改変ラット (S100b-GFP ラット) を用い、前葉細胞をラミニンコートした培養器にて初代培養した。Notch シグナル阻害剤 DAPT は、BrdU 陽性細胞を有意に減少させ、可溶化した Jagged-1 は、BrdU 陽性細胞を有意に増加させた。Hes1 は、CDK 阻害因子である p21, p27, p57 の発現を直接抑制することが知られている。real time PCR 解析の結果、DAPT は、Hes1 の発現を減少させ、結果として、p57 の発現を上昇させることがわかった。以上、Notch シグナリングは、ラット成体下垂体でも特定の細胞で機能しており、細胞増殖を制御していることが示唆された。今後、Notch シグナルの細胞分化への係わりについて調べたい。

(最優秀発表賞審査応募演題)

31. 下垂体新規転写因子 PRX1・PRX2 は下垂体形成に異なる機能を持つ

○樋口雅司^{1,2}, 加藤たか子², 八子英司³, 陳黙³, 吉田彩舟^{3,4}, 加藤幸雄^{1,2,3}

¹明治大・研究知財,²明治大・生殖内分泌研,³明治大・院・農研,⁴学振特別研究員 DC

【背景・目的】我々は、間葉細胞で機能する Paired related 型転写因子 PRXs (PRX1 と PRX2) が、胎仔期下垂体の幹・未分化細胞で発現すると共に、外部から侵入して血管形成に関与することを報告した。また、PRXs が前葉の Marginal cell layer (MCL) や側部に高発現することや、PRX1 と PRX2 発現株化細胞を用いたノックダウン実験で、両者は異なる遺伝子発現に係わることを見出した。従って、下垂体における PRX1 と PRX2 の機能の特定が急務である。そこで、両者の特異抗体の作製による免疫組織化学を始めとするいくつかの実験を行ったので報告する。

【方法・結果】PRX1 と PRX2 の相同性の低い部位を抗原として特異抗体の作製に成功した。免疫組織化学では、PRX1 は、①出生前後の下垂体前中葉に多く、②MCL では幹細胞マーカー SOX2 と共存しており、③一部がホルモン産生細胞に発現していた。一方、PRX2 は、④胎仔期の下垂体細胞では検出されず、⑤出生後の下垂体前中葉の MCL 付近の細胞で発現し、一部が SOX2 陽性であった (PRX1>PRX2)。さらには、⑥下垂体内へ侵入する間葉細胞で PRX1 と PRX2 が発現していた。ラット下垂体での mRNA 発現量は、出生前後に Prx1 が高レベルであり、成熟期はその 50%以下であった。Prx2 は発生を通して低レベルで発現していた。

【考察】ノックダウン実験による PRX1 と PRX2 の細胞増殖への異なる関与や両者のプロモーターの異なる制御機構 (本学術集会: 渋谷ら、津田ら) という結果を総合すると、PRX1 はホルモン産生細胞の供給に係わる下垂体の幹・未分化細胞で、一方の PRX2 は成熟期下垂体の幹細胞での役割が示唆された。さらには、胎仔期の下垂体血管形成には両者が機能すると推察された。つまり、両者は下垂体形成に固有の機能を有すると考えられる。

32. 転写因子 Prx1 および Prx2 の転写制御機構解析

○渋谷汐里¹, 上春浩貴², 樋口雅司^{3,4}, 吉田彩舟^{1,5}, 菅野尚子¹, 石川晶雄^{1,5}, 加藤たか子³, 加藤幸雄^{1,2,3}

¹明治大・院・農研, ²明治大・農, ³明治大・生殖内分泌研, ⁴明治大・研究知財, ⁵学振特別研究員 DC

最近、樋口らは、骨、四肢、内耳の形成に関与する転写因子 Paired related homeobox 1 と 2 (Prx1 と Prx2) の下垂体における発現局在を解析した。Prx1 はホルモン産生細胞の供給に係わる幹・未分化細胞で、Prx2 は成熟期下垂体の幹細胞で発現し、さらに、両者は胎仔期の血管形成にも関与することを見出したことを報告する(本学術集会; 樋口ら)。両者は異なる機序で、下垂体の発生や分化に係わると考えられた。そこで、Prx1 と Prx2 の転写制御領域の解明を目的とし本実験を行った。

両者の転写開始点上流 (Prx1: 2.3kbp, Prx2: 5.1kbp) を pSEAP2-Basic に組み込んだベクターと各種転写因子の発現ベクターを構築した。Prx1 と Prx2 を発現している下垂体由来の TtT/GF と非下垂体由来の NIH3T3、卵巣由来の CHO の 3 種の株化細胞を用いて、レポーターアッセイを行った。

Prx1 の転写開始点-450bp は、TtT/GF と NIH3T3 で高いプロモーター活性を示したが、CHO ではやや抑制し、細胞間の違いを示した。一方の Prx2 は、TtT/GF と NIH3T3 では-372/+21、-1091/-373 と-3567/-1753 の何れかの領域で有意なプロモーター活性を示したが、CHO では Prx1 同様の抑制が観察された。CHO において、転写因子 Hey1、Hey2、Foxj1 は両者に抑制効果を示し、Pax6 は両者に、Klf6 は Prx2 のみに促進効果を示した。

以上のことから、①Prx1 と Prx2 の転写開始点近位にプロモーター活性が存在する。②細胞種依存的制御を受ける。③両者の発現に、正と負の制御に関わる異なる因子が存在する。現在、両者の発現制御因子の作用点の同定を進めている。両遺伝子の制御機構を解明することで、下垂体形成過程での両者の役割を明らかにしたい。

33. 下垂体新規転写因子 PRX1・PRX2 の機能解析および結合特性の解析

○津田光芳¹, 樋口雅司^{2,3}, 加藤たか子³, 三ツ石英生¹, 陳黙¹, 八子英司¹, 吉田彩舟^{1,4}, 諏佐崇生³, 加藤幸雄^{1,2,3}

¹明治大・院・農研, ²明治大・研究知財, ³明治大・生殖内分泌研, ⁴学振特別研究員

【背景・目的】 我々は、下垂体で発現する Paired related 型転写因子 PRX1・PRX2 が下垂体幹細胞や血管内皮細胞マーカーと共存することから、それらの機能に注目して解析を進めている。樋口らが行った局在解析の結果から、両者は明らかに異なる機能を持つことを示しており、その違いを分子レベルで明らかにすることは下垂体における機能を解明する上で重要であると考えられる。そこで本研究は PRX1 と PRX2 の機能解析を目的に、ノックダウン実験と DNA 結合配列特性の比較を実施した。

【方法】 Prx1 と Prx2 の siRNA を下垂体腫瘍由来の株化細胞 TtT/GF に導入して、細胞数を計測すると共に、細胞から全 RNA を調製し、マイクロアレイ並びにリアルタイム PCR 解析を実施した。また、in vitro で DNA 結合配列を解析する SELEX 法で両因子の結合配列特性を比較した。

【結果・考察】 Prx1 と Prx2 siRNA を単独または共導入した結果、コントロールと比較して導入後の細胞数が減少しており両者が細胞増殖に関与することが示唆された。また、その結果はマイクロアレイ解析により細胞周期に関わるいくつかの因子の発現量に変化があることで支持された。しかも、変動したそれらの因子を比較すると、Prx1 と Prx2 の間で異なるものが存在した。結合配列を SELEX 法にて比較した結果、PRX1 と PRX2 共に TAATT motif に強く結合する特性があることが示唆された。以上のことから、PRX1 と PRX2 では機能は異とすること、また、両因子が結合する配列は類似していることが考えられる。一方で、TAAT motif に挟まれた塩基に両者で異なった傾向が見られたことから、さらなる DNA 結合特性の比較解析を行うことが重要である。現在、PRX1 と PRX2 の機能的差異を DNA 結合特性と関連づけて解析している。

34. マウス下垂体における SCGB3A2 の役割の解明

○宮野佑樹、島麗香、坂原聖士、阿部宏之、黒谷玲子

山形大学大学院 理工学研究科 バイオ化学工学専攻

セクレトグロビン 3A2 (SCGB3A2) はホメオドメイン転写因子 Nkx2-1 の下流因子として同定された分泌タンパク質である。Nkx2-1 欠損マウスは甲状腺や下垂体を欠失し、肺の形成不全を呈する。この下垂体の欠失は間脳腹側部における Fgf8 の欠失によることが明らかとなっている。SCGB3A2 はマウスにおいて肺の炎症や肺線維症を抑制し、マウス胎仔の分枝や成熟を促進することが報告されているが、その他の機能については不明である。そこで本研究では、下垂体における SCGB3A2 の発現と機能について調べることを目的とした。免疫組織化学法により、マウス下垂体における Nkx2-1 と SCGB3A2 の発現を調べたところ、Nkx2-1 の免疫陽性細胞は下垂体後葉のみに存在した。一方で、SCGB3A2 の免疫陽性細胞は下垂体の前葉、後葉に存在し、前葉でより高い発現が見られた。また、胎生 (E) 16.5 のマウス下垂体においても SCGB3A2 の発現が観察された。成獣マウス下垂体を前中葉・後葉に分け、Scgb3a2 に対する RT-PCR を行ったところ、中・後葉でより強い発現が見られた。次に、SCGB3A2 と下垂体ホルモン産生との関係を調べるために、下垂体前葉における SCGB3A2 と成長ホルモン (GH)、卵胞刺激ホルモン (FSH)、黄体形成ホルモン (LH)、メラニン細胞刺激ホルモン (MSH)、黄体刺激ホルモン (Prl)、甲状腺刺激ホルモン (TSH) の二重免疫染色を行った。SCGB3A2 は性腺刺激ホルモンと多く共存し、二重陽性率は LH で 42.7%、FSH で 47.9%であった。一方、TSH と Prl では二重陽性がほとんど確認されず、それぞれ 6.1%、1.4%であった。以上の結果から SCGB3A2 が下垂体ホルモン産生と関連する可能性が示唆された。



粗鬆症治療剤(活性型ビタミンD₃製剤)

※ 処方せん医薬品^{※1}

薬価基準収載

エディロール[®]カプセル 0.5 μ g
0.75 μ g

EDIROL[®]

エルデカルシトールカプセル

注)注意-医師等の処方せんにより使用すること

©中外製薬株式会社登録商標

※「効能・効果」、「用法・用量」、「禁忌を含む使用上の注意」等詳細については、添付文書をご参照ください。

製造販売元 (資料請求先)



中外製薬株式会社

〒103-8384 東京都中央区日本橋2-1-1

DAIWAグループ



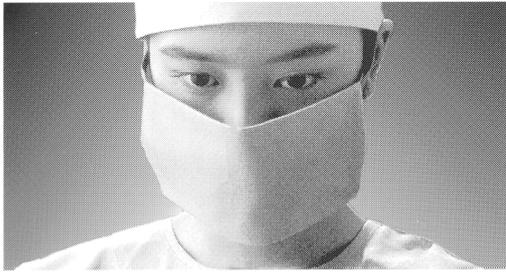
発売 (資料請求先)

大正富山医薬品株式会社

〒170-8635 東京都豊島区高田3-25-1

2012年4月作成

新時代の医薬を考える 帝人ファーマ



Human Chemistry, Human Solutions

一人ひとりのQuality of Lifeの向上。
それが帝人ファーマの使命です。

主要取扱い商品

薬価基準収載

※薬価基準未収載

骨	<p>劇薬・処方せん医薬品^注 骨粗鬆症治療剤 日本薬局方 アレンドロン酸ナトリウム錠 ボナロン[®]錠 35mg <small>商標 ボナロン/Bonalon[®] is the registered trademark of Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA.</small></p> <p>劇薬・処方せん医薬品^注 骨粗鬆症治療剤 日本薬局方 アレンドロン酸ナトリウム錠 ボナロン[®]錠 5mg <small>商標 ボナロン/Bonalon[®] is the registered trademark of Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA.</small></p> <p>劇薬・処方せん医薬品^注 骨粗鬆症治療剤 〔アレンドロン酸ナトリウム水和物注射液〕 ボナロン[®]点滴静注バッグ 900μg ※ <small>商標 ボナロン/Bonalon[®] is the registered trademark of Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA.</small></p>	<p>劇薬 活性型ビタミンD₃製剤 ワンアルファ[®] 錠 0.25μg 錠 0.5μg 錠 1.0μg 〔アルファカルシドール製剤〕 内用液 0.5μg/mL</p> <p>処方せん医薬品^注 ヒアルロン酸ナトリウム架橋体製剤 サイビスクティスポ[®] 関節注 2mL 〔ヒアルロン酸ナトリウム架橋処理ポリマー及びヒアルロン酸ナトリウム架橋処理ポリマー-ビニルアルコール架橋体 関節内注射剤〕 <small>商標 サイビスクティスポ[®]/synvisc[®] is the registered trademark of Genzyme Corporation.</small></p>
呼吸器	<p>処方せん医薬品^注 吸入ステロイド喘息治療剤 オルベスコ[®] 50μgインヘラー-112吸入用 100μgインヘラー-56吸入用 100μgインヘラー-112吸入用 200μgインヘラー-56吸入用 〔シクレソニド吸入剤〕</p> <p>持続性気管支拡張剤・腹圧性尿失禁治療剤 スピロペント[®] 錠 10μg 顆粒 0.002% 〔クレムテロール塩酸塩製剤〕</p>	<p>気道潤滑去痰剤 ムコソルバン[®] 錠 15mg 内用液 0.75% DS 3%</p> <p>小児用 ムコソルバン[®] DS 1.5% シロップ 0.3% 〔アンブロキシソール塩酸塩製剤〕</p> <p>徐放性気道潤滑去痰剤 ムコソルバン[®] Lカプセル 45mg 〔アンブロキシソール塩酸塩製剤〕</p>
血液	<p>処方せん医薬品^注・特定生物由来製品 血漿分画製剤・静注用人免疫グロブリン製剤 献血ベニロン[®]-I 静注用 500mg 1000mg 2500mg 5000mg 〔乾燥スルホ化人免疫グロブリン〕 生物学的製剤基準</p>	
代謝・循環器	<p>処方せん医薬品^注 非プリン型選択的キサンチンオキシダーゼ阻害剤 高尿酸血症治療剤 フェブリク[®] 錠 10mg 20mg 40mg 〔フェブキソスタット製剤〕</p>	<p>処方せん医薬品^注 高脂血症治療剤 トライコア[®] 錠 53.3mg 80mg 〔フェンフィブラート錠〕</p>
その他	<p>緩下剤：錠 ラキソベロン[®] 錠 2.5mg 〔ピコスルファートナトリウム水和物製剤〕</p> <p>劇薬・処方せん医薬品^注 活性型VD₃角化症治療剤 ボンアルファ[®] 軟膏 2μg/g クリーム 2μg/g ローション 2μg/g 〔タカルシトール水和物製剤〕</p>	<p>滴剤型緩下剤・大腸検査前処置用下剤：液 ラキソベロン[®] 内用液 0.75% 〔ピコスルファートナトリウム水和物製剤〕</p> <p>劇薬・処方せん医薬品^注 活性型VD₃尋常性乾癬治療剤 ボンアルファ[®] ハイ軟膏 20μg/g ハイローション 20μg/g 〔タカルシトール水和物製剤〕</p>

注) 注意 — 医師等の処方せんにより使用すること

- 効能・効果、用法・用量、禁忌・原則禁忌を含む使用上の注意等については添付文書をご参照ください。

TEIJIN 帝人ファーマ株式会社

〔資料請求先〕 学術情報部

〒100-8585 東京都千代田区霞が関3丁目2番1号

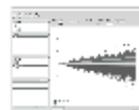
マイクロアレイデータ解析サービス MOGERA[®]-Array

マイクロアレイのデータ解析サービス MOGERA[®]-Array シリーズは、タイプ別に 3 つのサービスをご用意！幅広い解析バリエーションから、生物学的解釈に結びつく重要な情報をご提供いたします。

MOGERA[®]-Array セルフ

ご自身で解析を行いたい方に

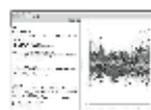
アレイデータの閲覧・解析が可能な、弊社開発の Viewer をご提供！
多彩な解析メニューを搭載しており、お客様ご自身による解析作業をサポートいたします。



MOGERA[®]-Array アシスト

ディスカッション付きデータ解析

解析担当者とのディスカッションにより、お客様の研究目的に沿った遺伝子発現解析をご提供いたします。解析結果報告書にはアレイデータとリンクしたデータ Viewer を付属！
手軽に解析結果をご覧いただけます。



MOGERA[®]-Array プレミアム

図表作成から生物学的解釈まで

コンサルティング形式の完全カスタムサービスです。マイクロアレイ解析データの図表作成から、遺伝子発現解析、microRNA 解析、DNA メチレーション解析、コピー数多型解析、統合解析など、あらゆるご要望にお応えいたします。

KEGG バスウェイでマイクロアレイデータ解析がグレードアップ！

- MOGERA[®]-Array シリーズの全解析でご利用可能です。
- 生物種によらず、質の高いバスウェイ情報をご提供します。
- アレイの発現データのマッピング解析にも対応します。

代謝や DNA 複製・遺伝子発現、免疫等の生体プロセスやヒトの疾患関連情報など豊富なバスウェイマップが、アレイデータの解析と生物学的解釈をサポートします。バスウェイ上の遺伝子にアレイデータの発現値を色彩反映させるマッピング解析から、視覚的に遺伝子の発現挙動を確認することも可能です。

※通常メニューでは GenMAPP バスウェイ情報を利用して解析を実施いたします。KEGG バスウェイのご利用およびマッピング解析には、オプションのお申込みが必要です。



実験から解析までをトータルサポート！

MOGERA[®]-ArrayPack

各社アレイメーカーのチップを使用した実験と、データ解析をセットにした便利なパッケージサービスです。データ解析は、セルフ・アシスト・プレミアムから、目的に合わせてお選びください。



東北化学薬品株式会社
生命システム情報研究所

TEL 019-629-2661 FAX 019-629-2663
<http://www.t-kagaku.co.jp/seimeiken/>
〒020-0022 岩手県盛岡市大通 3-3-10 七十七日生盛岡ビル

まずはお気軽にご相談ください！

生命システム情報研究所



最先端を、最前線へ。

日立ハイテック
HITACHI

新たな操作環境を実現する ユニバーサルデザインTEM

HT7700は、バイオメディカル分野から、ナノテクノロジー分野、ソフトマテリアル分野まで幅広い分野で使用いただくために開発された透過電子顕微鏡です。

操作卓・モニタをTEM本体と切り離した新デザインを採用し、

蛍光板に投影された像を直接観察する代わりに、

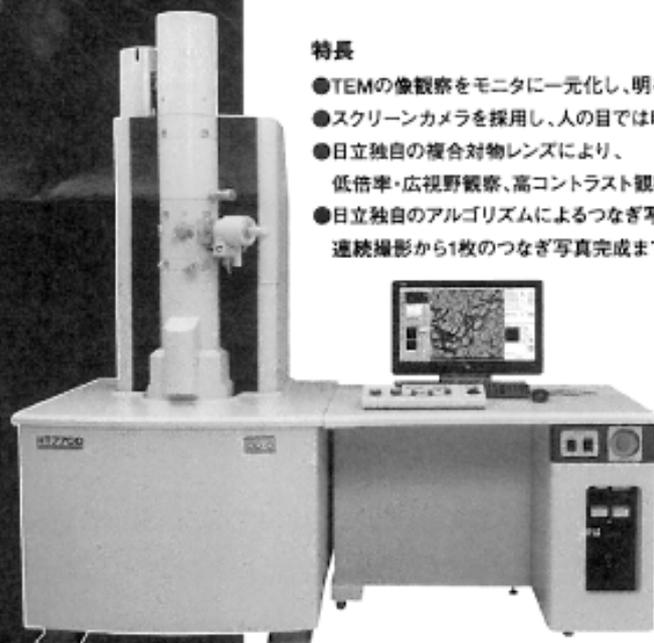
リアルタイムスクリーンカメラを使用することで、優れた操作性を実現しました。

モニタ周囲上だけで像観察が可能となり、

通常の明るい部屋で観察・操作が行えます。

特長

- TEMの像観察をモニタに一元化し、明るい部屋で観察・操作が可能。
- スクリーンカメラを採用し、人の目では暗くて識別しにくい像も、モニタ上に表示可能。
- 日立独自の複合対物レンズにより、
低倍率・広視野観察、高コントラスト観察、高分解能観察が可能。
- 日立独自のアルゴリズムによるつなぎ写真作成機能を標準搭載。
連続撮影から1枚のつなぎ写真完成までフルオート。
- ミッシングゾーンを補正し、高精度な
三次元再構成像の作成が可能。(オプション)
- ターボ分子ポンプを標準搭載し、クリーンな
真空と30%のCO2排出量削減を実現。
(2004年製H-7650比)



Transmission Electron Microscope HT7700

⑩ 株式会社日立ハイテクノロジーズ

科学・医用システム事業統括本部
お客様サポートセンター 電話(03)3504-7211

本 社(東京) 03-3504-7211 京都 075-241-1991
北海道札幌 011-707-0240 福岡(東区) 092-814-9911
東 京(03) 03-3504-2211 九州(福岡) 092-779-3005
中部(名古屋) 052-219-1680 沖縄 098-900-8209
関 西(大阪) 06-4807-2591

www.hitachi-hitec.com/science/

謝辞

日本下垂体研究会 第 27 回学術集会の開催に当たり、ご寄附ならびにご協賛いただきました団体、各社に感謝申し上げます。

医療法人社団慈心会 井出眼科病院

MSD 株式会社

大塚製薬（株）

株式会社 LSL

第一三共（株）

武田薬品工業株式会社

東北化学薬品株式会社

山形コンベンションビューロー

山形大学医学部

(五十音順)

日本下垂体研究会 第 27 回学術集会の開催に当たり、広告掲載をいただきました各社に感謝申し上げます。

中外製薬（株）

帝人ファーマ（株）

東北化学薬品株式会社

日立ハイテクノロジーズ

(五十音順)

