

日本下垂体研究会 第33回学術集会

プログラム・講演要旨集

2018年8月17~19日

国民宿舎 桂浜荘

〒781-0262 高知県高知市浦戸830-25

「日本下垂体研究会事務局」からのお願い

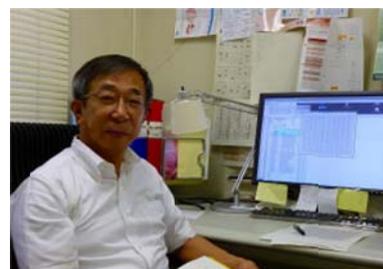
学術集会期間中に、日本下垂体研究会事務局の受付を設けます。受付には会員名簿と会費納入状況の資料を準備いたしますので、所属表記ならびに納入状況等をご確認願います。特に先生方には、指導学生の異動についてもご確認をお願いいたします。なお、育英資金の支給も受付にて行います。

目 次

会長挨拶	4
開催要領	5
プログラム概要	11
タイムテーブル	12
学術集会プログラム	13
要旨	
吉村賞受賞講演	22
特別講演	23
教育講演	25
シンポジウム	26
最優秀発表賞候補者演題	35
一般演題	40
謝辞	70

会長挨拶

このたび、第 33 回日本下垂体研究会学術集会を 2018 年 8 月 17 日より 8 月 19 日の日程で、高知市桂浜にて開催させて頂く事となりました。一昨年のハワイ、昨年の鬼怒川温泉での盛り上がりを受けて、引き続き自由闊達な雰囲気の中で、下垂体とその関連領域の研究者が学び、次世代の研究者が育っていくが機会となれば、何よりかと存じます。



2018 年は明治維新より 150 年の記念すべき年です。そこで今回の学術集会のテーマを「下垂体維新～過去・現在・未来～」と致しました。シンポジウムとして、レジェンドの先生方による日本の下垂体研究の流れを俯瞰する企画、現在の下垂体研究を支えて頂いている先生方による最新知見を網羅した企画、そして若手研究者による将来展望の企画、以上の 3 つを軸に、プログラムを構成しました。

また特別講演として、下垂体腫瘍の新 WHO 分類のポイントを、その作成に自ら参画された長村義之先生に、本年惜しくも急逝された前多敬一郎先生の追悼講演を共同研究者の束村博子先生に、教育講演として「分泌」という内分泌学の根幹の部分分子レベルで追い求めた成果の集大成を高野幸路先生に御講演いただきます。

一般演題発表は学会の中心となる重要な部分です。例年通り、学部生や大学院生・若手研究者の育成支援の一環として優秀発表賞も設定致しました。基礎研究者から臨床医まで、長老から若手まで、多彩な研究背景を持つ研究者が集い、年齢や学部の枠を超えて意見交換することにより、今回の学術集会が日本における下垂体研究の「維新」となりますことを、大いに期待しております。

会場は有名な桂浜や龍馬像に程近く高知県立龍馬記念館に隣接する国民宿舎（桂浜荘）を選び、例年通りの合宿形式を踏襲しております。休憩時間には、龍馬像や太平洋を眺めながら下垂体研究の今後を思索しつつ、夜は高知の地酒やよさこい踊りを楽しみつつ、伝統のファイルオンザデスクで議論を尽くして頂ければ幸いです。エクスカーションとして、牧野富太郎博士を記念した牧野植物園や、土佐料理を満喫できるひろめ市場へのバスツアーも企画致しました。スタッフの数が限られており至らぬ点多々あるかとは存じますが、実りあるがう術集会となりますことを、祈念いたしております。

第 33 回日本下垂体研究会学術集会
会長 岩崎 泰正

第 33 回日本下垂体研究会学術集会 開催要項

1. 会期

2018 年 8 月 17 日 (金)

幹事会、最優秀発表賞候補演題、一般演題、特別講演 1

懇親会 (高知県立龍馬記念館貸切見学を含む)・ファイルオンザデスク

2019 年 8 月 18 日 (土)

一般演題、特別講演 2, シンポジウム 1, シンポジウム 2

吉村賞受賞講演、エクスカーション、ファイルオンザデスク

2019 年 8 月 19 日 (日)

一般演題、教育講演、シンポジウム 3、最優秀発表賞授賞式

2. 会場

国民宿舎桂浜荘

〒781-0262 高知県高知市浦戸 8 3 0 - 2 5

TEL: 088-841-2201 FAX: 088-841-2249

3. 学術集会事務局

〒780-8520 高知県高知市曙町二丁目 5-1

高知大学保健管理センター

TEL:088-844-8157 (原則として月、水、金の午前)

FAX: 088-844-8089

E-mail: iwasakiyasumasa@gmail.com

岩崎 泰正 (会長)

川崎 英子 (学術集会担当事務)

4. 運営事務局

〒780-0912 高知市八反町一丁目 15-15

イブニンググロー

TEL: 088-824-2715

FAX: 088-824-9244

豊永雅男 (担当)

5. 参加受付

大会当日は、8月17日(金)12時より、会場入口にて受付を開始いたします。参加費、懇親会費は、大会当日に受付で現金にてお願いします。その際に、名札と要旨集をお受け取りください。

2日目のお弁当とエクスカージョンをご希望の方も、受付時にお支払いください。

クロークは、桂浜荘のクロークをご利用ください。

6. 参加費

一般会員	5000円
学生会員	2000円
非会員	7000円

7. 懇親会費

一般会員	3000円
学生会員	1000円
非会員	3000円

8. 昼食

8月18日(土)の昼食は、希望によりお弁当(1000円)を用意いたします。希望を事前にお問い合わせ致します。

9. 宿泊

学術集会ホームページをご覧ください。

<http://www.jichi.ac.jp/jspr/2018/>

宿泊は原則として相部屋となり、宿泊費は、すべて税込価格です。部屋割りは当日の受付時にお渡しいたします。チェックインは15時以降、鍵は各部屋で1つです。チェックアウトは10時となります。

宿泊費は受付の時に現金にてお願いします。

ご不明な点は、大会事務局または運営事務局までお問い合わせください。

10. 懇親会・エクスカージョン

懇親会は2部構成となっており、いずれも学会初日(8月17日)に行います。第1部は、同日午後5時台に、会場に隣接した高知県立龍馬記念館の貸切見学を行います。第2部は、夕食後の午後8時より大広間にて開催し、高知の地酒飲み比べ、よさこい踊りの実演披露を予定しております。懇親会の参加には事前の申し込み(参加費は受付時に徴収)が必要です。

またエクスカージョンとして、学会2日目(8月18日)の午後3時30分より、貸切バスによる高知名所巡りを行います。高知県立牧野植物園(または隣接する四国霊場第31番札所(五台山竹林寺))を見学したのち、高知市内に移動して、高知城やひろめ市場の自由散策(夕食はひろめ市場での鯉のたたきがお勧め)を楽しんで頂いたあと、バスで桂浜荘に戻ります。参加には事前の申し込み(参加費は受付時に徴収)が必要ですが、当日の申し込みも可能です。

11. 発表形式

演題はすべて口頭発表です。一般演題の発表時間は質疑応答を含め10分を予定しております。会場にはWindows10を搭載したPCを用意します。Macをご利用の方は、御自身のパソコンをお持ち込み下さい。またMS PowerPoint 2016で動作確認したファイルを御準備ください。

作成したPowerPointファイルは、USBメモリーに保存して、会場のファイル受付係までお持ちください。学会初日にも2日目、3日目の演題の受付を致します。早めに受付を済ませられますよう、御協力の程お願い申し上げます。

御自身のPCを持ち込まれる場合は、RGB D-sub15ピンに接続可能であることを御確認いただき、必要に応じてアダプターを御持参ください。

12. ファイルオンザデスク

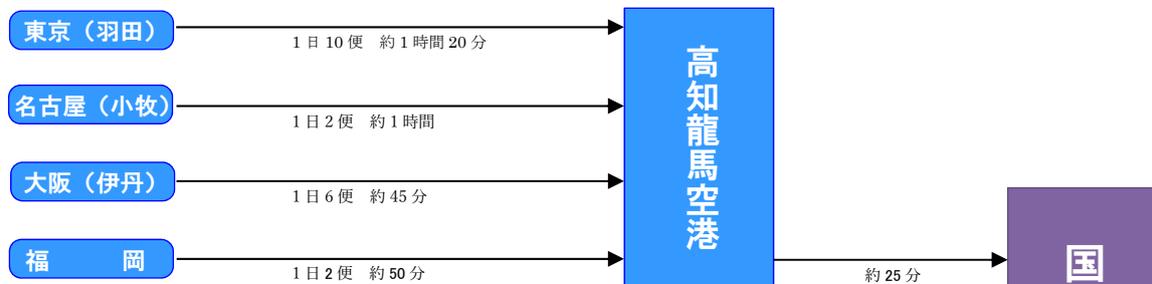
小広間(和室)にて行います。第1日の懇親会后(21:00~)および第2日のエクスカージョン後に、発表に使用したスライドの印刷版をご持参下さい。第3日に口頭発表予定の方は、第2日のファイルオンザデスクにご持参下さい。

13. 最優秀発表賞

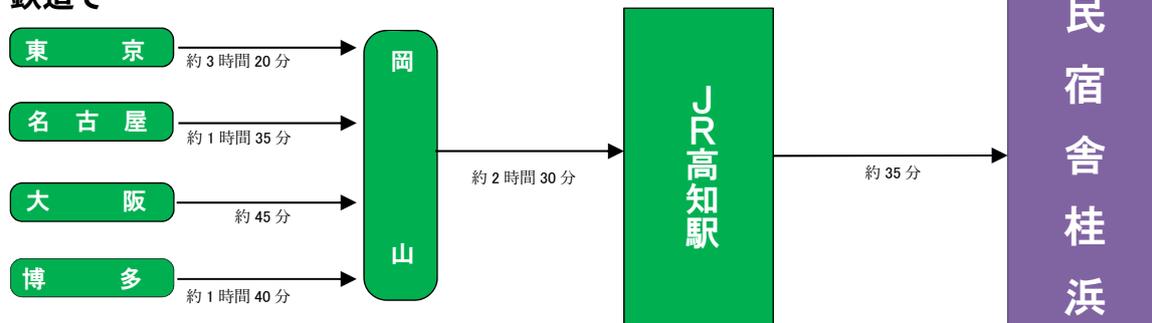
最優秀発表賞の演題は、最優秀発表賞審査要項に沿って審査されます。表彰式は、第3日シンポジウム3の終了後に行います。

1 3. 交通案内

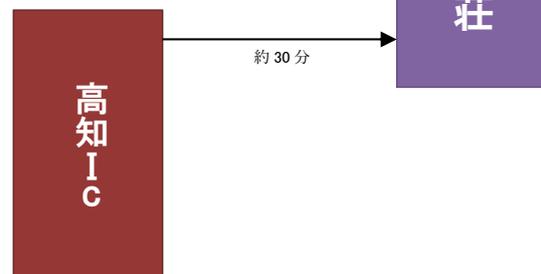
飛行機で



鉄道で



車で（高知自動車道経由）



●高知龍馬空港

市街方面バス→はりまや橋下車（とさでん交通バスに乗り換え）

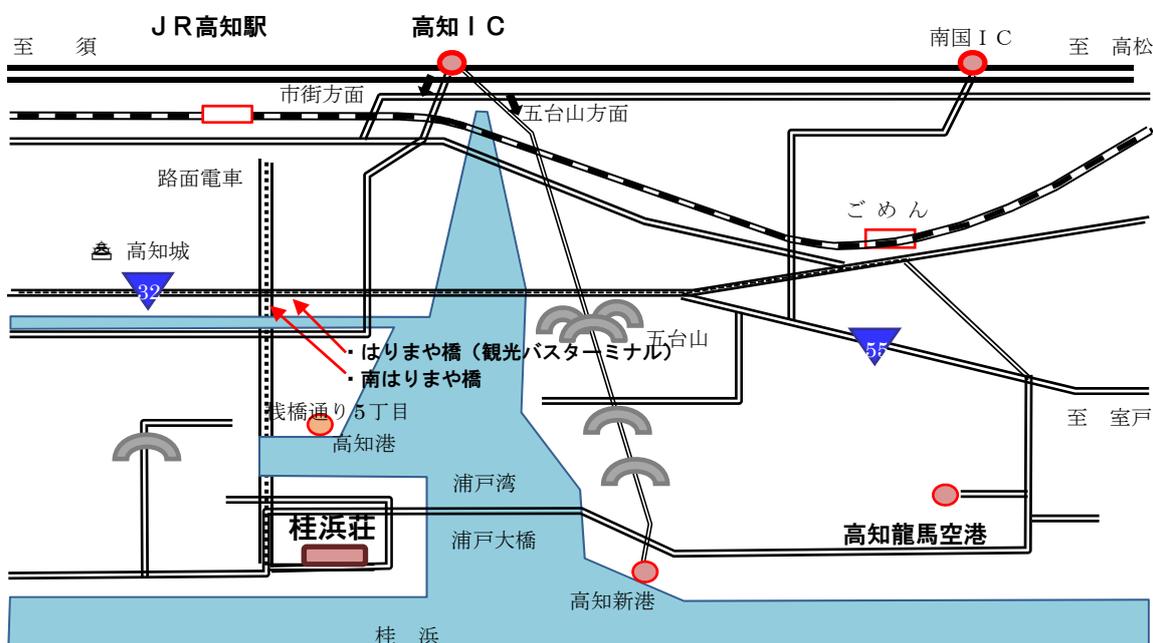
南はりまや橋（とさでん交通バス桂浜行）→龍馬記念館前・桂浜荘入口〈徒歩2分〉→桂浜荘

●JR 高知駅

駅前より路面電車→はりまや橋下車（とさでん交通バスに乗り換え）

南はりまや橋（とさでん交通バス桂浜行）→龍馬記念館前・桂浜荘入口〈徒歩2分〉→桂浜荘

14. 会場へのご案内



●高知龍馬空港より

- ・ 市街方面バス⇒はりまや橋（観光バスターミナル）で下車（乗換）⇒南はりまや橋／桂浜行に乗車⇒龍馬記念館前・桂浜荘入口（徒歩2分）⇒桂浜荘
高知龍馬空港からはりまや橋の空港バスは頻繁に運航しています。詳細な時刻表は空港連絡バス（とさでん交通株式会社または高知駅前観光）でご確認ください。
南はりまや橋バス時刻表はとさでん交通⇒停留所別時刻表⇒南はりまや橋⇒桂浜行き：S3でご確認ください（平日と土日祝の運行区分にご注意ください）。
- ・ タクシーで約30分

●JR高知駅より

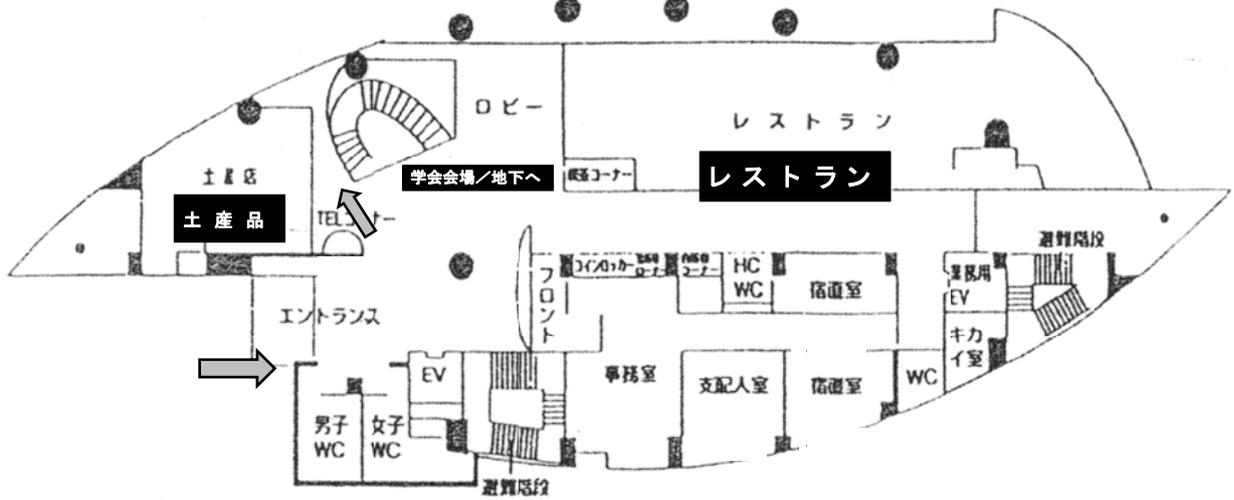
- ・ 駅前より路面電車⇒はりまや橋下車で下車（乗換／電車⇒バス）⇒南はりまや橋／桂浜行に乗車⇒龍馬記念館前・桂浜荘入口（徒歩2分）⇒桂浜荘
高知駅前電車の時刻表は「とさでん交通⇒電車⇒時刻表・路線図⇒停留所名から時刻表を探す⇒高知駅前」でご確認ください。
南はりまや橋バス時刻表は、「とさでん交通⇒停留所別時刻表⇒南はりまや橋⇒桂浜行き：S3」でご確認ください（平日と土日祝の区分にご注意ください）

●高知ICより

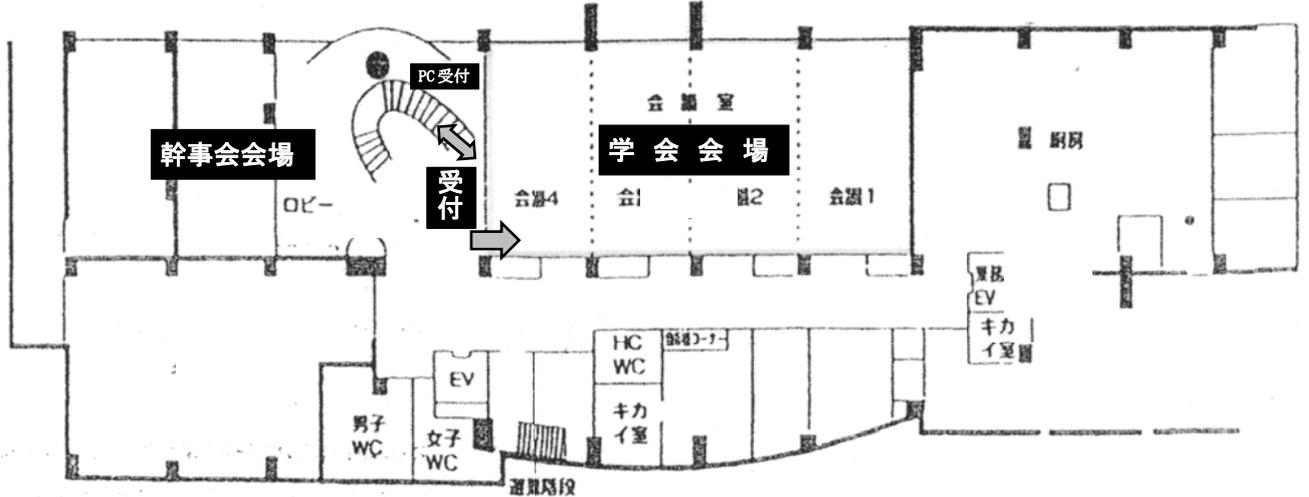
- ・ 高知自動車道（高知IC）⇒南へ（五台山・桂浜方面）約15km「龍馬記念館前」バス停を左に登る（所要時間：約35分）

15. 会場内のご案内

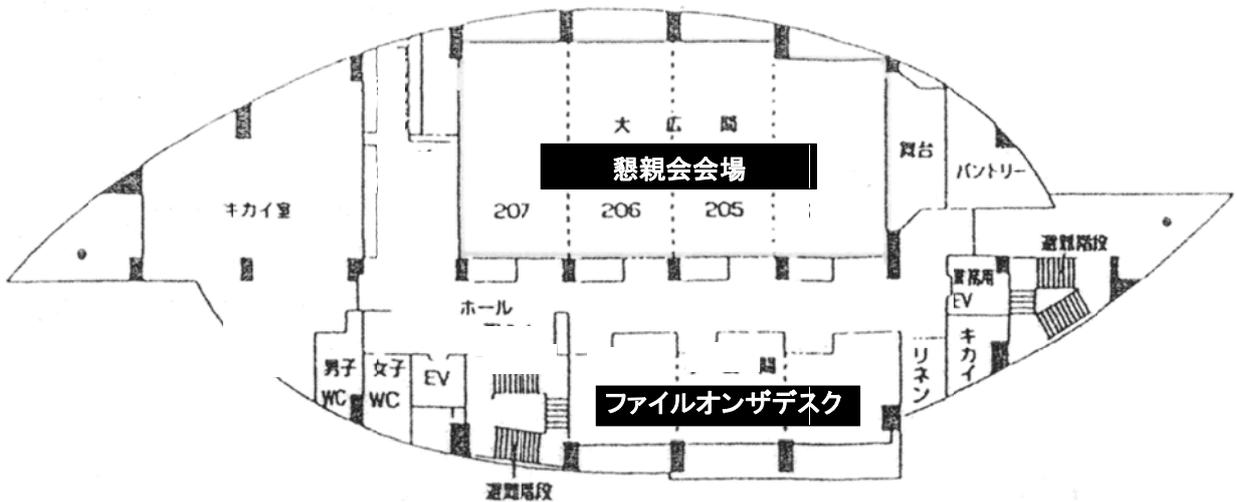
受付・レストラン／国民宿舎桂浜荘 1階



学会・幹事会会場／国民宿舎桂浜荘 地下



懇親会会場・ファイルオンザデスク／国民宿舎桂浜荘 2階



第33回 日本下垂体研究会学術集会プログラム概要

- 吉村賞受賞講演：腺下垂体形成におけるカドヘリンの役割に関する研究
菊地 元史（自治医科大学）
座長：松田 恒平
- 特別講演1：下垂体腫瘍の新WHO分類2017：形態から転写因子へ
長村 義之
（慶応大学医学部・国際医療福祉大学大学院・日本鋼管病院）
座長：井下 尚子（虎の門病院） 蔭山 和則（弘前大学）
- 特別講演2：前多敬一郎教授追悼講演
前多敬一郎が歩んだ人生：研究者として教育者として
束村 博子（名古屋大学）
座長：上田 陽一（産業医科大学） 西 真弓（奈良県立医科大学）
- 教育講演：下垂体における分泌現象の電気生理学的・形態学的基盤
高野 幸路（北里大学）
座長：岩崎 泰正（高知大学）
共催：帝人ファーマ（株）
- シンポジウム1：日本における下垂体研究の潮流
浦野 明央（北海道大学）
菊山 榮（早稲田大学）
- シンポジウム2：下垂体学の Cutting Edge 2018
屋代 隆（自治医科大学医学部、帝京平成大学健康メディカル学部）
加藤 幸雄・加藤 たか子（明治大学内分泌研究所）
汾陽 光盛（北里大学・岡山理科大学）
座長：針谷 敏夫（明治大学） 金崎 春彦（島根大学）
- シンポジウム3：下垂体研究の未来と展望
相澤 清香、他（岡山大学大学院自然科学研究科、他）
東 森生、他（自治医科大学医学部薬理学講座・分子薬理学部門、他）
甲賀 大輔、他（旭川医科大学解剖学講座・顕微解剖学分野）
須賀 英隆、他（名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学）
座長：藤原 研（自治医科大学） 中村 和昭（国立成育医療研究センター）
- 若手最優秀発表賞候補演題
- 一般演題

第33回 日本下垂体研究会学術集会プログラム タイムテーブル

第33回日本下垂体研究会学術集会プログラム			
	8月17日(金)	8月18日(土)	8月19日(日)
7:00		6:30 朝食	6:30 朝食
8:00		8:00 一般演題 4	8:00 一般演題 6
9:00		8:45 一般演題 5	9:00 教育講演
10:00		9:40 特別講演 2 前多敬一郎先生追悼講演	9:50 シンポジウム 3 下垂体研究の未来と展望
11:00		10:40 シンポジウム 1 日本における下垂体研究の 潮流	
	11:00 幹事会		
12:00	12:00 受付開始	11:50 評議員会・総会	11:50 閉会式 受賞者発表・表彰 12:00 閉会の挨拶
	12:45 開会の挨拶	12:10 昼食	
13:00	12:50 最優秀発表賞候補演題	13:10 吉村賞受賞講演	
14:00	13:50 一般演題 1	13:50 シンポジウム 2 下垂体学の カッティングエッジ 2018	
	14:35 一般演題 2		
15:00	15:15 一般演題 3		
16:00		15:30 エクスカーション	
	16:00 特別講演 1 下垂体腫瘍の新 WHO 分類		
17:00	17:00 懇親会 1 龍馬記念館貸切見学		
18:00	18:00 夕食・入浴		
19:00			
20:00	20:00 懇親会 2 高知の地酒飲み比べ	20:00 入浴・自由時間	
21:00	よさこい踊り	21:00 ファイルオンザデスク	
	ファイルオンザデスク		
22:00			

第33回 日本下垂体研究会学術集会プログラム

8月17日(金)

■ 開会の挨拶 12:45

若手最優秀発表賞候補演題 12:50 – 13:50

座長 堀口 幸太郎 (杏林大学) 塚田 岳大 (東邦大学)

1. Orexin と BMP-4 の相互作用とプロラクチン産生への影響：GH3 細胞を用いた検討

○藤澤 諭¹ 小松原 基志¹ 山内 尚子¹ 西山 悠紀¹ 原 孝行¹ 細谷 武史¹
当真 貴志雄¹ 稲垣 兼一¹ 和田 淳¹ 大塚 文男²

¹岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 ²総合内科学

2. キンギョ下垂体におけるメラニン凝集ホルモン (MCH) 含有神経線維とソマトラクチン (SL) 産生細胞の分布相関及び SL 分泌に及ぼす MCH 添加の影響

○酒谷 斎¹ 中町 智哉¹ 今野 紀文¹ 松田 恒平^{1,2}

¹富山大・院理工・生体制御 ²富山大・院生命融合・生体情報

3. バソインヒピンはインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ を介してアポトーシスを誘導する

○諸星 和紀 持永 亮 渡辺 つかさ 濱平 真帆 針谷 敏夫

明治大学 農学研究科 生体機構学研究室

4. 緑色光照射がホシガレイの食欲関連ホルモン遺伝子の発現に与える効果

○竹内 亮太¹ 笠木 聡¹ 水澤 寛太¹ 清水 大輔² 高橋 明義¹

¹北里大学海洋生命科学部 ²東北区水産研究所

5. USP8 遺伝子のゲノム編集による Cushing 病モデル細胞の作製と解析

○待鳥 卓 猪子 和也 川口 紘平 遠藤 彬則 福嶋 俊明 駒田 雅之

東京工業大学大学院・生命理工学院 駒田研究室

■ 一般演題 1: 下垂体の発生・分化・形態の新知見(1) 13:50 – 14:35

座長 中倉 敬 (帝京大学) 安部 由美子 (群馬大学)

- 1-1 下垂体中葉側 Marginal Cell Layer に存在する SOX2 陽性細胞の解析
 ○堀口 幸太郎^{1,2} 吉田 彩舟^{2,3} 中倉 敬⁴ 藤原 研⁵ 塚田 岳大⁶ 長谷川 瑠美¹ 瀧上 周¹ 大迫 俊二¹ 屋代 隆⁷ 加藤 たか子² 加藤 幸雄²
¹杏林大・保健 ²明治大・内分泌研 ³慈恵医大・医・生化学 ⁴帝京大・医・解剖 ⁵自治医大・医・解剖（組織） ⁶東邦大・理 ⁷帝京平成大・健康メディカル
- 1-2 下垂体特異的転写因子 *Prop1* の発現はレチノイン酸による制御を受ける
 ○吉田 彩舟^{1,2} 藤原 研³ 西原 大翔⁴ 堀口 幸太郎⁵ 加藤 たか子² 屋代 隆³ 加藤幸雄^{2,4}
¹東京慈恵医大・医・生化 ²明治大生殖内分泌研 ³自治医大・医・解剖 ⁴明治大・農 ⁵杏林大・保健
- 1-3 ラット下垂体前葉細胞における BMP-6 の作用：DNA マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析
 ○藤原 研¹ 東 森生¹ 堀口 幸太郎² 塚田 岳大³ 大野 伸彦¹ 屋代 隆^{1,4}
¹自治医大・医・解剖（組織） ²杏林大・保健 ³東邦大・理 ⁴帝京平成大・健康メディカル
- 1-4 ウナギ下垂体に発現する C 型ナトリウム利尿ペプチド 3 (CNP3) の局在解析
 矢口 美玖¹ 藤尾 恵¹ 横田 杏子¹ Marty K.S. Wong² 藤原 研³ ○塚田 岳大¹
¹東邦大・理 ²東京大・大気海洋研 ³自治医大・医・解剖
- 1-5 ラット下垂体線毛細胞の分子形態学的特徴
 ○中倉 敬¹ 鈴木 健史² 堀口 幸太郎³ 藤原 研⁴ 塚田 岳大⁵ 萩原 治夫¹
¹帝京大・医・解剖 ²札医大・医育・生物 ³杏林大・保健 ⁴自治医大・医・解剖 ⁵東邦大・理・生物分子

■ 一般演題 2：下垂体の発生・分化・形態の新知見(2) 14:35 – 15:15
 座長 吉田 彩舟（東京慈恵医科大学） 茂木 千尋（群馬大学）

- 2-1 メダカ下垂体に発現する光受容タンパク質の分子組織化学的解析
 ○佐藤 恵太¹ 菱池 政展² 大内 淑代¹
¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞組織学分野 ²同医学部医学科

2-2 マウス下垂体前葉における SCGB3A2 遺伝子発現制御機構の解明

○佐藤 鈴奈 木下 昂宗 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

2-3 下垂体糖タンパク質ホルモン・サブユニットの単独作用の可能性

○神之田有紗¹ 顧婷婷¹ 後藤佑紀¹ 坂田一郎² 坂井貴文² 御輿真穂¹ 高橋純夫¹ 竹内栄¹、相澤清香¹

¹岡山大・院自然科学 ²埼玉大・院理工

2-4 ウシ下垂体前葉における GPR120 の局在

○中村 翔^{1,2} 野田 航平^{2,3} 三輪 雅史² 美辺 詩織⁴ 松山 秀一^{2,5} 森山 隆太郎³

¹岡山理科大学 ²農研機構畜産研究部門 ³近畿大学 ⁴東京大学 ⁵名古屋大学

■ 一般演題 3：下垂体・甲状腺・副腎系の基礎と臨床 15:15 – 15:55

座長 丸山 崇（産業医科大学） 阿見彌 典子（北里大学）

3-1 視床下部室傍核小細胞性 AVP の働き：CRF ニューロン選択的 AVP 欠損マウスを用いた検討

○山形 聡¹ 佐藤 達也² 村澤 真吾¹ Ashraf Hossain Talukder² 周 麗³ 夏目 里恵³ 阿部 学³ 崎村 建司³ 井樋 慶一²

¹弘前大学医学部附属病院内分泌内科/糖尿病代謝内科 ²東北大学大学院情報科学研究科 情報生物学分野 ³新潟大学脳研究所 細胞神経生物学分野

3-2 視床下部コルチコトロピン放出因子（CRF）ニューロンを調節する神経性入力 of 同定

○杉原 史章¹ 籠谷 勇人¹ 佐々木 昭太郎¹ 内田 克哉¹ 佐藤 達也¹ 松井 広² 崎村 建司³ 井樋 慶一¹

¹東北大学大学院情報科学研究科情報生物学分野 ²同生命科学研究所超回路脳機能分野 ³新潟大学脳研究所細胞神経生物学分野

3-3 一過性全健忘を生じた下垂体機能低下症の 2 例

○山本 紘一郎（初期研修医 1 年目） 徳増 一樹 中野 靖浩 大村 大輔 安田 美帆 長谷川 功 三好 智子 小比賀 美香子 花山 宜久 大塚 文男
岡山大学病院・総合内科

3-4 TRH に対して FT3 の過大反応を呈した TSH 産生腺腫の 1 例

○大塚 文男¹ 長谷川 功¹ 安田 美帆¹ 三好 智子¹ 小比賀 美香子¹ 黒住
和彦² 井下 尚子³

¹岡山大学病院 総合内科 ²同脳神経外科 ³虎の門病院 病理診断科

休憩 15:55 – 16:00

■ 特別講演 1 16:00 – 16:50

下垂体腫瘍の新WHO分類 2017：形態から転写因子へ

長村 義之

(慶應義塾大学医学部・国際医療福祉大学大学院・日本鋼管病院)

座長 井下 尚子 (虎の門病院)

蔭山 和則 (弘前大学)

■ 懇親会 (前半) 16:50 – 18:00

高知県立龍馬記念館の貸切見学

桂浜散策

■ 食事・入浴 18:00 – 20:00

■ 懇親会 (後半) 20:00 -

高知の地酒飲み比べ、よさこい踊りなど

ファイルオンザデスク

8月18日 (土)

■ 朝食 7:00 – 8:00

■ 一般演題 4：ゴナドトロピン・プロラクチン・GH 8:00 – 8:45

座長 森山 隆太郎 (北里大学)

近藤 朱音 (四国こどもとおとなの医療センター)

4-1 最古の脊椎動物・ヌタウナギの下垂体における成長ホルモン遺伝子の同定

○内田 勝久¹ 脇 弘海¹ 宮西 弘¹ 渡邊 太朗²

¹宮崎大・農 ²東大・大海研

- 4-2 Nr4a3 の FSH・発現抑制作用と細胞外アネキシン A5 による調節
○寺島 涼太¹ 久留主 志朗¹ 汾陽 光盛²
¹北里大学獣医生理学研究室 ²岡山理科大学獣医生理学講座
- 4-3 ウシガエル下垂体前葉のプロラクチン放出に関わる甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体の同定
○蓮沼 至¹ 中野 真樹¹ 岩室 祥一¹ 山本 和俊² 菊山 榮² 小林 哲也³
¹東邦大・理・生物、²早稲田大・教育・生物、³埼玉大・院理工・生体制御
- 4-4 Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated proteins9 (CRISPR/Cas9) 法による SL- α 欠損ゼブラフィッシュおよび SL- β 欠損ゼブラフィッシュの作出
南 和希¹ 瀬川 魁² 中町 智哉¹ 今野 紀文¹ ○松田 恒平^{1,3}
¹富山大学大学院理工学研究部(理学) ²富山大学理学部 ³富山大学大学院生命融合科学教育部
- 4-5 ウシガエル幼生下垂体は 2 種類のプロラクチンを発現している
○岡田 令子¹ 鈴木 雅一¹ 伊藤 希実¹ 兵藤 晋² 菊山 榮³
¹静岡大学総合科学技術研究科 ²東京大学大気海洋研究所 ³早稲田大学教育・総合科学学術院
- 4-6 心臓繊維芽細胞に対するバソインヒビンのサイトカイン因子解析
○濱平 真帆 諸星 和紀 針谷 敏夫
明治大学大学院農学研究科生体機構学研究室

■ 一般演題 5：生殖内分泌 8:45 – 9:40

座長 大蔵 聡 (名古屋大学) 折出 亜希 (島根大学)

- 5-1 視床下部弓状核(ARC)キスペプチン発現ニューロンを用いたネガティブフィードバック機構に関する検討
○Tuvshintugs Tumurbaatar 金崎 春彦 折出 亜希 Tumurgan Zolzaya 岡田 裕枝 原 友美 京 哲
島根大学医学部産科婦人科

5-2 視床下部前腹側室周囲核(AVPV)キスペプチン発現ニューロンにおける RFRP-3 の役割について

○Tumurgan Zolzaya 金崎 春彦 Tuvshintugs Tumurbaatar 折出 亜希 岡田 裕枝 原 友美 京 哲
島根大学医学部産科婦人科

5-3 シバヤギの GnRH パルス発生メカニズムにおけるセロトニンの役割

○森島 愛¹ 佐々木 拓弥¹ 舘林 亮輝¹ 北川 悠梨¹ 森田 康広¹ 松山 秀一¹ 井上 直子²、上野山 賀久²、東村 博子²、大蔵 聡¹
¹名大院生命農・動物生産科学 ²名大院生命農・動物生殖科学

5-4 シバヤギにおけるパルス状 GnRH 分泌調節メカニズムに対するアミリンの作用

○北川 悠梨¹ 佐々木 拓弥¹ 森島 愛¹ 舘林 亮輝¹ 森田 康広¹ 松山 秀一¹ 井上 直子² 上野山 賀久² 東村 博子² 大蔵 聡¹
¹名大院生命農・動物生産科学 ²名大院生命農・動物生殖科学

5-5 視床下部室傍核 (PVN) に局在するダイノルフィン A ニューロンが低栄養時の黄体形成ホルモン (LH) の分泌抑制に関与する可能性

○土田 仁美 河合 成美 出浦 慎哉 井上 直子 上野山 賀久 東村 博子
名古屋大学大学院生命農学研究科 動物生殖科学研究室

■ 特別講演 2 前多敬一郎先生追悼講演 9:40 – 10:30

前多敬一郎が歩んだ人生：研究者として教育者として

東村 博子 (名古屋大学)
座長 上田 陽一 (産業医科大学)
西 真弓 (奈良県立医科大学)

■ 休憩 10:30 – 10:40

■ シンポジウム 1 (レジェンドシンポジウム) 10:40 -11:50

日本における下垂体研究の潮流

座長 河田 光博 (京都府立大学・佛教大学)
高橋 明義 (北里大学)

1. 視床下部神経分泌系の比較内分泌学的研究
浦野 明央 (北海道大学)

2. 両生類をモデルとした腺性下垂体の研究
菊山 榮 (早稲田大学)

■ 評議員会・総会 11:50 - 12:10

■ 昼食休憩 12:10 - 13:10

■ 吉村賞受賞講演 13:10 - 13:50
腺下垂体形成におけるカドヘリンの役割に関する研究
菊地 元史 (自治医科大学)
座長 松田 恒平 (富山大学)

■ シンポジウム2 (YKK シンポジウム) 13:50 - 15:30
下垂体学の Cutting Edge 2018
座長 針谷 敏夫 (明治大学)
金崎 春彦 (島根大学)

1. 下垂体前葉組織は細胞とそれを支持する結合組織から構成される
屋代 隆 (自治医科大学医学部、帝京平成大学健康メディカル学部)

2. 異なる起源の細胞が下垂体を構築している
加藤 幸雄・加藤 たか子 (明治大学内分泌研究所)

3. GnRH-アネキシン A5 研究で見えた性腺刺激ホルモン分泌調節の新機構
汾陽 光盛 (北里大学・岡山理科大学)

■ エクスカーション (貸切バスによる高知市内の見どころ周遊) 15:30 - 20:00
高知県立牧野植物園見学
竹林寺周辺散策
高知市中心街
高知城、ひろめ市場、高知城歴史博物館など
(夕食は、ひろめ市場ないしその周辺で可能です)。

■ 入浴・自由時間 20:00 - 21:00

■ ファイルオンザデスク 21:00-

8月19日(日)

■ 朝食 7:00 – 8:00

■ 一般演題6：グルココルチコイド・免疫系・動物モデル 8:00 - 9:00

座長：置村 康彦（神戸女子大学） 亀谷 美恵（東海大学）

6-1 グルココルチコイド受容体アンタゴニストの投与がクッシング症候群モデルラットの下垂体-副腎系へ与える効果について

○安田 敦¹ 関 敏郎¹ 関 昌美² 北島 夏見¹ 梅澤 智史¹ 深川 雅史¹

¹東海大学腎内分泌代謝内科 ²聖隷沼津病院内科

6-2 乳癌新規ペプチドワクチン開発のためのヒト化マウスモデル

○中田 峻輔

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学・亀谷研究室

6-3 ヒト化 NOG-hIL-4-Tg マウスにおける B 細胞機能とグルココルチコイド受容体発現の関連性の解析

○亀谷 美恵¹ 関 敏郎² 宮本 あすか^{1,3} 大島 志乃¹ 大野 裕介¹ 安田 敦²
徳田 裕³ 安藤 潔⁴

¹東海大学医学部・基礎医学系・分子生命科学 ²同内科学系・腎内分泌代謝学 ³同外科学系・乳腺内分泌外科 ⁴同内科学系・血液・腫瘍内科学

6-4 ヒト妊娠免疫モデルとしての妊娠ヒト化マウスの解析

○大野 裕介¹ 伊藤 亮治² 和泉 俊一郎³ 伊藤 守² 亀谷 美恵¹

¹東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 ²公益財団法人実験動物中央研究所
³東海大学医学部専門診療学系産婦人科学

6-5 新たに見いだした自然発生矮小変異マウスにおける内分泌学的解析

○佐藤 貴弘 大石 佳苗 児島 将康

久留米大学分子生命科学研究所

6-6 ラット正中隆起外層におけるエストロゲン依存的なバゾプレッシン動態の検討

○西村 和朗^{1,2} 眞田 賢哉¹ 別府 拓紀¹ 秋山 泰樹¹ 西村 春来¹ 田中 健太

郎¹ 園田 里美¹ 上野 啓通¹ 吉村 充弘¹ 丸山 崇¹ 吉野 潔² 上田 陽一¹
¹産業医科大学医学部第1生理学 ²同産科婦人科学

■ 教育講演 9:00 – 9:50

興奮性細胞としての下垂体前葉細胞の生理と病態

高野 幸路 (北里大学)

座長 岩崎 泰正 (高知大学)

休憩 9:50 – 10:00

■ シンポジウム2 (若手シンポジウム) 10:00 – 11:50

下垂体研究の未来と展望

座長 藤原 研 (自治医科大学) 中村 和昭 (国立成育医療研究センター)

1. 下垂体隆起部で発現する因子とその制御機構
相澤 清香、他 (岡山大学大学院自然科学研究科、他)
2. 下垂体前葉組織における基底膜の構成と機能
東 森生、他 (自治医科大学医学部薬理学講座・分子薬理学部門、他)
3. 新たな形態学的アプローチによる下垂体前葉細胞の3D構造解析
甲賀 大輔、他 (旭川医科大学解剖学講座・顕微解剖学分野)
4. 試験管内で再現する下垂体発生
須賀 英隆、他 (名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学)

■ 閉会式・最優秀発表者受賞式 11:50 – 12:00

■ 閉会の辞 12:00

腺下垂体形成におけるカドヘリンの役割に関する研究

菊地 元史

自治医科大学医学部総合教育 kikuchim@jichi.ac.jp

18年前、屋代隆先生の研究室に加えていただいた際、曾爾疆先生が描かれた前葉組織の模式図を示され、“これに纏わる研究テーマを”というお題を頂戴した。局所的にみると、ラット下垂体前葉には基底膜に取り囲まれた小葉構造がみられる。この中に5種類のホルモン産生細胞が存在するが、小葉の中心には無顆粒細胞の集団が位置し、偽濾胞を形成している。いわゆる濾胞星状細胞である。この組織学的特徴を説明するために、各種細胞接着因子を組織学的に探索した。すると、カドヘリンについて興味深い知見が得られた。ホルモン産生細胞がN-カドヘリンのみを発現しているのに対して、濾胞星状細胞は、N-カドヘリンとE-カドヘリンを共に発現させていたのだった。小葉の成り立ちについては、この差次的発現によって凡そ説明がつくが、ホルモン産生細胞と濾胞星状細胞が共に胎性口腔上皮に由来するならば、細胞発生の過程で cadherin switching が起こっていると考えざるを得ない。発生を追って調べると、胎生11日、口咽頭膜前方の上皮に特異的にE⁺N⁺の細胞群が認められた。この細胞群が間葉増生に伴って嵌入を起こしてラトケ嚢となった。この過程は、眼杯による水晶体の誘導によく似ている。ただし、腺下垂体では、その後もE-カドヘリンの共存状態が続き、ホルモン産生を開始するのと共に個々の細胞で消失することがわかった。ホルモン産生をしない細胞は、E⁺N⁺のまま生後まで残り、濾胞星状細胞、マージナルセルレイヤー細胞、中葉の非ホルモン産生細胞群となった。前葉細胞を分散して初代培養を行うと細胞選別が起こり、E⁺N⁺細胞を中心にホルモン産生細胞を周辺に配した細胞塊が形成された。E⁺N⁺の細胞には特異的にSOX2の発現がみられ、未分化の性格を備えていると考えられた。さらにこの細胞集団内には、Notch-jaggedのjuxtacrineシグナル、CXCL-CXCRのparacrineシグナルが同定された。Notchシグナルは、CKIを抑制して分裂を促進すること、また、E-カドヘリンの阻害によってSOX2発現細胞が減少することもわかった。以上、まだ完結には程遠い段階ではあるが、下垂体前葉に、カドヘリンの差次的発現によって相互に働くユニークな未分化細胞維持機構が存在することを推測している。分化した細胞がCadherin switchingを起こすことは、連鎖的な細胞分化を防ぐ仕組みにもなっていると思われる。腺下垂体の組織構築には、液性因子だけでなく細胞接着も大きくかかわっている。その一端をお話し出来たら幸いである。

下垂体腫瘍の新WHO分類 2017：形態から転写因子へ

長村 義之

慶應義塾大学医学部・国際医療福祉大学大学院・日本鋼管病院 osamura@iuhw.ac.jp

WHOによる内分泌腫瘍の分類第4版は2017年6月に発刊された。内容は、下垂体、甲状腺、副甲状腺、副腎皮質、副腎髄質、膵臓および遺伝性腫瘍症候群に分かれ細かい記載がなされている。2004年に出版されたWHO第3版から10年以上も経過している。その間に下垂体では転写因子がクローニングされ、その機能分化のほぼ全貌が明らかとなった。それに伴って下垂体細胞および腫瘍の分類は形態学的に加えて転写因子により整理されることになった。種々の転写因子の関与が明らかとなり、多くの下垂体腺腫が分化した下垂体細胞に由来することも判明し、WHO第4版では、それぞれ somatotroph adenoma, lactotroph adenoma, corticotroph adenoma などと呼称されるようになった。また、null cell adenoma では、ホルモン陰性の他、転写因子陰性も定義に含まれることとなった。2004年に提唱された atypical adenoma は、該当する症例が少なく、Ki67 指標の意義は認めるものの、必ずしも臨床的な諸因子との相関が高くないなどの理由から今回は推奨しないこととされた。一方、Knosp Grade 3,4 のように浸潤性の増生を来す腫瘍にみられる形態学的な特徴として、fibrous body(keratin のドット状の封入体)を伴う sparsely granulated somatotroph adenoma, 核周囲に (リング状の keratin) を伴う Crooke cell corticotroph adenoma がクローズアップされてきている。下垂体腫瘍の病理診断では、腫瘍の名称の他、Ki67, keratin(CAM5.2)、更には SSTR2,5, MGMT,MSH などの治療効果の予測因子も含めて記載するよう推奨されている。遺伝的な背景を有する腫瘍群として、MEN1, Carney's complex などの疾患では、GH,PRL の産生の頻度も多く、転写因子 Pit-1 の関与も示唆されている。本講演では、転写因子および形態学的変化を踏まえた WHO 分類をもとに下垂体腫瘍の生物学的な特徴を論じてみたい。

前多敬一郎が歩んだ人生：研究者として教育者として

東村 博子

名古屋大学大学院生命農学研究 htsukamura@nagpya-u.jp

前多敬一郎先生の研究人生は、東大附属牧場から始まった。彼は、「ヤギにおける季節繁殖発現の制御機構に関する研究」により、1985年3月に東京大学より農学博士の学位を授与された。同年4月から2012年6月まで名古屋大学農学部(大学院生命農学研究科)および農学国際教育協力研究センターにおいて、2012年7月より東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻で、研究と教育に従事し、大きな成果を残した。前多は一貫して、食に責任を持つ農学の重要性を訴え、高いビジョンを掲げ、自身の研究が家畜の繁殖率の向上に資する事を目標として研究を行った。同時に、農学を学ぶ学生にも、その意義を説いていた。前多は、人との出会いを大切にし、同僚や若い人達に沢山の指針を示し、教育者としても大いに尊敬されていた。さらに、母校である東大では、専攻長として、獣医学教育の国際化やアジアを中心とした国際貢献にも尽力していた。自分の事は二の次で、常に人のために奔走していた姿を思い出す。



前多は、名大農学部に赴任後、演者とともに「泌乳期の生殖機能抑制の脳内メカニズム」の解明に着手した。その後、彼の研究におけるライフワークとなった課題の一つは、「栄養による生殖機能の制御メカニズム」である。低栄養によって生殖機能が抑制される機構の解明に取り組み、脳内エネルギーセンサーや、GnRH/ゴナドトロピン分泌抑制に至る神経経路について、多くの成果を残した。また、彼のライフワークとしてのもう一つの課題は、GnRHパルスジェネレーターの解明であった。様々な状況証拠から、その本体は、GnRHニューロンそのものではなく、他の何らかのニューロン群であるという仮説を提唱していた。この研究は、前多が大学院生だった頃、東大附属牧場で、先輩の故森裕司先生と東大牧場の土の上に、小枝で視床下部一下垂体-性腺軸のスキムを描きながら、語り合ったことが原点にある。運命的にも、その後のGnRHパルスジェネレーターの研究が、後の武田薬品の大瀧博士らとの共同研究を機に開始したキスペプチン研究に直結していった。今日では、キスペプチンニューロンが種を越えてGnRHニューロンの活動を支配する生殖中枢であることは広く知られるが、当時は、特に注目されてもいなかった。我々は、キスペプチン研究を始めてすぐに、GnRH/LHサーージとパルスや、ステロイドのフィードバックの謎が解明できると直感したものである。その後の研究により、視床下部弓状核に局在するキスペプチンニューロンがGnRHパルスジェネレータ本体であり、視索前野/前腹側室周囲核に局在するキスペプチンニューロンがGnRHサーージ中枢であることが確実になりつつある。

前多は、2018年2月3日に腹部大動脈瘤破裂により、62歳で急逝した。志半ばで逝った彼の遺志を継いで、研究・教育の発展に尽力する覚悟である。

興奮性細胞としての下垂体前葉細胞の生理と病態

高野幸路

北里大学内分泌代謝内科学 ktakanotky@gmail.com

下垂体前葉細胞はペプチドを産生し調節的に分泌する神経内分泌細胞である。水溶性の物質であるペプチドは最終的に dense-core granule に貯蔵され、開口分泌という高度に分化した機構で分泌される。膵・消化管などに分布する神経内分泌細胞と同様に、多くの下垂体前葉細胞は興奮性を有し、活動電位の頻度や形の調節を介して分泌を制御している。本口演では、おもにラットとヒトの下垂体前葉細胞における電氣的興奮性とその制御機構、機能性下垂体腺腫細胞などの電氣的興奮性の変化について、その基礎となるイオンチャネルの性質とともに解説する。

電氣的興奮性の変化によって、開口分泌現象が生じるが、その解析には細胞の電気容量の変化、カーボンファイバーを用いた電気量による解析、可視化解析などが行われてきた。それぞれに一長一短がある。組織構築がその機能に重要と考えられる下垂体細胞において生理的現象や病態の解析を行うためには、細胞を分散しない状態での解析が望ましいことは、還流実験などから明らかになった。また細胞にトランスフェクションなどを行うと、開口分泌などの一部の生理的現象が変化することも明らかになってきた。そのため、蛍光蛋白質などを用いない開口分泌の観察をなるべく生理的状态に近い細胞集塊で観察することを試みた。

刺激による開口分泌は集塊の細胞数が増加すると増加し、数十以上になるとほぼ飽和する。これは、ラットの下垂体前葉細胞を用いた場合も、ヒトの機能性腺腫を用いた場合も同様である。また、正常下垂体前葉細胞をカバーガラス上に培養し集塊を作成すると接着面には分泌細胞はほとんど分布しないことも明らかになった。これらを勘案して最も開口分泌が観察しやすい条件で刺激下の開口分泌、正常細胞での自発的開口分泌、機能性下垂体腺腫での制御を受けない開口分泌を観察した結果を報告する。また治療に用いられる薬物の作用についても解説したい。

視床下部神経分泌系の比較内分泌学的研究

浦野 明央

北海道大学・名誉教授 akihisa_urano@s8.dion.ne.jp

ニューロンが内分泌細胞のように何かを分泌している，すなわち「神経分泌」という概念が初めて提唱されてから 100 年近く，視索上核や室傍核の神経分泌細胞から神経下垂体への投射が示されてから 70 年になるが，その研究史を手繰ってみると，比較内分泌学的なアプローチの大きな貢献に気付かされる。

概念の確立と展開 神経分泌細胞は，脳内のニューロンと多くの性質を共有するため「少なくとも軸索側枝の1つが血管に接しているニューロン」と定義されるようになった，神経下垂体に投射し，下垂体を介して内分泌機能を調節するだけでなく，脳内各部位にも軸索を送って中枢機能の制御に関わっていることが分かってきたためである。このような時期に「神経分泌 (UP バイオロジー, 1980)」の執筆に関わった演者は，下垂体と中枢に投射する神経分泌細胞は，両者の機能を統合し，遺伝的にプログラムされた本能行動を制御している，と考えるに至り，当初はヒキガエル，次いでサケ・マス類を用いて研究を進めた。対象とした本能行動は，産卵時に生まれた場所に回帰する移動行動である。

形態学的アプローチ 「脳を知りたいなら，まず形をよく知りなさい」という恩師の言葉に従い，ヒキガエルの視索前核をゴルジ電顕法，逆行性 HRP 法，免疫染色 (ABC) 法により精査した。移動行動を制御する視蓋深部に GnRH ニューロンとバソトシンニューロンが投射していた。また，第三脳室の周囲に細胞体が集まっている下等脊椎動物では，神経突起が枝を広げているニューロン集団の外縁部が情報処理に重要であることを見いだした。一方で，特定の遺伝子を発現しているニューロンを，RI 標識した合成 DNA により検出する *in situ hybridization* 法を開発した。

生理学的アプローチ 神経ホルモンによる下垂体と中枢の同時的な制御を確認するため，雄ヒキガエルの脳室内に GnRH を微量投与する実験を行い，血中アンドロゲンの上昇と脳波の賦活化を観察することができた。また，*in vitro* 系においたニジマスの脳で，GnRH によるバソトシンニューロンおよびイソトシンニューロンの活性化や，視蓋深部ニューロンの活動電流の増大が観察された。

分子生物学的アプローチ サケの母川回帰にともなうホルモン遺伝子の発現変動を正確に表現するために，qPCR 法を導入し，下垂体ホルモン mRNA を定量した。目下，下垂体ホルモン mRNA について得られた結果を，間脳の RNA-seq の結果と照合しているところである。高知ではその結果まで紹介したいと考えている。

両生類をモデルとした腺性下垂体の研究

菊山 榮

早稲田大学 教育・総合科学学術院 kick-yama@waseda.jp

両生類は変態および体色変化という、いずれも下垂体ホルモンが関与する現象を示す動物であるとともに、胚に操作を施したうえで容易に発生を継続させ得る特徴をもつ。演者は多くの共同研究者と、上記の現象を指標とし、同時に両生類胚のもつ利点を生かして、腺性下垂体の構造・機能および発生の研究を半世紀以上続けてきた。得られた主な知見を述べて参考に供したい。

1960年代初頭までに、変態に関与する下垂体ホルモンとして甲状腺刺激ホルモン(TSH)、次いで副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)が登場し、更にプロラクチン(PRL)が参入してきた。当初 PRL には幼生器官の発達と変態を抑制する作用があることで注目された。我々は下垂体や血液中の PRL の動態を探るための手段として、ウシガエルの PRL を単離・同定し、放射免疫測定法の開発と cDNA クローニングを行った。それらを用いて従来推定されていたものとは異なる結果を得、変態最盛期の PRL の主な役割は成体器官の発達促進にあるという説を提唱した。また、TSH, ACTH および PRL の分泌を促進する主たる因子は、それぞれ副腎皮質刺激ホルモン放出因子、アルギニンヴァソトシンおよび甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンであり、哺乳類における場合と必ずしも一致しないことを示した。

両生類は置かれた背景の色に応じて背地反応とよばれる体色変化を起こす。その際、下垂体中葉細胞が分泌する黒色素胞刺激ホルモン(α -MSH)の多寡によって真皮の色素細胞中のメラニン顆粒の拡散・凝集がおこり、それが体色変化につながる。我々は MSH の分泌抑制因子はドーパミンであることを確認したうえで、ヒキガエルの幼生では MSH 分泌抑制機構が作動していないことに着目し、この幼生を用いて MSH の分泌抑制センターをつきとめた。

一般に中葉は血管を欠き、前葉には発達した血管網が見られる。我々は中葉の MSH 細胞が血管内皮増殖因子を特異的に発現するトランスジェニック・ツメガエルを作り、血管系の発達が中葉の機能低下をもたらす可能性を示した。

腺性下垂体は口腔上皮から発生するというのが定説であった。しかし、両生類の下垂体原基は口が形成される以前に既に存在する。我々はヒキガエルの野生型胚とアルビノ胚を用いた交換移植実験により、腺性下垂体を形成する主たる細胞群は神経外胚葉由来であり、神経板前端的の神経隆起から発して原腸先端部に宿り脳底に移動することを示した。

異なる起源の細胞が下垂体を構築している

加藤 幸雄 加藤 たか子

明治大学内分泌研究所 yukato@meiji.ac.jp

私達の最後の約 10 年間の研究で、下垂体特異的転写因子 PROP1、幹・前駆細胞マーカー-SOX2、Ca²⁺結合タンパク質 S100 β を指標として、神経外胚葉と下垂体プラコードに由来する細胞群が構築する下垂体に、神経堤由来の細胞群が侵入し、血管系細胞ばかりでなく、全ての種類のホルモン産生細胞へと分化し、この組織の一部となることを明らかにした。

私達は、PROP1 を One-Hybrid System によりクローニングし、特異抗体を作製していた。一方、脳の記憶に関連するタンパク質として発見された酸性タンパク質 S100 β は、私達が学生時代に初めて研究対象としたタンパク質であり、この時、加藤たか子が抗体を作製している。この抗体を使って群馬大学・医・病理学教室から下垂体の S100 β 陽性細胞が初めて報告されている。その当時の私達は、群馬大学の別の研究室で異なる研究に従事していた。

私達は、20 世紀末に明治大学農学部に出向し、群馬大学から埼玉大学に出向した井上金治教授によって作製されていた S100 β -TG ラットの供与を受け、自作した PROP1 の特異抗体を使って下垂体の幹細胞の研究に取り組んだ。S100 β の機能は依然として定かではないが、その結果は驚くべきもので、S100 β 陽性細胞の約 85%は、幹・前駆細胞とされる細胞群であった。さらに、一部の S100 β 陽性細胞は、胎仔期に下垂体外から侵入し、血管を構成する細胞に加え、神経堤細胞マーカー-p75 陽性の細胞もあった。

私達の研究の最後として、神経堤細胞研究に使われている P0-Cre マウス、を東北大学・大隅典子教授の協力を得て解析する機会を得ることができた。その結果、発生初期の下垂体原基に P0 陽性細胞が第一波として侵入することをはっきりと捉えることができ、さらに、その後の組織で P0 系譜の全種のホルモン産生細胞を確認した。また、遅れて侵入する第二波の P0 系譜の細胞がペリサイト様細胞となることも観察した。しかし、これらの P0 系譜の細胞は S100 β 陰性であった。一方、S100 β -TG ラットの解析から、SOX10/p75 陽性の神経堤細胞が第三波として胎仔期後期に侵入し、一部が S100 β 陽性となることを突き止めた。

無念なことに、力不足で、ここで終わってしまったが、この神経堤細胞が下垂体にとってどのような意義をもたらすものか、また、並行して進めてきた下垂体の幹・前駆細胞ニッチの解析は、後進に委ねたい。

下垂体前葉組織は細胞とそれを支持する結合組織から構成される

屋代 隆

自治医科大学医学部 帝京平成大学健康メディカル学部 tyashiro@jichi.ac.jp

組織学を学ぶ学生に、総論の最初の講義で、「生体は上皮組織、支持組織、筋組織、神経組織から成り立ち、そして組織は細胞とそれを支持する結合組織から構成される。」と教える。それでは下垂体では？、という基本的な疑問が我々の研究グループの研究課題であった。

下垂体前葉は、ホルモン産生細胞と非ホルモン産生細胞である濾胞星状細胞から構成されることは言うまでもない。しかし、これら以外に血管系細胞もあるし、多種多様な細胞外マトリックスもある。コラーゲン、プロテオグリカン、フィブロネクチン、ラミニニンらが細胞外マトリックスの代表であるが、それらは細胞外の組織を充填して骨格的役割をはたす以外に、細胞の分化、増殖、さらに機能等に重要な影響を及ぼすことが知られている。最近では、再生医療などに応用されるなど大変な注目を集めている。内分泌組織においても、必ず何らかの役割があるに違いないが、ほとんど研究はされてこなかった。例えば、下垂体前葉内のどの細胞が細胞外マトリックスをつくっているのか、といった単純なことすらわかっていなかった。

一方、ヒト下垂体腫瘍には多くの種類がある。主に産生ホルモンの違いで分類されているが、いろいろな腫瘍組織の固さが存在し、固いものは摘除時の障害になることさえあるという。もちろん正常細胞のみならず、細胞外マトリックスは腫瘍発生、腫瘍細胞の分化、増殖等に影響を与えることは、総論的によく知られている。しかしながら、下垂体腫瘍組織における細胞外マトリックスの動態に関しても、ほとんど知見がない。

著者らの研究室では、正常下垂体前葉、ヒト下垂体腫瘍組織における細胞外マトリックスの動態に関する研究を長年継続してきた。その結果、特定あるいは非特定の細胞外マトリックスが、特定の細胞の増殖や機能亢進を促すこと、特定の細胞からのホルモン放出を促進すること、さらに特定の細胞のネットワーク形成を促進することにより下垂体前葉の組織構築形成に関与すること、などの重要な知見が得られた。本講演では、「形態学の復権」とまではいわないまでも、形態学という立ち位置からそれらを総括したい。

GnRH-アネキシン A5 研究で見えた性腺刺激ホルモン分泌調節の新機構

汾陽 光盛

岡山理科大獣医学部 m-kawaminami@vet.ous.ac.jp

アネキシン A5 (ANXA5)は、分子量 36k の単純たんぱく質で、分子内に約 60 アミノ酸残基から成る 4 回の繰り返し構造を持つファミリーたんぱく質の一つである。ANXファミリーのたんぱく質は、カルシウム結合性やリン脂質への親和性を示すこと、動物種間で構造の相同性が高いこと、植物にも類縁のたんぱく質が発現していることなどから重要な生理機能を有すると推定される。ところが、ANXA1 がフォスホリパーゼ A2 を抑制することで、グルココルチコイドの抗炎症作用を媒介することが示されているものの、他のアネキシンの機能はよく分かっていない。我々は、ANXA5 が下垂体前葉に発現していること、GnRH によってゴナドトロフで ANXA5 合成の促進されること、ANXA5 が GnRH のゴナドトロピン分泌促進作用を増強することを明らかにした。更に、GnRH と ANXA5 の関係が、下垂体以外の組織にも認められること、GnRH が卵巣で黄体の退行を促すこと、乳腺で泌乳後乳腺の退縮を促進することを明らかにした。GnRH-ANXA5 系はこれら以外にも、精巣のライディッヒ細胞や前立腺、胸腺、膵島でも機能していることを発見している。様々な器官で GnRH によって ANXA5 合成が促進され、GnRH の局所作用が認められたが、実際に何が起こっているか、ANXA5 によって細胞にどのような変化をもたらされるかについては、全く分かっていなかった。ANXA5 にはシグナル配列が無いので、細胞内たんぱく質と考えられてきたが、細胞外にも存在し、胎盤では血管内皮細胞表面を ANXA5 が覆うことで不正凝固を防いでいる。ゴナドトロフの株化細胞は ANXA5 を合成するが、細胞外から加えた ANXA5 によってもゴナドトロピン分泌が促進される。そこで、GnRH 投与後のゴナドトロフにおける ANXA5 の動態を調べたところ、微小な膜顆粒（エクソソーム）が ANXA5 を含んで細胞外に放出されることを発見した。その放出量は GnRH 作動薬投与によって促進された。卵巣摘出マウスの血中にも ANXA5 を含むエクソソームが増加すること、精製したエクソソームに LH 放出促進作用の認められることを確認した。本シンポジウムではこのエクソソームを介する機構について紹介する。

下垂体隆起部で発現する因子とその制御機構

○相澤 清香¹ 坂田 一郎² 坂井 貴文² 御輿 真穂¹ 竹内 栄¹ 高橋 純夫¹

¹岡山大学大学院自然科学研究科 saizawa@okayama-u.ac.jp

²埼玉大学大学院理工学研究科

下垂体隆起部は、前葉が口吻側へ広がり正中隆起を覆うようにして存在する薄い細胞層である。隆起部は下垂体の一部であるにもかかわらず、その機能に関する研究は限られており、未だ不明な点が多い。私は研究対象として、このマイナーな？隆起部に魅力を感じ、学部生の頃より研究を行ってきた。

隆起部は、脳内で最も高いメラトニン結合部位である。そのため日周的および季節的な生理現象において重要な役割を持つのではと古くより期待されてきた。事実、隆起部の甲状腺刺激ホルモン(TSH)はメラトニンの抑制的な制御下にあり、日内リズム発現を示すとともに、メラトニンが減少する長日では発現が促進する。この TSH の発現変化は、長日繁殖動物の季節繁殖を誘導することが明らかとされている。

ラット隆起部では、ペプチドホルモンであるニューロメジン U(NMU)も高発現している。NMU 発現も TSH と同様にメラトニンによる抑制的な制御を受け、明期に高く暗期に低い日内リズムを示す。我々は近年 NMU を対象とし、隆起部のさらなる制御機構の解明を目指して解析を進めている。隆起部ではメラトニン 1a 受容体(Mt1a)に加え、アデノシン A2b 受容体(Adora2b)が高発現している。そこで隆起部にアデノシンを作用させたところ、NMU mRNA 発現が有意に促進された。さらにルシフェラーゼアッセイを用いた検討において、アデノシンが NMU プロモーターの活性を促進すること、その作用が NMU プロモーター領域に存在する cAMP 応答配列を介していることが明らかとなった。アデノシンにより、細胞内リン酸化 cAMP 応答配列結合タンパクが増加したことから、隆起部は、Gs と共役する Adora2b を介してアデノシンによる促進的な制御を受けていることが明らかとなった。

アデノシンは脳内の神経活動に伴い蓄積される脳代謝産物である。そのため隆起部は、脳の活動状態といった生体内部情報の入力を受けていると考えられる。これまでの隆起部研究はメラトニンに注目したものが多く、隆起部の機能として外部光情報を生体内へと伝える役割が広く知られていた。しかしそれだけでなく、隆起部はアデノシンによる脳内恒常性の情報も受けていること本研究で示された。隆起部は「概日時計」と「恒常性の維持」の2つの機構の入力を受け、それらの情報を統合する役割を持つのではないだろうか。本シンポジウムではこれまでに得られた所見とともに、今後の隆起部研究の展望を紹介する。

下垂体前葉組織における基底膜の構成と機能

○東 森生¹ 屋代 隆^{2,3}

¹自治医科大学医学部薬理学講座分子薬理学部門 azumam@jichi.ac.jp

²同解剖学講座組織学部門 ³帝京平成大学健康メディカル学部

生体の諸臓器は細胞と細胞外マトリックスで構築されている。下垂体前葉組織には5種類の内分泌細胞と濾胞星状細胞が実質細胞として存在し、これらの細胞は基底膜とよばれるシート状の細胞外マトリックスと接していると考えられている。また、実質細胞が接する基底膜とは別に血管内皮細胞直下の基底膜も存在し、葉内には2層の基底膜が認められる。一般的に、基底膜を構成するタンパク質は細胞が接着する足場として機能するとともに、細胞外マトリックス受容体であるインテグリンを介した情報伝達系により細胞の機能にも影響を与える。しかしながら、下垂体前葉に存在する基底膜の構成や基底膜成分が葉内の内分泌細胞にどのような影響を与えるかはわかっていない。本演題では、我々が明らかにした下垂体前葉における基底膜成分ラミニンの局在とその働きについて紹介する。

ラミニンは α 、 β および γ の3鎖で構成される。その中でも、5種類の α 鎖 ($\alpha 1$ - $\alpha 5$) はインテグリンとの結合に必須であり、ラミニンの特性を決める重要な鎖である。ラット下垂体前葉における免疫組織化学的解析の結果、実質細胞側の基底膜はラミニン $\alpha 1$ 鎖、 $\alpha 3$ 鎖、 $\alpha 5$ 鎖を含み、血管内皮細胞直下の基底膜はラミニン $\alpha 4$ 鎖、 $\alpha 5$ 鎖を含むことがわかった。実質細胞側の基底膜に含まれるラミニンは、接した内分泌細胞の機能に影響を与えることが示唆された。そこで、ラット下垂体前葉細胞の初代培養系を用いて、前葉の内分泌細胞がラミニンに反応するか否かを調べた。その結果、 $\alpha 3$ 鎖や $\alpha 5$ 鎖を含むラミニン上で培養した5種類の内分泌細胞は、扁平になるまで基質面に強く接着(伸展)し、この伸展にはインテグリンが関わっていることを確認した。さらに、 $\alpha 3$ 鎖や $\alpha 5$ 鎖を含むラミニンと前葉細胞との接着により前葉ホルモン放出が惹起される現象を見出した。

以上より、ラット下垂体前葉組織に存在する基底膜は実質細胞側と内皮細胞直下で構成が異なること、前葉の内分泌細胞は接した基底膜に含まれる特定のラミニンに反応することがわかってきた。将来的には、前葉組織内の基底膜成分が量的に変化する生理条件、基底膜成分の情報伝達系と視床下部ホルモンの情報伝達系との関連などを調べていくことで、前葉機能における基底膜の役割を示したい。

新たな形態学的アプローチによる下垂体前葉細胞の3D構造解析

○甲賀 大輔¹ 久住 聡² 渡部 剛¹

¹旭川医科大学解剖学講座 顕微解剖学分野 daisukek@asahikawa-med.ac.jp

²鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 形態科学

下垂体前葉ホルモン産生細胞の形態学的研究は、これまで主に透過電子顕微鏡(TEM)により行われてきた。一方、走査電子顕微鏡(SEM)による研究は、これまでほとんどなされていない。しかしSEMは、光学顕微鏡(LM)やTEMの切片による二次元的な観察とは異なり、観察試料を三次元的に観察することができる魅力的な装置である。特に、田中らが開発したオスミウム浸軟法を用いることで、SEMでもゴルジ装置や粗面小胞体を含む細胞内膜系の微細構造を再構築することなく立体的に観察することができる。そこで私たちはこれまで、オスミウム浸軟法を施した下垂体組織を超高分解能SEMにより観察し、各前葉細胞の同定や細胞内の立体(3D)微細構造の解析を行ってきた。SEMにより観察した下垂体前葉細胞を、従来のTEMで報告されている所見と比較すると、得られた細胞や分泌果粒の形状、細胞小器官の特徴から、各細胞のなかでも典型的なものを同定することができる。その結果、各前葉細胞のなかで、性腺刺激ホルモン産生細胞のゴルジ装置が最も良く発達しており、その形状も球体という特殊な構造であることを示すことができた。しかしオスミウム浸軟法では、細胞の固定や浸軟処理にオスミウムを使用するため、免疫組織化学手技の応用が困難であった。そこでこの問題を解決するため、私たちは近年、凍結切片法とオスミウム浸軟法を組み合わせ「蛍光イメージングとオスミウム浸軟SEM像を対比観察する新たな相関顕微鏡観察法(correlative light and scanning electron microscopy; CLSEM)」を開発した。これにより、これまで特に困難であったSEMによる下垂体前葉細胞の正確な同定が可能となった。

さらに私たちは最近、ガラスなどの固い基盤に載せた樹脂包埋組織連続切片をSEMで観察し、その連続断層像から目的構造を3D再構築する新たなイメージング技法である「連続切片SEM・3D再構築法」の開発に成功した。この新たな手法を用いることで、オスミウム浸軟法では解析が困難であった下垂体前葉ホルモン産生細胞の小胞体やゴルジ装置などの巨大な細胞小器官の3D全体像の解析が可能となった。ここでは、これまで私たちが行ってきたSEMによる下垂体前葉細胞の形態学的解析結果について順を追って説明し、SEMの下垂体研究への有用性と今後の可能性についても考察する。

試験管内で再現する下垂体発生

○須賀 英隆 有馬 寛

名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学 sugahide@med.nagoya-u.ac.jp

近年のオルガノイド技術の急速な進展は、再生医学のみならず、ヒトにおける器官発生などの基礎生物学において新しい知見をもたらし、癌や神経疾患などの様々な疾患理解に大きな貢献をするなど、生命科学、医学研究の新しいアプローチとして注目されている。

我々はこれまでに、マウスやヒト多能性幹細胞を凝集体の形で立体培養することで、下垂体前葉への分化法や、視床下部神経への分化法を確立してきた。培養の基本方針は、胎児内での発生を試験管内で再現することにある。換言すれば、発生学などでこれまで蓄積されてきた知識を細胞培養に投入することで分化法を樹立してきた。その結果、周囲環境に応答してホルモン分泌を促進あるいは減弱するという機能性を備えたホルモン産生細胞を、*in vitro* のみで分化させることが可能になった。

その使い道は、大きく分けて2つある。1つは再生医療である。ヒト臨床に利用するためには様々なマイルストーンが想定されるが、そのひとつとして分化効率や分泌能力の改善は重要課題である。その成果を供覧する。また、生物由来原料基準適合性に合致した培養法へ改変や、霊長類を用いた移植実験を実施する必要があり、現状の取組みをお示しする。

もう1つの使い道は、病態研究のモデルとすることである。遺伝子変異が原因と想定される視床下部・下垂体難病がその対象となりうる。我々の教室で以前から取り組んでいる家族性中枢性尿崩症の、疾患特異的 iPS 細胞を用いたモデル化を例示する。

その他には、発生モデルとしての利用価値があるかもしれない。生下時の幹細胞様のものの一部は、我々の分化法で作出できる可能性がある。また、視床下部と下垂体を繋ぐ門脈血管など、細胞が遊走してくることで出来上がる構造については我々の分化法では再現出来ず、これを逆手に取った組織工学研究が可能かもしれない。

以上、これまでの成果と今後の取組みについて述べる。

Orexin と BMP-4 の相互作用とプロラクチン産生への影響：GH3 細胞を用いた検討

○藤澤 諭¹ 小松原 基志¹ 山内 尚子¹ 西山 悠紀¹ 原 孝行¹ 細谷 武史¹ 当真 貴志雄¹ 稲垣 兼一¹ 和田 淳¹ 大塚 文男²

¹岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 ²総合内科学

Orexin は視床下部に発現する神経ペプチドであり、睡眠覚醒や摂食行動・自律神経系の調節など多彩な機能を発揮する。内分泌組織では下垂体や副腎・性腺などに orexin 受容体の発現が確認され、種々のホルモン分泌に影響する。しかし、orexin が PRL 分泌に与える影響については不明な点が多い。我々は、下垂体に発現する成長因子 BMP-4 が ACTH 分泌抑制的に、一方で PRL 分泌促進的に作動することを明らかにした。今回 lacto-somatotrope GH3 細胞を用いて、orexin A による PRL 分泌への影響とその機序について検討した。GH3 細胞には orexin-1 受容体 OX1 の発現を認め、orexin A 単独では GH3 細胞における PRL mRNA レベルに影響を与えないが、forskolin 誘導下において orexin A は PRL mRNA レベルを抑制した。Orexin A は forskolin で誘導される cAMP レベルには影響を与えないが、BMP-4 で誘導される cAMP 産生を抑制した。BMP-1 型受容体活性を LDN193189・dorsomorphin で阻害すると PRL mRNA 発現が抑制されたことから、内因性の BMP が PRL 産生を促進している可能性が示唆された。BMP-Smad 経路に対する orexin の影響を検討すると、orexin A は BMP-4 により誘導される Smad 1/5/9 のリン酸化および BMP 標的遺伝子 Id-1 の発現レベルを減弱し、この作用は orexin 受容体阻害薬によって解除された。一方、BMP-4 は OX1 受容体の発現を抑制した。さらに、orexin A が抑制性 Smad6/7 の発現レベルを増強し、BMP-1 型受容体 ALK-3 の発現を減弱したことから、orexin が BMP-Smad シグナルに抑制的に作用することで PRL 産生を負に調節する新たな機序が明らかとなった。

キンギョ下垂体におけるメラニン凝集ホルモン (MCH) 含有神経線維とソマトラクチン (SL) 産生細胞の分布相関及び SL 分泌に及ぼす MCH 添加の影響

○酒谷 斎¹ 中町 智哉¹ 今野 紀文¹ 松田 恒平^{1,2}

¹富山大・院理工・生体制御 ²富山大・院生命融合・生体情報

メラニン凝集ホルモン (MCH) は、色素胞のメラニン顆粒を凝集 (体色を明化) させる視床下部ホルモンである。ソマトラクチン (SL) は、成長ホルモン/プロラクチンファミリーに属する硬骨魚類特有の腺性下垂体ホルモンである。真骨魚類において、SL は SL- α および SL- β の 2 分子種存在する。キンギョ (*Carassius auratus*) において、SL- α は色素胞のメラニン顆粒を拡散 (体色を暗化) させ、一方、SL- β は色素胞のメラニン顆粒を凝集 (体色を明化) させることが示唆されている。また、当研究室により、キンギョ下垂体において MCH 含有神経線維が SL 産生細胞の近傍へ投射していること、下垂体初代培養細胞において MCH の添加により SL 分泌が抑制されることが示された^[1]。しかしながら、MCH と SL- α および SL- β の機能相関に関する研究は行われていない。そこで本研究では、(1) キンギョ視床下部-下垂体系における MCH 様免疫陽性神経線維と SL- α 様免疫陽性細胞及び SL- β 様免疫陽性細胞の分布相関を観察した。また、(2) 下垂体初代培養細胞の SL- α 及び SL- β 分泌に及ぼす MCH 添加の影響を調べた。

(1) MCH 含有神経線維と各 SL の産生細胞の形態学的な分布相関

キンギョ MCH 抗血清、キンギョ SL- α 抗血清およびキンギョ SL- β 抗血清を用いた免疫組織化学的観察を行った。その結果、MCH 様免疫陽性神経線維の下垂体中葉への広い投射と、SL- α 様免疫陽性細胞の下垂体中葉全域における分布および SL- β 様免疫陽性細胞の下垂体中葉前部における索状の局在がそれぞれ観察された。また、蛍光二重免疫染色では、MCH 様免疫陽性神経線維は SL- α 様免疫陽性細胞に隣接して観察され、一方、多くの SL- β 様免疫陽性細胞の近傍には観察されなかった。

(2) キンギョ下垂体における SL- α 分泌および SL- β 分泌に及ぼす MCH の影響

キンギョ下垂体を分散した後、24 時間の初代培養を行い、MCH (10^{-9} , 10^{-7} , 10^{-5} M) 添加後の培養液中の各 SL 量をウェスタンブロット法によって半定量的に解析した。その結果、MCH 添加により SL- α 分泌は濃度依存的に促進され、一方、SL- β 分泌は変化しなかった。

以上の結果より、キンギョ下垂体において、MCH 含有神経線維は SL- α 産生細胞の近傍に投射すること、MCH は SL- α 分泌を促進し、SL- β 分泌には影響を及ぼさないことが示唆された。しかしながら、本研究の結果は先行研究で示された、MCH による SL 分泌の抑制作用と異なっており、さらなる解析が必要であると考えられる。

[1] Tanaka M, Azuma M, Nejigaki Y, Saito Y, Mizusawa K, Uchiyama M, Takahashi A, Shioda S, Matsuda K. (2009). Journal of Endocrinology. 389-98.

バソインヒビンはインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ を介してアポトーシスを誘導する

○諸星 和紀 持永 亮 渡辺 つかさ 濱平 真帆 針谷 敏夫

明治大学 農学研究科 生体機構学研究室

プロラクチンは主に脳下垂体前葉で分泌される分子量約 23kDa のペプチドホルモンであり、構造に 3 つのジスルフィド結合と 4 つの α -ヘリックスを持つ。このプロラクチンが切断酵素により切断されることで生成される分子量 11~18kDa の異型プロラクチンをバソインヒビンと呼ぶ。バソインヒビンの機能については抗血管新生作用をはじめとする数多くの機能が報告されているが、現在に至るまでバソインヒビンの受容体は明らかになっていない。過去の研究において、バソインヒビンはプロラクチン受容体に結合することが分かっているが、その結合はプロラクチンと比べるとかなり弱いものであり、バソインヒビンにはプロラクチン受容体以外の特異的な受容体があるのではないかと考えられている。そこで私たちはバソインヒビンと多くの類似点を持つエンドスタチンの受容体であるインテグリンに着目した。本研究では 16kDa バソインヒビンとインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ の結合を評価した。さらに、内皮細胞においてバソインヒビンがインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ を介して、アポトーシスを誘導するかを評価した。その結果、binding assay と共免疫沈降実験において 16kDa バソインヒビンとインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ が強く結合することを示した。加えて、免疫中和実験により、内皮細胞において 16kDa バソインヒビンがインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ を介して、アポトーシスを誘導することを示した。このことからバソインヒビンは内皮細胞においてインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ を介してアポトーシスを誘導することを明らかにし、インテグリン $\alpha 5 \beta 1$ がバソインヒビンの受容体である可能性を強く示唆した。

緑色光照射がホシガレイの食欲関連ホルモン遺伝子の発現に与える効果

○竹内 亮太¹ 笠木 聡¹ 水澤 寛太¹ 清水 大輔² 高橋 明義¹

¹北里大学海洋生命科学部 ²東北区水産研究所

我々は、緑色光照射によりホシガレイ (*Verasper variegatus*) の成長が促進することを明らかにした。この現象には摂餌や代謝にかかわる内分泌系の関与が考えられる。これまでに食欲亢進作用を有するメラニン凝集ホルモン (MCH) の関与を示してきたが、その他ホルモンの作用に関する知見は乏しい。脳において *mch* 遺伝子の発現は黒色素胞刺激ホルモン (MSH) により抑制され、MSH の作用はアグーチ関連ペプチド AGRP により抑制される。すなわち AGRP は最終的に *mch* 遺伝子の発現を促進する。従って、食欲と緑色光の関連を解明するためには、*mch*、*pomc*、*agrp* 各遺伝子の発現動態を明らかにする必要がある。本研究では、食欲と緑色光の関連を解明する端緒として、脳、下垂体および皮膚における *mch*、*pomc*、*agrp* 各遺伝子の発現動態を qRT-PCR により明らかにすることを目的とした。

脳の *mch* 遺伝子発現量は緑色光照射により上昇し、*agrp* 遺伝子発現量は低下した。また *pomc-c* 遺伝子発現量に差は認められなかった。ホシガレイにおける *mch* 遺伝子の発現調節にかかわる MSH と AGRP の作用は、従来の仮説と合致しない可能性がある。一方、下垂体における *pomc* 各遺伝子の発現量に変動は認められなかった。下垂体における *pomc* 遺伝子は緑色光照射の影響を受けにくいと考えられる。皮膚における *pomc-c* 遺伝子発現量は緑色光照射により増加した。マツカワ (*V. moseri*) では有眼側皮膚から POMC-C に由来する α -MSH が同定されている。魚類において α -MSH は肝臓に作用し、脂質代謝に関与すると報告されている。緑色光照射によりホシガレイの皮膚における *pomc-c* 遺伝子の発現量が増加したことから、*Verasper* 属では皮膚が重要な内分泌器官であり、その機能に光が関与している可能性がある。

USP8 遺伝子のゲノム編集による Cushing 病モデル細胞の作製と解析

○待鳥 卓 猪子 和也 川口 紘平 遠藤 彬則 福嶋 俊明 駒田 雅之
東京工業大学大学院・生命理工学院 駒田研究室

Cushing 病は下垂体腫瘍の ACTH 過剰分泌に起因する内分泌疾患である。我々は、Cushing 病患者の下垂体腫瘍の約 40%に脱ユビキチン化酵素 USP8 の遺伝子変異を見出した。さらに、いずれの変異も USP8 の 14-3-3 結合モチーフのアミノ酸置換あるいは欠損をきたし、これにより USP8 は 14-3-3 タンパク質と乖離し脱ユビキチン化酵素活性が過剰に上昇することを報告してきた。しかし、過剰活性化型 USP8 がどのようなメカニズムで ACTH の過剰分泌を引き起こすかは不明である。

今回、Cushing 病患者で見つかった USP8 遺伝子変異と類似した変異をもつ ACTH 産生細胞株を作製し、ACTH 産生関連分子に及ぼす影響を解析した。ACTH 産生細胞株 AtT-20 を用い、CRISPR-Cas9 法により、USP8 の 14-3-3 結合モチーフの一部が欠損する変異を導入した細胞クローンを複数作製した。導入された変異により USP8 の 14-3-3 結合能が喪失し、USP8 の過剰な活性化を反映して、USP8 の基質タンパク質である EGF 受容体のエンドソーム上に存在する量が減少することを確認した。変異導入が ACTH 前駆体 (POMC) の転写に及ぼす影響を調べたところ、POMC の転写因子である Nur77 の応答配列のプロモーター活性が変異導入により上昇することを見出した。詳細な解析から、過剰活性化型 USP8 は足場タンパク質 TIF1 β と複合体を形成しており、TIF1 β に結合している Nur77 に作用してこれを安定化、Nur77 を増加させる役割を果たしていることが明らかになりつつある。

以上の結果を併せ、今回我々は、ゲノム編集により USP8 遺伝子に変異が導入された ACTH 産生細胞株の作製に成功し、これが Cushing 病の発症機構の解明の有用なツールとなることを示した。

下垂体中葉側 Marginal Cell Layer に存在する SOX2 陽性細胞の解析

○堀口 幸太郎^{1,2} 吉田 彩舟^{2,3} 中倉 敬⁴ 藤原 研⁵ 塚田 岳大⁶ 長谷川 瑠美¹
瀧上 周¹ 大迫 俊二¹ 屋代 隆⁷ 加藤 たか子² 加藤 幸雄²

¹杏林大・保健 ²明治大・内分泌研 ³慈恵医大・医・生化学 ⁴帝京大・医・解剖
⁵自治医大・医・解剖（組織） ⁶東邦大・理 ⁷帝京平成大・健康メディカル

下垂体前葉は、5 種類のホルモン産生細胞と、ホルモンを分泌しない S100 β 陽性細胞群、毛細血管を形成する内皮細胞および周皮細胞などから構成される。これらの細胞群は、ラトケの遺残腔に接する中葉と前葉に跨る一層の細胞群 Marginal Cell Layer (MCL) や実質層に局在する転写因子 SOX2 陽性の未分化細胞群から供給されると考えられている。我々は、これまでに、ラット下垂体の前葉側及び中葉側 MCL と実質層の大半の SOX2 陽性細胞が膜タンパク質 CD9 を発現することを見出し、CD9 の抗体を利用して、前葉側 MCL と実質層の SOX2 陽性細胞の分画法を樹立している。しかし、MCL と実質層の SOX2 陽性細胞群をさらに分離する手法は確立されておらず、この 2 つの細胞群に機能的な違いがあるかはいまだ不明である。一方、後葉及び、中葉の実質層では CD9 は陰性であるが、中葉側 MCL の細胞のほとんどが CD9 陽性であることを観察している。そこで本研究では、中葉側の MCL に焦点を当て、CD9/SOX2 二重陽性細胞の解析及び単離を行った。組織学的観察では、中葉側 MCL の細胞の 97% が CD9 陽性であり、その中の 95% が SOX2 陽性であった。また、中葉側 MCL の CD9 陽性細胞は、幹細胞マーカーである *Cd133*、*Cd24*、*Cxcr4* を発現していた。次に、CD9 抗体を用いて、中葉側 MCL の CD9 陽性細胞の単離を行った。その結果、分離した画分は CD9 陽性細胞が 90% を占めていた。現在、この単離した細胞群の発現遺伝子の特徴を解析すると共に、分化誘導実験も行っており、その結果も併せて報告したい。

下垂体特異的転写因子 *Prop1* の発現はレチノイン酸による制御を受ける

○吉田 彩舟^{1,2} 藤原 研³ 西原 大翔⁴ 堀口 幸太郎⁵ 加藤 たか子² 屋代 隆³ 加藤幸雄^{2,4}

¹東京慈恵医大・医・生化 ²明治大生殖内分泌研 ³自治医大・医・解剖 ⁴明治大・農
⁵杏林大・保健

下垂体の発生は、多種の成長因子と転写因子の時空間的制御により進行する。なかでも、転写因子 *Prop1* は下垂体特異的な発現パターンを示し、下垂体の運命決定に重要な機能を有することが知られている。したがって、*Prop1* 発現誘導機構の解明は、下垂体の発生機序を理解する上で重要と考えられるが、依然として不明な点が多い。

これまでに、我々は体軸や眼の発生に関与するレチノイン酸の合成酵素(RALDH)遺伝子が、*Prop1* とほぼ同時期に下垂体原基において発現していることを見出し、本研究会で報告している。このことから、本研究では、下垂体の発生過程における、レチノイン酸シグナルによる *Prop1* 発現制御の可能性を検証したので報告する。

まず、定量 PCR ならびに *in situ* hybridization により、ラット下垂体原基において、*Prop1* とレチノイン酸受容体 *Rara* がほぼ同領域で発現していることを確認した。次に、発生過程下垂体におけるレチノイン酸の影響を検証するために、ラット胎齢 13.5 日から摘出した下垂体原基を用いた器官培養法を構築した。この器官培養系において、RARa のアゴニストを添加すると、*Prop1* 発現ならびに PROP1 陽性細胞が増加することを確認した。また、レポーターアッセイ系を用いた解析から、RARa が *Prop1* 上流域に作用し、転写を活性化することを確認した。

以上の結果から、下垂体原基で合成されたレチノイン酸がオートクライン的に作用し、*Prop1* の発現誘導に寄与する可能性が示唆された。

ラット下垂体前葉細胞における BMP-6 の作用：DNA マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析

○藤原 研¹ 東 森生¹ 堀口 幸太郎² 塚田 岳大³ 大野 伸彦¹ 屋代 隆^{1,4}

¹自治医大・医・解剖（組織） ²杏林大・保健 ³東邦大・理 ⁴帝京平成大・健康メデ
ィカル

骨形成タンパク質 (BMP) は TGF- β スーパーファミリーに属する細胞増殖因子である。BMP は骨形成に深く関与しているが、それ以外にも多彩な機能を有し、胚発生、組織形成、細胞分化および腫瘍形成で重要な役割を果たす。最近、我々は成体ラット下垂体前葉において濾胞星状細胞が Bmp-6 mRNA を発現し、その受容体が多くの前葉細胞で発現していることを報告した。また、ラット下垂体前葉初代培養細胞に BMP-6 を処理すると、ほとんどの細胞で BMP の細胞内シグナル分子であるリン酸化 Smad1/5/8 の核移行が見られたことから、BMP-6 は下垂体前葉細胞において遺伝子発現を調節する因子であると考えられた。そこで、本研究では BMP-6 による細胞内シグナル伝達経路を解析し、BMP-6 応答遺伝子の同定を試みた。実験には、成熟 Wistar 雄ラットの下垂体前葉から単離した細胞を初代培養して用いた。BMP-6 (100 ng/ml) を添加し、1 時間後の細胞から RNA を抽出し、発現遺伝子を DNA マイクロアレイを用いて解析した。コントロール群、BMP-6 処理群、それぞれ 3 サンプルを比較した。その結果、コントロール群に比べ BMP-6 処理群で、発現が 1.5 倍以上でかつ有意 ($p < 0.05$) に増加、減少した遺伝子は、それぞれ約 300 プローブ、約 60 プローブあった。BMP-6 により発現が増加した遺伝子群には、BMP が誘導する転写因子として知られる Id ファミリーが含まれていた。本発表では、下垂体前葉細胞の機能に関する遺伝子を中心に、BMP-6 により発現が誘導される遺伝子について紹介したい。

ウナギ下垂体に発現するC型ナトリウム利尿ペプチド3 (CNP3) の局在解析

矢口 美玖¹ 藤尾 恵¹ 横田 杏子¹ Marty K.S. Wong² 藤原 研³ ○塚田 岳大¹
¹東邦大・理 ²東京大・大気海洋研 ³自治医大・医・解剖

ナトリウム利尿ペプチドは、ANP、BNP、CNPで構成されるホルモンファミリーである。心臓から分泌されるANP・BNPと異なり、C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は脳で最も多く発現し、中枢で機能すると考えられている。哺乳類で、CNPは1種類のみであるが、硬骨魚類では4種類のCNP(CNP1-CNP4)が見つかっており、CNPの機能が魚類で多様化していったと考えられている。近年、我々はニホンウナギ(*Anguilla japonica*)を用いてCNP1-CNP4の発現を調べ、CNP3が下垂体に特異的に発現していることを見つけた。そこで、本研究は、ウナギCNP3のin situ hybridizationを確立し、下垂体におけるCNP3発現細胞の局在を調べた。硬骨魚類の下垂体主葉は、吻部、基部、中葉に分かれているが、CNP3発現細胞は、吻部(rostral pars distalis: RPD)にのみ局在していた。RPDは、PRL産生細胞が集合する部位であることから、ミラー切片を用いてCNP3とPRLのin situ hybridizationを行ったところ、CNP3とPRLの発現パターンが一致していた。また、淡水と海水に飼育したウナギを用いて、下垂体におけるCNP3の発現量をqPCR法で比較したところ、CNP3の発現は、淡水ウナギで有意に高かった。以上の結果から、CNP3が魚類の下垂体主葉に発現する新規のペプチドであること、また、魚類の淡水適応に重要なペプチドであることが示唆された。

ラット下垂体線毛細胞の分子形態学的特徴

○中倉 敬¹ 鈴木 健史² 堀口 幸太郎³ 藤原 研⁴ 塚田 岳大⁵ 萩原 治夫¹

¹帝京大・医・解剖 ²札医大・医育・生物 ³杏林大・保健 ⁴自治医大・医・解剖

⁵東邦大・理・生物分子

腺性下垂体の S100 β 陽性細胞は多彩な機能をもった細胞群として知られており、marginal cell layer (MCL) や前葉実質に分布している。また、ほとんどの S100 β 陽性細胞には幹細胞マーカーである SOX2 が発現するとともにホルモン産生細胞への分化能を有していることも知られ、下垂体構造の維持に必要な多様性を持った細胞集団といえる。一方で、MCL や前葉実質の濾胞構造には運動線毛を有する線毛細胞が分布することが知られるが、その細胞生物学的性質は未だ不明である。このため本研究では、アセチル化 α -tubulin (線毛マーカー)、 γ -tubulin (基底小体マーカー)、S100 β 、SOX2、および運動線毛の形成に必須の転写因子 FOXJ1 に対する蛍光免疫染色を行うことで、下垂体線毛細胞の分子形態学的特徴について調べた。その結果、下垂体線毛細胞は SOX2 と FOXJ1 を特異的に発現する新規の S100 β 陽性細胞であり、MCL や前葉実質の濾胞構造は S100 β /SOX2/FOXJ1 陽性線毛細胞と S100 β /SOX2 陽性非線毛細胞により構成されていることが明らかとなった。一般的に、運動線毛は物質の攪拌や運搬に加え、さまざまなチャネルや受容体が局在し、細胞外環境に対する化学センサーとしても働くことが知られる。しかし、下垂体における線毛細胞の存在意義については未だ不明なため、今後は下垂体機能との関係を調べる必要がある。

メダカ下垂体に発現する光受容タンパク質の分子組織化学的解析

○佐藤 恵太¹ 菱池 政展² 大内 淑代¹

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞組織学分野 ²同医学部医学科

視覚は動物の主要な光受容機能であり、その初期過程を担うのが視物質と呼ばれる光受容タンパク質である。これはビタミン A の誘導体（レチナール）を発色団として用いる膜タンパク質で、光を受容して下流の G タンパク質を活性化する G タンパク質共役型受容体（GPCR）の一種である。ヒトを含む多くの動物は、視物質に加えて、それに近縁で同様にレチナールを発色団とする光受容タンパク質の遺伝子を複数持っており、これらは総称してオプシン類と呼ばれる。よく知られるものには概日リズムの光同調や瞳孔反射に関わるメラノプシンがあるが、ヒトのゲノム上にはさらに4種類の非視覚性オプシンがあり、視物質と合わせると合計で9種類のオプシンがある（ロドプシン、赤錐体、緑錐体、青錐体、メラノプシン、Opn5、Opn3、ペロプシン、RGR）。現在私達はこれらのうち特に Opn3、Opn5 の生理機能を解明すべく、同じ脊椎動物に属し、ホモログを持つ小型魚類メダカをモデルとした研究を進めている。

最近私達は Opn3、Opn5 の組織化学的解析を進める中で、哺乳類が持つ Opn3、Opn5 のオースログである Opn3 と Opn5m (Opn5 mammalian type) がメダカの下垂体に発現していることを発見した(Sato et al., *PLOS ONE*, 2016; 佐藤ほか, 第123回日本解剖学会総会全国学術集会, 2018)。このことは、メダカ下垂体がこれらのオプシンを介して光を受容することで、何らかの機能調節を行っていることを示唆している。今回私達は、これらの光受容タンパク質が発現している細胞を同定し、下垂体における光受容について詳細を明らかにするため、さらなる分子組織化学的解析を行った。

マウス下垂体前葉における SCGB3A2 遺伝子発現制御機構の解明

○佐藤 鈴奈 木下 昂宗 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 (SCGB) 3A2 遺伝子は, マウス肺で NK2 homeobox 1 (NKX2-1) の下流因子として同定されたが, NKX2-1 発現のないマウス下垂体前葉でも SCGB3A2 の発現が認められた。マウス肺での *Scgb3a2* 転写調節機構をもとに, マウス下垂体前葉での *Scgb3a2* 転写にも CCAAT/enhancer binding proteins (C/EBPs) が機能すると仮定し, 昨年の本大会で, C/EBP β , δ が *Scgb3a2* 転写を促進することを報告した。しかし, C/EBPs はユビキタスに発現する転写因子であるため, 下垂体での SCGB3A2 の発現を規定するキー因子の存在が考えられた。

本年は, -506 bp *Scgb3a2* プロモーター領域に存在する 11 か所の C/EBPs 結合候補部位に対する Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) と変異プロモーターを用いたレポーターアッセイによって, *Scgb3a2* 転写に重要な C/EBPs 結合部位を決定したので報告する。EMSA を行った結果, 昨年の本大会で *Scgb3a2* 転写活性に重要な領域として示した -506 bp から -387 bp に存在する 2 か所の C/EBPs 結合部位で C/EBP β , δ の結合が確認された。また, これらの C/EBPs 結合部位の変異プロモーターを用いたレポーターアッセイでは, -506 bp プロモーターと比較して *Scgb3a2* 転写活性が減少した。本研究により, マウス下垂体前葉での *Scgb3a2* 転写活性には, -506 bp から -387 bp の領域に存在する 2 か所の C/EBPs 結合部位への C/EBP β , δ の結合が重要であることが示された。加えて, SCGB3A2 の下垂体での発現を規定する因子について考察する。

○下垂体糖タンパク質ホルモン α サブユニットの単独作用の可能性

神之田有紗¹ 顧婷婷¹ 後藤佑紀¹ 坂田一郎² 坂井貴文² 御輿真穂¹ 高橋純夫¹
竹内栄¹、相澤清香¹

¹岡山大・院自然科学 ²埼玉大・院理工

下垂体糖タンパク質ホルモンの α サブユニット (α GSU) は、主に下垂体前葉の主部と隆起部に発現し、 β サブユニットとヘテロダイマーを形成して働くことが広く知られている。我々は以前の研究において、隆起部では α GSU の発現レベルが β サブユニットよりもはるかに高いことを見出した。このことは、 α GSU が単独でも何らかの生理作用をもつ可能性を示唆する。そこで、本研究ではこの可能性を検証するため、ラット下垂体腫瘍細胞である GH3 細胞を用い、 α GSU のプロラクチン (PRL) 産生・分泌に及ぼす影響を調べた。

はじめに、ラット α GSU 発現ベクターと空ベクターを CHO-K1 細胞に形質導入し、 α GSU 含有および非含有培養上清を作製した。GH3 細胞にこれら培養上清を作用させ、Control 群および α GSU 群とした。また、PRL 産生・分泌を促進することが報告されている上皮成長因子 (EGF) の作用も検討し、EGF 群とした。その後、細胞および培養上清に含まれる PRL 量をウエスタンブロット解析により比較した。その結果、細胞内の PRL 量は、Control 群と比べ、 α GSU 群および EGF 群で有意に増加した。一方、培養液中の PRL 量は、EGF 群では増加したが、 α GSU 群では有意な変化はみられなかった。以上の結果は、 α GSU が GH3 細胞に単独で作用し、PRL の細胞外分泌を抑制し、細胞内貯蔵を促進する作用がある可能性を示唆する。

本研究により、 α GSU が β サブユニットとヘテロダイマーを形成することで下垂体糖タンパク質ホルモンとして機能するだけでなく、 β サブユニット非存在下で独自の生理活性を有する可能性が示された。

ウシ下垂体前葉における GPR120 の局在

○中村 翔^{1,2} 野田 航平^{2,3} 三輪 雅史² 美辺 詩織⁴ 松山 秀一^{2,5} 森山 隆太郎³

¹岡山理科大学 ²農研機構畜産研究部門 ³近畿大学 ⁴東京大学 ⁵名古屋大学

分娩にともなう泌乳の開始はエネルギー要求量を増加させるため母体の低栄養状態を招く。低栄養状態では性腺刺激ホルモン分泌が抑制されるとともに、脂肪から分解された遊離脂肪酸がエネルギー源として利用される。GPR120 は長鎖脂肪酸をリガンドとする G タンパク共役型受容体であり、マウスのゴナドトロフに発現することが報告されている。しかし、長鎖脂肪酸が性腺刺激ホルモン分泌へ及ぼす影響は不明である。本研究は、長鎖脂肪酸がゴナドトロフに発現する GPR120 に直接作用することにより繁殖機能に影響を及ぼすとの仮説のもと、ウシ下垂体前葉における GPR120 の局在を明らかにすることを目的に行った。実験には、卵巣除去を施した黒毛和種 3 頭を用い、灌流固定後に下垂体を採取した。下垂体前葉において、黄体形成ホルモン (LH) および卵胞刺激ホルモン (FSH) の他、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、プロラクチン (PRL)、成長ホルモン (GH)、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の各ホルモン産生細胞に GPR120 が共局在する割合について、免疫組織化学染色により解析した。LH 産生細胞のうち 80.1%、FSH 産生細胞のうち 89.9% に GPR120 が共局在していた。一方、TSH、PRL、GH、ACTH 産生細胞における GPR120 の共在率は、それぞれ 5.7%、10.5%、10.3%、4.7%であった。本研究により、ウシではほとんどのゴナドトロフに GPR120 が共発現することが明らかとなり、長鎖脂肪酸によるゴナドトロフ調節機構が存在する可能性が示唆された。

視床下部室傍核小細胞性 AVP の働き：CRF ニューロン選択的 AVP 欠損マウスを用いた検討

○山形 聡¹ 佐藤 達也² 村澤 真吾¹ Ashraf Hossain Talukder² 周 麗³ 夏目 里恵³
阿部 学³ 崎村 建司³ 井樋 慶一²

¹ 弘前大学医学部附属病院内分泌内科/糖尿病代謝内科 ² 東北大学大学院情報科学研究科
情報生物学分野 ³ 新潟大学脳研究所 細胞神経生物学分野

【目的】バゾプレシン (AVP) は視床下部室傍核 (PVH) において主として大細胞で産生されるが、慢性ストレス下や副腎不全の状態では小細胞性コルチコトロピン放出因子 (CRF) ニューロンからも CRF と共分泌される。そこで CRF ニューロン選択的 AVP 欠損マウスを作成し、小細胞性 AVP が持つ副腎不全時の水利尿における働きを明らかにするため、以下の検討を行った。【方法】AVP 遺伝子エクソン 1 を含む領域の両側に loxP 配列が挿入されたマウス (fAVP) と CRF-iCre ノックインマウスを交配し CRF ニューロン選択的 AVP 遺伝子欠損マウス (fAVP-cKO) を作成した。C57BL/6N, fAVP, fAVP-cKO に両側副腎摘除術 (ADX) を施した 12 日目に、経口水負荷 (40 ml/kg) を行い蓄尿した。2 時間後に断頭採血・採尿を行い、血清 Na 値 (Na) および尿浸透圧 (U-Osm) を測定した。【結果】Na は、C57BL/6N では非水負荷と ADX+水負荷後でそれぞれ 150 ± 1.5 mEq/L (n=7), 134 ± 1.4 mEq/L (n=8) だった (p<0.0001)。ADX+水負荷後の fAVP および fAVP-cKO では、それぞれ 133 ± 3.9 mEq/L (n=7), 138 ± 1.9 mEq/L (n=11) だった (p=0.66)。U-Osm は、C57BL/6N および fAVP-cKO の ADX+水負荷後でそれぞれ 1594 ± 144 mOsm/L (n=5), 516 ± 78 mOsm/L (n=11) であり (p<0.0001)、後者は C57BL/6N 非水負荷群 (674 ± 53 mOsm/L) (n=9) と有意差がなかった (p=0.90)。【考察】視床下部室傍核小細胞性 CRF ニューロンに共存する AVP が、副腎不全時の水利尿不全を引き起こしている可能性が示唆された。現在腎における AQP2 の発現について検討を行っている。

視床下部コルチコトロピン放出因子 (CRF) ニューロンを調節する神経性入力の同定

○杉原 史章¹ 籠谷 勇人¹ 佐々木 昭太郎¹ 内田 克哉¹ 佐藤 達也¹ 松井 広²
崎村 建司³ 井樋 慶一¹

¹ 東北大学大学院情報科学研究科情報生物学分野 ² 同生命科学研究科超回路脳機能分野 ³ 新潟大学脳研究所細胞神経生物学分野

内分泌性のストレス応答系では視床下部室傍核 (PVH) 内の CRF ニューロンが抗ストレス反応の中心的な役割を演じている。CRF ニューロンは PVH 内のグルタミン酸 (Glu) 作動性ニューロンや GABA 作動性ニューロンによる局所回路の他、脳幹部から PVH に直接投射するノルアドレナリン (NA) 作動性ニューロンによって調節されている。本研究では、NA 作動性投射ニューロンが PVH 内局所回路に及ぼす影響を電気生理学的手法により検討した。

研究室で開発された CRF-Venus Δ Neo マウスを用いた。このマウスは CRF ニューロン選択的に強化型黄色蛍光タンパク質 (Venus) を発現し、直視下で CRF ニューロンを観察できる。既報の方法で視床下部急性スライスを作成し、ホールセルパッチクランプ法により解析を行った。

-60 mV 電位固定下で興奮性シナプス後電流 (EPSC) および抑制性シナプス後電流 (IPSC) を観測した。EPSC 測定時は GABA 受容体阻害薬であるピクロトキシンを灌流液に加え、IPSC 測定時は Glu 受容体阻害薬である CNQX と AP5 を加えた。電位依存性ナトリウムチャネル阻害薬であるテトロドキシン (TTX) 非存在下では灌流液中に NA を加えると、EPSC および IPSC 頻度が増加した。アドレナリン α_1 受容体阻害薬であるプラゾシン存在下では NA による EPSC 頻度の増加が抑制されたが、IPSC 頻度の方は NA によって逆に減少した。TTX 存在下では NA によって TTX 非存在下と同様 EPSC 頻度は増加したが、IPSC 頻度は逆に減少した。

これらの結果から CRF ニューロンへの Glu 作動性入力および GABA 作動性入力の発火依存的成分はアドレナリン α_1 受容体を介していると考えられる。発火非依存的な成分が NA によって修飾されるメカニズムは現在検討中である。

一過性全健忘を生じた下垂体機能低下症の2例

○山本 紘一郎（初期研修医1年目） 徳増 一樹 中野 靖浩 大村 大輔 安田 美帆
長谷川 功 三好 智子 小比賀 美香子 花山 宜久 大塚 文男
岡山大学病院・総合内科

今回、下垂体機能低下症から副腎不全に至り一過性全健忘を呈した2症例を経験したので報告する。

《症例1》30代・男性【主訴】意識・記憶障害【既往歴】胚細胞腫に対して化学療法+全脳全脊髄照射施行（X-14年）【現病歴】汎下垂体機能低下に対してヒドロコルチゾン+レボチロキシン+DDAVPを内服継続し10年以上経過良好であった。X年4月中旬、自宅で意識障害にて発見され当院へ搬送。【入院時現症】開眼は認めるが発語なく不穏状態であった。発見時は低体温（35.7℃）、低Na血症（125 mmol/L）を認めたが、血圧は保持され、低血糖は認めなかった。【経過】髄液・頭部MRI・脳波にて髄膜炎・脳炎、てんかんの所見を認めなかったが、脳血流シンチでは両側前頭葉・頭頂葉に血流低下を認めた。ヒドロコルチゾン静注開始にて入院翌日から意識障害は改善し3日目に清明となるも、搬送前数日間の全健忘が残存した。

《症例2》70代・女性【主訴】食思不振・全身倦怠感【既往歴】下垂体腺腫に対して摘出術（X-11年）【現病歴】汎下垂体機能低下症に対してヒドロコルチゾン+レボチロキシン+DDAVP経口投与およびGH自己注射で経過良好であった。X年5月中旬に外傷性右上腕骨折に対して手術を施行、その後より低Na血症・食思不振・倦怠感が増悪。【入院時現症】入院日より傾眠傾向となり、低Na血症（117 mmol/L）を認めたが低血糖はなく、頭部MRIでは明らかな梗塞や出血、脳症を認めなかった。【経過】ヒドロコルチゾン静注開始し、翌日より意識および全身状態は改善したが、意識障害前の数時間の事象について全健忘となった。

《考察》副腎不全において記憶障害に至る症例は比較的稀である。副腎皮質ステロイドと記憶障害の関連として、海馬に発現するGR/MR作用の多寡が記憶に影響する可能性があり、文献的考察を踏まえて報告する。

TRH に対して FT3 の過大反応を呈した TSH 産生腺腫の 1 例

○大塚 文男¹ 長谷川 功¹ 安田 美帆¹ 三好 智子¹ 小比賀 美香子¹ 黒住 和彦² 井下 尚子³

¹岡山大学病院 総合内科 ²同脳神経外科 ³虎の門病院 病理診断科

【症例】30 代・ベトナム人女性【主訴】全身倦怠感・動悸【現病歴】X-4 年にベトナムで甲状腺機能亢進症と診断され抗甲状腺薬で加療されていた。X-1 年 3 月に来日、6 月より全身倦怠感・動悸が増悪し近医受診するも改善なく前医紹介。前医にて TSH 6.1 μ U/mL・FT3 6.3 pg/mL・FT4 1.8 ng/dL と SITSH を認め、下垂体 MRI にて 11mm 大の下垂体腫瘍を認めたため当院紹介となった。TRH 試験では TSH 反応性に乏しいが(3.8→8.1 μ U/mL)、FT3 の過大反応を呈した(13.5→30 pg/mL)。またソマトスタチン試験では TSH の抑制を認めた(3.7→1.1 μ U/mL)。甲状腺超音波で血流増加とびまん性腫大を認めた。甲状腺抗体は陰性、血中 SHBG 125 nmol/L・ α SU 1.2 ng/mL を呈し、 α SU/TSH モル比の上昇を認め TSH 産生腫瘍と診断した。当院初診時は TSH 5.3 μ U/mL・FT3 18.3 pg/mL・FT4 6.3 ng/dL と下垂体性甲状腺機能亢進を認め、KI 内服にて甲状腺機能の正常化を図りつつ経蝶形骨洞手術を施行し、摘出標本の組織では TSH β 染色陽性であった。術後甲状腺機能は速やかに正常化し、残存下垂体機能は保持され、TRH に対する FT3 の過大反応も消失した。【考察】TSH 腺腫は下垂体腫瘍の約 1-2%と稀な腫瘍で、発生頻度は人口 100 万人あたり 1 人/年とされる。TRH に対して TSH や FT4 の反応は乏しいにも関わらず FT3 が過大反応を呈したことは興味深く、TSH 腺腫において 5'-deiodinase 活性が高いことが関与している可能性がある。下垂体組織の免疫所見を含めて報告する。

最古の脊椎動物・ヌタウナギの下垂体における成長ホルモン遺伝子の同定

○内田 勝久¹ 脇 弘海¹ 宮西 弘¹ 渡邊 太郎²

¹宮崎大・農 ²東大・大海研

下垂体は、脊椎動物に特有の内分泌器官であり、顎口類では個体の生殖、成長、代謝といった生命活動に必須の種々のホルモンを分泌している。一方、脊椎動物の進化の最初期に出現した、無顎類・ヌタウナギの下垂体においては、生殖腺刺激ホルモン (GTH) のみがこれまで報告されている。しかし、成熟個体の下垂体に GTH 産生細胞以外の細胞が分布すること、抗ヤツメウナギ成長ホルモン (GH) 抗体に陽性反応を示す細胞群が認められることから、この動物群においても、GH 分子が存在する可能性は極めて高い。本研究では、ヌタウナギ(*Eptatretus burgeri*)の下垂体から GH 分子を同定することを目的とした。

次世代シーケンス解析により、ヌタウナギの下垂体で発現する遺伝子群の網羅的解析を行った結果、内分泌因子として、顎口類の GH に高い相同性を示す配列が含まれていた。全長配列を RACE-PCR 法により同定した結果、全長 870 塩基対から成るヌタウナギ GH 遺伝子 (*gh*) を同定した。タンパク質コード領域 (609 塩基) 内の塩基配列から推定されるアミノ酸配列は 203 残基であり、N 末端側に 20 個のシグナルペプチドを含んでいた。また、顎口類の GH 分子の立体構造を特徴付ける 4 カ所のシステインも保存されていた。下垂体における発現部位を組織学的に解析したところ、腺性下垂体を構成する細胞隗内の一部の細胞に強いシグナルが認められた。また、成熟個体に比べ、成長期にある未成熟個体の下垂体において、より強い発現シグナルが得られた。さらに、特異的な抗血清により、GH と GTH を産生する細胞は異なることが示唆された。体サイズの異なる個体の下垂体の *gh* 発現量を解析した結果、成熟個体に比べて、小型の未成熟個体の下垂体において、*gh* 発現量は高値であった。以上のことから、ヌタウナギの下垂体にも機能的な GH が存在すると考えられる。

Nr4a3 の FSH β 発現抑制作用と細胞外アネキシン A5 による調節

○寺島 涼太¹ 久留主 志朗¹ 汾陽 光盛²

¹北里大学獣医生理学研究室 ²岡山理科大学獣医生理学講座

アネキシン A5 (ANXA5)は性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)によって発現の増加し、LH と FSH 分泌を促進すること、ANXA5 の欠損マウス下垂体で核内受容体 Nr4a3 の発現が増強されること、GnRH が Nr4a3 発現を促進し、Nr4a3 発現を抑えると GnRH による FSH β mRNA 発現が亢進することを明らかにしてきた。さらに近年、ANXA5 が細胞外に放出されることが明らかになり、オートクリン、パラクリン的にゴナドトロフに作用する可能性が示唆されている。そこで本研究では、細胞外 ANXA5 や FSH を特異的に調節するアクチビンシグナルによる Nr4a3 発現への影響と Nr4a3 発現増加による FSH 発現への影響を調べ、ANXA5-Nr4a3-FSH β の調節機序をさらに検討した。ゴナドトロフ細胞株 LbT2 にリコンビナントラット ANXA5 を GnRH 作動薬との同時投与、前投与、前投与と同時投与で作用させると、いずれの作用条件でも GnRH 作動薬による Nr4a3 mRNA 発現誘導が有意に抑制された。FSH 分泌促進因子であるアクチビンを GnRH 作動薬と同時に投与すると FSH β mRNA 発現は増加した一方で、Nr4a3 mRNA 発現は変化しなかった。また、インヒビンの投与も Nr4a3 mRNA 発現に影響しなかったことから、アクチビンシグナルは Nr4a3 発現に関与しないことが明らかになった。さらにマウス Nr4a3 発現ベクターをトランスフェクションすると、LH β 、 α subunit mRNA 発現には影響せず、FSH β mRNA 発現が有意に低下した。以上の結果から、ANXA5 が細胞外から GnRH の Nr4a3 誘導シグナルを抑制できること、Nr4a3 の増加が FSH β 遺伝子発現を抑制することが明らかになり、細胞外 ANXA5 が GnRH のシグナル伝達系を制御し、FSH 合成を調節する可能性が示唆された。

ウシガエル下垂体前葉のプロラクチン放出に関わる甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体の同定

○蓮沼 至¹ 中野 真樹¹ 岩室 祥一¹ 山本 和俊² 菊山 榮² 小林 哲也³

¹東邦大・理・生物、²早稲田大・教育・生物、³埼玉大・院理工・生体制御

両生類では甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) が主要なプロラクチン (PRL) 放出因子と考えられている。しかし、複数のサブタイプが存在が知られる TRH 受容体のうち、どのサブタイプを介して TRH が PRL 放出に関与するかは明らかになっていない。我々はウシガエルより 1-3 型 TRHR cDNA をクローニングし、成体下垂体前葉でそれら受容体遺伝子の発現を RT-PCR で調べた。その結果、3 型 TRHR が 1 型および 2 型と比較して強く発現していることが判った。変態期の幼生では PRL の血中レベルは前変態期から変態始動期にかけては低く、変態最盛期初期から徐々に上昇し、変態最盛期中期から後期にかけて劇的に高まることが知られている。そこで変態期幼生の下垂体前葉における 3 型 TRHR の発現を半定量的 RT-PCR で解析したところ、変態始動期から変態最盛期に向けてその発現レベルは上昇し、変態最盛期では高いレベルを維持していることが判った。さらに *in situ* hybridization により、3 型 TRHR が PRL 細胞に発現していること、並びにその発現が変態最盛期で高まっていることを確認した。ウシガエル以外の両生類では、アフリカツメガエルで 1-3 型 TRHR cDNA がクローニングされているが、アフリカツメガエルの 3 型 TRHR は TRH との結合性が著しく低く、TRH の機能的受容体であるか疑問視されている。一方、ルシフェラーゼアッセイの結果、ウシガエル 1-3 型 TRHR では、いずれのサブタイプもこれまでに報告されている哺乳類 TRHR と同等のリガンド応答性を示した。従って、ウシガエル TRHR3 は機能的な受容体であり、TRH はウシガエルの下垂体前葉において 3 型 TRHR を介して PRL 放出を促すと結論した。

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated proteins9 (CRISPR/Cas9) 法による SL- α 欠損ゼブラフィッシュおよび SL- β 欠損ゼブラフィッシュの作出

南 和希¹ 瀬川 魁² 中町 智哉¹ 今野 紀文¹ ○松田 恒平^{1,3}

¹ 富山大学大学院理工学研究部 (理学) ² 富山大学理学部 ³ 富山大学大学院生命融合科学教育部

ソマトラクチン (SL) は 1991 年にタイセイヨウタラの下垂体より単離・同定された成長ホルモン (GH) /プロラクチン (PRL) ファミリーに属する硬骨魚類特有の腺性下垂体ホルモンである。キングョにおいて、SL- α は体色の暗化に、SL- β は明化にそれぞれ関与するホルモンであることが示唆され、SL- α と SL- β の体色調節作用は異なることが示された (2017 年吉村賞受賞講演)。一方、ゼブラフィッシュにおいて SL- α および SL- β は、背景色に応答して体色の暗化に関与する可能性が示唆された (2017 年本集会報告)。しかしながら、ゼブラフィッシュにおける内因性 SL の体色への作用を明らかにするためには、今後、逆遺伝学的な解析も行う必要があると考えられる。そこで、ゲノム編集技術である CRISPR/Cas9 法により SL- α 欠損個体および SL- β 欠損個体を作成し、系統の確立を行った。作出した SL- α 遺伝子変異型個体は SL- α 遺伝子の第 2 エキソン上の 10 塩基、SL- β 遺伝子変異型個体は第 2 エキソン上の 5 塩基がそれぞれ欠失していた。また、得られた変異型ホモ個体において各 SL が発現していないことを確認するため、ゼブラフィッシュ SL 抗血清を用いた免疫染色により各 SL 様免疫陽性反応の有無を調べた。その結果、SL- α 変異型ホモ個体の下垂体において、SL- β 様免疫陽性反応は検出されたが、SL- α 様免疫陽性反応は検出されなかった。一方、SL- β 変異型ホモ個体の下垂体において、SL- α 様免疫陽性反応は検出されたが、SL- β 様免疫陽性反応は検出されなかった。以上より、SL- α 欠損ゼブラフィッシュおよび SL- β 欠損ゼブラフィッシュを作成し、系統を確立した。これらの遺伝子欠損ゼブラフィッシュの体色など表現型の解析結果についても報告する。

ウシガエル幼生下垂体は2種類のプロラクチンを発現している

○岡田 令子¹ 鈴木 雅一¹ 伊藤 希実¹ 兵藤 晋² 菊山 榮³

¹静岡大学総合科学技術研究科 ²東京大学大気海洋研究所 ³早稲田大学教育・総合科学学術院

プロラクチン (PRL) は多様な働きを示すホルモンであり、両生類では変態・浸透圧調節・生殖などに関わる。近年、遺伝子シクテニー解析により、PRL は陸上動物型 (PRL1A) と魚類型 (PRL1B) の2種類に分類され、両生類のゲノム中にのみ両タイプが存在するとされている。しかし、これまでに同定された両生類 PRL 分子および cDNA はいずれも PRL1A に分類されるものであり、PRL1B が生体内で発現、機能しているか否かは不明であった。我々は幼生の下垂体前葉を用いたことによりウシガエル PRL1B cDNA のクローニングに成功した。この cDNA から推測されるアミノ酸配列を持つ分子は系統解析によって両生類 PRL1B に分類されることが判った。次いで逆転写 PCR によって mRNA の発現を調べたところ、PRL1A mRNA が幼生と成体の下垂体とともに発現しているのに対し、PRL1B mRNA は幼生の下垂体のみで発現していることが明らかになった。さらに、種々の変態段階の幼生と成体の下垂体を用いた定量 PCR の結果、PRL1B mRNA の発現レベルは前変態期と変態始動期で比較的高く、変態最盛期に急激に低下し、成体では検出不可能になることが判った。一方、PRL1A mRNA の下垂体における発現レベルは前変態期および変態始動期には比較的低く、変態最盛期に急上昇し、成体で最高値を示した。ウシガエル PRL1A および PRL1B 各々に対する特異的抗体を用いた免疫組織化学により、PRL1A 免疫陽性シグナルは幼生と成体の下垂体前葉とともに発現しているのに対し、PRL1B シグナルは幼生下垂体のみで発現していること、幼生の下垂体では同一細胞中に PRL1A と 1B が存在することが判明した。これらのことから、幼生の下垂体は PRL1A だけでなく PRL1B も分泌しており、PRL1B が幼生期の生体内で何らかの働きをしている可能性が浮上した。

心臓繊維芽細胞に対するバソインヒビンのサイトカイン因子解析

○濱平 真帆 諸星 和紀 針谷 敏夫

明治大学大学院農学研究科生体機構学研究室

プロラクチンとは分子量約 23kDa のペプチドホルモンで、授乳ホルモンとして知られている。プロラクチンには翻訳前後に修飾を受け構造が変化した異型プロラクチンが存在する。異型プロラクチンはプロラクチンの作用とは異なる作用を持つことがあり、その中の一つにバソインヒビンがある。バソインヒビンはプロラクチンが酵素切断を受けることで生成されるペプチド断片である。近年、このバソインヒビンが周産期心筋症と関連があるとされている。この周産期心筋症に関して様々な研究が行われているが、その発症機序は不明なままである。本研究では、心臓の線維化に深く関与する心臓線維芽細胞とバソインヒビンの関連性を解析することを目的としている。

過去の研究で周産期心筋症患者において血中のバソインヒビン、サイトカイン濃度が上昇していること、またそのサイトカインが線維化に関わっていることから、バソインヒビンがサイトカインを介し、心臓の線維化を引き起こしていると考えた。そこで、線維化を担う線維芽細胞にバソインヒビンを添加し、線維化に関与する遺伝子発現量を測定した。その結果、バソインヒビンの添加によりサイトカインである IL-6 の発現量が増加した。また、バソインヒビンを添加した線維芽細胞を用い、IL-6 の発現を制御する転写活性因子である NF- κ B の活性化を免疫染色により確認した。その結果、NF- κ B の活性化が確認された。

本研究の結果から、バソインヒビンが転写活性因子の活性化を経て、サイトカインの発現量を増加させることが明らかとなった。また、過去の研究においてバソインヒビンが線維化マーカーである α -SMA の発現量を増加させることが明らかとなっていることからバソインヒビンが心臓の線維化に関与している可能性が示唆された。しかし、両者の関連性はまだ解明されていない。その関連性を明らかにすることで周産期心筋症の発症機序を解明することができると考えられる。

視床下部弓状核(ARC)キスペプチン発現ニューロンを用いたネガティブフィードバック機構に関する検討

○Tuvshintugs Tumurbaatar 金崎 春彦 折出 亜希 Tumurgan Zolzaya 岡田 裕枝
原 友美 京 哲

島根大学医学部産科婦人科

齧歯類において視床下部弓状核(ARC)領域に存在するキスペプチンニューロンは GnRH のパルス状分泌を制御している。マウス視床下部 ARC 領域由来のキスペプチン (Kiss-1) 発現ニューロンである mHypoA-55 細胞は Neurokinin B、Dynorphin を発現する KNDy ニューロンであり、ある条件下では E2 刺激により Kiss-1 発現が減少する。本細胞を用いて E2 によるネガティブフィードバック機構について検討した。mHypoA-55 細胞には Kiss-1 の他 Neurotensin(NT)と Corticotropin-releasing hormone (CRH)も発現していた。NT 及び CRH は E2 により発現が増加し、NT、CRH 刺激は mHypoA-55 細胞の Kiss-1 発現を有意に減少させた。mHypoA-55 細胞には Gonadotropin-inhibitory hormone である RFRP-3 も発現しており RFRP-3 発現はメラトニン及び E2 刺激で上昇した。RFRP-3 及びメラトニン刺激は mHypoA-55 細胞内の NT 及び CRH 発現を増加させることが分かった。NT 及び CRH は E2 あるいは RFRP-3 の影響を受けネガティブフィードバック機構に関与している可能性がある。

視床下部前腹側室周囲核(AVPV)キスペプチン発現ニューロンにおける RFRP-3 の役割について

○Tumurgan Zolzaya 金崎 春彦 Tuvshintugs Tumurbaatar 折出 亜希 岡田 裕枝
原 友美 京 哲
島根大学医学部産科婦人科

齧歯類において視床下部前腹側室周囲核(AVPV)領域に存在するキスペプチンニューロンは GnRH のサージ状分泌を制御しているとされる。視床下部 AVPV 領域由来のキスペプチン (Kiss-1) 発現ニューロンである mHypoA-50 細胞はエストラジオール (E2) 刺激により Kiss-1 発現が増加する。mHypoA-50 細胞には哺乳類の Gonadotropin-inhibitory hormone である RFamide-related peptide-3(RFRP-3)が発現しており、mHypoA-50 細胞の RFRP-3 発現はメラトニン刺激及び E2 刺激で有意に増加した。mHypoA-50 細胞を RFRP-3 で刺激を行うと細胞内の Kiss-1 の発現が増加した。RFRP-3 は Kisspeptin-10 及び GnRH による Kiss-1 発現の増加に対して影響を与えなかった。RFRP-3 は mHypoA-50 細胞における Neurotensin(NT)と Corticotropin-releasing hormone (CRH)の発現も増加させた。NT 及び CRH 刺激は mHypoA-50 細胞の Kiss-1 発現を増加させることから、RFRP-3 は直接及び間接的に AVPV 領域の Kiss-1 発現を促進させると考えられた。

シバヤギの GnRH パルス発生メカニズムにおけるセロトニンの役割

○森島 愛¹ 佐々木 拓弥¹ 館林 亮輝¹ 北川 悠梨¹ 森田 康広¹ 松山 秀一¹ 井上 直子²、上野山 賀久²、東村 博子²、大蔵 聡¹

¹名大院生命農・動物生産科学 ²名大院生命農・動物生殖科学

我々は、視床下部弓状核のキスペプチンニューロンが、哺乳類の卵胞発育を制御する生殖中枢である性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) パルスジェネレーターの本体であることを提唱してきた。古くから、セロトニン (5-HT) の黄体形成ホルモン (LH) 分泌への影響を検討した研究はあるが、促進性もしくは抑制性であるかは実験系により異なり、5-HT の生殖機能における役割に未だ定説がない。我々は、ラット弓状核キスペプチンニューロンの一部に促進性 (Gq 型) の 5-HT_{2C} 受容体遺伝子の発現を確認した (未発表)。よって、本研究では、5-HT の生殖機能調節における役割を解明することを目的とし、シバヤギを用いて 5-HT の脳室内投与が GnRH パルスジェネレーター活動および LH 分泌におよぼす影響を検討した。本実験では卵巣除去シバヤギ 4 頭を用いた。弓状核における多ニューロン発火活動の一過性の上昇 (MUA ボレー) を GnRH パルスジェネレーター活動の指標とし、一定間隔で発生する MUA ボレーを確認した後、各個体の平均 MUA ボレー間隔の 1/2 時間に 5-HT (0.5 または 5 μ mol) または溶媒 (蒸留水) を側脳室内に投与した。また、投与前後の血中 LH 濃度変化を調べた。その結果、5-HT 脳室内投与の直後に MUA ボレーが誘起された。投与から次の MUA ボレーが発生するまでの時間は溶媒投与群に比べて用量依存的に短縮した。よって、5-HT は、弓状核キスペプチンニューロンに発現する 5-HT_{2C} 受容体を介して、同ニューロン活動を促進的に調節することが示唆された。一方、5-HT 投与後の平均血中 LH 濃度および LH 濃度曲線下面積は、溶媒投与群に比べて有意な差はなかったことから、5-HT は脳内に発現する他の介在ニューロンへの作用を介して、5-HT による弓状核キスペプチンニューロン活動および LH 分泌への刺激効果を相殺する可能性が示唆された。

シバヤギにおけるパルス状 GnRH 分泌調節メカニズムに対するアミリンの作用

○北川 悠梨¹ 佐々木 拓弥¹ 森島 愛¹ 舘林 亮輝¹ 森田 康広¹ 松山 秀一¹ 井上 直子² 上野山 賀久² 東村 博子² 大蔵 聡¹

¹名大院生命農・動物生産科学 ²名大院生命農・動物生殖科学

【目的】哺乳類において、キスペプチンニューロンは、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)ニューロンの活動を直接制御することにより、卵胞発育や排卵を制御する生殖中枢であると考えられている。我々は、シバヤギ視床下部弓状核 (ARC) における多ニューロン発火活動 (MUA) ボレーが黄体形成ホルモン (LH) パルスと同期して観察されることを示し、ARC に局在するキスペプチンニューロンが GnRH パルスジェネレーター本体であると提唱してきた。我々は最近、カルシトニン受容体 (CTR) 遺伝子がラットのキスペプチンニューロンの一部に発現することを発見したが、その生理的な役割は不明である。そこで、本研究では、CTR の内因性リガンドのひとつであるアミリンをシバヤギの脳室内に投与し、MUA を指標として、アミリン-CTR シグナリングの生殖機能における役割を検討した。

【材料および方法】卵巣除去シバヤギ (n=6) の ARC に MUA 記録用電極を留置した。ヒトアミリン (1.5 nmol または 15 nmol) を側脳室内に投与し、MUA ボレーへの影響を調べた。

【結果および考察】アミリンの脳室内投与の直後に MUA ボレー間隔が優位に短縮し、その後、MUA ボレー間隔が延長した。このことから、アミリン-CTR シグナリングは、GnRH パルスジェネレーター活動に対して、促進性および抑制性の二相性の効果を有することが示唆された。CTR は促進性の Gq タンパク質共役型受容体であることから、アミリンの MUA への促進作用は、キスペプチンニューロンに発現する CTR を介した直接作用である可能性が考えられた。また、ラット脳では、非キスペプチン細胞にも多数の CTR 遺伝子発現を認めたことから、アミリンの MUA への抑制作用は、キスペプチンニューロンに抑制性に働く介在ニューロンに発現する CTR を介した間接作用を反映する可能性が示唆された。

視床下部室傍核 (PVN) に局在するダイノルフィン A ニューロンが低栄養時の黄体形成ホルモン (LH) の分泌抑制に関与する可能性

○土田 仁美 河合 成美 出浦 慎哉 井上 直子 上野山 賀久 東村 博子
名古屋大学大学院生命農学研究科 動物生殖科学研究室

要旨本文：哺乳動物において、低栄養状態に陥ると、視床下部からの性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) のパルス状分泌とその支配下にある下垂体からの性腺刺激ホルモンのパルス状分泌が抑制されることにより、生殖機能が抑制されることが示唆されている。ラットにおいてグルコース利用阻害剤である 2-デオキシ-D-グルコース (2DG) の第 4 脳室 (4V) 内投与によりパルス状黄体形成ホルモン (LH) 分泌が抑制される。本研究では、下位脳幹で感知された低栄養シグナルがパルス状 LH 分泌を抑制する神経経路の解明を目的とし、視床下部室傍核 (PVN) に局在するダイノルフィン A (Dyn) ニューロンが、低栄養による LH パルスの抑制に関与する可能性を検討した。Wistar-Imamichi 系統成熟雌ラットに卵巣除去を施し、低濃度の 17β -エストラジオール含有シリコンチューブを皮下に留置した。卵巣除去およびエストラジオール処置を施した 1 週間後、ラット 4V 内に 2DG または溶媒 (キシロース) を 1 時間投与し、4% パラホルムアルデヒドにて脳を灌流固定した。凍結脳切片を用いて、PVN に存在する Dyn 遺伝子 (*Pdyn*) と神経細胞の活性化マーカーである c-Fos 遺伝子 (*fos*) を蛍光二重標識法 *in situ* hybridization により可視化し、これらの遺伝子の共発現細胞数を比較した。その結果、2DG を投与した群の PVN における *Pdyn* および *fos* 共発現細胞数は、対照群に比べ有意に増加した。以上の結果から、脳内で感知された低栄養のシグナルは、PVN の Dyn ニューロンの活性化を介して、GnRH、ひいては LH のパルス状分泌を抑制する可能性が示唆された。

グルココルチコイド受容体アンタゴニストの投与がクッシング症候群モデルラットの下垂体-副腎系へ与える効果について

○安田 敦¹ 関 敏郎¹ 関 昌美² 北島 夏見¹ 梅澤 智史¹ 深川 雅史¹

¹東海大学腎内分泌代謝内科 ²聖隷沼津病院内科

【はじめに】コルチゾール産生副腎腺腫によるクッシング症候群では高コルチゾール血症により視床下部 CRH-下垂体 ACTH 系が抑制されるため、非腫瘍部の正常副腎組織は ACTH による刺激を受けず萎縮し機能は低下する。それゆえ本疾患へ腫瘍摘出術を施行すると、高コルチゾール血症は解除されるが術後に副腎機能低下症となる。そこで、予めグルココルチコイド受容体アンタゴニスト (mifepristone) を投与し高コルチゾール血症による視床下部-下垂体-副腎系の抑制を解除すれば、ACTH による正常副腎への刺激を速やかに回復させることが可能と考えた。これにより早期の残存副腎機能改善が期待されるため、クッシング症候群モデルラットへの mifepristone 投与が萎縮した副腎の機能改善を促すことが可能かについて検証を行なった。【方法】オス SD ラットを用いてコントロール群、DEX 投与群、DEX+mifepristone 投与群を作成する。14 日間で投薬を終了後、麻酔下に腹部を切開し片側の副腎を摘出する。血漿 ACTH、副腎重量、副腎 RT-PCR を確認し検証する。【結果】mifepristone 投与により血漿 ACTH 上昇を認め、副腎重量増加、CYP11 遺伝子発現量の増加を認めた。すなわち mifepristone 投与が高グルココルチコイド血症による視床下部-下垂体-副腎系の抑制を解除し萎縮した副腎の機能改善を促した。【結論】クッシング症候群に対する副腎腺腫切除術において、グルココルチコイド受容体アンタゴニストの術前投与は術後副腎機能の温存の成功率を向上させ、残存副腎機能の早期改善を得ることが可能になると考えられる。

乳癌新規ペプチドワクチン開発のためのヒト化マウスモデル

中田 峻輔

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学・亀谷研究室

<はじめに>がんは突然変異を集積するため多くの免疫応答可能な抗原を産生する。これらの抗原に対する抗体を用いた受動免疫はがん治療に効果があるとされているが、それを抗原としたペプチドワクチンの有効性はまだ確認されていない。それは、がんは免疫を抑制するためと考えられるが、がんに対する抗体を体内で十分量産生することが出来れば、がんを抑制することが出来ると考えられる。そこでなぜワクチンが有効でないのかについて明らかにするために、我々は健常者と乳癌患者のそれぞれの B 細胞と形質細胞の割合あるいは性質の比較解析を試みた。

<材料と方法>本実験には NOG-IL-4-Tg を用いた。このマウスは、ヒト IL-4 を全身に発現している重度免疫不全マウスであり、ヒト IL-4 が発現しているため、移植片対宿主病を抑え、かつ B 細胞の生存率が上がり、抗体産生量を増やすことができる。これにヒト末梢血単核球 (PBMC) を移植し、ヒト免疫系を構築し IL-4 遺伝子陽性、血中 IL-4 100pg/mL 以上の個体を選択し、それらにそれぞれ健常者あるいは乳癌患者の PBMC を 5×10^6 個経静脈で移植し、CH401MAP (CH401 抗体が認識する HER2 分子のエピトープを含むペプチド) を免疫した。2 週間後に追加免疫をして更に 2 週間後に解剖し、脾臓細胞を蛍光標識抗体で染色した後、フローサイトメトリーでリンパ球の割合を解析した。

<結果>ヒト化 NOG-IL-4-Tg マウスの脾臓で局在していた健常者と乳癌患者の B 細胞の割合は、両者とも移植前の PBMC より移植後で高く、一方、T 細胞の割合は低いことが明らかになった。

また、これらの B 細胞の大部分 (48.4%) が plasmablast 様の CD27⁺CD38⁺細胞であり、移植前の PBMC と比較して大幅に増加していた。

今後は、ELISA や各種臓器の免疫組織化学染色を行い、フローサイトメトリーの結果と比較し、相違点を見出していく予定である。

<結論>PBMC 移植後肝臓では、B 細胞の割合は高く、特に plasmablast 様細胞の割合が非常に多く、健常者と乳癌患者間で有意差は見られなかった。

ヒト化 NOG-hIL-4-Tg マウスにおける B 細胞機能とグルココルチコイド受容体発現の関連性の解析

○亀谷 美恵¹ 関 敏郎² 宮本 あすか^{1,3} 大島 志乃¹ 大野 裕介¹ 安田 敦² 徳田 裕³ 安藤 潔⁴

¹東海大学医学部・基礎医学系・分子生命科学 ²同内科学系・腎内分泌代謝学 ³同外科学系・乳腺内分泌外科 ⁴同内科学系・血液・腫瘍内科学

目的) ヒト化マウスは *in vivo* でヒト免疫応答を評価するために重要な役割を果たすことが期待されている。我々は最近、ヒト IL-4 を発現する NOG マウスを作製し、ヒト PBMC を移植することによって、異種移植により誘導される GVHD を抑制し、抗原特異的なヒト IgG 抗体産生を誘導することに成功した。免疫系の強力な抑制物質であるグルココルチコイド(GC)は、GVHD などの炎症で誘導される炎症性サイトカインにより亢進するため、我々は、NOG-hIL-4-Tg マウスでは IL-4 によりこれらのシグナルが低下していることが特異抗体産生を亢進しているという仮説を立てた。そこで、本研究においては、これらのマウスに移植されたリンパ球の GC 受容体(GR) mRNA の発現について比較解析を行なった。

材料と方法) NOG-hIL-4-Tg マウスは実験動物中央研究所にて作製したものをを用いた。NOG マウスはインビボサイエンス社より購入した。8 週令の両マウスにヒト PBMC を移植し、乳がんペプチドワクチン候補である HER2 部分ペプチドを免疫した。2 週間後に追加免疫を行い、4 週間後に血漿および脾臓細胞を採取した。血漿中の特異抗体価は ELISA で、脾臓中のヒト細胞の同定はフローサイトメトリーを用いて行った。

結果) NOG-hIL-4-Tg マウスに生着したヒトリンパ球は、免疫により特に B 細胞の割合が高くなる傾向が示された。また、予想に反して、hIL-4 の発現の有無にかかわらずマウスに移植されたヒト T 細胞のサブセットに大きな差は検出されず、Th1 細胞優位であった。両マウス脾臓で検出された B 細胞の大部分は抗体産生細胞であるプラズマブラスト様細胞であった。しかし、脾臓細胞におけるヒト GR の発現は hIL-4 を発現したマウスで優位に低く、特に CD19 陽性 B 細胞や特異的 IgG 抗体の血漿中濃度と強い負の相関が観察された。

結論) ヒト化 NOG-hIL-4-Tg マウスにおいては、移植されたヒト PBMC の GR 発現量が有意に低下しており、B 細胞・特異抗体産生と負の相関が観察された。

ヒト妊娠免疫モデルとしての妊娠ヒト化マウスの解析

○大野 裕介¹ 伊藤 亮治² 和泉 俊一郎³ 伊藤 守² 亀谷 美恵¹

¹ 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学 ² 公益財団法人実験動物中央研究所 ³ 東海大学医学部専門診療学系産婦人科学

【背景・目的】母体は妊娠時、非自己である胎児を受容するために特殊な免疫系を構築する。これにはプロゲステロン(P4)等の妊娠関連ホルモンが関与することは知られているが、*in vivo* の妊娠関連ホルモン環境下でヒト免疫担当細胞がどのように相互作用するか解析する良いモデルは存在しない。そこで我々は、妊娠ヒト化マウスを作製し、生着した細胞の動態解析を試みた。

【方法】交配後の雌の重度免疫不全マウス (NOG マウス) に健常者 PBMC を 5×10^6 個移植し、妊娠ヒト化マウスを作製した。14 日後に末梢血、脾臓を摘出し、細胞懸濁液を調製した後、各種抗ヒト白血球マーカー抗体で染色しフローサイトメトリー (FACS) で解析した。血漿中のヒト IgG 抗体相対値と P4 濃度はそれぞれ LC/MS、ELISA 法を用いて測定した。また、観察された結果に対する P4 の直接的な影響を見るため、P4 を生理濃度で 14 日間投与した P4 投与ヒト化マウスを用いて同様の解析を行った。

【結果】妊娠ヒト化マウスの血漿中 P4 濃度は非妊娠個体よりも優位に高く、豊富な P4 環境が形成される事が確認された。また、脾臓に局在するヒト B 細胞は妊娠・非妊娠個体共にその大多数が抗体産生能を持つプラズマブラスト様細胞へと分化していた。しかしながら、妊娠個体の血漿中ヒト IgG 相対値は非妊娠個体よりも優位に低かった。

P4 投与ヒト化マウスの脾臓に局在するヒト B 細胞は投与・非投与個体共にその大多数がプラズマブラスト様細胞へと分化していた。血漿中ヒト IgG 相対値は妊娠ヒト化マウスとは異なり、投与個体が非投与個体よりも大きい傾向にあった。

【考察】妊娠ヒト化マウスに観察された B 細胞の抗体産生能抑制は P4 投与マウスでは観察されなかったことから、抗体産生には P4 だけでなく、その他の妊娠時に産生が亢進するステロイドホルモンまたはタンパク質の関与の可能性が示唆された。

新たに見いだした自然発生矮小変異マウスにおける内分泌学的解析

○佐藤 貴弘 大石 佳苗 児島 将康
久留米大学分子生命科学研究所

【背景・目的】自然発生矮小変異マウス（以下、矮小マウス）は、我々がグレリン遺伝子欠損マウスを維持する過程で偶発的に得られたマウスである。グレリン遺伝子ヘテロ欠損マウス同士を交配したときに、眼間が広く、鼻部の短い頭部形成に異常の見られる矮小雄マウスが生まれた。そこで C57BL/6J マウスとの戻し交配を 12 世代まで繰り返したところ、グレリン欠損の影響が完全に取り除かれ、遺伝的な背景が C57BL/6J マウスに均一化されたコンジェニック系として樹立することができた。コンジェニック化された矮小マウスは外見的な異常形質をすべて引き継いでいたことから、何らかの遺伝子変異によりこれらの異常形質が生じていると考えられる。一方で、外貌以外の形質は未知のため、このマウスが新規のモデル動物なのか否かは不明である。そこで本研究では、矮小マウスにおける異常形質の全貌を明らかにするため、内分泌学的な解析を試みた。

【方法・結果】矮小マウスの血清を採取してベトスキャン（ABAXIS 社）にて血液生化学的な検査を行うと、同腹の正常マウスよりも安静時の血糖値が低かった。そこで糖負荷試験（2mg/kg グルコース、腹腔内）を実施すると、矮小マウスは高い耐糖能を示した。この時の血中インスリン値に異常は見られず、血糖値と同様に推移した。また、高脂肪食負荷試験を実施しても矮小マウスはほとんど肥満にならないことも示された。

【考察】このような異常形質を持つ矮小マウスはこれまでに報告がなく、また、データベースにも記載されていないことから、既知のモデル動物とは異なる矮小マウスだと考えられる。したがって、ソマトトロフ軸を中心とした詳細な解析が求められるとともに、責任遺伝子の同定が期待される。

ラット正中隆起外層におけるエストロゲン依存的なバゾプレッシン動態の検討

○西村 和朗^{1,2} 眞田 賢哉¹ 別府 拓紀¹ 秋山 泰樹¹ 西村 春来¹ 田中 健太郎¹
園田 里美¹ 上野 啓通¹ 吉村 充弘¹ 丸山 崇¹ 吉野 潔² 上田 陽一¹

¹産業医科大学医学部第1生理学 ²同産科婦人科学

【背景】アルギニンバゾプレッシン (AVP) は視床下部室傍核 (PVN) および視索上核 (SON) に局在する大細胞性神経分泌ニューロンの細胞体で産生され、下垂体後葉へ投射した軸索終末より循環血中に分泌される。一方、PVN の小細胞性神経分泌ニューロンの細胞体で産生された AVP は、コルチコトロピン放出ホルモン (CRH) とともに正中隆起 (ME) 外層に投射した軸索終末より下垂体門脈に分泌される。AVP と CRH は共に下垂体前葉からの ACTH 分泌を促進することが知られているが、性差や雌の性周期による変化は不明である。

【目的】AVP-eGFP トランスジェニック (TG) ラットを用いて、性差および性周期別の視床下部 AVP の動態を解明することを目的とした。

【方法】成熟雄性・雌性の AVP-eGFP TG ラットを用いた。①10 週齢で雄群と雌群を性周期別 (発情前期、発情期、発情後期、休止期) の 5 群に分けた。②前述の 5 群に加えて、10 週齢の雌に両側卵巢摘出術 (OVX) 群を追加し、12 週齢の合計 6 群に分けた。③10 週齢に OVX を施行し 12 週齢に Control 群、Vehicle 群、ホルモン補充群 (低用量エストロゲン 35.8pg/日、高用量エストロゲン 514.1pg/日) の合計 4 群に分けた。いずれも灌流固定後に脳を取り出し、薄切切片 (30 μm) を作成し、SON・PVN・ME において蛍光顕微鏡で観察解析した。

【結果】すべての群の SON および PVN に局在する大細胞性神経分泌ニューロン細胞体の eGFP 緑色蛍光に有意差はなかった。ME 外層の AVP-eGFP 顆粒数は、雄と比較して雌すべての性周期において有意に多く、OVX 群では AVP-eGFP 顆粒は消失した。高用量エストロゲン投与群では、ME 外層の AVP-eGFP 顆粒は他群と比較して有意に増加し、正常の雌の性周期での値まで戻った。

【考察】ME 外層の AVP-eGFP 顆粒はエストロゲン依存性に増減することが明らかになった。ME 外層には、AVP とともに CRH も分泌されており、性差におけるストレス応答の違いについて今後検討したい。

謝 辞

第33回日本下垂体研究会学術集会の開催にあたり、御寄附・広告掲載に協賛頂きました企業ならび医療機関の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

アステラス製薬株式会社
アストラゼネカ株式会社
アルフレッサ篠原化学株式会社
医療法人社団豊南会 香川井下病院
医療法人仁栄会 島津病院
医療法人萩友会 今川内科
MSD株式会社
尾崎理化株式会社
株式会社三和化学研究所
株式会社メディックメディア
協和発酵キリン株式会社
興和創薬株式会社
社会医療法人仁生会三愛病院
第一三共株式会社
大日本住友製薬株式会社
武田薬品工業株式会社
田辺三菱製薬株式会社
帝人ファーマ株式会社
日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
ノバルティスファーマ株式会社
ファイザー株式会社
ヤマサ醤油株式会社
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

(50音順)

大会事務局

〒780-8520 高知県高知市曙町二丁目 5-1 高知大学保健管理センター

TEL: 088-844-8157 E-mail: iwasakiyasumasa@gmail.com

会長：岩崎 泰正 事務担当：川崎 英子

運営事務局

TEL: 088-824-2715 E-mail: t-president@e-g.co.jp

〒780-0912 高知市八反町一丁目 15-15 イブニンググロー

担当 豊永 雅男