



日本下垂体研究会 第 34 回学術集会  
The 34th Annual Meeting of  
the Japan Society for Pituitary Research

プログラム・講演要旨集

2019 年 8 月 7 日 (水) ~9 日 (金)

玉造温泉 ゆ〜ゆ コンベンションホール  
〒699-0201 島根県松江市玉湯町玉造 255

玉造グランドホテル長生閣  
〒699-0201 島根県松江市玉湯町玉造 331



### 『日本下垂体研究会事務局』からのお願い

学会期間中に、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、所属学生の異動の有無や会費納入状況の確認をお願いいたします。



日本下垂体研究会 第34回学術集会  
プログラム・講演要旨集

目次

会長挨拶	4
開催要領	5
プログラム概要	10
日程表	11
学術集会プログラム	12
要旨	
吉村賞受賞講演	23
特別講演	24
スポンサードセミナー	26
シンポジウム	27
最優秀発表賞候補者演題	38
一般演題	47
謝辞	74



## ごあいさつ

第34回学術集会は島根県で開催させて頂くこととなりました。島根県の出雲地方は神話の国として知られており、出雲大社には大国主命（オオクニヌシノミコト）が祀られています。皆さんご存知のように、サメをだまして海を渡ろうとした白ウサギが怒ったサメに皮をはぎ取られて泣いていると、「川の水で体を洗い海水の塩を落とし、がまの穂を取ってその上で寝転がると治る」と優しく諭した神様です。毎年10月には全国から八百万（やおよろず）の神々が出雲大社に集まり縁結びに関する会議が開かれると言われていています。出雲地方では旧暦10月は神無月（かんなづき）ではなく神在月（かみありづき）というのはその為ですが、私は下垂体研究会を島根でというお話を頂いた時、「神々が集まる＝下垂体研究者が集まる」というイメージが浮かびました。

毎年8月に開催される下垂体研究会には全国から下垂体研究者が一か所に集まり、下垂体を含む内分泌研究について自由、活発に議論し、親睦を深めます。「神の湯」と呼ばれる玉造温泉に是非お集り頂き、最先端の知見を得るとともに、日頃の研究成果を研究者仲間に知ってもらい、ついでにお肌もつるつるになってお帰り頂ければ大変嬉しく思います。

基本的には第34回学術集會も例年通りの合宿形式とし、特別講演、シンポジウム、一般演題でプログラムを構成し、夜はファイルオンザデスクで議論を深めたいと考えています。ディスカッションの時間が十分に確保できるようプログラムを構成したいと考えています。玉造温泉には会場の他にも沢山の温泉宿、外湯がございます。皆さまのご自由なスタイルで当地での学術集會をお楽しみいただければと考えております。エクスカージョンとして出雲大社へのバスツアーも企画しています。多くの皆様のご参加を心よりお待ちしております。

日本下垂体研究会 第34回学術集會  
会長 金崎 春彦





## 日本下垂体研究会 第34回学術集会 開催要領

### 1. 会期

- 2019年8月7日(水) 幹事会、最優秀発表賞候補者演題 1、シンポジウム 1、一般演題 1・2、ファイルオンザデスク
- 2019年8月8日(木) 最優秀発表賞候補者演題 2、一般演題 3・4、特別講演、スポンサーセミナー、評議員会・総会、吉村賞受賞講演、エクスカッション(出雲大社)、懇親会、ファイルオンザデスク
- 2019年8月9日(金) シンポジウム 2、一般演題 5、最優秀発表賞受賞式

### 2. 会場

- 一般講演・シンポジウム・受賞式等会場  
玉造温泉 ゆ〜ゆ コンベンションホール  
〒699-0201 島根県松江市玉湯町玉造 255  
TEL 0852-62-1000、<http://www.tama-yuuyu.com>
- ファイルオンザデスク・懇親会等会場  
玉造グランドホテル長生閣  
〒699-0201 島根県松江市玉湯町玉造 331  
TEL 0852-62-0711、<http://www.choseikaku.co.jp>

### 3. 参加受付

8月7日(水) 12時より玉造温泉 ゆ〜ゆ 3階 コンベンションホール前に受付場所を設置します。参加費、懇親会費、エクスカッション費は、大会当日に受付で現金にてお支払いください。その際に、名札と要旨集をお受け取りください。クロークは会場付近に用意いたします。

### 4. 参加費

一般会員	5,000円	学生会員	2,000円
非会員/一般	7,000円	非会員/学生	3,000円



## 5. 懇親会費

一般会員	4,000 円	学生会員	1,500 円
非会員/一般	4,000 円	非会員/学生	1,500 円

玉造グランドホテル長生閣宿泊者ではなく、懇親会に参加を希望される場合は 8,640 円となります。

## 6. 弁当

8月8日(木)の昼食はお弁当をご用意いたします。

## 7. エクスカーション

8月8日(木)15時より、出雲大社へのエクスカーションを予定しています。参加費として、大会参加受付時に1,000円をお支払いください。参加には事前の申し込みが必要ですが、当日の申し込みも可能です。

## 8. 宿泊

宿泊は玉造グランドホテル長生閣になります。

部屋種 (1泊2食付)	1名1室	2名1室	3名1室	4名1室	5名1室
1名1泊あたり (税込)	24,990 円	16,350 円	15,270 円	14,190 円	10,950 円

部屋割りは受付時にお渡しいたします。できる限りご希望に沿えるようにいたしますが、参加人数や部屋数の関係で、ご希望のお部屋にご案内できないことがあります。

チェックインは15時以降、チェックアウトは10時までとなります。

宿泊費はチェックアウト時に各自でホテルフロントへお支払いください。

## 9. 発表形式

演題は全て口頭発表で行います。一般演題の発表時間は質疑応答を含め10分、シンポジウムの発表時間は質疑応答を含め25分です。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、ご自身のパソコンをお持ち込みください。またMS Power Point 2016で作動確認したファイルをご準備ください。

作成したPowerPointファイルは、USBメモリに保存し、会場のファイル受付係までお持ちください。学術集会初日にも2日目、3日目の演題の受付をいたします。早めに受付をすまされますよう、ご協力のほど、よろしくお願い申し上げます。



ご自身の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ご確認いただき、必要に応じてアダプターをご用意ください。

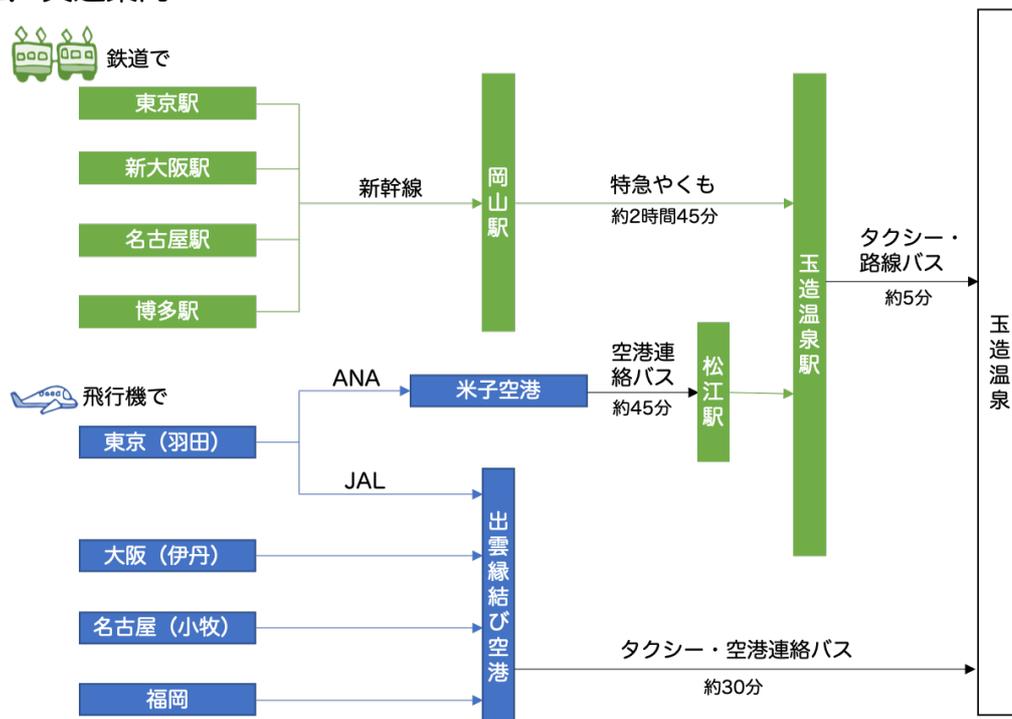
## 10. ファイルオンザデスク

8月7日（水）、8日（木）21時から玉造グランドホテル長生閣の小広間（八重垣）にて行います。演題発表に使用したスライドあるいは、スライドの印刷物をご持参いただき、情報交換と交流を深めてください。

## 11. 最優秀発表賞

最優秀発表賞に応募の演題は、最優秀発表賞審査要項に従って審査されます。審査員の評点をもって、最優秀発表賞受賞者を決定します。表彰式は、8月9日（金）に行います。

## 12. 交通案内



8月7日（水）11時35分着 東京→出雲便でお越しのかたは、ホテルより送迎バスがあります（予約は不要です）。

8月9日（金）16時15分発 出雲→東京便でお帰りのかたは、14時30分にホテルから送迎バスがあります（希望のかたは大会受付時にお申し出ください）。



車で

東からお越しの場合

松江西 IC で山陰自動車道を出て約 10 分

西からお越しの場合

松江玉造 IC で山陰自動車道を出て約 5 分

### 13. 学会事務局

島根大学医学部産科婦人科

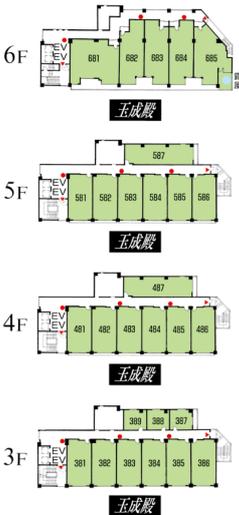
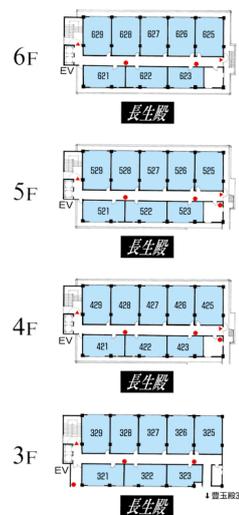
電話 0853-20-2268

E-mail obgyjimu@med.shimane-u.ac.jp



# 玉造グランドホテル長生閣 館内図

## 平面図



凡例  
●...消火器  
▲...非常口



## 日本下垂体研究会 第34回学術集会 プログラム概要

- 吉村賞受賞講演  
戸村 秀明 (明治大学農学部)  
座長：菊池 元史 (自治医科大学医学部総合教育)
- 特別講演  
福永 浩司 (東北大学大学院薬学研究科)  
座長：金崎 春彦 (島根大学医学部産科婦人科)
- スポンサーセミナー 共催：メルクバイオフーマ株式会社  
見尾 保幸 (ミオ・ファティリティ・クリニック)  
座長：折出 亜希 (島根大学医学部産科婦人科)
- シンポジウム1：非モデル生物の下垂体を中心とする内分泌学  
山口 陽子 (島根大学学術研究院農生命科学系)  
椋田 崇生 (鳥取大学医学部解剖学講座)  
小林 勇喜 (広島大学統合生命科学研究所)  
蓮沼 至 (東邦大学理学部生物学科)  
塚田 岳大 (東邦大学理学部生物分子科学科)  
座長：堀口 幸太郎 (杏林大学保健部)、塚田 岳大 (東邦大学理学部)
- シンポジウム2：生殖機能の中枢制御  
松崎 利也 (徳島大学医学部産科婦人科)  
田村 博史 (山口大学大学院医学系研究科産科婦人科)  
角川 博哉 (山口大学共同獣医学部)  
大塚 文男 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科総合内科)  
座長：岩崎 泰正 (高知大学臨床医学部門)、安部 由美子 (群馬大学大学院保健学研究科)
- 若手最優秀発表賞候補演題
- 一般演題



日本下垂体研究会 第 34 回学術集会 日程表

日本下垂体研究会 第 34 回学術集会プログラム

	2019年8月7日(水)	2019年8月8日(木)	2019年8月9日(金)
7:00		7:00 朝食	7:00 朝食
8:00		長生閣「出雲ダイニング秀峰」	長生閣「出雲ダイニング秀峰」
		8:30 最優秀発表賞候補演 2	8:30 シンポジウム 2
9:00		9:10 休憩	
		9:20 一般演 3	
10:00		10:10 休憩	10:10 休憩
		10:20 一般演題 4	10:20 一般演題 5
11:00		11:00 休憩	
		11:10 特別講演	
			11:30 休憩
			11:40 最優秀発表賞表彰式
			11:55 閉会のあいさつ
12:00		12:10 休憩	12:00 閉会
	12:20 幹事会	12:15 スポンサードセミナー	
13:00		13:15 休憩	
	13:20 開会 開会のあいさつ		
	13:25 最優秀発表賞候補 演題 1	13:25 評議委員会・総会	
		13:55 吉村賞受賞講演	
14:00	14:05 休憩		
	14:10 シンポジウム 1		
		14:35 移動・自由時間	
15:00		15:00 エクスカーション	
16:00			
	16:15 休憩		
	16:25 一般演題 1		
17:00			
	17:15 休憩		
	17:20 一般演題 2		
18:00	自由時間	自由時間	
19:00	夕食 長生閣「薫風」	懇親会 長生閣「薫風」	
20:00	自由時間		
21:00	ファイルオンザデスク	ファイルオンザデスク	
23:00	長生閣「八重垣」	長生閣「八重垣」	



## 1日目 8月7日(水)

開会の辞 13:20~13:25

最優秀発表賞候補演題 1 13:25~14:05

座長：上田 陽一（産業医科大学）

吉田 彩舟（東京慈恵医科大学）

### 1. アシドーシスと下垂体における LH 分泌の関連性

- 小島遼太郎<sup>1</sup>、堀口幸太郎<sup>2</sup>、持丸雄太<sup>1</sup>、戸村秀明<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>明治大学大学院農学研究科生命科学専攻、<sup>2</sup>杏林大学保健学部、<sup>3</sup>明治大学  
内分泌研究所

### 2. V1a vasopressin receptor deficient mice as a model for accelerated aging

- ふじあんてい かすまど Fujianti Casmad, Morio Azuma, Hiroyoshi Tsuchiya, Yoko Fujiwara, Junichi Taniguchi and Taka-aki Koshimizu

Department of Pharmacology, Division of Molecular Pharmacology,  
Jichi Medical University

### 3. Computer vision analysis and deep learning of maternal behavior in mice

- さっじゃういりあー しょーていっぶ Sajjaviriya Chortip, Morio Azuma, Hiroyoshi Tsuchiya, Yoko Fujiwara, Junichi Taniguchi and Taka-aki Koshimizu

Department of Pharmacology, Division of Molecular Pharmacology,  
Jichi Medical University

### 4. アクチビン及びインヒビンの視床下部キスペプチンニューロンに対する直接作用について

- つむるがん ぞるざや 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

休憩 14:05~14:10



シンポジウム 1 14:10~16:15

非モデル生物の下垂体を中心とする内分泌学

座長：堀口 幸太郎（杏林大学）

塚田 岳大（東邦大学）

1. 円口類ヌタウナギの下垂体後葉ホルモン受容体

○ 山口陽子

島根大学学術研究院農生命科学系

2. 終脳はホルモンの標的部位となりうるカートビハゼ脳の解析例

○ 椋田崇生<sup>1</sup>，福田和也<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鳥取大学医学部解剖学、<sup>2</sup>名古屋大学院生命農学研究科水圏動物学

3. カレイ目黒色素胞刺激ホルモン（MSH）研究から見出した GPCR ヘテロダイマー形成の重要性

○ 小林勇喜

広島大学統合生命科学研究科

4. ウシガエルを用いた研究から見えてきた両生類 3 型甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体の特性および機能

○ 蓮沼 至<sup>1</sup>、中野真樹<sup>1</sup>、小林哲也<sup>2</sup>、岩室祥一<sup>1</sup>、山本和俊<sup>3</sup>、菊山 榮<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東邦大・理・生物、<sup>2</sup>埼玉大・院理工・生体制御、<sup>3</sup>早稲田大・教育・生物

5. ニホンウナギを用いた C 型ナトリウム利尿ペプチドの新規機能探索

○ 塚田岳大

東邦大・理

休憩

16:15~16:25



一般演題 1

16:25~17:15

座長：亀谷 美恵（東海大学）

小川 典子（島根大学）

1. マウス ES 細胞から分化誘導した視床下部神経幹細胞

○ 須賀英隆、加納麻弓子、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

2. ヒト多能性幹細胞由来 3 次元培養視床下部/下垂体組織の形態学的検討 第 1 報

○ 井下尚子<sup>1</sup>、須賀英隆<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東京都健康長寿医療センター病理診断科、<sup>2</sup>名古屋大学大学院医学研究科  
糖尿病・内分泌内科学

3. ラット下垂体前葉におけるナトリウム利尿ペプチドファミリー分子の発現解析

○ 藤原 研<sup>1</sup>、塚田岳大<sup>2</sup>、堀口幸太郎<sup>3</sup>、大野伸彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>自治医大・医・解剖（組織）、<sup>2</sup>東邦大・理、<sup>3</sup>杏林大・保健

4. マウス下垂体前葉における CD9/CD81 陽性細胞の観察

○ 堀口幸太郎<sup>1,2</sup>、吉田彩舟<sup>2,3</sup>、中倉 敬<sup>4</sup>、藤原 研<sup>5</sup>、塚田岳大<sup>6</sup>、長谷川  
瑠美<sup>1</sup>、瀧上 周<sup>1</sup>、大迫俊二<sup>1</sup>、屋代 隆<sup>7</sup>、加藤たか子<sup>2</sup>、加藤幸雄<sup>2</sup>

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

5. ラット視床下部・下垂体における下垂体後葉ホルモン動態の性差について

○ 西村和朗<sup>1,2</sup>、馬場一彦<sup>1</sup>、眞田賢哉<sup>1</sup>、秋山泰樹<sup>1</sup>、西村春来<sup>1</sup>、田中健太  
郎<sup>1</sup>、園田里美<sup>1</sup>、上野啓通<sup>1</sup>、吉村充弘<sup>1</sup>、丸山 崇<sup>1</sup>、吉野 潔<sup>2</sup>、上田陽  
一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>産業医科大学医学部第 1 生理学、<sup>2</sup>産業医科大学医学部産科婦人科学

休憩

17:15~17:20



一般演題 2

17:20~18:00

座長：内田 勝久（宮崎大学）

山口 明彦（九州大学）

1. 魚類における体色調節システムの発達をゼブラフィッシュのメラニン凝集ホルモンから読み解く

○ 水澤寛太、笠木 聡、高橋明義

北里大学海洋生命科学部

2. 背地色とニジマスの体色および体色調節関連ホルモン遺伝子の関係

○ 笠木 聡<sup>1</sup>、篠原龍哉<sup>1</sup>、加藤菜々<sup>1</sup>、三浦正之<sup>2</sup>、岡崎 巧<sup>2</sup>、水澤寛太<sup>3</sup>、高橋明義<sup>3</sup>

<sup>1</sup>北里大学海洋生命科学部、<sup>2</sup>山梨県水産技術センター、<sup>3</sup>北里大学海洋生命科学部

3. キンギョ下垂体初代培養細胞におけるソマトラクチン分泌に及ぼすメラニン凝集ホルモンの影響

○ 酒谷 斎<sup>1</sup>、中町智哉<sup>1</sup>、今野紀文<sup>1</sup>、松田恒平<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>富山大・院理工・生体制御、<sup>2</sup>富山大・院生命融合・生体情報

4. リプテルスセネガルスにおけるメラニン凝集ホルモンの同定とその局在に関する研究

○ 東 森生<sup>1</sup>、阿見彌典子<sup>2</sup>、今野紀文<sup>3</sup>、藤原 研<sup>4</sup>、輿水崇鏡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>自治医大・医・分子薬理、<sup>2</sup>北里大・海洋、<sup>3</sup>富山大・院理工・生体制御、<sup>4</sup>自治医大・医・解剖

自由時間

18:00~19:00

夕食

19:00~

（玉造グランドホテル長生閣 宴会場「薫風」）

ファイルオンザデスク

21:00~23:00

（玉造グランドホテル長生閣「八重垣」）



## 2日目 8月8日(木)

### 最優秀発表賞候補演題 2 8:30~9:10

座長：井下 尚子（東京都健康長寿医療センター）

藤原 研 （自治医科大学）

#### 1. ウナギにおける新規ナトリウム利尿ペプチドの発見と脳内発現領域

○ 片山侑駿<sup>1</sup>、御輿真穂<sup>2</sup>、稲井田千紘<sup>1</sup>、竹井祥郎<sup>3</sup>、塚田岳大<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東邦大・理・生物分子、<sup>2</sup>岡山大・理・生物、<sup>3</sup>東京大・大気海洋研

#### 2. キンギョの摂食行動と情動行動に及ぼすアルギニンバソトシン（AVT）の脳室内投与の影響

○ 渡邊桂佑<sup>1</sup>、荒石紘羽<sup>1</sup>、中町智哉<sup>1</sup>、松田恒平<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>富山大・院理工・生体制御、<sup>2</sup>富山大・院生命融合・生体情報

#### 3. Expression of neural peptides and visual opsins of the marbled sole, *Pseudopleuronectes yokohamae*

○ Iku Sato<sup>1</sup>, Satoshi Kasagi<sup>1</sup>, Kanta Mizusawa<sup>1</sup>, Akiyoshi Takahashi<sup>1</sup>, Shohei Suzuki<sup>2</sup>, Nobuyuki Hamada<sup>2</sup>, Ryousei Nakamura<sup>2</sup>, Dai Furukawa<sup>3</sup>, Naoyuki Takiguchi<sup>3</sup>, Masayuki Suzuki<sup>4</sup>, Yuki Ogasawara<sup>4</sup>

<sup>1</sup>School of Marine Biosciences, Kitasato University, <sup>2</sup>Kanagawa Prefectural Fisheries Technology Center, <sup>3</sup>Kanagawa Prefecture Fisheries Division, <sup>4</sup>Kanagawa Prefecture Cultivation and Fisheries Association

#### 4. 食虫目スルクス下垂体隆起部における LH 産生細胞の局在及び卵巣摘除による LH 産生細胞の形態学的変化の研究

○ 塙 堇<sup>1</sup>、坂田一郎<sup>1</sup>、藤原 研<sup>2</sup>、高橋直央<sup>1</sup>、坂井貴文<sup>1</sup>

<sup>1</sup>埼玉大・院理工、<sup>2</sup>自治医科大・医・解剖（組織）

休憩

9:10~9:20



### 一般演題 3

9:20~10:10

座長：近藤 朱音（四国こどもとおとなの医療センター）  
寺島 涼太（北里大学）

#### 1. 胎児・発育期 ACTH 過剰マウスの作成と成獣期における行動異常

- 小川典子、松本暁洋、荒内亮輔、大谷 浩  
島根大学医学部解剖学講座発生生物学、島根大学医学部精神医学講座

#### 2. 妊娠によるマウス母体のストレス応答性低下について

- 森山隆太郎、宮崎崇史、吉川万莉乃、木村祐輔、向井久保崇裕、松本彬伸、高野恭男、日比野良祐  
近畿大生命科学

#### 3. エストロゲン依存的なプロラクチンリン酸化酵素の探索

- 駒谷悠一郎、村磯綾乃、諸星和紀、針谷敏夫  
明治大学農学研究科 生体機構学研究室

#### 4. グルココルチコイドおよびプロゲステロンのリンパ球活性化に対する影響の比較解析

- 清水智香<sup>1,2</sup>、大木廉太郎<sup>1,3</sup>、大野裕介<sup>1</sup>、関 敏郎<sup>4</sup>、和泉俊一郎<sup>5</sup>、亀谷美恵<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>東海大学医学部基礎医学系分子生命科学領域、<sup>2</sup>東海大学工学部生命化学科、<sup>3</sup>東京バイオテクノロジー専門学校、<sup>4</sup>東海大学医学部内科学系腎内分泌代謝内科学、<sup>5</sup>東海大学医学部専門診療学系産婦人科学

#### 5. NOG-hIL-4-Tg マウスを用いた乳がん患者免疫応答とグルココルチコイドの関連性解析

- 大野裕介<sup>1</sup>、大木廉太郎<sup>1</sup>、大島志乃<sup>1</sup>、津田万里<sup>2</sup>、関 敏郎<sup>3</sup>、伊藤亮治<sup>4</sup>、亀谷美恵<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>東海大学医学部基礎医学系分子生命科学領域、<sup>2</sup>東海大学医学部外科学系乳腺内分泌外科領域、<sup>3</sup>東海大学医学部内科学系腎内分泌内科学領域、<sup>4</sup>実験動物中央研究所

休憩

10:10~10:20



**一般演題 4** 10:20~11:00

座長：須賀 英隆（名古屋大学）

東 森生（自治医科大学）

1. 急性妊娠脂肪肝に尿崩症を合併した 1 例

- 近藤朱音<sup>1</sup>、近藤龍也<sup>2</sup>、林 亜紀<sup>1</sup>、山崎幹雄<sup>1</sup>、森根幹生<sup>1</sup>、檜尾健二<sup>1</sup>、前田和寿<sup>1</sup>

<sup>1</sup>四国こどもとおとなの医療センター、<sup>2</sup>熊本大学病院糖尿病・代謝・内分泌内科

2. 機能性下垂体腺腫に対する経鼻手術

- 永田雄一、竹内和人、山本太樹、若林俊彦  
名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科

3. 性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）のゴナドトロフ株化細胞 L $\beta$ T2 細胞におけるアネキシン A5 含有 micro vesicle 形成促進作用

- 汾陽光盛  
岡山理科大学獣医学部獣医生理学講座

4. Live cell imaging から垣間みるヒト 1PN および 3PN 胚の染色体動態

- 園田彩奈、湯本啓太郎、見尾保幸  
ミオ・ファティリティ・クリニック、ファティリティリサーチセンター

**休憩** 11:00~11:10

**特別講演** 11:10~12:10

座長：金崎 春彦（島根大学）

ドパミン D2 受容体機能異常と不安症

福永浩司

東北大学大学院薬学研究科

**休憩** 12:10~12:15



**スポンサーセミナー** 12:15~13:15

座長：折出 亜希（島根大学）

ヒト初期胚発生過程の動的解析—生命誕生の神秘を垣間見て—

見尾保幸

医療法人社団ミオ・ファティリティ・クリニックリプロダクティブセンター

**休憩** 13:15~13:25

**評議委員会・総会** 13:25~13:55

**吉村賞受賞講演** 13:55~14:25

座長：菊池 元史（自治医科大学）

新規 GPCR を軸とした内分泌細胞制御機構の研究

戸村秀明

明治大学農学部生命科学科

**エクスカージョン** 15:00~

**懇親会** 19:00~

（玉造グランドホテル長生閣 宴会場「薫風」）

**ファイルオンザデスク** 21:00~23:00

（玉造グランドホテル長生閣「八重垣」）



## 3日目 8月9日(金)

シンポジウム 2 8:30~10:10

### 生殖機能の中樞制御

座長：岩崎 泰正 (高知大学)

安部 由美子 (群馬大学)

1. 排卵障害動物モデルを用いたゴナドトロピン分泌異常に関する検討

○ 松崎利也

徳島大学大学院医歯薬学研究部産科婦人科学分野

2. 松果体ホルモンメラトニンと生殖医療および卵巣加齢

○ 田村博史

山口大学大学院医学系研究科産科婦人科

3. ウシ下垂体前葉で発見された新規受容体

○ 角川博哉

山口大学共同獣医学部

4. BMP による性腺と中枢の制御メカニズムの解析

○ 大塚文男

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科総合内科学

休憩 10:10~10:20

一般演題 5 10:20~11:30

座長：森山 隆太郎 (近畿大学)

山口 陽子 (島根大学)

1. 軟骨魚類・板鰓類にも生殖に寄与する視床下部-下垂体機能軸はあるのか？

○ 内田勝久<sup>1</sup>、横山裕麻<sup>1</sup>、増田元保<sup>2</sup>、宮西 弘<sup>1</sup>、香川浩彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学農学部、<sup>2</sup>碧南海浜水族館



2. 大西洋サケの銀化発動時における下垂体 tsh $\beta$ b の発現と関連する内分泌因子の動態解析

- 伊良知正太郎<sup>1,2</sup>、宮西 弘<sup>3</sup>、McCormick S.D.<sup>2,4</sup>、内田勝久<sup>3,5</sup>  
<sup>1</sup>宮崎大院農、<sup>2</sup>USGS Conte Anadromous Fish Research Center、  
<sup>3</sup>宮崎大農、<sup>4</sup>Department of Biology、University of  
Massachusetts、Amherst、<sup>5</sup>宮崎大農フィールド

3. トラフグ下垂体アロマターゼ発現細胞の特徴とローカルエストロゲンの役割

- 山口明彦  
九州大学大学院 農学研究院 海洋生物学

4. ニワトリ視床下部における光受容タンパク質 Opn5L1 の分子組織化学的解析

- 佐藤恵太<sup>1</sup>、春木慶洸<sup>2</sup>、山下高廣<sup>2</sup>、七田芳則<sup>3</sup>、大内淑代<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、<sup>2</sup>京都大学大学院理学研究科、<sup>3</sup>立  
命館大学総合科学技術研究機構

5. 血清プロラクチン値の性差と炎症性病態への関与：内科臨床における検討

- 山本紘一郎、花山宜久、安田美帆、長谷川 功、原田 洸、徳増一樹、  
萩谷英大、三好智子、小川弘子、小比賀美香子、大塚文男  
岡山大学病院 総合内科・総合診療科

6. 自然発生矮小変異マウスにおけるソマトトロフ軸の解析

- 佐藤貴弘<sup>1</sup>、藤原 研<sup>2</sup>、大石佳苗<sup>3</sup>、御船弘治<sup>3</sup>、児島将康<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>久留米大学分子生命科学研究所、<sup>2</sup>自治医科大学医学部、<sup>3</sup>久留米大学医  
学部動物実験センター

7. 発情前期の TSH 産生細胞における核内受容体 Nr4a3 の発現増加

- 寺島涼太<sup>1</sup>、榊原啓太郎<sup>1</sup>、久留主志朗<sup>1</sup>、汾陽光盛<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>北里大学獣医生理学研究室、<sup>2</sup>岡山理科大学獣医生理学講座

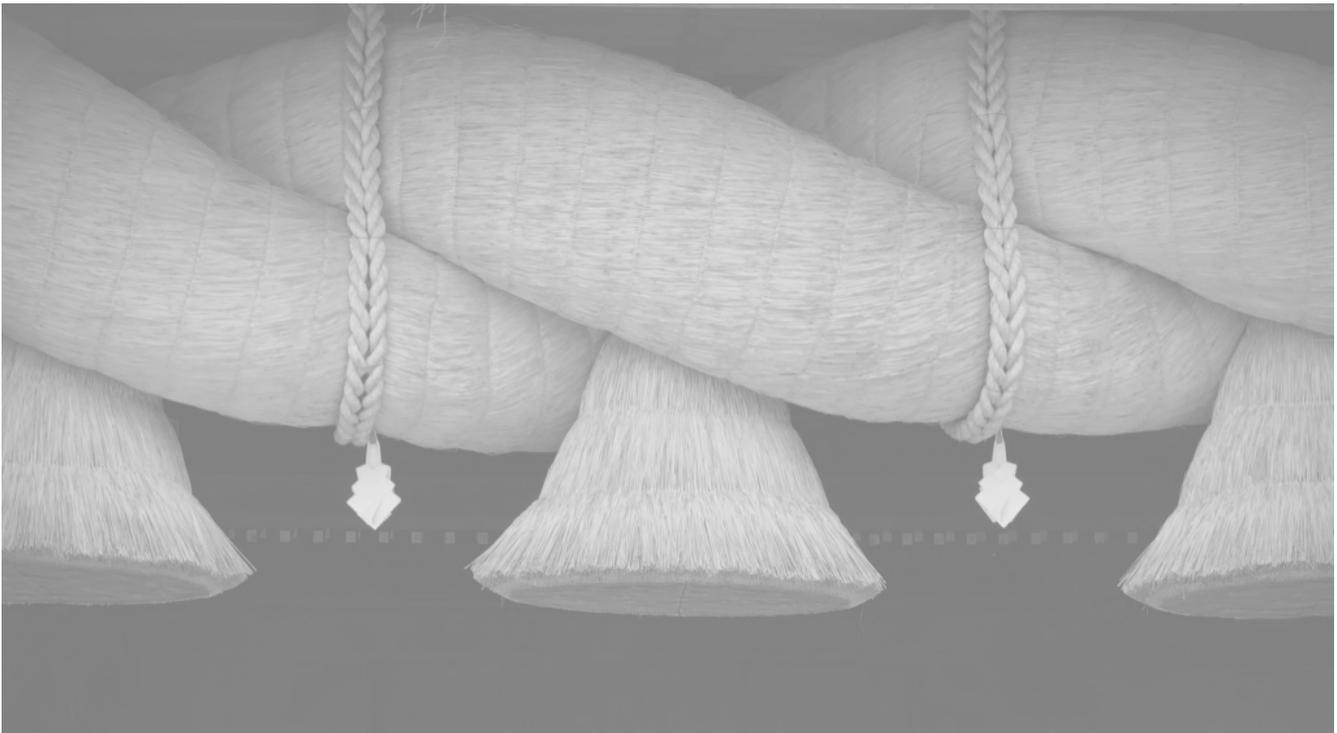
最優秀発表賞表彰式 11:40~11:55

閉会の辞 11:55~12:00



## 講演要旨

特別講演  
スポンサーードセミナー  
シンポジウム 1  
シンポジウム 2





## 吉村賞受賞講演

### 新規 GPCR を軸とした内分泌細胞制御機構の研究

戸村秀明

明治大学農学部生命科学科

私の下垂体研究との出会いは群馬大学内分泌研究所において、ATP やアデノシンをリガンドとするプリナージック受容体の解析を始めた時に遡ります。それまで ATP 合成酵素の遺伝子研究をしていた私にとって、生体エネルギーの中心物質とみなされてきた ATP やアデノシンが、あたかもホルモンのごとく細胞に作用して応答を引き起こすことは驚きでした。特にアデノシンが TSH 受容体応答を変化させるという現象に私は興味を惹かれました。プリナージック受容体が GPCR であることが明らかになったのち、この TSH 受容体応答変化の分子機構を明らかにできた時の充実感は大きいものでした。これが GPCR 研究を始めるきっかけとなったように思います。

今日まで GPCR を軸とした研究を中心におこなってきましたが、私がこれまで研究対象としてきた GPCR のリガンドは、プリナージックを皮切りに一般にホルモンとして認知されているものでは一切ありません。研究対象とする組織も広範ですが、振り返ってみますと新たな発見にはいつも下垂体が絡んでいます。明治大学に赴任して以降、下垂体研究会に参加させていただくようになり、下垂体関係の研究も多くなりました。下垂体の研究を進めていくとやはり未知の発見がたくさんでてきます。本発表では現在おこなっている下垂体関係の研究成果もご紹介できればと思います。



## 特別講演

### ドパミン D2 受容体機能異常と不安症

福永浩司

東北大学大学院薬学研究科

ドパミン D2 受容体は統合失調症治療に不可欠な抗精神病薬のターゲットである。しかし、抗精神病薬の副作用としてジスキネジアや下垂体ドパミン D2 受容体遮断による高プロラクチン血症がある。D2 受容体欠損マウスでは慢性ストレス下で不安様行動やうつ様行動が惹起されるがそのメカニズムは不明である。私達は 2 種類ある D2 受容体 (D2L 受容体、D2S 受容体) のうち、細胞内第 3 ループの長い D2L 受容体に脂肪酸結合蛋白質 3 (FABP3) が結合することを 2003 年に報告した(1)。FABP3 欠損マウスは D2L 受容体の機能が低下して、不安様行動が亢進する。脂肪酸結合蛋白質 (FABP) は本来、種々の細胞に発現して、脂肪酸輸送に関わる蛋白質である。FABP3 は心臓に高発現することから心臓型 FABP と呼ばれるが脂肪酸輸送以外の機能は不明である。講演では D2 受容体欠損および FABP3 欠損による不安様行動の発症メカニズムについて私達の知見をもとに考察する。

D2 受容体および D2L 受容体欠損マウスでは不安様行動とうつ様行動が亢進する。特に、慢性ストレスを負荷した時にこれらの症状は顕著である。欠損マウスの遺伝子網羅的解析により、セロトニンの合成と代謝系が高まることを突き止めた(2)。D2L 受容体欠損マウスではこれらのセロトニン代謝に関わる *Sert*、*Tph2*、*Gchfr* の遺伝子発現が亢進していた。ストレス負荷により前頭前野でのセロトニン遊離も上昇した。一方、野生型マウスではストレス負荷により不安行動、うつ様行動は 5-HT1A 受容体作用薬で改善されるが、D2 受容体および D2L 受容体欠損マウスのストレス誘発の不安様行動は改善されない。さらに、マウスの縫線核に存在するセロトニン神経には 5-HT1A 受容体と D2 受容体が共発現していた。以上のことから縫線核による 5-HT1A 受容体機能が D2 受容体により制御されていること、5-HT1A 受容体抑制的機能が D2 受容体欠損で消失するために、セロトニン神経系の更新が起こったと考えられる。セロトニン神経系の亢進はストレス負荷による不安様行動惹起に関与している。

D2 受容体と同様に、FABP3 欠損マウスでも不安様行動の亢進が観察された。神経回路異常について解析した。前帯状回皮質において GABA 神経活動が亢進する結果、グルタミン酸神経活動が低下した(3)。帯状回皮質は恐怖・怒りの中枢である扁桃体に対して、抑制的に働いている。この帯状回皮質の神経活動は恐



怖記憶の消去に関わっている。外傷後ストレス障害 (PTSD) では恐怖記憶の消去がうまくできない。FABP3 欠損マウスを用いて、恐怖記憶の消去について検討した。予想通りに FABP3 欠損マウスでは恐怖記憶の消去ができず PTSD 様の症状が観察された。PTSD 様症状にも D2 受容体の機能異常が関わりと考えられる。脳に発現する FABP3 の遺伝子多型は統合失調症や自閉症などに関連するという報告もあり、前帯状回皮質における GABA/グルタミン酸神経のバランス(4)、あるいはドパミン神経系、特に D2 受容体異常が関連するのかが今後明らかにする。

- (1) Novel dopamine D2 receptor signaling through proteins interacting the third cytoplasmic loop. **Fukunaga K** and Shioda N. *Mol Neurobiol.* 2012;45:144-152.
- (2) Dopamine D2L receptor deficiency causes stress vulnerability through 5-HT1A receptor dysfunction in serotonergic neurons. Shioda N, **Fukunaga K** et al., *J Neurosci* 2019;in press.
- (3) Ramelteon improves post-traumatic stress disorder-like behaviors exhibited by fatty acid-binding protein 3 null mice. Yabuki Y, **Fukunaga K** et al., *Mol Neurobiol.* 2018;55:3577-3591.
- (4) FABP3 in the anterior cingulate cortex modulates the methylation status of the glutamic acid decarboxylase67 promoter region. Yamamoto Y, **Fukunaga K** et al., *J Neurosci* 2018;38:10411-10423.



## スポンサードセミナー

### ヒト初期胚発生過程の動的解析 ー生命誕生の神秘を垣間見てー

見尾保幸

医療法人社団 ミオ・ファティリティ・クリニック  
リプロダクティブセンター

2004年5月、我々は、ヒトの顕微授精後の卵子を40時間に渡り、独自に構築した体外培養装置を用いて連続観察・撮影（time-lapse cinematography; TLC）し、その発生過程の動的解析結果を国内学会で初めて報告した。その直後には、体外受精のためにヒト卵子と媒精後、先端精子が卵子内に侵入・受精する瞬間の観察撮影にも世界で初めて成功した。これらの一連のTLCによるヒト初期胚の動的解析から、これまで、静止画による定点観察の断片的評価に限定され、その詳細がブラックボックスであった発生過程を映像として観察評価可能となり、ヒトにおける受精・胚発生の基礎研究・臨床応用に道を開く契機となった。

以来、約15年間、TLCを用いてヒト初期胚発生過程の詳細解析を継続し、胚発育の時間的推移、新たな現象、それまでの常識を覆す新事実、さらには、様々な正常発育から逸脱した挙動、等が確認でき、ヒト初期胚の発生過程の解明に少なからず寄与してきた。また、我々のTLC解析手法は、実際の臨床の現場にも反映され、原理的には異なるものの動的解析を可能にしたTLC組み込み型培養器が現在広く普及しており、ヒト卵子・胚の体外培養に必須の手法となっている。

本講演では、これまでに、我々のヒト初期胚発生過程の動的解析から知り得た種々の興味ある知見につき、時間の許す限りご紹介し、生命誕生の神秘を垣間見て頂き、その美しさ、躍動感を味わって頂ければと思っている。



## シンポジウム 1-1 非モデル生物の下垂体を中心する内分泌学

### 円口類又タウナギの下垂体後葉ホルモン受容体

○山口陽子

島根大学学術研究院農生命科学系

脊椎動物の下垂体後葉ホルモン（バソプレシンならびにオキシトシンとそれらのオーソログ）は、複数の受容体を介して多彩な機能を発揮する。近年まで後葉ホルモン受容体は 4 種類とされてきたが(V1aR、V1bR、V2R および OTR)、我々は軟骨魚類ゾウギンザメの研究から、新規の V2 型受容体を見出した。これを皮切りに後葉ホルモン受容体の再分類が進み、現在では 7 種類に細分化されている(V1aR、V1bR、V2aR、V2bR、V2cR、V2dR および OTR; V2aR が既知 V2R に相当)。これらすべてのサブタイプは、同一の祖先型分子から遺伝子重複によって生じたものである。最初の遺伝子重複で V1Rs/OTR の系統と V2Rs の系統が分かれ、その後各系統内でさらなる重複と機能分化が進んだと考えられている。一連の過程が脊椎動物の進化の早い段階で完了したことは確かだが、具体的なタイミングなど詳細は不明である。

後葉ホルモン受容体ファミリーの初期進化を紐解く鍵は、現生脊椎動物で最も早く分岐した円口類（ヤツメウナギおよびヌタウナギ）である。先行研究では、ヤツメウナギで 5 種類の受容体が同定されている。我々は同じ円口類でも、より原始的な特徴を残すヌタウナギに着目した。次世代シーケンサーを用いた網羅的解析により、ヌタウナギで初めて 2 種類の後葉ホルモン受容体を同定・単離することに成功した。分子系統解析では、ヌタウナギ受容体はそれぞれ既知の V1Rs/OTR と V2Rs に近縁であった。このことは、後葉ホルモン受容体多様化の第一段階が、ヌタウナギの分岐より前に起きたことを示唆する。本講演では遺伝子シンテニー解析や組織分布解析の結果も合わせて報告し、後葉ホルモン受容体の分子・機能進化について考察する。



## シンポジウム 1-2 非モデル生物の下垂体を中心する内分泌学

### 終脳はホルモンの標的部位となりうるカートビハゼ脳の解析例

○椋田崇生<sup>1</sup>，福田和也<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鳥取大・医・解剖学，<sup>2</sup>名古屋大・院生命農・水圏動物学

下垂体後葉ホルモンであるバソトシン (VT) は、他の脊椎動物と同様に、硬骨魚類でも脳の視索前野 (POA) に局在するニューロンから供給される。また一方で、POA の VT ニューロンは間脳から延髄にかけて広範に投射し、神経性に中枢機能を修飾しているが、終脳ではごくわずかな神経線維を腹内側核 (Vv) に認める程度である。近年、トビハゼの脳室に VT を投与すると攻撃行動が亢進したり水中滞在時間が伸びたりすることが報告されている。一般に、“行動”は終脳によって制御されるので、VT が行動に与える影響は、POA から Vv への神経性 VT による効果であると考えられている。実際に、様々な魚種の終脳 Vv に VT 受容体が発現することが知られている。しかし興味深いことに、VT 受容体については、Vv だけでなく終脳全域にわたって遺伝子及びタンパク質が発現している。また、ハゼ科魚類を含めて様々な魚種では、VT やペプチド性 VT 受容体阻害剤の筋注や腹腔投与も攻撃行動や求愛行動を変化させることが知られている。しかしながら、魚類終脳にも哺乳類と同様に血液脳関門 (BBB) があるので、これらのペプチドが血流を介して Vv に直接作用することはないとされており、VT による行動調節機序の全貌は明らかにされていない。そこで私たちは、こうした定説を再検証することを目的に、終脳ニューロンに血中由来 VT が直接作用する液性調節の可能性について、トビハゼを用いて調べることにした。これまでに、腹腔に投与した BBB 不透過性色素がトビハゼ終脳で血管外漏出し、周囲のニューロンがこの色素を取り込むことを見出した。また、こうした血管外漏出領域と他の魚種で知られている VT 受容体の分布はよく一致している。本発表では、他の魚種の所見を交えながら、トビハゼのデータをもとに終脳を標的とする VT の神経液性調節について紹介させていただきたい。



## シンポジウム 1-3 非モデル生物の下垂体を中心する内分泌学

### カレイ目黒色素胞刺激ホルモン (MSH) 研究から見出した GPCR ヘテロダイマー形成の重要性

○小林勇喜

広島大学統合生命科学研究科

本講演では、黒色素胞刺激ホルモン (MSH) とその受容体 (MCR) に関して、非モデル動物であるマツカワ (カレイ目) を用いたからこそ、見出すことが出来た研究を紹介する。MSH は翻訳後修飾により、アセチル基 (Ac 基) が付加された  $\alpha$ -MSH と Ac 基の付加が無い Des-Ac- $\alpha$ -MSH が産生される。MSH 類の生理作用は GPCR に属す MCR (MC1 から 5R) により仲介される。魚類において MSH 類は皮膚色素胞内の色素を拡散させ、体色の暗化に関与することが知られているが、Ac 基の付加が色素胞の凝集にどう関与するかは断片的な知見しか存在しない。そこで、優れた背景適応能を有するカレイ目“マツカワ”を用いて、MSH 類を用いた皮膚の培養実験を行った。その結果、黄色素胞では、MSH の Ac 化により拡散能が増強されるが、黒色素胞では Ac 化により拡散能が全く見られなくなった。加えて、シングルセル PCR により、黄色素胞では MC5R が単独で発現するのに対し、黒色素胞では MC1R と 5R が発現していることを突き止めた。黄色素胞では MC5R が単独で発現することから、MSH の Ac 化は色素拡散能を増強すると考えられる。一方、黒色素胞においても MC5R が発現するが、逆に拡散能は抑制される。この現象は、これまでの MCR システムでは説明出来ない。そこで、マツカワの黒色素胞では MC1R と 5R がヘテロダイマーを形成し、 $\alpha$ -MSH に対する生理活性が激減すると推測した。実際、生化学および細胞生物学的手法を用いて、ヘテロダイマー形成の証明とそれに伴う受容体機能の変化 (cAMP 測定) を調べたところ、本仮説を支持する結果を得た。本研究は、GPCR の複合型受容体形成とその生理的意義を繋げる稀な報告である。



## シンポジウム 1-4 非モデル生物の下垂体を中心する内分泌学

### ウシガエルを用いた研究から見てきた両生類 3 型甲状腺刺激ホルモン放出 ホルモン受容体の特性および機能

○蓮沼 至<sup>1</sup>、中野真樹<sup>1</sup>、小林哲也<sup>2</sup>、岩室祥一<sup>1</sup>、山本和俊<sup>3</sup>、菊山 榮<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東邦大・理・生物、<sup>2</sup>埼玉大・院理工・生体制御、<sup>3</sup>早稲田大・教育・生物

両生類ではアフリカツメガエルやネッタイツメガエルがいわゆるモデル動物としてよく利用されている。一方、下垂体ホルモンの研究では、その動物の大きさゆえ、ホルモン単離に必要な下垂体組織の確保が比較的容易であったウシガエルが実験対象として重宝された。実際にプロラクチン (PRL) や成長ホルモンをはじめ、各種下垂体前葉ホルモンの構造解析やラジオイムノアッセイ系の開発が行われ、多くの知見がもたらされてきた。また、ウシガエルを用いた下垂体前葉ホルモン分泌を制御する視床下部因子の探索も重要なテーマとして位置づけられており、これまでの研究により進化的観点からの考察がなされている。これらの一つの成果として、両生類における主要な PRL 分泌促進因子は甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) であることを明らかにしたことが挙げられる。さらにそのメカニズムの解明を目的とした研究で、我々は TRH が 3 型 TRH 受容体 (TRHR3) を介して PRL 分泌を促進する可能性が高いことを突き止めた。TRHR3 はアフリカツメガエルで初めてその存在が明らかにされた TRHR の新規サブタイプであるが、アフリカツメガエル TRHR3 は哺乳類の TRHR1 や TRHR2 と比較して TRH に対する結合性や応答性が著しく低いことから、TRH の機能的受容体である可能性が疑問視されてきた。これに対し、我々はウシガエル TRHR3 が TRH に対して既知 TRHR1 や TRHR2 と同等のリガンド応答性を有することを明らかにし、TRH の機能的受容体であることを示した。さらにウシガエルおよびアフリカツメガエル TRHR3 の一次構造を比較することにより、新たに TRH との結合に重要なアミノ酸を特定した。同アミノ酸は TRHR3 のみならず全ての TRHR サブタイプで動物種を問わず高い保存性を示すことから、TRHR の TRH との結合性に対して、普遍的に重要であると考えられる。



## シンポジウム 1-5 非モデル生物の下垂体を中心する内分泌学

### ニホンウナギを用いた C 型ナトリウム利尿ペプチドの新規機能探索

○塚田岳大

東邦大・理

ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) は、うなぎとして食され日本人に馴染み深い魚であるが、その生態はまだ完全にはわかっていない。そのため、実験室内での繁殖やゲノム編集技術が確立されておらず、研究を行う上でいくつかの制限がある。しかし、ウナギは、一般的なモデル生物にはないダイナミックな変態をしたり、環境浸透圧変化、飢餓、低酸素に強いなどの種々の特殊性を有する。本研究室では、比較内分泌学・生理学を軸にウナギの特殊性を紐解き、脊椎動物に普遍性に存在する生理機序を探っている。

現在、我々は、ナトリウム利尿ペプチド (NP) ファミリーに属する CNP (C 型ナトリウム利尿ペプチド) に着目している。CNP は、心臓から分泌される ANP や BNP とは異なり、主に脳で発現することから、これまで多くの研究者が哺乳類を中心に CNP の中枢機能を解析してきた。また、CNP は、哺乳類の下垂体においても発現することが確認されている。しかし、中枢および下垂体における CNP の機能はまだ明らかになっていない。我々は、魚類で多様化し、保存されている 4 種の CNP (CNP1-4) に着目し、CNP の新規機能を探索している。これまでに、*in situ* hybridization 法を用いてウナギ脳内における CNP 発現ニューロンを同定し、ウナギに発現する 3 種の CNP (CNP1, 3, 4) の脳内マップから CNP の中枢機能をいくつか予測している。また、近年、CNP3 が、ウナギの下垂体に強く発現することを見つけ、魚類の淡水適応ホルモンとして知られているプロラクチン産生細胞のみ合成されることがわかってきた。本シンポジウムでは、ウナギの研究から見つかった CNP の最新データを紹介する。



## シンポジウム 2-1 生殖機能の中樞制御

### 排卵障害動物モデルを用いたゴナドトロピン分泌異常に関する検討

○松崎利也

徳島大学大学院医歯薬学研究部産科婦人科学分野

排卵障害は月経不順と不妊症の原因となる。代表的なものとしてストレスや体重減少による視床下部性無月経と、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)があり、それぞれに特徴のあるゴナドトロピン分泌異常を呈している。不妊治療では排卵誘発が行われるが、副作用の多胎妊娠の発生を低下させるため、生理的な排卵誘発法の開発が重要課題である。一方、視床下部の神経ペプチド、kisspeptin(Kp)およびその促進因子 neurokinin B(NKB)、抑制因 dynorphin(dyn)に関する知見が集積されており、排卵障害モデルラットを用いてこれらのペプチドの動態および治療的意義について検討した。

ストレス性無月経のモデルとして、雄ラットを用い感染物質 LPS を静脈内に急性投与した。投与後に血中 LH は低下し、視床下部の Kiss1 mRNA の発現(雄なので弓状核での発現)が抑制され、これらの抑制はインドメタシンの同時投与で解除された。次に、体重減少性無月経のモデルとして雌ラットを用いて検討した。72 時間絶食により血中 LH、FSH は抑制され、直後の性周期が延長した。視床下部 Kiss1 mRNA の発現は前方ブロック (AVPV を含む) では影響を受けず、後方ブロック (弓状核を含む) で抑制された。続いて、雄マウスに 48 時間絶食を加え、NKB 受容体 NK3R の作動薬である senktide、または dyn 受容体 KOR の拮抗薬である nor-BNI を種々の濃度で投与したところ、両物質とも一定濃度以上の投与で絶食による LH の抑制を回復させた。

PCOS のモデルは、アロマターゼ阻害薬の letrozol を生後早期の雌ラットに投与して作成した。PCOS モデルラットは体重が重く、血中レプチン濃度が高いこと(脂肪蓄積)に加え、卵巣には多数の小卵胞が見られ黄体は見られず、性周期は抑制されていた。血中ホルモン濃度においても、テストステロン(T)高値、LH 高値、FSH 正常と、PCOS の発現型の大半を再現していた。視床下部の Kiss1 mRNA の発現は前方ブロック (AVPV を含む) ではコントロールと同等であったが、後方ブロック (弓状核を含む) では亢進していた。また、senktide を投与すると、視床下部後方ブロックの Kiss1 mRNA 発現、血中 LH 濃度、血中 T 濃度に見られた異常所見を正常化した。

以上のように、排卵障害では視床下部弓状核 KNDy ニューロンの Kp 発現が低下または亢進し、GnRH およびゴナドトロピン分泌異常を来していた。また、



NKB 受容体 NK3R や dyn 受容体 KOR を介して KNDy ニューロンの Kp 発現を正常化し、ゴナドトロピン分泌を正常化することができた。これらの物質が排卵障害モデルラットの排卵の回復およびヒトの排卵障害の病態改善に応用できることが示唆された。



## シンポジウム 2-2 生殖機能の中枢制御

### 松果体ホルモンメラトニンと生殖医療および卵巣加齢

○田村博史

山口大学大学院医学系研究科産科婦人科学

女性の生殖では、卵胞発育、卵成熟、排卵、黄体形成、受精、子宮内膜増殖や脱落膜化、着床といったダイナミックな変化が、視床下部-下垂体-卵巣系の精巧な内分泌機構によって制御されている。鳥などの季節繁殖動物では、日照時間によって生殖活動が制御されるが、外界の光環境情報を体内の内分泌環境へ変換する脳ホルモンがメラトニンであり、生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン (gonadotropin-inhibitory hormone; GnIH)の発現、分泌を誘導することで、メラトニンは生殖腺機能を抑制することが明らかになってきている。

一方で、メラトニンは血液中のみならず、脳脊髄液、唾液、卵胞液などの体液中に存在し、メラトニンの膜受容体は全身の多くの臓器に存在している。さらに、フリーラジカルなどの活性酸素種を消去する抗酸化作用を持つことも証明され、メラトニンは神経内分泌作用に加えて、膜受容体を介さない直接的な抗酸化作用で多様な生理作用を発揮している。

我々は、卵胞内に存在する抗酸化物質としてメラトニンに注目している。排卵過程では卵胞内において多量の活性酸素種が発生する。卵成熟や卵胞破裂には必要な刺激であるが、抗酸化機構とのバランスが崩れれば容易に卵子や顆粒膜細胞は酸化ストレスを受け、卵子の質の低下や顆粒膜細胞の機能低下につながる。メラトニンが卵胞液中に高濃度に存在することで、排卵過程発生する活性酸素種から卵子を保護する可能性について研究しており、また、不妊症患者に対してメラトニンを投与することで卵胞内の酸化ストレスを軽減し、卵子の質を向上させる臨床研究も行っている。さらに、アンチエイジングホルモンとしても注目されているメラトニンを長期投与することで、卵子数の減少、卵子の質の低下といった卵巣加齢の予防効果についても研究を行っており、これらについて解説したい。



## シンポジウム 2-3 生殖機能の中樞制御

### ウシ下垂体前葉で発見された新規受容体

○角川博哉

山口大学共同獣医学部

下垂体前葉中のゴナドトロフは、性機能調節のための重要ホルモンであるLHやFSHを分泌する、極めて重要な細胞である。同細胞からのLH・FSH分泌は、視床下部からのGnRHが細胞膜上受容体、GnRHR、に結合することや、卵巣からのエストラジオールが核内受容体ER $\alpha$ に結合することで調節されている。しかしこれらの既知の知識では説明できない現象が家畜繁殖現場では観察されている。

ゴナドトロフについては動物全般で未解明な点が多かった。私達は、ウシのゴナドトロフについて研究し、多少の成果を得られたので今回紹介させていただく。まずウシGnRHRに対する特異抗体を開発し、ウシ下垂体前葉に対する免疫染色法等に用い、GnRHRはゴナドトロフの細胞膜中のリピッドラフトという特殊部位に存在することを解明できた。また同抗体を用いウシ下垂体前葉から純度100%のゴナドトロフを単離精製する方法も開発できた。次に次世代シーケンサーを用い、ウシ下垂体前葉での発現遺伝子の全貌を解明した。続いて新規のGPCR型受容体であるGPR61とGPR153、ならびに、AMHに対する受容体であるAMHR2が、リピッドラフトにGnRHRと同乗していることを発見した。さらにGPR61のリガンドとして発見されたプラズマローゲンや、AMHR2のリガンドであるAMHが、ウシゴナドトロフからのLH・FSH分泌を調節することも発見した。これらから、老化後の性機能低下にゴナドトロフが関わる機構や、卵巣中小卵胞によるゴナドトロフ機能調節機構が考えられるようになった。この他、ウシのゴナドトロフはGPR30という新規エストロゲン受容体を発現しており、エストラジオールが数分程度の短時間に結合するとLH分泌抑制することも発見した。GPR30にはこれまで重要視されなかった内因性エストロゲンであるエストロンやエストリオールも結合し、LH分泌抑制することも発見した。また飼料に発生するカビが作るゼアラレノンも結合し、LH分泌抑制することも発見した。

以上のようにゴナドトロフに限ってみても、新規の受容体を下垂体前葉で発見できた。ソマトトロフやラクトロフなど他の下垂体前葉細胞についても、取り組みれば、新規の受容体を発見できる可能性が大いにあると考えられる。そして基礎、ならびに応用、臨床に結びつけられる多くの新たな研究を実施できるはずである。



## シンポジウム 2-4 生殖機能の中樞制御

### BMP による性腺と中枢の制御メカニズムの解析

○大塚文男

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 総合内科学

我々は Bone Morphogenetic Protein (BMP) の生理活性について研究し、BMP が組織の発育・分化のみならず、分化後の組織にも種々の役割をもつことを明らかにした。卵巣では、卵胞に発現する種々の BMP が卵母細胞・顆粒膜細胞・莢膜細胞間でネットワークを形成し、顆粒膜細胞の Progesterone(P4)産生を制御する黄体化抑制因子として機能している。また中枢と性腺の機能連関として、Prolactin は卵胞 BMP システムを促進的に、GH/IGF-I 系は抑制的に作用し、Somatostatin の卵胞ステロイド抑制作用にも BMP が関与する。さらに、Melatonin は BMP による P4 分泌抑制に拮抗すること、Incretin や Orexin は BMP シグナルを調節して卵胞ステロイド分泌に寄与することも明らかとなった。また、Gonadotropin 分泌には下垂体に発現する BMP-6 が影響すること、GnRH 分泌を促す Kisspeptin は GnRH ニューロンに発現する BMP-4 により制御されることなど、HPO 系における BMP 活性も示された。このように、BMP は性腺などの末梢内分泌腺と中枢ホルモンをつなぐ制御・調節因子としての作用をもつ。また日内変動の形成に重要なホルモンや時計遺伝子の卵胞への作用には、BMP シグナル調節が関与していることも興味深い。卵巣では卵胞ステロイド分泌調節から不妊・骨粗鬆症への BMP の治療応用、下垂体では機能性腫瘍のホルモン分泌制御への応用など、新たな展開を目指して研究を進めている。



## 講演要旨

最優秀発表賞候補演題  
一般演題





## 最優秀発表賞候補演題 1-1

### アシドーシスと下垂体における LH 分泌の関連性

○小島遼太郎<sup>1</sup>、堀口幸太郎<sup>2</sup>、持丸雄太<sup>1</sup>、戸村秀明<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> 明治大学大学院農学研究科生命科学専攻、<sup>2</sup> 杏林大学保健学部、<sup>3</sup> 明治大学内分泌研究所

(背景) 私たちの体内の pH は 7.4 付近に厳密に保たれているが、糖尿病などの疾病ではアシドーシスにより pH が下がることが報告されている。また、糖尿病患者の中には LH 過分泌が原因で起こる多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)を引き起こす患者が見受けられる。しかしながら、アシドーシスと LH 過分泌に関連性があるかは不明である。プロトン感知性 GPCR は細胞外の pH の低下を感知することで活性化する G タンパク質共役型の受容体である。その中でも OGR1 は体の様々な部位の細胞でその発現が確認されており、下垂体にも発現している。今回、私たちはマウス下垂体ゴナドトロフ由来細胞株 (LβT2) を低 pH で刺激すると、細胞内カルシウム濃度が一過的に上昇し、LH 過分泌を促進する可能性を見出した。

(目的) 本研究では、LβT2 細胞を利用し、アシドーシスと下垂体の LH 過分泌の関連性を明らかにする。

(方法) 細胞内カルシウム濃度の変化を調べるために、Fura2 を取り込ませ、その蛍光強度の変化を測定した。また Gq ファミリー阻害剤 YM-254890、OGR1 アンタゴニストである Cu<sup>2+</sup>を用いて、OGR1 を介したもののなかのどうかを調べた。LH 分泌への影響に関してはガウシアルシフェラーゼアッセイを用いて試験した。

(結果) 低 pH 刺激は LβT2 細胞内カルシウム濃度の上昇を引き起こした。その上昇は pH の低下に伴い増大した。また、このカルシウム濃度の上昇は、YM-254890 と Cu<sup>2+</sup>の添加によっても完全に抑制された。ガウシアルシフェラーゼアッセイでは低 pH による刺激によって LH 分泌を促進する可能性が示唆された。

(考察) 本研究の結果、低 pH 刺激による LβT2 細胞内カルシウム濃度の上昇は、OGR1 を介して引き起こされていることが明らかとなった。また、この低 pH 刺激による細胞内カルシウム濃度の上昇が、GnRH に依存しない LH の合成・分泌を促進する可能性も示唆した。これは糖尿病によるアシドーシスが LH 過分泌を促し、PCOS を起こさせる可能性を示唆している。



## 最優秀発表賞候補演題 1-2

### V1a vasopressin receptor deficient mice as a model for accelerated aging

○Fujianti Casmad, Morio Azuma, Hiroyoshi Tsuchiya, Yoko Fujiwara, Junichi Taniguchi and Taka-aki Koshimizu

Department of Pharmacology, Division of Molecular Pharmacology, Jichi Medical University

Deposition of age-related fluorescent pigment in tissues was initially discovered by A. Hanover in 1842 and the pigments were subsequently called lipofuscin by W. Hueck in 1912 and M. Borst in 1922. In addition to recognition as a valuable and convenient marker for aging, lipofuscin is often implicated in age-related diseases such as Alzheimer disease, Parkinson disease, heart failure and macular degeneration. It has been known for decades that the lipofuscin is found in several aged organs such as the eyes, brain and adrenal cortex of humans and rodents. However, how these normal aging processes proceed is not known. In a preliminary study, we found that in the adrenal gland of V1a vasopressin receptor-deficient mice (V1aKO), more lipofuscin granules were accumulated with age compared with control mice. In this study, adrenal glands of different ages were collected from V1aKO and wild type mice. The tissues were fixed in 4 % paraformaldehyde solution overnight. Then frozen sections of 8  $\mu$ m thickness were prepared by cryosection and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The sections were stained to visualize nucleus and plasma membrane and examined using confocal microscope. We found lipofuscin fluorescent signals in the adrenal gland of both V1aKO and WT mice at 8 weeks of age. However, the amount of lipofuscin in V1a-deficient adrenal gland from both sexes was significantly increased compared with that of control mice. In V1aKO mice older than 8 weeks, lipofuscin deposition was further accelerated. Also, we found that lipofuscin accumulation started in the cytoplasm. The results showed that the adrenal glands at 8 weeks of age in V1a mice are excellent model to study potential cause and identify of lipofuscin aging pigments. The mechanism of an increase in this deposit formation, especially its relationship to the V1a receptor, needs to be further examined.



### 最優秀発表賞候補演題 1-3

#### **Computer vision analysis and deep learning of maternal behavior in mice**

○Sajjaviriya Chortip, Morio Azuma, Hiroyoshi Tsuchiya, Yoko Fujiwara, Junichi Taniguchi and Taka-aki Koshimizu

Department of Pharmacology, Division of Molecular Pharmacology, Jichi Medical University

Maternal behavior is widely preserved in living animals. In fact, nurturing behaviors of mother are important for the continued survival of the next generation. Failure of maternal care results in neglect behaviors, which are important social and clinical problem. The posterior pituitary hormones have been associated with maternal behavior through activation of responsible G-protein coupled receptors in the brain. According to recent studies, arginine vasopressin (AVP) and V1a receptor in rodent have a significant impact on maternal behavior in nest building, pups retrieval and taking care of babies. However, it is difficult to evaluate natural behavior of lactating mother taking care of her offspring for relatively long and continuous periods. To investigate the role of central AVP in critically regulating interaction between mother and baby mice, we introduced the evolving power of computer vision and machine learning, especially deep learning. From labeled videos and images, model program was established by deep learning, which enabled to recognize new mother-offspring images. Mother and baby mice in their home cages were successfully recognized in over ten thousand images in each family. This analytical technique, combined conventional approaches, can be broadly useful for future behavioral research to analyze numerous data with increased accuracy, efficiency and speed throughout the observation period in free moving and non-stressed conditions.



## 最優秀発表賞候補演題 1-4

### アクチビン及びインヒビンの視床下部キスペプチンニューロンに対する直接作用について

○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

【目的】アクチビン及びインヒビンは主として卵胞より合成分泌され、月経周期によりその血中濃度は変動する。これらのペプチドは卵巣あるいは下垂体の局所因子として作用する。視床下部キスペプチン (Kiss-1) は GnRH 分泌を制御する中枢因子である。今回アクチビン及びインヒビンの Kiss-1 ニューロンに対する直接作用を調べる事を目的とした。【方法】マウス視床下部弓状核(ARC)領域由来の Kiss-1 発現ニューロンである mHypoA-55 細胞を用いた。ARC 領域の Kiss-1 ニューロンはエストラジオールによるネガティブフィードバックのターゲットとされ、本細胞は E2 刺激によりある条件下では Kiss-1 発現が減少する。アクチビン、インヒビン及びフォリスタチン刺激による mHypoA-55 細胞における Kiss-1 発現を定量 PCR で測定した。【結果】アクチビンは mHypoA-55 細胞の Kiss-1 発現を増加させた。アクチビン結合蛋白であるフォリスタチンは単独で mHypoA-55 細胞の Kiss-1 発現を減少させた。これらの現象は視床下部初代培養細胞を用いた実験でも確認した。アクチビンによる Kiss-1 発現の増加はフォリスタチン存在下で阻害された。卵胞期に卵胞からの分泌が上昇するインヒビン B は mHypoA-55 細胞の Kiss-1 発現に影響を与えず、黄体期に上昇するインヒビン A は Kiss-1 発現を有意に減少させた。アクチビンの Kiss-1 増加作用はインヒビン A 存在下で阻害された。アクチビン及びインヒビンサブユニットおよびフォリスタチン発現は視床下部組織及び mHypoA-55 細胞にも認められた。【結論】視床下部局所においてアクチビン/インヒビン/フォリスタチンによる Kiss-1 発現制御が行われている可能性がある。



## 最優秀発表賞候補演題 2-1

### ウナギにおける新規ナトリウム利尿ペプチドの発見と脳内発現領域

○片山侑駿<sup>1</sup>、御輿真穂<sup>2</sup>、稲井田千紘<sup>1</sup>、竹井祥郎<sup>3</sup>、塚田岳大<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東邦大・理・生物分子、<sup>2</sup>岡山大・理・生物、<sup>3</sup>東京大・大気海洋研

ナトリウム利尿ペプチドファミリーの一つである C 型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は、哺乳類において骨成長に関わるほか、主に血管壁、脳や下垂体に発現しているが、脊椎動物一般に保存された機能は未だに不明である。硬骨魚類の実験モデルとして確立されているニホンウナギ(*Anguilla japonica*)を用いた我々の先行研究によって、ウナギが CNP1、CNP3、CNP4 という3つのサブタイプが脳内に発現することが明らかになったので、中枢神経系の CNP ファミリーは多様な機能を有することが予測される。そこで本研究では、CNP の中枢機能を明らかにする手始めとして、その脳内での発現部位を特定することを目的とした。

既知の CNP として CNP1、CNP3、CNP4 の *in situ* hybridization を行ったところ、CNP4 の発現が浸透圧調節に関わる可能性がある視索前野の細胞体にみられた。また、ウナギのゲノムデータベースを探索することにより、既知の CNP4 のパラログである CNP4b (仮称) 遺伝子を発見し、クローニングにより全長配列を決定した。RT-PCR を行ったところ、淡水ウナギの脳に強い発現が見られたので、CNP4b 遺伝子の mRNA の脳内局在を調べた。その結果、既知の CNP4 と同じく、視索前野のニューロンに CNP4b が発現していることを見出した。今後は、これらの CNP ファミリーを脳室内に投与し、浸透圧調節作用の指標として、血圧や飲水に対する影響を生理学的に調べたい。また、視索前野の CNP ニューロンの投射先を調べ、脳内に発現するナトリウム利尿ペプチド系が浸透圧調節に果たす役割を比較生物学的に明らかにする予定である。



## 最優秀発表賞候補演題 2-2

### キングヨの摂食行動と情動行動に及ぼすアルギニンバソトシン(AVT)の脳室内投与の影響

○渡邊桂佑<sup>1</sup>、荒石紘羽<sup>1</sup>、中町智哉<sup>1</sup>、松田恒平<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>富山大・院理工・生体制御、<sup>2</sup>富山大・院生命融合・生体情報

アルギニンバソトシン (AVT) /アルギニンバソプレシン (AVP) は、脊椎動物において末梢で水・電解質の調節などに関わる下垂体後葉ホルモンとして知られる (Balment et al., 2006; Koshimizu et al., 2012)。近年、AVT/AVP が中枢作用を有する (Goodson et al., 2001) ことが明らかにされつつある。しかしながら、魚類における AVT の中枢作用に関する知見は少ない。そこでキングヨの摂食行動と情動行動に及ぼす AVT の脳室内投与の影響を探った。AVT を脳室内投与 (1、5 または 10 pmol / g 体重 (BW)) し、30 分間の摂食量を調べたところ、AVT の脳室内投与 (5 または 10 pmol / g BW) により摂食量は有意に減少した。キングヨは水槽の上部より下部を好む性質 (深み選好性) を示す (Matsuda et al., 2012) ことから、深み選好性行動に及ぼす AVT の脳室内投与 (1、5 または 10 pmol / g BW) の影響を探った。AVT の脳室内投与 (1、5 または 10 pmol / g BW) により上層領域滞在時間は有意に短くなった一方で、総遊泳距離に AVT 投与の影響はみられなかった。AVT 投与による深み選好性行動の増加は、中枢型ベンゾジアゼピン受容体インバースアゴニストである FG-7142 (不安惹起薬) (10 pmol / g BW) の投与による行動変化と類似していた。これらの結果より、キングヨにおいて AVT は摂食を抑制し、不安様行動を惹起することが示唆された。これらの AVT の作用は V1a 受容体アンタゴニストである Manning compound の同時投与 (50 pmol / g BW) により阻害された。これらの結果より、キングヨの AVT の摂食抑制作用及び不安惹起作用は V1a 受容体を介していることが推察された。



## 最優秀発表賞候補演題 2-3

### Expression of neural peptides and visual opsins of the marbled sole, *Pseudopleuronectes yokohamae*

○Iku Sato<sup>1</sup>, Satoshi Kasagi<sup>1</sup>, Kanta Mizusawa<sup>1</sup>, Akiyoshi Takahashi<sup>1</sup>,  
Shohei Suzuki<sup>2</sup>, Nobuyuki Hamada<sup>2</sup>, Ryousei Nakamura<sup>2</sup>, Dai Furukawa<sup>3</sup>,  
Naoyuki Takiguchi<sup>3</sup>, Masayuki Suzuki<sup>4</sup>, Yuki Ogasawara<sup>4</sup>

<sup>1</sup>School of Marine Biosciences, Kitasato University, <sup>2</sup>Kanagawa Prefectural Fisheries Technology Center, <sup>3</sup>Kanagawa Prefecture Fisheries Division, <sup>4</sup>Kanagawa Prefecture Cultivation and Fisheries Association

We found that green and blue lights promote somatic growth of barfin flounder (*Verasper moseri*) and spotted halibut (*V. variegatus*). These growth-promoting effects seem to be caused by the chromatic light of some specific wavelength that affects biological systems, such as feeding behavior or metabolism. To reveal the underlying mechanisms of these growth-promoting effects, we examined i) the effect of chromatic lights on the expression of neuropeptides associated with feeding behavior and ii) expression dynamics of opsins during metamorphosis in the marbled sole (*Pseudopleuronectes yokohamae*). Juvenile marbled soles were reared under blue, green, red, or white LED light for 52 days at the Kanagawa Fisheries Technology Center. Fluorescent light was used as a control. The fish exposed to green and blue light grew faster than those of the other groups. Using quantitative PCR, brains taken from these fish were subjected to measurement of the expression levels of appetite-related neuropeptides such as melanin-concentrating hormone 1 (MCH1), MCH2, proopiomelanocortin-C (POMC-C), agouti-related protein 1 (AgRP1), AgRP2, neuropeptide Y (NPY), pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP), and orexin (ORX). The mRNA levels of MCH1 and MCH2 were higher in the fish exposed to blue light than in fish of the other groups. Since MCH1 and MCH2 are orexigenic, these neuropeptides possibly stimulated the appetite and growth of the fish. The expression level of ORX was higher in fish reared under green light than the control. Considering its orexigenic function, ORX seems to be



associated with the growth under green light. To clarify the development process of color vision at a molecular level, eight opsin genes in the marbled sole (*sws1*, *sws2a*, *sws2b*, *rh1*, *rh2-a*, *rh2-b*, *rh2-c*, and *lws*) were characterized. This was done by cDNA cloning. Using qPCR, we measured the expression levels of these genes in five different growth stages of metamorphosis. Each opsin gene exhibited different expression dynamics. The expression of *rh2-a* was detected only in stages E and G that occurred before/during metamorphosis but not in the stages after the completion of metamorphosis. mRNA levels of *sws1*, *sws2b*, and *rh2-b* decreased during metamorphosis, while those of *sws2a*, *rh1*, and *rh2-c* increased. These results showed that photosensitivity of marbled sole changes due to growth.

## 最優秀発表賞候補演題 2-4

### 食虫目スルクス下垂体隆起部における LH 産生細胞の局在及び卵巣摘除による LH 産生細胞の形態学的変化の研究

○塙 堇<sup>1</sup>、坂田一郎<sup>1</sup>、藤原 研<sup>2</sup>、高橋直央<sup>1</sup>、坂井貴文<sup>1</sup>

<sup>1</sup>埼玉大・院理工、<sup>2</sup>自治医科大・医・解剖（組織）

【背景・目的】 ジャコウネズミともよばれるスルクス (*Suncus murinus*)は食虫目に分類される小型哺乳動物であり、雌は交尾排卵を行う。スルクス下垂体隆起部には、LH (黄体形成ホルモン)、TSH (甲状腺刺激ホルモン) の2種類のホルモン産生細胞の存在が示されているが、それらの分布や機能は不明である。本研究では、スルクス下垂体隆起部の形態と LH 産生細胞の分布を明らかにし、卵巣摘除による LH 産生細胞の形態学的変化を検討した。

【方法】 8~12 週齢のカトマンズ系統スルクス下垂体隆起部の前額断切片を作製し、HE 染色及び LH の免疫組織化学を行った。また、卵巣摘除術を施し、二週間飼育したスルクス下垂体隆起部を免疫組織化学及び電子顕微鏡を用いて観察した。

【結果】 HE 染色の結果、スルクスの下垂体隆起部は吻側から尾側にかけて全長約 500  $\mu\text{m}$  であり、吻側で正中隆起の脳底側を覆い、尾側で下垂体柄を覆う様に存在していた。吻側から隆起部を形態学的に 3 つの領域 (position 1, position 2, position 3) に分類し、LH 免疫陽性細胞数を計測すると、position 1 で約 20 cells/mm<sup>2</sup>, position 2 で約 270 cells/mm<sup>2</sup>, position 3 で約 1340 cells/mm<sup>2</sup> であり、LH 免疫陽性細胞数は、吻側から尾側にかけて顕著に増加していた。

また、卵巣摘除を行った結果、偽手術群と比較して LH 免疫陽性細胞数に変化はなかったが、卵巣摘除した LH 免疫陽性反応の染色性が低下していた。電子顕微鏡観察から、偽手術群の LH 産生細胞では電子密度が高く小型の分泌顆粒と電子密度が低く大型の分泌顆粒の2種類の顆粒が観察されたが、卵巣摘出群では、分泌顆粒の減少及び粗面小胞体の変化が見られた。

【結論】 本研究によってスルクス下垂体隆起部の形態と、LH 産生細胞の分布が明らかとなった。また、卵巣摘除が隆起部 LH 産生細胞の機能に影響を及ぼすことが示唆された。



## 一般演題 1-1

### マウス ES 細胞から分化誘導した視床下部神経幹細胞

○須賀英隆、加納麻弓子、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

胎児の視床下部神経発生において、Rax は視床下部前駆細胞の時期に広範囲に発現し、その後分化が進むとともに減弱する。マウス ES 細胞を用いた視床下部分化誘導系においても、初期に一旦強く発現した Rax は、経過とともに減少する。しかし、バソプレシン神経などが最終分化する時点になっても、ごく一部の領域で Rax 発現が残存する。これが単なる失敗なのか、あるいは何か意味があるのかを検討した。

脳神経は再生しないとされていたが、近年、視床下部において生後の神経新生を行う細胞が報告されタニサイトと呼ばれる。タニサイトは第 3 脳室周囲に存在し、Rax を恒常的に発現している。そこで、マウス ES 細胞視床下部分化誘導系の後期に残存する Rax 陽性細胞がタニサイト同様に神経幹細胞の性質を有するか検討した。Rax-GFP ノックインマウス ES 細胞を用いて、視床下部分化誘導後期に残存する Rax 陽性細胞を選別し解析した。

Rax 陽性細胞は SOX2 や Nestin、Vimentin など神経幹/前駆細胞マーカーを発現し、接着培養により各種神経系細胞へと分化した。Rax 陽性細胞は FGF2 の存在下で Neurosphere を形成した。Neurosphere は継代可能であり(10代)、接着培養によりニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトへ分化した。

以上より、マウス ES 細胞由来 Rax 残存細胞はタニサイトと同様に各種神経系細胞への分化能と Neurosphere 形成能を有し、特に腹側タニサイトと類似する特徴をもつと考えられた。今後、移植による機能検討や、ヒト ES 細胞での検討を進める。



## 一般演題 1-2

### ヒト多能性幹細胞由来 3 次元培養視床下部/下垂体組織の形態学的検討 第 1 報

○井下尚子<sup>1</sup>、須賀英隆<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東京都健康長寿医療センター病理診断科、<sup>2</sup>名古屋大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学

【はじめに】 これまでに、ヒト多能性幹細胞を用いた *in vitro* の分化で、胎児内での下垂体/視床下部発生過程を再現することに成功している。発生過程を再現できたことで、ヒト下垂体組織の成熟過程や、将来的には、内分泌腫瘍細胞における分化の程度、薬物治療による細胞形態の変化などを検討できる可能性がある。現段階ではデータ解析には至っていないが、今までに得られた培養細胞集塊にみられた組織所見を紹介したい。【方法】 分化途中の各段階における細胞塊の、ホルマリン固定パラフィン切片を用いた光学顕微鏡標本およびグルタルアルデヒド/オスミウム固定エポキシ樹脂包埋切片電子顕微鏡標本を作製し、形態学的検討を行った。比較対照には未分化状態のヒト多能性幹細胞、ヒト下垂体腺腫手術標本にみられる腫瘍細胞や非腫瘍性細胞を用いた。いくつかの集塊には、免疫染色を用いて、ホルモン産生、転写因子発現などを確認した。【興味深い所見】 培養日数が進むと細胞は重層化し、層構造をとるようになる。早い段階から嚢胞構造をとり、内部に壊死物をためる組織集塊が多いが、変性などの可能性がある。最表層には Desmosome や Cilia が発達した上皮細胞様分化が目立つが、これらは内分泌細胞の分化より早い段階から見られる。内部には線維を産生する細胞が増生する。重層化が進むと、核分裂像は表層近くにみられる。【下垂体組織、腺腫細胞との比較】 手術検体にみられるヒト下垂体組織、腫瘍における各内分泌細胞に特異的な細胞内小器官や細胞骨格のパターンを十分に描出する細胞は、今までの検討では得られていない。今後さらに日を追った、あるいは異なる刺激を与えた培養組織集塊を検討することで、さらなる分化過程を確認したい。



## 一般演題 1-3

### ラット下垂体前葉におけるナトリウム利尿ペプチドファミリー分子の発現解析

○藤原 研<sup>1</sup>、塚田岳大<sup>2</sup>、堀口幸太郎<sup>3</sup>、大野伸彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>自治医大・医・解剖（組織）、<sup>2</sup>東邦大・理、<sup>3</sup>杏林大・保健

ナトリウム利尿ペプチド（NP）ファミリーは、構造的に関連した心房性 NP（ANP）、脳性 NP（BNP）、および C 型 NP（CNP）からなる。ANP と BNP は心臓で産生されるホルモンで、A 型 NP 受容体（NPRA）を介して、体液恒常性および血圧制御に関与している。一方、CNP は B 型 NP 受容体（NPRB）に特異的に結合し、脳をはじめ様々な器官で産生され局所で働くと考えられている。本研究は、ラット下垂体前葉での NP および NP 受容体の発現細胞の同定を試みた。成体ラット下垂体前葉で各 NP および NP 受容体の発現量をリアルタイム PCR 法で定量したところ、NP ファミリーは CNP のみが発現しており、受容体は NPRB の発現が優位に高かった。次に、CNP と NPRB に対する digoxigenin ラベルした cRNA プローブを作製し、*in situ* hybridization を行ったところ、CNP および NPRB 発現細胞が下垂体前葉で観察された。さらに、下垂体前葉ホルモンの免疫組織化学の結果、CNP と NPRB はホルモン産生細胞の一部に発現していることが分かった。また、初代培養細胞を用いて、培養液に CNP を添加し、NP 受容体の細胞内シグナルである cGMP を測定した。その結果、CNP は濃度依存的に細胞内 cGMP 濃度を増加させることが分かった。以上のことから、CNP は前葉内で産生され、局所的に働く可能性が考えられる。



## 一般演題 1-4

### マウス下垂体前葉における CD9/CD81 陽性細胞の観察

○堀口幸太郎<sup>1,2</sup>、吉田彩舟<sup>2,3</sup>、中倉 敬<sup>4</sup>、藤原 研<sup>5</sup>、塚田岳大<sup>6</sup>、長谷川瑠美<sup>1</sup>、瀧上 周<sup>1</sup>、大迫俊二<sup>1</sup>、屋代 隆<sup>7</sup>、加藤たか子<sup>2</sup>、加藤幸雄<sup>2</sup>

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

成体の下垂体前葉では、ホルモン産生細胞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 陽性の幹・前駆細胞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 S100β 及び SOX2 両陽性細胞 (S100β/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 の抗体を利用した MCL と実質層の S100β/SOX2 陽性細胞の分画法を樹立し、その分化能を解析している。CD9 は 4 回膜貫通型 テトラスパニンファミリーの 1 つで、同ファミリーの CD81 と協働し、細胞外マトリクスレセプターであるインテグリンの作用を補助する機能が報告されている。我々は、この CD9 がラット下垂体前葉では S100β/SOX2 陽性細胞の分裂・増殖に関わることを観察している。

最近、*Cd9* 及び *Cd81* ダブルノックアウトマウス (*Cd9/Cd81* DKO マウス) が樹立され、野生型に比べて成体下垂体の大きさが小さいことが報告された。この結果は、マウス下垂体での *Cd9* 及び *Cd81* 発現に関しては未だ不明であるが、*Cd9/Cd81* DKO マウス下垂体前葉の S100β/SOX2 陽性細胞が増殖不全に陥り、正常な細胞供給がなされていないことを予想させる。そこで本研究では、マウス下垂体における *Cd9/Cd81* 発現及び免疫染色による CD9 陽性細胞の同定を行った。その結果、ラット同様にマウスでも S100β/SOX2 陽性細胞に *Cd9* と *Cd81* が発現し、CD9 抗体に陽性であることも確認された。さらに、マウス下垂体前葉から CD9/S100β/SOX2 陽性細胞を CD9 抗体により単離し、その細胞群から pituisphere の形成を行い、ホルモン産生細胞に分化することも確認した。以上から、マウス成体下垂体では CD9 は S100β/SOX2 陽性細胞で CD81 と協働してホルモン産生細胞の供給源として機能していることが強く示唆された。



## 一般演題 1-5

### ラット視床下部・下垂体における下垂体後葉ホルモン動態の性差について

○西村和朗<sup>1,2</sup>、馬場一彦<sup>1</sup>、眞田賢哉<sup>1</sup>、秋山泰樹<sup>1</sup>、西村春来<sup>1</sup>、田中健太郎<sup>1</sup>、園田里美<sup>1</sup>、上野啓通<sup>1</sup>、吉村充弘<sup>1</sup>、丸山 崇<sup>1</sup>、吉野 潔<sup>2</sup>、上田陽一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>産業医科大学医学部第 1 生理学、<sup>2</sup>産業医科大学医学部産科婦人科学

【目的】下垂体後葉ホルモンとして知られるオキシトシン (OXT) およびバゾプレッシン (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。それぞれ分娩促進・射乳および抗利尿作用がよく知られている。OXT-mRFP1 トランスジェニック (TG) ラットと AVP-eGFP TG ラットを用いて、性差および性周期別の視床下部と下垂体における OXT と 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 OXT-mRFP1 TG ラットと AVP-eGFP TG ラットを用いた。①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、雌に両側卵巢摘出術 (OVX) 群を追加し、合計 6 群に分けた。③OVX を施行後、Control 群、Vehicle 群、ホルモン補充群 (低用量エストロゲン (E2) 35.8pg/日、高用量 E2 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 $\mu$ m) を作成し、視床下部視索上核 (SON) ・室傍核 (PVN) ・正中隆起 (ME) ・下垂体 (PP) において蛍光顕微鏡で観察解析した。

【結果】OXT-mRFP1 TG ラットの SON、PVN および PP における OXT-mRFP1 赤色蛍光は、発情期に有意に高く、OVX 群では低かった。ホルモン補充では、低用量 E2、高用量 E2 投与の順に蛍光輝度が高くなった。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 E2 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。AVP-eGFP TG ラットの SON、PVN および PP における AVP-eGFP 緑色蛍光に有意差はなかった。

【結語】SON・PVN・PP の OXT 動態は AVP 動態に比べてエストロゲン依存性だった。一方、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。



## 一般演題 2-1

### 魚類における体色調節システムの発達をゼブラフィッシュのメラニン凝集ホルモンから読み解く

○水澤寛太、笠木 聡、高橋明義

北里大学海洋生命科学部

一般に魚類では背地色が明るい時に体色が明るく、背地色が暗いときに体色が暗くなる。このとき、網膜に対して上方（水面）から届く光と下方（水底）から届く光の量の差が背地色のコントラスト情報として処理され、視床下部-下垂体系を介した体色調節ホルモンと交感神経の作用によって体色が調節される。松果体や脳深部が受容した光情報も体色調節に利用される。我々は、ゼブラフィッシュの仔魚において背地色だけでなく照射光の波長成分の違いが体色に変化をもたらすことを見出した。短波長の LED 光（400 nm）を仔魚に照射すると体色が暗化し、長波長の LED 光（530 nm）を照射すると体色が明化する。このとき、体色を明化させるホルモンであるメラニン凝集ホルモン（MCH）の遺伝子発現レベルは短波長光を照射した仔魚では低く、長波長光を照射した仔魚では高い。したがって、仔魚における光波長依存的な体色変化には *mch* の発現調節が関わっていると考えられる。興味深いことに、蛍光灯照射下における仔魚の体色は白背地では明るく黒背地では暗いが、*mch* の発現レベルには差がない。仔魚の背地応答では MCH 以外の体色調節システムが働いているようだ。一方、ゼブラフィッシュの成魚では照射光の波長成分の違いによる体色の変化は見られない。照射光が 400 nm 光、530 nm 光、あるいは白色 LED 光のいずれであっても体色は白背地で明るく黒背地で暗い。このとき *mch* の脳内発現レベルは照射光の違いによらず白背地で高く黒背地で低い。つまり *mch* の波長依存的な発現調節は見られない。成長の過程で *mch* の発現調節の波長依存性が失われるとともに背地応答性が現れることの原因と生存戦略上の意義について考察する。



## 一般演題 2-2

### 背地色とニジマスの体色および体色調節関連ホルモン遺伝子の関係

○笠木 聡<sup>1</sup>、篠原龍哉<sup>1</sup>、加藤菜々<sup>1</sup>、三浦正之<sup>2</sup>、岡崎 巧<sup>2</sup>、水澤寛太<sup>3</sup>、高橋明義<sup>3</sup>

<sup>1</sup>北里大学海洋生命科学部、<sup>2</sup>山梨県水産技術センター、<sup>3</sup>北里大学海洋生命科学部

魚類の多くは背地色の明暗に応じて自身の体色を変化させる。この生理学的体色変化は体表の色素胞において色素が運動することに起因する。色素の運動には神経系と内分泌系が関与し、内分泌系においては複数のホルモンが色素運動に影響を与える。代表的な体色調節ホルモンとして、色素を凝集させ体色を明化させるメラニン凝集ホルモン (MCH) と、逆に色素を拡散させ体色を暗化させる黒色素胞刺激ホルモン (MSH) がある。また、成長ホルモンファミリーに属する下垂体ホルモンのソマトラクチン (SL) とプロラクチン (PRL) も、それぞれ黒色素胞または黄色素胞の色素を運動させる。我々はニジマスを様々な明度の背地色下において飼育し、体色の明度と体色調節に関連するホルモン遺伝子の発現量の違いについて検討した。

白色、薄い灰色、濃い灰色、黒色、および青色の水槽においてニジマスを 59 日間飼育した。その後、脳および下垂体に発現する体色調節に関連するホルモン群、すなわち MCH、MSH 前駆体のプロオピオメラノコルチン (POMC)、SL、PRL の遺伝子発現量を定量 RT-PCR によって検討した。

ニジマスの体色は背地色が明るいほど明るかった。PRL 遺伝子の発現量には背地色に応じた変動が認められなかった。MCH の遺伝子発現量は白背地において他の背地色群より顕著に多く、逆に POMC 遺伝子の発現量は黒背地において他の背地色群より顕著に多かった。一方で、SL 遺伝子発現量は黒背地で多く白背地で少なかったが、中間の背地色では背地色の明度に応じてゆるやかな勾配を示した。以上から、背地色に対する各種体色調節ホルモン遺伝子の発現変動は遺伝子によって異なり、各々の遺伝子発現量の差異が体色の微妙な差異を生み出している可能性が示された。



## 一般演題 2-3

### キンギョ下垂体初代培養細胞におけるソマトラクチン分泌に及ぼすメラニン凝集ホルモンの影響

○酒谷 斎<sup>1</sup>、中町智哉<sup>1</sup>、今野紀文<sup>1</sup>、松田恒平<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>富山大・院理工・生体制御、<sup>2</sup>富山大・院生命融合・生体情報

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- $\alpha$  および SL- $\beta$  の 2 分子種存在する。キンギョ (*Carassius auratus*) において SL- $\alpha$  分泌量は黒背景への移行により増加し、対して SL- $\beta$  分泌量は白背景への移行により増加することが示されており<sup>[1]</sup>、背景色により SL 分泌の制御や SL 細胞の感受性に違いがある可能性が考えられる。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り、当研究室によりキンギョ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ている<sup>[2]</sup>。一方で、同じ細胞において MCH は SL- $\alpha$  分泌を促進し、SL- $\beta$  分泌には影響を及ぼさないことを以前報告した。キンギョ下垂体には 2 種の MCH 受容体 (gfMCHR1 および gfMCHR2) が発現し、gfMCHR1 は Gs および Gq タンパク質と共役し、gfMCHR2 は Gq および Gi/o タンパク質と共役することが示唆されている<sup>[3, 4]</sup>。そこで MCH による SL の分泌制御の相違を明らかにするために、キンギョ下垂体初代培養細胞を用いて白または黒背景での SL 分泌に及ぼす MCH の影響およびその下流のシグナル伝達経路について調べた結果を報告する。

[1] 松田恒平、東森生、浜口晃吉、南和希 (2018). *Journal of Japan Society for Pituitary Research* 5 1-9.

[2] Tanaka M, Azuma M, Nejigaki Y, Saito Y, Mizusawa K, Uchiyama M, Takahashi A, Shioda S, Matsuda K (2009). *Journal of Endocrinology* 203 389-398.

[3] Mizusawa K, Saito Y, Wang Z, Kobayashi Y, Matsuda K, Takahashi A (2009). *Peptides* 30 1990-1996.

[4] Hamamoto A, Mizusawa K, Takahashi A, Saito Y (2011). *Regulatory Peptides* 169 6-12.



## 一般演題 2-4

### ポリプテルスセネガルスにおけるメラニン凝集ホルモンの同定とその局在に関する研究

○東 森生<sup>1</sup>、阿見彌典子<sup>2</sup>、今野紀文<sup>3</sup>、藤原 研<sup>4</sup>、輿水崇鏡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>自治医大・医・分子薬理、<sup>2</sup>北里大・海洋、<sup>3</sup>富山大・院理工・生体制御、<sup>4</sup>自治医大・医・解剖

哺乳類におけるメラニン凝集ホルモン (MCH) は、摂食亢進やうつ不安惹起を起こすことが知られる神経ペプチドである。一方、条鰭類の魚種では一般に、下垂体神経葉に MCH ニューロンの軸索が投射し、MCH を血中に放出して体色を明化させる。しかしながら、条鰭類の進化系統でいつから神経葉に軸索を投射させたのかはわかっていない。そこで本研究は、現世条鰭類で最初期に分枝したポリプテルス類であるポリプテルスセネガルの MCH を同定し、その脳内における局在を明らかにすることを目的とした。

まず、縮重プライマーによる PCR と RACE 法により、ポリプテルスセネガルの脳に発現する MCH mRNA の全長配列を決定した。予想される一次構造の比較から、ポリプテルスセネガルの MCH 前駆体は軟骨魚類や四肢動物のオーソログと考えられた。次に、同定した MCH mRNA 配列をもとに digoxigenin 標識した cRNA プローブを作製し、in situ hybridization 法を用いてポリプテルスセネガル脳内における MCH ニューロンの局在を調べた。その結果、視床下部に MCH mRNA 発現細胞が検出された。さらに、MCH 特異抗体を用いて免疫染色を施したところ、MCH 免疫陽性神経線維は脳の広範に分布することがわかった。しかしながら、バソトシン免疫陽性反応を示す下垂体神経葉には MCH 免疫陽性反応は観察されなかった。一方で MCH 免疫陽性神経線維は正中隆起に局在することを認めた。

以上より、条鰭類における MCH ニューロンの神経葉への軸索投射は、ポリプテルス類の分枝後に獲得された形質と考えられる。また、ポリプテルス類では、正中隆起から MCH が放出され、腺性下垂体の機能に影響を及ぼす可能性が形態学的に示唆された。



### 一般演題 3-1

#### 胎児・発育期 ACTH 過剰マウスの作成と成獣期における行動異常

○小川典子、松本暁洋、荒内亮輔、大谷 浩

島根大学医学部解剖学講座発生生物学、島根大学医学部精神医学講座

##### 背景

胎児・発育期の環境は、子の内分泌代謝の制御機構に影響を与え、成人期の疾病発症に関与する。胎児期における母体の心理的ストレス、デキサメタゾン暴露などは子の視床下部・下垂体・副腎系を活性化し、子の成長後、精神疾患を含めた生活習慣病発症の危険性を高めると考えられている。

##### 目的

胎児・発育期に ACTH 過剰としたマウスを作成し、成獣期における行動異常の有無を検討する。

##### 方法

Jcl/ICR マウスの交尾翌日の正午を胎生 (E) 0.5 とし、E14.5~17.5 に母獣を開腹、子宮壁ごとに、双角子宮の一方の胎仔の背側皮下に、マウス下垂体 ACTH 産生腫瘍細胞株 AtT20 細胞を注入した。閉腹後発生を継続させ、自然分娩にて新生仔を得た。仔マウスが生後、長期間生存するよう、注入時期と細胞数を調整した。生後 3 週齢で尾静脈から採取した血液にて ACTH 濃度を測定し、コントロール群及び ACTH 群に分けた後、12 週齢でオープンフィールド試験を行い、行動異常を観察した。

##### 結果

E17.5 に AtT20 細胞を胎仔 1 匹当たり  $5 \times 10^5$  cells 注入し、長期生存する仔マウスを得た。AtT20 細胞注入群の ACTH 濃度は 3 週齢でコントロール群の 30~50 倍まで上昇していたが、生後 12 週齢では全例コントロール群と同レベルまで低下し、Cushing 徴候を示さず成獣期まで生存した。12 週齢で行ったオープンフィールド試験では、フィールド中央部における運動量が、オスはコントロール群  $1094.33 \pm 515.89$  (n=9)、ACTH 群  $531.20 \pm 228.61$  (n=5)、メスはコントロール群  $984.88 \pm 629.0$  (n=8)、ACTH 群  $588.50 \pm 501.54$  (n=4) であった。不安が増大したマウスはフィールド中央部には行きづらく、端を好んで滞在する性質がある。オス ACTH 群は、フィールド中央部の運動量がコントロール群と比べ有意に低下しており ( $P = 0.072$ )、不安様行動を示した。

##### 結論

生後長期間生存する、周産期・発育期のみ ACTH 過剰環境となるマウスの作成に成功した。そのマウスは成獣期に不安様行動を示し、中枢神経系の組織又は代謝性変化が示唆された。



## 一般演題 3-2

### 妊娠によるマウス母体のストレス応答性低下について

○森山隆太郎、宮崎崇史、吉川万莉乃、木村祐輔、向井久保崇裕、松本彬伸、高野恭男、日比野良祐

近畿大生命科学

【目的】妊娠による内的外的環境変化は母体にとって負担であり、その変化に適応するメカニズムが母体には存在すると考えられる。しかし、妊娠に関する研究の多くは生殖に関したものであり、妊娠の負担に対する母体の適応メカニズムに着目した研究はあまり行われていない。本研究の目的は、妊娠が母体のストレス応答性に与える影響を調べることにある。

【方法】実験には妊娠初期、妊娠後期、授乳期、経産のICR雌マウスを用いた。また、対象群として発情休止期の処女マウスを用いた。新奇場面ストレス負荷としてオープンフィールドに20分間、高所ストレス負荷として高架式十字迷路に10分間放置した動物の血液を採取し、行動観察および血中コルチコステロン濃度測定を行った。

【結果】新奇場面ストレス負荷した動物では初回妊娠成立以降、オープンフィールドの中心部滞在時間およびグルーミング回数が対象群である処女マウスに比べて有意に増加した。さらに、血中コルチコステロン濃度は妊娠後期を除き有意に低下していた。一方、新奇場面よりもストレス度が強い高所ストレスを負荷した動物では経産マウスにおいてオープンアームへの侵入回数や滞在時間に有意な差が見られたが、妊娠期および授乳期の動物では行動に有意な変化は観察できなかった。また、血中コルチコステロン濃度は授乳期の動物でのみ有意に低下していた。これらの結果は、少なくともマウスでは妊娠初期からストレス応答を誘起する神経回路の閾値が上がることで母体のストレス応答性が低下していることを示唆するものである。



### 一般演題 3-3

#### エストロゲン依存的なプロラクチンリン酸化酵素の探索

○駒谷悠一郎、村磯綾乃、諸星和紀、針谷敏夫

明治大学農学部生体機構学研究室

プロラクチンは約 23kDa のペプチドホルモンで、主に脳下垂体前葉に存在するプロラクチン分泌細胞から分泌されている。主な作用として乳汁の分泌、乳腺の発達、妊娠の維持などがあり、その他にも浸透圧の調節や血管新生などと多岐にわたる。この作用の多様性の要因として異型プロラクチンの存在が考えられる。異型プロラクチンとは翻訳前後に修飾を受け、構造が変化したプロラクチンの総称である。その異型プロラクチンの 1 つとしてリン酸化プロラクチンが挙げられる。リン酸化プロラクチンは非リン酸化プロラクチンと拮抗した作用を持つとの報告があるが、その詳細はまだ明らかになっていない。多くの動物の下垂体では未修飾のプロラクチンだけでなく、リン酸化されたプロラクチンが発見されている。先行研究によりマウスにおいてエストロゲンによるリン酸化プロラクチン量の変化が起きることが明らかになっている。また、下垂体から抽出した未修飾のプロラクチンに cAMP dependent protein kinase (PKA) および p21-activated protein kinase 2 (PAK2) を用いてリン酸化酵素処理を行うことにより、リン酸化プロラクチンが生成されることが確認されている。そこで私たちはマウスにおいて、エストロゲン投与時の下垂体組織内でのこれら酵素の局在を免疫組織化学的に確認し、遺伝子発現量変化を Real Time PCR を用いて解析した。その結果、エストロゲン投与の有無に関わらず PKA はプロラクチン産生細胞と共局在せず、PAK2 はプロラクチン産生細胞と共局在することを確認した。また、エストロゲンの投与によって PKA および PAK2 の発現量は変化しないことを確認した。

本研究の結果から、プロラクチンのリン酸化には PAK2 が関与している可能性が示唆された。また、リン酸化プロラクチン量の変化は PAK2 の発現量変化以外の要因が関与している可能性が考えられる。そこで現在はエストロゲンによる PAK2 の活性変化に焦点を当て実験を行っている。



## 一般演題 3-4

### グルココルチコイドおよびプロゲステロンのリンパ球活性化に対する影響の比較解析

○清水智香<sup>1,2</sup>、大木廉太郎<sup>1,3</sup>、大野裕介<sup>1</sup>、関 敏郎<sup>4</sup>、和泉俊一郎<sup>5</sup>、亀谷美恵<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学領域、<sup>2</sup> 東海大学工学部生命化学科、<sup>3</sup> 東京バイオテクノロジー専門学校、<sup>4</sup> 東海大学医学部内科学系腎内分泌代謝内科学、<sup>5</sup> 東海大学医学部専門診療学系産婦人科学

#### 目的

リンパ球による抗がん作用には様々なホルモンが影響を与える可能性がある。特にグルココルチコイド(GC)は、抗がん剤の副作用の緩和に処方されているが、がん転移の促進の可能性など、問題点も多く含まれる。本研究では、GCとその前駆体であるプロゲステロン(P4)がリンパ球活性化にどのように影響するかについて比較解析を行った。

#### 材料と方法

承諾を得た健常者から末梢血を採取し Ficoll を用いた比重遠心分離でヒト末梢血単核球 (PBMCs) を回収した。これらの PBMCs に対し GC、P4 がそれぞれ 0 $\mu$ M、2 $\mu$ M、20 $\mu$ M、200 $\mu$ M の最終濃度になるように調製した RPMI-1640 - 10%FBS 培地中で、Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1) (10 $\mu$ g/mL) 刺激を行った。Day3 で細胞回収を行い、細胞数を計測し、Flow cytometry によりリンパ球の動態を解析した。一方、腫瘍の増殖に対する影響を解析するため、ヒト胎盤由来絨毛癌細胞株である JEG3 を同様の濃度の GC、P4 存在下で DMEM Low Glucose - 10%FBS 培地で培養し、10 日間細胞数を計測した。

#### 結果・考察

CD4 T 細胞、CD8 T 細胞について活性化前期マーカー分子 CD25、活性化後期マーカー分子 PD-1 の発現解析をしたところ、GC 添加培地では、両活性化マーカーの発現に濃度依存的な統計学的有意差は観察されなかったが、P4 添加培地では 200 $\mu$ M で DP (CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) 画分が減少し、CD8 T 細胞では CD25<sup>+</sup>SP 画分の減少も観察された。高濃度 P4 存在下では、これらの活性化マーカーの発現が抑制された。また、GC 添加培地、P4 添加培地の両方で 200 $\mu$ M での DN (CD25<sup>-</sup>CD4<sup>-</sup>) 画分の増加が観察された。一方、CD4 T 細胞中の各 Th サブセットを解析したところ PD-1 を発現する Tfh の減少が両方で観察された。さらに、P4 20 $\mu$ M 添加培地では Day6 から、200 $\mu$ M 添加培地では Day4 から



JEG3 の細胞増殖抑制が観察された。一方、GC 添加培地ではすべての濃度で細胞数が維持されていた。

以上の結果、P4 はリンパ球活性化および JEG3 に対する抗腫瘍効果において GC と異なる作用をもたらす可能性が示唆された。今後はがん免疫での有効性について量的・質的に比較検討したいと考える。



### 一般演題 3-5

## NOG-hIL-4-Tg マウスを用いた乳がん患者免疫応答とグルココルチコイドの関連性解析

○大野裕介<sup>1</sup>, 大木廉太郎<sup>1</sup>, 大島志乃<sup>1</sup>, 津田万里<sup>2</sup>, 關 敏郎<sup>3</sup>, 伊藤亮治<sup>4</sup>, 亀谷美恵<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学領域、<sup>2</sup> 東海大学医学部外科学系乳腺内分泌外科領域、<sup>3</sup> 東海大学医学部内科学系腎内分泌内科領域、<sup>4</sup> 実験動物中央研究所

【背景】グルココルチコイド(GC)は免疫抑制剤として知られ、臨床では抗炎症作用を目的として広く処方されているステロイドホルモンである。先日、GC 処理をした B 細胞には形質細胞へ分化する際に発現する転写因子 BLMP1 が高発現する一方で、各種抗体アイソタイプの遺伝子発現が抑制されるという *in vitro* における解析結果が報告された(Luis M. Franco *et al*, 2019, JEM)。我々は健常者末梢血単核球(PBMC)を移植したヒト化マウスにおいて、血漿中の抗原特異的 IgG 濃度と脾臓細胞 GC 受容体の mRNA 発現レベルの間に負の相関関係がある事を報告している(Yoshie K. *et al*, 2018, BioScience Trends)。そこで、GC 産生亢進状態にある乳がん患者の PBMC を移植したヒト化マウスを用いて、PBMC の活性化動態と抗原特異的抗体産生を観察し、GC と乳がん患者免疫系の関連性解析を試みた。

【方法】東海大学倫理委員会承認の下、インフォームドコンセントを得た供血者より乳がん患者血液を採取した。Ficoll により PBMC を精製し、静脈注射によって NOG-hIL-4-Tg マウスに移植した。移植直後および移植後 2 週に、乳がん細胞に発現する分子 HER2 の部分ペプチド(CH401 MAP)を抗原として腹腔内投与し、抗原特異的な抗体産生を誘導した。移植後 4 週に解剖し、脾臓細胞の動態を Flow cytometry により解析した。血漿中抗原特異的抗体濃度は CH401 MAP をコーティングした ELISA を用いて測定した。また、抗体のアイソタイプは LC/MS により定量した。

【結果】乳がん患者 PBMC 移植マウスの脾臓局在抗体産生 B 細胞(形質芽細胞)の割合は健常者 PBMC 移植マウスと同程度であった。しかしながら、血漿中の抗 CH401MAP-IgG 抗体の値は乳がん患者 PBMC 移植マウスにおいて低い傾向が見られた。一方、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 の相対値は乳がん患者 PBMC 移植マウスにおいて高い傾向が見られた。



**【結論】**乳がん患者において、IgG 産生能は有する一方で抗原特異的抗体の産生能は低下していることが示唆された。現在、この現象が GC による直接的な影響であるのかを解析するため、GC 処理を行った健常者 PBMC 移植マウスの解析を試みている。



## 一般演題 4-1

### 急性妊娠脂肪肝に尿崩症を合併した 1 例

○近藤朱音<sup>1</sup>、近藤龍也<sup>2</sup>、林 亜紀<sup>1</sup>、山崎幹雄<sup>1</sup>、森根幹生<sup>1</sup>、檜尾健二<sup>1</sup>、前田和寿<sup>1</sup>

<sup>1</sup>四国子どもとおとなの医療センター、<sup>2</sup>熊本大学病院糖尿病・代謝・内分泌内科

妊娠中の尿崩症の頻度は 1/30,000 例程度である。またその病態に関しても明らかになっていないが、肝機能異常を伴うことが多い。妊娠後期の尿崩症に肝機能障害を伴い早期分娩を要した一例を報告する。

#### [症例]

31 才 0 回経妊 0 回経産。妊娠初期より近医にて経過管理。妊娠 30 週時に一時的に高血圧 156/93mmHg を認め、妊娠 32 週の健診にて 140/90mmHg を超え、妊娠高血圧症候群にて入院管理となった。入院直後の経過では、飲水 16L/日、尿量 15L、尿比重 1.002 であった。前医 vasopressin 負荷試験陰性であり、心因性多飲症、部分型中枢性尿崩症が疑われていたが、妊娠 33 週に急性脂肪肝を疑い当院に搬送となった。来院時検査にて、ALT 105IU/L、AST 129IU/L、LDH 284IU/L、血小板減少・凝固異常なし。vasopressin 負荷試験にて尿量の抑制なく妊娠性尿崩症が疑われた。

頭部 MRI (T1WI) では下垂体後葉機能低下の可能性が疑われたが腫瘤性病変は認めなかった。妊娠 36 週に肝機能増悪し誘発分娩としたが、oxitosis への反応が乏しく 5 日間を要した。分娩後は尿量も減少、肝機能も改善した。

分娩後の胎盤の検索では vasopressinase 発現が増強していたが GLUT4 との共発現はなかった。

#### [考察]

胎盤由来の vasopressinase を分解する肝臓の障害から血中 vasopressin 濃度が低下し尿崩症を来たことが以前より報告されている。本症例では胎盤の vasopressinase 発現が増強しており、妊娠性尿崩症の原因と考えられた。vasopressinase は IRAP (insulin-responsive aminopeptidase) の一つとして GLUT4 貯蔵エンドソームの形成に直接関わる膜蛋白質であるが本症例では発現がなく、さらに検討が必要であると考えられた。



## 一般演題 4-2

### 機能性下垂体腺腫に対する経鼻手術

○永田雄一、竹内和人、山本太樹、若林俊彦

名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科

【序論】機能性下垂体腺腫に対して、内視鏡下経鼻術(TSS)のみで内分泌学的寛解を得るためには、“腫瘍細胞を1個足りとも残さないような”完全な腫瘍摘出を要する。この完全な腫瘍摘出を達成するために腫瘍の被膜外摘出が有用だが、明らかな被膜を有さない腫瘍に対しては、周囲正常組織まで含めた摘出が有用となる。

【方法】2017年2月から2019年5月の対象期間に、機能性下垂体腺腫に対してTSSを施行した27例を対象とし、後方視的調査を行った。手術は腫瘍の被膜外摘出を原則とし、それができなかった症例では前葉、海綿静脈洞内側壁など周囲正常組織の追加切除を施行した。

【結果】疾患は先端巨大症17例、クッシング病6例、TSH産生下垂体腺腫2例、プロラクチン産生下垂体腺腫2例であり、平均腫瘍最大径は13.7mm(5.1-30.9mm)であった。26例(96.3%)で手術のみでの内分泌学的寛解を得た。術後合併症としては、一過性尿崩症：2例(7.4%)、一過性動眼神経麻痺：1例(3.7%)を認め、前葉機能低下、恒久性尿崩症を呈した症例はなかった。平均フォローアップ期間は13.3ヶ月であり、この間に再発を来した症例を1例(3.8%)認めた。

【考察・結語】被膜外摘出が完遂できなかった場合の手術戦略は、controversialである。正常機能を保ちつつ最大限の治療効果を発揮するための我々の手術時の工夫を提示する。



### 一般演題 4-3

## 性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) のゴナドトロフ株化細胞 L $\beta$ T2 細胞におけるアネキシン A5 含有 micro vesicle 形成促進作用

○汾陽光盛

岡山理科大学獣医学部獣医生理学講座

GnRH が細胞外小胞のうち micro vesicle (ectosome) 形成を促進することを昨年の本研究会で報告した。本研究では、その過程を形態的に、特にライブセルイメージングによって観察した結果を報告する。ゴナドトロフ株化細胞である L $\beta$ T2 細胞を用い、培養装置付き倒立顕微鏡による経時的観察、及び GnRH 誘導性タンパク質であるアネキシン A5 (ANXA5) の免疫染色を行い、共焦点顕微鏡で形態観察を行った。DAPI による核染色、ファロイジンによるアクチン染色を行った。細胞をガラスボトムディッシュで培養し、二酸化炭素 5%、37°C の培養条件下で持続的に顕微鏡観察を行った。GnRH 作動薬として酢酸フェルチレリン (GnRHa) を用いた。GnRHa ( $10^{-9}$ ~ $10^{-7}$ M) の添加後速やかに (数分以内) 濃度依存的に細胞膜に泡状の隆起 (bleb) が出現し、細胞膜上に多数の球状構造物 (micro vesicle) が形成された。免疫細胞化学によって、既に観察しているように、GnRHa 添加 10 分後に、ANXA5 を含む bleb の形成されることが示された。アクチン繊維が bleb を被うように存在する例、認められない例が混在したが、bleb 基底部細胞内にアクチン繊維が認められた。サイトカリン D の前処置によって bleb 形成は抑制された。GnRH 作動薬投与後短時間で劇的な膜の変化が起こり、bleb が形成される様子が明らかとなった。GnRH がアクチン再構成に関与するという報告があり、GnRH シグナルによるアクチンへの作用による micro vesicle 形成の機序が示唆された。



## 一般演題 4-4

### Live cell imaging から垣間みるヒト 1PN および 3PN 胚の染色体動態

○園田彩奈、湯本啓太郎、見尾保幸

ミオ・ファティリティ・クリニック、ファティリティリサーチセンター

生殖補助医療の安全性や有効性の向上には、受精後のより早い時期での適切な胚評価が重要である。臨床現場では、媒精翌日の前核期に前核(PN)数と極体(PB)数を評価基準とし、正常受精(2PN/2PB)の確認を行っているが、その際に、1PN/2PB や 3PN/2PB 等の異常受精卵に頻回に遭遇する。これらの胚は通常、治療からは除外され、臨床使用は差し控えられているが、体外受精(c-IVF)由来 1PN 胚を移植し、生児が得られたとの報告もある。しかし、単為発生による 1PN 胚の胚盤胞到達、3PN 胚の胞状奇胎発生リスク等から、その細胞生物学的特性はいまだ不明であり、臨床現場での取り扱いに関して一定の見解は得られていない。近年、生殖発生学の基礎領域において、Live Cell Imaging (LCI) が普及し、細胞小器官の挙動やエピジェネティクス修飾の変化など、ヒト初期胚発生過程の細胞内動態の可視化が急速に発展している。そこで我々は、研究同意を得たうえで、臨床現場で生じた異常受精卵の染色体分配機構の解析を目的に LCI を用いた検討を行った。まず、3PN 胚を用いて初期胚発育に伴う染色体動態を解析するシステムの構築を目指した。H2B と MAP4 を標識とした LCI を行い、染色体の挙動を可視化した。これにより、媒精方法によって染色体分配の動態が異なる様子を捉え、さらに、同じ c-IVF 由来 3PN 胚であっても分配様式にバリエーションがあることを明らかとした。次に、c-IVF 由来 1PN 胚のゲノム解析のため、免疫組織科学染色により雌雄ゲノムの染め分けを行い、さらに、LCI 解析を行った。この結果、80% (8/10) の 1PN 胚が 2 倍体であったのに対し、染色体が均等に分胚されたのは 55% (6/11) であり、多極紡錘体形成を伴う分配異常 1PN 胚も認めた。これらの検討から、我々は 2 倍体である c-IVF 由来 1PN 胚を非侵襲的に選別する可能性を新たに見出した。さらに、我々が確立したシステムはヒト胚の細胞分裂に伴う染色体動態を解明する上で非常に有用なツールとなり得るものであり、生殖補助医療の発展に大きく貢献できると考えられる。



## 一般演題 5-1

### 軟骨魚類・板鰓類にも生殖に寄与する視床下部-下垂体機能軸はあるのか？

○内田勝久<sup>1</sup>、横山裕麻<sup>1</sup>、増田元保<sup>2</sup>、宮西 弘<sup>1</sup>、香川浩彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学農学部、<sup>2</sup>碧南海浜水族館

我々は、これまで、小型卵生種であるトラザメ (*Scyliorhinus torazame*) をモデル魚種とし、下垂体から2種類のGTH (FSHならびにLH)の遺伝子構造を同定している。一方、トラザメの繁殖プロセスにおけるGTHの制御に寄与する視床下部の生殖内分泌因子は明らかにされていない。本研究では、トラザメの視床下部-下垂体機能軸に寄与すると想定されるGnRH分子の探索とその機能の理解を目的に、以下の実験を行った。

ヒト由来のGnRHアナログ(GnRHa)を、トラザメの腹腔内に投与したところ、投与48時間後に*fshβ*のみ遺伝子発現量が増加した。また、下垂体の腹葉組織を用いた器官培養実験により、GnRHa 10 nM添加群において*fsh*の発現量は増加した。このことは、トラザメの脳内にもGnRH分子が存在し、下垂体機能を制御する機構があることを示している。顎口類の脳内には機能の異なる3つのGnRHパラログ (GnRH1~3) の存在が知られている。トラザメの脳組織より3種類のGnRH分子をコードする遺伝子配列が得られ、既知のニワトリII型とツノザメ型GnRHに加え、新規のGnRH (stGnRH) を同定し、分子系統解析によりstGnRHは既知の顎口類GnRHパラログのうちGnRH1に属することが判明した。さらに、トラザメの脳から4種類のGnRH-Rを同定し、それらの受容体はそれぞれ、既存のGnRH受容体パラログのうち、Type1a、1b、2a、2bに分類された。4種の受容体遺伝子の脳内組織発現解析により、*gnrhr-1a*のみが下垂体腹葉のFSH産生細胞で発現することが示された。

以上の結果は、軟骨魚類・トラザメにも脳 (GnRH) -下垂体 (GTH) 機能軸があることを示唆している。今後は、軟骨魚類の繁殖現象を、各種の生殖関連内分泌因子群の機能解析により理解したいと考えている。



## 一般演題 5-2

### 大西洋サケの銀化発動時における下垂体 $tsh\beta b$ の発現と関連する内分泌因子の動態解析

○伊良知正太郎<sup>1,2</sup>、宮西 弘<sup>3</sup>、McCormick S.D.<sup>2,4</sup>、内田勝久<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>宮崎大院農、<sup>2</sup>USGS Conte Anadromous Fish Research Center、<sup>3</sup>宮崎大農、<sup>4</sup>Department of Biology, University of Massachusetts, Amherst、<sup>5</sup>宮崎大農フィールド

サケ科魚類は河川で生まれ、春先にかけて銀化 (Smoltification) と呼ばれる変態が起こり、塩分濃度の異なる海への降海行動を誘発する。銀化は日長変化に呼応して誘起されるとされ、様々なホルモンの作用により銀化が進行する。しかし、日長変化がどのような分子基盤で銀化を発動するのかは、未だに不明である。本研究では、鳥類や哺乳類における光周性と成熟発動機構に関する知見を参考に、サケ科魚類における光受容因子 ( $tsh\beta b$ ,  $dio2b$ ) の遺伝子発現が、日長条件の変化に応じて脳内でどのように変動するのか、また、それらの因子の変動が銀化に深く寄与すると考えられてきた下垂体の成長ホルモン (GH) の動態とどのように関連するのかを知ることを目的に実験を行なった。

大西洋サケ (Atlantic salmon, *Salmo salar*) を実験魚とし、長日条件 (16L: 8D) と短日条件 (10L: 14D) で飼育を開始し、飼育開始後 10 日と 20 日にサンプリングを行った。

脳の各部位での光受容因子 ( $tsh\beta b$ ,  $dio2b$ ) の遺伝子発現を解析したところ、 $tsh\beta b$  は下垂体で高く、脳前方の領域にも遺伝子発現が認められ、 $dio2b$  は脳の広域に発現が認められた。下垂体の  $tsh\beta b$  の発現量は飼育開始後 10 日と 20 日ともに長日飼育群で有意に高く、脳前方の領域と視床下部における  $dio2b$  の発現量は 20 日後の長日飼育群でのみ有意に上昇した。

下垂体  $gh$  遺伝子の発現量は 20 日間で変動は認められなかったものの、血中 GH 量は 20 日後の長日飼育群でのみ有意に上昇した。以上の結果より、長日変化後 10 日以内に光受容因子である  $tsh\beta b$  の脳内発現が変化し、 $dio2b$  の発現ならびに、GH の分泌が促進され、銀化が誘起される可能性が示された。今後、脳内の内分泌因子の作用機序を明らかにし、日長変化と銀化誘導の仕組みを理解したい。



### 一般演題 5-3

## トラフグ下垂体アロマターゼ発現細胞の特徴とローカルエストロゲンの役割

○山口明彦

九州大学大学院農学研究院海洋生物学

硬骨魚類では哺乳動物と異なりテストステロン (T) からエストロゲン (E2) への変換を担う酵素であるアロマターゼ (CYP19) 遺伝子が重複しており、卵巣型 (*cyp19a1a*) と脳型 (*cyp19a1b*) と呼ばれている。多くの魚種において *cyp19a1b* は脳に加え下垂体でも高い活性を持ち、成熟に伴う転写産物の増加は確認されているものの、CYP19 発現細胞の特定とその生理学的機能については不明な点が多い。トラフグは初回成熟までに 3 年を必要とする年 1 回産卵型の海産魚であり、このような世代交代の長い魚種での下垂体アロマターゼの研究は少ない。トラフグ下垂体 CYP19 活性および血中性ステロイド濃度 (T, E2) を初回成熟完了迄 (39 ヶ月間) 調査を行うとともに *cyp19a1b* およびエストロゲン受容体 (*esr1, 2a, 2b, gper1a*) の発現動態を qRT-PCR 法と細胞組織化学法 (ISH・IHC) を用いて解析した。その結果 CYP19 発現細胞は下垂体全領域に存在し、雌雄ともに血中性ステロイドホルモンの上昇にともない初回成熟期には高い mRNA 発現と活性を保ち、黄体形成ホルモン (LH) を産生することが明らかになった。また成熟期には CYP19/LH 細胞で ESR1 と ESR2b の核局在が確認できた。一方、GPER1a は細胞膜に局在した。次に同一細胞に存在する CYP19 と LH 合成との共役関係について解析を行った。LH を活発に合成している成熟期個体 (2 歳齢・体重約 2 kg) にアロマターゼ阻害剤 (AI) を腹腔内に投与後、下垂体を摘出・固定し、CYP19a1b と LH の mRNA とタンパク質発現を解析した結果、*cyp19a1b* と *lhβ* の発現は共役しないことが明らかになった。すなわち CYP19 で合成されるローカル E2 の機能は、LH の合成とは無関係と考えられた。本発表では魚類下垂体でのローカル E2 の役割について考察する。



## 一般演題 5-4

### ニワトリ視床下部における光受容タンパク質 Opn5L1 の分子組織化学的解析

○佐藤恵太<sup>1</sup>、春木慶洸<sup>2</sup>、山下高廣<sup>2</sup>、七田芳則<sup>3</sup>、大内淑代<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、<sup>2</sup>京都大学大学院理学研究科、<sup>3</sup>立命館大学総合科学技術研究機構

視覚の初期過程を担うのは光感受性の G タンパク質共役型受容体、視物質である。視物質の暗状態には 11 シスレチナール(ビタミン A 誘導体)が結合しており、光がこれを全トランス型に異性化することで視物質は活性化し、下流のシグナル伝達系を駆動する。ゲノム解析の進展により、多くの動物が、同様の分子機構で働く視物質様タンパク質(オプシン類と総称される)の遺伝子を複数持つことがわかってきた。生物種によるが、オプシンは網膜の視細胞に加え、アマクリン細胞などのインターニューロンや神経節細胞、眼外組織では脳、副腎などに発現する。

最近私達は哺乳類以外の脊椎動物で保存され、非視覚性の光受容に関与すると考えられるオプシン Opn5L1 の分子特性を解析し、その機能が典型的なレチナール異性化に加え、レチナールと近傍システインの付加反応という、特異な反応で制御されることを見出した。現在私達はこの光受容タンパク質の生理機能を明らかにすべく、研究を進めている。ニワトリ組織を材料として *in situ* hybridization を行った結果、Opn5L1 は脳では大脳・視床下部に、網膜ではアマクリン細胞に発現する事がわかってきた。さらに視床下部に着目して分子組織化学的な解析を進めると、neurokinin B、preprodynorphin といった遺伝子が Opn5L1 の機能に関与することを示唆する結果を得た。本発表ではこれらの結果について報告する。

(COI:なし)



## 一般演題 5-5

### 血清プロラクチン値の性差と炎症性病態への関与：内科臨床における検討

○山本紘一郎、花山宜久、安田美帆、長谷川 功、原田 洸、徳増一樹、萩谷英大、三好智子、小川弘子、小比賀美香子、大塚文男

岡山大学病院総合内科・総合診療科

【背景】プロラクチン (PRL) は魚類や両生類では浸透圧調節に、爬虫類では摂食や脂質代謝に関与する進化上保存されたホルモンである。PRL は乳腺発育や乳汁分泌に加えて細胞増殖・血管新生・免疫調節など幅広い機能に関連する。

【目的】本研究では PRL と内科的・精神科的な病態との関連を見出すため、総合診療における PRL 測定の有用性を検討した。【方法】2016-2018 年に当科で血清 PRL 濃度を測定した 353 例を後ろ向きに検討した。データ欠損例 193 例・ドパミン関連薬使用例を除外して 148 例 (男 44・女 104) を抽出し、血清 PRL 濃度と臨床パラメータとの関連を解析した。【結果】血清平均 PRL 濃度 (ng/ml) は、男 9.0 ( $\pm 1.1$ )・女 15.2 ( $\pm 2.1$ ) であり ( $P < 0.05$ )、相対的 PRL 低値群 ( $< 10$ )・高値群 ( $\geq 10$ ) に分類して男女別に解析すると、相対的 PRL 高値群において、男性での ESR・FT4 および女性での GH が有意に高値であり、男性での Alb および女性での年齢・Na・FSH が有意に低値となった。血清 PRL 濃度と各パラメータとの関連を検討すると、男性では ESR ( $R = 0.5$ ,  $P < 0.05$ )・TSH/FT4 比 ( $R = 0.4$ ,  $P < 0.05$ ) と正の相関を、Alb ( $R = -0.4$ ,  $P < 0.05$ ) と負の相関を呈した。一方、女性では PRL 値は GH ( $R = 0.3$ ,  $P < 0.01$ ) と正の相関を、血清 Na ( $R = -0.3$ ,  $P < 0.01$ )・FSH ( $R = -0.3$ ,  $P < 0.05$ ) と負の相関を認めた。

【考察】下垂体前葉ホルモン・甲状腺機能との相互作用や浸透圧に関与する既知の PRL 作用に加え、ESR や蛋白代謝との関連が明らかになった。多様な疾患を含む総合診療の現場で、PRL 値とリンクする因子には性差を認め、男性において PRL が ESR 高値や Alb 低値などの炎症性病態に関与することが示唆された。



## 一般演題 5-6

### 自然発生矮小変異マウスにおけるソマトトロフ軸の解析

○佐藤貴弘<sup>1</sup>、藤原 研<sup>2</sup>、大石佳苗<sup>3</sup>、御船弘治<sup>3</sup>、児島将康<sup>1</sup>

<sup>1</sup>久留米大学分子生命科学研究所、<sup>2</sup>自治医科大学医学部、<sup>3</sup>久留米大学医学部動物実験センター

自然発生矮小変異マウス(矮小マウス)は我々の研究室において偶発的に得られたマウスである。第33回本学術集会では、その責任遺伝子の同定に成功したことやこのマウスを系統として樹立したことなどを報告した。本研究ではなぜ矮小形質を示すのかを明らかにするため、同腹の正常マウスと矮小マウスを用いたソマトトロフ軸の比較解析を行なった。

視床下部において GHRH および SST の遺伝子発現量を定量 PCR 法によって調べたが、いずれも両群間に差は見られなかった。また、下垂体前葉を組織学的に解析したところ、ソマトトロフの分布や形態はほぼ同一であり差は認められなかった。ELISA 法で血清中の GH および IGF-1 量を測定したところ、GH 量には差が見られなかったものの IGF-1 含量は矮小マウスでわずかに低値を示した。このように、矮小マウスのソマトトロフ軸には大きな異常は見られないことがわかった。矮小マウスでは出生時にすでに矮小形質が見られることから、胎児齢 15.5 日のマウスをアレル特異的 PCR によって正常マウスと矮小マウスに分け、マイクロ CT 解析を行った。その結果、胎児齢 15.5 日ではすでに矮小形質や頭部奇形が観察されることがわかった。

以上から、矮小マウスでは明瞭な矮小形質を示すものの下垂体前葉を中心とするソマトトロフ軸には大きな異常が見られないこと、ソマトトロフの発生時にはすでに矮小形質を持っていることが明らかとなった。このことから、矮小形質はソマトトロフ軸に依存しない機構により誘導されている可能性が考えられる。



## 一般演題 5-7

### 発情前期の TSH 産生細胞における核内受容体 Nr4a3 の発現増加

○寺島涼太<sup>1</sup>、榊原啓太郎<sup>1</sup>、久留主志朗<sup>1</sup>、汾陽光盛<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北里大学獣医生理学研究室、<sup>2</sup>岡山理科大学獣医生理学講座

卵胞から分泌される高濃度のエストロジェンは視床下部に作用し、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) サージを促すとともに、プロラクチン分泌を促すいくつかの放出因子および抑制因子の分泌を制御する。我々は核内オーファン受容体として知られる Nr4a3 が GnRH により発現が促進され、FSH $\beta$ 合成を制御することを見出してきた。さらにラット下垂体前葉の Nr4a3 mRNA 発現は発情前期および高濃度エストラジオール持続投与時の 14 時から 17 時に顕著に増加すること、このとき GnRH アンタゴニストを投与しても Nr4a3 発現は抑制されないことを明らかにし、発情前期午後の Nr4a3 発現の誘導に別の誘導因子のある可能性が示唆された。本研究では、ゴナドトロフ以外で発現する可能性もふまえて、発情前期午後に増加する Nr4a3 の発現細胞を組織学的に検索した。発情前期ラットの 11 時、14 時、17 時の下垂体を用い、免疫組織化学染色によって Nr4a3 発現を観察した。Nr4a3 の陽性像は下垂体前葉細胞の中でも細胞質領域の広いやや大型の細胞の核内で認められ、Nr4a3 陽性細胞数は 11 時から 17 時にかけて明らかに増加した。次に Nr4a3 発現細胞を同定するため、発情前期 17 時の下垂体を用いて、下垂体ホルモンとの二重蛍光免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。二重染色の結果は、ほとんどの Nr4a3 陽性シグナルは TSH $\beta$ 陽性細胞で認められた。一方、LH $\beta$ 、GH、Prolactin、ACTH の陽性細胞において、Nr4a3 発現は認められなかった。以上の結果から、発情前期午後に TSH 産生細胞で Nr4a3 発現の増加することが明らかになり、発情前期午後に視床下部の TSH 分泌刺激因子によって誘導されることが示唆された。