

日本下垂体研究会 第 32 回学術集会

プログラム・講演要旨集

2017 年 8 月 2 日(水)～ 8 月 4 日(水)

鬼怒川グランドホテル

〒321-2522 栃木県日光市鬼怒川温泉大原 1021

「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、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、所属学生の移動の有無や会費納入状況の確認をお願い致します。

目次

会長挨拶	4
開催要領	5
プログラム概要	9
日程表	11
学術集会プログラム	12
要旨	
吉村賞授賞講演	23
特別講演	24
シンポジウム	25
最優秀発表賞候補者演題	38
一般演題	44
謝辞	68

ご挨拶

海外に会場を移した昨年の大会に続き、平成 29 年度の第 32 回日本下垂体研究会学術集会は、栃木県鬼怒川温泉にて 8 月 2 日(水)より 8 月 4 日(金)の日程で開催する運びとなりました。国内で新たなスタートとなる今大会では、これからの発展が期待される「新しい下垂体研究の胎動」を感じることでできる魅力的なプログラムとなりました。ご指導を賜りました皆様のお陰と感謝申し上げます。下垂体研究会は、動物種を問わず下垂体をキーワードとして、基礎、応用研究の専門家と臨床家が広く集います。これにより、日常の研究活動では起こり得ない知の化学反応が期待されます。さらには各方面からの視点をご披露いただき、下垂体研究を含めた学術のあり方を、広く考える良い機会になればと存じます。

合宿形式で膝を突き合わせ議論するこれまでの形を踏襲しつつ、若手の英語での議論の場を設けるなど育成面でも趣向を凝らしております。新たな研究の種を見つけ、伸ばすとともに、これまでの成果のプロモートの場になる事を期待しつつ、出来る限りお手伝いしたいと存じます。どうぞ宜しくお願い申し上げます。

第 32 回日本下垂体研究会学術集会

会長 輿水崇鏡

第 32 回 日本下垂体研究会学術集会 開催要領

1. 会期

- 平成 29 年8月2日(水) 幹事会、一般講演、特別シンポジウム、
若手特別プログラム、ファイルオンザデスク
- 平成 29 年8月3日(木) 一般講演、シンポジウム1、評議員会・総会、
特別講演、吉村賞講演、エクスカーション、
親睦会、ファイルオンザデスク
- 平成 29 年8月4日(金) 一般講演、シンポジウム2、最優秀賞受賞式

2. 会場

鬼怒川グランドホテル

〒321-2522 栃木県日光市鬼怒川温泉大原 1021

電話: 0288-77-1313 Fax: 0288-77-3344

3. 学術集會事務局

自治医科大学薬理学講座分子薬理学部門

電話: 0285-58-7326(研究室直通)

輿水崇鏡、土屋裕義

E-mail; molpharm@jichi.ac.jp(事務局、土屋、輿水)

4. 参加受付

大会当日は、8月2日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いたします。その上で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ションをご希望の方も、受付時にお支払ってください。

お荷物の置き場所を、会場内一番後ろのスペースをご用意いたします。各自でご利用ください。ご希望により、会場入口のクロークでもお荷物をお預かりします。お申し出ください。

5. 参加費

一般会員 5,000 円

学生会員 2,000 円

非会員 7,000 円

6. 懇親会費

一般会員 5,000 円

学生会員 3,000 円

非会員 5,000 円

鬼怒川温泉ホテルの宿泊者でなく、懇親会に参加を希望される場合
お食事とお飲物にて 10000 円

アレルギーなどでお食事のご希望がある場合には、前日までにホテルへご連絡ください。

7. 昼食

8月3日(水)の昼食は、希望によりお弁当(1000円)をご用意いたします。希望を事前にお問い合わせいたします。

8. 宿泊

相部屋5名まで 10000円／1泊2食付き／お一人様

2名1部屋でご利用の場合上記にお部屋代として10000円／1泊の追加

1名1部屋でご利用の場合上記にお部屋代として15000円／1泊の追加

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つのみです。チェックアウトは10時までとなります。最終日の朝食前後に各自にてホテルフロントでお支払いをお願いいたします。ご不明な点は大会事務局または宿泊施設まで御願ひいたします。

9. 発表形式

演題は全て口頭発表です。吉村賞40分、特別講演、招待講演は60分、シンポジウムは質疑応答含めて30分です。一般講演の発表時間は9分、質疑応答は3分です。会場にはWindows 10を搭載したPCを一台、Macbook airを一台用意します。

Microsoft office PowerPoint 2016 で作動確認したファイルをご準備下さい。作成した PowerPoint ファイルを USB フラッシュメモリまたは CD-R に保存して、会場のファイル受付係までお持ちください。2 日の演題は 2 日の 13 時までに会場のファイル受付係までお持ちください。3 日および 4 日の演題については、2 日のファイルオンザデスク会場にてファイルを受け付け致します。この時間帯以外でも柔軟に対応致しますが、ご協力の程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事前に下記メールアドレスまでお知らせ下さい (molpharm@jichi.ac.jp)。また RGB D-sub15 ピン接続に必要なアダプターはご持参ください。

10. ファイルオンザデスク

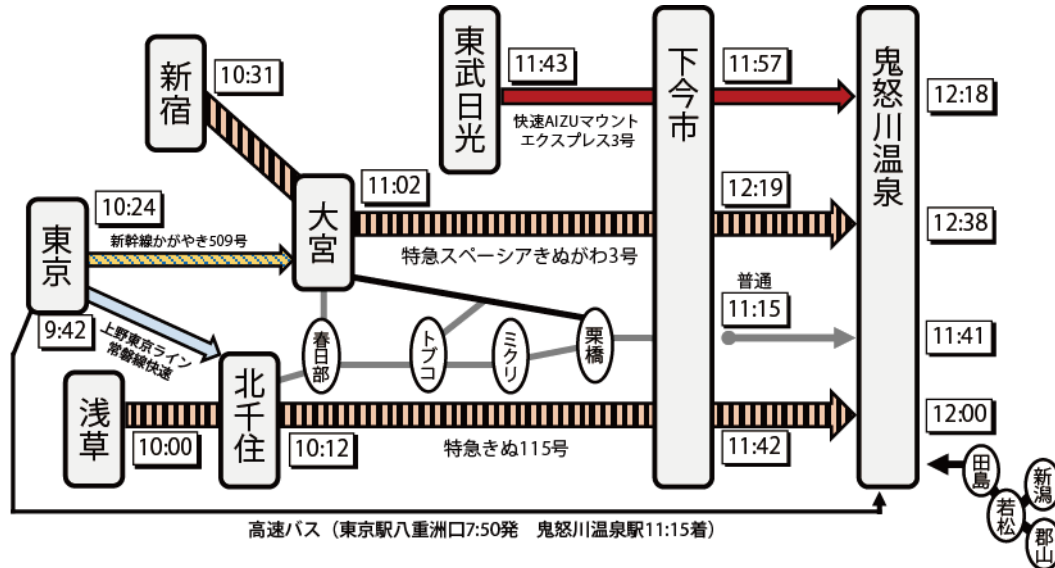
ファイルオンザデスクは学術会議を行った会議室にて行います。2 日の夕食後 (20:30-22:00)、および 3 日の懇親会后 (20:00-22:00) には、発表に使用したスライドの印刷版をご持参下さい。

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。

12. 交通案内

8月2日(水)の開始時に間に合う出発時刻



※ 宇都宮駅から会場ホテル直通のバス「シルクエクスプレス」が運行されていますが、宇都宮駅13:00発で開会には間に合いません (要予約 500円)

※ 高速バス (東北急行バス 7/10 より)
空席がある場合に限り、当日でも予約無しでご乗車できます。

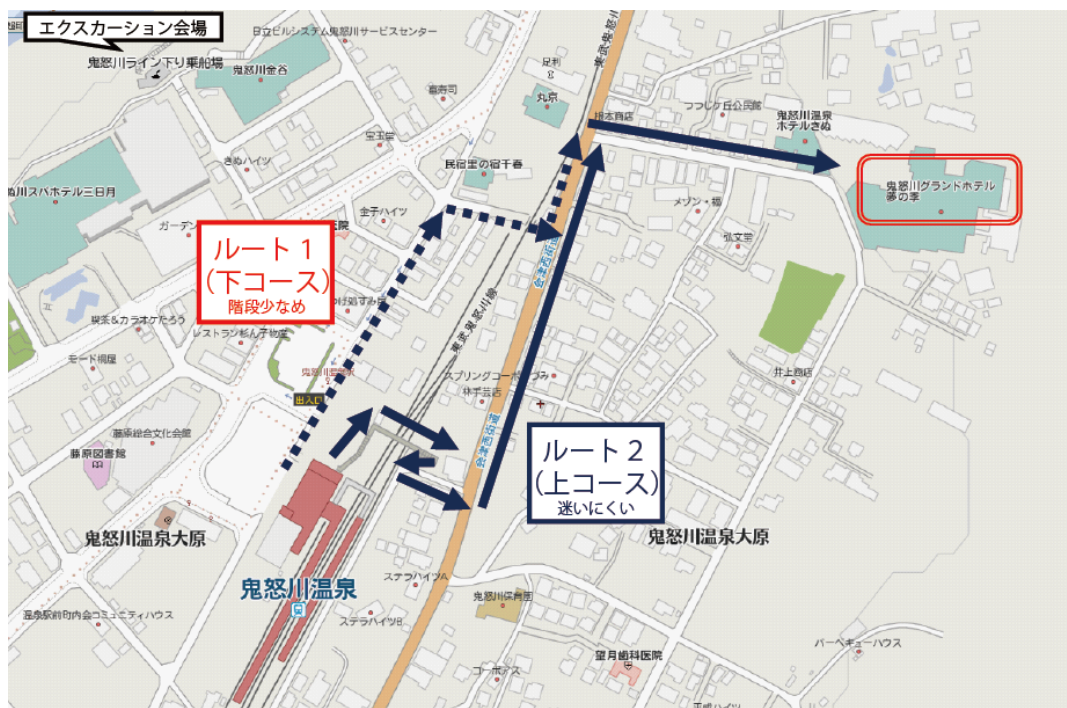
鬼怒川温泉駅からホテルへの移動

- ・ 鬼怒川温泉駅前⑤番バス乗り場から、鬼怒川グランドホテル夢の季を經由する日光交通ダイヤルバスが運行されています。
- ・ 浅草方面から鬼怒川温泉駅に到着する各駅停車・快速・特急の全ての電車の到着に接続する形で出発します。

(12:00~19:01到着分に接続)

- ・ 運賃は片道190円です。
- ・ 乗車の際には、行き先の旅館を運転士にお伝え下さい。

徒歩での鬼怒川温泉駅からホテルまでの移動 約 8 分



ルート1：鬼怒川温泉駅を出た後、右手方向に歩いていき、線路の下をくぐった後に石段を上り、会津西街道へ出て下さい。その後、北上（左折）すると「鬼怒川ランドホテル夢の季」の看板が見えるので、その通りを右折して坂を上って下さい。

ルート2：鬼怒川温泉駅を出た後、すぐそばの陸橋を渡って線路の反対側へ出て下さい。その後、会津西街道へ出て、北上（左折）すると「鬼怒川ランドホテル夢の季」の看板が見えるので、その通りを右折して坂を上って下さい。

第 32 回 日本下垂体研究会学術集会 特別講演、シンポジウム

吉村賞受賞講演

松田 恒平 (富山大学)

座長; 屋代 隆

特別講演

永井 良三 (自治医科大学学長)

座長; 菊地 元史

シンポジウム1

下垂体における神経堤細胞の定着は下垂体腫瘍の病因解明へと繋がるか

大隅 典子 (東北大学)

井下 尚子、山田 正三 (虎の門病院)

堀口 和彦、山田 正信 (群馬大学)

座長; 山田 正三、加藤 幸雄

シンポジウム2

視床下部-下垂体-性腺軸 研究の最前線

家田 菜穂子 (名古屋大学)

寺島 涼太 (北里大学)

岩佐 武 (徳島大学)

折出 亜希 (島根大学)

座長; 金崎 春彦

特別シンポジウム

オキシトシン、バソプレッシン作用の新たな知見 -基礎と応用-

尾仲 達史 (自治医科大学)

槇田 紀子 (東京大学)

中村 和昭 (国立成育医療センター研究所)

座長; 上田 陽一、輿水 崇鏡

特別プログラム

若手研究者の皆さん、下垂体研究を英語で話してみませんか
オーガナイザー、座長；塚田 岳大（東邦大学理学部）

演者； Khongorzul Batchuluun (Mongolian National University of Medical Science)
Nahoko Ieda (Nagoya University)

企画趣旨

本研究会に参加している若手研究者の中には、研究をしながら英語に不安を感じている方が少なくないと思います。例えば、国際学会での研究発表を控えている方、すでに国際学会を経験し、思うように英語が話せず悔しい思いをされた方、まだ英語がうまく話せないけど、将来、海外の大学や研究所で研究をしたい方など。サイエンス英語のスキルアップには、場数を踏むことが大事ですが、日本にいとあまりそのチャンスがありません。そこで、本企画では、皆さんに馴染みのある「下垂体」をトピックに、お二人の演者の方に英語でプレゼンテーションをしていただきます。もちろん、その後は皆さんで英語による質問タイムとなるわけですが、それが難しいから今まで英語に苦労しているはず。「自分はこういう英語を考えてきたけど、果たして通じるか？」、「日本語では質問がでてくるけど、英語でどのように伝えれば良いのか？」、今まで言いたくても言えなかったことを、勇気を持って言ってみませんか？このプログラムを通じて、英語へのハードルが少しでも下がるお手伝いができればと思います。若手企画ということもあり、「40歳未満」という年齢制限付きではございますが、皆さん奮ってご参加下さい。

会場：学術集会会場にて、特別シンポジウムの後に引き続き行います

* 若手研究者(40歳未満)に限る

第32回 日本下垂体研究会学術集会プログラム			
	2017年8月2日(水)	2017年8月3日(木)	2017年8月4日(金)
7:00		7:00 朝食	7:00 朝食・チェックアウト
8:00		8:15 一般演題3	8:15 一般演題4
9:00		9:15 休憩	9:30 休憩
10:00		9:30 シンポジウム1 招待演者 大隈典子先生 (東北大学) 「下垂体における神経堤細胞の定着は下垂体腫瘍の病因解明へと繋がるか」	9:40 シンポジウム2 「視床下部-下垂体-性腺軸 研究の最前線」
11:00	11:00 幹事会	11:30 評議委員会、総会	11:40 閉会式 受賞者発表
12:00	12:00 受付開始	12:00 昼食	12:00 閉会
13:00	13:00 開会	13:00 特別講演 永井良三 先生 (自治医科大学)	
	13:10 若手最優秀発表賞候補演題		
14:00	14:30 一般演題1	14:00 吉村賞講演、授与式 松田恒平 先生 (富山大学) 「ソマトラクチンとプロラクチンの分泌制御と生理機能に関する研究」	
15:00	15:20 休憩	15:00 エクスカーション (鬼怒川ライン下り) (雨天時 自由行動)	
16:00	16:30 特別シンポジウム 「オキシトシン、バゾプレッシン作用の新たな知見 -基礎と応用-		
17:00	17:00 特別プログラム 「若手研究者の皆さん、下垂体研究を英語で話してみませんか」		
18:00	18:00 一般演題2	18:00 懇親会	
19:00	19:00 食事、入浴		
20:00		20:00 ファイルオンザデスク (発表資料を持ち寄り討論会)	
21:00	20:30 ファイルオンザデスク (発表資料を持ち寄り討論会)		
22:00			

第 32 回日本下垂体研究会学術集会 プログラム

8 月 2 日(水)

開会 13:00

若手最優秀発表賞候補演題 13:10~14:22

座長: 岩崎 泰正(高知大学)、堀口 幸太郎(杏林大学)

1. ゼブラフィッシュ OGR1, GPR4 の金属による応答解析

○武者 詩織¹、根岸 潤¹、永山 純礼¹、持丸 雄太¹、戸村 秀明^{1,2}

¹ 明治大学農学部生命科学科細胞情報制御学, ² 明治大学生殖内分泌研究所

2. ACTH 産生細胞株における GPHR の機能解析

○村上 奨¹、持丸 雄太¹、戸村 秀明^{1,2}

¹ 明治大学農学部生命科学科細胞情報制御学, ² 明治大学生殖内分泌研究所

3. マウス下垂体前葉に発現する SCGB3A2 は転写因子 C/EBP β と C/EBP δ によって転写促進される

○木下 昂宗¹、佐藤 鈴奈²、阿部 宏之¹、黒谷 玲子¹

¹ 山形大学大学院理工学研究科バイオ化学工学専攻、² 山形大学工学部バイオ化学工学科

4. マウス下垂体由来の TtT/GF 細胞における TGF β の作用: SILAC 解析法を用いたタンパク質の網羅的な比較定量解析

○磯和 幸延¹、塚田 岳大²、吉田 彩舟^{1,3}、舎人 勢奈²、紀藤 圭治^{3,4}、堀口 幸太郎⁵、藤原 研⁶、屋代 隆⁶、加藤 たか子^{1,3}、加藤 幸雄^{3,4}

¹ 明治大・研究知財、² 東邦大・理、³ 明治大・生殖内分泌研、⁴ 明治大・農、⁵ 杏林大・保健、⁶ 自治医大・医・解剖

5. メダカの鰓におけるバソトシン V2a 受容体と AQP3 の機能連関の可能性

○稲垣 祐香、中町 智哉、松田 恒平、今野 紀文

富山大学・大学院理工学研究部・生体制御学講座

6. ヒト妊娠免疫モデルとしての妊娠ヒト化マウス作製

○大野 裕介¹、小島 美香¹、木南 理仁¹、和泉 俊一郎²、藤 亮治³、伊藤 守³、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東海大学医学部専門診療学系産婦人科学、³公益財団法人実験動物中央研究所

一般演題1

14:25～15:25

座長：戸村 秀明(明治大学)、中村和昭(国立成育医療研究センター研究所)

1. 下垂体 ACTH 産生細胞における α チューブリンアセチル化修飾の役割

○中倉 敬¹、鈴木 健史²、萩原 治夫¹

¹帝京大・医・解剖、²札医大・医育・生物

2 アカエイの副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン受容体遺伝子の同定

○佐藤 生¹、笠木 聡¹、水澤 寛太¹、坂本 竜哉²、高橋 明義¹

¹北里大学海洋生命科学部、²岡山大学理学部 牛窓臨海実験所

3 ブラインドケーブカラシンの脳内における α -MSH と MCH の分布, および光が脳内 MCH と黒色素胞数に与える影響

○阿見彌 典子、井上 裕太、天野 勝文

北里大学海洋生命科学部

4 OGR1 の金属応答性は生物種間で異なる

○持丸 雄太¹、戸村 秀明^{1, 2}

¹明治大学農学部生命科学科、²明治大学生殖内分泌研究所

5 成長ホルモン経口投与がニジマス免疫系に及ぼす影響

○矢田 崇¹、森山 俊介²

¹水研機構、²北里大学

休憩 10min (15:25～15:35)

特別シンポジウム 15:35～17:00

「オキシトシン、バソプレッシン作用の新たな知見 -基礎と応用-

座長: 上田 陽一(産業医大)、奥水 崇鏡(自治医大)

1. 社会的刺激によるオキシトシンニューロンの活性化とその働き

○尾仲達史、高柳友紀、吉田匡秀、犬束歩、岡部祥太、Naranbat Nasanbuyan
自治医科大学医学部 生理学講座 神経脳生理学部門

2 V2 受容体と腎性尿崩症: 変異解析と新しい治療の可能性

○槇田紀子、飯利太郎

東京大学医学部・聖マリアンナ医科大学

3 バソプレッシン V1 受容体欠損マウスからのバソプレッシン作用へのアプローチ

○中村和昭

国立成育医療研究センター研究所

特別プログラム-Special Program- 17:00～18:00

「若手研究者の皆さん、下垂体研究を英語で話してみませんか」

‘Dear Young Researchers: Let’s Talk Pituitary Research in English’

座長: 塚田 岳大(東邦大学) Organizer: Takehiro Tsukada (Toho University,
Department of Biomolecular Science)

1 Stem/progenitor cells and Cell adhesion protein in the pituitary gland

○Khongorzul Batchuluun

国立モンゴル医科大学・自治医科大学 (Mongolian National University of Medical
Science、Jichi Medical University)

2. Ultra-short loop positive feedback between kisspeptin and GnRH neurons to
enhance LH release in female rats

○家田菜穂子 (Nahoko Ieda)

名古屋大学大学院生命農学研究科 (Graduate School of Bioagricultural Sciences,
Nagoya University)

一般演題2 18:00～18:50

座長: 須賀 英隆(名古屋大学)、亀谷 美恵(東海大学)

1. 食虫目スルクス下垂体前葉におけるホルモン産生細胞の局在及び精巣摘除による LH 産生細胞の形態学的変化の研究

○坂井田 初季¹、相澤 清香²、坂田 一郎¹、坂井 貴文¹

¹埼玉大・院理工、²岡山大・院自然科学

2. ゼブラフィッシュ下垂体中葉におけるソマトラクチン産生細胞の局在およびソマトラクチン免疫陽性反応と mRNA 発現に及ぼす背景色の影響

○南 和希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. NOG-IL-4-Tg マウスを用いたヒト組織移植の検討

○宮本 あすか^{1,3}、片野 いくみ²、伊藤 亮治²、津田 万里³、徳田 裕³、

垣生 園子⁴、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東海大学医学部外科学系乳腺内分泌外科、⁴順天堂大学医学部免疫学

4. 胎児発育不全(FGR)および胎児異常(non FGR)の胎盤組織における TrkB アイソフォーム発現の比較解析

○灰田祐子¹、近藤朱音^{2,3}、中奥大地²、山崎幹雄²、森根幹生²、檜尾健二²、前田和寿²、高橋千果³、和泉俊一郎³、亀谷美恵¹

¹東海大学医学部基礎医学系分子生命科学、²四国こどもとおとなの医療センター、

³東海大学医学部専門診療学系産婦人科

食事・入浴 19:00～20:30

ファイルオンザデスク 20:30～22:00

8月3日(水)

朝食 7:00~8:15

一般演題3 8:15~9:15

座長:近藤 朱音(東海大学)、藤原 研(自治医大)

1. 妊娠成立によるマウス母体 H-P-A 軸のストレス応答性低下について

○森山 隆太郎、吉川 万莉乃、木村 祐輔、高野 恭男、向井久保 崇裕、松本 彬伸、日比野 良祐
近畿大生命科学

2. コモンマーモセットの血漿中妊娠関連タンパク質の同定

○柏木 寛史^{1,2}、亀谷 美恵¹、大野 裕介¹、石本 人士²、和泉 俊一郎²

¹東海大学医学部基礎医学系分子生命科学、²東海大学医学部専門診療学系産婦人科学

3. ラット下垂体前葉の内分泌細胞が反応するラミニンに関する研究

○東 森生¹、菊地 元史^{1,2}、屋代 隆¹

¹自治医科大学医学部解剖学講座(組織学部門)、²自治医科大学医学部総合教育部門

4. 下垂体分化における視床下部隣接の意義

○須賀 英隆¹、笠井 貴敏²、有馬 寛³

¹名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科、²公立陶生病院 内分泌・代謝内科、³名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学

5. 下垂体前葉の S100 β 陽性細胞が発現する CD 抗原の解析

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

¹杏林大・保健、²明治大・内分泌研、³明治大・院・農、⁴自治医大・医・解剖(組織)、

⁵東邦大・理

6. 下垂体前葉から単離した SOX2 陽性細胞塊の性質解析

○吉田 彩舟^{1,2,6}、百合野 秀朗³、小林 正明⁴、田村 祐介⁴、菅野 鉦⁴、
矢野 健太郎^{4,5}、橋本 真一³、加藤 たか子^{1,2}、加藤 幸雄^{1,4,5}

¹明大・生殖内分泌研、²明大・研究知財、³金沢大・医薬保健学総合研究科、⁴明大・農、

⁵明大院・農、⁶学振研究員

休憩 15 min (9:15～9:30)

シンポジウム 1 9:30～11:30

「下垂体における神経堤細胞の定着は下垂体腫瘍の病因解明へと繋がるか」

座長; 山田 正三(虎の門病院)、加藤 幸雄(明治大学)

1. 下垂体腫瘍のエクソーム解析による遺伝子異常の全貌

○堀口和彦、山田正信

群馬大学大学院医学研究科内分泌代謝内科学

2. 下垂体腺腫におけるホルモン分泌と転写因子

○井下尚子、山田正三

虎の門病院病理診断科、間脳下垂体外科

シンポジウム 1・招待講演

「神経堤細胞: Good guy or bad guy?」

大隅典子

東北大学大学院医学系研究科

評議委員会・総会 11:30～12:00

昼食 11:30～13:00

特別講演 13:00～14:00
「細胞・臓器連関による心血管系の負荷応答機構」
永井良三
自治医科大学
座長:菊地 元史 (自治医科大学)

吉村賞授賞講演・授賞式 14:00～15:00
「キングヨにおけるソマトラクチンの分泌制御と生理機能に関する研究」
松田恒平
富山大学
座長:屋代 隆 (自治医科大学)

エクスカーション 15:00～18:00
懇親会 18:00～20:00
ファイルオンザデスク 20:00～22:00

8月4日(水)

一般演題4 8:15～9:27
座長:安部 由美子(群馬大学)、森山 隆太郎(近畿大学)

1. クッシング症候群術前のグルココルチコイド受容体アンタゴニスト投与による術後の下垂体-副腎系への影響

○安田 敦、関 敏郎、北島 夏見、深川 雅史
東海大学腎内分泌代謝内科

2. Possible Role of Neurotensin and CRH in the Feedback Regulation by Estradiol: A Study Using Hypothalamic ARC and AVPV Cell Models

○Tuvshintugs Tumurbaatar, Haruhiko Kanasaki, Aki Oride, Tomomi Hara, Hiroe Okada, Satoru Kyo

Department of obstetrics and gynecology, Shimane university faculty of medicine

3. 各種ヒト下垂体腺腫組織に観察されるM2マクロファージの形態的特徴に関する研究

○矢田部 恵¹、藤原 研¹、屋代 隆¹、山田 正三²、永井 良三³

¹自治医科大学解剖学講座(組織学部門)、²虎の門病院間脳下垂体外科、³自治医科大学

4. ラット下垂体前葉細胞に対する BMP-6 の作用

○藤原 研、Fujianti Casmad、屋代 隆

自治医科大学医学部解剖学講座(組織学部門)

5. ラトケ嚢胞に関連した下垂体機能不全の一例

○近藤 朱音^{1,2}、中奥 大地¹、村上 雅博¹、山崎 幹雄¹、森根 幹生¹、
檜尾 健二¹、高橋千果²、和泉 俊一郎²、前田 和寿¹

¹四国こどもとおとなの医療センター 産婦人科、²東海大学医学部専門診療学系 産婦人科

6. 泌乳期ウシにおけるニューロキニン B 受容体作動薬が黄体形成ホルモンのパルス状分泌に及ぼす影響

○中村 翔¹、若林 嘉浩¹、山村 崇¹、大蔵 聡²、松山 秀一¹

¹農研機構畜産研究部門、²名古屋大学大学院生命農学研究科

7. マウス視床下部神経細胞の突起形成へのプロスタグランジン D2 の作用

○土屋 裕義¹、北條 寛典²、杉本 幸彦²、Ngamlertwong Nuttawadee¹、
藤原 葉子¹、奥水 崇鏡¹

¹自治医大・医・分子薬理、²熊大・院薬・生化

休憩 10 min (9:30~9:40)

シンポジウム2

9:40~11:40

「視床下部-下垂体-性腺軸 研究の最前線」

座長:金崎 春彦(島根大学)、東村 博子(名古屋大学)

1. キスペプチンによる視床下部-下垂体-性線軸制御機構

○家田菜穂子

名古屋大学大学院生命農学研究科

2. 性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の細胞増殖調節作用に関わる新規細胞内因子

○寺島涼太

北里大学

3. ストレスによる生殖機能低下における Gonadotropin inhibitory hormone (GnIH)の病態的意義

○岩佐武

徳島大学大学院医歯薬学研究部産科婦人科学分野

4. モデル細胞を用いた視床下部及び下垂体系における生殖内分泌研究

○折出亜希、金崎春彦、トゥムルバタル トウシントウクス、原友美、京哲

島根大学医学部産科婦人科

閉会式、最優秀発表者授賞式

11:40～12:00

閉会 12:00

要旨集

吉村賞受賞講演

特別講演

シンポジウム

最優秀発表賞候補

一般演題



吉村賞受賞講演

松田 恒平

富山大学

Kouhei Matsuda

University of Toyama

e-mail: kmatsuda@sci.u-toyama.ac.jp

web site: <https://toyama-u-bio-kmatsuda.jimdo.com/>

キンギョにおけるソマトラクチンの分泌制御と 生理機能に関する研究

真骨魚類において、正中隆起が未発達であることから、腺性下垂体は視床下部によって直接神経支配されると考えられている。真骨魚類の腺性下垂体には哺乳類の腺性下垂体ホルモンのオルソログ・パラログが存在しているが、それらの視床下部による制御は未だに不明な点が多い。本講演では、下垂体研究を開始したきっかけと現在に至る我々の研究概要について紹介する。

上記のとおり、四肢動物と比較して真骨魚類の視床下部一下垂体系の解剖学的特徴は大きく異なる。さらに真骨魚類の腺性下垂体には成長ホルモン・プロラクチンのパラログとして、川内浩司らによって発見されたソマトラクチンが存在する。ソマトラクチンの生理的意義付けに関する研究が進められてきたが、第一義的な機能には不明な点が多い。そこで、我々は、入手と飼育が容易なキンギョ等の魚種をモデルとして、ソマトラクチンの分泌制御機構の解明とソマトラクチンの生理作用に関する研究を進めてきた。その結果、視床下部因子として、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチドは、PAC1 受容体を介して、 $G\alpha_s$ 及び $G\alpha_q$ 情報伝達経路を通してソマトラクチンの分泌を促し、一方、メラニン凝集ホルモンは、1 型あるいは 2 型受容体を介して、 $G\alpha_i$ 情報伝達経路を通してソマトラクチンの分泌を抑制することが分かった。組換えソマトラクチンを用いて生理機能を探ったところ、ソマトラクチン α サブタイプは鱗の黑色素胞中の色素顆粒の拡散によって体色を暗化させる作用を、ソマトラクチン β サブタイプは色素顆粒の凝集によって体色を明化させる作用をそれぞれ発揮する可能性が示唆された。

ソマトラクチンの視床下部による制御の実体や生理機能には未だに不明な点が多く残されている。そこで、ソマトラクチンノックアウトゼブラフィッシュの作出とその表現型の解析を進めている。ソマトラクチン研究の今後の展望についても最後に述べたい。



特別講演

永井良三
自治医科大学

Ryozo Nagai
President
Jichi Medical University
web site: <http://www.jichi.ac.jp>

細胞・臓器連関による心血管系の負荷応答機構

生命は情報の集合体である。分子・細胞から個体・集団レベルにわたるさまざまな段階で、多くの情報が発信・集積・統合されている。このため医学研究では、分子や細胞の機能を明らかにするとともに、異なる細胞・組織・臓器間の情報伝達に基づいて、個体の恒常性がいかにして維持されているかを明らかにする必要がある。

我々は長年にわたり、転写因子 KLF5 の心血管リモデリング、代謝調節、心腎連関における役割の解明を進めてきた。KLF5 の作用はきわめて多岐にわたるが、生体における意義は細胞特異的ノックアウトマウスを用いた研究によって明らかにされた。またこれにより、*in vivo* における細胞間相互作用や臓器連関などの複雑な課題に挑戦する糸口を与えることができた。

心臓を構成する細胞の 70% 以上は間質の細胞である。しかし間質細胞が心機能をどのように制御しているかは必ずしも明らかでない。心筋細胞と間質細胞の相互作用を明らかにするために、我々は線維芽細胞特異的 KLF5 ノックアウトマウスを作成した。このマウスの大動脈を狭窄させ心臓に圧負荷を与えると、心臓肥大や線維化、間質細胞の増殖を抑制することができる。しかしながら高度の圧負荷を加えると容易に心不全に陥ってしまう。これは、心筋線維芽細胞において KLF5 が増殖因子 IGF-1 の発現を制御しており、IGF-1 の低下が心筋細胞の機能低下をきたすためと考えられた。

さらに最近我々は、腎集合管上皮の KLF5 が心臓に対する圧負荷を関知し、腎臓が増殖因子 G-CSF を血中に分泌すること、さらに G-CSF は心筋保護的に作用する抗炎症性 M2 マクロファージを心筋内で増殖させ、これが増殖因子 Amphiregulin を介して心筋保護作用を示すという新しい心腎連関のパスウェイを見出した。

講演では、KLF5 と慢性炎症に関する解析を通じて明らかにしてきた細胞間および臓器間の相互作用による負荷適応システムを中心に、我々のこれまでの研究を紹介する。



招待講演 ・ シンポジウム 1
大隅典子
東北大学

Noriko Osumi

Professor

Tohoku University

e-mail: osumi@med.tohoku.ac.jp

web site: <http://www.dev-neurobio.med.tohoku.ac.jp/>

神経堤細胞 : Good guy or bad guy?

「神経堤細胞」とは、発生初期に神経管が形成される時期に神経上皮から離脱して分裂しながら胚体内を遊走し、定着先で種々の細胞に分化する性質を持つ細胞であり、全身の発生に関与することから、「第四の胚葉」と呼ばれることもある。神経堤細胞の増殖性と多分化能という性質は「幹細胞」的であり、実際、我々はマウスの眼の虹彩に存在する神経堤由来の細胞の幹細胞としての性質をニューロスフィアアッセイにより検証するとともに (Kikuchi et al., *Genes Cells*, 2011)、マウス嗅上皮の再生実験によっても見いだしている (Suzuki et al., *Neurosci Res*, 2013; Suzuki & Osumi, *Curr Top Dev Biol*, 2015)。一方、幹細胞の増殖や分化が破綻すると腫瘍が形成されることはよく知られている。実際、メラノーマは神経堤に由来するメラノサイトを起源とする悪性腫瘍であり、神経堤に由来する副腎髄質のクロム親和性細胞を起源として褐色細胞腫が形成される。さらに、腎臓や副腎に形成される神経芽腫についても、神経堤由来の細胞が腫瘍化したものであることが、マウスを用いた実験によって証明されている。近年、遺伝学的に神経堤細胞が標識されるマウスを用いて、神経堤に由来すると考えられる細胞が、これまで知られていなかった部位にも多数、存在することが報告されている。その中には、脳内の毛細血管を取り巻く周皮細胞やオリゴデンドロサイト前駆細胞など、脳腫瘍の起源として疑われている細胞種も存在する (山西ら、未発表)。以前に野末らは、マウス新生仔にモノアミンを腹腔内注射すると、グリオーマ、上衣細胞腫、乳頭腫等が誘導されることから、これらの脳腫瘍も神経堤細胞に起源を有するのではないかという考察をしている (Nozue & Ono, *Anat Anz*, 1991)。下垂体には腫瘍が好発することが知られているが、その起源については諸説あるという。本講演においては、下垂体腫瘍の発症機序として神経堤細胞の関与の可能性について、演者と明治大学の加藤教授らとの共同研究の成果をもとに話題提供したい。



シンポジウム 1

堀口和彦、山田正信

群馬大学大学院医学研究科内分泌代謝内科学

Kazuhiko Horiguchi, Masanobu Yamada

Gunma University Graduate School of Medicine Division of
Endocrinology and Metabolism

e-mail: k-hori@gunma-u.ac.jp

web site: <http://ichinai.med.gunma-u.ac.jp>

下垂体腫瘍のエクソーム解析による遺伝子異常の全貌

下垂体腫瘍の原因遺伝子として、これまで遺伝性下垂体腫瘍を中心に検索が行われ MEN1 遺伝子や AIP 遺伝子、CDKN1B 遺伝子、PRKAR1A 遺伝子の胚細胞変異が同定された。これらの遺伝子異常は、一部の散発性下垂体腫瘍においても同定されることがあるが、その頻度は極めて低い。散発性腫瘍において最も高頻度に発見される遺伝子変異は、成長ホルモン産生下垂体腫瘍における GNAS 遺伝子変異であり、約 30 ~ 40% 程度に認められるが、その他の癌においても広く散見され、GNAS の遺伝子変異が腫瘍発生に直接関与しているかは不明である。最近、飛躍的に発展した全エクソン解析は、様々な腫瘍における原因遺伝子変異を次々に発見している。下垂体腫瘍も例外ではなく、家族性巨人症における G 蛋白質共役型受容体 101 遺伝子や、ACTH 産生下垂体腫瘍における脱ユビキチン化酵素である USP8 遺伝子変異などが同定されてきた。我々も、同手法を用いて散発性 TSH 産生下垂体腫瘍における遺伝子異常の網羅的な解析を行った。TSH 産生下垂体腫瘍 8 例のコピー数多型を解析すると、8 例中 5 例に 1 つ以上の染色体全体に及ぶ大きなコピー数の増加が認められた。頻度が高い部位には、USP8 遺伝子が存在する 15q も含まれていた。また、染色体全長に及ぶコピー数に変化のないヘテロ接合性の消失 (cnLOH) についても、8 例中 5 例で認められ、1 番染色体と 8 番染色体は、複数の症例に共通して cnLOH が見られた。また、4 例について全エクソン解析を用いた体細胞変異検索を行ったところ、新規原因遺伝子変異候補を 6 遺伝子に発見した。これらの遺伝子変異は、症例間で共通するものはなかったが、癌化に関連する 2 遺伝子が含まれていた。今回のテーマである神経堤細胞と関連する遺伝子に体細胞変異は認められなかったが、コピー数に変化のある領域に、神経堤細胞から発生する神経芽腫発症に関与する遺伝子も含まれていた。本講演では、TSH 産生下垂体腫瘍を中心に、散発性下垂体腫瘍における遺伝子異常の最近のトピックスと、神経堤細胞の関与の可能性について言及したい。



シンポジウム 1

井下 尚子、山田 正三

虎の門病院病理診断科、間脳下垂体外科

Naoko Inoshita, Shozo Yamada

Toranomon Hospital

e-mail: inonao3939@gmail.com

web site: <https://www.toranomon.gr.jp>

下垂体腺腫におけるホルモン分泌と転写因子

従来下垂体腺腫は通常の HE 染色、免疫組織化学染色および電子顕微鏡所見を用いて病理組織型の分類がなされてきた。HE 染色では細胞の染色性に基づいて分泌顆粒の種類や量などを推定すると同時に、細胞の形状・配列、あるいは血管配置等に関する評価を行うことが可能である。一方、免疫染色により既知の下垂体前葉ホルモンの発現、サイトケラチンの分布、Ki67 を指標とする細胞増殖活性、予後マーカーである p53 蓄積の有無などの所見についても情報が取得可能である。さらに、電顕の利用により分泌顆粒の大きさ、量および形状に加え、ゴルジ野の形状、細胞質内フィラメントの分布パターン、特徴的な構造（spheridia やミトコンドリア - ER 複合体等）の有無など、細胞内小器官レベルでの観察も可能になる。こうした形態学的所見は単なる分類にとどまらず、過剰分泌ホルモン産生症例や予後不良群の抽出にも生かされるなど、臨床現場に有用な情報を提供してきた。最近では、治療薬の感受性マーカーとしてソマトスタチン受容体や MGMT の免疫染色による評価も一般的となり、治療方針の決定に生かされるようになってきている。

一方で、下垂体の発生・分化に重要な転写因子が下垂体腺腫の発生過程においても中心的役割を担っていることが注目を集めている。具体的には、SF-1 がゴナドトロピン産生細胞、Pit-1 が GH-PRL・TSH 産生細胞、Tpit が ACTH 産生細胞への分化をそれぞれ制御することが示されている。こうした知見を受けて、免疫染色上ホルモン陽性所見が顕著でない場合でも、転写因子の染色パターンに基づいて各組織型を類推されるようになり、特に免疫染色陰性の腺腫の起源を推測する際に有用な tool となってきている。転写因子を重要視した分類法は 2017 年版 WHO 分類に採用されるなど、下垂体腺腫の分類は急速に塗り替えられつつあるのが現状である。発生をさらに遡ると、下垂体前葉は外胚葉由来原始口腔からの陥入を起源とすると考えられていることから、ニューロン分化に関わる MAP2 や神経堤細胞分化に関わる SOX10 も下垂体腺腫において何らかの役割を有している可

能性が示唆される。そこで、神経堤と下垂体腺腫の未知の関連に関する洞察を得るために、下垂体腺腫標本に対してこれらの分子に対する免疫染色を現在進めている。本発表ではその結果を報告し、下垂体腺腫の新しい分類に関しても議論したいと考えている。



シンポジウム 2

家田 菜穂子

名古屋大学大学院生命農学研究科

Nahoko Ieda

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University

e-mail: ieda@agr.nagoya-u.ac.jp

web site: <https://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~hanshoku/ReprodWeb/index.html>

キスペプチンによる視床下部 - 下垂体 - 性線軸制御機構

キスペプチンは *Kiss1* にコードされる神経ペプチドであり、視床下部 - 下垂体 - 性線軸を一義的に制御する。キスペプチン受容体 (GPR54) 遺伝子の機能的欠損はヒトおよびマウスにおいて重篤な低ゴナドトロピン性聖戦機能低下症を引き起こし、*Kiss1* ノックアウト (KO) ラットではゴナドトロピン分泌が完全に消失する。キスペプチンニューロンは、哺乳類においては主に視床下部の二つの神経核、前腹側室周囲核 (anteroventral periventricular nucleus; AVPV) および弓状核 (arcuate nucleus; ARC) に局在することが知られる。AVPV の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) / ゴナドトロピンのサージ状分泌を、ARC は GnRH / ゴナドトロピンのパルス状分泌を発生させる中枢であるとの仮説が有力である。

ARC に局在するキスペプチンニューロンは、ニューロキニン B およびダイノルフィンと共発現し、Kisspeptin-Neurokinin B-Dynorphin (KNDy) ニューロンとも呼ばれる。KNDy ニューロンの神経活動に対し、ニューロキニン B は促進的に、ダイノルフィンは抑制的に制御することから、近年では KNDy ニューロンは自己分泌あるいは傍分泌により GnRH パルスを発生させるという説が支持されている。我々と他の研究グループの研究成果により、性成熟期や泌乳期における GnRH 分泌もまた KNDy ニューロンにより制御されることが明らかとなった。

本シンポジウムでは、キスペプチンによる GnRH 分泌メカニズムと合わせ、キスペプチンニューロンが様々な内的外的環境因子によるシグナルを統合するハブ・ニューロンとしての役割を果たす可能性について論じる。



シンポジウム 2

寺島 涼太

北里大学

Ryota Terashima

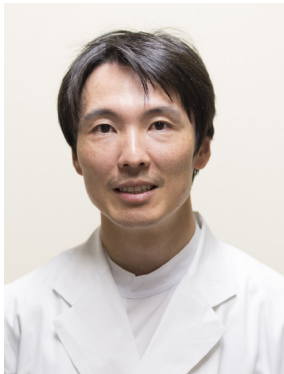
Kitasato University

e-mail: rterashi@vmas.kitasato-u.ac.jp

web site: <http://www2.vmas.kitasato-u.ac.jp/physiology/>

性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の細胞増殖調節作用 に関わる新規細胞内因子

性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) は生殖機能を調節する視床下部神経ホルモンである。主に $G\alpha_{q/11}$ に共役する GnRH 受容体に結合し、LH と FSH の分泌を促進する。一方、GnRH 作動薬は、ゴナドトロフを含む様々な腫瘍細胞の増殖を抑制する。我々は、GnRH 作動薬の細胞増殖抑制作用機序を調べる過程で、 $G\alpha_i$ シグナルを介して誘導される Myxovirus Resistance 1 (Mx1) が、細胞増殖に関わることを発見した。抗インフルエンザウイルス遺伝子として知られる Mx1 は、一般の実験動物マウスでは部分的に欠失しており、偽遺伝子と考えられてきた。我々はマウス下垂体で少なくとも 5 つのスプライシングバリエーションが Mx1 偽遺伝子から発現していること、エクソン 2、3 およびイントロン 3 の一部で構成される短い mRNA がペプチドに翻訳され得ることを見いだした。この短い mRNA を $L\beta T2$ 細胞に発現させると細胞増殖が強力に抑制されることを明らかにした。N 末端側の 64 アミノ酸しか残していないこの短い配列は、Mx1 の中でも特に種間相同性の高い 55 アミノ酸領域を含んでいた。この領域はほぼ完全に保存されており、重要な生物活性を担っていることが示唆された。そこで、我々は CRISPR/Cas9 システムを用い、開始コドン直後に 2 塩基欠損を入れた Mx1 ノックアウトマウス (Mx1KO) を作出した。Mx1KO は、成長、妊性に変化は無く、血中 LH 濃度や下垂体 LH 含量、下垂体重量にも違いは見られなかった。そこで、ゴナドトロフ機能を刺激するために性腺を摘出すると、予想通り Wild マウス下垂体ではゴナドトロフ数が増加し、肥大化した $LH\beta$ 陽性細胞が多く観察されたのに対し、MX1KO では全体的に $LH\beta$ 染色性が低く、肥大化した細胞は明らかに少なかった。以上の結果から、Mx1 がゴナドトロフの増殖や分化の過程で機能する新規の細胞内因子であることが示唆された。



シンポジウム 2

岩佐 武

徳島大学大学院医歯薬学研究部産科婦人科学分野

Takeshi Iwasa

Tokushima University

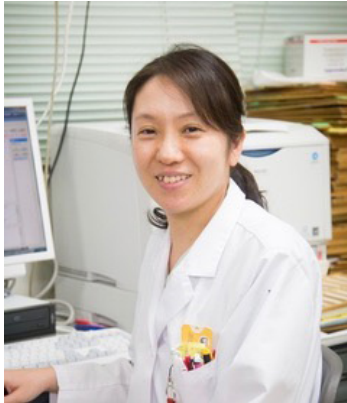
e-mail: iwasa.takeshi@tokushima-u.ac.jp

web site: <http://www.tokudai-sanfujinka.jp/Total/index.html>

ストレスによる生殖機能低下における Gonadotropin inhibitory hormone (GnIH) の病態的意義

Gonadotropin inhibitory hormone (GnIH) は視床下部で産生される神経ペプチドで、GnRH/ゴナドトロピンの分泌抑制因子として作用する。GnIH は性成熟や排卵機構の維持に重要な役割を果たすほか、他の中枢神経系に作用することで性行動を抑制することが明らかにされている。

ストレスや低栄養など生体環境が悪化した状況では生殖機能が抑制されることが知られているが、その機序については十分解明されていない。近年、我々を含む複数のグループの基礎検討により、ストレスが負荷された状況では GnIH の作用が高まりゴナドトロピン分泌が低下すること、このような GnIH の変化は比較的高度のストレスにより発動されること、およびストレスに伴う副腎皮質ホルモンの増加が GnIH 発現を高めることが判明した。さらに、ストレスを負荷した際の性行動、妊娠率、および産仔数の低下が、GnIH をノックダウンすることで完全に解除されることが明らかにされた。以上の結果から、GnIH はストレスによる排卵障害と生殖行動の低下の両者に関わっており、これらを通して生殖機能を抑制するものと推察される。今後さらに検討がすすめられ、ストレスに伴う生殖機能の低下への対処法が確立されることが望まれる。



シンポジウム 2

折出 亜希、金崎春彦、トウムルバタル トウシントウクス、
原友美、京哲
島根大学医学部産科婦人科

Aki Oride

Shimane University

e-mail: oride@med.shimane-u.ac.jp

web site: <http://www.shimane-u-obgyn.jp>

モデル細胞を用いた視床下部及び下垂体系における 生殖内分泌研究

視床下部 GnRH ニューロンは GnRH を下垂体門脈へ放出し、下垂体前葉からのゴナドトロピンの分泌を制御することで、卵巣における卵胞発育、性ステロイド産生、排卵を司っている。2003 年に GPR54 遺伝子の変異により性腺機能低下症となることが報告され、GPR54 の内因性リガンドであるキスペプチンが GnRH のさらに上位から GnRH の分泌を制御していることが明らかとなった。我々はこれまで視床下部培養細胞を使用し、GnRH 発現の制御について研究を行ってきた。GnRH 産生ニューロンのモデル細胞として広く実験に使用されている GT1-7 細胞はキスペプチン受容体 (Kiss1R) を持つが、内因性 Kiss1R は機能せず、受容体を強制発現させた場合にのみ、キスペプチンは細胞内情報伝達系を活性化させた。同細胞ではキスペプチンは GnRH 発現を増加させず、GnRH 受容体発現を変化させた。ラット胎児脳の初代培養細胞は GnRH 及びキスペプチン発現ニューロンを含む。キスペプチンで GnRH の発現は有意に増加し、キスペプチン自体の発現も増加したことからキスペプチンは GnRH ニューロン及びキスペプチンニューロン自身にも作用している可能性がある。また、キスペプチン及び Kiss1R 発現は下垂体前葉ホルモン産生細胞にも見られ、キスペプチンはゴナドトロピン産生あるいはプロラクチン産生にも関与している可能性がある。現在ラット胎児視床下部培養細胞株である rHypoE8 細胞、マウス胎児前腹側室周囲核ニューロン細胞株 mHypoA-50 細胞、弓状核ニューロン細胞株 mHypoA-55 細胞が確立されている。これらの細胞株を用いて生殖ホルモンの調節について検討を行っており、これらの結果をあわせて紹介したい。



特別シンポジウム

尾仲 達史、高柳 友紀、吉田 匡秀、犬東 歩、
岡部 祥太、Naranbat Nasanbuyan

自治医科大学医学部 生理学講座 神経脳生理学部門

Tatsushi Onaka, Yuki Takayanagi, Masahide Yoshida,
Ayumu Inutsuka, Shota Okabe, Naranbat Nasanbuyan
Jichi Medical University

e-mail: tonaka@jichi.ac.jp

web site: <http://www.jichi.ac.jp/usr/pys1/admpys1/>

社会的刺激によるオキシトシンニューロンの活性化とその働き

オキシトシンは、投与すると不安緩解作用、向社会的作用を持つということで近年注目されている。一方で、矛盾する報告もなされている。

我々は親密な関係の中で、親和的な視覚刺激（見つめ合い）、接触刺激を加えると、オキシトシン産生ニューロンが活性化されることを報告してきた。放出されたオキシトシンは、様々な脳部位に作用して、社会的な結びつきをさらに強めることが示唆されている。

一方で、ストレス刺激もオキシトシン産生ニューロンを活性化させ、放出されたオキシトシンは、不安を緩解し、恐怖反応を抑制していることが示唆されている。

ストレス刺激に関連し、我々は、親和的な社会的刺激のみならず、嫌悪的な社会的刺激（社会的敗北刺激）がオキシトシン産生ニューロンを活性化させることを見出した。遺伝子改変マウスを用い、オキシトシンは社会的敗北刺激に対する反応に対し促進的に働いていること、即ち、ストレス反応を促進させている可能性を見出した。

これらの一見矛盾するオキシトシンに関するデータをどのように考えればいいのか考察したい。



特別シンポジウム

槇田 紀子、飯利 太郎

東京大学医学部・聖マリアンナ医科大学

Noriko Makita、Taroh Iiri

Tokyo University、St. Marianna University School of Medicine

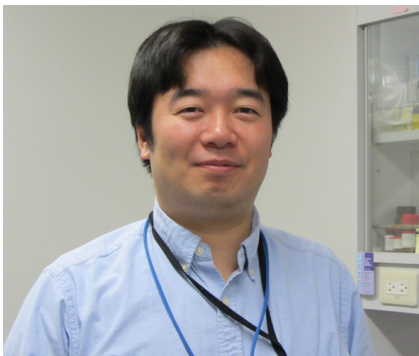
e-mail: norimaki-tky@umin.ac.jp

web site: www.todai-jinnai.com/

V2 受容体と腎性尿崩症：変異解析と新しい治療の可能性

疾患の原因となる G 蛋白質共役受容体 (GPCR) の機能喪失性変異は、その多くが folding 異常のために ER に蓄積し、本来作用する場所である形質膜に輸送 (trafficking) されないために機能を発揮できない。そのような変異体に対し、folding 異常を正し、細胞膜への trafficking を助ける受容体作動薬としての薬理的シャペロン (pharmacochaperone) が注目されている。

先天性腎性尿崩症 (NDI) は、いまだに特異的治療法のない難病・希少疾患であり、その原因の 9 割が V2 受容体の機能喪失性変異によるもので、その中でも蛋白の folding 異常による細胞膜への trafficking 障害が大半を占める。われわれは、そのような変異に対する pharmacochaperone の可能性につき、機能解析のツールとしてばかりではなく、治療応用の観点からも検討してきた。NDI の原因となる V2 受容体はこれまでに 200 以上の報告があるが、ほとんどが完全型であり、部分型としての報告は 10 数例しかない。その希少性と機能解析が可能であるという点から、部分型 NDI に注目してきたが、ある種の V2 受容体作動薬は変異受容体に対して、野生型に対する作用とは異なる作用を呈することを見出した。これは作用する相手によって異なる効果を示すという GPCR リガンドにおける protean agonism という概念を裏付けるものであり、今後の創薬にあたっての重要なヒントになると思われる。また、本シンポジウムでは、真の治療ターゲットとしての完全型 NDI に対する治療の可能性についても議論したい。



特別シンポジウム

中村 和昭

国立成育医療研究センター研究所

Kazuaki Nakamura

National Research Institute for Child Health and Development

e-mail: nakamura-kz@ncchd.go.jp

web site: <https://www.ncchd.go.jp/scholar/research/section/pharmac/index.html>

バソプレシン V1 受容体欠損マウスからの バソプレシン作用へのアプローチ

アルギニンバソプレッシン (AVP) は 9 アミノ酸残基からなる神経ペプチドで、視床下部室傍核及び視索上核において産生される下垂体後葉ホルモンである。AVP 受容体は V1aR、V1bR および V2R の 3 つのサブタイプに分類される。V1aR、V1bR および V2R のいずれも G タンパク質共役型受容体 (GPCR) であり、V1aR および V1bR は三量体 G タンパク質 Gq と共役し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化がシグナル伝達機構とされている。我々のグループではこれまで、V1aR 遺伝子欠損マウス (V1aR^{-/-} マウス) および V1bR 遺伝子欠損マウス (V1bR^{-/-} マウス) を用いて、AVP の生理作用をその受容体サブタイプの機能解析の観点から検討してきた。V1aR^{-/-} マウスおよび V1bR^{-/-} マウスは、様々な表現系を呈し、その解析から V1aR および V1bR を介する AVP の新たな生理作用が明らかになってきている。

我々はこれまでに、V1aR を介した血圧調節、V1aR および V1bR を介した血糖調節、V1bR による副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 分泌制御など末梢器官における V1 受容体を介した AVP の生理作用を明らかにするとともに、V1aR^{-/-} マウスおよび V1bR^{-/-} マウスの行動解析を行い、中枢神経系における V1 受容体の機能を検討してきた。

本講演では、これまでに V1aR^{-/-} マウスおよび V1bR^{-/-} マウスの解析を通じて明らかとなってきた V1 受容体の機能を受容体サブタイプの観点から概説し、今後の V1 受容体研究の展望についても下垂体研究会の皆さまと議論させていただきたい。



特別プログラム –Special Program–

Khongorzul Batchuluun

国立モンゴル医科大学・自治医科大学

Mongolian National University of Medical Science

Jichi Medical University

e-mail: khongorzul.bat@mnums.edu.mn

web site: <https://www.mnums.edu.mn/index.php>

Stem/progenitor cells and Cell adhesion protein in the pituitary gland

Adult progenitor cells are committed to replace cells after specific lesion and to supply specific types of cells on physiological demands. Rat anterior pituitary consists of hormone-producing cells and S100b-positive cells, which is known to act as progenitor cells. Our group previously reported that embryonic progenitor cells of anterior pituitary gland construct homophilic cell aggregates in tissue by expressing E-cadherin, which switches into N-cadherin when differentiate into hormone producing cells. Moreover, self-renewal of the stem/progenitor cell is regulated by Notch signaling, which belongs to the juxtacrine signaling that requires specific cell-to-cell adhesion by E-cadherin. In the present study, we investigated genes that are functionally associated with Notch signaling.

S100b-positive cells were isolated from transgenic rats (S100b-GFP rats) by utilizing FACS and cultured with or without Notch signal inhibitor, DAPT (50 μ M). By DNA microarray, we found expression of 108 genes were upregulated and 469 genes were downregulated by DAPT-treatment, including genes of T-cadherin, a unique protein of cadherin family that lacks intercellular domain. When we treated S100b-positive cells with DAPT, the percentage of BrdU-positive cells decreased to about a half. Simultaneously, expression of T-cadherin decreased by the same level. Immunohistochemically, we found that subpopulation of S100b-positive cells were positive for T-cadherin.

Core Laboratory, Department of Science and Technology, Mongolian National University of Medical Sciences and Division of Histology and Cell Biology, Department of Anatomy, Jichi Medical University School of Medicine



特別プログラム -Special Program-
家田 菜穂子
名古屋大学大学院生命農学研究科

Nahoko Ieda

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University

e-mail: ieda@agr.nagoya-u.ac.jp

web site: <https://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~hanshoku/ReprodWeb/index.html>

Ultra-short loop positive feedback between kisspeptin and GnRH neurons to enhance LH release in female rats

Kisspeptin, encoded by *Kiss1*, is well known to robustly stimulate gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and therefore to regulate mammalian reproduction. Among the two major kisspeptin neuronal populations, namely in the anteroventral paraventricular nucleus (AVPV) and the arcuate nucleus (ARC), AVPV kisspeptin neurons are considered as a center of GnRH/gonadotropin surge, whereas ARC kisspeptin neurons are considered as GnRH/gonadotropin pulse generator. This study aims to investigate whether GnRH metabolite affects kisspeptin neuronal activity and subsequently alters luteinizing hormone (LH) concentration in plasma.

Intracerebroventricle (ICV) injection of the GnRH metabolite into the third ventricle increased the plasma LH concentration in Wistar-Imamichi female rats ovariectomized and implanted with estrogen at diestrus level. On the other hand, plasma LH concentration in *Kiss1*-knockout rats showed no change after ICV injection of GnRH metabolite. We have previously reported that kisspeptin neurons are the hub to integrate upstream signals regulating GnRH/LH secretion, because stimulatory neurotransmitters, such as glutamate, had no effect to change plasma LH concentration in *Kiss1*-knockout rats.

Taken our previous and present study together, we suggest that GnRH metabolite may activate kisspeptin neurons directly and/or indirectly to enhance LH release. The present study also suggests the presence of the ultra-short loop positive feedback mechanism from GnRH to kisspeptin neurons.

最優秀発表演題-1

ゼブラフィッシュ OGR1, GPR4 の金属による応答解析

○武者 詩織¹、根岸 潤¹、永山 純礼¹、持丸 雄太¹、戸村 秀明^{1, 2}

¹ 明治大学農学部生命科学科細胞情報制御学, ² 明治大学生殖内分泌研究所

【背景】OGR1、GPR4 は細胞外プロトンを感じて活性化する、プロトン感知性 GPCR である。OGR1 はヒト、ラットやゼブラフィッシュ下垂体においても、その発現が観察される。ラット下垂体では、S100β 陽性細胞での IL-6 の発現に、OGR1 の関与が報告されている(Horiguchi K et al. Cell Tissue Res 2014)。これまでに私たちは、ゼブラフィッシュに存在する OGR1、GPR4 相同遺伝子産物(zOGR, zGPR4)が、ヒトやマウスの OGR1 や GPR4 と同様にプロトン感知性 GPCR であること(持丸雄太, 大嶋菜月; 第 28 回下垂体研究会), OGR1 がマウスゴナドトロフ細胞株の機能を修飾すること(持丸雄太; 第 30 回下垂体研究会)を報告してきた。今回私たちは、ゼブラフィッシュの抽出液が zOGR1 を活性化することを見出した。この抽出液の pH は約 8 であるので、抽出液中のプロトン以外のアゴニストが zOGR1 を活性化していることが考えられた。この活性化はキレート剤により抑制されたので、抽出液内の金属が活性化に関与していることが予想された。

【目的】①zOGR1 が金属により活性化されるのか。また活性化されるとすれば、②その金属種はどのようなものか。さらに、③OGR1 と同じファミリーに属する GPR4 も金属により活性化されるのかを明らかにする。

【方法】SRE-プロモーターなどのレポーター遺伝子を HEK293 細胞に導入後、各種金属を添加し、レポーター遺伝子の活性を測定することで受容体の活性化を測定した。

【結果】各種金属を添加することにより、zOGR1 は活性化された。その活性化に関与する金属種は、ヒト OGR1 を活性するものと異なるものがあった。一方 GPR4 は、試した金属種のどれによっても活性化が観察されなかった。

【考察】活性化に関与する金属は、ほとんどが生命活動に必要な微量または超微量元素である。下垂体機能を含むこれら微量元素の新たな作用機構として、OGR1 を介した応答が関与する可能性がある。

最優秀発表演題-2

ACTH 産生細胞株における GPHR の機能解析

○村上 奨¹、持丸 雄太¹、戸村 秀明^{1, 2}

¹ 明治大学農学部生命科学科細胞情報制御学, ² 明治大学生殖内分泌研究所

【背景】GPHR (Golgi pH regulator)はゴルジ体に局在する pH regulator であり, ゴルジ内腔の pH を酸性に保つ役割を有する。今回私たちは, GPHR がラット下垂体と ACTH 産生細胞株 (AtT20) に発現していることを見出した。分泌顆粒, エンドソーム, ゴルジ体などのホルモン分泌に関与するオルガネラ内は, 酸性に保たれていることから, この酸性環境がこれらオルガネラの機能に影響を与えているものと思われる。GPHR 遺伝子欠損マウスは致死であることから, ホルモンの分泌応答に対する GPHR の作用は不明である。

【目的】今回私たちは ACTH 産生細胞株を用いて, その分泌応答に GPHR がどのように関わっているのかを明らかにする。

【方法】AtT20 細胞株からのホルモン分泌応答の測定には, ガウシアルシフェラーゼを使用した(佐藤一裕; 第 30 回下垂体研究会)。

【結果】GPHR を AtT20 に発現させると, ベクターを導入したものに比べて, CRH 刺激または KCl 刺激によるガウシアルシフェラーゼのメディウム中への分泌量(発光量)が, 変化した。

【考察】GPHR はホルモン分泌応答に関与していることが明らかとなった。GPHR の活性を修飾する化合物の探索は, 今後新たなホルモン分泌の制御法の開発へとつながる可能性がある。

最優秀発表演題-3

マウス下垂体前葉に発現する SCGB3A2 は転写因子 C/EBP β と C/EBP δ によって転写促進される

○木下 昂宗¹、佐藤 鈴奈²、阿部 宏之¹、黒谷 玲子¹

¹ 山形大学大学院理工学研究科バイオ化学工学専攻、² 山形大学工学部バイオ化学工学科

セクレトグロビン(SCGB)3A2は、NKX2-1の下流因子として肺組織から同定されたタンパク質である。我々はマウス下垂体前葉でのSCGB3A2発現を報告したが、マウス下垂体前葉にはNKX2-1の発現は認められなかった。一方、マウス肺を用いた研究によってScgb3a2の506 bp上流のプロモーター領域には2か所のNKX2-1結合部位と11か所のCCAAT/enhancer binding proteins(C/EBPs)結合部位の存在が確認されている。そこで、下垂体前葉でのSCGB3A2発現にはNKX2-1以外の転写因子、C/EBPsが機能すると仮定した。まず、SCGB3A2とC/EBPsの免疫組織化学により、マウス下垂体前葉のSCGB3A2陽性細胞はC/EBP β 、 γ 、 δ 、 ζ を発現することを示した。また、先行研究から下垂体前葉に発現するSCGB3A2はLH、FSHとの共局在が明らかであるため、マウス下垂体ゴナドトロフおよびサイロトロフ系譜の細胞株(α T3-1, L β T2, L β T4, α T1-1)におけるC/ebps, Scgb3a2, Nkx2-1の遺伝子発現をRT-PCRによって解析した。その結果、全ての細胞株においてC/ebp β 、 γ 、 ζ およびScgb3a2の発現を認めたが、Nkx2-1の発現は認められなかった。さらに、L β T2細胞株を使用したレポーターアッセイの結果、Scgb3a2プロモーターはC/EBP β およびC/EBP δ の過剰発現により有意な活性を示した。本研究によってマウス下垂体前葉ではSCGB3A2転写促進はC/EBP β とC/EBP δ によって調節されることが明らかになった。

最優秀発表賞-4

マウス下垂体由来の TtT/GF 細胞における TGFβ の作用: SILAC 解析法を用いたタンパク質の網羅的な比較定量解析

○磯和 幸延¹、塚田 岳大²、吉田 彩舟^{1,3}、舎人 勢奈²、紀藤 圭治^{3,4}、堀口 幸太郎⁵、藤原 研⁶、屋代 隆⁶、加藤 たか子^{1,3}、加藤 幸雄^{3,4}

¹ 明治大・研究知財、² 東邦大・理、³ 明治大・生殖内分泌研、⁴ 明治大・農、⁵ 杏林大・保健、⁶ 自治医大・医・解剖

TtT/GF 細胞は、マウス下垂体腺腫から単離された非下垂体ホルモン産生細胞株である。この細胞株は、S100β や GFAP を発現し、長い細胞質突起を有することから濾胞星状細胞のモデル細胞として長年利用されてきた。ところが、我々は、この細胞を用いた microarray 解析により、TtT/GF 細胞が、より未分化な間葉系細胞の特性を持つことを、最近の研究で示した。さらに、分化誘導因子である TGFβ を添加すると、幹細胞マーカーの減少やペリサイトマーカーの増加がみられ、TtT/GF 細胞に可塑性があることが示唆された(投稿中)。本研究は、TtT/GF 細胞における TGFβ の作用をより詳しく解析するため、SILAC (Stable Isotope Labeling using Amino Acids in Cell Culture) 解析法を用いて、TGFβ シグナルにより変動するタンパク質を網羅的に比較定量解析した。安定同位体標識したアミノ酸を含む培地 (Heavy medium) で TGFβ もしくは TGFβ 受容体阻害剤 (SB431542) を添加培養した TtT/GF 細胞群と、通常の培地 (Light medium) で培養した TtT/GF 細胞群 (vehicle) から、それぞれタンパク質を抽出し、質量分析を行った。その結果、検出・定量された全タンパク質 1693 種の中で、発現が有意に上昇したものが 121 種、減少したものが 66 種見つかった ($|\log_2| > 0.6$, $n = 3$)。Gene Ontology 解析では、細胞骨格、細胞接着、細胞外マトリックスに関わるタンパク群が変動していることが明らかとなった。さらに、分化や脱分化に関わるタンパク質についてもいくつか興味深いデータが得られた。以上のことから、TGFβ は、TtT/GF 細胞の形態や形質の転換に関与していることが示唆された。

メダカの鰓におけるバソシン V2a 受容体と AQP3 の機能連関の可能性

○稲垣 祐香、中町 智哉、松田 恒平、今野 紀文
富山大学・大学院理工学研究部・生体制御学講座

四肢動物において、下垂体神経葉ホルモンのバソプレシン (VP)/バソシン (VT) は、腎臓に発現する V2a 受容体 (V2aR) を介して水チャネルの 2 型アクアポリン (AQP2) の発現を調節し、抗利尿作用に働いている。この VP/VT による水保持機構は、常に脱水の危険に晒される陸生の脊椎動物にとって必要不可欠な仕組みである。一方、水中生活を営む魚類は、四肢動物のような水保持機構を有していないと考えられており、実際、AQP2 遺伝子は魚類のゲノム中に存在しないことが明らかとなっている (Suzuki and Tanaka, 2009; Finn and Cerda, 2011)。最近、所属研究室は、真骨魚類の鰓や腎臓といった浸透圧調節器官にも V2aR が発現することを明らかにした (Konno et al., 2010) が、その生理機能は未だ明らかになっていない。そこで、本研究ではゲノム編集技術 TALEN を用いて作製した V2aR ノックアウト (KO) メダカを用いて魚類の V2aR を介した VT の機能を明らかにすることを目的とした。

四肢動物において、V2aR 機能の異常は尿崩症という疾患を引き起こし、尿から水を再吸収できずに脱水する。そこで、脱水を誘起する高張環境で飼育した V2aR-KO メダカの筋肉水分率と血漿 Na⁺濃度を計測し、野生型 (WT) メダカと比較した。その結果、V2aR-KO メダカの各パラメーターは WT メダカと有意な差は見られず、高張環境下においても V2aR-KO メダカは正常な体液調節が行われた。したがって、メダカの V2aR は抗利尿作用とは異なる機能を仲介していることが示唆された。

次に、鰓において水やイオンの輸送に働く水チャネルおよびイオン輸送体の遺伝子発現レベルを、両群間で比較した結果、V2aR-KO メダカの鰓における AQP3 mRNA の発現レベルが WT メダカと比較して有意に低いことが明らかとなった。また、in situ hybridization において、AQP3 は鰓の塩類細胞に局在することが示された。これまでの結果から、VT-V2aR 系は鰓において AQP3 の発現調節に関与している可能性が考えられた。今後は、VT-V2aR 系が AQP3 の発現調節を通して、鰓のどのような生理機能に関わっているのかを検証する必要がある。

ヒト妊娠免疫モデルとしての妊娠ヒト化マウス作製

○大野 裕介¹、小島 美香¹、木南 理仁¹、和泉 俊一郎²、藤 亮治³、伊藤 守³、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 東海大学医学部専門診療学系産婦人科学、³ 公益財団法人実験動物中央研究所

【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(PG)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およびヒト胎盤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 NOG マウスを作製し、生着した細胞の動態を明らかにすることを試みた。

【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(pPB-NOG マウス)を作製した。移植から 14 日後に骨髓、末梢血、脾臓、胎盤を摘出し、細胞懸濁液を調製した後、各種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。また、胎盤組織については、パラフィン包埋切片を、HE および TUNEL 法を用いて染色した。また、免疫組織化学染色法を用いてヒト白血球の局在を解析した。さらにヒト胎盤絨毛膜由来細胞株である BeWo と Jeg3 をそれぞれ 0 μ M, 2 μ M, 20 μ M, 200 μ M の濃度で PG 添加した Ham's F12 あるいは DMEM 培地で 10 日間培養し、2 日ごとに細胞数の計測を行った。

【結果及び考察】FACS 解析の結果では、pPB-NOG マウス胎盤局所において、キラーT 細胞の比率が優位に高かった。しかし免疫組織化学染色では、移植に伴う pPB-NOG マウス胎盤の形状の変化および白血球の過剰な浸潤は認められず、アポトーシスも正常の範囲内であった。また、PG 存在下で培養すると BeWo、Jeg3 共に濃度依存的に増殖能が低下する傾向が観察された。これらマウスの骨髓、脾臓、末梢血におけるヒト白血球の生着率は、非妊娠個体と比較して優位に低く、キラーT 細胞は減少傾向にあった。以上の結果、妊娠環境下で胎盤局所にキラーT 細胞は集積するが、ヒト化マウスの白血球の生着および胎盤の絨毛細胞の増殖能は抑制された。妊娠関連ホルモンがこれらの現象を誘導するかについて今後さらに解析を行う予定である。

下垂体 ACTH 産生細胞における α チューブリンアセチル化修飾の役割

○中倉 敬¹、鈴木 健史²、萩原 治夫¹

¹ 帝京大・医・解剖、² 札医大・医育・生物

細胞骨格の一つである微小管は α および β チューブリンにより構成されるストロー状の構造であり、線毛の中心骨格や細胞内輸送のためのレール、細胞分裂時の紡錘体としても役割を果たす。また、微小管機能の調節には各チューブリンに対する様々な翻訳後修飾が関わる事が知られる。この中でも、 α チューブリンのアセチル化は微小管内腔面に露出する部位で起こる特徴的な修飾であり、線毛マーカーとしても広く用いられている。私たちは、内分泌異常による下垂体 ACTH 産生細胞の一次線毛構造への影響を調べるため、副腎除去ラット下垂体に対して抗アセチル化 α チューブリン抗体を用いて免疫組織化学法を行っていたが、その過程で ACTH 産生細胞における細胞質内 α チューブリンのアセチル化が副腎除去によって増加することを見出し、本研究会第 30 回学術集会(黒部)で報告した。内分泌細胞では分泌顆粒やホルモン受容体の細胞内輸送が盛んなことから、細胞質内 α チューブリンのアセチル化が細胞内輸送の調節に関わる可能性がある。しかし、その役割は未だ不明なため、本研究ではマウス ACTH 産生細胞株 AtT20 を用いて α チューブリンアセチル化酵素 ATAT1 に対するノックダウン実験を行い、 α チューブリンのアセチル化を抑制した時の ACTH 関連因子の mRNA 発現変動をリアルタイム PCR で調べた。また、デキサメタゾン刺激した AtT20 細胞からの核画分を分取し、グルココルチコイド受容体の核移行の度合いをウエスタンブロット法で半定量的に解析した。以上の結果、AtT20 細胞において α チューブリンのアセチル化修飾がグルココルチコイド受容体の核移行の調節に関わる可能性が示唆された。

一般演題1-2

アカエイの副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン受容体遺伝子の同定

○佐藤 生¹、笠木 聡¹、水澤 寛太¹、坂本 竜哉²、高橋 明義¹

¹北里大学海洋生命科学部、²岡山大学理学部 牛窓臨海実験所

視床下部-下垂体-副腎皮質軸(HPA 軸)、魚類においては視床下部-下垂体-間腎腺軸(HPI 軸)はストレス応答を担う内分泌系である。哺乳類における HPA 軸は以下のように機能する。すなわち、視床下部から分泌された副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)が下垂体からの副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)の分泌を促進し、ACTH は副腎皮質を刺激しコルチゾルの分泌を高める。コルチゾルはストレス応答に関わる生理的な変化を引き起こす。

軟骨魚類の HPI 軸に関する知見は乏しい。しかし最近、我々はアカエイ(*Dasyatis akajei*)の間腎腺における MC2R および MC5R の発現を認め、アカエイが機能的な下垂体-間腎腺軸(PI 軸)を有することを示した。アカエイに視床下部-下垂体軸(HP 軸)が存在することを証明するためには、下垂体において CRH 受容体(CRHR)が ACTH 産生細胞に発現していることを確認する必要がある。そこで本研究では、アカエイ CRHR の塩基配列を決定し、その組織発現を解析することを目的とした。

cDNA クローニングの結果、他動物で既知の 3 種類の CRHR サブタイプのうち CRHR2 の塩基配列を決定した。また、CRHR2 が視床下部および下垂体において発現することを確認した。この結果は、アカエイにおいて CRH が CRHR2 を介して下垂体に作用する可能性を示唆する。しかし一般的に脊椎動物において下垂体からの ACTH 分泌を促進するのは主に CRHR1 であり、CRHR2 は CRH よりもウロコルチン、ソーバジン、ウロテンシンに強い結合特異性を持つとされている。したがって、CRHR2 の発現細胞、CRH 関連ペプチドとの結合能、および CRHR1 の存在等を検証する必要がある。

一般演題1-3

ブラインドケーブカラシンの脳内における α -MSH と MCH の分布, および光が脳内 MCH と 黒色素胞数に与える影響

○阿見彌 典子、井上 裕太、天野 勝文
北里大学海洋生命科学部

洞窟内に棲息するブラインドケーブカラシン *Astyanax mexicanus* の体表の黒色素胞数は、著しく減少している。これは暗黒生活に適応した結果であり、体色調節に関連する神経内分泌系にも影響が及んでいると考えられる。体色の暗化と明化にはそれぞれ、黒色素胞刺激ホルモン(MSH)とメラニン凝集ホルモン(MCH)が関わる。そこで本研究では、まず免疫組織化学染色法を用いて α -MSH と MCH の脳内分布を調べた。さらに、本種を光照射水槽(光量子束密度 $54.544 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)と恒暗水槽にて飼育し、光が脳内 MCH および体表の黒色素胞数に与える影響を調べた。その結果、 α -MSH 細胞体は外側隆起核(NLT)付近に、MCH 細胞体は視床下部の第3脳室背側上部(LVR)とNLT付近に検出された。また、下垂体中葉に α -MSH 細胞が検出され、MCH 線維の視床下部からの投射も検出された。飼育実験では、両群の脳内 MCH 濃度に有意差はなかったが、頭部と背部の黒色素胞数は、光照射水槽飼育個体で恒暗水槽飼育個体より有意に多かった。体長および体重は両飼育群間で有意差はなかった。以上より、洞窟魚ブラインドケーブカラシンにおいても、 α -MSH および MCH の体循環作用の存在が示唆された。また、光照射飼育により体色が暗化すること、本現象に脳内 MCH は関与しない可能性が示唆された。

OGR1 の金属応答性は生物種間で異なる

○持丸 雄太¹、戸村 秀明^{1,2}

¹ 明治大学農学部生命科学科、² 明治大学生殖内分泌研究所

【背景】G タンパク質共役型受容体(GPCR)は、においや光、脂質、ホルモンといった様々な刺激により活性化される細胞膜受容体である。Ovarian cancer G-protein-coupled receptor 1 (OGR1)は GPCR の一種である。ヒトとマウスの OGR1 は、細胞外プロトンを感じて活性化するプロトン感知性 GPCR である。OGR1 は、下垂体を含む様々な組織で発現が報告されている。OGR1 欠損マウスを用いた実験により、骨代謝、内分泌、がんや精神活動に OGR1 が関与することが報告されている。これらの報告では、OGR1 はプロトンにより活性化するものとして、その結果が解釈されてきた。一方 OGR1 は、プロトンに加え金属によっても活性化することが、近年報告された。この報告により、上記の OGR1 欠損マウスの結果が、プロトン以外に金属による活性化によって得られた可能性も浮上してきた。私たちはゼブラフィッシュ OGR1 がヒトとマウスの OGR1 と同様に、細胞外プロトンを感じて活性化する GPCR であることを報告した。一方、ゼブラフィッシュ OGR1 を活性化する金属種は、ヒト OGR1 のものとは異なっていた。この結果は、金属による OGR1 の活性化はプロトンの場合と異なり、生物種によって異なる可能性を示唆している。【目的】金属による OGR1 の活性化を生物種間で比較し、生物種による応答の違いを明らかにする。【方法】SRE-レポーター遺伝子と各生物種(ヒト、ブタ、マウス、ラット、ニワトリ、ゼブラフィッシュ、ネッタイツメガエル、ネッタイツメガエル OGR1 様遺伝子)の OGR1 発現ベクターを HEK293 細胞に過剰発現させ、塩化マンガン、硫酸ニッケル(II)、塩化コバルト、塩化鉄(III)を添加した際の SRE-レポーター遺伝子の活性を測定した。【結果】生物種により OGR1 を活性化する金属種は異なっていた。【考察】OGR1 の金属応答性は生物種によって異なるため、プロトンと異なり金属による応答は、その種独自の生理的、病態生理的応答に関与している可能性がある。

成長ホルモン経口投与がニジマス免疫系に及ぼす影響

○矢田 崇¹、森山 俊介²

¹水研機構、²北里大学

成長ホルモンによる免疫機能に対する促進的な作用は、魚類においても幅広く確認されているが、どの様な経路で効果を現すのか、また持続的な効果が得られるのかなど、不明な点も多い。本研究ではサケから精製した成長ホルモンを餌に混ぜ、ニジマス稚魚に対して長期間経口投与し、成長並びに免疫に関連する遺伝子の発現動態に及ぼす影響について調べた。

体重 1 グラムに対して 2 マイクログラムの成長ホルモンを経口投与したところ、体の大きさを揃えた実験群では、2 ヶ月で有意な成長促進効果が認められた。一方ランダムに選んだ群では、成長に有意な効果は見られなかったが、肝臓のインスリン様成長因子-I mRNA 量は有意に増加し、頭腎のリゾチーム・ミエロペルオキシダーゼ・インターロイキン-1、脾臓の核内因子 κ B、白血球の補体第 9 成分などの免疫関連遺伝子にも、有意な増加が見られた。また鰓では、調べたほとんどの免疫関連遺伝子に、有意な増加が見られた。

ランダムの群では成長ホルモンの経口投与を 6 ヶ月間継続したところ、頭腎と脾臓のミエロペルオキシダーゼ、白血球と鰓のリゾチームなど、引き続き免疫関連遺伝子の mRNA 量の増加が見られた。さらに炎症反応のシミュレーションとして、大腸菌由来のリポ多糖を腹腔内注射すると、インターロイキン-1 や腫瘍壊死因子- α などが大きく上昇する一方、肝臓のインスリン様成長因子-I とサイトカインシグナル阻害因子-1 では成長ホルモンとの競合作用が、頭腎の腫瘍壊死因子- α では相乗作用が認められた。

成長ホルモンの魚類免疫系に対する作用は、体の成長に対する作用とは独立した、長期間にわたり継続するものであった。またその経路としては、インスリン様成長因子-I やサイトカインシグナル阻害因子-1 と関係しながらサイトカインに影響を及ぼし、最終的に生体防御に関わる免疫機能を調節している可能性が見出された。

Enhancement of fish immune function by administration of growth hormone (GH) have been reported, repeatedly. However, sites of action of GH in fish immune system, or possible effects of long-term exposure have not been elucidated. Oral administrations of GH to juvenile rainbow trout for several months resulted in significant modulation on the expression of immune-related

genes independent of its growth-promoting effect. Simulation of inflammation by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide showed interactions with GH competitively on insulin-like growth factor-I and suppressor of cytokine signaling-1, and synergistically on tumor necrosis factor- α . There is a possibility that stimulatory actions of GH on fish immune system are mediated through insulin-like growth factor and suppressor of cytokine signaling.

食虫目スクス下垂体前葉におけるホルモン産生細胞の局在及び精巢摘除による LH 産生細胞の形態学的変化の研究

○坂井田 初季¹、相澤 清香²、坂田 一郎¹、坂井 貴文¹

¹埼玉大・院理工、²岡山大・院自然科学

【背景・目的】ジャコウネズミともよばれるスクス (*Suncus murinus*)は食虫目小型哺乳動物であり、雌は交尾排卵を行う。スクス下垂体前葉では 5 種類の内分泌細胞が同定されているが、その分布は不明な点が多く、性ホルモンの前葉へのフィードバック機構も明らかとなっていない。本研究では、スクス下垂体前葉ホルモン産生細胞の形態や分布を明らかにするとともに、特に LH 産生細胞に着目して精巢摘除による形態学的変化を検討した。【方法】カトマンズ系統スクス下垂体の水平断切片を作製し、HE 染色及び前葉ホルモンの免疫組織化学を行った。また、EDTA を用いて頭部の脱灰処理を行い、矢状断面における LH 陽性細胞を観察した。さらに、精巢摘除が及ぼす同細胞への影響を検討した。【結果】スクスの下垂体は後葉の占める割合が大きく、中葉は 2~3 層の細胞で構成されていた。塩基好性細胞群が前葉の吻側外側に認められ、酸好性細胞群は尾側に局在していた。各前葉ホルモンに対する免疫組織化学によって、多角形や円形の TSH 陽性細胞に加えて、丸型あるいは楕円形の ACTH 陽性細胞を吻側外側に存在していた。また、PRL 陽性細胞は楕円形や不定形の細胞であり、卵円形である GH 陽性細胞と同様に尾側領域全体に分布していた。LH 陽性細胞は水平断面で見ると吻側外側及びラトケ遺残腔の周辺細胞層 (marginal cell layer; MCL)に存在し、矢状断面では脳底側及び MCL の 2 つの領域に明確な局在を示した。精巢摘除後 2 週間では、吻側での LH 陽性細胞数は変化しなかったが、突起を有する細胞が MCL に多く見られた。加えて、LH 陽性細胞が細胞塊を取り囲んで局在している様子が観察された。【結論】スクス下垂体前葉では、各ホルモン産生細胞の分布が明確に異なることが示された。精巢摘除に対する LH 産生細胞の反応性がげっ歯類とは異なることが見出された。

一般演題2-2

ゼブラフィッシュ下垂体中葉におけるソマトラクチン産生細胞の局在およびソマトラクチン免疫陽性反応と mRNA 発現に及ぼす背景色の影響

○南 和希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

動物にとって、環境に応じて体色を変化させることは生存するために重要である。多くの真骨魚類は、鱗などの体表に存在する色素細胞内の色素顆粒を凝集または拡散することで体色を明化または暗化させる。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魚類特有の下垂体中葉ホルモンである。ゼブラフィッシュを用いた解析により、コイ科魚種では SL は 2 分子種 (SL- α および SL- β) 存在することが報告されている。一方、メダカやフグのゲノム上に SL- β 遺伝子を見出せないことから、SL- β 遺伝子は進化過程で欠失したと考えられている。我々は、コイ科魚種のキンギョにおいて SL- α は体色の暗化に、SL- β は明化に関与することを明らかにした (2015 年度 本大会発表)。最近、ゼブラフィッシュを用いた SL の機能解析にも着手した。まず、ゼブラフィッシュ下垂体における SL の分布を観察するため、推定されたゼブラフィッシュ各 SL の一次構造よりペプチド断片を合成し、ヘモシアニン複合体に特異的な抗血清をそれぞれ作製した。免疫組織化学的実験の結果、SL- α 様免疫陽性反応は中葉周辺部の細胞群に、SL- β 様免疫陽性反応は中葉腹側に位置する細胞集団にそれぞれ局在することがわかった (2016 年度 本大会発表)。そこで本研究では、各 SL の免疫陽性反応に及ぼす明暗背景色の影響を探った。白または黒背景の水槽において 3 週間飼育した個体の下垂体における各 SL 様免疫陽性反応の面積を調べたところ、黒背景で飼育した個体は白背景で飼育した個体よりも各 SL 共に免疫陽性反応の総面積が増加していた。次いで、各 SL 遺伝子発現に及ぼす明暗背景色の影響を調べた結果、白背景から黒背景に移して 3 日および 1 週間で各 SL 共に mRNA 発現量は増加した。一方、黒背景から白背景に移して 3 日および 1 週間で各 SL 共に mRNA 発現量は減少した。これらの結果よりゼブラフィッシュにおいて、下垂体中葉の SL は背景色に応答し、SL- α および SL- β 共に暗化に関与する可能性が示唆された。

NOG-IL-4-Tg マウスを用いたヒト組織移植の検討

○宮本 あすか^{1,3}、片野 いくみ²、伊藤 亮治²、津田 万里³、徳田 裕³、垣生 園子⁴、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 東海大学医学部外科学系乳腺内分泌外科、⁴ 順天堂大学医学部免疫学

実験動物はヒト組織の機能解析を代替するものとして発達してきたが、最も汎用されるマウスは進化的にヒトと遠く完全にヒトの機能を模倣することはできない。NOG マウスは実験動物中央研究所が開発した重度免疫不全マウスであり、拒絶反応が生じないためヒト組織が体内に生着し *in vivo* でヒト組織の反応を解析することが可能となった。しかし、このマウスではヒト免疫細胞による組織片対宿主病(GVHD)が生じることによって長期にわたりヒト免疫系を維持することはできなかった。そこで我々は NOG マウスをさらに改良し、ヒト免疫細胞を移植しても GVHD が生じない系統を確立することを試みた。IL-4 は T 細胞の細胞傷害活性化機能を抑制して GVHD を抑制することが知られている。我々はヒト IL-4 を全身に発現する NOG マウス(NOG-IL-4-Tg)を用いてヒト免疫系再構築マウスを作製した。NOG マウスおよび NOG-IL-4-Tg マウスに末梢血単核球(PBMC)を移植し 4 週間後の脾臓中の免疫細胞の割合を比較したところ、NOG マウスでは 3.0%であった B 細胞の割合は、NOG-IL-4-Tg マウスでは 6.1%に上昇した。さらにヒト PBMC を移植した後ペプチドで免疫をした NOG-IL-4-Tg マウスでは、B 細胞は 24.5%と非常に多く維持されることが示された。また NOG-IL-4-Tg マウスに健常者/乳がん患者 PBMC を移植しペプチドで免疫したところ、健常者 PBMC を移植したマウス血清では有意に抗体価の上昇が確認されたのに対し、乳がん患者 PBMC を移植したマウス血清中の抗体価はコントロールと同レベルであった。がん患者の免疫環境は抑制性 T 細胞の増加や T 細胞の疲弊などによって抑制されているとの報告もあり、NOG-IL-4-Tg マウスに移植した乳がん患者 PBMC においても免疫抑制によってペプチド刺激に対する特異的抗体産生能が低下していることが示唆された。このマウスを用いれば、NOG マウスよりもさらにヒト組織の生着・維持が安易となり、下垂体などの組織と免疫系のクロストークについても解析ができる可能性があると考えられる。

胎児発育不全(FGR)および胎児異常(non FGR)の胎盤組織における TrkB アイソフォーム発現の比較解析

○灰田祐子¹、近藤朱音^{2,3}、中奥大地²、山崎幹雄²、森根幹生²、檜尾健二²、前田和寿²、高橋千果³、和泉俊一郎³、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 四国こどもとおとなの医療センター、³ 東海大学医学部専門診療学系産婦人科

背景:胎児発育不全(FGR)は、胎児が育たず発育遅延状態になる疾患であり、その原因の詳細は、明らかになっていない。胎児発育に重要な胎盤では、神経栄養因子である BDNF とその受容体 TrkB が発現し胎児の発育に関与する事がマウスモデルで明らかになっている。TrkB 分子は、膜結合型チロシンキナーゼであり 24 個の exon を持ち、多くのバリエーションが形成されるため、これらの発現の違いが下流のシグナルに影響を与えている可能性が考えられる。そこで前回、我々は、FGR と胎児異常(non FGR)症例を解析し、多種類の exon の欠損が観察されることを報告したが、FGR と non-FGR の差は明らかに出来なかった。

目的:本研究では、FGR と non FGR の間の TrkB アイソフォームの発現の比較解析を行い、両者に差があるか否かを明らかにすることを目的とした。

材料と方法:四国こどもとおとなの医療センターにて同意を得て帝王切開術(C/S)にて収集された胎盤組織から RNA を抽出し、半定量的 RT-PCR 法を用いて RNA の発現を解析した。(エクソン番号の最も前のものと最も後のものを示して、解析したエクソンの範囲を示す)TrkB の primer は各 exon 配列を含むようにデザインしたものを使用した。胎盤検体は 28w-34w, 35w-41w の 2 グループに分け、TrkB の各 exon における発現の割合を算出した。

結果:BDNF binding region, IG like region, T1 region, Shc binding region, TK region のそれぞれについて解析したところ、FGR では 28w-34w より 35w-41w のグループの方が多くの領域を発現する個体の割合が低下していた。non FGR でも FGR と同様に 28w-34w よりも 35w-41w の方が多くの領域を発現する個体の割合が低下していた。FGR と non FGR を比較すると、non FGR の方が多くの領域を発現する個体の割合が低いことが明らかとなった。

結論および考察:FGR における TrkB の BDNF 結合領域および細胞内ドメインを含む領域の発現は 35w-41w で低下する事が示された。また、non FGR では、35w 以前でもこの傾向が観察された。以上より、FGR および non-FGR 両者の妊娠後期胎盤において発現する TrkB は、共に下流シグナルの伝達が不全となる傾向が示され

た。今回のサンプルでは、non-FGRの方がより完全長 TrkB の発現低下が示されたため、今後さらに詳細に奇形との関連性を解析する必要があると考えられる

妊娠成立によるマウス母体 H-P-A 軸のストレス応答性低下について

○森山 隆太郎、吉川 万莉乃、木村 祐輔、高野 恭男、向井久保 崇裕、松本 彬伸、日比野 良祐
近畿大生命科学

【目的】妊娠成立による内的外的環境変化は母体に様々な変化を引き起こす。しかし、妊娠に関する研究の多くは生殖に関連したものであり、母体の変化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、妊娠がマウス母体の H-P-A 軸に与える影響を調べることにある。

【方法】実験には妊娠 4 日目(妊娠初期)、妊娠 17 日目(妊娠後期)、分娩後 11 日目(泌乳期)、離乳後 7 日目(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未経産マウスを用いた。新奇場面ストレス負荷としてオープンフィールドに 20 分間放置した動物の血漿ならびに視床下部組織を採取し、行動観察、EIA 法による血中コルチコステロン濃度測定、Real-time PCR 法による CRH mRNA 発現量の定量、さらに MSP 法による CRH 遺伝子のメチル化解析を行った。

【結果】初回妊娠成立以降のマウスでは、オープンフィールドの中心部滞在時間は未経産マウスに比べて有意に増加した。また、このとき、血中コルチコステロン濃度は妊娠後期を除き未経産マウスに比べて有意に低下していた。さらに、視床下部における CRH mRNA 発現量は、未経産マウスに比べて低下ないし低下傾向にあり、CRH 遺伝子の intron1 および 2 では妊娠初期にメチル化 DNA の増幅が認められた。以上より、妊娠により雌マウスでは CRH 遺伝子のメチル化が誘起されることで、軽度ストレス負下時の H-P-A 軸の反応性の低下することが示唆された。

コモンマーモセットの血漿中妊娠関連タンパク質の同定

○ 柏木 寛史^{1,2}、亀谷 美恵¹、大野 裕介¹、石本 人士²、和泉 俊一郎²

¹ 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学、² 東海大学医学部専門診療学系産婦人科学

背景:妊娠期間中、様々な妊娠関連タンパク質が発現する。これらには免疫寛容に関連する PZP および PSG-1 等が含まれる。また、A2ML1 は PZP と同一の A2M ファミリーに属し、低レベルで胎盤に発現する。しかし、これらの分子が妊娠の維持に果たす役割については解明されていない。

目的:新世界ザルであるコモンマーモセット(CM)における妊娠関連タンパク質を同定し、それらの血中動態と胎盤における発現をヒトと比較解析し、霊長類進化においてどのように関与するかを明らかにすることを目的とした。

方法:ヒトおよび CM の母体血漿を分離して LC/MS により経時的にタンパク質を解析した。胎盤組織の一部より RNA を抽出し RT-PCR により mRNA の発現を解析した。IHC を行い胎盤局所での PZP および A2ML1 の発現を解析した。

結果:ヒト血漿中では 2nd trimester をピークに PZP 濃度が亢進したが、CM 血漿では PZP は検出されず A2ML1 が亢進した。A2M ファミリータンパク質はヒト・CM 間では 91% の homology を持ち、両者の配列が種間で非常に保存されていた。BAIT 領域、TE 基の機能ドメインが保たれていた。ヒト胎盤においては PZP、A2ML1 mRNA がともに検出され、CM 胎盤では A2ML1 mRNA と低レベルの PZP mRNA が検出された。ヒト胎盤では A2ML1 は絨毛間葉細胞、脱落膜細胞の一部で発現が確認された。

考察:A2M ファミリータンパク質は霊長類において種を超えて保存されており、それらは妊娠時、胎盤を含む組織に発現し、血液を介して全身に分布して働くことが示唆された。生物種の保存に重要な機構である妊娠維持の解明に、ヒトおよび CM の A2M ファミリータンパク質が寄与する可能性が示唆された。

結論:CM の血漿中妊娠関連タンパク質として、A2M ファミリータンパク質である A2ML1 を同定した。

ラット下垂体前葉の内分泌細胞が反応するラミニンに関する研究

○東 森生¹、菊地 元史^{1,2}、屋代 隆¹

¹ 自治医科大学医学部解剖学講座(組織学部門)、² 自治医科大学医学部総合教育部門

下垂体前葉に存在する5種類の内分泌細胞は、基底膜とよばれるシート状の細胞外マトリックスと接する。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の受容体であるインテグリンを介して情報伝達分子としても働く。基底膜の主成分であるラミニンは α 、 β および γ の3鎖で構成され、5つの α 鎖(α 1-5)、3つの β 鎖(β 1-3)、3つの γ 鎖(γ 1-3)が存在する。その中でも、 α 鎖はインテグリンとの結合に必須であり、細胞と基質との接着や細胞の機能修飾などのラミニンの特性を決める重要な鎖である。我々は、ラット下垂体前葉に複数種のラミニン α 鎖が発現することを報告したが、それらの機能的な違いはわかっていない。そこで本研究では、異なる α 鎖を含むラミニンを用いて、ラット下垂体前葉の内分泌細胞に働くラミニンとその作用機序を検討した。

まず、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。前葉細胞を単離し、 α 1鎖、 α 2鎖、 α 3鎖、 α 4鎖および α 5鎖のそれぞれを含むラミニン上で初代培養し、免疫細胞化学的手法を用いて内分泌細胞の形態を観察した。その結果、 α 3鎖や α 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することがわかった。次に、前葉組織内におけるラミニン α 3鎖および α 5鎖の存在を免疫組織化学的手法により調べた。その結果、ラミニン α 3鎖および α 5鎖は葉内の血管周囲や実質細胞の間に局在していた。また、蛍光二重染色により、ラミニン α 3鎖および α 5鎖はインテグリン β 1と共局在することが明らかとなった。さらに、5種類の内分泌細胞の細胞膜にインテグリン β 1を検出した。

以上より、ラット下垂体前葉の内分泌細胞は葉内に存在する α 3鎖および α 5鎖を含むラミニンに反応することがわかった。

下垂体分化における視床下部隣接の意義

○須賀 英隆¹、笠井 貴敏²、有馬 寛³

¹ 名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科、² 公立陶生病院 内分泌・代謝内科、³ 名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学

我々はこれまでに、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それぞれ別々に確立してきた。培養の基本方針は、胎児内での発生を出来るだけ再現することにある。例えば胎児の下垂体原基(ラトケ囊)は、視床下部神経組織と口腔外胚葉組織とが相互作用した結果形成される。我々の培養法でも、細胞凝集体内にこれら 2 つの組織を同時誘導させ、その結果、ラトケ囊様構造が自己形成された。ここから培養を進め、ACTH 細胞などが分化可能であることを示してきた。

このようにして、下垂体前葉への分化法と、視床下部への分化法とを別々に確立してきたが、両方を同時に成熟させる方法はこれまで存在しなかった。最近、下垂体前葉細胞と視床下部ニューロンとを同一凝集体内で隣接して同時に成熟させることが可能になった。その結果、ACTH 細胞の分泌能力が数倍に向上したので報告する。

下垂体前葉の S100β 陽性細胞が発現する CD 抗原の解析

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

¹ 杏林大・保健、² 明治大・内分泌研、³ 明治大・院・農、⁴ 自治医大・医・解剖(組織)、⁵ 東邦大・理

下垂体前葉に存在する S100β タンパク質陽性細胞(S100β 陽性細胞)は、非ホルモン産生細胞の一つであり、幹細胞・貪食能・ホルモン産生細胞の支持など多岐にわたる機能が示唆されている。これまでラット前葉内 S100β 陽性細胞は、生後 10 日齢で Marginal cell layer (MCL)に観察され、そこから前葉全体に増殖・移動し、成体期の配置になると考えられていた。しかし、S100β 遺伝子プロモーター領域下に GFP 遺伝子を組み込んだトランスジェニックラット(S100β/GFP-TG ラット)を用いた我々の研究では、生後 5 日齢で MCL 以外の前葉主部に S100β 陽性細胞が存在し、それらも前葉全体へ増殖・移動することが明らかとなった。これまでの成体期下垂体前葉の S100β 陽性細胞とは発生起源の異なる細胞集団である可能性が示唆されたことから、成体期のヘテロな S100β 陽性細胞を識別し、単離できないかと考えた。細胞の識別・単離には、特定の細胞表面抗原(CD 抗原)とその抗体を利用する方法がある。そこで本研究では、成体期 S100β 陽性細胞に高い発現を示す CD 抗原を網羅的に解析した。方法として、S100β/GFP-TG ラットの生後 5 日齢と 60 日齢(成体期)の下垂体前葉からセルソーティングにより、GFP 陽性細胞群を分画し、RNA を抽出後、マイクロアレイ解析を行なった。その結果、CD9 を同定した。CD9 はテトラスパニンに属する膜タンパク質であり、インテグリンと複合体を形成し、種々のシグナル伝達に関与することが知られている。免疫組織化学により、CD9 陽性細胞は、幹細胞マーカー SOX2 に陽性であった。これは、幹細胞の性質を持つ S100β 陽性細胞が CD9 を発現していることを示唆している。今後は、抗体を利用して CD9 陽性細胞を分画し、その性質および機能、そして発生過程を解析する必要があると考えている。

下垂体前葉から単離した SOX2 陽性細胞塊の性質解析

○吉田 彩舟^{1,2,6}、百合野 秀朗³、小林 正明⁴、田村 祐介⁴、菅野 鉦⁴、矢野 健太郎^{4,5}、橋本 真一³、加藤 たか子^{1,2}、加藤 幸雄^{1,4,5}

¹ 明大・生殖内分泌研、² 明大・研究知財、³ 金沢大・医薬保健学総合研究科、⁴ 明大・農、⁵ 明大院・農、⁶ 学振研究員

成体下垂体においては、転写因子 SOX2 陽性の組織幹・前駆細胞が存在し、ホルモン産生細胞の供給に機能している。また、これまでに、下垂体の SOX2 陽性細胞には、S100β の発現有無によってサブタイプが存在することが報告されている。しかし、それら SOX2 陽性細胞のサブタイプ間の差異に関しては、未解明である。最近、我々は、タンパク質分解酵素による組織分散処理に抵抗性を示す細胞塊として、下垂体前葉から SOX2 陽性細胞塊を単離可能なこと、さらに、S100β の発現を GFP で可視化できる遺伝子組換えラットを用いることで、細胞塊を 3 種類のサブタイプ(GFP クラスタ、Mixed-GFP クラスタ、Null-GFP クラスタ)に分類できることを、本学術集会で報告している。そこで、本年度は、これら SOX2 陽性細胞塊の特性を、特に GFP クラスタと Null-GFP クラスタに焦点を当て、比較解析した。無血清三次元培養系で評価した結果、GFP クラスタのみが培養可能であり、また、GSK3β の inhibitor である BIO を添加した際に、ホルモン産生細胞への分化効率が上昇することを見出した。また、二次元培養系で評価した結果、Null-GFP クラスタと比較して、GFP クラスタは増殖性が高く、また、GFP クラスタのみが中胚葉系や内胚葉系細胞に特徴的なマーカーを発現する細胞へと形質転換することを見出した。現在、S100β の発現有無による性質的な差異について分子機序を解明するため、単離した GFP-cluster と Null-GFP-cluster を用いた網羅的遺伝子発現解析を実施しており、これらの結果を合わせて報告する。

クッシング症候群術前のグルココルチコイド受容体アンタゴニスト投与による術後の下垂体-副腎系への影響

○安田 敦、関 敏郎、北島 夏見、深川 雅史
東海大学腎内分泌代謝内科

【はじめに】クッシング症候群ではコルチゾール産生副腎腺腫による高コルチゾール血症により視床下部 CRH-下垂体 ACTH 系が抑制される結果、ACTH による刺激を受けないため非腫瘍部の正常副腎組織は萎縮し機能は低下する。それ故、本疾患に対し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。残存副腎機能の回復が遅れることも多く、恒久的な副腎皮質機能低下症となる場合もある。しかしながら、予めグルココルチコイド受容体アンタゴニストである mifepristone を投与することにより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しておくこと、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られる。その結果、残存副腎機能の早期の改善が可能となることが期待される。クッシング症候群モデルラットへ mifepristone を投与することにより術後残存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】オスの SD ラットを用いてコントロール群、デキサメタゾン投与群、デキサメタゾン+mifepristone 投与群、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、副腎重量を確認し検証する。【結果】mifepristone 投与は血圧の上昇を抑えるとともに、血漿 ACTH の上昇を認め、副腎重量の増加も認めた。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残存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。

Possible Role of Neurotensin and CRH in the Feedback Regulation by Estradiol: A Study Using Hypothalamic ARC and AVPV Cell Models

○Tuvshintugs Tumurbaatar, Haruhiko Kanasaki, Aki Oride, Tomomi Hara, Hiroe Okada, Satoru Kyo

Department of obstetrics and gynecology, Shimane university faculty of medicine

Recently established hypothalamic cell models, mHypoA-50 and mHypoA-55, possess markers for anteroventral periventricular (AVPV) kisspeptin neurons and arcuate nucleus (ARC) kisspeptin neurons, respectively. It was previously reported that Kiss-1 gene expression in mHypoA-50 cells was upregulated by 17 β -estradiol (E2), whereas it was downregulated by E2 under certain conditions in mHypoA-55 cells. Here, we report that stimulation of mHypoA-50 cells with neurotensin (NT) increased Kiss-1 mRNA expression, whereas NT significantly reduced Kiss-1 expression in mHypoA-55 cells. NT was expressed in both mHypoA-50 and mHypoA-55 cells and its expression was upregulated in the presence of E2 in both cell models. Corticotropin-releasing hormone (CRH) was also expressed in these cells and was also upregulated by E2. Interestingly, CRH stimulated Kiss-1 gene expression in mHypoA-50 cells, but it reduced Kiss-1 expression in mHypoA-55 cells. Moreover, we found that CRH stimulation resulted in the expression of the NT gene in both mHypoA-50 and mHypoA-55 cells.

Our observations using hypothalamic AVPV and ARC cell models suggest that NT and CRH have divergent effects on Kiss-1 gene expression under the influence of E2 in both hypothalamic regions. Thus, these neuropeptides might be involved in E2 feedback mechanisms.

各種ヒト下垂体腺腫組織に観察されるM2マクロファージの形態的特徴に関する研究

○矢田部 恵¹、藤原 研¹、屋代 隆¹、山田 正三²、永井 良三³

¹自治医科大学解剖学講座(組織学部門)、² 虎の門病院間脳下垂体外科、³ 自治医科大学

マクロファージには、M1 と M2 の二つのタイプがあることが知られている。古典的マクロファージである M1 (classically activated macrophages) は炎症の惹起や殺菌、M2 (alternatively activated macrophages) は腫瘍組織における血管形成、組織修復、免疫抑制などに関わることなどが論議されてきた。これまで我々は、正常ラット下垂体前葉における M2 マクロファージの同定に成功し、プロラクチノーマモデルラットの腫瘍組織ではその数が著しく増えることを報告してきた。本研究は、免疫組織化学的手法を用い、ヒト正常下垂体と下垂体腫瘍組織で M2 マクロファージの動態の観察を試みたものである。

虎の門病院間脳下垂体外科における手術症例(133 例)を観察対象とした。対照群には頭蓋咽頭腫の正常組織部位の組織を用いた。また、WHO(2004 年)によって腫瘍は分類した。パラホルムアルデヒド固定後凍結切片を作製、CD68 (pan-macrophage marker)、mannose receptor (MR)および CD163(M2 macrophage markers)の抗体で免疫組織化学を行った。さらに、一部は pre-embedding 法による免疫電顕観察も加えた。

対照組織、腫瘍組織ともに M1 と M2 が共存していたが、その多くは後者であった。M2 マクロファージは、やや小型で扁平・細長形であり、血管周囲腔をはじめとする間質に多く観察された。免疫電顕観察を行うと、ライソゾームおよび細胞膜近傍に特に小さな小胞を持つ微細構造上の特徴が明らかとなった。また、下垂体腺腫の種類と M2 マクロファージの数には関連が見られなかったが、結合組織が多い腺腫では M2 マクロファージの数が多い傾向が見られた。腫瘍微小環境と M2 マクロファージの動態との関連について観察を進めたい。さらに、ラットにおける M2 マクロファージの形態的特徴との比較も論議したいと考えている。

ラット下垂体前葉細胞に対する BMP-6 の作用

○藤原 研、Fujianti Casmad、屋代 隆
自治医科大学医学部解剖学講座(組織学部門)

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成長因子である。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。20 種類近くの BMP が同定されているが、そのうち BMP-2 と BMP-4 は胎生の下垂体前葉形成に関与し、BMP-6 は下垂体前葉細胞で FSH β の遺伝子発現を促進することが知られている。昨年の本学会で、我々はラット下垂体前葉で濾胞星状細胞が 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。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。実験系には、成熟 Wistar 雄ラットの下垂体前葉から細胞を単離した初代培養細胞を用いた。BMP の細胞内シグナル伝達経路の解析は、初代培養細胞に BMP-6 を添加し、BMP 受容体のシグナル分子であるリン酸化 Smad1/5/8 の核移行の有無を免疫細胞化学により検証した。また、BMP-6 応答遺伝子の同定は DNA マイクロアレイ解析を用いた。その結果、BMP-6 を処理した下垂体前葉初代培養細胞では、ほとんどの細胞でリン酸化 Smad が核内に局在していることが分かった。さらに、BMP-6 の濃度(0-1,000 ng/ml)および刺激時間(0.5, 1, 3, 6 h)を検討したところ、10 ng/ml 以上の濃度で、添加後 30 分でリン酸化 Smad の核移行を誘導した。また、BMP の I 型受容体選択的阻害剤である dorsomorphin および LDN193189 は、BMP-6 により誘導されるリン酸化 Smad の核移行を抑制した。さらに、DNA マイクロアレイを用いて BMP-6 刺激(100 ng/ml, 1 h)により発現が変動する遺伝子を解析し、現在 BMP-6 により発現が促進する遺伝子の同定を行っている。

ラトケ嚢胞に関連した下垂体機能不全の一例

○近藤 朱音^{1,2}、中奥 大地¹、村上 雅博¹、山崎 幹雄¹、森根 幹生¹、檜尾 健二¹、高橋千果²、和泉 俊一郎²、前田 和寿¹

¹四国子どもとおとなの医療センター 産婦人科、²東海大学医学部専門診療学系 産婦人科

[背景] ラトケ嚢胞は下垂体にできる嚢胞状の腫瘍だが無症候性のものが多く、偶然発見されることが多い。嚢胞が大きい場合には、頭痛、視野障害、尿崩症、汎下垂体機能不全を呈することもある。嚢胞摘出術後も下垂体機能不全、難聴を認め、発達遅延を伴い、治療困難となった症例について報告する。

[症例] 初診時: 生後 10 か月、女児。在胎 39 週、3300g にて出生。以降の発育に問題はなかった。微熱、食欲減退、体重増加不良のため近医を受診し入院。同院にて診断がつかず、筋緊張の低下が出現したため小児専門病院神経内科に入院した。精査の頭部 MRI にて下垂体前葉・後葉間に約 1 cm 大の嚢胞性病変(T1:Low、T2:High intensity)を指摘され、内分泌学的検査にて甲状腺機能低下、副腎機能低下を認めチラージン投与を開始したところ全身状態は改善し退院。その後体重の増加を待って 1 歳 6 か月に開頭腫瘍摘出術施行を行った。術中所見では下垂体茎に連続する下垂体前葉後方に淡黄色の嚢胞を認め、穿刺吸引し一部嚢胞壁を摘出した。しばらく順調に経過していたが、術後 4 か月の頭部 CT にて軽度 Midline Shift を伴うシルビウス裂嚢胞を認め再度嚢胞切除した。その後も経過中に嚢胞形成を認め 3 歳半にはシルビウス裂—腹膜シャントを留置した。術後の下垂体機能の改善はなかったものの機能の増悪はなかった。ただし、てんかん発作など水頭症に伴う症状が出現し、成長発達の遅延は続いており、現在もホルモン補充療法を継続している。

[考察] 無症候性のラトケ嚢胞は 10 人に 1 人が持っているとの報告もある。しかし不可逆的な変化後の手術では下垂体機能の改善は困難であること、症候性のラトケ嚢胞では長期的な治療を要することは経験から知られている。診断から予後の予想をすることも難しいとされており、特に症候性の経験については共有していく必要があると思われる。

泌乳期ウシにおけるニューロキニンB受容体作動薬が黄体形成ホルモンのパルス状分泌に及ぼす影響

○中村 翔¹、若林 嘉浩¹、山村 崇¹、大蔵 聡²、松山 秀一¹

¹農研機構畜産研究部門、²名古屋大学大学院生命農学研究科

性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)および、それに対応した下垂体前葉からの黄体形成ホルモン(LH)のパルス状分泌は卵胞発育に重要である。授乳中のウシでは、吸乳刺激によりGnRH/LHパルスは著しく抑制される。視床下部弓状核に局在するニューロキニンB(NKB)、ダイノルフィンおよびキスペプチンが共存するKNDyニューロンとよばれるニューロン群はGnRH/LHのパルス状分泌を制御する上で重要な役割を果たすと考えられており、これまで我々は、ウシにおいてニューロキニンB受容体(NK3R)作動薬であるsenktideの末梢投与がLH分泌を亢進することを報告してきた。本研究では、泌乳期ウシにおけるNKB-NK3R経路の活性化がLHのパルス状分泌を亢進するか、泌乳期のsenktide投与が性腺刺激ホルモン分泌に及ぼす影響を検討した。NK3R作動薬であるsenktide(30あるいは300 nmol/min)を分娩後7日の授乳中の母ウシ(n=15)へ、頸静脈経由で24時間持続投与しながら、投与開始前後4時間および投与終了前後4時間に10分間隔の連続採血を行い、ラジオイムノアッセイにより血漿中LHおよび卵胞刺激ホルモン(FSH)濃度を測定した。対照群のLHパルスは4時間に1回程度であったのに対し、senktide 30 nmol/min投与は4時間で2回程度へとLHのパルス頻度を上昇させた。また、senktide 300 nmol/min投与は始めの4時間では漸次的にLH/FSH分泌を亢進し、投与終了前4時間ではLHのパルス頻度を4時間あたり3回程度へと上昇させた。以上から、senktideは泌乳期のGnRH/LH抑制条件下においてもLHのパルス状分泌を亢進することが明らかとなり、吸乳刺激によるGnRH/LHパルスの抑制はNKB-NK3R経路の不活性化を介して生じるものと考えられた。

マウス視床下部神経細胞の突起形成へのプロスタグランジン D₂ の作用

○土屋 裕義¹、北條 寛典²、杉本 幸彦²、Ngamlertwong Nuttawadee¹、藤原 葉子¹、輿水 崇鏡¹

¹自治医大・医・分子薬理, ²熊大・院薬・生化

プロスタノイドはシクロオキシゲナーゼを律速酵素として産生される生理活性物質で、代表的なものとしてプロスタグランジン(PG)E₂、PGD₂、PGF₂α、PGI₂、トロンボキサン(TX)A₂の5種類が知られている。これらの物質は近年の研究から末梢組織に限らず中枢神経系でも多彩な作用を発揮し、発熱、睡眠、性行動など生理的、病態的に多岐にわたることがわかってきた。それぞれのプロスタノイドは細胞膜に存在する特異的な受容体に結合することでその作用を発揮し、PGE₂にはEP1, EP2, EP3, EP4の4種類、PGD₂にはDP1, CRTH2,の2種類、PGF₂αにはFP、PGI₂にはIP, TXA₂にはTPの各受容体サブタイプが同定されている。

これまでの研究からは、プロスタノイドの神経細胞の形態制御に関する作用と詳細なメカニズムについては明らかにされていない。今回我々は新規に樹立されたマウス視床下部神経細胞株 N37 において神経の分化成熟に対するプロスタノイドの作用について検討した結果、神経分化誘導刺激後に PGD₂ には神経突起を退縮させる性質があることを見出した。また下流のシグナル伝達の詳細な解析から、PGD₂ による神経突起退縮は DP1 や CRTH2 といった既知の特異的な受容体を介して起こるのではなく、PGD₂ から 15-deoxy-Δ^{12,14}-PGJ₂ へと代謝された後に生じた活性酸素によって誘導されることがわかった。

この結果は PGD₂ が神経細胞の分化成熟を制御することにより、成長期の視床下部の正常な神経回路構築に重要な役割を担っていることを示唆するだけでなく、神経傷害時の神経細胞の神経突起再生過程における複雑な調節機能に通じる知見と考えられる。

謝辞

第 32 回日本下垂体研究会学術集会の開催にあたり、ご寄付、広告掲載に協賛いただきました、各社様に感謝申し上げます。

アステラス製薬株式会社

家田化学薬品株式会社

エーザイ株式会社

大塚製薬株式会社

株式会社日立ハイテクノロジーズ

第一三共株式会社

中外製薬株式会社

東和科学株式会社

(五十音順)

本学術集会の一部は自治医科大学からの研究助成による