

解剖学

1 構成員

	平成20年3月31日現在
教授	1人
准教授	2人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助教（うち病院籍）	3人（0人）
助手（うち病院籍）	0人（0人）
特任教員（特任教授，特任准教授，特任助教を含む）	0人
医員	0人
研修医	0人
特別研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	6人（3人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	2人
その他（技術補佐員等）	1人
合 計	15人

2 教員の異動状況

- 佐藤 康二（教授）（H11. 4. 1～現職）
 大野 浩司（准教授）（H11.10. 1～19. 3.31 助教授；19. 4. 1～現職）
 片山 泰一（准教授）（H17. 4. 1～19. 3.31 助教授；19. 4. 1～現職）
 植木 孝俊（助教）（H18. 4. 1～19. 3.31 助手；19. 4. 1～現職）
 三河須美子（助教）（H14.10. 1～19. 3.31 助手；19. 4. 1～現職）
 古川 弘（助教）（H 4. 2.21～19. 3.31 助手；19. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成19年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	9編（0編）
そのインパクトファクターの合計	31.98
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	0編（0編）
そのインパクトファクターの合計	0
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1編（1編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0編（0編）

そのインパクトファクターの合計	0
-----------------	---

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Tamura N, Ohno K, Katayama T, Kanayama N, Sato K.: The PDZ-LIM protein CLP36 is required for actin stress fiber formation and focal adhesion assembly in BeWo cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 364:589-594, 2007
2. Yamagishi S*, Koyama Y*, Katayama T*, Taniguchi M, Hitomi J, Kato M, Aoki M, Itoyama Y, Kato S, Tohyama M. (* equal contribution) : An in vitro model for Lewy Body-like Hyaline Inclusion/Astrocytic Hyaline Inclusion: Induction by ER stress with an ALS-linked SOD1 Mutation. *PLoS One*, Oct 10:2 (10):e1030, 2007

インパクトファクターの小計 [5.86]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

1. Anitha A, Nakamura A, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Takei N, Iwata Y, Suzuki K, Sekine Y, Matsuzaki H, Kawai M, Miyoshi K, Katayama T, Matsuzaki S, Baba K, Honda A, Hattori T, Shimizu S, Kumamoto N, Tohyama M, Yoshikawa T, Mori N.: Gene and expression analyses reveal enhanced expression of pericentrin 2 (PCNT2) in bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, 63:678-685, 2008
2. Matsuzaki H, Minabe Y, Nakamura K, Suzuki K, Iwata Y, Sekine Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Suda S, Takei N, Nakahara D, Hashimoto K, Nairn A.C, Mori N, Sato K.: Disruption of Reelin signaling attenuates methamphetamine-induced hyperlocomotion. *Eur J Neurosci* 25: 3376-3384, 2007
3. Shimizu-Okabe C, Okabe A., Kilb W, Sato K, Luhmann HJ, Fukuda A.: Changes in the expression of cation-Cl⁻ cotransporters, NKCC1 and KCC2, during cortical malformation induced by neonatal freeze-lesion. *Neurosci Res* 59: 288-295, 2007

インパクトファクターの小計 [12.82]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Koyama Y, Matsuzaki S, Yamada K, Katayama T, Sato K, Kumada T, Fukuda A, Matsuda S, Gomi F, Tano Y, Tohyama M.: Involvement of ER stress via calcium homeostasis disturbance in A β accumulation in ARPE19 cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2008, in press
2. Yukioka F, Matsuzaki S, Kawamoto K, Koyama Y, Hitomi J, Katayama T, Tohyama M.: Presenilin-1 mutation activates the signaling pathway of caspase-4 in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Neurochem Int*, 52:683-687, 2008
3. Manabe T, Ohe K, Katayama T, Matsuzaki S, Yanagita T, Okuda H, Bando Y, Imaizumi K, Reeves R, Tohyama M, Mayeda A.: HMGA1a: Sequence-specific RNA-binding factor causing

sporadic Alzheimer's disease-linked exon skipping of Presenilin-2 pre-mRNA. Genes to Cells, 12:1179-1191, 2007

4. Matsuzaki S, Yasuda Y, Kobayashi S, Koyama Y, Kawamoto K, Katayama T, Tohyama M.: Monomeric Ab and metals reduce their cytotoxicities to each other. Biochem Biophys Res Commun, 358:540-544, 2007

インパクトファクターの小計 [13.30]

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 佐々木健, 葛谷雅文：プラーク破綻モデル
金芳堂，小動物の血栓症・動脈硬化モデル作成法，115-123（2007）

4 特許等の出願状況

	平成19年度
特許取得数（出願中含む）	0件

5 医学研究費取得状況

	平成19年度
(1) 文部科学省科学研究費	1件 (170万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	11件 (400万円)

(1) 文部科学省科学研究費

佐々木健（代表者）若手研究（B）ApoE欠損マウスを用いたプラーク破綻モデルのメカニズム
解明—炎症反応との関連性 170万円（新規）

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	1件
(3) 学会座長回数	0件	0件
(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	0件	4件
(6) 一般演題発表数	0件	

(2) 国内学会の開催・参加

- 1) 主催した学会名

2007年度 第9回ORIGIN神経科学研究会夏のワークショップ

担当校：浜松医科大学 解剖学講座

開催地：館山寺サゴロイヤルホテル

日 時：9月1日（土）～9月2日（日）

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

佐藤康二 日本解剖学会 評議員

佐藤康二 日本脳科学会 評議員

佐藤康二 日本神経化学会 評議員

片山泰一 日本神経化学会 評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー（reviewer）の回数と雑誌名（国）をお書きください。

合計12回 Neurochemistry International（Netherlands） 3回

Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism（USA）

Journal of Chemical Neuroanatomy（Netherlands）

Neuroscience Letters（Netherlands）

Neuroscience（UK）

Experimental Cell Research

Neuroscience Research

Brain Research 3回

9 共同研究の実施状況

	平成19年度
(1) 国際共同研究	1件
(2) 国内共同研究	5件
(3) 学内共同研究	7件

(1) 国際共同研究

1. Paul Fraser, Peter St.George-Hyslop（トロント大学） 新規 γ セクレターゼ構成タンパク質の探索

(2) 国内共同研究

1. 葛谷雅文（名古屋大学大学院医学系研究科） アテロームプラーク破綻のメカニズム解明
2. 成 憲武（名古屋大学医学部） 血管リモデリングにおけるMMPやCathepsinの関与
3. 中村香江（名古屋大学大学院医学系研究科） アテロームプラーク破綻に対する各種薬剤の影響とそのメカニズム

4. 松崎伸介（大阪大学医学部） 統合失調症発症関連遺伝子の探索と機能解析
5. 平井宏和（群馬大学大学院医学系研究科） 神経変性疾患に関する研究

(3) 学内共同研究

1. 森 則夫（精神神経医学） 自閉症・統合失調症の成因に関する研究
2. 福田敦夫（第一生理学） クロライド輸送系に関する研究
3. 梅村和夫（薬理学） 線溶系蛋白の虚血時発現動態に関する研究
4. 金山尚裕（産婦人科学） 胎盤の嗅覚受容体に関する研究
5. 長野 昭（整形外科学） 末梢神経損傷に関する研究
6. 鈴木 亨（感染症学講座） 腸管寄生虫感染に対する宿主応答のメカニズム
7. 岩田泰秀（精神神経医学） 統合失調症に関する研究

10 産学共同研究

	平成19年度
産学共同研究	1件

1. 株式会社ツムラ 神経系領域における漢方方剤「抑肝散」の作用機序探索
(小胞体ストレス応答に対する「抑肝散」の効果)

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. アクチン細胞骨格の形成におけるCLP36の役割

CLP36はアクチン結合蛋白であるアクチニンに対する結合能をもつアダプター蛋白である。CLP36の機能は長い間不明であったが、我々は絨毛癌由来のBeWo細胞，線維芽細胞における内因性CLP36の発現を抑制し，ストレスファイバー（SF）形成に不可欠な因子であることを明らかにした。SF形成はRhoシグナルによって制御されているが，我々はさらにCLP36はRhoシグナルの伝達には直接関与しておらず，ミオシンの活性化に引き続くアクトミオシン構造の形成において重要な役割を担っていることがわかってきた。

2. 統合失調症ならびに双極性うつ病に関連した脆弱遺伝子に関与する分子の機能解析

- (1) 統合失調症の疾患遺伝子として発見されたDISC1と相互作用するタンパク質群を検索し ZincFinger部位を持つ新規蛋白DBZを同定し，その発現解析を行った。脳におけるDBZの発現パターンが，精神疾患との関わりが注目されているPACAP受容体PAC1の局在と一致することが示された。また，PACAP刺激によりDISC1の発現が上昇し，DISC1/DBZ結合が減弱すること，両者の結合を増強するとPACAP刺激による突起伸展が阻害されることを明らかにした。この論文の特色は統合失調症の最も脆弱な遺伝子のひとつとして見つかった分子DISC1と相互作用するタンパク質群を検索することによって，機能未知の新規蛋白を得，その働きを明らかにした点であり，さらに，統合失調症に関わる可能性が指摘されているPACAP刺激によるシグナル伝達に関わる可能性を示した点が意義深いと考えられる。

(2) 統合失調症の疾患遺伝子として発見されたDISC1と相互作用するタンパク質群を検索し見つかった中心体局在蛋白質pericentrin (PCNT2) 遺伝子の遺伝子多型を検討した。その結果、PCNT2 遺伝子変異は、統合失調症より、むしろ双極性うつ病との関連が強く示唆されることが明らかとなった。

3. アルツハイマー病の発症機構に関する研究

(1) 孤発性アルツハイマー病の危険因子としてApoEの遺伝子多型ApoE4が知られていたが、このたびLDL受容体の一つSORL1遺伝子の多型が新たな危険因子として見つかった。SORL1遺伝子のSNPは民族、人種を超えて起きており、イントロン領域に生じることが多い。このSNPを持つ人では通常のSORL1の持つ細胞膜-エンドソーム小胞のリサイクリングパスウェイへの移動が減少し、その結果、 $A\beta$ 産生を受けやすくなる細胞表面への移動割合が上昇し、 $A\beta$ が産生されやすくなることを明らかにした。この研究は、アミノ酸変異のない遺伝子変異でも細胞の機能に影響を及ぼすことを示しており、孤発性アルツハイマー病において病気が発症するメカニズムを解き明かす可能性を示唆した。

(2) 孤発性アルツハイマー病患者脳で観察されるプレセニリン2 (PS2) のスプライシング変種 (PS2V) 産生メカニズムについて探索した。すなわち、既に同定されているPS2V産生原因蛋白質HMGA1aがPS2Vエクソン5の5' 末端に配列特異的に結合し、PS2の正常なスプライシングを阻害していることを明らかにした。更に、おとり分子を用いて、この配列特異的結合を阻害すると、PS2Vの産生が減少したことから、このようなおとり分子によってPS2V産生を減らし、細胞脆弱性を回避できることを明らかにし、治療への可能性を示唆した。

(3) アルツハイマー病原因物質として知られる $A\beta$ は、銅、鉄、亜鉛など重金属類と非常に結合しやすい事が知られていた。また、一方で、 $A\beta$ も重金属類も過剰に蓄積されると毒性を発揮することもよく知られた事実であった。本実験では、 $A\beta$ 量と重金属類の量を変化させ、細胞毒性の程度を観察したところ、ベルシェイプ型の用量依存曲線を描いた。すなわち、 $A\beta$ と重金属類との量的バランスが保たれている時には、これら細胞毒性は、出現しないが、どちらか一方の量が過剰になると再び細胞毒性を発揮し始めることを示した。

(4) 家族性アルツハイマー病原因遺伝子プレセニリン1 (PS1) 変異体を発現する細胞は、小胞体ストレス状態に曝すと、小胞体ストレス特異的に誘導されるアポトーシス実行分子カスパー4を介した細胞死カスケードを強く誘導して、野生型PS1発現細胞に比べて、細胞死を引き起こしやすくしていることを明らかにした。

(5) 家族性筋萎縮性側索硬化症 (fALS) の原因遺伝子の一つとして知られるSOD1変異体を発現させた神経芽細胞腫SK-N-SH細胞を構築し、この細胞に小胞体ストレス負荷を加えると、fALS患者運動神経に見られるような細胞内封入体を形成することを生化学的、形態学的に明らかにした。さらに、細胞内小器官の分画、電子顕微鏡を用いた検討によって、この異常な封入体は小胞体

由来である事を明らかにした。

4. 加齢黄斑変性発症の分子メカニズムの探索

網膜色素上皮由来細胞ARPE19細胞が小胞体ストレス状態を引き起こすthapsigargin (Tg), tunicamycin (Tm) 刺激によってA β を産生しやすいAPPの発現が上昇するが、小胞体ストレス以外の刺激、例えばstaurosporin (STS) では、このような現象は見られなかった。また、TgによってA β が産生されやすくなる機構に関わる小胞体ストレスは、カルシウムホメオスタシスのかく乱に関わる小胞体ストレスが深く関わることを明らかにした。すなわち、ARPE細胞にTg刺激を行うと小胞体ストレス特異的に切断を受ける細胞死実行分子caspase-4の切断断片が、Tmに比べて増加すること、Caイメージングにおける観察でも、TgがTmに比べて大きくCa濃度が変化することなどから、Caホメオスタシスがかく乱されるような小胞体ストレス刺激はA β 産生を増加させ、加齢黄斑変性における細胞死メカニズムに関わっている可能性を明らかにした。

5. neuroblastに発現するconnexin-43制御分子の新規クローニングと、その機能の解明

ラット胎仔脳よりcDNAライブラリーを調製し、yeast two-hybrid systemを用いて、ラットconnexin-43 (以下Cx43と略、gap junctionの構成タンパク質) と結合する新規蛋白質をクローニングした。当該蛋白質は、Rab39bと結合するTBCドメイン、Cx43と結合するSH3ドメイン、そして機能の特定されていないRUNドメインを有することが明らかとなった。本蛋白質は、胎生期の脳皮質発生においてneuroblastがradial glia上を移動する際に2つの細胞を結合することに重要な役割を果たすと思われる、現在本蛋白質がCx43の機能を制御する分子機構を解析中である。

6. MALDI-TOF MS イメージング法による脳内物質の同定

近年、MALDI-TOF MS法(マトリックス支援レーザー脱離イオン化法による質量分析法)は、生体試料をそのままイメージング解析およびプロテオーム解析ができるシステムとして実用化されるに至っている。この方法を用いて、成体ラット脳の任意の領域における分子量20~2,500 m/zまでの物質の測定を行った。解析の結果、特に多く存在していたのがグリセロリン脂質のPC(ホスファチジルコリン)であり、脂肪酸組成の違う3種類のPC(PC32:0, PC34:1, PC36:1)について、それぞれのイメージング画像を作製した。

7. 実験動物モデルを用いたアテロームプラーク破綻のメカニズム解明とその応用

アテロームプラークの破綻に対する汎用性の高い実験動物モデルはあまり知られていなかったが、我々はApo E欠損マウスにおいてプラーク破綻を誘起する簡便なモデル手技を発見、報告した。また、本モデルのプラーク破綻は有効なヒト疾患モデルになり得ることが示唆されている。現在、本モデルのプラーク破綻メカニズム解明を推進しつつあり、この中で炎症性細胞やそれら由来のプロテアーゼがプラーク破綻に対して関与することを示唆する結果が得られている。将来的には、本研究で得られた知見をヒトプラーク破綻のメカニズム解明にフィードバックさせたいと考えている。その一方で、我々は本モデルの応用研究として、各種薬剤のプラーク破綻抑制効果の検証を本モデルを用いて行っており、いくつかの薬剤においてその破綻抑制効果を確認し、

その研究成果を発表中である。

(佐々木健)

8. 粥状動脈硬化巣石灰化メカニズムの解明

高度に進行した動脈硬化病変においては顕著な石灰化が認められ、特に冠動脈石灰化は心筋梗塞の増悪因子とされているが、その石灰化のメカニズムや根本的な治療法はよく分かっていない。我々は動脈硬化症モデル動物のApoE欠損マウスの病変部に、軟骨細胞様の細胞の出現とその石灰化を確認する一方、ApoE/MMP-2 両遺伝子欠損マウスではその石灰化が低頻度であるという知見を得て、動脈硬化巣石灰化にはMMP-2 が関与していることを示唆した。さらにその石灰化には、MMP-2 を産生・分泌する血管平滑筋細胞が関与していることを示唆する結果も得た。また、in vitro の平滑筋細胞石灰化誘導系においても、in vivoの結果と同様に、平滑筋細胞の石灰化に対するMMP-2 の関与を示唆する結果を得ている。現在、本研究の最終的な実験と、それらのまとめを行っているところである。

(佐々木健)

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

我々の研究室より報告したプラーク破綻動物モデルは、その作成手技に関する原稿執筆の依頼があるなど、反響を呼んでいる。これは今までになかったモデルであり、またその手技が比較的簡便であるという点が大きいと思われる。この新技術は、今後血管生物学、とりわけ動脈硬化症とそれに引き続く心血管イベント発症やその予防、薬剤開発などに関する研究に対し、大きく貢献することが予想される。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

我々の講座より発表されたプラーク破綻動物モデルの利用により、アテロームプラーク破綻のメカニズム解明のみならず、各種薬剤や健康成分等のプラーク破綻に対する抑制効果の検証が大きく前進すると考えられ、応用性の高いものであることも予想される。また、現在当講座において、本モデルにおけるプラーク破綻のメカニズム解明に関する研究や、本モデルを利用した各種薬剤のプラーク破綻抑制効果の検証などを進行、発表しつつある。

15 新聞、雑誌等による報道

「オルメサルタンは好中球を解してアテロームプラーク破綻を抑制」 日経メディカルオンライン 2007年11月30日