

still not well understood how neuronal cell diversity is generated in the brain region. Intriguingly, in the developing chick hypothalamus, Shh and BMPs are expressed in a spatially overlapping, but temporally consecutive, manner. Here we show that the temporal integration of BMP signalling leads to the late acquisition of Pax7 expression in posterior hypothalamic progenitor cells. Our studies reveal a requirement for a dual action of BMPs: first, the inhibition of GliA function through Gli3 upregulation; and second, activation of a Smad5-dependent BMP pathway. Previous studies have shown a requirement for spatial antagonism of Shh and BMPs in early CNS patterning; here, we propose that neural pattern elaboration can be achieved through a versatile temporal antagonism between Shh and BMPs.

P2-34.

海馬神経細胞の産生は **BMP** シグナルによって制御される

(大学：組織・神経解剖学分野)

○柏木 太一、石 龍徳

(昭和大学 医学部 第一解剖学講座)

塩田 清二

海馬はアンモン角と歯状回から構成され、アンモン角には錐体細胞が、歯状回には顆粒細胞が層をなしている。アストロサイトのマーカーである GFAP プロモーター下で GFP を発現する GFAP-GFP トランスジェニックマウス (GFAP-GFP マウス) を用いた我々のこれまでの研究で、胎生期の海馬には GFAP を発現する特徴的な神経幹・前駆細胞が限局して存在し、この GFAP 発現細胞は歯状回に向かって移動しつつ顆粒細胞を生み出すことを見出した。さらに、GFAP 発現細胞の産生には発生期海馬に豊富に存在する BMP が重要な働きをしていることを見出した。アンモン角 (特に CA3) の錐体細胞層と歯状回の顆粒細胞層は近接していることからこの領域には錐体細胞と顆粒細胞の運命決定に何らかの機構が存在すると推測される。そこで、本研究は顆粒細胞の前駆細胞の産生に寄与している BMP シグナルに着目し、BMP シグナルの制御が錐体細胞と顆粒細胞間の運命決定に関与しているのではないかと推測し、検討を行った。

まず、ドミナントネガティブ型 BMP 受容体を胎仔 GFAP-GFP マウスの海馬原基に強制発現させると GFAP 発現細胞および顆粒細胞の産生が抑制された。この結果は BMP シグナルが顆粒細胞へと分化する神経幹・前駆細胞の産生に寄与していることが示唆している。BMP は細胞外因子であるため、海馬内に拡散して存在していると考えられる。しかしながら、錐体細胞層と顆粒細胞層は明確に分かれているため、錐体細胞に分化する細胞において BMP シグナルの阻害因子の存在を想定した。実際に発生期の錐体細胞層では歯状回と比較して BMP シグナル阻害因子の高い発現が認められた。以上の結果から、神経幹・前駆細胞が錐体細胞か顆粒細胞のどちらに分化するかの選択に BMP シグナルの制御が寄与していると推察された。

P2-35.

酸化ストレスによる **TRPM7** 抑制機構の解明

(大学：細胞生理学)

○井上 華、小西 真人

TRPM7 チャンネルはその分子内に Mg^{2+} および Ca^{2+} を透過するイオンチャネルドメインとキナーゼドメインをもつことが知られ、全身の細胞に普遍的に発現している。これまでに、脳虚血時に TRPM7 が活性酸素によって活性化され、細胞内 Ca^{2+} オーロードを引き起こし、神経細胞死の誘導に寄与することが示唆されている。しかしながら、TRPM7 の酸化ストレスによる活性化メカニズムについてはよく分かっていない。そこで本研究では、活性酸素による TRPM7 の制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。まず TRPM7 wild type (wt) をマウス cDNA を用いてクローニングし、HEK293 細胞に過剰発現した。チャンネル活性を測定するために、ホールセルパッチクランプ法を用いた。予想に反して、TRPM7-wt を過剰発現細胞に過酸化水素を投与すると、TRPM7 電流は抑制された。過酸化水素による抑制は不可逆的であり、濃度依存的 ($IC_{50} = 16 \mu M$) であった。また、過酸化水素による抑制は細胞内 Mg^{2+} に依存しており、細胞内 Mg^{2+} を除去すると、抑制は見られなくなった。興味深いことに、細胞内 ATP が正常濃度存在すると、細胞内 Mg^{2+} 濃度が高い場合であっても酸化ストレスによる TRPM7 電流

の抑制は見られなくなった。これらのことから、酸化ストレスによる TRPM7 の抑制は、細胞内 Mg^{2+} が高く ATP が枯渇しているような状況、すなわち、虚血が長期間持続するような場合に起こることが示唆された。TRPM7 のキナーゼ活性を欠損した変異体 (TRPM7-K1645R) でも、TRPM7-wt と同様な結果が示されたため、TRPM7 の酸化ストレスによる抑制にはキナーゼ活性は関与しないことが明らかとなった。

P2-36.

シナプス前終末でのミオシン IIB と VI の小胞輸送

(医学部医学科 5 年)

○林田 迪剛

(細胞生理学講座)

谷藤 章太、持田 澄子

中枢神経系シナプス後細胞での神経伝達物質受容体を含む小胞輸送は、シナプス後膜への輸送にミオシン V が、シナプス後膜から細胞質への取り込みにはミオシン VI がモーター蛋白質として機能する。我々は、シナプス前終末でミオシン II が活動電位発生による伝達物質放出を制御することを示し (Mochida, et al., Neuron 1994)、シナプス前終末に IIB が、細胞体に V が特異的に発現することを報告した (Takagishi et al., J. Physiol. 2005)。

今回、siRNA を導入してミオシン IIA、IIB、VI の発現を抑制したシナプス前終末からの伝達物質放出を解析した。① 0.1 Hz と 0.25 Hz の活動電位発火させたところ、VI-siRNA 導入では、同程度のシナプス電位の減少が観察された。IIB-siRNA 導入では、0.1 Hz と 0.25 Hz の活動電位発火に応じて、IIA-またはコントロール-siRNA 導入よりもシナプス電位減少の速度が速まった。これらの結果は、シナプス小胞放出部位への小胞再供給に IIB と VI が機能するが、シナプス小胞の使用頻度が高い時に、IIB が機能することを示唆する。② 活動電位 2 発火させると、2 発目の活動電位に応じたシナプス電位が VI-siRNA 導入で減少したが、IIB-siRNA 導入では変化しなかった。③ 高頻度活動電位を 2 秒間発火させると、IIB-、VI-siRNA 導入で、シナプス電位減少速度が加速された。④ シナプス小胞開口

放出部位のシナプス小胞を枯渇させた後に、シナプス小胞が補充される速度を解析したところ、IIB-siRNA 導入では、速いシナプス小胞補充速度が遅延し、VI-siRNA 導入では、遅いシナプス小胞補充速度が遅延した。

以上の結果より、ミオシン IIB が活動電位発火頻度に応じて、シナプス小胞をシナプス小胞放出部位に輸送するモーター分子として機能し、ミオシン VI が活動電位発火頻度に関係なく小胞再供給に機能することを示唆する。

P2-37.

セラミックを用いた人工股関節の利点と欠点

(社会人大学院博士課程 2 年整形外科学教室)

○堀江 真司

(東京医科大学整形外科学教室)

高橋 康仁、有田 正典、中島 大介

立岩 俊之、正岡 利紀、宍戸 孝明

山本 謙吾

【目的】 1970 年代、優れた耐摩耗性を期待し、アルミナセラミックス (Alumina) を用いた人工股関節全置換術 (THA) の臨床応用が開始された。材料特性およびコンポーネントデザインの改良により、近年では良好な術後成績が報告されるようになってきている。しかし、未だ術後のインプラント破損や摺動面の軋み音を来す症例も散見されるのが現状であり、非セラミックス (Metal, Polyethylene) 製人工関節と比較して、優れた臨床成績が得られるか否かは報告により結論が異なるのが現状である。本研究は、Alumina、Metal (CoCr, Ti 合金)、Polyethylene THA を対象とした文献の比較調査により、Alumina THA の利点と欠点について検証することを目的としている。

【方法】 PubMed を用いて文献を検索し、1996 年から 2011 年にかけて報告された Alumina THA と非セラミックス THA の術後成績結果を比較検討した。(結果) Alumina THA と非セラミックス THA では再置換術を end point とした 10 生存率は Alumina-on-Alumina (AoA) で 99%、Alumina/Metal-On-Polyethylene (AoP/MoP) で 95.6%、Metal-On-Metal (MoM) では 95.4% と報告され、材質間での有意差は認めなかった。再置換要因についても、脱臼は