

---

## 医学フォーラム

---

### <部門紹介>

## 大学院医学研究科 細胞分子機能病理学

病理学教室 細胞分子機能病理学部門

Department of Pathology and Cell Regulation

### はじめに

1995年4月に高松哲郎教授が先代の藤田哲也名誉教授の後任として第二病理学教室を主宰して以来、私どもの教室は、今年で16年目を迎えました。2003年の大学院重点化による再編成で、名称を細胞分子機能病理学に変更し、大学院医学研究科では病態解析・制御医学分野の一部門として、医学部では病理学教室の一部門として、研究・教育・病理業務に携わっています。2010年9月現在の構成員は、高松哲郎教授、田中秀央講師、戴平講師、原田義規学内講師、足達哲也助教のスタッフ5名と、中央研究室（医学研究法システム学）の山岡禎久助教、病理学専攻の姜艶大学院生、臨床科からの大学院生10名（小児循環器・腎臓病学2名、消化器外科学4名、心臓血管外科学1名、移植・再生外科学2名、皮膚科学1名）、学外研修員5名、秘書2名の計24名です。以下に、私どもが携っている研究、教育、病理業務についてご紹介します。

### 研 究

近年、病気の原因となる遺伝子・蛋白の異常が、驚異的な勢いで見出されるようになりました。しかしながら、生体の構成要素を分析するという分割的・還元的アプローチによって集積された知見が、実際の生体においてどのように病態の形成に繋がるかについては、まだ殆ど明らかにされていません。病気の理（ことわり）を明らかにするためには、細胞や分子のふるまい（動態・機能）を、実際に生きた組織・臓器

や生体というシステムのレベルで統合的に理解することが必要です。私どもは、従来の固定標本を用いた組織形態学的解析に留まらず、細胞内外の情報シグナル伝達を司る機能分子の動態を、細胞から組織、臓器、生体に亘る様々なレベルの場で可視化するという分子イメージング技術を開発し、これらを「生きたまま」の細胞や組織・臓器に適用することを研究手法の中心におき、様々な疾患の病因や病態の統合的解明に努めています。これまでに、以下のような研究に取り組んできました。

#### 1. 心筋機能シグナルの可視化による心臓病理の統合的解析

独自に開発した *in situ* 高速共焦点レーザー顕微鏡を用いて、心臓の病態、とくに不整脈の発生機構の解明に取り組んでいます。わが国の共焦点レーザー顕微鏡開発の先駆者的存在である高松教授が、世界に先駆けて心筋細胞のカルシウムイオン（以下  $Ca^{2+}$ ）の空間的な濃度変化をマイクロンのレベルで可視化することに成功し（*FASEB J* 1990）、その後 *in situ* リアルタイム共焦点レーザー顕微鏡の開発により、それまでアプローチできなかった心臓の  $Ca^{2+}$  動態を細胞レベルで可視化することに成功しました（*Cell Signal* 1998）。以来、田中講師が中心となり、生きた心臓を用いて心筋の高時間・空間解像度の  $Ca^{2+}$  蛍光動態画像を解析することにより、不整脈や心筋障害の機序解明に努めています。 $Ca^{2+}$  は心臓の興奮と収縮の要となる細胞内シグナルです。虚血などの心筋障害で収縮・拡張機能が低下した状態では、心筋の  $Ca^{2+}$  の調節機構が損

なわれ、その結果  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が細胞内・細胞間で不均一に増減することが判りました (*Circ Res* 2000). とくに  $\text{Ca}^{2+}$  波 (高  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の領域が自発性に心筋細胞内を伝播する現象) が高頻度に発生すると、心臓内で自発性の興奮 (不整脈) が生じることを、心筋の電位と  $\text{Ca}^{2+}$  動態に伴う蛍光変化の同時可視化により明らかにし、 $\text{Ca}^{2+}$  波が不整脈の発生に重要であることを明らかにしました (*Circ Res* 2008). 現在、本手法を用いて、 $\text{Ca}^{2+}$  や膜電位のほか、コネキシン (後述)、間質細胞、細胞外マトリックスなどの様々な不整脈基質を統合的に可視化することにより、心房細動や刺激伝導系の興奮伝導異常の発生機構解明に取り組んでいます.

## 2. ギャップ結合蛋白コネキシンの病態解析

多細胞から構成されている臓器は、個々の細胞がギャップ結合 (以下 GJ) を介して細胞・細胞間を情報伝達 (コミュニケーション) し、機能的合胞体を形成しています. これまでに私どもは、(1) 梗塞心における心筋の GJ 蛋白コネキシン 43 (以下 Cx43) に発現・分布異常が起こること (*Circ Res* 1999), (2) Cx43 が心筋の同期性収縮に必須であること (*Exp Cell Res* 2002), (3) 心筋組織内での Cx43 の不均一な発現が、旋回 (リエントリー) 性の不整脈を惹起すること (*Cardiovasc Res* 2008) を明らかにしました. また末梢神経損傷後の血液-神経関門の回復 (*Exp Cell Res* 2003), 内耳におけるグルコースの細胞間輸送 (*Cell Commun Adhes* 2006), 角膜内皮細胞の修復 (*Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008) の何れにおいても Cx43 が重要な役割を演じていることが判りました. 現在、Cx43 による心筋細胞・非心筋細胞間のコミュニケーションが心臓にどのように興奮伝導異常をもたらすかを、梗塞心や培養心筋組織を用いて解明に努めています.

## 3. 細胞内シグナル分子としての Cx43 の役割の解明

細胞間コミュニケーションを担うコネキシンは、細胞膜の介在板に GJ として存在するばかりではなく、細胞質内にも存在しています. 戴講師は、GJ を形成しない細胞内のコネキシン

(non-junctional Cx43) に注目し、その意義解明に取り組んでいます. これまでに Cx43 が、TGF- $\beta$  シグナル系に影響をもたらすこと (*Mol Biol Cell* 2007) や、線維芽細胞の形質転換と増殖に重要であること (*Exp Cell Res* 2009) を明らかにしました. さらに Cx43 が、細胞の増殖・分化や様々な疾患の形成に関わっている可能性につき解明に努めています.

## 4. 非線形光学現象を利用した細胞機能分子の制御

病因の候補として同定された蛋白質の意義解明には、アンチセンス DNA や RNAi による細胞の機能阻害や遺伝子改変動物によって検証されます. しかし、こうした実験系では、病因となる生体内の蛋白機能の変化が遅いため、いつ、どこで、どの程度変化すると、疾患が形成されるかについては、必ずしも明らかにはできません. 2005 年、田邊卓爾大学院生 (当時) が中心となり、細胞膜に発現している Cx43 や核内の染色体パッセンジャー蛋白である aurora B や borealin を緑色蛍光蛋白質 (GFP) で標識し、超短パルス ( $10^{-15}$  秒) の多光子レーザーを照射することにより、サブミクロンオーダーの領域に存在するこれらの蛋白質の機能を不活性化すること (多光子 CALI) に成功しました (*Nature Methods* 2005). 本研究法は、細胞内の微細な蛋白質を選択的に制御できる可能性を示唆するものであり、新たな生体分子の動態・機能解析法として多くの研究者に利用されています.

## 5. 蛍光・光学技術を用いた癌の早期検出

上記のような蛍光イメージング法が人体に應用できれば、革命的な診断的手段にもなりえます. 原田学内講師らは、腫瘍細胞に長く残留する蛍光プローブを投与することにより、癌のリンパ節転移を蛍光標識し可視化することに成功しました (*Int J Cancer* 2009). 本研究は、本学消化器外科との共同で取り組んでおり、現在、臨床応用を検証中です. しかし動物実験とは異なり、ヒトの体内の細胞・組織に蛍光プローブを導入することは、決して容易ではありません. 原田学内講師らは、無標識で蛍光的にイメージングする技術開発にも取り組んでいます. ラッ

トの大腸に発生させた腫瘍組織の自家蛍光の特異的な成分を抽出し画像を作成することによって、2mmの大きさの腫瘍を明確に検出できることが判りました。

## 6. ラマン散乱光を用いた無染色蛍光イメージング

単色光をある分子に照射すると、照射した光と異なる分子特有の散乱光（ラマン散乱光）が発生します。原田学内講師らは、ラマン顕微鏡を構築し、生細胞のラマン散乱光を利用したイメージングにより、細胞内の薬物分布を可視化することにも成功しました (*Histochem Cell Biol* 2009)。さらにラマン散乱光のスペクトルから、心筋の特異成分を検出することにより、梗塞心における心筋と線維化組織の無染色イメージングにも成功しました (*Biochem Biophys Res Commun* 2009)。現在もラマン散乱光を用いた無標識イメージングの生体組織診断法確立を目指して様々な試みがなされています。

## 7. 近赤外パルスレーザを利用した光音響イメージング技術の開発

医療の現場で用いられているMRI、CT、超音波は生体の深部を描出できますが、その空間分解能は決して高いものではありません。一方、光学顕微鏡のような光を使った生体イメージングでは、高い空間分解能の画像が得られますが、生体の深部を見ることができないという欠点があります。山岡助教らは、光の持つ空間分解能と、音波の生体内長距離伝播特性を生かした新しい生体イメージング技術の開発を行っています。

以上のように、私どもの教室は、これまでに多くの研究成果を挙げてきました。これらの研究成果が評価され、高松教授は、2007年の日本病理学会で「バイオフィotonicsを用いた心臓病理学」と題して宿題報告を行い、日本病理学会を受賞しました。さらに2008年には、組織細胞化学の分野での多大な功績に対し、国際組織細胞化学連合からPiet van Duijn賞が授与されました。高松教授は、これまでに細胞生物学会シンポジウム、レーザ顕微鏡研究会、バイオイメーjing学会、日本組織細胞化学会を主催す

るなど、学会活動も活発に行っています。2012年8月には、“*Beyond the Limit of Histochemistry*”をテーマに第14回国際組織細胞化学会議 (ICH2012) を国立京都国際会館で開催することになりました。世界二十数カ国から600人規模の参加が見込まれ、現在2年後の開催に向け準備に取り組んでいます。

## 教 育

私どもは、基礎病理学の教育を担当しており、医学科3学年の学生（4月～10月）を対象に、病理学総論・各論の系統講義と組織実習を、分子病態病理学部門との分担で行っています。教室のスタッフのほか、客員講師として、細川洋平先生（近江八幡総合医療センター部長）、南川哲寛先生（第二岡本総合病院部長）、三宅敏彦先生（社会保険神戸中央病院部長）にも講義していただいております。病理学のスタンダードな教科書であるBasic Pathology (Robbins) や Pathologic Basis of Disease (Robbins and Cotran) の内容を基本に、学生に病理学の面白さを伝えるために、「なぜ病気はおこるのか」という問題を提示しながら、より新たな知見を可能な限り取り入れて講義しています。さらに、外来講師による特別講義や、私どもの研究成果を紹介することにより、学生のリサーチマインドの涵養にも努めています。また、総合講義として細胞生物学を担当し、血管生物学ならびに医用工学をも分担しています。4学年を対象とした臨床病理セミナー（1～2月）では、分子病態病理学部門、人体病理学部門との分担で、病理解剖症例の検討の指導にあたり、剖検材料から得られた形態的な異常が、臨床所見にどのように結びつくかを主体的に学習させるように努めています。また4学年の研究配属（6～7月）の学生には、私どもが取り組んでいる様々な研究テーマから、学生の希望に添った研究に参加させ、また病理解剖症例を用いた臨床病理学的指導も行っています。こうした取り組みは、学生自身が病理学や研究がどういうものかを感じ取り、将来医師や医学研究者として生きていく上で必要な姿勢や考え方を育むための重要な機会

す。大学院生には、個々の研究テーマを通して、自ら問題点を発見・解決する能力を身につけさせ、研究が遂行されるよう指導しています。研究指導を通して、将来の研究者や指導者を育成することも、私どもの重大な任務です。

### 病理解剖

病理学教室の重要な業務の1つに病理解剖があります。治療の甲斐なく不幸にもお亡くなりになった患者様に対し、解剖資格を有する病理医が解剖を行います。生前明らかにされなかった病態や死因の解明にあたり、また診断・治療の妥当性をも評価します。私どもの教室では、毎週火曜日と木曜日の解剖を担当し、土曜日・祝日を人体病理学部門、分子病態病理学部門との3部門で分担しています。解剖後には、剖検材料を形態学的解析し、臨床科と剖検検討会を開催することにより、臨床へのフィードバック

を行っています。また本学附属病院の研修医に対する教育を目的として、全学的CPCを病理学教室3部門の持ち回りで年2回行っています。画像診断や先進医療が進む現在でも、病理解剖は、医学・医療の質の向上に必要な医療行為です。

### 終わりに

以上のように私どもは、病理学研究や病理解剖から得た情報を、世界の学術領域や医療の現場に発信・フィードバックするとともに、卒前・卒後の病理教育を通して、臨床医や研究者を育成することを使命としています。今後も、病気を「光で捉え、制御する」ことにより解明するという基本姿勢を崩すことなく、インパクトの高い研究活動を展開し、教育・医療へも貢献が出来るよう努力していきたいと考えています。

(文責：田中秀央)

