

## 31. iPS 細胞の血管内皮細胞分化過程における脂質変化の解析と疾患モデル作成への試み

<sup>1)</sup> 内科学 (呼吸器・アレルギー), <sup>2)</sup> 生化学講座  
中村祐介<sup>1)</sup>, 清水泰生<sup>1)</sup>, 堀端康博<sup>2)</sup>, 内田信彦<sup>1)</sup>,  
丁 倫奈<sup>1)</sup>, 小池亮祐<sup>1)</sup>, 正和明哲<sup>1)</sup>, 渡邊泰治<sup>1)</sup>,  
塩原太一<sup>1)</sup>, 新井 良<sup>1)</sup>, 知花和行<sup>1)</sup>, 武政聡浩<sup>1)</sup>,  
杉本博之<sup>2)</sup>, 石井芳樹<sup>1)</sup>

【背景】呼吸器・循環器疾患において血管障害が病態に重要な役割を担うことが報告され, plasmalogen や sphingomyeline (SM) などのリン脂質も病態形成に関わることが報告されている. iPS 細胞由来血管内皮細胞の臨床応用が期待されている.

【目的】iPS 細胞から血管内皮細胞へ分化誘導過程での脂質変化を明らかにする. 脂質, 血管内皮を軸とした呼吸器疾患の病態解析モデルを作成する.

【方法】iPS 細胞から血管内皮細胞に分化誘導させ, その過程における脂質構成を LC-MS/MS にて解析した. 血管内皮細胞と肺線維芽細胞を共培養し血管内皮ネットワーク形成モデルを作成した. 共培養モデルに対して, 血管内皮を分離させ脂質を測定した.

【結果】iPS 細胞から血管内皮細胞へ分化誘導を行った. 分化誘導過程で plasmalogen phosphatidylethanolamine (pPE), plasmalogen phosphatidylcholine (pPC), SM を測定した. 分化誘導過程で特に pPE (38:5), pPE (38:4) の優位な増加が認められた. pPC も同様に分化誘導過程で上昇した脂質を認めた. SM は分化誘導過程で一過性に低下し, その後改善した. ネットワーク形成モデルを作成し, 血管内皮細胞を分離させ上記脂質を解析した.

【考察】plasmalogen の増加と SM の一過性低下は血管内皮細胞の分化や成熟の指標となり得る. plasmalogen の不足は正常な脈管形成を障害するという報告もあり, iPS 細胞由来血管内皮細胞の臨床応用を考えた際に plasmalogen を評価することは有用である. 共培養モデルは脂質, 血管内皮を軸とした, 呼吸器疾患の病態解析モデルに応用できると考えられた.

【結論】pPE (38:5) 並びに pPE (38:4) の上昇や SM の一過性の低下は血管内皮分化や成熟の指標となり得ることを明らかにした. 血管内皮, 肺線維芽細胞から病態解析に応用可能な共培養モデルを作成した.

## 32. 脊髄後角表層ニューロンの GABA<sub>A</sub> 受容体機能に対する末梢神経損傷の影響

<sup>1)</sup> 麻酔科学, <sup>2)</sup> 生理学 (生体情報)  
安島崇晃<sup>1)</sup>, 加藤永子<sup>2)</sup>, 福島央之<sup>2)</sup>,  
山口重樹<sup>1)</sup>, 濱口眞輔<sup>1)</sup>, 堀 雄一<sup>2)</sup>

【背景】神経障害性疼痛の発症機序として, 脊髄後角内の GABA 作動性抑制性シナプス伝達の減弱による脱抑制が考えられている. 今回, 神経障害性疼痛マウスを用いて, 脊髄後角表層内の GABA 受容体の機能変化について研究を行った.

【方法】生後 7-8 週齢の雄性 ICR マウスの坐骨神経を Seltzer 法に準じて半結紮 7 日後に摘出した脊髄のスライス標本を作製し, 脊髄後角表層の分布するニューロンからのホールセル記録を行った. 記録下のニューロンの近傍に置いたガラス管ピペットから GABA を圧投与し, 誘発される膜電流を記録した. また, 後根流入部位に加えた電気刺激で誘発されるシナプス後電流も記録した. 次いで, ホールセル記録終了後に単一細胞の real-time PCR を行い, GAD67 および VGluT2 の発現を検討することによって, ニューロンを GABA 作動性抑制性とグルタミン酸作動性興奮性に分類した. さらに, GABA<sub>A</sub> 受容体  $\alpha 1$ ,  $\alpha 5$  および  $\delta$  サブユニットの発現についても PCR による検討を行った.

【結果】ニューロンの電気刺激によって誘発された GABA<sub>A</sub> 受容体を介するシナプス後電流の立ち上がりに関する時定数  $\tau$  を検討した結果, 坐骨神経結紮マウス群における  $\tau_{slow}$  ( $142 \pm 7.2$  msec) は Sham マウス群の  $\tau_{slow}$  ( $117 \pm 8.9$  msec) に比して有意に長かった ( $t$  検定,  $p < 0.05$ ). 一方, 坐骨神経結紮マウス群の  $\tau_{fast}$  ( $24.9 \pm 1.7$  msec) と Sham マウス群の  $\tau_{fast}$  ( $24.2 \pm 2.2$  msec) 間に有意差はみられなかった ( $p = 0.81$ ). また, GABA<sub>A</sub> 受容体  $\alpha 1$  サブユニットの発現は坐骨神経結紮によって有意に減少した ( $p < 0.05$ ).

【結論】神経障害性疼痛の発症には, 脊髄後角表層に分布する抑制性ニューロンに対する GABA 作動性の抑制性入力 (脱抑制) が関与している可能性が示唆された.