

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07246

研究課題名(和文) 精母細胞減数分裂前期に残存する核小体の微細構造と機能の電顕的・分子解剖学的解析

研究課題名(英文) Structure and function of spermatocyte nucleolus in the meiotic prophase;
electron microscopic and molecular anatomical analysis

研究代表者

小路 武彦 (Koji, Takehiko)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：30170179

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではDNAメチル化が精子形成細胞の核小体に与える影響を解析した。その結果、rRNA転写が抑制されている円形精子細胞では核小体のDNAが強くメチル化されていることが明らかになった。さらにDNAメチル化抑制剤 5-aza-2'-deoxycytidine (5-azadC) を投与したマウスでは、精母細胞の核小体 nucleolin 陽性スポットが増加する傾向にあった。以上の結果は、精子形成細胞では分化に伴って核小体DNAはメチル化されrRNAの転写が抑制されることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

核小体は核膜周囲と連なるヘテロクロマチンに囲まれ、クロマチン凝集の起点として、また染色体領域を決める核内極性の基軸として働く可能性が指摘されているが、その形成過程の詳細は不明である。本研究では精子形成過程における核小体の不活化がDNAメチル化によって誘導されることを明らかにした。人為的rRNA転写制御は、核小体形成過程の解明や、がん悪性度の指標となる核小体数の増加機序の解明に寄与すると期待される。

研究成果の概要(英文)：The nucleoli of spermatocytes are very unique and partially maintained during prophase of meiosis, while that of round spermatid is conspicuous but without rRNA localization. For better understanding of structure and function of the nucleoli, we conducted molecular histochemical analyses of the expression of rRNA in normal and DNA methylation inhibitor, 5-aza-2'-deoxycytidine (5-azadC) treated adult mouse testes. As a result, the transcription activity of rRNA in the nucleoli of round spermatids was suppressed because of high level of methylation of rDNA, in consistent with no nucleolin spots. The decrease in the level of DNA methylation by 5-azadC increased the number of nucleoli as well as nucleolin spots in spermatocytes. These results indicate that the states of spermatogenic cell nucleoli are regulated epigenetically by DNA methylation level of rDNA, which is progressively increased during mouse spermatogenesis.

研究分野：解剖学

キーワード：マウス 精巣 DNAメチル化 5-aza-2'-deoxycytidine 核小体 精祖細胞 精母細胞 セルトリ細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

哺乳類精子形成過程に於いては、生殖幹細胞である精祖細胞から精母細胞、そして精子細胞へと連続的に増殖・分化するが、その過程は減数分裂を経て最終的に精子核に至る規則的なヘテロクロマチン化の過程であり、エピゲノム因子の関与が予想される。我々は、CCGG 配列等の DNA メチル化レベルを検討する HELMET 法(Koji et al(2008) *Histochem Cell Biol*, 130:917)を用いて、精子形成細胞の分化段階依存的な変化と共にアポトーシス細胞での顕著な脱メチル化を世界で初めて報告した。更に、転写調節と密接な関係が知られるヒストン H3 のメチル化及びアセチル化に関しても分化段階で大きく変化し(Song et al(2011) *Acta Histochem Cytochem*, 44:183)、それらの人為操作で精子形成細胞アポトーシスが生じることも見出した(Dai et al(2015) *Histochem Cell Biol*, 143:209; Song et al(2016) *Toxicol*, 361-362:62)。即ち、エピゲノム調節の異常により生殖細胞死が誘導されることが明らかとなった。一方、核小体はリボソームの組み立て工場のみならず c-myc や mdm2 が局在するなどその多機能が注目されており、特に核小体ストレス即ち機能不全により構成タンパクの核小体からの遊離が生じ、アポトーシス誘導機構を担う p53 等のユビキチン化を起こすなどその発現を制御する。また精母細胞の減数分裂前期には長期間核小体が維持されるが、rRNA の動態に関し 18S rRNA よりも 28S rRNA が圧倒的に多いなど間期核小体との差異も認められている。マウス核小体は 11, 12, 15, 16, 18, 19 番染色体末端にある rDNA クラスターの集合体であり、核膜周囲と連なるヘテロクロマチンに囲まれ、クロマチン凝集の起点として、また染色体領域を決める核内極性の基軸として働く可能性が指摘されている。減数分裂時には、マウスでは X 染色体にリンクした Pgk-1 から 17 番染色体の Pgk-2 に発現が切り替えられる。この染色体間で同時的に起こる転写転換には何らかの空間的な接点が予想され、クロマチン局所でのエピゲノム因子によるヘテロクロマチン化制御機構の関与が示唆される。

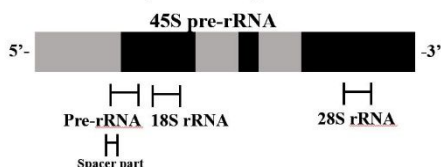
2. 研究の目的

本研究では、正常成熟マウス精巣に於いて、精子形成細胞の核小体に於ける rDNA クラスターや rRNA の局在、DNA のメチル化状態、nucleolin の発現を電顕的・分子解剖学に解析する。また、エピゲノム調節の破綻モデルとして、DNA メチル化を抑制する 5-azadC 投与マウスを作製し、DNA メチル化抑制が誘導する精子形成細胞核小体の変化を解析する。さらに、精子形成細胞での分化過程に於ける Pgk-1、Pgk-2 遺伝子位置の変化を分子組織細胞化学的に解析し、減数分裂過程での Pgk-1 から -2 発現切替が、異なるクロマチン間の近接に関与する可能性を解析する。以上により、「エピゲノム調節の破綻が核小体の形態的異常及び機能不全を引き起こし、高頻度で起こる精母細胞死の引き金となっているのではないか」という仮説の基礎的データを得ることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

試料として、8-10 週齢 ICR マウスの正常マウス精巣、または、リン酸緩衝液 (PBS) または 5-azadC (0.25 mg/kg/日) を 24 時間毎に 10 日間腹腔内投与し、11 日目に安楽死させたマウス精巣を 4% パラホルムアルデヒド/PBS で一晩、室温で浸漬固定して調整したパラフィンブロックを用いた。一部は電子顕微鏡用試料として親水性の LR-White 樹脂に包埋した。蛍光免疫組織化学については、5 μm 厚のパラフィン薄切標本を親水化し、1% ウシ血清アルブミン/PBS でブロックした後、抗 5'-メチル化シトシン抗体 (5-mC, Cell signaling, 1:100) または抗 5'-ヒドロキシメチル化シトシン抗体 (5-hmC, Cell Signaling, 1:100) で一晩、室温でインキュベートした。二次抗体として Alexa fluor 488 または 546 標識抗体を用いて蛍光免疫組織化学を行った。DAPI で核染色後、蛍光シグナルを超解像顕微鏡 (Elyra, Zeiss) を用いて解析した。免疫組織化学については、horseradish peroxidase 標識二次抗体を用い、3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB) /H₂O₂/Ni/Co で発色した。In situ ハイブリダイゼーションについては、プローブとして、図 1 に示すように、18S rRNA、28S rRNA、Spacer part の配列に加え、pre-rRNA として、スプライス領域と 18S rRNA 領域にまたがる配列を標的とし、チミン二量体或いはジゴキシゲニンで標識したオリゴ DNA を用いた。マウス精巣パラフィン切片を親水化し、塩酸 (0.2 規定、室温、20 分) 及びプロテイナー K (25 μg/ml、37、15 分) で処理、パラホルムアルデヒド/PBS で後固定 (室温、5 分) し、グリシン (2 mg/ml) を用いて中和後、ホルムアミド (40%) /saline sodium citrate (SSC, 4X) 溶液中で、室温でプレハイブリダイゼーションした。ハイブリダイゼーション溶液は Tris/HCl (0.01 M)、NaCl (0.6

図1 Probes for the detection of various pre-rRNA parts

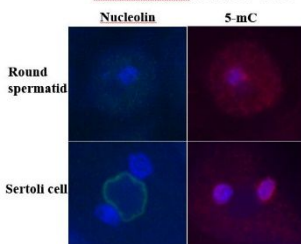


用い、3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB) /H₂O₂/Ni/Co で発色した。In situ ハイブリダイゼーションについては、プローブとして、図 1 に示すように、18S rRNA、28S rRNA、Spacer part の配列に加え、pre-rRNA として、スプライス領域と 18S rRNA 領域にまたがる配列を標的とし、チミン二量体或いはジゴキシゲニンで標識したオリゴ DNA を用いた。マウス精巣パラフィン切片を親水化し、塩酸 (0.2 規定、室温、20 分) 及びプロテイナー K (25 μg/ml、37、15 分) で処理、パラホルムアルデヒド/PBS で後固定 (室温、5 分) し、グリシン (2 mg/ml) を用いて中和後、ホルムアミド (40%) /saline sodium citrate (SSC, 4X) 溶液中で、室温でプレハイブリダイゼーションした。ハイブリダイゼーション溶液は Tris/HCl (0.01 M)、NaCl (0.6

M), EDTA (1 mM), Denhardt 's 溶液 (1x), 酵母 rRNA (250 mg/ml), サケ精子 DNA (125 µg/ml), 硫酸デキストラン (10%), ホルムアミド(40%)を用い、プローブ濃度はプローブ 2 µg/ml とし、37 °Cで一晩インキュベートした。洗浄後、蛍光標識二次抗体を反応させ、DAPI で核染色したのちに超解像顕微鏡 (Eryla, Zeiss) で観察した。電顕 in situ hybridization については、超薄切片作製後、定法に従って前処理したが、形態保持のためにホルムアミドの代わりにヌクレオチド混液を用いて雑種形成させた後、10 nm 及び 15 nm の金コロイド標識抗体を用いて視覚化した。In situ PCR については、マウス精巣パラフィン切片を前処理後、28S rDNA、mPgk-1 及び mPgk-2 プライマーを用いた In situ PCR で digoxigenin または biotin を取り込ませた後 (OmniSlide, HYBAID) 蛍光標識抗 biotin 抗体、digoxigenin 抗体を反応させ、DAPI で核染色を行った後に超解像顕微鏡 (Eryla, Zeiss) で観察した。

4. 研究成果

図2 Immunohistochemistry of nucleolin and 5-mC

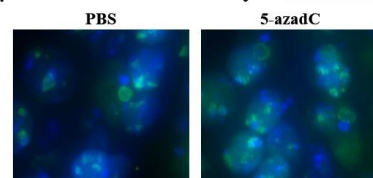


rRNA 転写に關与する Nucleolin の免疫染色を用いて精子形成細胞に於ける陽性スポットを指標に観察したところ、精祖細胞の核小体は概ね 2、精母細胞では 4-6 個が核内に散在したが、円形精子細胞に於いては、核中心部の DAPI 強染部位は nucleolin 陰性であった (図 2)。5-mC 免疫染色では、精祖細胞や精母細胞核は弱陽性であったが、円形精子細胞では DAPI 陽性部位と一致して強陽性部位が観察された (図 2)。対照として、精巣内のセルトリ細胞核小体の satellite domain を観察した。セルトリ細胞は分裂能を有しない体細胞であり、かつ DNA は 5-ヒドロキシメチル化シトシンが優位な細胞である。その核小体は、rRNA 転写が活発な central domain が 1 つ、その両脇に転写が抑制された satellite

domain が 2 つ存在する。セルトリ細胞の satellite domain は円形精子細胞の核小体同様、nucleolin 陰性、5-mC 強陽性を示した (図 2)。すなわち rRNA の転写が抑制されている円形精子細胞の核小体やセルトリ細胞の satellite domain の DNA は強くメチル化されていることが明らかになった。

そこで、DNA メチル化が核小体の形成や rRNA の転写活性に与える影響を解析するため、DNA メチル化抑制剤 5-azadC をマウス腹腔内に投与し、抗 nucleolin 抗体及び抗 5mC 抗体を用いて免疫染色を行い、超解像顕微鏡にて観察した。以前我々は 5-azadC 投与が精祖細胞並びに精母細胞のアポトーシスを誘導することを報告したが、5-azadC 投与

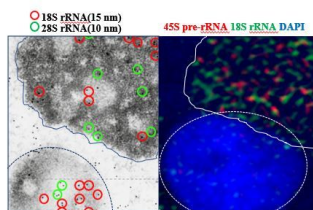
図3 Immunohistochemistry of nucleolin



マウスでは、精母細胞に於いて nucleolin スポット数が増加する傾向にあった (図 3)。しかしながら、精祖細胞や円形精子細胞核小体の大きさや数に変化はみられなかった。

以上の結果は、人為的 DNA メチル化減少が精母細胞の核小体形成と rRNA 転写を促進することを示した。

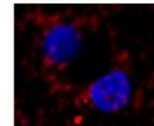
図4 Localization of rRNAs in Sertoli cells



次に、セルトリ細胞の satellite domain の機能を検討するため、pre-rRNA、18S rRNA、28S rRNA の局在を in situ ハイブリダイゼーションを用いて同定し、電顕並びに超解像顕微鏡観察を行った。その結果、central domain (図 4、実線)のみならず satellite domain (図 4、破線)にも rRNA の局在が認められた。すなわち、satellite domain に rDNA クラスターは局在するものの rRNA 転写は抑制されること、そして central domain で転写され、スプライスされた rRNA が satellite domain へ移行することが示された。

また、5-azadC 投与マウスモデルでクロマチンの分布パターンの変化を検討するため、X 染色体の Pgk-1 と 17 番染色体の Pgk-2 遺伝子局在パターンについても in situ PCR 法で検討したが、クラスターを形成する rDNA (図 5)と異なり、single locus 検出に於いてはバックグラウンドを完全には排除できず、今後はより配列認識性の高い Crispr システム等の導入を検討する必要がある。

図5 Localization of 28S rDNA in Sertoli cells



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Murayama N, Miyaki T, Okuzaki D, Shibata Y, Koji T, Inoue A, Aoki J, Hayashi H, Tanaka Y, Murota H	4. 巻 -
2. 論文標題 Transcriptome proiling of anhidrotic eccrine sweat glands reveals that Olfactory receptors on eccrine sweat glands regulate perspiration in a ligand-dependent manner,	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JID Innov	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xjidi.2023.100196	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Obata Y, Abe K, Miyazaki M, Koji T, Tabata Y, Nishino T	4. 巻 24
2. 論文標題 The transfer of the Hepatocyte Growth Factor gene by macrophages ameliorates the progression of peritoneal fibrosis in mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 6951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24086951	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Torigoe M, Obata Y, Inoue H, Torigoe K, Kinoshita A, Koji T, Mukae H, Nishino T	4. 巻 27
2. 論文標題 Hydroxychloroquine suppresses anti-GBM nephritis via inhibition of JNK/p38 MAPK signaling.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol	6. 最初と最後の頁 110-121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-022-02285-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hattori N, Nakagawa T, Yoneda M, Hayashida H, Nakagawa K, Yamamoto K, Myo Win Htun, Shibata Y, Koji T, Ito T	4. 巻 172
2. 論文標題 Compounds in cigarette smoke induce EGR1 expression via the AHR, resulting in apoptosis and COPD.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Biochem	6. 最初と最後の頁 365-376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvac077	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Choi Jookhuu N, Shibata Y, Ishizuka T, Xu Y, Koji T, Hishikawa Y	4. 巻 55
2. 論文標題 An advanced detection system for in situ hybridization using a fluorescence resonance energy transfer-based molecular beacon probes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Histochem Cytochem	6. 最初と最後の頁 119-128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1267/ahc.22-00075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hishikawa Y, Takizawa T, Koji T	4. 巻 157
2. 論文標題 In focus in HCB: new histochemical insights into mammalian gametogenesis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Histochem Cell Biol	6. 最初と最後の頁 269-271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00418-022-02083-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inoue H, Torigoe K, Torigoe M, Muta K, Obata Y, Suzuki T, Suzuki C, Abe T, Koji T, Mukae H, Nishino T	4. 巻 55
2. 論文標題 Mitochondic acid-5 ameliorates chlorhexidine gluconate-induced peritoneal fibrosis in mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol	6. 最初と最後の頁 27-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00305-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito S, Kasahara N, Kitamura K, Matsunaga S, Mizoguchi T, Htun MW, Shibata Y, Abe S, Takano M, Yamaguchi A.	4. 巻 24
2. 論文標題 Pathological differences in the bone healing processes between tooth extraction socket and femoral fracture	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone Rep	6. 最初と最後の頁 101522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bonr.2022.101522	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Myo Win Htun, Shibata Y, Kyaw Soe, Koji T	4. 巻 54
2. 論文標題 Nuclear expression of Pygo2 correlates with poorly differentiated state involving c-Myc, PCNA and Bcl9 in Myanmar hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Histochem Cytochem	6. 最初と最後の頁 195-206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1267/ahc.21-00090	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shiba S, Ikeda K, Horie-Inoue K, Azuma K, Hasegawa T, Amizuka N, Tanaka T, Takeiwa T, Shibata Y, Koji T, Inoue S	4. 巻 41
2. 論文標題 Vitamin K-dependent γ -glutamyl carboxylase in Sertoli cells is essential for male fertility in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Cell Biol	6. 最初と最後の頁 e00404-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MCB.00404-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Muta K, Nakazawa Y, Obata Y, Inoue H, Torigoe K, Nakazawa M, Abe K, Furusu A, Miyazaki M, Yamamoto K, Koji T, Nishino T	4. 巻 41
2. 論文標題 An inhibitor of Kruppel-like factor 5 suppresses peritoneal fibrosis in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Perit Dial Int	6. 最初と最後の頁 394-403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0896860820981322	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koji T, Shibata Y	4. 巻 154
2. 論文標題 Global changes in epigenomes during mouse spermatogenesis: possible relation to germ cell apoptosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histochem Cell Biol	6. 最初と最後の頁 123-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00418-020-01900-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Torigoe K, Obata Y, Torigoe M, Oka S, Yamamoto K, Koji T, Ueda H, Mukae H, Nishino T	4. 巻 24
2. 論文標題 Hexapeptide derived from prothymosin alpha attenuates cisplatin-induced acute kidney injury.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Exp Nephrol	6. 最初と最後の頁 411-419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-019-01843-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 柴田恭明、Myo Win Htun、小路武彦
2. 発表標題 Myanmar人肝細胞がんにおけるWnt/ β -catenin補助因子Pygo2と c - Mycの相関発現。
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柴田恭明、Myo Win Htun、小路武彦
2. 発表標題 ミャンマー人肝細胞がんにおけるWnt/ β -cateninシグナル補助因子と c-Mycの発現相関。
3. 学会等名 第54回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小路武彦
2. 発表標題 生命規範の新たな展望：エピゲノムによる分化制御と人為操作。
3. 学会等名 第54回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴田恭明、Myo Win Htun、小路武彦
2. 発表標題 Myanmar人肝細胞がんにおけるPygo2 高発現とBcl9, c-Myc, PCNAの相関発現。
3. 学会等名 第63回日本組織細胞化学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Koji T
2. 発表標題 Differentiation-dependent changes in epigenetic factors in mouse spermatogenesis and their possible relations to germ cell apoptosis (HCB Lecture) .
3. 学会等名 16th International Congress on Histochemistry and Cytochemistry (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴田恭明、Myo Win Htun、小路武彦
2. 発表標題 ミャンマー人肝細胞がん分化型低下に伴うPygo2及びc-Mycの相関的な発現上昇。
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小路武彦
2. 発表標題 顕微解析対象としての生命科学の根本規範：ゲノムからエピゲノムへ。
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第64回シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Myo Win Htun, Shibata Y, Koji T
2. 発表標題 Nuclear expression of Pygo2 and Bcl9 complex correlates that of c-Myc and PCNA in Myanmar hepatocellular carcinoma.
3. 学会等名 第53回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菱川善隆、Choijookhuu N、石塚匠、柴田恭明、小路武彦
2. 発表標題 蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した in situ hybridization の実際。
3. 学会等名 第62回日本組織細胞化学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田恭明、小路武彦
2. 発表標題 In situ PCR を用いたマウス雄性生殖細胞に於ける Pgc-1、-2 遺伝子の inter-chromosomal interaction 解析。
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上大、小畑陽子、鈴木健弘、鳥越未来、鳥越健太、鈴木千登世、阿部高明、小路武彦、西野友哉
2. 発表標題 Mitochondic Acid 5(MA-5) は CG 誘発性マウス腹膜線維化を抑制する。
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鳥越未来、小畑陽子、井上大、鳥越健太、木下晃、小路武彦、西野友哉
2. 発表標題 ヒドロキシクロロキンは抗GBM抗体腎炎の進展を抑制する。
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Inoue H, Obata Y, Suzuki T, Torigoe M, Torigoe K, Muta K, Suzuki C, Abe T, Koji T, Nishino T
2. 発表標題 Mitochondic acid 5 alleviates chlorhexidine gluconate-induced peritoneal fibrosis in mice.
3. 学会等名 ASN KIDNEY WEEK 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Inoue H, Obata Y, Suzuki T, Torigoe M, Torigoe K, Suzuki C, Abe T, Koji T, Nishino T
2. 発表標題 Mitochondic acid 5(MA-5) ameliorates Cg-induced peritoneal fibrosis in mice.
3. 学会等名 57th ERA-EDTA Congress
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Torigoe M, Obata Y, Inoue H, Torigoe K, Kinoshita A, Koji T, Nishino T
2. 発表標題 Hydroxychloroquine prevents anti-GBM glomerulonephritis in rats.
3. 学会等名 57th ERA-EDTA Congress
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Myo Win Htun, Myat Thu Soe, Shibata Y, Abe K, Koji T
2. 発表標題 The two Bcl9 antibodies that recognize different epitopes immunohistochemically characterize juvenile development of HCC in Myanmar.
3. 学会等名 第61回日本組織細胞化学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小路武彦
2. 発表標題 分子組織細胞化学の開拓と展開。
3. 学会等名 第61回日本組織細胞化学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柴田恭明、Myo Win Htun、小路武彦
2. 発表標題 DES依存性マウス下垂体ゴナドトロフからPRL細胞への分化転換にはヒストンH3K9の脱アセチル化が関与する。
3. 学会等名 第52回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柴田恭明、Myo Win Htun、小路武彦
2. 発表標題 2つのBcl9抗体を用いたミャンマー国肝細胞がんの分別的免疫組織化学：若年性肝細胞がんにおける細胞内Bcl9発現の低下。
3. 学会等名 第62回日本顕微鏡学会九州支部集会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Myo Win Htun, Shibata Y, Koji T
2. 発表標題 Localization of c-Myc, CD163 and NF- B positive macrophages in the iron overload rat liver after partial hepatectomy.
3. 学会等名 第62回日本顕微鏡学会九州支部集会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本弦、柴田恭明、小路武彦
2. 発表標題 超解像顕微鏡による細胞内タンパク質凝集体の形態解析。
3. 学会等名 第62回日本顕微鏡学会九州支部集会・学術講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 菱川善隆、柴田恭明、小路武彦	4. 発行年 2022年
2. 出版社 学祭企画	5. 総ページ数 258
3. 書名 組織細胞化学 (2022)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	柴田 恭明 (SHIBATA Yasuaki) (80253673)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授 (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	末松 貴史 (SUEMATSU Takashi) (70264249)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・技術職員 (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関