

特別講演 1

Contributions of histochemistry to the
neuroendocrinology of obesity and body weight
regulation

Denis G. Baskin, Ph.D.

Professor of Medicine,
Division of Metabolism, Endocrinology, and Nutrition,
University of Washington and VA Medical Center,
Seattle, WA, U.S.A.

The hormones, insulin and leptin, circulate in concentrations that are proportional to adipose tissue mass, and are thus considered to be "adiposity signals" to the brain. Both peptides inform the brain of the size of adipose tissue stores and they both have anorexic effects in the CNS, causing decreased food consumption and increased energy metabolism. Histochemical methods have identified specific brain neurons and pathways that are involved in the anorexic actions of insulin and leptin in the CNS. Binding sites for insulin and leptin have been localized to neurons in the hypothalamus by autoradiography. Immunocytochemistry and *in situ* hybridization have shown that insulin and leptin interact with specific hypothalamic arcuate nucleus neurons that control food intake and energy homeostasis. Acting on hypothalamic neurons, they stimulate synthesis of α MSH, which inhibits food intake, and they inhibit synthesis of NPY and AgRP, which stimulate food intake. Immunohistochemical techniques in combination with neuronal tract-tracing methods indicate that the downstream brain pathways activated by insulin and leptin include the lateral hypothalamus, the paraventricular nucleus, and the caudal brainstem. Immunocytochemistry of Fos protein has identified specific hypothalamic and brainstem neurons that integrate insulin and leptin signaling with satiety signals from the intestines, resulting in consumption of less food. Recent studies are emphasizing the immunohistochemical detection of the activation of specific signal transduction pathways in brain neurons that mediate the actions of insulin and leptin, such as the JAK-STAT3 and phosphatidylinositol 3-kinase pathways.

特別講演 2

光学顕微鏡による生体機能の計測と制御技術

高松 哲郎

京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞分子機能病理学

80年代後半に登場して以来、共焦点レーザー走査顕微鏡は、医学・生物学にとどまらずあらゆるライフサイエンス分野の研究になくてはならないものとなった。その最大の特徴は、焦点面における従来の光学顕微鏡を越える分解能と光軸方向の分解能を持つことである。現在、薄片の作成なしに細胞や組織の光学的切片像を観察できる道具として、固定された試料だけでなく、生きた細胞や臓器にも応用されている。ここでは生体に近い組織や臓器レベルで機能分子を解析できる *in situ* イメージングや非線形光学を用いた光ナノサージェリーなど、新しい光学顕微鏡技術の組織化学への応用について述べる。

in situ イメージングによる機能分子の動態解析

共焦点顕微鏡で得られた蛍光は、一定の厚さの光学的切片に由来するため、蛍光強度は濃度を直接反映する。例えば、血管を通してカルシウム蛍光プローブを臓器に灌流すれば、臓器まるごとの標識ができ、細胞内カルシウムイオン濃度の空間的変化を捉えることができる。細胞内局所の微細なカルシウムの挙動が、組織あるいは臓器の中でインテグレートされ生体の機能に関わることを、心臓のプルキンエ細胞や心筋梗塞巣周辺での動態を *in situ* イメージングで解析した例を用いて論じる。

非線形光学顕微鏡の組織化学への応用

レーザーテクノロジーの進歩によって、光学顕微鏡の高機能化が著しくすすめられている。なかでもフェムト秒パルスレーザーの進歩は、共焦点顕微鏡をも凌駕できる可能性を我々に与えてくれる。つまり、多光子顕微鏡、Second Harmonic Generation (SHG) 顕微鏡、Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) 顕微鏡、近接場顕微鏡などである。これらの技術を用いると、機能分子を無染色で観察したり、ナノレベルで計測したりできるだけでなく、分子が持つ機能を制御することも可能になる。ここでは、これらの非線形光学顕微鏡の特長を利用した観察例を示すとともに、周囲を傷害することなく微細な領域に存在する目的の分子だけを選択的に機能阻害する例を紹介する。