

日本解剖学会

第100回関東支部学術集会

会期：平成24年10月13日（土）

会場：東邦大学医学部第3講義室

01 生殖細胞特異マーカー分子 TEX101 の発現と細胞生物学的解析

吉武洋¹⁾・荒木慶彦²⁾・瀧澤俊広¹⁾
1)日本医科大学大学院分子解剖学
2)順天堂大学大学院環境医学研究所

精子は性成熟期に、精巣精細管内において幹細胞から高度な形態変化とともに減数分裂という極めて特殊な過程を経て生成される。従って、その形成過程においては体細胞にはみられないユニークな分子機構が存在すると考えられる。これまで我々は精子形成過程における詳細な分子機構を解明する目的で研究を行ってきたが、その研究過程において生殖細胞マーカー糖タンパク質 TEX101 を発見した。

本分子は胎生期では前精原細胞と卵原細胞の双方に発現するが、卵原細胞では出生後急速に消失し、成熟卵細胞では検出できない。一方精原細胞では、減数分裂開始と連動してその発現は消失し、精母細胞以降の分化した精細胞に再び明瞭に検出される。また精子形態形成以後、精巣上体通過に伴い精子から消失し、受精の場である雌性生殖管内では精子頭部には検出されない。

この分子はシステインリッチドメインを有する、Ly-6/uPAR (LU)-ファミリーに属するグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカー型タンパク質である。精細胞形成上では同じ LU-ファミリー分子の一つである Ly6k、及び精巣特異的 GPI アンカー型タンパク質である Dipeptidase 3 と共役していることが明らかになった。これまで精子表面には様々な GPI アンカー型タンパク質が同定されているが、分子性状分析・発現様式の検討及び細胞生物学的解析等の結果、本分子は生殖過程において必須の GPI アンカー型タンパク質であることが示唆された。

02 非癩痕性子宮修復再生における形態学的追跡

吉井明日香¹⁾、北原秀治¹⁾、上田祐司²⁾、松野健二郎²⁾、江崎太一¹⁾
東京女子医科大学解剖学・発生生物学教室¹⁾
獨協医科大学解剖学（マクロ）講座²⁾

内膜の脱落と再生を繰り返す子宮の驚異的な再生力、非癩痕性治癒力は、特有の現象として挙げられる。今回我々は、独自に作製した分娩後子宮再生モデルマウスを用い、特異な環境下での子宮再生過程を形態学的に追跡した。

材料・方法：ICR 初妊娠マウスを用いて、妊娠 18.5 日目に帝王切開術を行い胎仔・胎盤を娩出した分娩後子宮再生モデルマウスを作製した。術後 1、3、5、7、10、14 日目に BrdU（細胞増殖マーカー）、ピモニダゾール（低酸素マーカー）、FITC トマトレクチン（血管標識）をそれぞれ静脈内投与し、深麻酔下にて 4%PFA で灌流固定を行った後、子宮を摘出した。凍結切片またはパラフィン切片上で、種々の特異抗体を用いた多重免疫染色を行い、光学顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

結果・考察：産褥 5 日目までに内膜上皮は完全に再生した。BrdU 染色により平滑筋および内膜間質では産褥 1 日目に、上皮では産褥 3 日目に細胞増殖のピークを認め、上皮再生完了前に上皮下組織は増殖を開始していた。産褥 3 日目頃より内膜から筋層にかけてみられる間質内フィブリン集積部に一致して、F4/80 陽性細胞が出現・消退した。また、上皮・間質・筋層共に産褥 3 日目に低酸素領域を多く認めた。以上より、子宮復古には強固な平滑筋収縮に伴う一過性の低酸素環境と、マクロファージを主体とする間質細胞が、組織修復に関与している可能性が示唆された。

03 マウス舌創傷モデルにおける podoplanin 陽性細胞の役割

清水一彦、江崎 太一

東京女子医科大学医学部解剖学・発生生物学講座

組織の再構築や修復の際には非常に多くの細胞が関与している。これらの細胞の移動にはリンパ管を含む微小循環系が重要となってくる。今回我々は、マウス舌創傷モデルを作製し、その治癒過程を種々の特異的マーカーを用いて検索した。

C57BL/6 マウスに麻酔下で舌の切傷（深さ 1mm、長さ 2mm）を作製し、経時的に 4%パラフォルムアルデヒドで灌流固定した。固定後、舌創傷部の凍結切片またはパラフィン切片を作製し、リンパ管マーカー (podoplanin、LYVE-1) を他のマーカーと組み合わせて多重免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。また、in situ hybridization 法を用いて細胞遊走に関わるケモカインである CCL21 の発現部位を同定した。

創傷は受傷後 5 日目に上皮離断部まで完全に塞がった。受傷後 3 日目には podoplanin 陽性細胞が網目を形成するように傷部周辺に多数出現したが、これらの細胞は LYVE-1 には陰性であり、定型的なリンパ管内皮とは異なる細胞であった。podoplanin と結合することが知られている CCL21 の発現が創傷部に認められた。以上から、podoplanin 陽性細胞は創傷治癒の場において細胞を遊走するための足場を形成し、いわゆる「脈管外通路」を形成している可能性が示唆された。

04 ラット胸腺髄質のストローマ画分および樹状細胞キャラクタリゼーション、およびそれらにシクロスポリンが及ぼす影響の解析

沢登祥史
獨協医科大学解剖学マクロ講座

胸腺において T 細胞の教育を担当する細胞である胸腺上皮細胞 (TEC: 特に髓質上皮細胞 (mTEC)) および胸腺の樹状細胞は、マウスにおいて盛んに研究され、それぞれ抗体を用いて同定する方法も確立している。しかしながらラットの胸腺に関してはほとんど報告がなく、ラット TEC および胸腺樹状細胞の同定法は確立していないのが現状である。

本研究ではマウスにおいて TEC と樹状細胞を同定するために使用されるいくつかの分子に対する抗体および、新規に胸腺を抗原として作成された抗体を用い、ラット胸腺組織を蛍光多重免疫染色することによりラット TEC と胸腺樹状細胞を解析した。その結果マウスで使用される既存の抗体はラットでは全く異なる染色パターンを示した。さらに抗体を組み合わせたことにより、mTEC を、T 細胞分化誘導に必要な機能分子を持つ画分 (competent TEC) と、機能分子を持たない画分 (silent TEC) に二分することができた。

シクロスポリン A は有名な免疫抑制剤であるが、ラットにおける特定の実験条件下ではむしろ胸腺の機能に影響し自己免疫を誘導することが報告されているが詳細なメカニズムは不明であった。シクロスポリン A 投与ラットの胸腺を解析したところ、胸腺では髄質が著明に縮小し、mTEC がとくに competent TEC から優先的に消失していた。

05 グリア系細胞における GRP78 の細胞膜酸化障害抑制効果

隅山香織¹⁾、渡辺雅彦²⁾、持田譲治²⁾、坂部貢¹⁾
東海大学医学部基礎医学系生体構造機能学¹⁾
東海大学医学部外科学系整形外科²⁾

【目的】中枢神経組織の損傷時には様々な細胞障害性因子が生じて損傷部分を拡大させる。活性酸素に含まれる過酸化水素もその障害因子の一つである。小胞体シャペロン GRP78 は主に小胞体ストレス経路における細胞死を抑制する。今回、予め GRP78 を過剰発現させた細胞を用いて酸化障害に対する GRP78 の作用を検討した。【方法】GRP78 タンパクと同時に GFP を発現するベクターに GRP78 遺伝子を入れて C6 細胞株へ導入し、過酸化水素 1~6mM を添加し 6 時間培養した。細胞活性は AnnexinV と PI で、細胞膜の脂質過酸化はシスバリナリン酸で、細胞内の活性酸素は CellRox[®] でそれぞれ標識して FACS で解析し評価した。【結果】GRP78 過剰発現細胞は過剰発現していない細胞と比較して、全ての条件下で生存率が有意に高く、かつ細胞膜の脂質過酸化が抑制されており、過酸化水素 3, 6mM の条件下では活性酸素産生量が有意に低くなる現象が示された (n=5, p<0.01)。【考察・結論】損傷組織は過酸化水素濃度が上昇し、細胞膜脂質を過酸化し、細胞内では DNA 障害をおこすことが報告されている。今回の結果から、GRP78 は細胞外からの酸化障害による細胞膜の損傷や細胞内の活性酸素上昇も抑制し、細胞を保護している可能性が示唆された。

06 細胞シート工学を用いた軟組織の再生

山根茂樹
東京歯科大学解剖学講座

【目的】類粘膜などによって広範な粘膜摘出後に、自己細胞による口腔粘膜細胞シートの応用が試みられているが、直下の筋層の再構築までは困難なことから治療後の咀嚼・嚥下機能障害という問題点が指摘されている。そこで、上皮、結合組織、筋肉の細胞シートをハイブリットさせた3層積層シートを開発し、生体におけるこれらの3層構造を *in vitro* で再現し、これらの構造維持に重要な細胞骨格、接着タンパクの局在を比較、検討した。【方法】上皮シート作成のため、日本家兎口腔粘膜から細胞を採取した。同時に酵素処理により分離した結合組織由来の細胞をゲル状のコラーゲンと混和し、インサート上に播種した。この結合組織ゲルを feeder 細胞とし、上皮細胞と共培養を行った。筋シートは日本家兎の筋芽細胞を用いて作成した。両シートを積層し、通法に従い凍結切片を作製し、細胞骨格タンパク、接着タンパクの局在を観察のため、免疫組織化学的染色を行った。【結果】上皮シートが結合組織ゲルを介して、筋肉シートと密接な状態であることがわかった。また、それぞれのシートに生体と同様な中間径フィラメントの発現が確認された。上皮基底層、結合組織にコラーゲンや接着関連タンパクも観察されたことから良好な積層シートが作製可能となった。

07 成熟骨芽細胞 MLO-A5 は未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 の Bone Sialoprotein (BSP) および Alkaline Phosphatase (ALP) の発現を誘導する

三上剛和、内藤昌子、高橋富久
日本大学歯学部解剖学第1講座

目的：骨組織の形成は、骨芽細胞を中心とした細胞間の複雑なクロストークによって支持されている。実際に、骨芽細胞と骨細胞、あるいは破骨細胞との相互作用が骨組織の恒常性維持に必要不可欠なことは周知の事実でもある。一方、骨芽細胞と間葉系幹細胞における、細胞間の情報連絡については不明な点が多い。本研究は骨芽細胞と間葉系幹細胞の共培養系を用いて、両細胞間にみられる直接的な相互作用に着目し、その分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

方法：MLO-A5 と C3H10T1/2 は、それぞれ、成熟骨芽細胞と未分化間葉系幹細胞の特徴を持ったマウス由来の細胞株である。GFP を恒常的に発現させた C3H10T1/2 (10T-GFP) を樹立し、MLO-A5 と共培養を行った。その後、フローサイトメトリーを利用して 10T-GFP を単離し、real time PCR によって骨芽細胞分化関連タンパクの遺伝子発現について解析した。また、MLO-A5 と 10T-GFP 間の細胞間の相互作用については、パッチクランプ法を用いて検討した。

結果：MLO-A5 と共培養した 10T-GFP は、対照群と比較して骨芽細胞分化の指標とされる BSP と ALP の発現が有意に増加した。さらに、共培養した MLO-A5 と 10T-GFP の間にはギャップジャンクションが存在しており、その連絡を阻害することで、BSP および ALP の発現抑制が認められた。これらの結果から、MLO-A5 は C3H10T1/2 とギャップジャンクションを通じ、直接的に連絡し合うことによって、骨芽細胞分化を誘導している可能性が示唆された。

08 ラット歯根膜におけるオキシタラン線維の発達

井上孝二¹⁾、原矢委子²⁾、黒田範行²⁾、佐藤哲二²⁾
鶴見大学歯学部電子顕微鏡研究センター¹⁾、解剖・組織細胞学講座²⁾

【目的】オキシタラン線維は弾性線維系 elastic fiber system の主要な構成要素のひとつであるが、その発生過程、分布様式、微細構造について十分に明らかにされてこなかった。本研究では、ラットの切歯・臼歯を用いて、歯根膜におけるオキシタラン線維の発達について詳細に検討した。【材料と方法】Wistar 系ラットの胎生 17 日～生後 35 日の切歯と第一臼歯を試料として用いた。光顕用試料は、全身麻酔下で Zamboni 固定液にて固定された。EDTA 液にて脱灰後、パラフィン切片を作製、Oxone の前処理後にアルデヒドフクシン・ハルミ染色法で染色された。電顕用試料は、Karnovsky 固定液にて固定後、電子顕微鏡下で観察された。【結果・考察】光顕下では、オキシタラン線維は胎生 18 日に最初に確認された。臼歯では歯冠が完成される生後 6 日までは歯軸に平行と直交する 2 方向性を示したが、切歯では歯軸と平行に走行するのみだった。切歯の舌側ではセメント質に埋入するオキシタラン線維が観察されたが、唇側のエナメル質側では歯軸に対して垂直方向に走行する線維は認められなかった。次に、切歯のセメント質側とエナメル質側に分布するオキシタラン線維数を測定し、統計学的解析をおこなった。胎生 23 日以降、切歯の部位に関らず、セメント質側のオキシタラン線維は、エナメル質側よりも有意に密に分布していることが明らかになった。電顕下では、オキシタラン線維と血管壁との接着様構造が観察され、オキシタラン線維が歯根膜の血管保持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

09 Organic Anion Transporters in Rat Enamel Formation

R. A.R.K. Ratnayake, D. Abduweli, Y. Takano
Biostructural Science, Department of Bio-Matrix, Tokyo Medical and Dental University, Graduate School of Medical and Dental Sciences

Localization of organic anion transporters (OATs) in rat tooth germs and its possible involvement in enamel matrix re-absorption were examined.

In rat tooth germs OAT1 was located exclusively along the ruffled border of ruffle-ended ameloblasts in the maturation stage of amelogenesis. OAT2 was associated with the distal cell membranes of secretory ameloblasts and disappeared when matrix formation was terminated. OAT3 was undetectable in ameloblasts but located in the layer of stratum intermedium cells. Systemic administration of a fluorescent organic anion Lucifer Yellow (LY) as tracer revealed transient labeling of immature enamel and the cytosol of secretory ameloblasts but not in the lysosomal system of these cells. Data suggested paracellular penetration of LY in immature enamel and its subsequent translocation into the cytosol of ameloblasts via non-endocytotic pathways.

Since c-terminal fragments of amelogenins transiently exist as organic anions in developing enamel, current data suggest that OAT2 and OAT1 in the distal membranes of ameloblasts provide non-endocytotic rapid re-absorption pathways for some of the degraded enamel matrix proteins during secretory and maturation stages of amelogenesis.

10 胎生期マウス外側翼突筋における desmin の発現

山本将仁、岸飛鳥、菊地昭仁、阿部伸一
東京歯科大学・解剖学講座

【目的】desmin は、筋の形態形成および形態維持に重要な役割を担っている。一方神経筋接合部は、筋中央に東になって配列することがこれまで報告されている。これまで我々は、胎生期外側翼突筋の発達を形態学的に検索してきた。しかしながら、胎生期マウス外側翼突筋の desmin を経時的に観察した報告は少なく、不明な点が残されている。そこで今回我々は、胎生期マウス外側翼突筋の desmin の発現を経時的に観察した。また、外側翼突筋発達の指標として、神経筋接合部も同時に検索をおこなった。【方法】試料として、胎生 11～16 日の ICR マウスを用いた。通法に従いパラフィン包埋を行い、連続切片を作製した。形態学的観察として H-E 染色をおこない、desmin ならびに S100 タンパク (シュワン細胞のマーカー) について免疫組織化学的染色をおこなった。さらには、desmin を RNA レベルで検索するため、LightCycler を用いて mRNA の発現量を分析した。【結果】desmin は胎生 11 日に外側翼突筋原基に弱く発現していた。そして胎生 12 日～16 日にかけて筋線維全体に広がっていった。神経筋接合部は、胎生 13 日より認められ、胎生 16 日では筋中央に直線配列を認めた。mRNA の分析結果は、胎生 11 日にわずかな desmin の発現を認め、その後経時的に発現量は増加していった。【考察】これまでの報告で、顎舌骨筋の desmin の発現は胎生 12 日において発現することが報告されている。以上より、外側翼突筋は顎舌骨筋より早期に顎運動に関与しているのではないかと考えられる。

11 ラット下垂体の発生過程におけるインテグリンの発現

矢田部恵、濱田嘉昭
放送大学大学院文化科学研究科

細胞外マトリックスは、レセプターであるインテグリンを介して細胞の接着、移動、分化、増殖などに重要な関与をしている。腺下垂体の組織発生過程における各種細胞外マトリックスの発現はこれまで研究・報告がなされているが、インテグリン発現に関してはほとんど知られていない。そこで、本研究ではラット腺下垂体発生過程におけるインテグリンの発現、特にラミネンレセプターであるインテグリン $\alpha 3$ の動態変化の観察を試みた。Wistar ラット (胎生 11 日より、生後 1, 5, 20, 40 日, 9 週齢) の下垂体を 4% パラホルムアルデヒドで固定し、パラフィン切片を作製、ABC 法による免疫染色及び蛍光免疫二重染色を行い観察した。その結果、各日齢でインテグリン $\alpha 3$ の陽性細胞が検出された。特に、前葉の隆起部では胎生 15 日から生後 1 日まで強い反応が観察され、中葉では生後 1 日まで MSH 産生細胞に強い反応がみられたが、生後 3 日から徐々に減弱し生後 20 日ではほとんど観察されなくなった。反応は生後 30 日から再び強くなり、成体では MSH 産生細胞が陽性、ラトケ氏囊の遺残腔に面する細胞は陰性となった。このように特定の時期に特定の部位で発現の強さを変化させたという結果は、インテグリン $\alpha 3$ が下垂体細胞の接着や移動に関与する可能性を示唆するものであると考えられた。

(本研究の遂行にご援助いただいた自治医科大学解剖学講座屋代隆教授に深謝申し上げます。)

12 摂食・睡眠調節神経回路における HDAC ファミリー発現の検討

高瀬堅吉、小田哲子、横藤田純子、黒田優、船戸弘正
東邦大学医学部解剖学講座微細形態学分野

視床下部外側野に存在するオレキシンニューロンは摂食、睡眠の調節に重要な役割を果たしている。オレキシンニューロンは複数の神経核に投射し、これらを結ぶ神経回路(摂食・睡眠調節神経回路)が協調的に働くことで、摂食、睡眠が調節されるのが先行研究から示唆されている。一方、動物モデルを用いた研究から、様々な環境要因が摂食、睡眠に影響を与えることが示唆されている。これらはヒトの摂食障害や睡眠障害のメカニズムを解明するための有効なモデルとなるが、環境要因が摂食、睡眠に与える影響のメカニズムは明らかにされていない。もし、上述の摂食・睡眠調節神経回路の不具合により、これらの行動異常が引き起こされるのであれば、その神経回路機能の破綻を分子レベルで明らかにすることにより、環境要因によって引き起こされるヒトの摂食障害、睡眠障害の治療につながる創薬シーズが提供可能となる。その候補分子として、我々はヒストン脱アセチル化酵素(histone deacetylase, HDAC)に着目した。HDAC はヒストンの脱アセチル化を行う酵素であり、我々は、環境要因によって引き起こされるヒトの摂食障害、睡眠障害は、摂食・睡眠調節神経回路における HDAC の発現量または細胞内局在の変化が原因の一端であると仮説を立てた。しかし、同神経回路における HDAC の詳細な発現分布は未だに明らかにされていない。そこで、摂食・睡眠調節神経回路において HDAC ファミリーの発現量および細胞内局在を検討した。

13 神経細胞の樹状突起における Rab11-FIP3/Arfophilin-1 の発現機能解析

矢崎佑紀、原芳伸、深谷昌弘、阪上洋行
北里大学医学部解剖学教室

Rab11-FIP3/Arfophilin-1 (以下 FIP3) は、Rab11 と Arf6 に対し GTP 結合型依存的に相互作用する分子として単離された蛋白質の一つであり、細胞質分裂時の中央体への膜成分の供給に関与することが知られている。FIP3 は、我々が施行したヒト脳における Arf6 の結合蛋白質の探索においても多数のクローンが得られたことから、神経系での Arf6 の標的分子として機能することが示唆されるが、その発現局在や機能に関して不明である。本研究では、Arf6-FIP3 経路の神経機能の解明の一端として、FIP3 の神経系における発現局在、および神経細胞の樹状突起形成における機能解析を行った。In situ ハイブリダイゼーションによる発現解析の結果、マウス成体脳において、FIP3 は嗅球、大脳皮質、海馬、小脳の灰白質に強い発現が認められた。また、FIP3 に対する特異的抗体を用いた免疫電顕による局在解析の結果、FIP3 陽性反応は、大脳皮質および海馬の神経細胞において、ゴルジ装置のトランス面側や細胞体・樹状突起内の小胞に観察された。さらに、海馬初代培養神経細胞を用いた RNA 干渉法による機能解析の結果、FIP3 のノックダウンは樹状突起の伸展を著しく抑制することが認められた。これらの結果から、FIP3 は Arf6 や Rab11 による制御を介して、神経細胞の樹状突起の形成に関与することが示唆された。

14 Zitter rat の加齢に伴う海馬構造の変化

大桃秀樹、江原鮎香、増田知之、上田秀一
獨協医科大学解剖学(組織)教室

Zitter ラット (zi/zi) は SD ラットコロニーから発見され若年期から振戦を示し、加齢とともに脳に空泡変性や脱髄を起こすことが知られる。これまでの研究で zi/zi 自体はてんかん発作を起こさないが、てんかん発作発症に関わる遺伝的素因を有する変異動物であるとする仮説がある。本研究では、zi/zi 海馬の加齢に伴う形態変化およびてんかん感受性について形態学的・電気生理学的に解析した。各月齢の zi/zi および対照の SD ラットを用いて、1) Timm 染色による苔状線維芽芽の解析、2) 海馬ニューロンにおける cFos の発現の解析、3) 海馬門における FJB 発現細胞の解析、4) 海馬スライス標本を用いた電気生理学的特性の解析、さらに、5) カイニン酸腹腔内投与後のてんかん発作開始時間の計測を行なった。苔状線維の芽芽は 2 カ月齢 zi/zi の顆粒細胞層内ですでに観察され、加齢とともに分子層の supragranular 領域へ拡大した。また、神経細胞活動の指標となる cFos 発現は顆粒細胞で 2 カ月齢から観察され、10 カ月齢以降は多くの顆粒細胞で発現した。さらに、海馬門における変性神経細胞数も加齢に伴い増加した。一方、電気生理学的解析では、GABA およびグリシン受容体阻害下において、貫通線維への単一パルス刺激により顆粒細胞で複数のスパイク放電が形成された。また、カイニン酸投与によるてんかん発作発症までの時間は、8 カ月齢以降の zi/zi で有意に短縮した。以上の結果から、zi/zi は加齢に伴っててんかん特有の海馬の形態変化が認められた。

15 Aβ42 脳室内注入による膨大部後皮質の影響

村上邦夫、石川陽一、高柳雅朗、川島友和、井上由理子、佐藤二美
東邦大学医学部解剖学講座生体構造学分野

神経毒性の強い β アミロイド 42 (Aβ42) は α7 サブユニットニコチン性アセチルコリン受容体 (α7nAChR) と親和性を有し、Aβ42 の進行性蓄積によって α7nAChR を侵して機能を弱める可能性が考えられている。一方、アルツハイマー病モデルマウス (PDAPP) の膨大部後皮質顆粒部 (RSg) III 層は早期に Aβ の蓄積が生じる。そして、この部位に一致して前脳基底部からコリン作動性入力あり、くわえて RSg の I-III 層には α7nAChR を発現するインターニューロンが分布している。しかしながら、早期の Aβ 蓄積による RSg 内の α7nAChR 発現ニューロンへの影響やシナプス数の変化については調べられていない。

本研究は Aβ42 をラット脳室内に投与後、RSg 内の Aβ42 の増加とシナプス数の変動について、抗 Aβ42、抗シナプトフィジン抗体、そして Alexa488-α ブンガロトキシン (α-BTX) を用いた多重免疫蛍光組織化学染色法で調べた。Aβ42 は浸透圧ミニポンプで 2 週間をかけたラット脳室内に 200 μl 量を持続投与し、35 日後にアルデヒド固定した。結果、RSg の I-V 層では α7nAChR 発現する細胞体やニューロビルに Aβ42 の高い発現を観察した。それら α7nAChR/Aβ42 共存するニューロビルの一部は小胞性アセチルコリントランスポーター抗体にも陽性を呈した。RSg の I 層におけるシナプトフィジン陽性前シナプス数は Aβ42 投与群で減少していた。

これらの所見は Aβ42 が α7nAChR の強い親和性アゴニストである可能性と、Aβ42 の進行的な蓄積を通して RSg 内の α7nAChR 発現ニューロンや内因性・外來性のシナプスの代償性変化と減少を誘発する可能性を示唆した。

16 マウス脳神経運動核におけるコリン作動性神経終末 C-terminal の投射パターン解析

松井 利康¹、本郷 悠^{1,2}、灰塚 嘉典³、海田 賢一²、松村 讓兒³、小林 靖¹
1 防衛医科大学 解剖学講座
2 防衛医科大学 内科学講座
3 杏林大学 医学部 解剖学教室

骨格筋を支配する α 運動ニューロンの細胞体や近位樹状突起には、大型のコリン作動性神経終末 C-terminal が接している。C-terminal は脊髄前角の運動核に加えて、体性および錐弓性の脳神経運動核にも存在する。これまでに我々は、脳神経運動核のうち体性運動性の舌下神経核 (XIIIm) に C-terminal を送る起始細胞を同定したが、異なる発生・分化機構を持つ錐弓性運動神経核に投射する C-terminal 起始細胞ならびにその投射様式は不明である。本研究では、BDA による順行性トレーシングとコリン作動性神経マーカー (VAcHT) の免疫組織化学を組み合わせることで、錐弓運動性の疑核 (Amb)、顔面神経核 (VIIIm) および三叉神経運動核 (VIm) に分布する C-terminal の起始細胞を探索した。その結果、起始細胞は延髄から橋の大細胞性網様体(中間網様核、延髄網様核腹側部、巨細胞性網様核、外側傍巨細胞性網様核)に分布するコリン作動性ニューロンであった。BDA 標識 C-terminal が脳神経運動核 (XIIIm, Amb, VIIIm および VIm) で観察された注入個体 (n=18) について、その分布を定量的に解析したところ、全標識終末の 53% (1273/2404) が同側に、47% (1131/2404) が対側であった。また、それぞれ運動神経核での分布は、XIIIm に 27.7% (同側: 16.3%; 対側: 11.4%), Amb に 1.7% (同: 1.2%; 対: 0.5%), VIIIm に 36.8% (同: 18.2%; 対: 18.6%), VIm に 33.9% (同: 17.3%; 対: 16.6%) であった。標識 C-terminal が複数の運動神経核にまたがって分布する投射様式は、少数の標識終末しか観察されない個体でも保存されており、1 つの C-terminal 起始細胞が複数の脳神経運動神経核に同時投射する可能性が示された。

17 特異な支配枝を受けるコアラの前鋸筋—肩甲骨筋群の形態学的意義を考える—

小泉政啓
東京有明医療大学保健医療学部鍼灸学科

コアラの前鋸筋は第 1-7 肋骨(肋骨 11 対)から起始し肩甲骨の内側縁に停止する。第 1 筋尖(第 1 肋骨起始)に第(5+6)頸神経前枝 (C(5+6)) 背側からの枝が中斜角筋を貫いて分布する他、C(5+6) 背側の枝と C7(+8)背側からの枝がともに中斜角筋を貫いたのち合流して形成する長胸神経が前鋸筋全体に分布していた。さらに特徴的なのは、第 1 肋間神経外側皮枝 (Rcl(Th1)) の枝が第 2 筋尖表面で長胸神経に加わることであり、実体顕微鏡下でこの Rcl(Th1) 神経線維を追究した結果、頸神経由来の成分と共に前鋸筋下部(第 4-7 筋尖)に分布していることがわかった。前鋸筋支配に参加するこのような Rcl(Th1) の枝は 2 体 3 側に見られた。さらに、第 1,2 肋間神経を肋間筋と共に取り出し神経の分枝を精査した。第 1 肋間神経は根部で、腕神経叢や交感神経幹への枝以外に 3 本の枝を分枝する。(1)いわゆる肋間神経本幹で、途中で後述の(2)に交通枝を出しながら最内肋間筋・内肋間筋に分布。(2)外肋間筋枝(浅肋間神経)(3)内肋間筋の浅層を走行し、外側皮枝と他の枝に分岐。前者は外肋間筋を貫いて皮下に出て、後者は途中(1)からの枝を受け最終的には外肋間筋遠位部に分布。問題の前鋸筋枝は(3)の外側皮枝の枝から分岐していた。この特異な支配枝を受けるコアラの前鋸筋の所見を紹介し、肩甲骨筋群(肩甲挙筋、菱形筋、前鋸筋)の形態学的な意義について考察していく。

18 ご遺体の内部構造把握における CT 画像読影の有効性 ～血管に着目して～

坂本昇

千葉大学大学院医学研究院環境生命医学

近年、医学部における教育・研究の手段として、Computed Tomography (以下 CT) 画像撮影によるご遺体の内部構造解析が注目されている。当大学でもご遺体への CT 撮影を行い、大動脈弓から分岐する血管の破格発見や、動脈径読影の限界についての報告などを通じて、ご遺体への CT 撮影による血管構造の観察における有効性について述べてきた。ところで、固定(防腐処置)することで、身体各組織の変化(身体の肥厚、脂肪組織への固定液の蓄積など)はある程度予測されるものの、身体内部状況の変化に関してはこれまであまり報告がなされていない。そこで今回は固定前と固定後の御遺体に (n=3) CT 読影をし、固定前後の動脈の変化を、特に血管系について評価した。結果、固定後の動脈内腔は固定液で満たされたことで扁平状から円形になることが明らかとなった。さらには CT 画像上、血管壁が白く鮮明に映し出された。このことから、固定後の CT 画像読影が容易になると考える。しかし、動脈径が 5 mm になると、固定後でも血管壁の描出が不鮮明になることから、この径が動脈の限界ではないかと思われる。解剖教育では身体内部構造と CT 画像データは一致していることでより正確な読影と情報提供ができるため、今後も固定前後の詳細な身体変化について追求してゆきたい。

19 ヒトにおける頭蓋内面の圧痕と脳表面との相関

小林靖¹、道川隆士²、松井利康¹、大竹豊²、鈴木宏正²

1 防衛医科大学校解剖学講座

2 東京大学先端科学技術研究センター

ネアンデルタール人の脳形態を復元するために、われわれは現生霊長類と現生人類において頭蓋の形態学的特徴から、脳の区分を推定する方法を検討している。これまでにカニクイザルを用いて、頭蓋内面の凹凸が主要な脳回と脳溝に一致していることを見出した。過去の化石人類の報告でも、アウストラロピテクス等で頭蓋内面の凹凸から脳溝を推定している例がある。現生人類やネアンデルタール人の成体では、前頭骨眼窩板を除いて頭蓋内面に該当する凹凸が見られないのが普通であるが、ネアンデルタール幼児では頭蓋冠にも脳溝や脳回に相当すると思われる周期の凹凸が観察されている。これは、髄膜等の結合組織が薄い小型の個体において頭蓋内面の凹凸から脳回や脳溝を復元できる可能性を示している。

そこでわれわれは現生人類の幼児の頭蓋標本を工業用 CT 装置 (Zeiss Metrotom 800) で測定し、得られたデータから頭蓋内面を再構成した。その際、道川らの開発した軽量なポリゴン生成手法により、板間層の微細な空洞によってできるポリゴンを除去した。生成されたポリゴンをもとに Amira5.4 (Visage Imaging) によって Surface smoothing 処理を施し、頭蓋内面の圧痕を解析した。その結果、外側溝、上前頭溝、前頭溝、上側頭溝に相当すると考えられる溝を確認した。このことは、ネアンデルタール幼児においてこれらの脳溝の位置を決定できる可能性があることを示唆している。

20 ラットにおける脳脊髄液の流出路

江口盛一郎^{1,2} 清水一彦¹ 江崎太一¹

1 東京女子医科大学解剖学・発生生物学

2 東京女子医科大学脳神経外科

【目的】 脳脊髄液 (CSF) の吸収部位に関しては 1914 年に Weed が提唱した「クモ膜顆粒を経て静脈洞内に吸収される」という説が未だに支持されている。しかし、ラットなどの小動物やヒトの胎児にはクモ膜顆粒が存在しないことが証明されており、別の吸収機序でリンパ管へ吸収される経路が示唆されているが、その局在は証明されていない。そこで今回、CSF の吸収経路、特にリンパ管へ至るまでの経路を形態学的に検索した。

【対象/方法】 4 週齢の Sprague Dawley (SD) ラットの側脳室に CSF の tracer として 4%EM blue (東洋インキ:50ul) を注入後、経時的に 4%PFA で灌流固定を行い、実体顕微鏡下に色素が取り込まれているリンパ節とリンパ管を同定した。次に脊柱管と傍脊柱筋を 20%EDTA で脱灰した後、凍結切片及びパラフィン切片を作製して免疫染色を行い組織学的に色素の動態観察と硬膜外リンパ経路の検索を行った。

【結果】 色素の注入 6 時間後には組織学的にはリンパ管を同定することはできなかったが、頸下リンパ節及び深頸リンパ節に色素の取り込みが最も早期に認められ、その後さらに腎門部リンパ節、腰リンパ節にも取り込みが認められた。

【考察/結論】 本実験から脊髄神経根周囲のクモ膜下腔から硬膜外リンパ管、各リンパ節への CSF の移動経路の存在が証明されたが、そこに至る脈管外通路の同定までは至っていない。今後はより感度の高い蛍光 tracer を用いて、組織学的に脈管外通路の実証を行う必要がある。