

# 日本解剖学会

## 第101回関東支部学術集会

会期：平成25年11月30日（土）

会場：昭和大学旗の台キャンパス 4号館 6階600号教室

### 教育講演

解剖学研究・教育の現在と将来展望  
～特に若手教員における将来展望～

小澤一史

日本医科大学 大学院医学研究科 解剖学・神経生物学分野

解剖学の研究スタイル、教育スタイルはこの10年間に於いても大きな変化を示し、研究においては純形態学的な研究手法に加え、生化学的、分子生物学的な手法がごく一般的な手法として取り入れられ、免疫組織化学、in situ hybridization、電子顕微鏡観察、immunoblottingといった研究手法に関しても、独立した技術開発的な研究課題というより、あくまでもツールの一つとして様々な場面で臨機応変に使用され、その結果得られる科学的結果を多角的に議論することが当たり前になっている。従って「解剖学研究室」であっても研究課題に関しては、解剖、生理、生化学と言った旧来的な区分けが曖昧になり、「形態学」を中心とした統合科学の研究が行われることが多くなっている。

一方、教育に関しては「肉眼解剖学」、「顕微解剖学（組織学）」、「神経解剖学」、「発生（生物）学」といった従来の学問体系は多少の修正を持ちつつも大枠の中で保たれているが、臨床医学の現場における様々な画像診断の発達や治療法の開発などと連動して、これらの解剖学における学問体系の中に、様々なイメージングを中心とする三次元的な解剖・形態の理解を求める場面が益々増えている。このような解剖学の研究や教育の現状から、解剖学教室の教員は、今後どのような位置付けとなっていくのかについての将来展望についての議論のきっかけを提供したい。

### 特別講演

大脳新皮質と海馬の神経発生は驚くほど異なっている

石龍徳

東京医大組織・神経解剖学講座

大脳皮質の興奮性ニューロンは外套の神経上皮細胞から発生する。大脳皮質の中でも、新皮質のニューロンは外套の外側及び背側から、原皮質（海馬）のニューロンは内側から生じる。発生後期になると、新皮質では、脳室層の brain lipid binding protein (BLBP)陽性放射状神経幹細胞からニューロンが産生される。海馬の顆粒細胞の場合は、脳室層の神経幹細胞が軟膜側に移動して、新しい増殖部位をつくり、顆粒細胞を産生する。生後には、増殖部位が顆粒細胞層内側に限定され、例外的な成体のニューロン産生部位となる。この成体脳のニューロン新生現象は、神経科学や再生医療の様々な分野で注目を集めている。この成体型神経幹細胞は、glia fibrillary acidic protein (GFAP) 陽性であり、胎生期の脳新皮質に存在する神経幹細胞 (GFAP 陰性)とは異なっている。我々は、最近 Gfap-GFP マウス (昭和大学、塩田先生提供)を用いて、Gfap 発現神経幹細胞の発生起源を調べた。その結果、この幹細胞は、胎生 13-14 日目に、海馬采と海馬の境界部の脳室層に焦点となって出現することが明らかになった。また、この幹細胞は新皮質とは異なり BLBP 陰性であった。さらに Gfap 発現細胞の発生をタイムラプスイメージングによって解析したところ、その行動パターンは大脳新皮質とは全く異なっていることが明らかになった。

### 01

#### ホルマリン代替液固定遺体の解剖

灰塚 嘉典<sup>1)</sup>、松村 譲児<sup>1)</sup>、藤倉 義久<sup>2)</sup>

1) 杏林大学医学部解剖学教室 (肉眼) 2) 大分大学医学部分子解剖学講座

組織標本固定剤として検討されてきた親水性高分子 N-Vinyl-2-pyrrolidone (以下 NVP; 藤倉/2010 年度科研費実績報告書) 溶液を解剖体の注入固定剤として用いた結果について報告する。

今回、種々の濃度の溶液を用い、固定後の所見を FA 注入遺体と比較検討した。用いた溶液は、①10%NVP 水溶液 (50%NVP 水溶液を水で希釈)、②15.5%NVP 溶液 (50%NVP アルコール溶液を水で希釈)、③50%NVP アルコール溶液である。

溶液①では血性排液が顕著で、皮膚角化層の剥離が認められた。FA 固定遺体にみられる四肢強直はみられず、関節の可動性は大きく、筋・内臓も著しく柔軟で、心腔内の凝血塊は認められなかった。

アルコール溶液を水で希釈した②でも脂肪融解と血性排液がみられ、血管内の凝血塊もほとんど認められなかった。やや硬化があったものの、皮下脂肪の残存は少量で、筋・内臓の柔軟性および関節の可動性は保たれていた。

アルコール溶液③注入では排液はほとんどなく、血管内凝血塊がみられた。本例には生前から四肢拘縮があったが、注入後の遺体にはやや硬化がみられ、関節可動性に変化はなかった。

以上のことから、NVP には一定の防腐効果が期待され、サージカルトレーニングなどへの適用可能性が示唆されたが、硬化剤としての適用には濃度および溶媒の検討が必要と考えられた。

### 02

#### 脊髄神経後枝内側枝と固有背筋(内側縦束)との位置関係

布施裕子<sup>1)</sup> 時田幸之輔<sup>2)</sup> 小島龍平<sup>2)</sup> 熊木克治<sup>3)</sup> 相澤幸夫<sup>3)</sup> 影山幾男<sup>3)</sup> 竹澤康二郎<sup>3)</sup>

1) 埼玉医科大学保健医療学部理学療法学科 4年 2) 埼玉医科大学保健医療学部理学療法学科 3) 日本歯科大学新潟生命歯学部解剖学第一講座

固有背筋は内側と外側の2群に区画される。筋群の2区分に対応して、脊髄神経後枝も内側枝と外側枝の2つに分枝し、それぞれ同名筋群に進入して支配枝を与え、そのうち皮神経となって筋の外へ出る。特に内側枝は半棘筋系列の深層、多裂筋系列の浅層を走行する。固有背筋は比較的原始状態にとどまり分化の程度が低い(山田)とされる。しかし、固有背筋の内側および外側の2群の発達程度は均等でなく、下方では外側群(縦束)が優位である(佐藤)。内側縦束の外側を構成する半棘筋系列は第12胸椎横突起が最下位の起始とされており、それ以下は多裂筋・回旋筋系列で内側縦束を構成していることとなる。そこで、胸部から腰部における内側枝と内側縦束を構成する筋群との位置関係について第7回内視鏡解剖学セミナー新潟にて観察を行った。

内側皮枝をもつ上位胸神経(Th1)後枝内側枝は、半棘筋系列の深層、多裂筋系列の浅層を通り最終枝の皮枝となる。下位胸神経(Th8)は内側皮枝を持たないが半棘筋系列の深層、多裂筋系列の浅層を通る。半棘筋の最下位筋束の起始部以下の腰神経(L2)は多裂筋系列よりも深層を走行したのち棘突起の根元で上行し回旋筋系列の浅層と多裂筋系列の深層を走行する。このことから内側枝と多裂筋系列の位置関係が下位分節に従い変化しているということが示唆される。胸部から腰部への移行領域における脊髄神経後枝内側枝の形態的特徴の詳細な検討を行いたい。

### 03

#### PACAPによる唾液分泌効果とレセプター局在の解析

野中直子<sup>1)</sup>・中町智哉<sup>2)</sup>・塩田清二<sup>2)</sup>・中村雅典<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 昭和大学歯学部口腔解剖学講座

<sup>2)</sup> 昭和大学医学部顕微解剖学講座

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (PACAP) とサイクロデキストリンを併用し経鼻投与を行うことで、効果的に脳内に移行する系を示してきた。PACAP は外分泌腺での分泌促進効果があると報告されている。本研究では、C57BL/6 マウス (8 週齢・雄性) を用い、PACAP と  $\beta$  サイクロデキストリンの経鼻投与による唾液腺の分泌効果ならびに耳下腺・顎下腺・舌下腺における PACAP レセプターの局在について解析を行った。PACAP 経鼻投与後 60 分で、唾液分泌量の亢進が認められた。この唾液分泌量の亢進は、アトロピン前投与で阻害されなかった。三大唾液腺における PACAP レセプターは、耳下腺・舌下腺では線条導管に局在しており、顎下腺では顆粒性導管内の Pillar cell に局在していた。以上の結果から、PACAP による唾液分泌亢進作用が示された。またこの作用は腺房細胞からの分泌亢進ではなく、導管内での再吸収機能の調節によるものと考えられる。

## 04 新世界ザルコモンマーモセットの側頭葉皮質間結合

一戸紀孝、境和久

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 微細構造研究部

新世界ザルコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) は、社会性が高く多産である点、遺伝子改変動物が期待出来る点などから、近年、興味がかかれ始めている動物である。我々はマーモセットの社会性を調べるために、ミラーニューロンシステムと、communication システムに焦点を当てて研究している。本研究発表では、側頭葉(浅い上側頭溝: STS 周囲) から、他者行動に反応する領野に逆行性のトレーサーを注入して、前頭葉、側頭葉、頭頂葉にラベルを見いだし、一部の側頭葉からは、生体内でこの投射を割り出し、その領野 (area 6v) から、他者行動と自己行動の両者に反応するミラーニューロンを見い出した。また、他のマーモセットの声に強く反応する上側頭後部へトレーサーを注入し、発声に関与すると考えられる area 6v や PrCO にラベルを見い出した。他の側頭葉へのトレーサー注入の例も紹介し、側頭葉—前頭葉の持つ社会性への寄与に関して議論したい。

## 05 Functions of very-low-density-lipoprotein receptor (VLDLR) in cortical development

岩澤佑治、廣田ゆき、仲嶋一範  
慶應義塾大学医学部解剖学教室

Reelin signaling is essential for cortical development. Previous reports showed that Reelin binds to its receptors, very-low-density-lipoprotein receptor (VLDLR) and apolipoprotein E receptor 2 (ApoER2). However, physiological functions of these receptors are not fully understood. To investigate the function of VLDLR and Reelin signaling in cortical development, we introduced a VLDLR-knockdown (KD) vector into migrating neurons and examined their migration state and final positions. As a result, VLDLR-KD neurons showed a terminal translocation failure and were located at deeper positions than usual. These data indicate that VLDLR is necessary for proper cortical development.

## 06 Arf6 活性調節因子 EFA6D のマウス脳における局在解析

太田 慎吾、深谷 昌弘、阪上 洋行  
北里大学医学部解剖

EFA6 (Exchange factor for Arf6)ファミリーは、海馬神経細胞においてArf6の活性化を介した樹状突起や棘突起の形成、維持に重要であることが報告されているが、EFA6Dの細胞内局在や他のEFA6分子との機能的相違に関して未だ不明である。本研究では、EFA6Dの神経機能解明の一助として、EFA6D特異的抗体を作成し、マウスの脳におけるEFA6Dの細胞内局在を免疫組織学的に検討した。

8週齢マウス脳において抗EFA6D特異抗体を用いて免疫組織化学法による発現局在を検討した結果、EFA6Dの強い陽性反応が、海馬CA1およびCA3領域、大脳皮質、小脳皮質分子層において観察された。海馬において多重蛍光免疫染色法を行った結果、EFA6D陽性反応は、海馬CA1およびCA3領域において微細点状に分布し、最も強い反応が認められたCA3透明層では樹状突起のマーカーであるMAP2や興奮性神経終末のマーカーであるvGluT1とはあまり共局在せず、軸索のマーカーであるTau-1とよく共局在が認められた。さらに、免疫電子顕微鏡解析によりEFA6Dの詳細な細胞内局在を検討した結果、EFA6D陽性反応は、CA3領域透明層の芽状線維の軸索内部にも多く検出され、CA1およびCA3領域の放射状層や上昇層を走行する軸索内部にも同様に認められた。一方、樹状突起や棘突起における免疫反応は軸索に比較して低いものであった。以上の結果から、EFA6Dは軸索内部に豊富に局在することより、Arf6の活性化を介した軸索での小胞輸送や細胞骨格の制御に関与する可能性が示唆された。

## 07 細胞移動を基軸とする海馬歯状回形成のメカニズム探索

篠原広志<sup>1</sup>、佐藤 享<sup>1</sup>、戸田恵子<sup>1</sup>、塩田清二<sup>2</sup>、石龍徳<sup>1</sup>  
東京医科大学 組織・神経解剖学<sup>1</sup>、昭和大学・医・顕微解剖学<sup>2</sup>

一般に、神経新生は胎生期に始まり生後初期に終えるが、海馬歯状回では神経新生が胎生期から成体期まで続く。胎生期と成体期での神経新生パターンは異なっており、成体の海馬歯状回のニューロンは顆粒細胞下帯で産まれるが、胎生期の神経幹細胞は、海馬近傍の脳室帯(歯状回切痕)にて産生される。その後、神経幹細胞は海馬采上部を通って軟膜側に移動する。神経幹細胞の移動は、顆粒細胞層形成に重要なプロセスであるが、この移動の時空間的パターンはまだよく分かっていない。我々は神経幹細胞の移動を追跡するために、子宮内電気穿孔法によりRFP標識を試みた。その結果、歯状回切痕の神経幹細胞は2日後には軟膜側まで移動し、3日後に歯状回へと到達することが分かった。この歯状回に到達したRFP陽性細胞について免疫組織化学的解析を行ったところ、神経前駆細胞マーカーThbr2を発現するRFP陽性細胞は、歯状回の周縁すなわち軟膜直下に認められた。一方、Sox2を発現するRFP陽性細胞は軟膜直下および歯状回門に見られ、神経前駆細胞と神経幹細胞は異なる分布を示していた。またGFAP-GFP Tgマウスや蛍光標識した海馬のスライス培養下でのタイムラプス観察によって、神経前駆細胞が歯状回切痕から増殖しながら歯状回へと移動することをリアルタイムに確認することができた。移動の際に細胞は、様々な経路や挙動を示すことが観察されており、さらにこれら異なる移動経路と細胞運命との関連性について検討した。

## 08 頭部外傷モデルマウスの記憶障害に対する、骨髄間葉系幹細胞(MSCs)由来タンパク質TSG-6の改善効果の検討

渡邊潤<sup>1,2)</sup>、塩田清二<sup>1)</sup>、Darwin J. Prockop<sup>2)</sup>  
昭和大学 医学部 解剖学講座 顕微解剖学部門<sup>1)</sup>  
Texas A&M Health Science Center, College of Medicine, Institute for Regenerative Medicine<sup>2)</sup>

頭部外傷の患者には急性期の死亡や全身性機能不全を免れても、慢性期に認知障害や情緒障害のため社会適応障害(高次脳機能障害)が顕著となる症例が多く報告されている。

骨髄間葉系幹細胞(MSCs)は骨髄由来の間葉系幹細胞の総称で、その移植は中枢神経系疾患に対する新規治療法として、脳梗塞、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などに効果があることが報告されている。我々はヒト由来MSCs(hMSCs)を移植した脳虚血、心筋梗塞および肺炎のヒト遺伝子の網羅的解析からTNF- $\alpha$ -stimulated gene/protein 6(TSG-6)という共通のタンパク質の増加を見出し、hMSCs由来TSG-6の心筋梗塞や角膜炎障害への回復効果を明らかにしてきた。

そこで我々は頭部外傷モデルマウスにMSCsおよびTSG6を静脈投与し、その神経障害に対して改善効果が見られるかを検討した。するとMSCs、TSG6投与群共にvehicle投与群に比べ血液脳関門(BBB)の破綻と好中球浸潤の抑制がみられ、損傷部位の減少が観察された。さらに行動学的解析により、TSG-6は頭部外傷における記憶行動の障害に対して改善効果があることが明らかとなった。これらの結果はMSCsおよびTSG-6が頭部外傷に対する画期的な治療法となる可能性を示している。

## 09 肺神経内分泌悪性腫瘍におけるThyroid transcription factor 1(TTF-1)の発現機序解析

矢澤華子、平松千恵、平田和明  
聖マリアンナ医科大学医学部解剖学

Thyroid transcription factor 1(TTF-1)は、甲状腺、肺、脳の形態形成に重要な役割を演じている。成熟肺におけるTTF-1の発現は、肺腺癌の発生母地である末梢気道上皮、II型肺胞上皮に限局していることから、TTF-1は肺腺癌の病理診断マーカーとして利用されている。一方、中枢気道上皮が発生母地と考えられている肺小細胞癌には、更に高率にTTF-1の発現が見られるが、その機序は全く不明である。そこで今回我々は、肺癌培養細胞を用いた分子病理学的解析により、肺小細胞癌におけるTTF-1発現メカニズムの解明を試みた。肺癌細胞において発現しているTTF-1分子の大半はvariant 2(TTF-1v2)であり、プロモーター解析によりTTF-1v2転写開始領域近傍に活性化部位が存在することが明らかになった。種々の候補転写因子発現ベクターによるスクリーニングの結果、中枢神経系の発生過程において重要なPOUドメイン転写因子であるbrain-specific homeobox 2(BRN2)がTTF-1プロモーターに結合することによりTTF-1遺伝子を活性化していることが判明した。

## 10 骨格筋芽細胞シートへの間葉系細胞の影響

梅澤貴志、山根茂樹、井出吉信、阿部伸一

東京歯科大学 解剖学講座

**目的** 類粘膜炎などの広範な粘膜摘出後において、咀嚼・嚥下機能を回復させるためには、粘膜直下に存在する筋層を再構築させる必要がある。我々はこれまでに日本家兎口腔粘膜上皮細胞シートと骨格筋芽細胞シートを積層した上皮細胞-筋芽細胞ハイブリットシートを開発し、構造維持に重要な細胞骨格タンパクや接着タンパクの観察を行ってきた。また現在は上皮細胞シートと筋芽細胞シートの間葉系細胞の層を挟んだり正常組織に近い三層構造の積層シートを作製に取り組んでいる。今回は日本家兎骨格筋芽細胞と間葉系細胞をさまざまな条件で共培養を行い、間葉系細胞が骨格筋芽細胞に与える影響について検討した。

**方法** 6ウェルプレートインサート上に日本家兎口腔粘膜から分離した骨格筋芽細胞を播種したものを用意し、コラーゲンゲルの有無ならびに日本家兎より採取した間葉系細胞との共培養の有無による影響について検討した。培養後筋芽細胞シートを回収し、凍結切片による組織学的な観察を行った。

**結果** 日本家兎由来骨格筋芽細胞は、間葉系細胞と共培養することによって単独の培養で観察されなかった重層化が促進されることがわかった。また、コラーゲンゲルを積層することによっても重層化が観察された。

**結論** 骨格筋芽細胞の重層化のメカニズムについては容細な検討が必要であるが、間葉系細胞とコラーゲンゲルは筋芽細胞の重層化に影響を与えていることが示唆された。

## 11 Localization of pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) receptor (PAC1R) in bone marrow of mice

徐枝芳、大滝博和、中町智哉、渡邊潤、塩田清二  
昭和大学医学部 顕微解剖学

Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP), is a neuropeptide and has been found to act as a neurotransmitter, neuromodulator and neurotrophic factor. Recently, although PACAP was also indicated to work on the blood cells, there is no evidence which blood cells are the targets for PACAP. Therefore, the purpose of this study is to determine one of PACAP receptor, the localization of PAC1R in the bone marrow by immunohistochemical analysis. The femur and tibia of mice were collected after perfusion fixation followed by decalcification with EDTA. The thin section was prepared by modified Kawamoto method. And then immune-fluorescence staining was performed, followed by Sudan Black B incubation to decrease the auto-fluorescence. In present study, PAC1R-like immunoreaction was detected in the parenchyma of mouse bone marrow. The bilobed and polymorphic nuclei were observed in the positive cells which were absorbed by the incubation of antibody and antigen. The double labeling staining results revealed that PAC1R-like positive cells were co-localized with Gr-1-like immunoreactions. These results suggest that PAC1R is expressed on the granulocytes in the mouse bone marrow.

## 12 摂食調節ペプチド GALP による抗肥満・脂質代謝改善メカニズムの解明

平子哲史<sup>1</sup>、影山晴秋<sup>2</sup>、竹ノ谷文子<sup>3</sup>、太田英司<sup>1</sup>、和田亘弘<sup>1</sup>、塩田清二<sup>1</sup><sup>1</sup>昭和大学・医・顕微解剖、<sup>2</sup>桐生大・医療保健・栄養、<sup>3</sup>星薬科大・薬・運動生理

**【目的】** ガラニン様ペプチド(GALP)は、視床下部弓状核ニューロンで産生される神経ペプチドであり、我々は主に形態学的手法によりこのペプチド含有ニューロンの分布・局在などを明らかにしてきた。GALPは多彩な生理作用を有しており、本研究ではGALPの抗肥満作用に着目し、特に肝臓での脂質代謝調節機構を明らかにした。【方法】生理食塩水あるいはGALPをマウスの脳室内に投与し呼吸商を測定した。解剖後、肝臓中の脂質代謝関連遺伝子のmRNAレベルを測定した。さらに肝臓脂質メタボローム解析を行った。また、末梢の交感神経遮断薬であるGuanethidineを腹腔内投与した後GALPを脳室内投与し、呼吸商を測定した。

**【結果】** 脳室内投与後およそ1時間後から呼吸商がGALP群でVehicle群と比較し有意に減少した。肝臓中の脂肪酸酸化に関与する遺伝子発現はVehicle群と比較しGALP群で有意に増加した。肝臓脂質メタボローム解析では、Vehicle群と比較しGALP群でPalmitoyl carnitineが増加した。また、GALP投与による呼吸商の減少は、交感神経遮断薬であるGuanethidine前投与により消失した。【まとめ】本研究の結果から、GALPは摂食調節作用に加え、肝臓での脂質代謝を改善することで抗肥満作用を示している事が示唆された。また、GALPによる肝臓での脂質代謝亢進作用は交感神経を介していることが明らかとなった。GALPの生理機能がより明らかになれば、新規の肥満や糖尿病の予防・治療開発につながると思われる。

## 13 授乳期母体の高栄養状態が仔の生殖機能発達に及ぼす効果

託見健、嶋田耕育、飯島典生、小澤一史

日本医科大学 大学院医学研究科 解剖学・神経生物学分野

Kisspeptinは視床下部の前腹側室周囲核(AVPV)と弓状核(ARC)に存在する神経細胞によって産生される神経ペプチドであり、生殖機能調節の重要な因子の一つである。げっ歯類において離乳後の栄養状態が生殖機能の発達とともにkisspeptin発現に影響することが知られているが、授乳中の母体の栄養状態が仔の生殖機能発達に及ぼす影響については明らかでない。本研究では、出産後から離乳まで高脂肪食を与えられたラットの仔の思春期発達とkisspeptin発現を解析した。

授乳期に高脂肪食を与えられたラットの仔(HFDL)は、通常食ラットの仔(NDL)に比べ膈開口が早まり、思春期が早期に誘導された。生後21日齢のkisspeptin発現をin situ hybridizationで解析したところ、ARCにおいてHFDLのkisspeptinニューロン数はNDLより有意に多かった。一方、AVPVでは差はみとめられなかった。HFDLはNDLに比べ、体重、内臓、皮下の白色脂肪細胞サイズ、血中レプチン濃度が有意に高かった。そこで、幼若期におけるレプチン投与の影響を検討したが、レプチン投与群とコントロール群のkisspeptin発現に差はみとめられなかった。

これらの結果より、授乳期の母体の高栄養は仔のARCのkisspeptin発現の増加を通して思春期の開始を早める可能性が示唆された。母体の高栄養によって仔の白色脂肪組織、血中レプチン量が増加したが、レプチン投与ではHFDLでみられたkisspeptin発現の増加が起こらなかったことから、HFDLにおいては血中レプチン量だけでなく、レプチン感受性など栄養状態のシグナル系が変化している可能性が考えられた。

## 14 性成熟に伴う GnRH ニューロンのスパインの解析

李松子、託見健、飯島典生、小澤一史

日本医科大学 大学院医学研究科 解剖学・神経生物学

思春期は、視床下部からのgonadotropin-releasing hormone (GnRH)の分泌増加によって始まり、個体は生殖能力を持つようになる。このGnRHを分泌する細胞は視床下部に存在しGnRHニューロンと呼ばれる。スパイン(spines)は神経細胞にみられる小突起であり、興奮性神経入力を受けるポストシナプスの神経解剖学的基盤である。本研究は、性成熟に伴うGnRHニューロンのスパインの可塑性に着目し、GnRH-EGFP transgenic ラットを用いて思春期前後のGnRHニューロンのスパインの形態学的解析を行った。3週齢と8週齢の雄、雌(発情間期)のGnRH-EGFP transgenic ラットと共焦点レーザー走査型顕微鏡を用い、GnRHニューロンの細胞体と樹状突起におけるスパインを解析した。スパインの数は細胞体から50μm以内の樹状突起区間で最も多く、細胞体から離れるほど減少した。細胞体のスパイン数は、雄においては8週齢で3週齢より有意に増加した。また、雌においても増加する傾向が見られた。細胞体から50μm以内の樹状突起区間では、雄雌ともに8週齢で3週齢よりスパインの数が有意に増加した。細胞体から50μm以上離れた樹状突起区間では、雄雌ともに8週齢と3週齢の間で有意な差は見られなかった。幼若期に比べて成体ではGnRHニューロンの細胞体と近位樹状突起により多くの神経入力を受けていると考えられ、スパインの変化は性成熟と連関するGnRHニューロンの機能形態変化に関与する可能性が示唆された。

## 15 熱ストレスによる精巣障害後の精巣評価

桐山 恵介、澤 智華、岸 聡美、齋藤 智美、木村 愛、平子 哲史、塩田 清二

昭和大学 医学部 顕微解剖学

精子発生は高温による影響を受けやすく、疾患などにより精巣が長期間高熱に曝されることで起こる精巣機能の障害や不妊が報告されている。本研究では、マウスの精巣温浴障害モデルを作製し、熱ストレス暴露後の精子発生を経時的に観察することで精子発生能の回復過程を評価した。

精巣障害モデルは、雄性C57BL/6Jマウス(9週齢)を麻醉下で下半身のみ43℃の温水中に15分間浸して作製した。処置後、経時的に精巣を摘出し、片側の精巣はブアン固定後にパラフィン切片を作製し、組織標本はHE染色を行って形態組織学的に観察した。片側の精巣ははさみで切断後、Propidium iodide (PI)によるDNA染色を行い、細胞の核相をフローサイトメーターで分析することで、精巣に含まれる各生殖細胞の割合を評価した。

処置から7日後のマウスの精巣は萎縮が見られ、精巣重量は処置前に比べ有意に低下し、56日を経ても重量は回復しなかった。しかし組織標本の観察では精子形成能の回復が見られた。処置後7日の精細管内では多くの精母細胞・精子細胞・精子が欠如していたが、28日や35日の精細管内では精母細胞・精子細胞が増え、56日には多くの精子が観察された。また、フローサイトメーターによる解析では、DNA量により精子(Sub-n)、精子細胞(n)、精祖細胞・Sertoli細胞・Leydig細胞(2n)、精母細胞(4n)の4つの集団に分けることができる。この方法により、精巣に含まれる各細胞の割合を解析し、組織学的解析との相関関係をみる予定である。