

日本解剖学会

第77回中部支部学術集会

会期：平成28年10月7日（土）、8日（日）
会場：藤田保健衛生大学生涯教育研修センター2号館

101 視床下部外側野に投射するマウス嗅皮質領域の発見

木下智貴 1、村田航志 1、小林憲太 2、深澤有吾 1、山口正洋 3、森憲作 4、眞部寛之 5
1. 福井大学医学部脳形態機能学分野、2. 生理学研究所ウイルスベクター開発室、3. 高知大学医学部生理学講座、4. 東京大学、5. 同志社大学脳科学研究科神経回路情報伝達機構

【目的】嗅覚は摂食行動をはじめ様々な行動を誘起するが、その神経メカニズムはよくわかっていない。嗅覚入力から摂食行動に至る神経経路を調べるために、我々はマウスを用いて摂食中枢領域である視床下部外側野からの逆行性神経回路標識実験を行った。

【材料と方法】8-10 週齢の野生型マウスの視床下部外側野に逆行性蛍光色素トラーサー (cholera toxin subunit B-Alexa 555) を微量注入し、嗅皮質領域の薄切標本を作製して観察した。改変型狂犬病ウイルスを用いた神経経路標識 (TRIO 法) により、視床下部外側野に投射する嗅皮質領域への入力経路を観察した。

【結果】視床下部外側野から逆行性標識された細胞は olfactory peduncle の後腹側領域にも分布した。この領域：area X は ventral tenia tecta と前梨状皮質の間、嗅結節と側坐核の前側に位置していた。area X は抗 DARPP-32 抗体染色に対して陰性であり、腹側線条体とは区別された。TRIO 法により、area X のニューロンは嗅球の投射ニューロンからシナプス入力を受けることが示唆された。嗅球以外では、area X のニューロンは前嗅核、前梨状皮質、嗅結節からシナプス入力を受けることが示唆された。

【結論】嗅皮質には視床下部外側野に投射のある亜領域が存在する。

【参考文献】Schwarz et al. Nature 2015 Aug 6;524(7563):88-92 Viral-genetic tracing of the input-output organization of a central noradrenergic circuit.

102 下丘神経細胞の形態学的特徴と音刺激に対する応答性との関連

伊藤 哲史
金沢医科大学 医学部 解剖学 II

中脳にある聴覚神経核である下丘は、下位の聴覚神経核で抽出された音情報を再統合することによって、自然界に存在する複雑な音を表象すると考えられている。下丘のニューロンはその形態学的な性質から、興奮性、大型抑制性、小型抑制性細胞の3者を同定することが可能である。このうち大型抑制性ニューロンは異なる音情報を符号化するさまざまな神経核からの入力を収束することから、音情報を統合し複雑な音への応答性を作り出すことが想定される。本研究では、下丘細胞の樹状突起や軸索の形態、入力様式が細胞種によってどのように違いがあり、それが音への応答性とどのように関係があるのか傍細胞記録・染色法を用いて検討した。

結果として、大型抑制性細胞や小型抑制性細胞は時間変化する音に対する選好性があることが明らかとなった。大型抑制性細胞は掃引周波数変調音に対して強い応答性を示した一方、小型抑制性細胞は速い正弦周波数変調に対して高い位相追従を示した。これと対応するように、興奮性細胞の樹状突起は単一の層板に限局する傾向があった一方、抑制性細胞の樹状突起は複数の層板をまたぐことや、大型抑制性細胞は非常に多くの細胞から入力を受けることが明らかになった。軸索の展開様式にも大型抑制性細胞と興奮性細胞には違いが見られた。すなわち、下丘細胞の樹状突起や軸索の展開はある種の音刺激応答性と関連があることが明らかになった。

103 マウス前庭器官における ASIC1b の発現と分布

名古屋市立大学大学院医学研究科 機能組織学分野
○柴田泰宏、星川真理子、熊本奈都子、植田高史、瀧川眞也

蝸牛有毛細胞の感覚毛には聴覚受容体すなわち機械刺激電気変換チャネル (mechano-electrical transduction channel; MET チャネル) が存在し、鼓膜の振動に由来する機械刺激 (感覚毛の屈曲) を電気信号に変換しているが、その分子実体は不明である。マウス蝸牛有毛細胞には、線虫における機械刺激受容チャネル degenerin の哺乳類ホモログである ASIC1b (acid-sensing ion channel-1b) が発現しているが、前庭器官 (球形嚢・卵形嚢・半規管) の有毛細胞における ASIC1b の発現様式についてはこれまでに報告が無い。そこで、前庭系有毛細胞における ASIC1b の発現とその細胞内局在について、主に形態学的手法を用いて解析した。In situ hybridization 法を用いて前庭器官における ASIC1b の発現を検討したところ、球形嚢斑・卵形嚢斑・半規管膨大部後縁の有毛細胞 (生後7日齢および8週齢、C57BL6/J) に ASIC1b mRNA の強い発現を認めた。抗 ASIC1 抗体を用いた Western blot 解析を行ったところ、前庭器官の蛋白質抽出物において、ASIC1b と思われる約 66 kDa のバンドを認めた。半規管膨大部後縁の有毛細胞に対して免疫組織化学および免疫電顕を施行したところ、感覚毛に ASIC1b の免疫陽性反応を認めた。マウス内耳の前庭系有毛細胞の感覚毛に ASIC1b が発現していた。今後、ASIC1b 遺伝子欠損マウスを使って、前庭機能における ASIC1b の役割を調べる必要がある。(COI: なし)

104 神経軸索ガイダンス因子 FLRT2 による胎盤血管形成の関与

山岸覚¹⁾、田井育江²⁾、吉川祐輔²⁾、久保田義顕²⁾、佐藤康二¹⁾
¹⁾浜松医科大学器官組織解剖学講座、²⁾慶應義塾大学医学部解剖学講座

胎盤は母体血液と胎児血液がガス交換を行う場であり、胎児発生には非常に重要な器官である。発生が進行するにつれて胎盤も成長し、迷路層において複雑な血管絨毛が形成される。神経軸索ガイダンス因子 Unc5B 受容体は血管内皮細胞に発現し、ノックアウトマウス (KO) は胎盤の血管形成不全を引き起こし、胎生致死となることが知られている。しかしながら、この分子のリガンドである Netrin ではこのフェノタイプが見られず、内在性リガンドに関してはこれまで不明であった。我々は近年、Unc5 に結合するリガンドとして FLRT ファミリーを見出した (Yamagishi et al., EMBO J., 2011)。従って、FLRT2 が Unc5B の内在性リガンドとして作用しているのではないかと考え、解析を行った。FLRT2 は胎盤迷路層の血管内皮細胞に特異的に発現しており、FLRT2 ノックアウトマウスは胎生 12.5 日齢で胎生致死となり、胎盤迷路層の血管形成不全のフェノタイプを示した。迷路層における胎児血液流入量が少なく、胎児は低酸素状態となっていた。この迷路層における血管形成不全フェノタイプは Unc5B ノックアウトマウスと一致していた。また、HUVEC に対する FLRT2 に対する回避反応が Unc5B をノックダウンすると消失したことから、Unc5B を介した反発作用であることも明らかとなった。これらの結果はいずれも FLRT2 が Unc5B 受容体のリガンドとして作用することを示している。すなわち、長年不明であった Unc5B の内在性リガンドは Netrin ではなく、FLRT2 であることが明らかとなった (Tai et al., Development, 2017)。

105 母体 Poly (I:C) 投与による胎盤 TLR3 シグナルの亢進は脱落膜中の母体由来細胞で生じる

塚田 剛史¹⁾、島田 ひろき¹⁾、王 賀¹⁾、坂田 ひろみ¹⁾、東海林 博樹²⁾、八田 稔久¹⁾

¹⁾金沢医科大学 解剖学I、²⁾金沢医科大学 生物学

【目的】母体感染は、児が発達障害に罹患する危険因子と考えられ、その病態形成に胎盤における免疫亢進が関与していることが報告されている。そこで、マウスの母体ウイルス感染モデルを使用し、胎盤における免疫亢進部位を調べた。【方法】C57BL/6J マウスを使用し、妊娠 12.5 日に Toll-like receptor 3 (TLR3) のリガンドである poly(I:C)20mg/kg を腹腔内に投与し免疫亢進を生じさせ、3 時間後に胎盤を採取した。TLR3 シグナリングに関連した分子の局在を、免疫組織化学的に解析した。免疫亢進が認められた細胞が母体由来か胎児由来かを明らかにするため、EGFP トランスジェニックマウス胎盤を使用し同様の観察を行った。【結果】両群とも、TLR3 および TLR3 シグナリングのアダプター分子である TRIF は、脱落膜中の細胞と栄養膜細胞に局在していた。リン酸化された Interferon regulatory factor3 (pIRF3) の陽性反応は、脱落膜中の細胞に認められ、Poly(I:C)投与群で pIRF3 陽性細胞の増加が認められた。pIRF3 陽性反応は、EGFP 非陽性細胞に認められた。【結論】胎児由来の細胞に EGFP が発現するアッセイ系を作成することで、脱落膜中の由来の異なる細胞を区別することが可能であり、母体 poly(I:C)投与による胎盤 TLR3 シグナルの亢進は、脱落膜の EGFP 非陽性細胞、すなわち母体由来細胞で生じることが示唆された。

106 ヒト由来の新しい生体吸収性材料の開発とその安全性・分解性評価

岡部素典、吉田淑子
富山大・院・医学薬学研究所(医)・再生医学

ヒト羊膜を独自の方法で乾燥させたハイパードライヒト羊膜(HD羊膜)を医療機器として開発し、種々の疾患に対し被覆材や足場として利用してきた。HD羊膜の安全性・分解性について評価することを目的とした。ICの得られた妊婦で帝王切開症例より羊膜を採取し、生理的食塩水で洗浄後、マイクロ波、遠赤外線、真空を調整できる装置(Hyper-Dry)で作製した。1)安全性試験①麻酔下マウスに1cm四方あるいは折りたたんで皮下と腹腔に移植し、18ヶ月後に剖検した。②5X5mmを培養皿にコーゲンゲルで接着後、細胞を嚙種し、48hr培養した。2)分解性試験①麻酔下ラットの脊髄硬膜欠損部位にHD羊膜でパッチし、骨蠟を充填して閉鎖した。抗ヒトコーゲンTypeIII抗体を用いて染色した。②HD羊膜を直径5mmの円形に切り出し、0.1%コラゲナーゼ-PBS溶液を1ml添加後、37°Cで消失するまで観察した。1)安全性試験①単層のHD羊膜移植片は、皮下・腹腔ともに吸収された。折りたたんだものは皮下で残存が確認されたが、炎症や拒絶反応はなかった。②HD羊膜は接触毒性(細胞毒性)がなかった。HD羊膜は安全で、生体内で分解され、臨床への利用が可能であると考えられた。

107 右内頸動脈基部から起こった後頭動脈とその枝の上行咽頭動脈の一例

白石昌武、中村恒夫、堀紀代美、奥田洋明、尾崎紀之

金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学

【目的】解剖学実習で観察された右内頸動脈分岐部前方から分岐した動脈の走行と分布領域を明らかにすることを目的とした。
【方法】平成29年度金沢大学医薬保健研究域医学系解剖学実習での御遺体1体(89歳、男性、死因：肝門部胆管癌)の右側頸動脈を肉眼解剖学的に観察した。
【結果】右総頸動脈の内頸・外頸動脈分岐部の内頸動脈起始部前方から分岐した動脈が、舌下神経の内側を上方へ走行後、内頸静脈の外側を上行して頸2腹筋の起始部内側の後頭動脈溝を通り後頭部に分布した。また、途中、後頭動脈溝を通った後で胸鎖乳突筋への枝を分岐していた。以上の走行と分布から本動脈を後頭動脈と同定した。また、この後頭動脈が舌下神経の内側を通った後、前方より上行咽頭動脈が分岐し、内頸動脈の外側を上行していた。上行咽頭動脈は数本の枝を出しつつ上行し、頭蓋底への枝を出した後、下前方へ向きを変えて最終的に口蓋帆挙筋と口蓋帆張筋の間を通り軟口蓋に分布していた。総頸動脈からの内頸動脈と外頸動脈の分岐部は正常よりやや高く舌上縁付近であった。対側左の総頸動脈からの動脈分岐は正常であった。
【考察】後頭動脈が内頸動脈から分岐する頻度は血管造影法により0.2%であることが報告されている。本例の後頭動脈は遺残前環椎分節動脈1型(persistent proatlantal artery type 1: PPA-1)が推察されるが、内頸動脈の起始部から起こることや椎骨動脈との吻合が確認されないこと、上行咽頭動脈が分岐することなども含め、さらなる考察が必要と思われる。上行咽頭動脈が口蓋帆挙筋と口蓋帆張筋の間を通り軟口蓋へ分布することはその発生頻度も含めて報告がなく、さらなる調査および検討が必要と思われる。内頸動脈の開塞や狭窄の診断、超選択的血管内化学療法などのため、特に総頸動脈の分岐様式の理解は重要である。

108 後縦靭帯の脊柱管に対する被覆率の性別・椎体高位による差の研究

○小出益徳、佐久間英輔、井上浩一、篠原良章、森本浩之、浅井勇人、額真之介、和田郁雄、植木孝俊(名古屋国立大学大学院 医学研究科統合解剖学)

【目的】椎間板ヘルニアの脱出方向に影響を与えているとの指摘がある。しかし、後縦靭帯が頸椎レベルと腰椎レベルではどうした関係があるのかについての研究は現在までにほとんどされていない。さらに、形態学的にまだ不明な点が多く、後縦靭帯の形態学的研究を行った。【材料と方法】2015 & 2016年度の肉眼解剖学実習中に解剖実習遺体について計測、研究した。献体はホルマリン固定された解剖実習体である。実際に計測した検体数は男性29体、女性29体の合計58体に対して以下の4つを実施した。①系統解剖実習中の献体を用いて、後縦靭帯の脊柱管に対する被覆率について計測する。②頸椎レベルと腰椎レベルでの後縦靭帯の脊柱管に対する被覆率を統計学的に検討する。③男性と女性で後縦靭帯による脊柱管被覆率に差があるかどうかについて統計学的に検討する。④椎間板ヘルニアの脱出方向に与える影響としての本研究の予想される成果と過去に他機関にて発表された論文とを比較して検討する。【結果】後縦靭帯の脊柱管に対する被覆率は胸椎レベルまたは腰椎レベルよりも頸椎レベルの方が有意(p<0.01)に高く、特にC4/5椎間板レベルとC5椎骨レベルとの間で最大であった。後縦靭帯の脊柱管に対する被覆率の性差はなかった。後縦靭帯骨化症の高い発生率と頸部で椎骨部分C4、5、6性に見られる椎間板退化に、後縦靭帯の表層の幅に関する結果は、関連している可能性が示唆された。

109 超音波診断装置を用いた三角筋での適切な筋注部位と肘窩の皮静脈の目視可能な条件に関する研究

1)金沢大学保健学系看護科学領域、2)金沢大学大学院保健学専攻看護科学領域
○中谷壽男¹⁾、向井加奈恵¹⁾、中島由加里²⁾

【目的】(研究1)三角筋での適切な筋注部位と(研究2)肘窩の皮静脈の目視可能な条件の検討のために、生体で超音波診断装置(エコー)を用いて研究を行った。【方法】(研究1)肩峰外側縁の前後1/2のa点から降ろした垂線が前後腋窩線(前腋窩線と後腋窩線の頂点を結ぶ線)と交わる点をb点、線分abを三等分、二等分し、1/3ab点、1/2ab点、2/3ab点、b点を測定点とした。各測定点からa点と後上腕回旋動脈までの距離、エコーで、後上腕回旋動脈の有無(腋窩神経は観察不可能だったので伴行するこの動脈を観察)、三角筋の厚さ、皮下脂肪の厚さを測定し、各値を比較し、最も筋注に適切な部位を検討した。(研究2)駆血前後で、肘窩の皮静脈(橈側・肘正中・尺側皮静脈)の目視可能不可能を判断後、エコーにてその皮静脈を同定・撮像した。皮膚から皮静脈までの距離(皮静脈の深さmm)と皮静脈のサイズ(長径mm×短径mm)を測定した。金沢大学医学倫理委員会の承認を受け実施した(承認番号HS28-6-1)。【結果と結論】(研究1)後上腕回旋動脈は、1/2ab点から2/3ab点の付近を走行した。b点では、男性14.7-32.0mm、女性13.7-23.6mmであり、他の部位より厚かった。三角筋の筋注は前後腋窩線のb点で行うのが望ましいことが判明した(研究2)目視可能な皮静脈の89.1%が皮静脈の深さ<3mm、91.3%が皮静脈のサイズ≥2.5mm²であった。目視不可能な皮静脈の64.3%が皮静脈の深さ≥3mm、42.9%が皮静脈のサイズ<2.5mm²であった。肘窩の皮静脈の可視性には皮静脈の深さが静脈のサイズよりも影響することが判明した。

110 超音波ガイド下マーキング法を用いた運動器領域における超音波画像と肉眼解剖所見との整合性

徳田 仁志¹⁾、奥田 洋明²⁾、堀 紀代美²⁾、白石 昌武²⁾、中村 恒夫²⁾、尾崎 紀之²⁾

1. 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科機能解剖学
2. 金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学

【目的】超音波診断装置(エコー)にて正確な同定が難しく、かつ臨床的意義の高い運動器の構造物①烏口上腕靭帯(CHL)、②オズボーンバンド(OSBB)、③三角線維軟骨複合体(TFCC)、④膝内側側副靭帯後斜走靭帯(POL)、⑤パセット靭帯(BSTL)について、解剖体を用いてエコー画像と解剖所見の整合性を検討することを目的とした。【材料と方法】解剖体を用いてエコーガイド下で同定し、マーキング剤を注入した後、肉眼解剖学的に剖出し、エコー画像と解剖所見の整合性を検討した。対象構造物を標識するマーキング剤には着色したラテックスを用い、酢酸水溶液を加えることで凝固を促進させた。整合可能群の頻度の95%信頼区間(Confidence interval: CI)を算出し、CIの最小値>0.5かどうかで、エコーと解剖所見との整合性を各々の構造物で分析した。【結果】各対象構造物のCI(95%)は次のような結果となった。①CHL 0.729 ~ 1.035、②OSBB 0.857 ~ 1.006、③TFCC 0.492 ~ 0.753、④POL 0.448 ~ 0.751、⑤BSTL 0.661 ~ 0.909であった。CHL、OSBB、BSTLはCIの最小値>0.5の条件を満たすため、エコー画像上同定した構造物と、肉眼解剖所見との整合性が確認できた。【結論】運動器エコーの診断能の有用性と限界を明らかにすることができた。

111 Na/K-ATPaseの神経細胞膜上発現分布の定量的局在解析

○石川達也、村田航志、黒田一樹、深澤有吾
福井大学医学部脳形態機能学領域

Na/K-ATPase (NAK)は、Na⁺イオンとK⁺イオンの細胞内外の非対称性分布形成を担うイオンポンプであり、膜電位の形成や各種細胞内シグナル伝達系の動作環境の形成を担う重要な分子である。近年、NAKの基本サブユニットであるαサブユニット(NAKα)の機能阻害や異常がアルツハイマー病やジストニアの発症に関与するとの報告が相次いでおり、イオンの流入を頻繁に行う神経細胞でのNAKαの役割を理解する重要性が高まっている。しかし、神経細胞毎のNAKαの細胞膜上発現レベルの違いや、シナプスや樹状突起、細胞体等の神経細胞における機能ドメイン毎の発現レベルの違いについては不明である。そこで本研究では、SDS処理凍結割断レプリカ免疫標識法を用いて、生後8週齢のマウスにおけるNAKαの発現分布を海馬内の複数の神経細胞層を対象に機能ドメイン単位で解析し、その細胞膜上の発現様式を明らかにする事で、神経細胞におけるNAKαの役割の一端にせまる事を目的とした。

その結果、歯状回顆粒細胞の細胞体、樹状突起及び樹状突起スパインの間でNAKαの標識密度に有意な差は認められなかったが、海馬CA1錐体細胞では細胞体や樹状突起スパインに比べ樹状突起のNAKαの総発現密度が有意に高かった。さらに、海馬CA1錐体細胞の樹状突起上のNAKα標識密度は歯状回顆粒細胞のそれに比べ有意に高かった。

本研究結果より、神経細胞膜上におけるNAKαの発現様式は機能ドメイン毎に(特に樹状突起上)で細胞種依存的な調節を受けている事が示唆された。

112 肝由来細胞における核内脂肪滴の動態

○大崎 雄樹、ソウティシク カミル、程 晶磊、藤本 豊士
名古屋大学大学院医学系研究科 機能形態学講座分子細胞学

肝由来細胞では核内脂肪滴が核膜陥入構造 (Nucleoplasmic reticulum; NR) に近接して存在する。肝由来細胞株 Huh7 における核内脂肪滴の形成起源を調べたところ、小胞体内腔で形成された VLDL 前駆体が核膜槽、核膜陥入構造 (Nucleoplasmic reticulum; NR) 内腔を逆流して、何らかの機構により NR 膜を透過して核質に移動したものであることが判明した。小胞体ストレス誘導因子ツニカマイシン (TN) 処理により VLDL 分泌阻害と ER 内腔拡大が起こり、上記の核内脂肪滴形成機序が亢進した。一方核内脂肪滴の表面では、脂肪滴の代表的なタンパク質である Plin3 とホスファチジルコリン (PC) 新規合成経路の律速酵素である CCT α が競合的に存在していた。Plin3 発現抑制時には CCT α の核内脂肪滴局在および細胞の PC 合成活性が亢進し、TN 処理に対する小胞体ストレス応答マーカー p-eIF2 α の増加が抑制されていた。これらの結果から、肝由来細胞では Plin3 発現抑制により増加する核内脂肪滴表面の活性化型 CCT α が PC 合成を促進し、細胞の小胞体ストレスの軽減に寄与するものと示唆された。

113 Tonotopic organization in autistic-like rat animal model exposed to thalidomide: a preliminary study.

三重大学大学院 医学系研究科 生命医学専攻 (博士課程)¹、
発生再生医学²
○次山ルシラ絵美子¹、江藤みちる²、大河原剛²、成田正明²

[Introduction] Autism Spectrum Disorder is characterized by difficulties in social interaction, communication, repetitive behavior and sensory abnormalities, such as hyperacusis. The superior olivary complex, a group of auditory brainstem nuclei, is a component of the auditory pathway and our recently study, conducted in thalidomide (THAL) exposed rats suggests that impairments in the inhibitory processing in the auditory brain center might be related to auditory hypersensitivity (Iida-Eto, et al., 2017). To identify whether abnormal auditory functional organization is present, we performed a preliminary study. [Methods] All experiments were approved by the animal research committee at Mie University. Juvenile rats (P47-50) were placed in a sound-attenuated box for 30 minutes without sound stimulation, followed by a 16-kHz (62 dB or 70 dB) sound stimulation for 1 hour (S+) or no stimulation at all (S-). Immediately after, they were anesthetized and perfused transcardinally with 4% paraformaldehyde and the brainstem was sectioned (50 μ m) and immunohistochemistry was performed. [Results] 62 dB S+ animals showed c-Fos positive expression consistent to 16 kHz tonotopic band in the cochlear nucleus (CN), inferior colliculus (IC), and medial nucleus of the trapezoid body (MNTB). When stimulated with 70 dB, the tonotopic band could not be recognized, especially in the MNTB, due to c-Fos over-expression. [Conclusion] 16 kHz S+ animals showed a tonotopic band consistent to 62 dB and 70 dB produced c-Fos over-expression in the rat brain, mainly in the MNTB.

114 子宮内膜癌組織に存在する CD133+CXCR4+細胞の性質

吉田淑子、孫 毅、岡部素典
富山大・院・医学薬学研究部 (医)・再生医学

癌幹細胞 cancer stem cell (CSC) の撲滅が癌根絶をもたらすために不可欠であると考えられ、これらを標的とした治療薬が次々と開発されている。しかし、婦人科癌では、患者組織から CSC を同定したという報告は未だになされていない。本研究では、子宮内膜癌 (endometrial carcinoma: EC) の患者組織から CSC を単離することを目的とし、細胞表面マーカー CD133 およびケモカイン受容体 CXCR4 が、CSC を単離するのに有効なマーカーと成り得るかを検討した。

富山大学付属病院において外科的に処理された子宮組織から単離した細胞について、表面マーカーと幹細胞関連 mRNA の発現の相関を FACS 法及び PCR 法を用いて検討した。CD133+CXCR4+細胞を EC 細胞から分取し、sphere 形成能、colony 形成能、抗がん剤に対する抵抗性およびヌードマウスにおける腫瘍形成能について検討した。

CD133+CXCR4+細胞は、幹細胞関連分子を高発現し、CSC 様の細胞特性を示すこと、Nude mouse への移植実験では強い腫瘍形成能を有することから、EC の CSC である可能性が示唆された。CD133 および CXCR4 は、子宮内膜癌患者組織から CSC を単離するのに有効なマーカーである。

115 リプログラミングによる口腔がん幹細胞様細胞樹立の試み

平島 寛司、岳 鳳鳴、友常 大八郎、佐々木 克典
信州大学医学部組織発生学教室

がん治療を困難なものとする転移と再発の原因として、腫瘍組織にごく少数存在し多分化能や薬剤耐性を持つ“がん幹細胞”の存在が注目されている。がん幹細胞は極めて希少であるため、“探す”のではなく類似の細胞を人工的に“作り出す”手法によって、既にいくつかの人工がん幹細胞が樹立された。これは、分化した体細胞から iPS 細胞を樹立する際に用いるリプログラミング、すなわち山中 4 因子の導入により、がん細胞の分化段階を巻き戻し、がんの記憶を保持したままの未分化細胞を作成する方法である。

我々は口腔扁平上皮がん細胞である HSC-3-M3 (舌がん)、Ca-9-22 (肉がん)、KON (口底がん) のセルライン 3 株にリプログラミングを行い、人工がん幹細胞様細胞の樹立を試みた。各種がん幹細胞・未分化マーカー、上皮間葉転換 (EMT) マーカーの発現や、ES/iPS 細胞様コロニー形成について検討を行った。リプログラミングの結果、3 種類の口腔腫瘍株は、線維芽細胞様の形態から細胞塊状の形態に変化した。リプログラミング直後に各種がん幹細胞マーカー (CD133, ALDH1 等)、未分化マーカー (Oct3/4, Nanog 等) の発現の変化や、一部の EMT マーカー (Snail, ZEB1 等) の変化が確認されたが、*in vitro* で維持可能な ES/iPS 細胞様コロニーの形成には至らなかった。これらの結果を、リプログラミング大腸がん細胞株と比較して報告する。(COI: なし)

116 グルタミン酸付加酵素 TTLL4 は赤血球形質膜裏打ち細胞骨格構造の維持に必要である

Ijaz Farya¹、池上浩司¹、瀬藤光利¹
¹浜松医科大学 細胞分子解剖学講座

赤血球の形質膜直下にはアクチンやスペクトリンなどを主成分とする膜骨格が存在する。本研究では、造血組織において発現が報告されているチューブリンチロシンリガーゼ様 (Tubulin-tyrosine-ligase-like: TTLL) タンパク質の一つ TTLL4 の血球細胞における役割を明らかにすることを目的とし、Tll4-KO マウスを解析した。Tll4-KO マウスでは塗抹標本における赤血球数が野生型マウスに比べ有意に増大した。Tll4-KO マウスでは赤血球ゴーストの膜骨格に見られる格子細孔密度が野生型マウスに比べ有意に減少した。Tll4-KO マウスはフェニルヒドラジンによる酸化ストレス性溶血に対して野生型マウスに比して感受性が高く、有意な赤血球数の減少と顕著な脾腫を示した。TTLL4 の基質として野生型マウスの赤血球膜画分に存在するスクレオソーム集合タンパク質 1 (NAP1) が同定された。野生型マウスの赤血球ではグルタミル化 NAP1 は細胞質画分に比べ膜画分でより多く検出された。非グルタミル化状態の Tll4-KO マウス NAP1 はグルタミル化された野生型 NAP1 に比べ、高塩濃度条件下で赤血球細胞膜画分から容易に遊離した。以上のことから、TTLL4 が赤血球の形態維持、膜骨格構造の維持、酸化ストレスに対する耐性に必要であることが明らかとなった。その分子基盤として TTLL4 によるグルタミル化依存的な基質 NAP1 の赤血球膜あるいは膜骨格に対する静電相互作用の増強が示唆された。

117 ミクログリアマーカー Siglec-H の発現特性と機能

小西博之¹、小林正明¹、佐藤克明²、木山博資¹

¹名古屋大学 大学院医学系研究科 機能組織学

²宮崎大学 医学部医学科 感染症学講座免疫学分野

脳内には何種類かのミエロイド細胞が存在する。ミクログリアは脳実質に存在するのに対し、脳内マクロファージは血管周囲、髄膜や脈絡叢といった脳の境界部位に存在する。また、血液脳関門の破綻を伴う損傷時や炎症時には、血中から脳実質へ単球が浸潤することも知られている。現在ミクログリア特異的マーカーとして Iba1 や CD11b が良く用いられているが、それらの分子はミエロイド細胞に広く発現しているため、脳内でミクログリアと他のミエロイド細胞を区別することができない。今回、1 回膜貫通型タンパク Siglec-H がマウス脳内でミクログリア特異的マーカーとなることを報告する。Siglec-H 特異的抗体を用いた免疫組織化学により、Siglec-H は脳実質のミクログリアに発現するが、大部分の脳内マクロファージや浸潤単球には発現しないことが明らかとなった。さらに、*Siglech* 遺伝子座がミクログリア特異的遺伝子座に変異を有する可能性が示された。また、*Siglech* ノックダウンマウスを用いた解析から、Siglec-H は神経損傷後のミクログリアの炎症性反応を抑制することを見出した。以上の結果から、Siglec-H は抗炎症性作用を持つミクログリア特異的マーカー分子であることが示された。

118 ミクログリアにおけるリン酸化酵素 SGK1 の機能解析

井上浩一、浅井勇人、佐久間英輔、植木孝俊

名古屋市立大学医学研究科統合解剖学分野

中枢神経における非神経細胞であるミクログリアは他の脳内の細胞と異なり骨髄由来の細胞と考えられており、中枢神経系において免疫応答や炎症反応に重要な役割をはたしている。一方、Serum- and glucocorticoid-inducible kinase 1 (SGK1) はストレスや栄養因子などにより誘導されるリン酸化酵素で、糖尿病、高血圧などに関与することが知られている。今回我々はミクログリアにおける SGK、特に SGK1 の意義をミクログリア細胞株を用いて検討した。まずミクログリア細胞株 (BV-2 細胞・N9 細胞) における SGK サブタイプとして SGK1 と SGK3 の発現が認められた。BV-2 細胞を LPS 投与により活性化すると、刺激誘導型一酸化窒素 (NO) 合成酵素 iNOS や炎症反応を惹起するサイトカイン TNF α の mRNA が増加した。LPS と共に SGK 阻害剤を投与したところ、iNOS と TNF α の発現レベルはさらに上昇した。SGK 阻害剤による iNOS 蛋白の増加はウェスタンブロット法によっても確認され、また、NO の産生も SGK 阻害剤の投与により増強した。続いて、SGK1 遺伝子を CRISPR/Cas9 システムを用いて破壊した。SGK1 遺伝子の破壊による SGK3 蛋白の発現変化は認められなかった。SGK1 遺伝子破壊株 (SGK1KO) と野生型の形態を比較したところ、活性化したミクログリアでしばしば見られるアメボイド型の細胞が SGK1KO では野生型に比べ有意に多く観察された。また、SGK1KO 細胞では細胞増殖の速度が増加し、ATP 刺激に対する感受性が増加した。これらのように SGK1 遺伝子の破壊により主に活性化されたミクログリアで見られる表現型が認められることから、SGK1 はミクログリアの活性を抑制している可能性が示唆される。

201 正常マウス神経細胞質内に観察される鍍銀陽性小体(核小体様封入体)の染色性について

○加藤好光¹⁾、平山将也¹⁾、山本亜友美¹⁾、金子千之¹⁾、酒井一由²⁾¹⁾ 藤田保健衛生大学 医療科学部 臨床検査学科²⁾ 藤田保健衛生大学 医療科学部 臨床工学科

【目的】神経細胞質内核小体様封入体については、1960年代よりマウス視床下部などの電顕観察で報告されているが、光顕所見の報告は無い。我々は1982年電顕用に固定した青斑核領域のパラフィン切片をHolmes鍍銀染色した時、細胞質内鍍銀陽性小体に気づき、光顕所見を報告した。本研究は鍍銀陽性小体の染色性について固定液の違いによる変化があるか否かを検討した。【材料及び方法】研究には成熟雄マウスを使用し、10%ホルマリン固定、ホルマリンとグルタルールの混合固定、グルタルール固定、更にホルマリン固定後にグルタルール固定した脳について検索した。すべてのマウスは深麻酔下で灌流固定している。その後、型のごとくパラフィン包埋し、5 μ mの切片を作製してHolmes(鍍銀)変法を施した。【結果及び考察】ホルマリンで固定された脳実質は肉眼的に白く、柔らかさがあつた。グルタルール入りの固定液では、グルタルールの濃度・固定時間により、脳は固く、色が濃くなつていった。それぞれの固定液で固定された青斑核領域のパラフィン切片をHolmes(鍍銀)変法で染色すると、ホルマリン固定では細胞質が萎縮し濃染するため、封入体の存在は不明であつた。グルタルールで硬く固定された脳切片では神経細胞の萎縮が少なく、封入体も鮮明に観察された。当初、パラフィン切片での発表が無かつた理由として、ホルマリン固定が使用されていたためであり、封入体の検索にはグルタルール入りの固定が必須であつた。また一旦ホルマリン固定した脳もグルタルール後固定で封入体が検索できる事を確認した。今後、ヒト脳においてもグルタルール固定後のHolmes変法の有用性を検討したい。

202 MHC欠損マウスの線条体におけるシナプスの異常に関する研究

○深澤元晶¹⁾、長尾静子²⁾、森山陽介¹⁾、白田信光¹⁾¹⁾ 藤田保健衛生大学 医学部解剖学 II、²⁾ 疾患モデル教育研究センター

【目的】MHC(主要組織適合遺伝子複合体)クラスI分子は、中枢神経細胞に発現し、発達過程の神経突起の刈り込み・シナプス形成に関与する。軽鎖(β 2m)欠損マウスにおいて、行動の衝動性および線条体の神経可塑性に異常があると示唆されている。本研究では、軽鎖欠損マウスの中脳ドパミン神経細胞とその投射先である線条体の中型有線神経細胞(MSN)についてシナプス密度について検討した。【材料及び方法】 β 2m欠損マウス10週齢および4週齢を用いた。免疫染色では、抗Synaptophysin(Syn)抗体(シナプス)、抗Tyrosine hydroxylase (TH)抗体(ドパミン神経)、抗GABA抗体(側坐核MSN)を用いた。spineの観察には、Golgi-Cox染色を行い、明視野及び反射光による顕微鏡観察により形態解析を行った。【結果】 β 2m欠損マウスは正常個体と比べ、腹側被蓋野・背側線条体・側坐核においてSyn陽性顆粒が多く、一方でTH陽性顆粒が少なかった。GABA陽性細胞数に差はみられなかった。Golgi-Cox染色では、 β 2m欠損マウスにおいてstubbyおよびfilopodia型のspineの密度が正常個体と比べて有意に多かつた。【結論】成体 β 2m欠損マウスの線条体におけるシナプス過剰が観察され、spineの密度や形態にも違いが見られた。また、ドパミン分泌の低下の傾向も示され、シナプス形成異常が線条体の機能異常に関係することが示唆された。これらの形態的異常は4週齢では観察されず、それ以降に成立することが示唆された。形態的異常の成立過程について現在解析中である。

203 電子顕微鏡画像データからの自動シナプス検出

○篠原 良章、植木孝俊

名古屋市立大学医学研究科・統合解剖学講座

連続切片を短時間に観測できる走査型電子顕微鏡の出現により、これまで技術が必要であった2方向への連続画像の取得が容易になった。しかしむしろ、取得できるデータ量の多さのため、解析面が追いつかないという弊害も出ている。そこで、シナプスやミトコンドリアのような生理的な意義が高いオルガネラを電顕画像から自動検出し、3次元的な大きさや空間的配置などを計測できれば、人力に頼っていた画像解析の省力化が行えると考えた。走査型電子顕微鏡の連続切片の解析の準備段階として、1枚の大きな電顕画像から30ミクロンx120ミクロン程度の範囲の画像を透過電子顕微鏡で取得した。画像は隣り合った画像がお互いにオーバーラップするように撮影し、Adobe社のPhotoshopを用いてパノラマ画像を作成した。この部位からシナプスを検出するためのスクリプトをMatlabで記述して、有用性をテストすることにした。CA1領域で電子密度の高い構造物は核・髄鞘・シナプス・ミトコンドリアであるが、髄鞘とミトコンドリアはシナプスより大きいので、単純な画像の2値化でもシナプスから区別できた。核小体はシナプスと分別できなかったが、核小体が標本中に出現する頻度が非常に低いことから、画像から手動で核全体を囲って分離した。結果として、このような単純なアルゴリズムでも、上記画像からシナプスを80%程度の正答率(人力を100%とする)で分別できた。また、コンピュータがシナプス検出に要した時間は10分程度であり自動的に部位をマークして画像に残すことができ、単位面積あたりのシナプス数も自動的に計算することから、後で人力で解析結果を確認するという条件下では充分画像解析の省力化に役立つことが分かった。今後はこのスクリプトを発展させ、1)3次元画像への拡張、2)ミトコンドリア・髄鞘の検出、3)機械学習の導入を行うことでさらなる有用性の向上に努めたい。

204 超高分解能型質量分析イメージング装置を用いたラット脳における脂質の解析

山崎文義、瀬藤光利

浜松医科大学細胞分子解剖学講座

【目的】ヒトの脳の約60%は脂質で構成されており、脂質は脳機能に重要だと考えられている。我々は、これまで脳において数十種類の脂質の分子種がそれぞれ特徴的な分布を示すことを明らかにしてきた。しかし、脳の中にある脂質の種類と分布の全容は殆ど明らかにできていない。今回、質量分解能の非常に高いフーリエ変換型イオンサイクロトロン共鳴 (FT-ICR) 型質量分析イメージング装置 (IMS) を用いて、脳の脂質の種類と分布を詳細に調べることとした。【材料及び方法】ラット脳新鮮凍結切片をつくり、蒸着機 iMLayer を用いて 2,5-DHB を塗布し、FT-ICR IMS solarix XR (質量分解能 10,000,000) による測定を行った。測定したデータは fleximaging を用い、脂質は既報を参考に同定した。【結果】FT-ICR IMS を用いた測定により、ラット脳から 488 個の生体分子由来のシグナルを検出した。そのうち 66 種類の脂質を同定し、それぞれの分布を観察した。飛行時間型 (TOF) IMS では区別できなかった複数の種類の分子を FT-ICR IMS を用いた測定により検出することに成功した。例えば TOF IMS 検出した DHA 含有 PC (16:0/22:6)+K の m/z 844.5 のシグナルは、FT-ICR IMS より m/z 844.47 と m/z 844.54 という分布の異なる二つの分子であることが明らかになった。【結論】超高分解能の FT-ICR IMS により、これまで区別することができなかった分子を新たに検出することで、さらに多様な脂質分子種とその分布の可視化に成功した。

205 チタン微粒子食食時のフリーラジカル生成に関する分析電子顕微鏡の利用について

盛口敬一、本田雅規・愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座

【目的】チタン微粒子の食食あるいはチタンプレートプレート刺激におけるヒト多形核白血球 (PMN) のフリーラジカル生成局在について、我々は PMN が生成する H₂O₂ をセリウム塩法にてセリウムパーハイドロキシドの沈殿として電顕観察している。しかしチタン微粒子を食食した PMN を超薄切片として観察するのは、チタンを含むためきれいな切片を作製することが難しく、PMN の存在確認も困難を伴うところである。そこで、我々は細胞に存在する窒素あるいはリンに注目し、分析電顕にて PMN の核および細胞質に関するこれらの元素マッピングを行うことを目的とした。【材料及び方法】健康成人の末梢血より PMN を分離し、スピッツ管に 1~3 μ m のチタン微粒子と PMN を加え 37 $^{\circ}$ C、10 分間加熱した。次に Ce 反応液 (1mM CeCl₃, 10mM Na₂S, 0.1% ブドウ糖、7% ショ糖、0.1M トリスマリン酸緩衝液、pH 7.5) を加えて、37 $^{\circ}$ C、10 分間加熱した。次に 2% グルタルアルデヒド (カコジル酸緩衝液) による前固定を行なった。さらに 1% オスミウム (カコジル酸緩衝液) 後固定、脱水を経て、Quetol 653 樹脂包埋の後、超薄切片を作製し分析電子顕微鏡 (JEM-1400 Plus) にて元素分析を行なった。【結果と考察】その結果、超薄切片でのチタン微粒子、窒素の存在から PMN 細胞質、さらにリンの分布から核の領域の同定ができ、チタン微粒子が細胞内に取り込まれたことが明らかとなった。以上のように通常電顕では観察できない細胞構成元素の存在を確認することができ、分析電顕の有用性が再確認された。

206 原子間力顕微鏡を用いた発生期の脳原基における力学的特性の計測

○長坂新、宮田卓樹
名古屋大学大学院 医学系研究科 細胞生物学分野

【背景・目的】組織の形成過程において、構成する細胞の増殖や移動といったふるまいは生化学的要因だけでなく力学的要因にも制御され、その集合・総和が組織レベルでの変形・伸長を引き起こすことが知られつつある。細胞のふるまいはその周囲の力学的環境に影響を受けることが報告されており、組織内の細胞はその組織の持つ力学的特性に影響されることが考えられる。しかし、組織を対象とする力学的特性の定量的把握は、技術的困難のためにあまり普及していない。発生期の哺乳類における脳原基には凹状の外套(pallium)と凸状の基底核原基(ganglionic eminence)という形状が大きく異なる部分が存在し、共に apical 面と basal 面を結ぶ細長い形の神経前駆細胞によって構成されている。これらの apical 面近傍は、神経前駆細胞の細胞周期進行に伴う核移動や分裂が行われるとともに、アクチンフィラメントに裏打ちされた adherens junction による apical 面の収縮といった力学的な負荷が生じうる環境となっている。外套と基底核原基は同じ構成要素でありながらその形状が大きく異なることから、力学的要因に違いがあると考えられる。そこで本研究では、原子間力顕微鏡(AFM)を用いて外套と基底核原基の apical 面の弾性率(硬さ)測定を行い、その違いを調べた。

【材料と方法】結果 AFM を用いて胎生期マウス大脳の外套と基底核原基の apical 面に対する弾性率測定を行った。その結果、外套の方が基底核原基よりも硬いことが明らかとなった。また、それぞれの部分で細胞レベル(単離した神経前駆細胞)での硬さ測定を行ったところ、その値に大きな差は見られなかった。さらに、apical 面に占める apical 突起の密度を計測したところ、外套の方が基底核原基よりも密度が高いことが分かった。

【結論】AFM を用いることによって、脳原基内の力学的要因のひとつを「硬さ」という指標で定量的に計測することができ、外套と基底核原基という形状の違う部分に硬さの違いがあることを明らかにした。また、apical 面の硬さには apical 突起の水平方向の密度が影響していることが明らかとなった。さらに、細胞レベルでの測定から、組織の硬さが細胞の硬さの単純な積算でないことが分かった。

207 スナネズミにおける一過性脳虚血/再灌流負荷後の遅発性神経細胞死に対する松葉エキス抗酸化作用

金子千之、加藤好光、藤田公和¹⁾、日高 聡¹⁾、大熊真人¹⁾、芳本信子²⁾、宮地栄一¹⁾

藤田保健衛生大学医療科学部、¹⁾ 藤田保健衛生大学医学部生理学 II、²⁾ 橋本内科クリニック

目的: 松樹皮エキスや松葉エキスには抗菌作用や抗炎症作用があることはすでに報告されている。また松葉エキスには強い抗酸化作用があり、過剰な活性酸素の作用によって発生する神経細胞死を抑制することにも指摘されている。スナネズミの両側頸動脈を一時的に遮断すると、数日後に海馬の CA1 領域に遅発性神経細胞死が発生する。このような脳虚血・再灌流は組織の活性酸素を増加させ神経細胞の毒性を引き起こす。そのため本研究では熱水により抽出された松葉エキスの摂取が、脳虚血負荷後の遅発性神経細胞死を抑制できるかどうか検討した。

材料及び方法: 生後3週間目で離乳させたスナネズミを2群に分け、5%松葉エキス含有 MF 飼料(通常の MF 飼料を摂取させた後、体重 60~65 g で実験に用いた)。抱水クロラール(35mg/100g BW)による全身麻酔下で、両側頸動脈の血流を10分間阻断した後解放した。脳虚血負荷後3時間、1日、3日および7日目で大脳(海馬組織)を摘出し、型の如くホルマリン固定し、パラフィン包埋、薄切片、HE 染色とルグゾールファースト青染色を実施した。なお、大脳は生化学的分析まで-80℃で保存した。結果及び考察: MF 飼料を摂取したネズミの海馬組織の SOD 活性値は、脳虚血負荷後3時間で8.3%、1日後には17.1%低下したが、松葉エキスを摂取したネズミでは3時間後には6.7%上昇した。その後3日目、7日目では両群間に顕著な差は見られなかった。MF 飼料摂取ネズミの MDA 活性値は手術後徐々に増加し、3日目では対象値より26%増加し、その後低下した。松葉エキス飼料を摂取したネズミでは、MDA 活性値は術後低下を続け、3日目には対象値から22.3%の減少が観察され、その後上昇した。したがって本研究結果から、松葉エキスを摂取させたネズミでは脳虚血負荷後1ないし3日目までは SOD 活性値を増加させ、MDA 活性値の上昇を抑制することで、神経変性の進行を遅延できる可能性が示唆された。

208 膜骨格蛋白 4.1G のマウス末梢神経における髓鞘形成への役割

寺田信生¹⁾、齊藤百合花^{1,2)}、大野伸彦³⁾、山内淳司⁴⁾、坂本毅治⁵⁾

¹⁾信州大学大学院医学系研究科 ²⁾帝京科学大学医療科学部 ³⁾生理学研究所分子神経生理研究部門 ⁴⁾東京薬科大学生命科学部 ⁵⁾東京大学医学研究所 癌・細胞増殖部門

マウス末梢神経の髓鞘にあるシュミット・ランターマン切痕 (SLI) と傍紋輪部に見出した膜骨格蛋白 4.1G の複合体蛋白として、シグナル蛋白 Membrane protein palmitoylated (MPP) 6 と接着分子 Cell adhesion molecule (CADM) 4 に加えて、Lin7 ファミリーを見出したので報告する。マウス坐骨神経における局在解析には抗 Lin7 抗体による免疫染色を、蛋白複合体の検討には免疫沈降を行った。生理的機能は尾懸垂試験および運動神経伝導速度測定を 4.1G 欠損マウスで検討した。免疫染色で Lin7 は 4.1G と同様のパターンで SLI に局在したが、KO では消失した。Western blot で Lin7 蛋白量は KO で激減し、免疫沈降法で MPP6 と Lin7 の結合性が確認できた。生理検査として、KO は懸垂試験で体幹方向に前後肢を握る姿勢を示すものが多く連日の懸垂負荷でその頻度と時間が増加し、また運動神経伝導速度は有意に低下していた。KO の傍紋輪部は絞輪部を挟んで Contactin-associated protein (Caspr) の非対称性染色パターンが多く、軸索とシュワン細胞の接着部位が一部解離する形態変化を認めた。さらに輪部部の電顕で髓鞘の二重輪や局所の肥厚や突出を認め過剰な髓鞘形成状態であった。以上より、末梢神経で 4.1G-MPP6-CADM4 蛋白複合体に新たにシグナル蛋白である Lin7 を含むことがわかり、4.1G の複合体蛋白運搬と局在化によって髓鞘形成を制御する役割が明らかとなった。

209 APC1638T マウスの小腸における上皮細胞動態 -特にアポトーシスについて-

○王 國雅¹⁾、山田名美¹⁾、松田修二¹⁾、尾之内高慶²⁾、千田隆夫¹⁾

¹⁾ 岐阜大学大学院医学系研究科解剖学分野
²⁾ 藤田保健衛生大学医学部病理学第一講座

【目的】Adenomatous polyposis coli (APC) 蛋白質は大腸癌抑制因子の一つであるが、形態形成、分泌機能、脳機能などへの関与も近年明らかになってきた。癌抑制機能の研究には APC ノックアウトマウス (ホモは胎生致死) や APC Min/+マウス (若年で大腸癌が発生して死亡) が使用されるが、これらの遺伝子改変マウスでは、APC の癌抑制以外の生体機能の解析は困難である。一方、APC1638T/1638T (APC1638T) マウスは、tubulin(微小管)、EB1(微小管結合因子) 等が結合する C 末端部分は欠損しているが、β-catenin 結合部位は保存されているため、生涯、癌は発生せず長寿を全うする。私たちは、APC1638T マウスで発育障害、歩行異常、甲状腺ホルモン分泌異常、統合失調症様行動異常、小腸粘膜異常 (絨毛の伸長、上皮細胞の増殖・移動・分化の異常) を認めた。本研究では、APC1638T マウスにおける腸絨毛の伸長の原因を探るため、小腸絨毛先端部上皮細胞のアポトーシスについて解析した。【結果】野生型 APC マウスと APC1638T マウスの腸絨毛 1 本あたりのアポトーシス細胞数は、それぞれ 0.62 個/絨毛、1.29 個/絨毛であり、APC1638T マウスの腸絨毛 1 本あたりのアポトーシス細胞数は有意に多かった。【考察】これまでの研究結果より、APC1638T マウスの腸絨毛には異所性の増殖細胞が存在することがわかっており、それにより腸絨毛が伸長している可能性が考えられた。2) 今回の研究結果より、APC1638T マウスの腸絨毛先端にはアポトーシス細胞が脱落せずに残存しており、それにより腸絨毛が伸長している可能性も示唆された。

210 2 型糖尿病モデルマウスにおける腸管神経叢の超微形態学的解析

○志茂聡¹⁾、齊藤成²⁾、Huy Bang Nguyen³⁾、Truc Quynh Thai³⁾、生友聖子¹⁾、村松憲¹⁾、大野伸彦⁴⁾

¹⁾健康科学大学、²⁾生理学研究所脳機能計測・支援センター電子顕微鏡室、³⁾山梨大学解剖学講座構造生物学教室、⁴⁾自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門

【目的】2 型糖尿病 SGLT 阻害剤投与マウスモデルの腸管組織を用いて、Na⁺ グルコース共輸送体 (SGLT) 阻害剤が腸管筋間神経叢に及ぼす影響を検討した。【材料と方法】4 週齢雄マウスに 20 週齢まで通常食 (STD) もしくは高脂肪食 (HFD) を与え、一部のマウスでは、SGLT 阻害剤の一種であるフロリジン、もしくは DMSO を投与した。解析は PGP9.5 および Synaptophysin の局在をそれぞれに対する抗体を用いた免疫組織化学的解析とともに、Serial Block Face-Scanning Electron Microscopy により腸管筋間神経叢の連続断面画像を取得後に 3 次元再構築をおこなひ、腸管筋間神経叢内における軸索の超微形態学的解析をおこなった。【結果】免疫組織化学的解析では、STD 群の筋間神経叢内および筋層間の軸索に沿って顆粒状の Synaptophysin 陽性像を豊富に認めた。一方、HFD 群では Synaptophysin 免疫反応性は弱く、筋間神経叢内の陽性像の減弱がみられたが、HFD 群フロリジン投与後は筋間神経叢内に顆粒状 Synaptophysin 陽性像を豊富に認めた。SBF-SEM による 3 次元超微形態解析では、STD 群は軸索の Varicosity に多数のシナプス集積を認め、軸索からは複数の側枝の形成を認めた。一方、HFD 群では軸索はらせん状となり、軸索の Varicosity 内のシナプス集積はほとんどみられなかった。HFD 群フロリジン投与後は、Varicosity 内のシナプス集積とともに軸索内に多数の側枝の形成を認めた。【結論】腸管筋間神経叢において高血糖状態が Varicosity のシナプス動態の異常を惹起することに加えて、SGLT 阻害剤が腸管筋間神経叢に保護的に作用する可能性が示唆された。