

日本解剖学会

第72回中国・四国支部学術集会

会 期：平成29年10月28日（土）、29日（日）
会 場：広島大学霞キャンパス

特別講演 遺跡の動物骨が明らかにする歴史文化と環境 —縄文人の暮らし・近世城下町の食文化—

石丸恵利子
広島大学 総合博物館 埋蔵文化財調査部門

遺跡から出土する資料の分析によって、人類の歴史や文化を明らかにする学問を考古学という。中でも、骨や貝の分析を通して、自然環境や動物と人の関わり、動物資源利用の変遷を明らかにする分野は動物考古学と呼ばれ、日本列島全土にわたる、また縄文時代から近世・近代まですべての時代の議論が可能であるのが魅力の1つである。さまざまな理化学的分析手法による解明も進められており、それらの研究の紹介を行う。

瀬戸内沿岸部に位置する岡山県彦崎貝塚と中国山地の洞窟岩陰にある広島県帝釈遺跡群の資料からは、縄文時代の多様な動物資源利用の様相や沿岸部と山間部での生業活動の差を知ることができる。また、広島城跡や徳島城跡などの近世城下町遺跡から出土した資料からは、各遺跡で好まれていた食材や調理法について知ることができ、縄文時代との資源利用の相違も議論することができる。

中世以降になると、マダイ・スズキなどの海産魚類やハマグリ・アカニシなどの海産貝類が遠隔地に運ばれるようになり、京都平安京の遺跡からもマダイやハマなどの多様な海産資源が出土する。これらの産地を明らかにするための炭素・窒素同位体分析を用いた海産魚類の産地推定の研究、また、縄文時代のシカ・イノシシの狩猟域を検討したストロンチウム同位体分析が進められており、それらの結果についても解説する。

WS1 医療専門職教育における解剖実習の現状と課題：岡山大学の場合

○大塚愛二¹、百田龍輔¹、小阪美津子¹、品岡玲¹、田口勇仁²
1 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科人体構成学分野
2 岡山大学大学院保健学研究科放射線技術科学分野

岡山大学医学部では、学内での医療専門職解剖学教育として、医学部保健学科（看護学専攻、放射線技術科学専攻、検査技術科学専攻）および薬学部（薬学科、創薬科学科）の学生を対象として解剖学実習を行っている。保健学科は、解剖学の専任教員と2人の病理系および臨床系教員が担当し、独立したカリキュラムとスケジュールで実習を行っている。薬学部は、当分野が担当し、医学科の解剖実習に3回の見学実習のかたちで各テーブルに2-3人ずつ配置している。後者は、将来、職種異なる医療者を目指すものが解剖を通じてディスカッションする機会を持つことになり、互いに好影響を与えている。学外からの見学希望は多々あり、平成28年度では、のべ33件の見学があり、1,275人（引率者含む）の見学者があった。これらは、デモ用解剖標本の見学や医学科実習の見学などに対応している。今後、医療系教育機関が増加すると、これらに見学依頼も増加することが予測される。現時点でほぼ受入れ能力の限界にあると思われる。希望に添えない場合もありうる。また、教室員への負担の問題、日程調整も問題が残る。コ・メディカル教育解剖学担当者の養成の問題がある一方で、それら教員の就職先の確保など、将来的な課題がある。

WS2 大学医学部を中心としたオール愛媛態勢での医療専門職学生の解剖学教育

小林直人 愛媛大・医・総合医学教育センター
鍋加浩明、下川哲哉、土居原拓也、松田正司 愛媛大・医学専攻・解剖学・発生学
宮脇恭史 四国中央医療福祉総合学院、池之上卓治 河原医療大学校

愛媛大学では平成16年から、本学医学部看護学科ならびに近隣の専修学校の理学療法学科・作業療法学科の学生を対象に、夏期休業期間中の解剖実習を開始した。実習対象者は現在、愛媛県内の看護学科やリハビリ系養成校に拡大され、平成29年度の実習では合計505名の学生が参加している。この実習の実現と継続にあたって特に重要と考えられるのは、以下のポイントである。(1) 献体者団体に対する丁寧な説明とそれに基づく登録者の書面での同意、(2) 実習に参加する養成校の教員に対する研修、(3) 正規科目としての単位認定、(4) 医学科学生がアシスタントとして参加。(1) 団体の理事会において解剖学講座教授がその意義と必要性を説明して理解を得るとともに、団体の会報に実習の趣旨について寄稿した後、総会でも同様に説明と同意のプロセスを経た。献体登録時の同意書には、医学科学生、医学部学生、それ以外の医療系学生の実習に同意するか否かを問う項目を追加した。(2) 特に養成校の理学療法学科・作業療法学科の教員らを対象に、自校の学生の指導を補助できるように学生実習前に研修を行い、独自の実習用資料作成も依頼した。死体解剖資格の取得も計画している。(3) 正規科目として認定されることで養成校にも学生にも責任と覚悟が生まれると言える。(4) 毎年50名以上の医学科学生（2-6回生）が実習をサポートすることで、器具に不慣れな学生の実習を支援し、解剖学教室の教職員の負担を軽減する。このようなオール愛媛体制での実習支援が、総計500名以上が参加する実習を支えている。

WS3 教員を対象とした解剖学実習 ～科研費を得て、薬学部教員と高校理科教員を対象として～

○洲崎悦子¹、隅田寛²、石村和敬³、山内宗治⁴、青山裕彦⁵ ¹就実大学薬学部、²広島国際大学保健医療学部、³広島女学院大学人間生活学部、⁴広島県立教育センター、⁵広島大学医歯薬保健学研究科解剖学および発生生物学

「人体に関する知識基盤の向上を目指した実習の提案」という研究課題で、H29年度から3年間の科学研究費を得ることができた。早速、今年度の計画に基づき、薬学教員と高校理科教員を対象とした解剖学実習を広島大学解剖教育研究施設において実施した。8月11-13日の自ら解剖を行うコースには全国から薬学教員8名、8月19日の見学実習のコースには薬学教員3名と広島県内の理科教員15名の参加があった。参加者に承諾を得た上で実習前後のアンケートも行い、その効果について検討した。

1名を除き参加者は全員人体解剖実習の経験がなく、法的に解剖実習に参加してよいのか、あるいは精神的・体調的に解剖をこなせるか、という不安を抱きつつ、人体を実際に見て学習し今後の教育に役立てたいという強い目的をもって実習に臨んでいた。結果として全員が無事に、有意義で今後役に立つ体験となる実習を終えることができた。薬学と高校教員に共通して、人体を実際に観察し、消化器系や血管系の3次元のつながりや質感の他、個人差や実際の病態を実感することができ、人体への理解が深まったことにより、今後、学生への教育で非常に役立つ、という感想であった。加えて、薬学教員は学生に解剖実習を経験させることができないう模索も含めた参加者もいた一方で、高校教員は人体を知ることによって生命教育や人権教育についても考えた参加者が多かった。また、今回の試みでは高校教員に自ら解剖する機会を提供することができなかったが、高大連携の流れに乗せて高校教員も教育者の資質向上につながる機会として解剖を行いたいという希望もあがっていた。

WS4 医療専門職教育における人体解剖学実習 ～医学科解剖学教室の関わり方

青山裕彦 広島大学大学院医歯薬保健学研究科（医）解剖学および発生生物学研究室

医療に関わる職業を志す学生のための高等教育において、解剖学の履修には人体を用いた解剖学実習が必須である。高等教育では単なる知識や技能の習得ではなく、それを自ら展開する力を養わねばならない。そのためには自ら一次資料に当たることのできる能力が必要であり、解剖学においては実際に人体を観ることがそれにあたる。本学では当研究室が中心となって、希望される全ての医療専門職養成校に解剖学実習の門戸を開いてきた。昨年度は学内外から23校31専攻、取得を目指す資格は14になる。実習参加学生は約1,500名であった。

希望者のみであるが実際に剖出を伴う実習を行っているところも3校ある。その他は剖出を伴わない3時間の実習である。あらかじめ剖出した解剖体、単離した臓器標本等を学生が10名以内で班を作って巡回する。最大5ブースについては、それぞれに説明員がつく。解剖体は、それぞれ運動器系、腹膜、門脈系、自律神経系、腹膜後器官に観察の主眼を置いたものを作成している。説明員や標本作製には学内の他教室および学外の実習参加校からも協力者を得ている。それをさらに増やすのが今後の課題である。

最大の課題は、この実習の継続性である。現状のシステムでは解剖学教授の意向により継続性が左右される。現在、これを広島大学の事業のひとつに位置づけることで継続を担保できるような企画している。

1 声門機能模型の製作

○高木美侑¹，黒野坪祐貴¹，下江幸司²，里田隆博²
¹広島大学・歯・口腔健康科学・口腔工学専攻4年生
²広島大学・院・歯歯薬保健学・生体構造機能修復学

喉頭の構造は、甲状軟骨の下に輪状軟骨、輪状軟骨の後部の上に、二つの披裂軟骨がある。さらに甲状軟骨の内側には喉頭蓋軟骨がついている。披裂軟骨には、声帯靭帯および前庭靭帯の二つの靭帯が甲状軟骨との間に張っており、発声および息こらえ時にこれらを閉じる。また筋は、輪状甲状筋、甲状披裂筋、外側輪状披裂筋、後輪状披裂筋、横披裂筋、斜披裂筋、甲状喉頭蓋筋、披裂喉頭蓋筋などの筋がある。披裂軟骨の動きは非常に複雑であり、発声時には声帯靭帯を近接させ、息こらえ時および嘔下時には、前庭靭帯を完全に閉じる。また、高い声を出す時には、声帯靭帯を緊張させるために輪状甲状筋の斜部により甲状軟骨を少し前方滑走させ、また輪状甲状筋の直部により甲状軟骨を前方に倒す。さらに舌骨上筋群の作用により、喉頭全体を前上方に拳上させて声帯靭帯を緊張させる。一方、低い声を出す時は、甲状披裂筋の最内側の声帯筋を収縮させて声帯靭帯を緩める。解剖学実習においては、これらの筋の動きは到底説明できない。

今回、この声門の動きに特化するため甲状軟骨の前方部、輪状軟骨の後部、披裂軟骨および前庭靭帯、声帯靭帯のみの模型を作製した。筋は布と綿で作製したが、模型には付けなかった。この模型により喉頭の筋の機能をうまく説明することができた。

2 双方向型授業支援システムの活用は医療系学生の解剖学の自主学修モチベーション向上に有効か

○津森登志子¹，積山和加子²
 県立広島大学保健福祉学部看護学科¹，理学療法学科²

県立広島大学保健福祉学部では、1年次前期に「解剖学概論」として看護・理学療法・作業療法・コミュニケーション障害の4学科共通（受講者160人）の必修科目を開講している。本科目は1年次後期の学科別「解剖学特論」のベースとしての位置付けに加え、本科目の履修状況が医療系大学に入学直後の学生のモチベーションや学修習慣を計る重要なスケールとなるため、講義担当者はゲートキーパーとして各学科のチューターと密接に連携を行っている。これまで解剖学概論では出欠チェックを兼ねた復習小テストを紙媒体で実施してきたが、今年度から初めてクリッカーを使用する双方向型授業支援システム（LENON pino, TERADA LENON）により行った。本システムは、個々の学生がクリッカーから送信した解答を教員側の専用PCに接続したコントローラで受信し、その解答状況をリアルタイムで教員用PC画面に、最終解答結果をグラフ形式で講義室スクリーンにG表示できるほか、学生個々の解答データをCSV形式で保存できる。試験問題は専用のソフト（ExaMaker, LES-7001）を用いてPowerPointのデータから簡単に作成することができる。今年度は本システムを用いて復習テストを実施し、テスト直後に答え合わせと解説を行って迅速なフィードバックに努めた。その結果、復習テストと解剖学概論定期試験の成績は有意に相関し、常時復習を行うなど継続的に自主学修を行っていた学生の学修到達度は高いことが明らかになった。さらに学期末の学生への授業評価アンケートによると、本システムを用いた復習テストの実施は自主学修のモチベーション向上に貢献することが示された。

3 肉眼解剖学実習への教育ソフト Moodle の導入の試み

○澤田 知夫、岸田 奈々、堂浦 智裕、安藤 英紀、中村 教泰
 山口大学大学院医学系研究科・器官解剖学講座

肉眼解剖学実習へのEラーニング教育ソフト Moodle の導入を試み、学生の予習促進と個別の実習状況を把握する効果を評価した。

毎回の実習作業・課題に関する予習小テストを実施し（学内外で繰り返し受験可能）、実習作業および内容における重要ポイントの意識付けを図った。また、毎週末に実習の感想、要望、問題点などが回答できるアンケート調査と共に、実習班の班員による相互評価を行った。

予習小テストはかなりの多くの学生が受けており、満点を目指して繰り返し取り組む学生も多かった。中には予習小テストの正解を自らプリントして持参する学生も見られ、実習室外での学習機会の拡大が解剖実習への意欲向上と目標達成への手助けとなっていることが示唆された。また、個別アンケートには、実習に対する考えの変化や自身が直面している問題を記述している学生も多く、教員による態度観察だけでは分かり難い学生個々の実習状況も把握できた。さらに、学生相互評価は教員による評価との相関を確認することができただけでなく、教員には伝わらない班内の実習状況や人間関係を知る手掛かりとして効果的であることが分かった。

今回の試行で、Moodle導入が肉眼解剖学実習に関する事前学習の促進と学生個別の学習状況把握に有効であることが示された。予習テストにさらなる工夫を加えることで、実習説明の補完に役立つと考えられる。今後、Moodleによる有効な情報提供・情報収集を進展させたい。

4 末梢神経損傷後の侵害刺激に対する脊髄後角での c-Fos および p-ERK の誘発変化について

○岡田 光康^{1,2}，寺山隆司¹，丸濱功太郎¹，飯田征二²，杉本朋貞¹
¹岡山大学大学院 歯歯薬学総合研究科 口腔機能解剖学分野
²岡山大学大学院 歯歯薬学総合研究科 顎口腔再建外科学分野

【緒言】c-Fos およびリン酸化型 ERK (p-ERK) の誘発は脊髄後角2次ニューロンでの侵害受容伝達の指標として用いられているが、これらの誘発を末梢神経損傷後に比較した報告はなされていない。本研究は末梢神経損傷後の c-Fos と p-ERK の誘発変化を明らかにすることを目的とした。【方法】ラットの脛骨神経損傷後3、7、14日で、後肢への侵害熱刺激による脊髄後角での c-Fos と p-ERK の誘発を検討した。また神経損傷後14日、c-Fos と p-ERK の誘発のために2回の熱刺激を与え、これらを蛍光2重免疫染色により検出した。さらに c-Fos と p-ERK の誘発に対する ERK 抑制剤の効果を検討した。【結果】脛骨神経損傷を行わない対照群では侵害熱刺激により多くの c-Fos、p-ERK 誘発細胞が認められた。神経損傷群では神経損傷後3および7日、脛骨神経投射領域における c-Fos および p-ERK 誘発細胞が対照群と比較して減少した。神経損傷後14日では c-Fos 誘発の有意な回復が認められたが、p-ERK では認められなかった。蛍光2重免疫染色による検討においても、脛骨神経損傷後14日で脛骨神経投射領域に多くの c-Fos 誘発細胞が認められたが p-ERK 誘発細胞は少なかった。ERK 抑制剤投与により各領域での p-ERK および総腓骨神経投射領域における c-Fos 誘発の有意な抑制を認めたが、脛骨神経投射領域における c-Fos 誘発には抑制効果が認められなかった。【結論】以上の結果より、通常の侵害受容伝達において c-Fos および p-ERK は同様に誘発されるが、神経損傷後の侵害受容伝達では両者の誘発に相違が認められることが明らかとなった。

5 小型魚類を用いた拡張性脱分極の電気生理学的解析

寺井はるひ、相澤秀紀
 広島大学 神経生物学

Spreading Depolarization (SD)とは、神経細胞およびグリア細胞の脱分極が波のように脳領域間をゆっくりと伝搬していく現象である。この際、細胞外の直流電位は10-20 mV の negative shift を起こし、1分以上も持続することがマウスやヒトの大脳皮質での研究からわかっている。SDは片頭痛や脳卒中患者の大脳皮質で観察されることからこれらの神経疾患の病態をして注目を集めている。しかし、その臨床神経学における重要性にもかかわらず、その分子機構の解明や治療法の開発は進んでいない。

そこで私たちはSDの新しいモデル動物としてゼブラフィッシュを用い、SDの電気生理学的記録および組織学的解析を行った。ゼブラフィッシュ成魚視蓋をKClで刺激したところ、17.0±(4.75) mV の negative DC shift が65.5±(19.8) sec 持続した。これはマウスやヒトの結果と類似している。また、組織学的解析では視蓋の刺激側半球に最初期遺伝子である c-fos、npas4 の発現が認められた。これらの結果から、SD研究においてゼブラフィッシュは有用であることが分かった。今後はSDを指標とした片頭痛薬、抗てんかん薬などの薬剤スクリーニングをゼブラフィッシュ稚魚を用いて行っていく予定である。

6 ラット外側結合腕傍核は背側縫線核へ投射する視床下部オレキシン産生ニューロンを支配する。

○有馬陽介、横田茂文
 島根大学医学部解剖学講座神経形態学

オレキシン (ORX) は摂食行動や睡眠・覚醒に重要な役割を果たす神経ペプチドである。ORXを産生するニューロンは視床下部外側部に限局して存在し、睡眠・覚醒を制御する背側縫線核 (DR) へ投射線維を送ることで、その調節を行っていることが示唆されている。一方、我々は、外側結合腕傍核 (LPB) の興奮性ニューロンが視床下部脳弓周囲領域のORX産生ニューロンへ投射線維を送ることを明らかにし、この神経路が覚醒に関与する可能性を示唆した。しかし、LPBからの投射線維が、DRへ投射するORX産生ニューロンと連絡しているかは明らかとなっていない。そこで本研究では、まず、逆行性標識法とORXに対する免疫組織化学を併用してDRへ投射するORX産生ニューロンの分布を解析した。その結果、視床下部外側部には多くのDR投射ニューロンが認められ、そのうち11.1%、9.5%および12.9%のニューロンが、それぞれ視床下部背内側核を含む内側領域、脳弓周囲領域および視床下部外側野でORXに免疫陽性を示した。次に、DRへ投射するORX産生ニューロンと逆行性標識法により検出されたLPB投射線維との分布を解析した。その結果、LPBの投射線維は、視床下部背内側核の最外側部および隣接する視床下部後核背側部でDRへ投射するORX産生ニューロンと近接していた。以上の結果から、LPBからORX産生ニューロンを経てDRへ至る神経路の存在が示唆された。LPBは、侵害情報を脊髄および三叉神経脊髄路核から辺縁系に伝達する中継核として知られている。したがって、本研究で明らかになった神経路は、侵害情報の入力によって惹起される覚醒反応に関与することが示唆される。

7 Immunohistochemical distribution of Hap1-immunoreactive olfactory migrating (HOM) cells during pre- and neonatal stages in mouse, and its relationship with GnRH-expressing neurons.

○Kosei Yonezawa, Md Nabiul Islam, Mako Ishida, Takuya Kurisu, Yoshinori Sakurai, Akie Yanai, Ryutaro Fujinaga and Koh Shinoda
Division of Neuroanatomy, Yamaguchi University, Graduate School of Medicine, Ube, Japan

Huntingtin-associated protein 1 (Hap1) is abundantly expressed in the preoptic-hypothalamic area (POHT), where some neural groups migrate from the olfactory placode, one of which is gonadotropin releasing hormone (GnRH)-expressing cells. In the present immunohistochemical study, presence of the Hap1-immunoreactive (-ir) olfactory migrating (HOM) cells was first clarified during the mouse pre- and neonatal stages. The HOM cells have already appeared before E11 in the olfactory epithelium, vomeronasal organ and migrating pathway along the vomeronasal nerves. Furthermore, our double-immunostaining for Hap1 and GnRH successfully demonstrated that all the GnRH-ir cells are HOM ones, but that there are non-GnRH-ir HOM cells. Due to putative Hap1 protectivity, Hap1 could render beneficial stability to the HOM cells through a long neonatal journey from the olfactory placode to POHT, suggesting that a lack of Hap1 might be implicated in some clinical disorders related to the HOM cells, particularly GnRH dysfunction.

8 Regional distribution of huntingtin-associated protein 1 (HAP1) in adult rat spinal cord and its immunohistochemical relationship with androgen receptor.

○Md Nabiul Islam, Yukio Takeshita, Amami Imagawa, Mir Rubayet Jahan, Eriko Yoshidome, Akie Yanai, Ryutaro Fujinaga and Koh Shinoda
Division of Neuroanatomy, Yamaguchi University, Graduate School of Medicine, Ube, Japan

HAP1 is a neuronal interactor with polyglutamine (polyQ)-expanded huntingtin in Huntington's disease and also associated with polyQ-expanded androgen receptor (AR) in spinobulbar muscular atrophy (SBMA), being considered as a protective factor against neurodegeneration. In brain, it is abundantly expressed in the areas that tend to be spared from neurodegeneration. HAP1-immunoreactive structures have yet to be determined in the spinal cord. In the current study, HAP1 expression was immunohistochemically evaluated in light and electron microscopy through the spinal cords of adult male rat. Our results showed that HAP1 is specifically expressed in neurons through the spinal segments and that more than 90% of neurons expressed HAP1 in the lamina I-II, lamina X, and autonomic preganglionic regions. Double-immunostaining for HAP1 and AR demonstrated that more than 80% of neurons expressed both in the same areas. In contrast, HAP1 was specifically lacking in the lamina IX motoneurons. Our study first demonstrated that HAP1 is abundantly expressed in spinal neurons of the somatosensory, viscerosensory, and autonomic regions but absent in somatomotor neurons, suggesting that the spinal motoneurons are, due to lack of putative HAP1 protectivity, more vulnerable to stresses in neurodegenerative diseases than other HAP1-expressing neurons involved in spinal sensory and autonomic functions.

9 基質小胞に内包される miR-125b は Prdm1 を介して破骨細胞の形成を抑制する

○入江泰正^{1,2}, 南崎朋子¹, Faisal Ahmed¹, 藤本千晴¹, 伊藤翔太^{1,3}, Nushrat Sarmin¹, 谷本幸太郎³, 香西克之², 吉子裕二¹

¹ 広大院医歯薬保 硬組織代謝生物, ² 広大院医歯薬保 小児歯科, ³ 広大院医歯薬保 矯正歯科

基質小胞 (matrix vesicles, MVs) は骨芽細胞から出芽的に放出され、石灰化の起点として働く。近年、細胞間コミュニケーションの新たな担い手として、エクソソームに由来する microRNA (miRNA) が注目されている。我々は MVs がエクソソームと構成分子の一部を共有することに着目し、MVs の未知の機能について解析を進めている。培養骨芽細胞の細胞外基質から MVs を精製し、miRNA を網羅的に解析した。検出された多数の miRNA のうち、miR-125b は破骨細胞を含む各種細胞と比較し、MVs に豊富であった。マクロファージ細胞株 RAW、骨髄マクロファージに miR-125b を導入すると、RANKL 依存性の破骨細胞形成ならびに象牙質切片の骨吸収窩の形成が抑制された。MVs を同細胞に添加した場合にも同様の結果が得られた。miR-125b の想定される標的遺伝子をデータベースで検索したところ、破骨細胞に関連する遺伝子が多数ヒットした。miR-125b を導入した RAW 細胞においてこれらの遺伝子発現を確認したところ、転写抑制因子 *Prdm1* の発現のみが抑制された。一方、PRDM1 の標的遺伝子 *Irf8*, *Matb* の発現レベルは上昇した。そこで、*Prdm1* の 3' UTR を含むレポーターコンストラクトを作製し、RAW 細胞に導入したところ、miR-125b は同 3' UTR の MRE 配列特異的にレポーター活性を抑制した。以上の結果より、骨芽細胞で発現する miR-125b は MVs を介して破骨細胞前駆細胞に作用し、*Prdm1* を標的として破骨細胞形成を抑制すると推察された。このことは、破骨細胞-骨芽細胞の新しい細胞間コミュニケーション機構を示唆する。

10 骨芽細胞特異的 miR-125b の過剰発現は破骨細胞の減少を伴う骨量増加を示す

○伊藤翔太^{1,2}, 南崎朋子¹, Faisal Ahmed¹, 藤本千晴¹, Nushrat Sarmin¹, 谷本幸太郎³, 信清麻里³, 外丸祐介³, 吉子裕二¹

¹ 広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 硬組織代謝生物学, ² 広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 歯科矯正学, ³ 広島大学 自然科学研究支援開発センター
我々は、骨芽細胞の基質小胞 (matrix vesicles, MVs) に内包される miR-125b が転写抑制因子 *Prdm1* を標的として破骨細胞分化を抑制することを示した。そこで、ヒト OC プロモーターを用い、骨芽細胞特異的に miR-125b を過剰発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作製した。Tg マウス 3 ラインの μ CT 解析の結果、共通して骨量増加を認めた。そこで、#3 ラインを用い、以下詳細に解析した。Tg 由来骨、骨芽細胞の miR-125b レベルは野生型 (WT) と比較し著しく高値であり、マクロファージ・破骨細胞あるいは骨外臓器は遺伝子型に関わらず低値であった。Tg マウスの体重増加は WT と同等で、外観上両者に差は認められなかった。 μ CT による各種パラメーターから、骨量増加は主に海面骨骨量に依存することが判明した。Tg マウス血清中の骨代謝マーカー (TRACP, CTX-1 など) はいずれも正常範囲内、骨髄細胞のマクロファージ、破骨細胞前駆細胞の割合も正常であったが、組織学的には TRAP 陽性多核細胞が減少していた。しかし、Tg および WT マウスから回収した骨髄マクロファージの破骨細胞分化能は同等であった。一方、WT マウス骨髄細胞を Tg マウス骨片上で培養すると、WT の骨片と比較して破骨細胞の形成が抑制された。以上より、miR-125b は骨芽細胞から MVs を介して骨基質に蓄積し、骨代謝の過程で破骨細胞分化を抑制し、骨量を増加させるものと推察された。

11 骨芽細胞で発現する miR-125b の役割

○藤本 千晴¹, 南崎朋子¹, 入江泰正^{1,2}, Faisal Ahmed¹, 伊藤翔太^{1,3}, Nushrat Sarmin¹, 香西克之², 谷本幸太郎³, 吉子裕二¹

¹ 広大院医歯薬保 硬組織代謝生物, ² 広大院医歯薬保 小児歯科, ³ 広大院医歯薬保 矯正歯科

miRNA を含むノンコーディング RNA は様々な局面でエピジェネティック制御に関与することが報告されている。miRNA は約 25 塩基の 1 本鎖 RNA であり、標的 mRNA と結合し、mRNA を分解または翻訳を抑制する。我々は骨芽細胞由来の基質小胞 (matrix vesicles, MVs) に多数の miRNA が内包されること、そのうち miR-125b が *Prdm1* を標的として破骨細胞の形成を抑制することを見出した。一方、miR-125b の標的遺伝子として *STAT3* などが報告されていることから、miR-125b の骨芽細胞への影響も示唆される。そこで、各種骨芽細胞の miR-125b レベルを解析したところ、いずれの細胞も分化とともに増加する傾向を認めた。また、miR-125b は培養骨芽細胞の細胞外基質、マウス骨基質に蓄積されることを確認した。マウス間葉系幹細胞株 ST2 と骨芽細胞株 MC3T3-E1 に miR-125b を導入したところ、増殖・分化には影響しなかった。骨芽細胞のみ mmu-miR-125b-5p を発現するトランスジェニック (Tg) マウス頭蓋冠由来細胞は、正常に石灰化基質を形成した。また、Tg マウス大腿骨の海綿骨カルセイン二重標識、骨芽細胞数に影響は見られなかった。Tg マウス骨髄細胞の造血幹細胞、T 細胞、B 細胞、マクロファージ、破骨細胞前駆細胞の割合は野生型と同等であった。一方、Tg 由来の MVs はより強力に破骨細胞の形成を抑制した。以上の結果から、骨芽細胞で発現する miR-125b は MVs を介して骨基質に放出・蓄積され、破骨細胞の形成に関与することが推察された。骨基質は miRNA の貯蔵庫として機能することが示唆される。

12 カテプシン K を標的とした骨形成誘導活性を有する新規薬剤の開発

○寺町順平¹, 日浅雅博², 安倍正博², 山本朗仁¹

¹ 徳島大学大学院 医歯薬学研究部 組織再生制御学分野
² 徳島大学大学院 医歯薬学研究部 血液・内分泌代謝内科学分野

【背景・目的】多発性骨髄腫(MM)は、骨吸収の著明な亢進と骨形成の低下により広範な骨破壊性病変を呈する。骨病変部に骨を効率よく再生させるためには腫瘍進展の抑制とともに骨吸収を抑制しつつ骨形成を惹起させる治療法の開発が必要である。カテプシン K (CTSK) 阻害剤は他の骨吸収抑制薬と異なり、破骨細胞への細胞障害活性は示さず、骨吸収機能のみを阻害する薬剤である。今回我々は、CTSK 阻害剤の骨髄腫骨代謝への影響を検討した。【方法・結果】CTSK 阻害剤は破骨細胞の骨吸収活性を強力に抑制するものの、破骨細胞の生存は抑制せず、むしろ、破骨細胞形成を促進した。一方、CTSK 阻害剤は MC3T3-E1 細胞を用いた骨芽細胞分化には影響しなかったが、マウス全骨髄培養系においては破骨細胞形成を促進し、さらに ALP 陽性細胞が増加したことから、破骨細胞を介して骨形成誘導が促進することが示唆された。CTSK 阻害剤は単独および抗腫瘍薬併用でも腫瘍細胞の増殖は抑制しなかった。最近、骨細胞に骨形成抑制因子スクロスタチンとともに CTSK が発現していることが注目されている。骨細胞株 MLO-Y4 はスクロスタチンとともに CTSK も発現したが、CTSK 阻害剤によりスクロスタチンの発現が抑制され、CTSK 阻害の骨形成作用にスクロスタチンの関与が示唆された。脛骨内移植によるマウス骨髄腫モデルにおいて、CTSK 阻害剤は抗腫瘍薬の抗腫瘍活性を増強すると同時に、骨破壊を抑制し、骨形成を誘導した。【まとめ・考察】CTSK 阻害剤と抗腫瘍薬の併用は腫瘍抑制とともに骨病変形成抑制と骨病変部に骨形成誘導を惹起する新規薬と考えられる。

13 ヒストン脱メチル化酵素 Jmjd3 による骨芽細胞のアポトーシス制御機構

○木目龍大、内部健太、池亀美華、岡村裕彦
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・口腔形態学分野

ヒストン蛋白はメチル化などの翻訳後修飾を受けて遺伝子の転写調節に関わっている。ヒストン H3 の 27 番目のリジン残基がメチル化を受ける (H3K27me3) と転写活性が低下し、反対に脱メチル化されると転写活性が亢進する。Histone demethylase Jumonji domain-containing 3 (Jmjd3) はヒストン H3 の 27 番目の脱メチル化に関与する酵素である。我々は、jmd3 が骨分化マーカーの発現を調節することで骨芽細胞の分化に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。今回は、骨芽細胞のアポトーシスにおける Jmjd3 の役割について解析した。Jmjd3 の発現を抑制した骨芽細胞 (shJmjd3) では、低血清状態でミトコンドリアの膜電位の低下、カスパーゼ 3 の活性化、PARP の切断および DNA 断片化を伴ったアポトーシスが促進された。shJmjd3 細胞では、アポトーシス誘導因子 Bcl-2 のプロモーターにおける H3K27me3 が亢進されており、その発現が低下していた。アポトーシス誘導因子 Bim は ERK1/2 によりリン酸化を受けると、アポトーシス誘導活性が低下する。shJmjd3 細胞では ERK1/2 の活性に伴い Bim のリン酸化が低下していた。さらに、shJmjd3 細胞では ERK1/2 の上流のキナーゼである PKD1 の発現が低下しており、これは PKD1 プロモーター上の H3K27me3 の亢進によるものであった。shJmjd3 細胞に PKD1 を導入すると ERK1/2 と Bim のリン酸化が回復し、低血清状態におけるカスパーゼ 3 の活性化、PARP の断片化およびアポトーシスが抑制された。以上の結果より、Jmjd3 は Bcl-2 や PKD1 の発現を介して、低血清条件下において誘導される骨芽細胞のアポトーシスを制御する重要な因子と考えられる。

14 機械的伸展刺激による CCN1/CYR61 発現促進への YAP/TAZ 核移行シグナルの関与

○池亀美華、内部健太、岡村裕彦
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・口腔形態学分野

骨縫合組織に伸展刺激を加えると、骨芽細胞形成が促進され、さらに細胞外基質の一種である CCN1/CYR61 の発現が促進される。その発現促進メカニズムを解明するため、Hippo シグナル経路関連因子である転写共役因子、YAP/TAZ と、CCN1/CYR61 の発現促進との関係を検討した。幼若マウスの頭蓋骨矢状縫合部にパネ装置により持続的伸展刺激を加えた状態で器官培養を行い、対照群では、パネを固定した状態で培養した。YAP/TAZ の組織内局在を免疫組織化学的に検出し、蛍光顕微鏡あるいは共焦点レーザー顕微鏡により観察した。さらに、YAP/TAZ の阻害剤である Verteporfin を作用させ、縫合部組織における CCN1/CYR61 の発現変化を検討した。その結果、YAP/TAZ の免疫活性局在は、対照群では、少数の線維芽細胞様細胞の核に認められた。伸展刺激後 1 時間では、縫合部中央部において多くの線維芽細胞様細胞の核に局在が認められた。3 時間では、中央部ならびに骨膜中の線維芽細胞の核に認められた。6 時間では、それらの細胞に加えて、前骨芽細胞近傍の線維芽細胞様細胞の核に認められた。Verteporfin 添加により YAP/TAZ の核移行は消失し、CCN1/CYR61 の遺伝子発現促進は抑制されたが、完全ではなかった。以上から、伸展刺激による CCN1/CYR61 の発現促進には、縫合部中央の未分化間葉系細胞における YAP/TAZ の核移行シグナルの促進が一部関与していることが示唆された。

15 プロサポニンによるカイニン酸誘導神経毒性からの保護

○鍋加浩明¹、下川哲哉¹、Md. Sakirul Islam Khan¹、土居原拓也¹、小林直人²、松田正司¹
¹愛媛大学・院医・解剖学・発生学、²愛媛大学・院医・医学教育学

プロサポニンは脂質関連蛋白質サポニン A、B、C、D の前駆体蛋白質であり、リソソーム内で蛋白質水解性に切り出され各サポニンを生ずる。各サポニンはスフィンゴ脂質のリソソームでの分解に関与している。一方、神経系においてプロサポニンはサポニンの前駆体蛋白質であるだけでなく、プロサポニン自体が分泌性蛋白質として機能する。このプロサポニンは神経栄養因子であると同等されており、神経細胞の成長や保護、再生を促進すると報告されている。しかしながらその詳細は未解明であり、プロサポニンの神経保護作用を解明していく事は医学的にも重要である。

カイニン酸はグルタミン酸アナログであり、神経障害を誘導する。カイニン酸誘導神経障害時に神経栄養因子であるプロサポニンが増加するが、この増加したプロサポニンと GABA 作動性介在ニューロンとの関係についてカルシウム結合蛋白質マーカーを用いて観察し、プロサポニンの軸索輸送について解明を試みた。

16 血中アンギオテンシン II の濃度上昇が脳の血管透過性に与える影響

○濱崎佐和子、椋田崇生、小山友香、海藤俊行
鳥取大学・医・解剖学

脳室周囲器官を除く脳実質は血液脳関門 (BBB) が構築されているので、血中タンパク質の侵入は制限されている。一方で、慢性的な高血圧はアンギオテンシン II (Ang II) を介して海馬や視床下部の血管透過性を亢進させると考えられている。また、培養系の実験では、Ang II は脳血管内皮細胞に小孔形成を誘導し透過性を高めることも示されている。しかしながら、生理的状態にある生体において、血管透過性に対する Ang II の効果は検討されていない。そこで本研究では、血中 Ang II 濃度の上昇が脳の血管透過性に及ぼす影響を組織学的に調べることを目的とした。

血管透過性の指標には蛍光色素 Evans blue (EB) を用いた。血中に投与した EB は BBB を通過できないので、脳実質への EB 漏出は BBB を欠いた血管透過性の高い領域を示す。また、EB は神経終末から細胞内に取り込まれ逆行性に輸送されるので、血管透過性を亢進している領域でシナプスを形成しているニューロンが染色される。Ang II の血中投与 (1 回/日、1 週間) によって、薬理的にラットの血中 Ang II 濃度を高めること、海馬歯状回、脳梁膨大後皮質、扁桃体で EB 陽性ニューロンが認められた。これは、これらのニューロンがシナプス形成をする領域で血管透過性が亢進していることを示している。このうち、海馬歯状回は生理食塩水の血中投与でも EB 陽性ニューロンが認められたので、歯状回は元来、血管透過性が高い領域である可能性が考えられる。内因性に血中 Ang II 濃度の上昇を誘導するためにラットを絶水 (16 時間/日、1 週間) させると、海馬歯状回の EB 陽性ニューロン数が増加する傾向が得られた。このことから、生理的な血中 Ang II 濃度の上昇は、海馬歯状回において血管透過性を亢進させる可能性が考えられる。

17 成熟海馬の神経新生に対する短時間の暑熱曝露の効果

○小山友香、椋田崇生、濱崎佐和子、海藤俊行
鳥取大学医学部解剖学講座

海馬の神経新生は生涯を通して持続しており、適度な運動により促進され、慢性的な強いストレスにより抑制される。私たちはこれまでに、運動による神経新生の促進に血中アンギオテンシン II (Ang II) 濃度の一過性の上昇がトリガーとして関与する可能性を見出した。Ang II は体液量の減少により血中濃度が上昇し、血圧上昇や飲水行動を引き起こすとともに視床下部・下垂体・副腎軸を活性化して糖質コルチコイドの分泌を促進する。本研究では、運動と同様に血中 Ang II 濃度の一過性の上昇が予想される短時間の暑熱曝露が海馬の神経新生に与える効果を検討した。成熟ラットに短時間の暑熱曝露 (35.5 ± 0.6°C、1 時間) を 1 週間続けたところ、室温環境下 (25.6 ± 0.3°C、1 時間) におかれた対照群と比べ、幼若神経細胞のマーカータンパク質であるダブルコルチンを発現する細胞が約 1.5 倍に増加した。また、暑熱曝露の直後はストレス反応の指標である血中コルチコステロン濃度が安静時に比べて一過性に約 5 倍に上昇していた。実験期間を通して Ang II 1 型受容体 (AT1R) の選択的阻害剤であるカンデサルタンを経口摂取させると、暑熱曝露による神経新生の促進効果は抑制されたが、血中コルチコステロン濃度の上昇は抑えられなかった。このことは、短時間の暑熱曝露は一過性のストレス反応を伴いつつも、適度な運動と同様に AT1R を介して成熟海馬の神経新生を促進することを示唆している。

18 ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける免疫細胞およびこれら細胞における性ステロイド代謝酵素の免疫組織化学的解析

○木戸玲子、下北英輔、鶴尾吉宏

糖尿病に罹患すると歯周病や粥状動脈硬化症などの慢性炎症を引き起こしやすい。糖尿病に起因する慢性炎症疾患にはマクロファージやリンパ球の浸潤が見られるが、糖尿病に伴う膝ランゲルハンス島β細胞の破壊が全身の免疫細胞およびこれら細胞の代謝系に及ぼす影響について解析した研究は少ない。

今回、低容量 (30mg/kg) のストレプトゾトシン 1 回投与によって高血糖をきたしたラット (STZ rat) の膝ランゲルハンス島および体内各所のリンパ節における各種免疫細胞マーカーと性ステロイド代謝酵素の発現について免疫組織化学的手法を用い解析することにより、β細胞の破壊が全身の免疫系および性ステロイド代謝系に及ぼす影響を解析した。

その結果、STZ rat では膝リンパ節のみならず、膝から離れた部位のリンパ節においてもマクロファージ系細胞および免疫反応の抑制に働く制御性 T 細胞の発現の低下がみられ、免疫細胞における性ステロイド代謝酵素の発現も著明に低下していた。

これらの所見は、糖尿病による膝ランゲルハンス島β細胞の破壊は、全身の免疫系および性ステロイド代謝系に影響を及ぼすことによって、全身において炎症性疾患の誘因となることを示唆している。

19 ニワトリ胚をモデルとした脊髄上行性伝導路形成過程の解析

○近藤 有希¹、荒川 貴弘¹、國土 陽平²、三木 崇範³、山本 融¹香川大学医学部¹分子神経生物学²附属病院神経内科³神経機能形態学

脊髄上行性伝導路は「身体」の情報を「脳」へと伝える重要な経路である。この経路を構成する神経群がどのように誕生し、結果として構成される伝導路がどこをどう結んでいるか、についてはよく知られており、教科書的知識としてまとめられている。しかしながら、これらの神経群がいつどのように軸索を伸ばして標的に至るか、その形成過程については不明な点が多い。我々は胚へのアクセスが容易なニワトリをモデルに、単体節に限局可能な部位選択的電気穿孔法による遺伝子導入により、頸部 C7・上腕部 C14・胸部 T4・仙腰部 LS2 それぞれからの上行性伝導路の形成の初期過程を明らかにした。投射先を明瞭に観察できる脊髄小脳路について小脳内への投射過程を解析したところ、C14・T4・LS2 それぞれから形成途上の小脳へと軸索は伸長し、まずは体部位局在性をもって小脳内に投射したのち、C14 および T4 からの軸索は退縮して LS2 からの軸索が残っていくことが明らかとなった。また、細胞種選択的エンハンサーを組み合わせて dl1, dl2, dl3 各神経群それぞれを選択的に可視化したところ、脊髄小脳路は dl1 由来の神経群により構成されていることが確認された。

20 上皮幹細胞の増殖分化調節機構 interkinetic nuclear migration の上皮管腔臓器の器官・組織形成における役割

○大谷浩^{1,2}、松本暁洋¹、小川典子¹、Ashiq M. Rafiq²、Dereje Getachew¹¹島根大学医学部解剖学講座発生生物学²島根大学先天異常総合解析プロジェクトセンター

Interkinetic nuclear migration (INM) は、偽重層上皮細胞の核が細胞周期に同期して上皮の頂底軸に沿って移動する現象で、神経管など外胚葉由来の上皮組織における幹細胞の増殖・分化調節機構として重要であるばかりでなく、娘細胞として生み出される組織幹細胞プールのサイズを調節することにより、臓器の大きさや形にも関与することが示唆されている。これまでに我々は、マウス胎仔において中腸(内胚葉由来)および尿管(中胚葉由来)などの上皮に INM を観察し、昨年度の本学会で食道上皮は、器官形成期では偽重層上皮であり INM が観察されるが、胎生 13 日を境に重層扁平上皮に移行することを報告した。今回、さらにマウス胎仔の小腸と結腸の全長において INM が存在すること、腸管の回盲部より近位か遠位かの部位により、また胎令により、INM の周期などパターンが異なることを明らかにしたので報告する。あわせて、これまでに観察された上皮管腔臓器における INM を比較検討、概観することにより、全身の上皮管腔臓器の器官形成、組織形成における役割について考察する。

21 右心室以外の心筋へと寄与する新たな心臓前駆細胞の同定

藤井雅行¹、坂口あかね²、相賀裕美子²、吉栖正生¹、○小久保博樹¹¹広島大学 心血管生理医学²遺伝学 発生工学

心臓の発生過程は、卵筒胚期に形成される心臓原基から心臓を構成するほとんどの細胞が分化すると考えられてきたが、従来の心臓原基の内側に右心室から流出路へと寄与する前駆細胞の存在が示されてきたことなどから、複数の前駆細胞群が存在すると考えられている。しかし、左心室・心房といった領域に寄与する、もしくは刺激伝導系を構成する細胞が含まれる静脈洞に寄与する心臓前駆細胞については未だ不明な点が多い。我々は、心筋の分化に重要な役割を果たすことが示されている Wnt シグナルにおいて、Wnt リガンドのデコイレセプターをコードする *Stip5* 遺伝子に着目し、*Stip5* 遺伝子の発現並びに系譜細胞によって、*Stip5* 遺伝子を発現した細胞が心筋前駆細胞である可能性について検討した。

Stip5-venusYFP マウスを用いた発現解析から、*Stip5* が胎生(E)7.5 日の心臓原基の背側に発現し始め、やがて原始心筋細胞の静脈極に限局し、E10.5 以降では静脈洞を構成する心筋細胞へと分化することが明らかとなった。一方、*Stip5-Cre* および *Stip5-Ert2Cre* ノックインマウスを用いた *Stip5* 発現細胞の系譜解析により、*Stip5* の発現を消失した細胞が静脈洞に加えて左心室、心房、そして、流出路の心筋細胞に寄与するが、右心室への寄与はほとんど認められないことが明らかとなった。このように、*Stip5* の発現を保持した細胞は静脈洞へ、またその発現を消失した細胞は流出路、左心室、および心房の心筋へ分化することから、*Stip5* 遺伝子発現領域に左心室と心房、及び静脈洞へと寄与する共通の前駆細胞が含まれ、右心室の心臓前駆細胞とは異なる可能性が示唆された。

22 CRISPR-Cas9 システムにより作製した形態形成遺伝子 (*Pax6* および *Fgf10*) のモザイク変異マウスの解析○土生田宗憲¹、泰江章博²、藤田洋史¹、板東哲哉¹、佐藤恵太¹、親泊政一³、田中栄二²、大内淑代¹¹岡山大学・院・医歯薬・細胞組織、²徳島大学・院・医歯薬・矯正、³徳島大学・先端酵素研・生体機能

CRISPR-Cas9 システムは、ES 細胞を必要としない新しいゲノム編集技術である。このシステムによって作製された、ゲノム編集ファウンダーマウス (FO) は、同一個体内に正常細胞とノックアウト細胞が混在する「モザイク変異体」となることがしばしば見受けられる。本研究では、眼の形成に必要な *Pax6* 遺伝子と、四肢や肺の形成に必要な *Fgf10* 遺伝子のゲノム編集マウスをそれぞれ作製し、遺伝子モザイク性と表現型との関係について解析している。*Pax6* モザイク変異体を、胎生 16.5 日 (E16.5) および胎生 11.5 日 (E11.5) にて固定し、実体顕微鏡下での観察を行ったところ、眼の形成に個体差、左右差を認めた。さらに、E16.5 胚の頭部を薄切片し組織学的観察を行ったところ、それらの表現型は機能欠損型変異率と関係のあること、眼組織によって形態形成に必要な *Pax6* 遺伝子発現量が異なることが示唆された。変異細胞と野生型細胞の分布について観察を行うために、*Pax6* に対する免疫組織化学法を行ったところ、E11.5 胚の眼杯において *Pax6* 陽性細胞と陰性細胞とが混在していたが、E16.5 胚においては混在していなかった。一方、*Fgf10* モザイク変異体は E16.5 で固定し、形態学的観察を行った。実体顕微鏡下での観察では、四肢の形成に個体差が認められた。体部を薄切片し肺の組織学的観察を行ったところ、四肢と肺の形成程度に相関関係があると考えられた。以上より、CRISPR-Cas9 システムによるモザイク変異体は、発現量依存的な遺伝子機能解析に有用であることが示唆された。

23 Blastocyst complementation 法を用いた骨格筋幹細胞の産生

伊藤日加瑠^{1,2}、朝倉よう子²、朝倉淳²

1. 広島大学 神経生物学

2. Department of Neurology, University of Minnesota

Induced pluripotent stem cells (iPS 細胞) を用いた再生医療の実現は、非常に大きな国民の関心を集めており、現在、多くの研究機関で様々な組織の再生医療に関する研究が実施されている。しかし、未だ骨格筋組織における iPS 細胞を用いた再生医療の実現には、多くの課題が残されている。具体的には、iPS 細胞から骨格筋幹細胞 (筋衛星細胞) への効率の良い分化誘導法が確立されてなく、また、既存の方法で分化誘導後の細胞を移植したところで生着率が非常に低い。そこで、私たちの研究グループは iPS 細胞から骨格筋幹細胞への新たな分化誘導法として Blastocyst complementation 法 (胚盤胞補充法) を用いた手法を確立し、骨格筋幹細胞による細胞移植治療に向けた研究を実施している。これまでの成果としては、骨格筋欠損マウスである遺伝子 X 変異マウスの胚盤胞胚に、GFP 発現 iPS 細胞を注入したところ、iPS 細胞由来の骨格筋を持つキメラマウスが得られた。また、そのキメラマウスから骨格筋幹細胞を分離したところ、ほぼ全ての骨格筋幹細胞が iPS 細胞由来であることが明らかになった。今後は、分離した骨格筋幹細胞を疾患モデルマウス (筋ジストロフィーモデルやサルコペニアモデル等) に移植し、その治療効果を検討していく。その結果として、筋ジストロフィーやサルコペニアなどの筋萎縮を呈する筋疾患における再生医療の実現を目指していく。