

# 日本解剖学会

## 第106回関東支部学術集会

会期：平成30年10月20日（土）

会場：東京慈恵会医科大学南講堂

### 特別講演

医療者教育における倫理教育 - 職業教育の側面から

福島 統

東京慈恵会医科大学 教育センター

敗戦直後の昭和 21 年、アメリカ教育使節団が当時の日本の大学教育について残したコメントを引用する。「自由な思考のための基盤を作り、専門的訓練のためのより良い基礎を与えるためには、幅広い人文主義的な態度を育成する必要がある。それによって学生の将来の人生はより豊かなものになり、自分の職業的活動が、人間社会全般の中で、どのような位置を占めているかを理解できるようになるだろう。」これを医学教育に当てはめてみたら、自分が付く職業が社会でどのように役立つのか、医学部で学んだ知識と技術をどのように使うべきかの判断をするときの知識、自分の職業と社会の人々との関係を知り、職業職者としての職責と幸せを知ることが、医学教育における教養教育となる。医療倫理に関わる判断を行う場合、もっとも重要なことはその事案に関する人文・社会科学の知識である。過去の歴史を知り、歴史の蓄積としての事実を知り、現在の社会規範や職業倫理の成り立ちを知って、それから判断するのではないか。アメリカ教育使節団が述べている「教養教育」とは、今まで私たちが思っていた「教養教育」とは大きく異なる。まさに医学・医療という専門を他者に実践するために、さらには医学・医療を発展させるためになくてはならない知識と定義できるのではないだろうか。「職業教育」では、その職業が社会にどのような役割を持つのか、その職業を正しく行っていくための知識と技能、その職業を通じてどのように他者貢献・社会貢献をしていくのか、そしてその職業で働くこと通じて自分を伸ばすことを教えることとなる。

### 1 “筋-腱-骨”複合体：形態獲得プロセスの解明 - メッケル軟骨、顎舌骨筋に注目して -

○阿部 伸一<sup>1)2)</sup>、是澤 智久<sup>1)</sup>、永倉 遼太郎<sup>1)</sup>、山本 将仁<sup>1)2)</sup>、北村 啓<sup>2)3)</sup>

1)東京歯科大学 解剖学講座

2)東京歯科大学 文部科学省私立大学研究ブランディング事業

3)東京歯科大学 組織・発生学講座

【目的】メッケル軟骨が下顎骨の形態形成を誘導することは知られている。しかし下顎骨に付着する筋の形態形成、特に筋の骨への付着部における形態形成とメッケル軟骨との関係は不明点がある。そこで今回、腱、軟骨、またその前駆細胞で発現する転写因子である Scleraxis, Sox9 の発現局在に注目し、胎生期における顎舌骨筋の下顎骨への付着を獲得するプロセスについて調べ、“筋-腱-骨”複合体の形態形成メカニズムについて考察を試みた。【材料および方法】胎生期 ICR 系マウスを実験材料とした。そしてメッケル軟骨が観察可能な部位を選択し、顎舌骨筋が下顎骨への付着を獲得していく過程を調べた。通法に従い薄切切片を作製後、免疫組織化学的染色を施した。指標としたのは、筋特異的タンパク Desmin、そして Scleraxis, Sox9 とした。【結果および考察】顎舌骨筋の発生初期(胎生 13.5 日)には、メッケル軟骨に近接して筋束の断端が作られ、そこには Desmin の強発現がみられた。また、顎舌骨筋の腱原基には Scleraxis が強発現しており、この部位はメッケル軟骨に接触していた。胎生 13.5 日においてはメッケル軟骨とその下方に Sox9 は発現していたが、胎生 14.5 日になるとメッケル軟骨の内側における Sox9 陽性細胞の数は増加した。今回の観察結果から、“筋-腱-骨”複合体の獲得には、Sox9 がその発現部位を変化させながら、顎舌骨筋を新たな付着部(下顎骨)へと導いている可能性が示唆された。また、顎舌骨筋がメッケル軟骨に付着する時期と、下顎骨へその付着位置を移動させた初期において、一時的に Scleraxis が発現しており、Scleraxis は“筋-腱-骨”という複合体を形成する初期に、構造獲得のための重要な役割を担っている可能性が考えられた。

### 2

#### 胎生期マウス喉頭軟骨の発生過程に関する組織学的検索

○北村 啓<sup>1)</sup>、橋本 圭史<sup>2)</sup>、石束 毅<sup>2)</sup>、山本 将仁<sup>2)</sup>、石川 昂<sup>2)</sup>、長坂 新<sup>1)</sup>、菊池 布恵<sup>1)</sup>、見明 康雄<sup>1)</sup>、阿部 伸一<sup>2)</sup>、山本 仁<sup>1)</sup>

1)東京歯科大学 組織・発生学講座

2)東京歯科大学 解剖学講座

喉頭は甲状軟骨(TC)、輪状軟骨(CC)、披裂軟骨(AC)から構成される。これらの喉頭軟骨は関節を形成し、発声や嚥下など頭頸部の重要な機能の一端を担う。近年、喉頭軟骨の発生学的な研究において、中胚葉に加え神経堤細胞の関与が報告された。しかし、これら間葉細胞の喉頭における軟骨細胞への分化過程、さらには軟骨基質の形成過程など、不明な点が残されている。そこで、胎生期マウスの各軟骨の成長中心の局在、各軟骨間にみられる軟骨形成の過程について解明することを目的に、喉頭軟骨の発生過程を経時的に観察した。ICR 系マウスの胎生 13.5~16.5 日を実験材料とした。喉頭軟骨全体を観察可能な部位を抽出し、通法に従いパラフィン包埋後、連続切片を作製した。そして形態学的染色にはアルシアンブルー染色、免疫組織化学的染色には軟骨のマーカー転写因子である抗 SOX9 抗体、軟骨基質に特異的な抗 II 型コラーゲン(Col II)抗体を用いて免疫組織化学的染色を施した。胎生 13.5 日では、CC 前方部のみ Col II 陽性の軟骨基質が観察され、その他の軟骨は連続性を持つ間葉細胞の凝集として認められた。また、これらの細胞は全て SOX9 陽性であった。胎生 14.5 日では、TC、CC、AC に Col II 陽性の軟骨基質が観察された。しかし、全体的に基質の形成は弱く、周囲には間葉細胞の凝集が認められた。胎生 15.5 日では、軟骨基質の拡大と軟骨膜の形成が明瞭に観察された。関節、軟骨における線維性組織の形成と SOX9 陽性細胞の減少も認められた。胎生 16.5 日では、軟骨基質と線維組織が成熟し、成獣同様の喉頭軟骨の形態を示した。以上の結果から、初期の喉頭軟骨は CC 前方部の軟骨基質をコアとした間葉細胞の凝集として認められ、成長が進むにつれて各軟骨の成長中心となる軟骨基質が発現する。その後、軟骨膜、軟骨が形成されることにより TC、CC、AC が独立した軟骨に分化することが明らかとなった。また、軟骨間の関節、軟骨を形成する細胞群は、初期には SOX9 陽性を示したが、線維組織を形成するに従い発現を弱めていった。この結果から、SOX9 の発現が減少することで線維芽細胞への分化が促進されている可能性が示唆された。

### 3

#### Dextran sulfate sodium 大腸炎における Vascular endothelial growth factor の影響と粘膜障害との関連性

○西條 広起、岡部 正隆、橋本 尚詞

東京慈恵会医科大学 解剖学講座 (組織・発生)

【目的】炎症性腸疾患は原因不明の疾病で、炎症増悪因子として粘膜内血管の透過性亢進が指摘されている。我々は、血管透過性亢進に関与する Vascular endothelial growth factor(VEGF)に注目し、Dextran sulfate sodium(DSS)大腸炎マウスを用いて、腸炎発症時の VEGF 発現量を比較した。また VEGF 中和抗体 bevacizumab を DSS と併用投与し、粘膜内の血管走行および粘膜変化を観察し血管透過性亢進と粘膜障害との関連を検討した。【方法】実験 1:10 週齢の C57BL/6J に 2% DSS を 5 日間投与し、① Rhodamin B-isothiocyanate(RITC)標識ゼラチンを血管内に還流し、血管走行を共焦点顕微鏡で観察した(n=2, each)。② HE 染色(n=2 each)で粘膜障害の経時的変化を比較検討した。③ Western blot 法で蛋白質発現量の測定(n=2, each)、RT-PCR 法で mRNA 発現量の測定(n=5, each)を行った。実験 2:20 匹のマウスに bevacizumab(10 mg/kg body weight)を 2% DSS 投与 24 時間前および 48 時間後の 2 回腹腔内に投与した。DSS 投与開始から連日大腸を抽出し、HE 染色および血管走行を共焦点顕微鏡で観察した。【結果】DSS 単独投与群において、投与 2 日後から粘膜固有層の血管外に RITC 標識ゼラチンの漏出を認め、その後経時的に漏出は拡大した。HE 染色では、投与 3 日目から陰窩の退縮が出現し、5 日目には粘膜上皮の剥離を認めた。また、VEGF の発現量は投与 2 日目から優位に上昇し、時間経過と共に増加した。一方で、bevacizumab と DSS 併用投与群においては、DSS 投与 5 日後に陰窩の退縮および RITC 標識ゼラチンの血管外漏出を認め、DSS 単独投与群と比較して粘膜障害および血管透過性は軽微であった。

### 4

#### EGF 受容体の核内取り込みに関する抗がん剤と放射線および Akt 阻害剤の効果

○青木 武生、原 孝光、大野 由美子

群馬県立県民健康科学大学 診療放射線学部

我々は、EGF 受容体を高発現している腫瘍細胞において、放射線耐性の獲得が EGF 受容体の核内移行に原因することが知られていることから、その現象に及ぼす放射線と抗がん剤およびそれを阻害する Akt 阻害剤の効果について検討している。方法としては、EGF 受容体を高発現している HeLa 細胞および A549 細胞に抗がん剤(プレオマイシン、シスプラチン)をあらかじめ全日に 2 時間作用させ、次の日に放射線をあてて、EGF 受容体の核内移行がどの程度起こっているのかを確認すると同時に、Akt 阻害剤である PP242 に放射線を 2Gy 照射した後、20 時間投与した細胞において、その濃度に応じてどの程度核内移行が阻害されているのかを確認する。対照としては 2Gy 照射した細胞に、Akt 阻害剤である PP242 のみを投与した細胞で観察した。

腫瘍細胞において、放射線のみを照射した当日は初期エンドゾームに EGF 受容体とカベオリンが共存すること、抗がん剤を前日に投与した細胞では、照射によって核内移行する EGF 受容体を確認されることを光学顕微鏡による蛍光抗体法で確認できた。現在 EGF 受容体の核内移行に関与するといわれる様々なルートのうち Akt の関与する経路との関連性を検討するために、その阻害剤 PP242 を前日から 20 時間投与した細胞では、核内移行がある程度阻害されていることを確認した。また、抗がん剤と Akt 阻害剤では、抗がん剤のみよりも、細胞増殖を抑制したのか、その効果も検討している。その一部を紹介する。

## 5 多光子顕微鏡による細胞膜修復に関わる MICAL1 の動態

○三宅 克也<sup>1)</sup>、荒木 伸一<sup>2)</sup>、川合 克久<sup>2)</sup>、江上 洋平<sup>2)</sup>  
 1)国際医療福祉大学 成田キャンパス 基礎医学研究センター  
 2)香川大学 医学部 組織細胞生物

骨格筋繊維は、運動などの生理的な物理的負荷によって、その 5~30%が常に細胞膜損傷修復を繰り返している。我々は細胞膜損傷時、損傷部から流入する細胞外カルシウムによって F アクチンが脱重合し、細胞内小胞の融合を助け、細胞膜が修復するメカニズムを報告した。さらに、我々は *Dysferlin* を作れない肢体型筋ジストロフィーは細胞膜の修復ができないことを報告した。

本研究では、培養細胞 BS-C-1 を用い、膜標識試薬 FM4-64 と GFP-MICAL1, MICAL2, MICAL3, および MICAL-L1 を用いて、それらが標識する膜修復時の膜動態を多光子レーザー顕微鏡で観察した。二光子で損傷された部位に、FM 試薬で強く標識された新しい修復膜が観察され、その部位に細胞質から供給される MICAL1-GFP の素早い蛍光波の集積が観察された。また MICAL1 集積直後に LifeAct-RFP によりアクチンの脱重合が観察された。さらに MICAL1 ドミナントネガティブ体 ( $\Delta$ CC) を導入したところ膜修復を行うことができなかった。マウス骨格筋を用い、同様の方法を用いて膜修復動態を観察した。その結果、MICAL1 が膜損傷部およびその周辺に強く集積し、同時にアクチンの脱重合と膜の集積が観察された。これらの結果から、骨格筋繊維の膜修復メカニズムについても、MICAL1 によるアクチンの素早い脱重合が膜修復に必要であると考えられた。

6 マウス海馬溝および髄膜にみられるプログラム細胞老化  
Implications for programmed senescence at hippocampal fissure and meninges

○大山 恭司、佐藤 亨、石 龍徳  
 東京医科大学 組織・神経解剖学分野

Emerging concept of programmed senescence and subsequent cell death (PCD) has been implicated in tissue patterning of developing early embryo. However, it remains unknown whether programmed senescence occurs, if any, at late stages of forebrain development.

Here we show that both senescent associated beta-gal+ (SABgal+) and TUNEL+ cells were found at the hippocampal fissure and the meninges during perinatal period. Our data also show that both hippocampal fissure and meningeal cells express programmed senescence markers pSmad2 and p21. Some of them were endonuclease G+, a marker for caspase-independent PCD. These data suggest that the hippocampal fissure and meningeal cells undergo programmed senescent cell death.

## 7 マウス一次視覚野における機能的局所回路形成の分子メカニズム

宮下俊雄  
 帝京大学 医学部 解剖学講座

発生過程に於いて、幹細胞が組織特異的な細胞へ分化するために、エピジェネティック機構は重要な役割を持つ。エピジェネティック機構の異常により引き起こされる神経発達障害として、Rett 症候群や脆 X 症候群がよく知られている。これらに加え主要な DNA メチル化酵素である DNA methyltransferase 3b (Dnmt3b) を責任遺伝子とする ICF 症候群では精神発達遅滞が認められ、さらに若年発症統合失調症との関連も報告されている。しかしその一方で、エピジェネティック機構の異常により局所神経回路の形成やその機能発現にどのような影響が及ぶかについては不明点が多い。

本研究では、Dnmt3b 欠損 (KO) マウスを使い、その機能がどの様に生後の視覚野神経細胞の反応特性の獲得に関与するかを明らかにすることを目的とした。まず、胎生致死である Dnmt3b KO マウスより iPS 細胞を樹立し、その iPS 細胞を野生型胚に移植する事により KO 遺伝型と野生型細胞を併せ持つキメラマウスを作製した。このキメラマウスに様々な方位と空間周波数よりなる縮刺激を呈示し、同一個体の一次視覚野より GFP によって標識された KO 遺伝型細胞並びに野生型細胞の視覚応答を、赤色蛍光カルシウム指示薬 Ca1590 による *in vivo* カルシウムイメージングにより記録した。

解析の結果、Dnmt3b KO 細胞と野生型細胞の視覚刺激に対する応答強度には差がなかった。KO 細胞群の空間周波数選択性は野生型細胞と同程度であったが、方位に関しては最適刺激以外の刺激に対する応答が高く、その結果として方位選択性が野生型細胞群に比べて低かった。以上の結果は、神経前駆細胞でのゲノム DNA へのメチル化制御が、生後の一次視覚野神経細胞の反応特性に影響を与える可能性を示唆する。

## 8 大脳皮質層形成における Arf 結合タンパク質 Arfophilin-1 と-2 の機能的差異

○原 芳伸、阪上 洋行  
 北里大学 医学部 解剖学教室

細胞移動は、様々な過程に見られる普遍的な現象である。移動細胞は膜輸送制御因子を介して細胞膜表面における接着分子の発現を調節し、自身の運動性や方向性を変化させる。Arfophilin (Arfo) -1 および Arfo-2 は、クラス 2 Rab11 結合分子であり、その C 末端側に Rab11 および ADP リボシル化因子 (Arf) 6 結合領域を持つ。培養細胞を用いた研究から Arfo-1 は Rab11 や Arf6 と結合して膜輸送を制御することが報告されているが、これら 2 つの分子の生体内での発現および機能的差異は明らかでない。そこで本研究では胎児大脳皮質を用いて、これら 2 つの分子の発現および機能解析を行った。発現解析の結果、Arfo-1 は脳室帯から皮質板にかけて発現しており、一方、Arfo-2 は中間帯では弱く皮質板で強く発現していた。免疫組織染色の結果、Arfo-1 および Arfo-2 とともに主にリサイクリングエンドソーム (RE) に局在していた。子宮内電気穿孔法によるノックダウン実験の結果、Arfo-1 および Arfo-2 をノックダウンされた移動神経細胞は中間帯での移動速度に低下が見られた。細胞内小胞の局在解析の結果、Arfo-1 がノックダウンされた移動神経細胞では RE が細胞質中に分散していたのに対し、Arfo-2 がノックダウンされた移動神経細胞では初期エンドソームおよび RE の蓄積が見られた。これらのことから、Arfo-1 は RE を核周囲領域に局在させ、一方、Arfo-2 は RE の細胞膜への輸送を制御していることが示唆された。

9 霊長類前頭前皮質に特異的な *SLIT1* の発現は生後発達期に確立する

○佐々木 哲也<sup>1)2)</sup>、小松 勇介<sup>3)</sup>、渡我部 昭哉<sup>4)</sup>、山森 哲雄<sup>4)</sup>  
 1)筑波大学 医学医療系 生命医科学域 解剖学・神経科学研究室  
 2)筑波大学 人間総合科学研究科 感性認知脳科学専攻  
 3)株式会社 ACD 4)理化学研究所 脳神経科学研究センター 高次脳機能分子解析チーム

霊長類の大脳皮質は、機能的に異なる複数の「領野」に区分される。RLCS 法により、旧世界ザルの領野間で発現量が大きく異なる遺伝子のスクリーニングを行ない、十数個の遺伝子を単離した (小松ら、未発表)。その中のひとつである軸索誘導因子 *SLIT1* の発現を成体マカクザル大脳皮質組織上で *in situ* hybridization を用いて解析した結果、*SLIT1* が前頭前皮質の 3-4 層に強く発現していることを見出した。これらのニューロンは、*SLIT1* と受容体 *ROBO* を共発現しており、軸索誘導作用とは異なる *SLIT1* の役割が示唆された。今後、霊長類前頭前皮質において、*SLIT1* が樹状突起形態形成や構造的可塑性に関与する仮説を検証していきたいと考えている。

## 10 発生期横隔膜トランスクリプトーム解析による部位相違性について

○辰巳 徳史<sup>1)</sup>、久保 優芽佳<sup>1)2)</sup>、鈴木 英明<sup>1)</sup>、岡部 正隆<sup>1)</sup>  
 1) 東京慈恵会医科大学 解剖学講座 (組織・発生)  
 2) 東京慈恵会医科大学 5 年生

横隔膜の発生は横中隔、胸腹膜ヒダ、食道の背側間膜が癒合することで起こり、これにより原始横隔膜が形成される。この原始横隔膜に体節に由来する筋芽細胞が侵入することで筋性の膜である横隔膜が完成する。横隔膜の発生異常は先天性横隔膜ヘルニア congenital diaphragm hernia (CDH) を引き起こす。CDH にはその発症部位により大きく 3 種に分類されるが、これらはそれぞれの発生由来部位の異常が原因で起こると考えられている。3 種の CDH のうち最も頻度が高いのは Bochdalek 孔ヘルニアで、CDH 全体の約 85~90% を占めている。さらに Bochdalek 孔ヘルニアの好発部位は左側が約 90% と発症部位に左右差があることが知られている。CDH の原因は少しずつ明らかになってきたが、まだ多くの点不明である。そこで、我々は発生中の横隔膜を発生由来部位別に分割して解析することで、より詳細な横隔膜発生を理解できると考え、トランスクリプトーム解析を行った。その結果、横隔膜の部位ごとに発現遺伝子が異なり、発生起源の特徴を有していることが示唆された。また左右においても異なった遺伝子発現が認められたため、胸腹膜ヒダを構成する細胞においても左右差が存在する可能性を見出した。

## 11 ウサギにおける胃腺分布領域区分に基づく壁内神経叢の分布パターン

○木下 眞大樹<sup>1)</sup>、木賀田 哲人<sup>1)2)</sup>、Amiry Ahmad Faisal<sup>2)</sup>、柴田 秀史<sup>1)2)</sup>  
 1)東京農工大学 農学部 獣医解剖学研究室  
 2)岐阜大学大学院 連合獣医学研究科 基礎獣医学連合講座

【背景】複雑な消化過程を有するウサギの胃において、粘液染色により胃腺分布領域区分を確定し、それに基づき壁内神経叢の分布を観察した。【方法】ニューージーランドホワイト種ウサギ 14匹 (1.0~2.3kg) をペントバルビタール (60 mg/kg) で安楽死後、胃を摘出しピンを用いて伸展して、4%パラホルムアルデヒドにて一晩浸漬固定した。一部の個体では同固定液による灌流固定を行ったのと同様に処理した。次いで、パラフィン切片、粘膜下・筋層全載標本、接線方向凍結切片 (100 μm 厚) を作製し、hematoxylin eosin, PAS, Alcian Blue 染色および抗 PGP9.5 抗体による免疫染色を行った。【結果・考察】胃粘膜のほとんどの領域は固有胃腺が占有し、噴門腺は噴門部の非常に狭い領域に、幽門腺は幽門口側 1/5~1/6 の領域に局限して認められた。噴門腺領域では、筋層間神経叢 (MP) は大小の神経節が不規則に配列し、粘膜下神経叢 (SP) は神経節がほとんど認められなかった。固有胃腺領域では、MP は大小の神経節が規則的に配列し、肛門側ほど神経節は大きく多数で、神経束は太く、網目構造はより緻密で規則的であった。SP は小型の神経節が少数認められるものの、肛門側では減少し、ほとんど認められなかった。幽門腺領域では、MP は大型の神経節と固有胃腺領域よりさらに緻密で規則的な網目構造が認められた。SP は神経節がほとんど認められず、太い神経束が認められた。以上の結果は、胃の運動および腺分泌に対する壁内神経叢の関与の違いを示唆し、ウサギ胃における分泌・運動の理解の基礎となる有用な知見であると考えられる。本研究は JSPS 科研費 17K08121 の助成を受けた。

## 12 新生仔期ラットにおける視床網様核から視床への投射ニューロンの生後発達

○藤田 仁<sup>1)</sup>、井村 幸介<sup>2)</sup>、滝口 雅人<sup>2)</sup>、武田 昭仁<sup>2)</sup>、船越 健悟<sup>2)</sup>  
 1)横浜市立大学大学院 医学部医学研究科 神経解剖学講座  
 2)横浜市立大学 医学部 神経解剖学

ラットの視床では、視床網様核 (RT) が、他の視床核に抑制性の投射をすることで、その機能を制御することが知られている。RT の生後発達については、これまでに Parvalbumin (PV) をマーカーとした報告があるが、各視床核への投射パターンの詳細については明らかになっていない。本研究では、生後 2~4 週齢 (P14~28) におけるラット RT から視床前核群 (ATH) への投射を神経線維および神経終末レベルで観察した。さらに、P14 では ATH から脳梁膨大部皮質 (RSC) への投射について調べた。

実験は、P14、P21、P28 の Wistar ラットを灌流固定し、連続凍結切片を作成した。その後、PV (SIGMA, 1:10000) で免疫染色を行い、DAB 法で可視化し、光学顕微鏡で観察した。P14 では RSC に DiI 結晶を挿入し、連続切片を作成し、逆行性に標識された細胞を蛍光顕微鏡で観察した。

P14 における PV 陽性神経終末の分布は、ATH 内で大きく異なっていた。AD では吻側から尾側にかけて核全体に神経終末が観察されたが、AV、AM では散在性に観察された。また、RT に起始して AD に向かって走行する神経線維には、AV と AM を通過する際に結節状の神経終末を形成するものが認められた。P21、P28 ではこのような結節状の神経終末はあまりみられず、ATH 全体に PV 陽性神経終末が観察された。そのため、結節状の神経終末は P14 の時期特異的な終末構造と考える。

P14 における DiI 標識実験では、ATH に逆行性に標識された細胞が観察された。したがって、P14 では ATH から RSC への投射がすでに存在していると考えられた。これらの結果から、RT は P14 には ATH に投射し、ATH に起始する視床皮質路の機能を抑制的に制御している可能性があると考えられる。

## 13 髄鞘形成不全マウスにおけるミクログリアの免疫組織化学的解析

○五十嵐 恵介<sup>1)</sup> 吉岡 望<sup>2)3)</sup> 竹林 浩秀<sup>2)</sup> 目黒 玲子<sup>1)</sup>  
 1)新潟大学大学院 保健学研究科 検査技術科学分野  
 2)新潟大学大学院 医歯学総合研究科 神経生物・解剖学分野  
 3)新潟大学 研究推進機構 超域学術院

髄鞘形成不全マウスは一種である Shiverer マウスは、オリゴデンドログリア (OL) の先天性機能異常により、中枢神経系において髄鞘低形成となる自然発症変異体である。生後 12 日頃から震えが認められ、100 日前後で死に至る。本研究では、機能不全オリゴデンドログリアに対応する他のグリア細胞の反応を明らかにするため、Shiverer マウスを用い、ミクログリア (MG) を中心とした組織化学的解析を試みた。今回は Shiverer マウス脳の視覚系領域に焦点を置き、得られた結果を報告する。

幼若及びアダルトの Shiverer マウス脳の冠状断切片を作製し、グリアマーカーである Iba1 (MG)、CC1 (OL)、GFAP (アストログリア) を用いて免疫組織化学を行った。その結果、視索において、髄鞘形成時期に関連して Iba1 免疫活性が強まり (P12~14)、成体期まで持続することが分かった。また視索内のグリア細胞数をカウントしたところ、Shiverer マウスでは、P14~20 にかけて OL の増加のみならず、MG の顕著な増加が認められた。更に OL と MG の細胞体同士が密接している像も多数見られた。このことから Shiverer マウス白質において、MG が OL に対して何らかの働きかけを強めている可能性が考えられた。

## 14 Roles of serotonin 4 receptor in neurite formation of hippocampal neurons: An *In vitro* study

○Lokesh Agrawal<sup>1)</sup>, Takashi Shiga<sup>1)2)</sup>  
 1)Graduate school of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba  
 2)Department of Neurobiology, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

### Abstract

Recent studies have shown that serotonin (5-HT) is involved in various aspects of the development of hippocampus. However, the specific role of 5-HT4 receptor (5-HT4R) is poorly understood. Hence, in the present study we investigated the specific roles of 5-HT4R in the promotion of neurites growth. In brief, neurons from the mouse hippocampus at embryonic day 18 were dissociated and effect of 5-HT4R agonist RS67333 and antagonist GR125487 were investigated. We found that treatment with agonist treatment promoted the axon length, axon diameter and branching together with noticeable growth in the total dendrite length, primary dendrites and their branching. Furthermore, concomitant treatment with GR125487 neutralized the RS67333-induced growth of dendrites and axons, which confirmed the specific roles of 5-HT4R in the development of neurites. Next investigated the involvement of collapsin response mediator protein 2 (CRMP2) in the role of 5-HT4R, which is widely expressed in embryonic brain and plays important roles in neurite formation and synaptic plasticity through the interactions with cytoskeletal proteins. Recent studies have shown that c-terminus of 5-HT4R also affects the CRMP2 expression via direct or indirect molecular pathways which are not well studied. We investigated the roles of 5-HT4R on *crmp2* mRNA expression and its involvement in 5-HT4R-mediated formation of dendrites and axons *in vitro*.

## 15 脊髄における Cytohesin 2 の局在解析と疼痛制御の機能関与

○伊藤 諭子<sup>1)2)</sup>、深谷 昌弘<sup>1)</sup>、岡本 浩嗣<sup>2)</sup>、阪上 洋行<sup>1)</sup>  
 1)北里大学 医学部 解剖学教室  
 2)北里大学 医学部 麻酔科学教室

ADP リボシル化因子 6 (Arf6) は、小胞輸送を介し代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) の細胞表面発現量の調節への関与が報告されている。mGluR の脊髄での機能障害は、慢性炎症性疼痛に関与していることが知られており、その分子機構の解明は、慢性炎症性疼痛の治療を行う上で重要である。本研究では、Arf6 活性化制御因子である cytohesin-2 に着目し、脊髄における局在解析と cytohesin-2 遺伝子欠損マウスを用いて慢性炎症性疼痛との関連性を調べた。

まず酵母 two-hybrid 法では、cytohesin-2 の結合分子として mGluR の足場分子 Homer1b/c が単離され、cytohesin-2 と Homer1b/c の互いの coiled-coil 領域が結合部位であった。次に、免疫染色法では、cytohesin-2 や Homer1b/c、mGluR5 は脊髄後角 I/II 層に多く局在し、免疫電子顕微鏡解析では、cytohesin-2 はシナプス後肥厚部 (PSD) 近傍の細胞膜周辺、Homer1 は PSD 直下、mGluR5 は PSD 近傍の細胞膜に局在が認められた。さらに、cytohesin-2 遺伝子欠損マウスを用いて坐骨神経障害性疼痛モデルを作成し、疼痛感受性の変化を Von Frey テストで評価した結果、障害後 2 日目において、cytohesin-2 遺伝子欠損マウスでは疼痛閾値が有意に高かった。

以上から、cytohesin-2-Arf6 シグナル伝達経路が Homer1b/c、mGluR5 との分子ネットワークを形成するとともに発現局在を調節することで、疼痛制御を行っている可能性が示唆された。