

日本解剖学会

第64回東北・北海道連合支部学術集会

会期：平成30年9月1日（土）、2日（日）
会場：北里大学獣医学部

特別講演

牛の胃における神経系の組織学的側面

北村延夫

帯広畜産大学 獣医学研究部門 解剖学研究室

牛の胃における構造の特徴と消化管神経系の組織学的側面について紹介する。牛の胃は無腺部（第一胃、第二胃、第三胃）と腺部（第四胃）で構成されている。各胃にはそれぞれ特徴的な粘膜突起構造がある。筋層はいずれも平滑筋である。無腺部には内分泌細胞は分布していなかった。筋層の制御機構は神経系が専ら担っていると考えられる。無腺部の粘膜神経叢と粘膜下神経叢は網工を形成してはいたが、神経細胞体は稀であった。筋層間神経叢は網工を発達させ、神経細胞も多数認められ、神経節内で特徴的な配列をしていた。筋層神経叢と筋層間神経叢は第二胃溝領域に密度が高く認められた。第四胃では各層の神経叢が発達しており、腺下神経叢に神経細胞が特徴的に多く認められた。また、第四胃の腺には各種内分泌細胞が分布していた。神経細胞には Dogiel の各型が認められたが、胃の部位による型の違いは確認されなかった。また、牛の胃においても各種神経伝達物質の種々の共存パターンが報告されている。胃の運動調節を仲立ちしているであろう c-Kit 細胞も確認された。

反芻動物の胃の自律制御機構は迷走神経依存性が強いとされている。迷走神経終末は第二胃溝領域に多いとされていることから、外来性神経系と内在性神経系の協調領域が胃溝にあって、胃全体の統合領域になっていることも考えられる。(COI:No)

1 収縮環形成分子機構の超解像顕微鏡による解析

○上条 桂樹¹、加藤 薫²、高橋 正行³

¹東北医科薬科大・医・解剖学、²産総研・バイオメディカル、³北大・理・化学

収縮環は低分子量 G タンパク質 Rho シグナルの制御で形成される。しかし、その形成過程の多くは未解明のままである。このため、超解像顕微鏡により、ブタ尿管上皮細胞 LLC-PK1 を腹側（底面側）から観察し、収縮環の構造および形成過程を解析した。染色体分離後、Rho は、染色体間のフリーの微小管先端が細胞膜内面に達するところにスポット状に局在した。Rho とフォルミン DIAPH3/mDia2 は共局在し、DIAPH3/mDia2 からはアクチンフィラメントが伸長していた。Rho キナーゼ阻害剤またはミオシン ATPase 阻害剤で分裂後期の細胞を処理すると、収縮環のアクチンフィラメントが赤道面に平行になるのが阻害された。これらより、赤道面で、Rho キナーゼにより新たに形成されたミオシンフィラメントが DIAPH3/mDia2 から伸びるアクチンフィラメントを架橋することで、アクチン、ミオシン II フィラメントが赤道面と平行になり、収縮環が形成されると推定された。(COI:No)

2 数理的アプローチによる平面内細胞極性の解析

○山崎正和¹、鮎川友紀¹、八月朔日泰和¹、秋山正和²
秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座¹
北海道大学 電子科学研究所²

上皮組織には、細胞の頂端-基底軸と直交する、特定の軸に沿った極性が存在する。これは、平面内細胞極性 (planar cell polarity, PCP) と呼ばれ、様々な組織・器官において観察される現象である。動物の体毛や魚の鱗が一定方向を向いているのも、PCP の典型例である。また、PCP は組織・器官の構築のみならず、機能発現 (気管や卵管上皮における方向性を持った繊毛運動など) に重要な役割を果たし、その破綻は様々な疾患を引き起こす。

体表面の毛の配向性異常を呈するショウジョウバエ変異体の解析から PCP を司る遺伝子が同定されたのを嚆矢とし、近年、PCP の分子機構の理解が飛躍的に進展した。PCP の主要制御分子は機能的な相違により二つのグループに大別されている。一つ目は 7 回膜貫通型タンパク質 Frizzled (Fz) や 4 回膜貫通型タンパク質 Strabismus (Stbm; 別名 Van Gogh)、7 回膜貫通型カドヘリン Flamingo 等によって構成される「コアグループ」である。これらの分子は個々の細胞において偏在化し、この偏在化が細胞の極性形成に中心的な役割を担っている。二つ目は、非典型的カドヘリン分子である Dachous (Ds) や Fat (Ft) 等によって構成される「Ds グループ」である。Ds グループ分子はコアグループ分子の上流で器官の方向情報として働き、特定の方向に沿ってコアグループ分子の非対称局在の向きを揃えるのに重要である。しかしながら、Ds グループを介したコアグループ分子の局在制御機構には不明な点が多く、通常の分子生物学的手法では解析が困難な問題も含まれている。本会では、我々が取り組んでいる数理的アプローチを用いた PCP 研究の成果について報告した。(COI:No)

3 ゴルジ-エンドソーム局在型クラスリンアダプターによる EGFR の新規寿命調節機構

植村武文¹、和栗聡¹

福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座¹

上皮成長因子受容体 (EGFR : epidermal growth factor receptor) は受容体型チロシンキナーゼ (RTK : receptor tyrosine kinase) である。その遺伝子変異や発現量亢進は様々な癌病態に関連付けられ、EGFR 機能阻害剤 (EGFR-TKI) である Gefitinib などが抗癌剤として用いられている。しかしその使用から 1 年後には、EGFR 遺伝子の新たな変異の出現や他の RTK の活性化による耐性機構が生じることが知られている。一般に、EGF との結合により活性化した EGFR はエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、エンドソームを経てリソソームに運ばれ分解される。これは EGF の一過性投与によって起きる現象と理解され、実験系としても広く使われる。しかし、定常状態における EGFR の分解機構、すなわちその寿命を調節する機構は不明である。

一方、クラスリンアダプターである単量体型の GGA (Golgi-localized, γ -adaptin ear containing, ARF binding protein) や複合体型の AP 複合体 (adaptor protein complex) は、ポストゴルジオルガネラ間輸送においてマンノース 6 リン酸受容体など、特定の膜貫通蛋白質の細胞質ドメインに存在する配列を認識し、クラスリン小胞に積み込むことでその選別輸送に関わる。我々はこれらクラスリンアダプターの機能を解析する過程で、GGA が EGFR に結合し、その寿命を調節する可能性を見出した。

この結果は、GGA に依存した EGFR の寿命調節機構が、薬剤耐性を克服する新規の EGFR 阻害法となる可能性を示唆する。(COI:Properly Declared)

4 Isolation of tissue-derived extracellular vesicles: a feasible endeavor?

○Adam Matejovič¹, Shohei Wakao¹, Mari Dezawa¹
I Tohoku University, Department of Stem Cell Biology and Histology

Extracellular vesicles (EVs) are a heterogenous population of membrane-bound nanovesicles consisting of exosomes and microvesicles released by any cell types. EVs, and especially exosomes, are now recognized as an additional type of intracellular communication, modulators of diverse biological and cellular responses. Whilst majority of the studies related to EVs are based on isolation from cell culture and bodily fluids, there is a minimum information regarding tissue as the source for EVs isolation. To address this issue in our study of Muse cell features after exposure to EVs from damaged tissues, we examined possible protocols for EVs isolation from damaged tissues. For EVs isolation from damaged liver in mice (damage was induced by i.p. application of CCl4 in C57BL/6N mice), we used commercially available kit or commonly used differential ultracentrifugation method. For EVs characterization, we examined the size distribution and concentration of isolated particles by Tunable Resistive Pulse Sensing (TRPS, qNano Gold- IZON Science). For general characterization of EVs by examining expression of proteins commonly used as markers of exosomes, we used Western blotting for CD63, CD9, CD81, HSP70, TSG101 and ALIX. Our data showed that using commercial kit or differential ultracentrifugation can lead to the isolation of EVs from a tissue. By Western blotting we detected HSP70, TSG101, CD81, Alix and CD63. However, desired sized for exosomes (< 100 nm) was achieved only by ultracentrifugation method and observed by TRPS technology. (COI:No)

5 DGK・および各種 DGK・結合タンパクによる多様な NF-κB シグナル制御機構

○田中 俊昭、後藤 薫
山形大・医・解剖学第二講座

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) はさまざまな DG 応答分子の生理的活性調節因子と考えられ、近年、その機能的役割として癌や炎症応答におけるシグナル伝達への関与が注目されるようになってきている。そこで我々は、細胞内の炎症応答の中心的な役割を担う NF-κB カスケードに注目して、DGK および各種 DGK 結合タンパクが NF-κB カスケードに対して、どのような制御を行っているのかを検討した。これまでの研究において DGK ζ が、NF-κB の細胞内シグナル伝達において、DGK ζ ノックダウンによって NF-κB p65 が核内に留まるとともに、NF-κB の転写活性が増大することを明らかにした。一方で、DGK ζ 結合蛋白として同定した Nucleosome assembly protein 1-like 1 (NAP1L1) および NAP1-like 4 (NAP1L4) においては、NAP1L1 をノックダウンすると NF-κB p65 は核内へ移行せずに細胞質に留まることから、NF-κB の転写活性が減弱するのに対して、NAP1L4 をノックダウンすると NF-κB p65 の核内移行に関しては影響を与えず、NF-κB の転写活性に変化は認められなかった。また、別の DGK ζ 結合蛋白である Dead box protein 5 (DDX5) のノックダウンでは、NF-κB p65 の核内移行に影響は与えなかったものの NF-κB p65 の 311 番目セリンのリン酸化が抑制された結果、NF-κB の転写活性が減弱することが明らかとなった。以上のことから、DGK ζ および各種 DGK 結合タンパクは、NF-κB カスケードに対してそれぞれ異なる制御メカニズムを有しており、炎症応答における新たな調節因子としての可能性が示唆された。(COI: なし)

6 両生類 Muse 細胞の解析から探るヒト Muse 細胞の再生修復能向上

○大塚(山口) 理奈¹、黒田 康勝¹、串田 良祐¹、若尾 昌平¹、北田 容章¹、出澤 真理¹
東北大学 大学院医学系研究科 細胞組織学分野¹

ほ乳類の骨髄などの間葉系組織や各臓器の結合組織、末梢血を含む全身には、生体内多能性幹細胞 Multi-lineage Differentiating Stress Enduring (Muse) 細胞が存在する。この細胞は、ES 細胞や iPS 細胞に代表される多能性幹細胞の特徴である、「多能性(3 胚葉に由来する体のあらゆる細胞に分化する能力)」と「自己複製能(多能性を保持したまま分裂する能力)」をいう 2 つの能力をもつだけでなく、傷害シグナルに反応して傷害部位に遊走し、ホーミングした後、組織に適した細胞に自発的に分化し、生着する高い「組織修復能」をもつ(Kuroda et al. Nat Protoc. 2013.; Dezawa M. Cell Transplant. 2016)。臨床研究においては、脳梗塞・心筋梗塞の患者の末梢血で、梗塞から 24 時間後に Muse 細胞の数が上昇しており、その数値の高い患者の半年後の予後が良いことから(Hori et al. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2016.; Tanaka et al., Circ J. 2018)、Muse 細胞は大きな傷害の修復にも寄与している可能性が示されている。しかし、組織修復能に優れた Muse 細胞が、手足の切断などの大きな傷害を完全に再生することはない。私たちは、ヒト Muse 細胞が、大きな傷害に対して組織修復能や器官再構築能を発揮できない原因を明らかにするため、手足や心臓、脳、眼のレンズ等を完全に再生する高い再生能力をもつ両生類において、両生類 Muse 細胞を探索し、その多能性や組織修復能を解析してヒト Muse 細胞と比較することにした。現在までに、ヒト Muse 細胞と同じ細胞表面マーカーで両生類 Muse 細胞を生体内の各臓器の結合組織、培養間葉系幹細胞で同定し、その細胞が多能性遺伝子を発現するなどヒト Muse 細胞と同じ特徴をもつことを明らかにした。本会ではその研究成果の詳細について報告した。(COI: 無し)

7 遺伝子操作を用いない Muse 細胞の増殖促進方法の開発

○李 根¹、北田容章¹、出澤真理¹
東北大学 細胞組織学分野¹

Muse 細胞は骨髄、脂肪、末梢血、各臓器の結合組織に存在する生体内の多能性幹細胞であり、ES 細胞や iPS 細胞のように様々な細胞への分化能力を持っている一方、腫瘍性が無い。Muse 細胞は扱う上で倫理上や腫瘍化の懸念が少なく、分離と培養が容易なため、再生医療への実用化が期待されている。しかし、Muse 細胞の製剤化には、数パーセントが含まれるヒト間葉系細胞(hMSC)から分離し拡大培養が必要があるが、将来様々な疾患への応用が進めば、膨大な数の Muse 細胞が確保されなくてはならなくなる。本研究では、Muse 細胞の低酸素培養を通じて、より効率的な Muse 細胞培養法を開発することを目的としている。一方で、細胞の増殖や分化には細胞内代謝の関わりが深く、Muse 細胞においても代謝活性を変えることで増殖能の変化を検討した。その結果、Muse 細胞の代謝は、解糖系と酸化的リン酸化が混合されたものであり、ガン細胞や ES/iPS 細胞が示す解糖系優位な代謝と体細胞における酸化的リン酸化優位の代謝の中間的な位置にあることがわかった。さらに、Muse 細胞において解糖系を優位にするために低酸素条件下で培養したところ、細胞増殖速度が上昇する結果を得ている。これらの結果から、低酸素および通常酸素条件下における Muse 細胞の代謝状態を解析し、効率的に増殖させる方法を開発することで、将来臨床応用及び製剤化における細胞数不足の問題解決の一助となる。(COI: なし)

8 孤束核・分界条床核投射系のノルアドレナリン/グルタミン酸共放出ニューロンがもたらすユニークな神経伝達の分子形態学的基盤

内ヶ島基政、長路敬太、渡辺雅彦
北海道大学 大学院医学研究院、解剖発生学教室

モノアミンニューロンは単にモノアミンを放出するだけでなく、グルタミン酸や GABA の共放出を介して多彩な神経伝達を行うことが明らかになりつつある。本研究は、ストレス応答に重要な孤束核から分界条床核へのノルアドレナリン投射系の分子形態学的特性を検討した。蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションを用いた mRNA 発現解析によって、孤束核ノルアドレナリン/ドーパミンニューロンにおけるノルアドレナリン合成・放出関連因子(チロシン水酸化酵素、ドーパミンβ 水酸化酵素、2 型小胞膜モノアミン輸送体)とグルタミン酸放出に関わる 2 型小胞膜グルタミン酸輸送体 (VGluT2) は互いに相補的な発現を示し、孤束核ノルアドレナリンニューロンはノルアドレナリン合成・放出関連因子を優勢に発現するグループと VGluT2 を優勢に発現するグループの 2 群に分類された。これに対応して、分界条床核のノルアドレナリン作動性神経終末にも、ノルアドレナリン合成・放出関連因子を優勢に発現するグループと VGluT2 を優勢に発現するグループの 2 群に分けられ、同一軸索上の終末は同じ神経化学的特性を有していた。驚くべきことに、これらのグループのノルアドレナリン作動性軸索も同一軸索上にグルタミン酸受容体を発現する非対称性シナプスと GABA 受容体を発現する対称性シナプスの両方を形成し、これらの形成割合は 2 つのグループ間で相同であった。しかし、これらのグループのノルアドレナリン作動性軸索も GABA 合成酵素の発現は検出感度以下であった。以上から、孤束核・分界条床核投射系のノルアドレナリンニューロンはノルアドレナリンに加えグルタミン酸を共放出する分子基盤を有し、ノルアドレナリンを優先的に放出するグループとグルタミン酸を優先的に放出するグループに分類できる。さらに、これらの神経伝達の分子基盤が整ってグルタミン酸を介した速い神経伝達を行うためのシナプス伝達の分子基盤が整っていることから、標的に対して異なる効力で 2 種類の神経伝達が行われる可能性が示唆される。一方、GABA を介する伝達が発現は不完全であり、GABA 受容体を発現する対称性シナプスが GABA の機能的な伝達の場であるのか、接着の場として利用されているのかについては、今後のさらなる検討が必要である。(COI: No)

9 脳梁膨大後皮質における GluD2/Cb1n1 複合体は視床前核由来グルタミン酸作動性神経終末とのシナプス形成に重要な役割を担う

○今野幸太郎¹、崎村建司²、渡辺雅彦¹
北海道大学大学院医学研究院 解剖発生学教室¹、新潟大学脳研究所 細胞神経生物学分野²

デルタ型グルタミン酸受容体 GluD2 は細胞選択的発現特性および入力選択的局在特性を有し、小脳皮質シナプス回路の形成制御に関与する。近年 GluD2 の欠失変異をもつ家系が相次いで報告され、これらの患者は GluD2 欠損マウスと同様に小脳性の運動失調や自発眼振を主徴とするが、発語障害や精神遅滞といった高次脳機能障害も認められる。このような表現型は大脳性機能障害を反映していると考えられるが、小脳外における GluD2 の発現局在や神経回路基盤構築への関与はいまだ不明である。始めに *in situ* hybridization 法を用いて GluD2 mRNA の空間発現分布と発現細胞を検討した結果、GluD2 mRNA は小脳と比較して低いレベルではあるが、大脳皮質、海馬、線条体といった終脳の高次脳機能領域においても発現が認められ、細胞種選択的に発現することが明らかとなった。蛍光抗体法を用いて GluD2 タンパクの空間分布を検討した結果、mRNA の空間発現分布に一致した脳領域に特異的な反応が認められた。次に GluD2 の発現が豊富な脳梁膨大後皮質において局在を検討した結果、GluD2 は視床前側核由来の VGluT2 陽性グルタミン酸作動性神経終末との非対称性シナプス後部に選択的に局在することが明らかとなった。さらに、GluD2 はリガンドである Cb1n1 と近接して局在し、GluD2 遺伝子欠損マウスおよび Cb1n1 遺伝子欠損マウスでは視床前側核由来 VGluT2 陽性グルタミン酸作動性神経終末の減少が認められた。以上の結果は、大脳においても GluD2/Cb1n1 複合体は選択的な神経回路の結合性強化を通して基本的回路構築に関与することを示唆する。(COI: No)

10 脱髄疾患における FABP7 の機能的役割の検討

○宮崎啓史、神里賢勇、佐藤匠、大和田祐二
東北大・院・医・器官解剖学分野

背景 多発性硬化症 MS は難治性の脱髄疾患で詳細な病態機構は不明である。これまで、MS の動物モデル(実験的自己免疫性脳脊髄炎 EAE モデル)において、脂肪酸結合蛋白 FABP7 は、脊髄の脱髄領域における活性化アストロサイト中に強く発現することが報告されているが、その機能的役割は不明である。今回、FABP7 遺伝子欠損 (KO) マウスを用いて、EAE の発症過程における FABP7 の機能的役割を検討した。方法 野生型 (WT) マウスおよび KO マウスに対し、MOG₃₅₋₅₅ ペプチドの免疫により EAE を誘導し、後肢麻痺などの臨床症状の程度を示す臨床スコアの評価と腰部脊髄の組織学的評価を行った。結果 KO マウスは WT マウスに比べ、臨床症状の出現が早く、臨床症状のピークも早期であった。ピーク時の臨床スコアは、WT マウスと KO マウスで差はなかった。一方で、ピーク以降、臨床症状はやや改善するが、KO マウスは WT マウスと比較して、より臨床スコアの改善が認められた。ピーク以降(投与後 21 日目)で、主に脱髄領域周囲のアストロサイトから産生され、再髄鞘化に対して抑制的に働く fibronectin の発現を組織切片上で計測したところ、WT マウスと比較して KO マウスで低下していた。考察 FABP7 は、脱髄疾患の発症に対して抑制的に働いていると推測される。一方で、病態の後期では脱髄領域におけるアストロサイトの FABP7 が fibronectin 産生制御を介し、再髄鞘化を抑制する可能性が示された。(COI: No)

11 神経型ニコチン性アセチルコリン受容体の分子シャペロン TMEM35 のマウス脳における局在

○大坪琴美¹、山崎美和子²、今野幸太郎²、渡辺雅彦²
北海道大学医学部 医学科¹、北海道大学大学院医学研究院 解剖発生学教室²

近年同定された TMEM35 は 4 回膜貫通型のタンパク質であり、ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) サブユニットの折りたたみと五量体形成に重要な分子シャペロンである。TMEM35 欠損マウスでは脳内の nAChR が激減する為、nAChR の発現に非常に重要な役割を果たしていると考えられるが、発現細胞や細胞内分布については不明な点が多い。そこで私たちは成体マウス脳を用いて、TMEM35 の局在に関する組織学的解析を行った。リボプローブを用いた *in situ* hybridization 法により検討した結果、TMEM35 の mRNA を発現する細胞は脳内に広く分布していた。また、特異的抗体を用いた蛍光抗体法では、TMEM35 のタンパク質は細胞体の核周囲部や樹状突起基部に検出された。mRNA とタンパク質の発現強度と脳内での分布はよく一致しており、伝達物質や脳領域に応じて次のようなパターンを示していた。コリン作動性ニューロンでは、動眼神経核・顔面神経核を代表とする運動性のコリン作動性ニューロンや、背側線系に存在する介在ニューロンに非常に強く発現していた。これに対し、Ch1-8 に分類される中隔核、対角帯核、内側手綱核、橋脚被蓋核などの非運動性のコリン作動性ニューロンでは検出できないか、発現が低い傾向にあった。GABA 作動性ニューロンでは、大脳皮質や海馬などの介在ニューロンや、内側中隔核の投射ニューロンで強く発現していたが、背側線系の中型有髄細胞での発現は弱かった。また、大脳皮質や海馬の錐体細胞などのグルタミン酸作動性ニューロンの発現は総じて弱い傾向にあった。金コロイド銀増感法による包埋前免疫電顕法を用いて、特に発現が強い顔面神経核のコリン作動性ニューロンを解析したところ、局在を示す粒子の大部分は細胞質や小胞体膜に留まり、細胞膜には殆ど検出されなかった。細胞質の粒子は細胞体の核周囲部や樹状突起内部に豊富であるのに対し、軸索には乏しい傾向にあった。この結果は TMEM35 が細胞膜には移行しないという報告と一致しており、TMEM35 が特定の細胞において細胞質や小胞体で集積し、近傍の細胞膜上に発現する nAChR の供給に寄与している可能性が示唆された。nAChR は細胞種によって発現量や発現部位が大きく異なることが知られているが、その背景に TMEM35 の多寡や異なる細胞内局在が存在することも予想される。今後は他の陽性細胞内での分布や nAChR 各サブユニットとの共発現について比較検討を進める予定である。(COI: No)

12 外側結合腕傍核外側部の低酸素反応性神経に対する延髄腹側呼吸群からの入力

○森永涼介^{1,2}、中牟田信明^{1,2}、山本欣郎^{1,2}
岩手大学農学部獣医解剖学研究室¹、岐阜大学大学院連合獣医学専攻基礎連合講座²

【背景】結合腕傍核およびケリセ布施核からなる結合腕傍核複合体には、低酸素暴露により活動が亢進する神経が分布している。また結合腕傍核複合体と延髄腹側呼吸群 (VRC) は互いに神経を投射していることが明らかになっている。そこで本研究では、結合腕傍核複合体の低酸素反応性神経と VRC との神経連絡を明らかにするために、逆行性および順行性神経標識物質である CTB を用いた組織学的解析を行う。【材料・方法】VRC に CTB を注入した Wistar Rat (雄、8-10 週齢) に 10%O₂ を 2 時間暴露し、免疫組織化学に供した。一次抗体には、CTB および Fos に対する抗体を用いた。また、低酸素暴露のみを行ったラットにおいては、CGRP および Fos に対する抗体を用いた免疫染色を行った。【結果】低酸素暴露したラットにおいて大部分の Fos 陽性神経は、外側結合腕傍核の外側部および背側部に認められ、一部は外側結合腕傍核半月部やケリセ布施核に認められた。また、外側部に認められた大部分の Fos 陽性神経は、CGRP 陽性反応を示した。CTB 陽性神経細胞は、半月部やケリセ布施核に認められたが、Fos 陽性を示すものはわずかであった。順行性に標識された CTB 陽性神経終末は、外側部に密に認められ、Fos 陽性神経が分布する領域に重なっていた。【考察】外側部の CGRP 作動性神経は、VRC からの入力を受け、活動を亢進していると考えられる。また、VRC へ投射する半月部やケリセ布施核の神経の大部分は、低酸素暴露時には活動が亢進しない。(COI: なし)

13 糖鎖 a1-2Fuc を発現する嗅覚ニューロンは主嗅覚系でのみ加齢性に減少する

○近藤大輔、佐々木基樹、北村延夫
帯広畜産大学 獣医学研究部門 解剖学研究室

嗅上皮と鋤鼻器に存在する嗅覚ニューロンはそれぞれ主嗅球と副嗅球の嗅糸球体へと投射し、それらは生涯を通じてターンオーバーしている。糖鎖 a1-2Fuc は神経突起の伸長やシナプス可塑性を介し、発生段階の嗅覚系形成に重要な役割を有することが知られている。演者らはこれまでに、若齢成体マウスの嗅覚系における糖鎖 a1-2Fuc の局在を報告した。本研究では、その局在が加齢性に変化している可能性を探究した。嗅上皮における a1-2Fuc 陽性の嗅覚ニューロンの割合は、3ヶ月齢群および8ヶ月齢群において1ヶ月齢群よりも有意に少なかった。また、主嗅球における a1-2Fuc 陽性の嗅糸球体は、加齢に伴って有意に減少した。その一方で、全ての月齢群において、鋤鼻器の全ての嗅覚ニューロンおよび副嗅球の全ての嗅糸球体が a1-2Fuc 陽性を示した。本研究で見られた主嗅覚系の加齢性変化は、嗅上皮における未成熟な嗅覚ニューロンの比率の加齢に伴う減少を反映し、また対照的に鋤鼻系では、糖鎖 a1-2Fuc が軸索伸長以外の神経機能にも関連している可能性が考えられる。本研究により、主嗅覚系では高齢時より幼若時において糖鎖 a1-2Fuc の役割に依存している一方で、鋤鼻系では生涯を通じて同程度に糖鎖 a1-2Fuc に依存していることが示唆された。(COI: No)

14 ラットの胃における P2X3 型 ATP 受容体陽性神経終末の形態

○平川正人、横山拓矢、齋野朝幸
岩手医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野

【背景と目的】胃壁の伸展を受容する感覚神経終末として、筋層間神経叢に分布する Intraganglionic laminar ending (IGLE) や内輪走筋層に分布する Intramuscular array (IMA) がある。一方で、P2X3 型 ATP 受容体は伸展受容体の神経終末に発現することが報告されているが、胃に分布する P2X3 陽性神経終末の詳細は明らかでない。本研究ではラットの胃における P2X3 陽性神経終末の形態学的解析を行った。

【材料と方法】Wistar ラット (雄、5-12 週齢) の胃のホルムウント標本と凍結切片を作製後、P2X3、 α -平滑筋アクチン (ASMA)、PGP9.5、S100B に対する抗体を用いて間接蛍光抗体法によって染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。【結果】P2X3 陽性神経終末は胃全体の筋層間神経叢と幽門前庭の粘膜下組織に観察された。筋層間神経叢には葉状の軸索末端部を有する IGLE として認められ、幽門前庭には網状および籠状構造を形成する神経終末が認められた。網状神経終末は分岐と吻合を繰り返す神経線維によって構成され、ASMA 陽性の外縦走筋層に対して平面的に分布していた。また、軸索末端部は平板状に膨隆し、その周囲は S100B 陽性の終末ニューロン細胞によって取り囲まれていた。これに対し、籠状神経終末は神経線維の網工によって構成され、PGP9.5 陽性の神経細胞体と S100B 陽性のグリア細胞からなる神経節様構造を立体的に包み込んでいた。【考察】P2X3 陽性反応を示す IGLE と網状神経終末はそれぞれ胃全体と幽門前庭の伸展を受容している可能性がある。また、籠状神経終末は神経節様構造物と機能的に関係している可能性がある。COI: No

15 Mediastinal fat-associated lymphoid cluster and lung asthma development in papain induced lung asthma mouse model

Yaser Hosny Ali Elewa, Osamu Ichii, Yasuhiro Kon
Laboratory of Anatomy, Department of Basic Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Japan

Mediastinal fat-associated lymphoid cluster (MFALCs) is a novel immune tissue, and C57BL/6 (B6) mouse strain showed relatively large size of MFALCs among healthy strains. Recently, we reported that inflammation induce the pathological development of MFALCs in bleomycin induced pneumonitis B6 mice model. However, no reports concerning the correlations between the development of MFALCs and other lung diseases specially asthmatic condition. Therefore, in this study, we analyzed the bronchoalveolar lavage stained cytosin sections, and compared the histopathology of mediastinal fat tissues and lungs among papain induced lung asthma mice model and vehicles at 3 and 7 days (d) following intranasal instillation of either papain (papain group) or vehicles (PBS group) in B6 mice. Furthermore, immunohistochemistry for CD3, B220, Iba1 and peripheral node addressin (PNA-d) was performed to detect T- and B-cells, macrophages, and high endothelial venules. Interestingly, the papain group showed significantly higher ratio of lymphoid cluster area to total mediastinal fat tissue area. Furthermore, significantly numerous goblet cells and higher index ratios of different immune cells within different lung lobes when compared with the PBS administered group. Furthermore, significant positive correlations were observed between quantitative parameters of these immune cells in both the lungs and the size of MFALCs. Thus, we suggest a potentially important role for MFALCs in the progression of lung disease in such papain induced lung asthma mice model. (COI: No)

16 糖尿病ラットを使用している甘草の予防的効果の解析

伊藤文人、渡辺敬文、美名口順、広瀬拓哉、高橋直紀、○植田弘美
酪農学園大学 獣医学類 獣医解剖学

【背景・目的】甘草はマメ科の多年生植物で、主成分として肝臓機能の改善効果が期待されるグリチルリチン酸を含んでいる。今回は糖尿病ラットを用い、罹患直後より甘草添加飼料を給仕して、糖尿病に続発する肝臓疾患の病態変化を解析し、甘草の予防的効果を検証した。【材料・方法】Wistar 系ラットを実験群と通常群に区分し、実験群にはストレプトゾトシンを腹腔内投与し糖尿病を誘発した。それらのラットを通常の飼料のみで飼育した対照群と甘草添加飼料を与えた甘草投与群に区分した。通常群には生理食塩水を腹腔内投与した。これら 3 群を 1 ヶ月ないし 2 ヶ月間飼育した後、血液、肝臓、膵臓を採材した。【結果・考察】血液検査の結果、通常群と比較して肝機能マーカー、TG、肝臓中 TG の数値が対照群で上昇したが、甘草投与群では低下した。インスリン量は実験群間で有意な差はなかった。光顕観察の結果、対照群では多数の脂肪滴が蓄積した肝細胞が数多く観察されたが、甘草投与群では少数確認された。通常群では肝小葉全体に認められたグリコーゲン顆粒が、対照群ではほとんど確認されず、甘草投与群では中心静脈付近に確認された。透過型電顕観察の結果、対照群ではミトコンドリアの断面積が増加していたが、甘草投与群では減少していた。以上の結果より、甘草はインスリンの増加を介さずに肝臓のグリコーゲン顆粒の貯留を促進し、また、肝臓の脂質代謝に作用し、脂肪滴の蓄積やミトコンドリアへの酸化ストレスを抑制することで、糖尿病に続発する肝脂肪化を予防していることが示唆された。(COI: No)

17 ラット消化管、膵臓における脂肪酸受容体 mRNA 量の成長に伴う変化

伊藤 勇人¹、中橋冬陽¹、眞鍋 昇²、谷口 和美¹
北里大学 獣医学部 獣医解剖学研究室¹、
大阪国際大学²

遊離脂肪酸受容体 Free fatty acid receptor 1~4、すなわち *Ffar1* (中~長鎖脂肪酸受容体)、*Ffar2* (短鎖脂肪酸受容体)、*Ffar3* (短鎖脂肪酸受容体)、*Ffar4* (中鎖脂肪酸受容体) の mRNA 発現量が、出生、離乳などの成長に伴い、どのように変化するか、検討することを目的とした。

胎齢 15 日から 188 日齢の Wistar ラットの回腸、結腸、膵臓を使用した。HE 染色および一部、免疫組織化学的観察を行った。またリアルタイム PCR により回腸、結腸、膵臓の *Ffar1*~4、*Insulin*、*Glucagon* の mRNA を経時的に定量した。ハウスキーピング遺伝子として *Actb* を用いた。

HE 染色の結果、成長に伴って膵臓では外分泌部が発達し膵島の密度は低下、回腸と結腸においては成長と共に絨毛が発達した。qPCR の結果、*Ffar4* は、回腸と結腸では胎齢 18 日から生後 14 日にかけては発現量の変化は小さかったが、Adult では著しく増加した。*Ffar1*~4 の全て、回腸と結腸は成長に伴い非常に類似した変化を示した。*Ffar1* は、膵臓では回腸、結腸の数十倍の mRNA 量を示した。*Ffar1*~4 は食餌に関わりなく成長と共に増加した。これらの結果は、成長するにつれて必要なエネルギー量が増加するためと推察される。これに対し *Ffar1* は胎生期に増加を完了しており受容体によって成長のパターンが異なることが明らかとなった。(COI:No)

18 バイエル板胚中心における表皮型脂肪酸結合タンパク質の機能

○鈴木良地¹、大和田祐二²、坂東良雄¹
秋田大学大学院医学系研究科 形態解析学・器官構造学講座¹、
東北大学大学院医学系研究科 器官解剖学分野²

表皮型脂肪酸結合タンパク質 (Epidermal fatty acid binding protein: EFABP) は C57BL/6 マウスバイエル板M細胞、樹状細胞、胚中心マクロファージに発現する (R. Suzuki, et al. 2009)。

バイエル板の大部分は B220 (B 細胞マーカー) 陽性細胞で占められるが、B220 の免疫陽性反応は胚中心で減弱する。この領域では、eat-me-signal である phosphatidylserine (PS) が強陽性を示す。実際胚中心マクロファージは周囲の細胞を貪食している。また、PS 強陽性反応と Annexin V との関係が示唆された。PS 強陽性領域が胚中心マクロファージの周囲に形成されることから、Annexin V の起源として胚中心マクロファージが予想された (第 123 回日本解剖学会)。

Annexin V の細胞外分泌と EFABP 発現との関係を RAW264.7 細胞における EFABP 強制発現系を用いて検討した。EFABP の発現強度に従い、Annexin V を含む細胞内小胞は細胞表面近傍に分布が偏り、これに伴って直下に形成される phosphatidylethanolamine (PE) の集塊が成長した。EFABP はこれらの小胞に接していた。細胞表面から遠い小胞直下には EFABP の集積が観られた。EFABP が小胞直下での PE 集塊の形成を促進し、これが Annexin V の分泌充進に働くことが予想された。(COI:No)

19 実験誘発性炎症性腸疾患モデルラットの犬腸上皮細胞における微細構造の変化

○暮地本由己¹、近藤大輔²、韓圭鎬³、佐々木基樹²、福島道広³、北村延夫²
帯広畜産大学 保健管理センター¹、獣医学研究部門解剖学研究室²、生命・食料科学研究部門³

トリプトベンゼン・スルホン酸 (TNBS) は、ヒトの炎症性腸疾患 (IBD) モデル動物作製に広く用いられる。このモデル動物を用いて、IBD に関する食品成分の機能性を詳細に検討するためには、組織レベルに加えて、細胞レベルでの知見が必要と考えられる。そこで本研究では、TNBS 誘発性大腸炎モデルラットの犬腸上皮細胞の微細構造を、光顕・電顕を用いた形態学的解析法により比較検討した。

各実験群から採取した大腸標本の光顕観察では、TNBS 実験群の大腸標本中の部位によって、組織の破壊性変化の程度が異なっていることが確認できた。大腸標本の超薄切片を作製し、電顕観察したところ、TNBS 実験群において組織の破壊性変化が強い部位では、吸収上皮細胞頂端領域に多数の小胞が集積しているのが観察された。さらに、杯細胞の頂端領域には、粘液顆粒の放出後に形成されたと考えられる、大きな空間が観察された。興味深いことに、光顕的には対照群と類似した構造を保持している部位においても、吸収上皮細胞頂端領域へ小胞の散在と、杯細胞頂端領域における大きな空間の形成を示す所見が確認できた。

以上の所見から、TNBS 誘発性大腸炎モデルラットの犬腸において、組織レベルではほとんど正常と評価される部位においても、実際には TNBS に関連する影響を受けて腸管上皮細胞の微細構造に変化が生じていることが示唆された。このような TNBS 誘発性の微細構造の変化に食品成分が与える影響は、IBD に対する食品機能性の評価において、重要な指標の一つとなる可能性がある。(COI:なし)

20 Lansoprazole 投与に伴う胃 Estrogen の肝 Nrf2 への関与

○小林 裕人¹、吉田 沙織¹、白澤 信行²、内藤 輝¹
山形大学 医学部 解剖学第一講座¹
東北文化学園大学 医療福祉学部 リハビリテーション学科 理学療法専攻²

【背景】壁細胞に作用し胃酸分泌を抑制する Lansoprazole (LPZ) が、肝臓において Nrf2 の発現を増加させ、抗酸化ストレスタンパク質の発現を増加させることが明らかとなった。一方、壁細胞は Estrogen を合成し門脈へと分泌する。分泌された Estrogen は肝機能維持への関与が推察されているが、未だその詳細な意義は解明されていない。また、Nrf2 は Estrogen の影響を受けることが報告されているが、胃の Estrogen との関連性は明らかとなっていない。LPZ 投与に伴う肝 Nrf2 活性化に対する胃 Estrogen の影響を検討した。【方法】12 週齢 Wistar 系雄ラットに LPZ を 1、3、7 日間経口投与 (30 mg/kg) し、血中 17 β -estradiol 量、遺伝子発現、タンパク質量を検討した。【結果】LPZ 投与により、胃粘膜上皮中の Aromatase mRNA とタンパク質量が 3 日で増加し、門脈血中 17 β -estradiol 量が投与 3 日と 7 日で増加した。【考察】LPZ は胃の Estrogen 合成分泌を亢進させることが明らかとなった。肝 Nrf2 は LPZ により活性化するとともに、その応答には胃から合成分泌される Estrogen も影響していることが示唆された。恒常的に胃から肝臓へと供給される Estrogen は肝臓の抗酸化ストレス応答に寄与している可能性が示された。(COI: No)

21 ラット副腎におけるインクレチン受容体の免疫組織化学的分布

○横山拓矢、平川正人、齋野朝幸
岩手医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野

【背景と目的】インクレチンはインスリン分泌を促して血糖を下げる消化管ホルモン群であり、グルカゴン様ペプチド 1 (GLP1) やグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド (GIP) が確認されている。また、インクレチンは種々の際外作用を発揮するが、副腎における GLP1 受容体 (GLP1R) および GIP 受容体 (GIPR) の発現は明らかでない。本研究では、副腎における GLP1R と GIPR の発現を RT-PCR および免疫組織化学的解析した。【材料と方法】Wistar ラット (雄、8-15 週齢) の副腎から total RNA を抽出後、RT-PCR によってインクレチン受容体の mRNA 発現を解析した。免疫組織化学では、副腎の凍結切片を GLP1R、GIPR、糖質コルチコイド合成酵素 (CYP11B1)、アルドステロン合成酵素 (CYP11B2)、ノルアドレナリン合成酵素 (DBH) に対する抗体を用いて二重染色した。【結果と考察】RT-PCR では、副腎において GLP1R mRNA の発現が確認されたが、GIPR mRNA の発現は認められなかった。免疫組織化学では、副腎皮質各層に GLP1R 陽性反応が観察された。CYP11B2 陽性の球状帯細胞において GLP1R の弱陽性反応が認められ、CYP11B1 陽性の束状帯-網状帯細胞において点状の GLP1R 強陽性反応が観察された。また、GLP1R 強陽性反応は髓質内に散在する CYP11B1 陽性細胞においても認められたが、DBH 陽性の髓質細胞に GLP1R 陽性反応は認められなかった。これらの GLP1R 陽性反応は抗原吸収試験によって消失した。以上のことから、GLP1 はインスリン分泌を促進する以外に、GLP1R を介して副腎皮質の糖質コルチコイド分泌を調節することで食後血糖を調整している可能性がある。(COI:No)

22 黄体における糖鎖研究～これまでの進展とこれからの課題

○小林純子、岩永敏彦
北海道大学 大学院医学研究院 組織細胞学教室

黄体は、排卵後の卵胞より形成される一時的な内分泌組織で、妊娠の成立と維持に必須なプロゲステロンを産生する。妊娠が成立しない場合、ヒトでは 10 日ほどプロゲステロンを産生したのち、自発的に退化する。妊娠が成立すると、黄体は退化を免れ、初期妊娠の数か月間機能を維持する。黄体の退化回避には、子宮内膜に着床した受精卵より産生される hCG が重要な役割を果たす。ウシやマウスなどの動物では、子宮由来の PGF₂ が黄体の退化を開始させるが、ヒトでは子宮由来の因子は黄体の退化には関与しない。ヒト黄体の自発的な退化メカニズムには不明な点が多く残されている。脳下垂体より産生される LH と hCG は、黄体細胞膜上の共通のレセプター (LHCGR) に結合し、黄体機能維持に働くが、LHCGR の感受性は黄体の成熟とともに低下することがわかっている。我々のこれまでの研究により、LHCGR 感受性の低下に伴い、黄体退化因子である 1) TGF- β スーパーファミリーに属する Activin A と BMP が増加すること、そして、2) 黄体細胞からの黄体機能維持に働く PGE 産生能が低下することがヒト黄体退化の引き金になることが明らかとなった。しかし、LH/hCG に対する感受性低下を引き起こすメカニズムは不明である。我々はこのメカニズムに、ガラクトース結合レクチンであるガレクチンとそれが認識する複合糖質が関与することを見出しつつある。ヒト黄体には、galectin-1 が機能黄体に、galectin-3 が退化黄体に発現する。LH/hCG の黄体機能維持作用には、galectin-1 と糖鎖との相互作用が必要であり、黄体細胞膜上の 2,6 シアル酸の増加は galectin-1 と糖鎖との結合を阻害し、LH/hCG の作用低下を引き起こすことが予想される。一方、ヒト黄体細胞に、スフィンゴ糖脂質の合成阻害薬を投与すると、LHCGR のシグナル伝達経路が変化することがわかった。糖脂質組成の変化も黄体機能に影響を与える。我々は、糖脂質の質的・量的変化がヒト黄体の退化メカニズムを解き明かす鍵になると考えている。今後の課題として、2,6 シアル酸修飾をうける糖タンパク質の同定、および、糖脂質の質的・量的変化の定量的解析が必要である。(COI:No)

23 X線が弾性系線維に与える影響

北山義尚¹、白戸佑貴¹、敦賀英知¹、
弘前大学大学院保健学研究科放射線技術科学領域¹

【背景】弾性系線維は人体の弾性力を必要とする器官、組織に存在する。弾性系線維は、エラスチンと微細線維からなり、オキシタン線維、エラウニン線維、弾性線維に分類される。微細線維が集積しているオキシタン線維に、エラスチンが沈着することによって、その量を増大して弾性線維が成長していく。弾性力に与するエラスチンが破壊されることによって弾性力が失われる。しかし、放射線照射による弾性系線維への影響については不明な点が多い。

【目的】X線を照射した際の肺のエラスチンの変化を解析する。

【方法】使用した細胞は、ラット肺胞線維芽細胞である。コンフルエントになった時点までを0週目とし、4週目まで培養し、線維の形成を観察した。次に、X線の照射方法として、用いた装置は、X線発生装置(MBR-1520R-3)とし、照射条件を管電圧150kV、管電流20mA、線量率1.0Gy/min、0.5mmAl+0.3mmCuフィルタに設定した。照射した細胞に一次抗体 anti-bovine tropoelastin antibody, Rabbit polyclonal を照射終了24時間後に添加し、次に二次抗体 Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit IgG を添加しエラスチンを染色し、蛍光顕微鏡 (IX71N-22PH) にて観察を行った。

【結果】線量の増加により、線維の分解が観察され、10Gyにて線維径が細くなり、30Gyからは線維の連続性が失われている様子が確認された。また、高線量域では、単独照射の方が分割照射と比較して線維の分解が観察された。

【結論】エラスチンはX線によって線量依存的に分解される。(COI:なし)

24 多裂筋における脂肪浸潤の成因の検討

○高野優太¹、小林裕人²、吉田沙織²、内藤輝²、清重佳郎¹

¹山形県立保健医療大学大学院 保健医療学研究科

²山形大学医学部 解剖学第一講座

【背景】MRIにより多裂筋の脂肪浸潤 (fat infiltration: FI) が棘突起・椎弓側へ局在していることが指摘されているが、組織学的に検討した報告はない。【材料と方法】山形大学医学部解剖実習用獣体8体(83.3±9.2歳)のL4椎体levelで両側多裂筋を2cm厚で採取し、深層内側部 (medial deep multifidus: mdMF) と浅層外側部 (lateral superficial multifidus: lsMF) に分けて検討した。HE染色、van Gieson染色に加え、anti-slow myosin heavy chain (MHC) と anti-fast MHC を用いて免疫染色を行い、組織構成、type別筋線維数、断面積を比較した。本研究は山形大学医学部倫理委員会による承認 (#315) を得て行った。【結果】筋線維、腱を含む膠原線維、脂肪組織はmdMFでそれぞれ10.0、31.5、58.5%、lsMFで32.3、51.5、16.2%となり、両群間に有意差が見られた。総筋線維数はmdMFで少ない傾向にあり、type II 線維数は有意に少なかった。また、mdMF、lsMF共にtype II 線維断面積が有意に小さかった。【考察】mdMFはlsMFと比較し、脂肪組織の割合が大きく、MRIの報告により示されたFIの局在が組織学的にも確認された。mdMFではlsMFと比較しtype II 線維数が少なく、type II 線維断面積はmdMF、lsMF共に小さく、lsMFでより顕著であったことから、mdMFに観察されたFIは筋線維萎縮よりも筋線維消失により生じた隙間を埋めるように生じる可能性が示唆された。(COI:NO)

25 マウス眼窩脂肪組織の解析

○杉山真言¹、大関貴大¹、金田規寿²、吉岡一機¹、舟場正幸³、橋本 統²

¹北里大学 獣医学部 獣医解剖学¹、実験動物学²

³京都大学 農学研究科 動物栄養学³

【目的】褐色脂肪細胞/ベージュ脂肪細胞は、エネルギーを熱に変換するミトコンドリア蛋白質 Ucp1 を特異的に発現し、熱産生の調整を行う。これら熱産生脂肪細胞は、寒冷刺激を受けると活性化され、特にベージュ脂肪細胞は白色脂肪組織中に出現する。本研究では、マウス眼窩脂肪組織に注目し、当該組織の機能を検討した。

【方法】動物はC57BL/6J マウスを用い、眼窩組織の経過変化の解析ならびに、寒冷刺激時下における組織変化を調査した。それぞれの解析には光学顕微鏡、電子顕微鏡を用い、組織学的に行った。また、眼球表面温度の測定を行った。さらにUcp1のmRNA発現を調査した。

【結果と考察】組織学的解析の結果、Ucp1陽性細胞(褐色脂肪/ベージュ脂肪細胞)の形成は4週齢が最大であり、さらに週齢が高くなると消失していた。眼球温度はUcp1陽性細胞の出現に相関していた。成熟マウスに寒冷刺激を施すと、刺激後短時間でUcp1陽性細胞が出現した。また冷却環境下においても、眼球表面温度は生理的温度に維持されていた。以上より、マウス眼窩脂肪組織は褐色脂肪/ベージュ脂肪細胞を出現させることによって、眼球温度の維持調整を行っていることが示唆された。(COI:NO)

26 DGK epsilonはCOX-2を介して脂肪組織のリモデリングを制御する

○中野 知之、後藤 薫
山形大学 医学部 解剖学第二講座

脂肪細胞は生体におけるエネルギー貯蔵部位として知られるが、断熱効果や熱産生など、熱制御を介した外的環境変化への適応も担っている。脂肪細胞のうち、単相性脂肪滴を有する白色脂肪細胞はエネルギー貯蔵および断熱効果に特化するのに対して、熱産生に寄与するものは多相性脂肪滴を有し、褐色脂肪細胞と称される。これらの脂肪細胞は、近年の研究により相互に形質転換が生じることが明らかになっており、生活習慣病との関連でも注目されている。我々の研究室では、中性脂質合成の中間産物であるジアシルグリセロール (DG) を基質とするリン酸化酵素、DG kinase (DGK) の機能解析を行っている。DGKは10種のアイソザイムからなるが、近年我々は、ε型DGK遺伝子欠損(DGKe-KO)マウスが短期間の高脂肪食(HFD)負荷に対して脆弱であることを見出した。本研究では、このマウスを長期間HFDで飼育すると精巣上体周囲白色脂肪組織(eWAT)の組織構成が変化することを見出したので報告する。既報の通り、DGKe-KOマウスをHFDで40日間飼育すると、野生型に比して肥満やインスリン抵抗性が惹起される。しかし長期間飼育を行うと、インスリン抵抗性が改善してくることが明らかになった。また免疫組織化学解析の結果、HFD90日のDGKe-KOマウスのeWATにおいて、cyclooxygenase-2 (COX-2)陽性反応が検出されたことから、選択的COX-2阻害薬の投与実験を行った。その結果、DGKe-KOマウスではeWATにおける多相性脂肪滴を有する細胞の増加と耐糖能の改善が認められた。本研究の結果、DGKeがCOX-2を介する脂肪組織のリモデリング機構に関与する可能性が示唆された。(COI:NO)

27 紫外線照射による眼球毛様体小帯への影響

○白戸佑貴¹、北山義尚¹、嵯峨涼¹、吉野浩教¹、長谷川和輝¹、

細川洋一郎¹、敦賀英知¹

弘前大学 大学院保健学研究科 放射線技術科学領域¹

眼球毛様体小帯は純粋なオキシタン線維から構成され、毛様体筋の収縮を効率的に水晶体に伝え、焦点調節の役割を担っている。加齢に伴う毛様体小帯の変化は水晶体の機能低下及び水晶体偏位の原因であると考えられる。毛様体小帯は構造的に、太陽光の紫外線UV-A(波長320~400nm)とUV-B(波長290~320nm)のどちらにも暴露される。そこで、紫外線が毛様体小帯に与える影響について細胞培養系を用いて解析した。毛様体小帯を構成するオキシタン線維を産出する無色素毛様体上皮細胞(HNPCEC)を培養し、線維の形成を確認した。その後、UV-AおよびUV-B(0, 50, 100および150mJ/cm²)を照射し、24時間後の形態学的変化をFibrillin-1、-2の免疫染色により解析した。次に、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-2、-9の阻害剤の添加による影響も検討した。更にUV照射に伴うMMP-2量の変化をウエスタンブロット法によって解析した。UV-A照射によるFibrillin陽性線維に変化はなかったが、UV-B照射では線量依存的に分解傾向が確認された。これらの変化はMMP-2、-9の阻害剤添加により抑制された。また、ウエスタンブロット法では、UV-B照射後の6時間後及び12時間後において照射群でのMMP-2の増加が確認された。以上の結果からUV-B照射に伴うMMP-2の増加による線維の分解の可能性が示唆された。(COI:なし)

28 脊髄の前髄節動脈の島の形状と分布

○金澤潤、燕軍、木村英二、人見次郎

岩手医科大学 解剖学講座 人体発生分野

前髄節動脈は、脊髄循環に欠かせない血管である。この動脈の多くは、前脊髄動脈と直接吻合する。しかし、一部は前脊髄動脈と吻合する前に脊髄の前面で上下に分岐し、前脊髄動脈と2カ所で吻合する。この前髄節動脈の2本の分岐は前脊髄動脈で形成されるワナを島と呼ぶ(宮地, 1931)。しかし、島の形状や分布は明確にされておらず、画像では確認しにくい。そこで、2015~2018年に岩手医科大学の解剖学実習に供した遺体100体の脊髄を用いて、頸髄から腰髄の分節ごとの前髄節動脈の分布(距離、左右の数、高さ、分布範囲)を調査し、島の形状と分布(全周、数、形状、分布範囲)について解析した。前髄節動脈は100体の脊髄に488本(左287本、右201本)認められた。その内、頸髄が最も多く、頸髄のみ右側(56%)が多かった。島の総数は63個で、頸髄のみに認められた。前髄節動脈が同一髄節で両側にある場合は、両側の前髄節動脈が上下に分岐し、前脊髄動脈と吻合して島を形成した。片側の場合はその17%が上下に分岐し、島を形成した。また、上下に分岐する動脈は右側(71%)が多かった。島の形状は菱形、長楕円形、三角形で、両側の前髄節動脈からは菱形が、片側の前髄節動脈からは三角形が多かった。菱形の場合、正中を走行する本来の前脊髄動脈を認めなかった。島の分布範囲は、その89%が頸髄の1分節間に存在した。以上から、島は前髄節動脈が両側か片側かによって、数、形状は異なるが、分布範囲は影響しにくいことが推察された。また、島は頸髄の前髄節動脈から形成されることが多いことが示唆された。(COI:なし)

29 硝子体血管からむインテグリンフィラメント

岩永敏彦、岸本亜由子、木村俊介、岩永ひろみ
北海道大学 医学研究院 組織細胞学教室

硝子体血管は目の発達過程で硝子体と水晶体を栄養するために一過性に出現する血管で、マウスでは生後5日後から退行し始める。この血管のもう一つの特徴は、流動性のある硝子体中に浮いていることである。この特殊な血管の細胞外基質を調べる目的で免疫染色したところ、インテグリン線維網の特異な存在を見出した。硝子体血管は厚く、多重の基底膜をもつことが電顕レベルの観察から指摘されていた。そのことは、ラミニンやType IV コラゲンの染色から確認できた。 $\beta 1$ インテグリンの免疫染色も硝子体血管の基底膜を厚く見せるが、それとは別にブッシュ状のインテグリン線維網が血管にまわりついていた。電顕下では微細なフィラメント上にインテグリンが局在していた。また、このインテグリン網は血管周囲のマクロファージの足場になっていた。インテグリン網は胎子ではまったく存在しなかった。その後インテグリン線維網は次第に消失するが、近傍のマクロファージがそれを食食していた。インテグリンが細胞を離れて血管周囲に網を張り巡らすことはこれまで報告がない。このインテグリンブッシュはいわば硝子体の中で宙に浮いている血管を支える役割があるようだ。また、血管の退行に最も重要なマクロファージに足場を提供している。硝子体血管の遺残により胎児性脈管構造遺残とよばれる疾患が生じるが、原因としてインテグリン分子の異常が指摘されている。(COI: なし)

30 橈側手根屈筋の破格について

周 明、明石英雄、鈴木良地、金津嘉徳、坂東良雄
秋田大学大学院医学研究科・形態解析学・器官構造学講座

背景: 橈側手根屈筋は内側上顆から起り下方外に向かい、腱は屈筋支帯を貫き、大菱形骨結節内側の溝を通過して、第二または第三中手骨底につく筋である。この筋の破格は、起始の一部が橈骨から起る等の報告例がある。我々は、2017 年度解剖実習中、初めて、起始が上腕二頭筋腱膜とつながる過剰筋束を有する橈側手根屈筋の破格の一例に遭遇したが、今回、2018 年度解剖学実習中に、3 体 4 側に類似の破格を同定した。

所見 (1) 3 例 4 例共に、橈側手根屈筋の起始が 2 頭であった。内側頭は内側上顆から起る通常の起始であり、外側頭(過剰筋束)は橈側手根屈筋の外側から上腕二頭筋腱膜に融合していた。

所見 (2) 2 例で、本過剰筋束に円回内筋腹側部の一部の筋束が加わっている第三頭を同定した。正中神経は、通常例と同様、円回内筋を二分していた。

所見 (3) 停止は、1 例で第二中手骨底と大菱形骨結節、3 例で第二・第三中手骨底と大菱形骨結節であった。すなわち、全ての例で通常の停止とは異なっていた。

考察: 橈側手根屈筋の過剰筋束の由来は、上腕二頭筋の過剰筋、または烏口腕筋の一部が延長して肘部内側の筋に付着したこと等が考えられる。停止が大菱形骨結節である破格は報告されているが、本発表の破格は、我々が知る限り報告がない。この過剰筋束(外側頭)は本来の橈側手根屈筋の作用(手根を曲げる)を補強する作用を示すと考えられる。(COI: なし)

31 Analyses of spinal reflex arcs from median nerve innervating hand muscles to anconeus motoneurons using a post-stimulus time-histogram method in humans

Manabu Jimenji¹, Wataru Hashizume¹, Mitsuhiro Nito¹, Takuya Yoshimoto¹, Takuji Miyasaka², Masaomi Shindo³, Akira Naito¹
¹Dept. Anat., Yamagata Univ. Sch. Med., ²Dept. Judo Ther., Teikyo Univ. Facult. Med. Technol., ³Grad. Sch. Health Sci., Matsumoto Univ.

Effects of low-threshold afferents from the median nerve innervating hand muscles (MIH) to anconeus (ANC) motoneurons were studied in 3 healthy human subjects using a post-stimulus time-histogram method. As a conditioning stimulation (CS), electrical rectangular pulses (1.0 ms duration) with the intensity just below the motor threshold were delivered to MIH with bipolar surface electrodes placed between distal tendons of the flexor carpi radialis and palmaris longus. ANC motor unit firings provoked by a weak elbow extension (3% of maximal voluntary contraction) were recorded with a pair of surface or needle electrodes. CS produced an inhibition in 18/20 (90%) ANC motor units ($p < 0.05$ for 1 motor unit; $p < 0.01$ for 7 motor units; $p < 0.001$ for 10 motor units) for all the subjects. The remaining motor units received no effects by CS. Such an inhibition was never induced by CS to the skin around the MIH stimulation site. The central synaptic delay of the inhibition was 0.8 ± 0.5 ms longer than that of the homonymous ANC facilitation. These findings suggest that an oligo(di or tri)synaptic inhibition of group I afferents from MIH to ANC motoneurons exists in humans. (COI: NO)

32 Effects of the facilitation from the anterior part of the deltoid to the biceps brachii motoneuron pool in humans: Study using an electromyogram-averaging method

Takuya Yoshimoto¹, Mitsuhiro Nito¹, Manabu Jimenji¹, Wataru Hashizume¹, Takuji Miyasaka², Masaomi Shindo³, Akira Naito¹
¹Dept. Anat. Struct. Sci., Yamagata Univ. Sch. Med., ²Grad. Sch. Health Sci., Matsumoto Univ., ³Dept. Judo Ther., Teikyo Univ. Facult. Med. Technol.

Our previous study using a post-stimulus time-histogram (PSTH) method showed a monosynaptic facilitation through group I afferents from the anterior part of the deltoid (DA) to the biceps brachii (BB) motoneurons in humans. However, the PSTH study reveals effects on the excitability of each individual motoneuron. In this study, facilitation to the BB motoneuron pool was studied using an electromyogram (EMG)-averaging method in five healthy human subjects. As conditioning stimulation, electrical rectangular pulses (width 1.0 ms) with the intensity just below the motor threshold were delivered to the axillary nerve branch innervating DA and EMGs of BB were recorded with a pair of surface electrodes. The conditioning stimulation produced an early and significant peak (facilitation) in rectified and averaged EMGs of BB in every subject. The latency and duration of the facilitation were 16.4 ± 2.0 (mean \pm SD) and 8.0 ± 2.7 ms, respectively. The amount of facilitation was $11.0 \pm 4.2\%$. The facilitation diminished by tonic vibration stimuli (TVS: 100 Hz) to DA and recovered 30 to 40 minutes after removal of TVS. The results suggest that group Ia afferents of DA facilitate an excitability of BB motoneuron pool.

(COI: NO)

33 第七頸椎横突孔の有無を考える

横山達彦¹, 鈴木大紀¹, 金森尚城¹, 村上真彬¹, 大橋拓朗¹, 関谷和美¹, 水野宏美¹, 佐藤終果², 佐々木信英³, 藤原尚樹³, 藤村 朗³
岩手医科大学 歯学部 第3学年¹, 第4学年², 解剖学講座機能形態学分野³

2017 年度岩手医科大学 2 年生の臨床解剖学実習において椎骨動脈の横突孔侵入位置が個体ごとに、同一個体でも左右で異なることに気付いたため、2018 年度の 3 年生基礎科学演習の課題として取り上げ、岩手医科大学所蔵のインド人骨 (79 体) の第七頸椎横突孔の形態を中心に検索を進めていたが、考察に当たって他の動物との比較が必要となったため、岩手大学のご協力により、家畜の骨を、岩手県立博物館のご協力により、所蔵動物骨を検索させていただいた。動物種はヒトを含めて 27 種であった。調査項目は第七頸椎の横突孔の他に、第六頸椎の形態(横突孔、前結節)も加えた。第七頸椎に横突孔を有するものは二足歩行、または頭部の位置が二足歩行に近いものであった。一方、有さないものは、四足動物で脊柱の前方に頭部のあるものであった。これらは、第六頸椎の横突起腹側の腹結節(ヒトの前結節)が上下的に大きく、第七頸椎の腹結節が第六頸椎の腹結節に癒合したと考えると大きさ及び第七頸椎に横突孔がないこと理由づけになるとも考えられた。また、椎骨動脈が、心臓から出る大動脈の枝である鎖骨下動脈の基部に起始すること、さらに、椎骨動脈の形成(節間動脈の縦方向の癒合)の際に複数の椎骨動脈が形成され、それらの経路のうち、屈曲が多いことから横突孔内の椎骨動脈は消失したとも考えられた。

これらの動物のデータの収集を快くご承諾いただきました岩手大学の山本欣郎教授、中牟田信明准教授、岩手県立博物館の望月貴史学芸員、山岸千人専門学芸員調査員に感謝申し上げます。(COI: No)