

## 日本解剖学会

## 第65回東北・北海道連合支部学術集会

会期：令和元年9月7日（土）、8日（日）

会場：酪農学園大学学生ホール

## 1 ラット樹型感覚終末星形シユワン様細胞でのプリン作動性信号を介した細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) の活性化

岩永ひろみ・北海道大学大学院医学研究院 組織細胞学教室

ラット頬ひげ樹型感覚終末はグリア要素として、軸索を包む終末シユワン細胞と軸索に接触しない星形シユワン様細胞を含み、両者はATP受容体P2Y2を機能発現する。P2Y2は複数の細胞内信号経路を介してERKを活性化（リン酸化）し、細胞増殖・分化等に関与するといわれる。この現象が星形シユワン様細胞で起こり得るか検証するため、グリア細胞が緑色蛍光を発するラットTg[S100b-EGFP]の頬ひげ毛包から生後40日に分離した樹型終末膜片標本をP2Y2作動薬UTP存在または非存在下に37°C 1時間加温振盪してホルマリン固定後、リン酸化ERK (pERK) の蛍光免疫染色を行いGFP蛍光で同定される上記2種グリア細胞の陽性率を比較した。終末シユワン細胞のpERK陽性率はUTPのない場合とある場合でそれぞれ9 ± 0.56%, 19 ± 1.5%, 星形シユワン細胞ではそれぞれ26 ± 2.0%, 55 ± 2.7%だった（すべてn=4）。星形シユワン様細胞の増殖・分化等が、P2Y2受容体活性化を介したERKのリン酸化にもとづき調節される可能性が示された。(COI:なし)

## 2 舌下神経節の所在部位に関する肉眼解剖学・顕微解剖学的研究

○高橋昌己<sup>1</sup>、坂倉康則<sup>1</sup><sup>1</sup>北海道医療大学 歯学部 口腔構造・機能発育学系 解剖学分野

舌下腺の分泌は顎下神経節に支配されると、多くの教科書に記載されている。一方、舌下神経節は解剖学用語（改訂13版）にあるが、ほとんどの教科書には記載されていない。しかし、Anatomie des Menschen (A Rauber, 1898年)や日本人体解剖学（第17版6刷、1977年）に舌下神経節の模式図が引用されている。近年、舌下神経節が肉眼解剖学的に報告されたが、神経細胞体があるかは不明であり、今回肉眼解剖学・顕微解剖学的に検討した。解剖体（3体）の舌神経を舌下腺・顎下腺と共に摘出し、Sihler染色後に肉眼観察した。パラフィン切片作製後H-E染色を施し、神経節の外形をトレースし、三次元再構築を行った。Sihler染色後の肉眼観察では、舌下腺に進入する神経線維束に神経節様構造が、顎下腺に近接して顎下神経節が確認された。一方組織学的には、舌下腺に近接する神経細胞体の集合体として舌下神経節が認められた。両神経節とも分枝状の三次元的形態を示し、舌下神経節は顎下神経節の1/4程度の大きさであった。以上から、舌下神経節は小さいながらも舌下腺近傍に所在し、顎下神経節同様、複雑な形態を示した。舌下神経節の記述については、より正確な教科書記載が求められると思われる。(COI:No)

## 3 マウス小脳におけるグルタミン酸受容体 GluN3A の選択的局在

○山崎美和子<sup>1</sup>、宋曉紅<sup>1</sup>、深谷昌弘<sup>2</sup>、今野幸太郎<sup>1</sup>、宮崎太輔<sup>3</sup>、富田進<sup>4</sup>、渡辺雅彦<sup>1</sup> 北海道大学大学院 医学研究院 解剖発生学教室<sup>1</sup>、北里大学医学部 解剖学教室<sup>2</sup>、北海道大学大学院 保健科学研究所 生活機能学分野<sup>3</sup>、Yale University, School of Medicine, Molecular and Cellular Physiology<sup>4</sup>

GluN3A(NR3A)はNMDA受容体サブユニットとして同定されたが、その機能には未解明な点が多い。私たちは、解剖学的手法と生化学的手法を用いて発現部位を明らかにし、そのアセンブリ（組み立て）や細胞膜発現に必要な構成分子を同定した。*In situ* ハイブリダイゼーションによりmRNAの発現を検討した結果、生後一週頃にはほぼ全てのニューロンがGluN3Aを発現しているが、その後発現は減少し、成体では一部の抑制性介在ニューロンのみが発現を維持していた。特異抗体を用いて、成体での発現が特に強い小脳での局在を検討した結果、登上線維—抑制性介在ニューロン間に選択的に集積していた。この集積部は古典的なシナプスとは明らかに異なる特徴があり、電子顕微鏡で観察したところ、通常観察されるようなシナプス後膜肥厚を欠き、向かい合う登上線維終末には繫留シナプス小胞の集積が認められなかった。また、PSD-95などの足場タンパク質やAMPA型グルタミン酸受容体は検出されなかったが、NMDA受容体の必須サブユニットであるGluN1(NR1)と早期不活性化カリウムチャンネルKv4.3が検出された。次に、これらの分子がGluN3Aのアセンブリと細胞膜発現に関与している可能性について生化学的な検討を行った。アフリカツメガエルの卵母細胞を用いた強制発現実験の結果、GluN3AのアセンブリにGluN1が必要なことがわかった。脳ホモジネートを用いた免疫沈降の結果、GluN3Aの複合体にはGluN1が含まれていたが、GluN2A、2Bなどの調節サブユニットやKv4.3は検出されなかった。小脳分子層の抑制性介在ニューロンでGluN1を欠損させるとGluN3Aの発現が激減し、特徴的な集積パターンが消失していた。このマウスにウイルスを用いてGluN1を導入したところ、この集積パターンが回復した。これらの結果は、GluN3AとGluN1から構成されるチャンネルが非シナプス性結合部に選択的に局在すること、またそのアセンブリと細胞膜発現にはGluN1が必要であることを示唆している。(COI:No)

4 *in vivo*におけるシナプス関連分子の検出—Glyoxal 固定液を用いた効果とその応用—

○今野幸太郎、山崎美和子、渡辺雅彦

北海道大学大学院医学研究院解剖発生学教室

近年、ジアルデヒド化合物であるglyoxalを用いた細胞固定により、培養細胞の免疫染色において様々な分子の検出感度が増加することが報告された。我々は成熟マウスを用いてシナプス関連分子に焦点を当て、Paraformaldehyde (PFA)固定切片とglyoxal固定切片を作製し、染色性の比較を行った。その結果、PFA固定切片と比較してglyoxal固定切片では、シナプス前部に局在するVGluTs、VIAAT、Bassoon、シナプス後部に局在するイオンチャンネル型グルタミン酸受容体、GABA受容体およびその足場タンパクの染色性の増強が認められた。以上の結果は第124回日本解剖学会総会・全国集会で報告した。今回、小脳におけるデルタ型グルタミン酸受容体GluD2の局在をGluD2遺伝子欠損マウスをコントロールに用いて、光顕解析および包埋後免疫電顕解析を行った。光顕解析では厚さ50μmの凍結切片および厚さ100nmの超薄切片を用いて局在を検討した。PFA固定と比較し、glyoxal固定切片では明らかなGluD2の反応性の増加が認められ、GluD2遺伝子欠損マウス由来の切片ではGluD2シグナルは全く認められなかった。光顕および電顕解析からGluD2の局在は、過去の報告と一致して平行線維—プルキンエ細胞間のシナプス後膜に豊富に存在することが明らかとなった。以上の結果から、glyoxal固定は*in vivo*における多くのシナプス関連分子の検出に有用であることが示唆される。(COI:No)

## 5 マウス生体脳におけるL-ドパニューロンの分布、神経化学的特性

○中川舜介、今野幸太郎、渡辺雅彦

北海道大学大学院 医学研究院 解剖発生学教室

カテコールアミン神経系ではチロシン水酸化酵素 (TH) を律速酵素としてL-ドパが合成され、芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 (AADC) によりドパミンが、ドパミンβ水酸化酵素によりノルアドレナリンが、フェニルエタノールアミン-N-メチルトランスフェラーゼによりアドレナリンが段階的に合成される。これまでカテコールアミン神経系ではTHおよびAADCを共に発現すると考えられていたが、ドパミン神経の起始核の1つである弓状核や嗅球においてはTH(+)/AADC(-)細胞の存在が報告され、L-ドパの伝達物質としての役割も指摘されており、最終産物であるL-ドパである神経細胞が存在していることが示唆される。そこで今回、カテコールアミン神経核を中心に、マウス脳内におけるTH、AADCの空間発現分布およびその発現率を網羅的に検討した。その結果、先行研究で報告されている領域に加え、A3ノルアドレナリン神経核や中脳水道周囲の中心灰白質においてTH(+)/AADC(-)の細胞が多数認められたが、黒質においてはほとんど認められなかった。さらに、TH(+)/AADC(-)の細胞において2型小胞性グルタミン酸トランスポーターの発現が認められたことから、配線伝達の伝達様式を取っている可能性が考えられる。また中脳水道周囲の中心灰白質の主な投射領域として知られている視床下部領域に逆行性トレーサーを注入し、標識したところ、TH(+)/AADC(-)の細胞が標識されているのが観察された。今後は、これらの領域のTH(+)/AADC(-)細胞の詳細な投射領域および神経回路の分子基盤を詳細に検討していく予定である。(COI:No)

## 6 脳室周囲器官群に選択的に発現する GLUT3

岩永敏彦、今野幸太郎 北海道大学大学院 医学研究院 解剖学分野

脳室周囲器官群には感覚性のもつと分泌性のもつとがあり、前者には脳弓下器官 (SFO)、終板脈管器官 (OVLТ)、最後野が含まれる。これらは血液および末梢からのシグナルを感知する「脳の窓」として機能する。マウス脳の前切片を GLUT3 に対する抗体で染色したところ、脳弓下器官と OVLТ、およびそれらをつなぐ部位に位置する内側視索前核 median preoptic nucleus (MnPO) が GLUT3 抗体で連続的に染色され、新しい神経路を形づくることわかった。電顕下では、脳弓下器官の GLUT3 陽性反応はシナプス小胞を含む神経線維の細胞膜に局在していた。延髄の最後野は GLUT3 陰性であったが、隣接する孤束核は GLUT3 抗体に中程度に染まった。しかし、その反応は脳弓下器官や OVLТ に比べると弱かった。終板 lamina terminalis における特殊な神経路が GLUT3 抗体で染色されたことは注目に値する。すべてではないが、GLUT3 は感覚性の脳室周囲器官群の新しいマーカー物質になり、この器官群の新たな解析ツールになる可能性がある。(COI: No)

## 7 Spinal reflex arcs of group I afferents from the middle and posterior parts of the deltoid to the biceps brachii motoneuron pool in humans: A study using an electromyogram-averaging method

Takuya Yoshimoto, Mitsuhiro Nito, Wataru Hashizume, Manabu Jimenji, Akira Naito  
Dept. Anat. Struct. Sci., Yamagata Univ. Sch. Med.,

Our previous studies using a post-stimulus time-histogram (PSTH) method showed a monosynaptic facilitation of group I afferents from the anterior (DA) and middle parts of the deltoid (DM) to biceps brachii (BB) motoneurons in humans. Also our study using electromyogram-averaging (EMG-A) method indicated that group I afferents from DA were responsible for the facilitation. In this study, spinal reflex arcs of the afferents from DM and posterior parts of the deltoid (DP) to the BB motoneuron pool were examined using the EMG-A 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 DM and DP. EMGs of BB were recorded with a pair of surface electrodes. The stimulation to DM 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 11.6-17.8 and 4.6-8.2 ms and the mean and maximum amounts of the facilitation were 5.8-11.0 % and 11.2-19.3 % of the control (100 %), respectively. The facilitation diminished by tonic vibration stimuli (TVS, 100 Hz) to DM and recovered 30 to 40 minutes after the removal of TVS. The stimulation to DP induced no effects. The results suggest that group Ia afferents from DM mediate the facilitation. Thus, group Ia monosynaptic facilitation from DA and DM to BB motoneurons should exist in humans. COI: No

## 8 パルプアルブミン陽性介在ニューロンにおける脂肪酸結合タンパク質 FABP3 の機能解析

○山本由似<sup>1</sup>、上条桂樹<sup>1</sup>、大和田祐二<sup>2</sup>  
東北医科薬科大学 解剖学<sup>1</sup>、東北大学大学院医学系研究科 器官解剖学<sup>2</sup>

【背景】細胞内脂肪酸キャリアーである脂肪酸結合蛋白質 (FABP) ファミリーのうち、中枢神経において FABP3 は神経細胞にのみ発現する。我々はこれまで、前帯状皮質のパルプアルブミン陽性介在ニューロンに FABP3 が高発現すること、FABP3 欠損 (KO) マウスの新奇探索行動異常、前帯状皮質における GABA 合成酵素 (GAD67) の発現増加を見出した。本研究では、前帯状皮質における FABP3 の GAD67 発現調節と、シナプス伝達調節に関する知見について報告する。  
【方法・結果】10 週齢マウス前帯状皮質のパンチアウトサンプルを複製し、GAD67 遺伝子発現に関与するプロモーター領域への転写抑制因子 (MeCP2 及び HDAC1) の結合をクロマチン免疫沈降法で、メチル化状態をバイサルファイトシークエンス法にて解析した。FABP3KO マウス前帯状皮質では、GAD67 プロモーター領域への転写抑制因子結合量及びメチル化状態が減少していた。前帯状皮質における GAD67 の過剰発現は、メチル基供与体の前駆体であるメチオニンの投与によって改善した。前帯状皮質の透析液から、グルタミン酸の遊離量をマイクロダイアリシス法にて測定した。FABP3KO マウスでは、定常状態及び脱分極刺激後のグルタミン酸の遊離量が減少していた。  
【考察】前帯状皮質のパルプアルブミン陽性介在ニューロンにおいて、FABP3 は GAD67 遺伝子の発現をエピジェネティックに調節し、FABP3 の欠損は前帯状皮質の興奮/抑制バランスを破綻させ、新奇探索行動異常を引き起こしたと考えられる。(COI: No)

## 9 盲視を支える視蓋円形核ニューロンの発生

渡邊 裕二、佐久間 千恵、八木沼 洋行  
福島県立医科大学 医学部 神経解剖・発生学講座

脳梗塞などが原因で第一次視覚野を損傷して視力を失った人が、意識することなく障害物を避けたり、光点の位置を特定したりする視覚を盲視 (blindsight) という。盲視では網膜・外側膝状体・第一次視覚野を経由する通常の視覚経路 (膝状体系) ではなく、網膜・上丘・視床枕・高次視覚野 (非膝状体系) を経由する経路が働くことが示唆されている。後者のうち上丘から視床枕へ投射する (tectot-pulvinar pathway) ニューロンは、上丘の特定の層に広範囲に樹状突起を広げて、視覚対象の動きの情報を視床枕に伝えると考えられている。鳥類では視蓋から視床の円形核へ投射する (tectot-rotundal pathway) 視蓋円形核ニューロンが相同であるが、その発生についてはよくわかっていない。

本発表では、視蓋円形核ニューロンが発生期に視蓋を接線方向に移動する細胞に由来することを示唆する結果を報告する。我々はこれまでの研究で、ニトリ胚の視蓋発生期に中間層を接線方向に移動する細胞が、移動後に多極性神経細胞に分化することを報告している。今回はさらに分化後の多極性神経細胞の成熟を追跡したところ、視蓋の特定の層に広範囲に樹状突起を広げ、視蓋円形核ニューロンに特徴的な形態を示すことがわかった。この結果は、視蓋の接線方向移動細胞が最終的に視蓋円形核ニューロンに分化することを示している。今後はこの視蓋円形核ニューロンと考えられる細胞が、非膝状体系の視覚経路を構成しているかを検証していく予定である。(COI: No)

## 10 ラット胃幽門前庭の P2X3 陽性神経終末に局在する小胞グルタミン酸輸送体 VGLUT2

○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】我々は、胃幽門前庭の漿膜下組織に網状および籠状構造を呈する P2X3 型 ATP 受容体陽性神経終末が存在することを報告した。一方、気道や消化管に分布する P2X3 陽性神経終末にはグルタミン酸の小胞輸送に関わる小胞グルタミン酸輸送体 (VGLUT) が存在することが報告されている。本研究では、胃幽門前庭の P2X3 陽性神経終末における VGLUT の免疫組織化学的局在を検索した。【材料と方法】Wistar ラット (雄、7-15 週齢) を灌流固定後、胃を採材し、幽門前庭のホールマウント標本を作製した。標本は P2X3、VGLUT1-3、開口分泌に関わる SNARE タンパク質 (SNAP25、Syntaxin1、VAMP2) に対する抗体を用いて免疫染色した。【結果】P2X3 陽性神経終末において VGLUT2 陽性反応は認められたが、VGLUT1 陽性反応および VGLUT3 陽性反応は認められなかった。VGLUT2 は、点状の陽性反応として網状神経終末内および籠状神経終末の軸索末端部に集積していた。また、SNAP25、Syntaxin1、VAMP2 陽性反応も P2X3 陽性神経終末に認めた。このうち、細胞膜 SNARE の SNAP25 および Syntaxin1 は、均一な陽性反応として網状神経終末の神経線維および籠状神経終末の軸索末端部に局在していた。小胞膜 SNARE である VAMP2 は、点状の陽性反応として網状神経終末の神経線維内および籠状神経終末の軸索末端部に散在していた。また、VAMP2 と VGLUT2 との二重染色では、網状および籠状神経終末に認められる点状の VAMP2 陽性反応は VGLUT2 陽性反応と一致した。【考察】P2X3 陽性神経終末からグルタミン酸が開口分泌されている可能性がある。COI: No

## 11 ラット気管筋の樹枝状神経終末における SNARE タンパク質の局在

○盛合胡絵<sup>1</sup>、中牟田信明<sup>1</sup>、山本欣郎<sup>1</sup>  
岩手大学農学部共同獣医学科 獣医解剖学研究室<sup>1</sup>

ラット気管の平滑筋中には樹枝状の感覚神経終末が存在しており、有髄の軸索と樹枝状に複雑に広がった神経終末軸索末端部から構成される。この形態から、樹枝状神経終末は平滑筋の伸展刺激を受容する SAR であると考えられている。また VGLUT に陽性であることが知られており、樹枝状神経終末からグルタミン酸分泌が行われている可能性がある。今回小胞と細胞膜の接着融合に関与する SNARE タンパク質のうち、SNAP25、Syntaxin1、VAMP1、VAMP2 の樹枝状神経終末における局在を免疫組織化学的に検索した。

Wistar ラットから気管を採材し、ホールマウント標本を作成した。標本は SNAP25、syntaxin1、VAMP1、VAMP2 および calretinin を用いた多重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。SNAP25 陽性反応、Syntaxin1 陽性反応は calretinin 陽性樹枝状神経終末の軸索および軸索末端部細胞膜付近に顆粒状に認められた。VAMP1 陽性反応は calretinin 陽性樹枝状神経終末の軸索末端部細胞質に顆粒状に認められた。VAMP2 陽性反応はほとんど見られなかった。SNAP25 と VGLUT1 は同一の軸索末端部に共局在していた。

SNARE タンパク質のうち SNAP25、syntaxin1、VAMP1 および VGLUT1 が存在することから、葉状神経終末軸索末端部ではグルタミン酸の開口分泌が行われている可能性がある。(COI: No)

## 12 RANKL 欠損状態で見られた破骨細胞様細胞の微細構造解析

高崎幸奈<sup>1,2</sup>、長谷川智香<sup>2</sup>、宇田川信之<sup>3</sup>、網塚憲生<sup>2</sup>  
北海道大学 歯学院<sup>1</sup>、北海道大学大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室<sup>2</sup>、松本歯科大学 口腔生化学教室<sup>3</sup>

【目的】破骨細胞分化において RANKL と *c-fos* はともに必須の因子であり、*Rankl* 遺伝子欠損 (*Rankl*<sup>-/-</sup>) マウスや *c-fos* 遺伝子欠損 (*c-fos*<sup>-/-</sup>) マウスでは、いずれも破骨細胞が存在しないことが知られている。ところが、我々の検索で、*Rankl*<sup>-/-</sup>マウスの長管骨に、破骨細胞様の大型細胞が存在することを見出したことから、これらの組織学的・微細構造学的解析を行った。【材料と方法】生後 10 週齢および 20 週齢の *Rankl*<sup>-/-</sup>マウスと野生型マウスの大腿骨・脛骨をパラフィン包埋したサンプルを用い、H-E 染色ならびに各種免疫組織化学を行うとともに、エポキシ樹脂包埋したサンプルは、透過型電子顕微鏡観察に供した。【結果および考察】*Rankl*<sup>-/-</sup>マウス大腿骨では、TRAP 陽性破骨細胞は認められないが、ALP 陽性骨芽細胞が観察された。また、破骨細胞とマクロファージに共通する性質を示す破骨細胞様大型細胞が局在しており、これらがカルセインラベルされた石灰化基質を取り込む像が観察された。しかしながら、破骨細胞やマクロファージに特異的な陽性反応は示さなかった。また、透過型電子顕微鏡像から破骨細胞様大型細胞は、波状縁を有さないものの、明帯様の領域で骨基質に接して軟骨基質様の石灰化基質を取り囲むことがわかった。以上のことから、*Rankl*<sup>-/-</sup>マウスの破骨細胞様大型細胞は、マクロファージと破骨細胞に共通した特徴を有し、不完全ながら骨吸収を行う可能性が推測された。(COI: Properly Declared)

## 13 バイエル板胚中心マクロファージにおける表皮型脂肪酸結合タンパク質の機能

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

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) ことを明らかにしてきた。最も発現強度の強いのは胚中心マクロファージであるが、ここでの EFABP の担う具体的な機能は明らかになっていない。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。胚中心では B220 陽性細胞に *eat-me*-signal である phosphatidylserine (PS) が強陽性である。PS が *eat-me*-signal として機能するには PS を細胞外に固定する因子が必要である。具体的な因子としては Annexin V が考えられた。免疫組織化学で C57BL/6 マウスバイエル板における AnnexinV の存在を検討したところ、EFABP 陽性のマクロファージ周囲に PS 陽性反応と共局在する AnnexinV 陽性の顆粒が観察された。共役して PS 特異的な細胞接着装置として働く Gas6 とその受容体 Axl の存在を同様に検討したところ、Gas6 が胚中心マクロファージ周囲に観察され、Axl の EFABP 陽性マクロファージでの発現が確認できた。また、培養細胞を用いた EFABP の発現誘導、発現抑制に相関して培地内の AnnexinV は増減した。EFABP の制御下に AnnexinV がマクロファージから分泌され、B 細胞に誘導された PS により貪食が亢進することが考えられた。(COI: No)

## 14 クラミジア感染に影響を及ぼす宿主細胞の SNP 解析

鈴木倫毅・福島県立医科大学 解剖・組織学

クラミジアは、偏性寄生性細菌であり、宿主細胞の ATP や脂質などの栄養素を利用して増殖する。クラミジアは、基本小体 (EB: elementary body) として宿主細胞にエンドサイトーシスにより取り込まれ、lysosome との融合を防ぎ、増殖するための封入体 (Inclusion) を形成する。封入体内にて、EB は感染能力の無い網様体 (RB: reticular body) に姿を変えて分裂・増殖し、再び感染能力のある EB に戻る。このように、クラミジアは、他の微生物には見られない特徴的な 2 面性の増殖環を呈する。我々は、クラミジア感染において重要な機能を果たす新たな宿主細胞因子を探索すべく、国際 HapMap プロジェクトにより遺伝的多型性が詳細に解析されたアジア・ヨーロッパ・アフリカ地域の 4 人種およそ 500 人分の LCLs (lymphoblastoid cell line) に GFP plasmid を保持したクラミジア・トラコーマティス株を感染させて、GFP の蛍光強度を指標とし、GWAS (ゲノムワイド関連解析) により感染・増殖に関わる SNP (一塩基多型) を同定するスクリーニングを行った。その結果、SKAP1 のイントロン領域の SNPs がクラミジア増殖後期に影響を与えることを見出し、このメカニズムを検討したので報告する。(COI: No)

## 15 先端的 3D イメージング技法によるゴルジ装置の構造解析

甲賀大輔<sup>1</sup>、久住聡<sup>2</sup>、渡部剛<sup>1</sup>  
旭川医科大学 解剖学講座 顕微解剖学分野<sup>1</sup>  
鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 形態科学講座<sup>2</sup>

膜交通経路の中間地点として重要な役割を演じているゴルジ装置は、Camillo Golgi によって神経細胞の細胞体中に銀で染まる網状構造 (内網装置) として発見されて以来、光学顕微鏡や透過電子顕微鏡 (TEM) による多くの形態学的解析が行われてきた。特に TEM 観察により、この小器官が複数の扁平な槽 (cistern) が積み重なった構造であることがされたが、空間的に複雑な構築を呈するゴルジ装置の 3D 構築は、一枚の薄い切片の観察だけではわからない。一方、連続切片 SEM・3D 再構築法は、樹脂包埋連続切片を SEM・反射電子 (BSE) モードで観察し、得られた像から目的の構造を 3D 再構築する先端的な技術である。近年私たちは、この最新の SEM 技法を独自に開発し、ゴルジ装置の 3D 構造解析に応用することで、この小器官が連続した巨大な小器官であること、その全体像は細胞種によって多様であることを示してきた。さらに近年、最新の超高分解能 SEM を用いることで、ゴルジ装置と関係が深い中心小体をはじめ、様々な小器官との空間的配置関係も示すことができるようになった。そこで本研究では、外分泌細胞 (膵臓腺房細胞、胃底腺主細胞など) ゴルジ装置に注目し、その 3D 全体像と中心小体、核との空間的配置関係も示すことに成功した。その結果、ゴルジ装置の形状は、一つの連続した構造を呈していること、中心小体の数や配置は、細胞種によって異なることがわかった。今後、さらなる 3D 解析により、ゴルジ装置の形態的意義を解明する予定である。(COI: No)

## 16 コアグループに依存しない PCP 制御機構の解析

○鮎川友紀<sup>1</sup>、秋山正和<sup>2</sup>、八月朔日泰和<sup>1</sup>、山崎正和<sup>1</sup>  
秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座<sup>1</sup>  
明治大学 先端数理科学インスティテュート<sup>2</sup>

平面内細胞極性 (planar cell polarity, PCP) は、組織平面において体毛や繊毛の向きが特定の方向に揃う現象であり、組織の機能発現に重要な役割を果たす。体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 を司る分子が同定されたのを契機とし、ヒトを含む様々な動物においても多くの PCP 制御分子が見出されている。その中でも、7 回膜貫通型タンパク質 Frizzled (Fz) や 7 回膜貫通型カドヘリン Flamingo 等から構成されるコアグループ分子は、PCP 形成において中心的な役割を果たすと考えられているが、近年、コアグループに依存しない PCP 制御機構の存在が示唆されている。しかし、その分子機構は不明である。我々は、ショウジョウバエを用いた組織特異的ゲノムワイド RNAi スクリーニングを実施し、新規 PCP 遺伝子を多数同定している。その内の一つである Jitterbug (Jbug: アクチン結合タンパク質 Filamin のハエオゾログ) 遺伝子を欠損させると、コアグループ遺伝子を欠損させた場合と同様に、背毛の配向性が乱れる。一方、Jbug 遺伝子とコアグループ遺伝子を同時に欠損させると、野生型と比較して、背毛の向きが逆転する。この際、コアグループ分子をノックダウンしているにも関わらず背毛の向きが整然と逆転することから、背毛の配向が逆方向に揃うのはコアグループ非依存的な PCP 経路によって制御されていることが示唆される。現在、この PCP 逆転現象をモデルに、ライブイメージング等の手法を駆使して、コアグループ非依存的 PCP 制御機構を解析している。本学会では、この新たな PCP 制御機構について報告した。(COI: No)

## 17 核内 FABP7 による核内アセチル CoA 代謝の制御機構

香川慶輝、大和田祐二  
東北大学大学院医学系研究科器官解剖学分野

【背景】長鎖脂肪酸は細胞内で転写やエネルギー代謝など様々な細胞内機能を持つ。脂肪酸結合蛋白質 (FABP) は長鎖脂肪酸を可溶化することで、細胞内脂質動態を制御する。これまでに、我々は悪性度の高いグリオーマに FABP7 が強く発現すること、FABP7 は細胞外刺激応答に重要な脂質ラフトの機能制御に関与することを明らかにした。つまり、グリオーマ増殖の基盤に FABP7 による細胞活性調節があることが推測される。今回我々は、FABP7 の細胞内局在に焦点を当て、脂質ラフト骨格蛋白質 caveolin-1 遺伝子 (Cav1) の発現およびエピゲノム修飾における FABP7 の分子機能を検証した。【方法・結果】NIH-3T3 細胞に FABP7 を過剰発現させた時、Cav1 mRNA 発現が増加すること、Cav1 転写調節領域のヒストンアセチル化レベルが増加することが明らかになった。局在シグナルを用いて FABP7 の細胞内局在を変化させた場合、核に局在させた時は、Cav1 発現の増加、Cav1 転写調節領域のヒストンアセチル化レベルの増加がみられるが、細胞質に局在させた時はコントロールと同等であった。核内アセチル CoA 量を測定した結果、FABP7 を核に局在させた時と増加した。免疫沈降、質量分析法により、FABP7 と相互作用を持つ 356 種類の蛋白質を同定し、その中に、核内アセチル CoA の生成に重要な ACLY を見出し、ACLY の酵素活性は FABP7 発現レベルに依存して増加することが明らかになった。【考察】FABP7 は核内で ACLY と相互作用をもつことで、核内アセチル CoA の量的調節に関与し、その結果 caveolin-1 を含む様々な遺伝子発現をエピジェネティックに制御する可能性が示唆された。(COI: No)

## 18 DGKと結合タンパク NAP1-like proteins による p53 アセチル化修飾は細胞増殖と細胞死を制御する

○田中 俊昭、後藤 薫  
山形大・医・解剖学第二講座

形質膜におけるリン脂質代謝酵素の一つであるジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は、近年、癌や細胞死のシグナル伝達への関与が注目されている。我々は、DGKの機能解析を行う上で、DGKと結合タンパクとして Nucleosome assembly protein 1-like 1 (NAP1L1) および NAP1-like 4 (NAP1L4) を同定し、これらタンパクによる細胞周期および DNA 損傷による細胞死への影響について解析を行った。NAP1L1 ノックダウン細胞では細胞増殖が促進し、一方 NAP1L4 をノックダウンすると細胞増殖が抑制されることを明らかにした。また DNA 損傷に対して、NAP1L1 ノックダウン細胞は脆弱性を示したが、NAP1L4 ノックダウン細胞は抵抗性を示すことを見出した。細胞周期および細胞死は様々な分子によって制御されているが、その中でも癌抑制遺伝子産物 p53 が重要な役割を果たしており、その多彩な機能は翻訳後修飾により制御されていることから、今回我々は、NAP1L1 および NAP1L4 が細胞周期および細胞死に対して相反する作用を及ぼすメカニズムに関して、p53 アセチル化修飾を解析した。その結果、NAP1L1 ノックダウンでは 382 番リジンのアセチル化が亢進するのに対して、NAP1L4 ノックダウンでは 320 番リジンのアセチル化の亢進が認められた。以上のことから、NAP1L1 および NAP1L4 はそれぞれ特有のリジン残基のアセチル化を介して p53 を制御し、細胞周期および細胞死を調節することが明らかとなった。(COI: なし)

## 19 マウス子宮卵管接合部は初期妊娠で胚の輸送調整を行う

○杉山真言<sup>1</sup>、片井一成<sup>1</sup>、久留志志朗<sup>2</sup>、吉岡一機<sup>1</sup>  
北里大学 獣医学部、獣医解剖学<sup>1</sup>、獣医生理学<sup>2</sup>

妊娠初期において、胚が卵管から子宮に正確に輸送されることは、その後の妊娠の成否に大きく関わる。多胎動物であるマウスは着床に先立って複数の胚を子宮内に輸送するが、その詳細なメカニズムは明らかにされていない。本研究は卵管から子宮への胚輸送における、子宮卵管接合部 (Uterotubal-Junction: UTJ) の調節機構について解析した。

動物は、12~20 週齢の ICR マウスを用いた。まず生体胚と擬似胚に見立てたアガロースビーズ (Affi-Gel) を偽妊娠マウス卵管内に移植し、Day 3 (腔腔確認日を妊娠 1 日目とする) から Day 4 まで輸送を追跡した。さらに水溶性色素を用い、同時期における UTJ 領域における液性物質の通過を調べた。また、妊娠初期の当該領域を組織学的に解析した。

動物は、疑似胚と比較すると限定された時期に子宮内に輸送されていた。胚の存在下では Day 2.5 で液性物質の通過が認められたが、胚の非存在下では通過しなかった。これにより、胚輸送は母体が胚を認識し、輸送調節を行っている機構であることが示唆された。UTJ 筋層ではエストロゲン受容体 (ER $\alpha$ )、プロゲステロン受容体 (PR) など性ホルモン受容体が時期特異的に発現していた。特に PR は Day 2.5 で UTJ の内膜上皮に、Day 3.5 では子宮内膜上皮にも発現が認められた。さらに、リゾホスファテリド受容体 (LPA3) が内輸送筋層で発現していた。LPA3 は子宮においてプロゲステロンにより発現が誘導され、また平滑筋収縮促進に働くことが知られている。以上より、卵管から子宮に至る胚輸送は、UTJ 領域で性ホルモンにより調整される。平滑筋の閉鎖が担っていることが示唆された。(COI: No)

## 20 ヒト顔面真皮におけるリンパ管分布

○成田大一<sup>1</sup>、海老名日奈子<sup>2</sup>、中村日和子<sup>2</sup>、渡邊誠二<sup>1</sup>、澤根美加<sup>3</sup>、加治屋健太郎<sup>3</sup>、下田 浩<sup>1</sup>  
弘前大学 大学院医学研究科生体構造医学講座<sup>1</sup>、医学部医学科<sup>2</sup>、養生堂 グローバルイノベーションセンター<sup>3</sup>

【緒言】リンパ管系は組織液や脂肪を吸収・運搬する循環器としての役割のみならず、免疫の場として重要な役割を担っており、その解剖学的知見はリンパ浮腫をはじめとする病態の理解や治療において不可欠な情報である。しかし、ヒトのリンパ管に関する解剖学的情報は少なく、特にヒト顔面についての情報は極めて乏しい。これまで我々は解剖体を用いてヒト顔面皮膚リンパ管系の分布と構造について調査してきた。本研究では、ヒト顔面の真皮に着目して各領域におけるリンパ管分布の違いと組織構造的特徴について検討した上で報告する。

【方法】解剖体 1 体の右顔面の組織を全層性に採取後、120 の領域に分けてパラフィン切片を作製し、podoplanin に対する免疫染色を実施した。光学顕微鏡で全領域の真皮層における podoplanin 陽性リンパ管を撮影し、画像解析ソフト Fiji を用いてその陽性面積を測定した。

【結果と考察】計 8664 個の podoplanin 陽性リンパ管が測定された。リンパ管は外眼角・口唇・下顎角周囲に多く分布していた一方、額から鼻にかけての領域ではリンパ管の分布は少なかった。また、リンパ管が豊富な領域では眼輪筋や口輪筋といった表情筋や耳下腺筋膜から続く豊富な筋膜が真皮と直接的に連結していたのに対して、リンパ管が疎な領域ではこれらの連結は少ないことから、表情筋などの収縮によって真皮内に発生する摩擦や間質液の流動がリンパ管の分布密度に影響していると考えられた。

【結論】本研究結果は、リンパ浮腫治療への応用など臨床医学において必要とされるヒト顔面皮膚リンパ管系についての顕微鏡解剖学的エビデンスに基づく新たな解剖学的知見を提供する。

(COI: No)

## 21 尿路関連リンパ組織と 17 型コラーゲンの発現

○市居 修<sup>1</sup>、中村鉄平<sup>1,2</sup>、堀野太郎<sup>3</sup>、細谷実里奈<sup>4</sup>、Yaser Hosny Ali Elewa<sup>1,5</sup>、昆 泰寛<sup>1</sup>  
北大院・獣医解剖学<sup>1</sup>、日本食品分析センター<sup>2</sup>、高知大・内分泌代謝/腎臓内科<sup>3</sup>、酪農大・獣医解剖学<sup>4</sup>、エジプト・Zagazig 大<sup>5</sup>

【背景と目的】外界に接する臓器は局所リンパ組織を具備し、それらは感染防御に重要である。眼、鼻咽頭や腸管等の粘膜関連リンパ組織、腸間膜や縦隔の脂肪関連リンパ組織はその例だが、我々は尿路関連リンパ組織 (Urinary tract-associated lymphoid tissue, UTALT) の研究を進めている。今回、UTALT の形態とそれに発現する分子を解析し、両者の機能的関連性を考察した。

【材料と方法】6 ヶ月齢の雌マウスを用いた。健康 C57BL/6 (B6)、自己免疫性疾患モデルマウス MRL/MpJ-Fas<sup>lpr/lpr</sup> (lpr) とその野生型 (MRL) の腎臓を採取した。lpr と MRL については、組織解析に加え、実体顕微鏡下で腎実質と腎盂を分離し、各遺伝子発現量を網羅的に比較した。一部の分子については定量的 PCR で遺伝子発現を、免疫染色で局在を解析した。また、腎機能が正常なヒト剖検症例および腎盂腎炎症例の腎臓組織を比較解析した。

【結果と考察】B6 腎臓陥凹部の移行上皮直下には単核細胞集団が存在し、多数の T 細胞、B 細胞とマクロファージ、少数の顆粒球や制御性 T 細胞を含んだ。我々は同部位を UTALT と定義した。UTALT は特に自己免疫性腎炎を発症する lpr で発達した。また、単核細胞の周囲には高内皮細静脈や毛細リンパ管がみられ、細網線維や膠原線維が豊富に存在することが特徴的だった。コラーゲン分子に着目してマイクロアレイデータを解析したところ、1 型や 3 型に加え、17 型コラーゲン (別名 BP180) の遺伝子が MRL と lpr 両系統の腎臓で最も高発現した (対腎臓発現量比)。17 型コラーゲン蛋白は UTALT 直上の移行上皮、特に基底細胞に局在した。その免疫染色陽性反応は lpr で強い傾向にあり、UTALT の発達しない腎臓移行上皮には殆どみられなかった。腎盂腎炎患者の腎盂移行上皮にも 17 型コラーゲン蛋白が局在したが、腎機能正常症例の同部位には検出できなかった。

以上より、UTALT は腎臓に局在することを示した。UTALT の機能ならびに移行上皮の基底細胞に発現する 17 型コラーゲン蛋白の発現意義は興味深く、腎炎等で誘導される局所免疫の活性化に関連すると考えられた。(COI: No)

## 22 Possible role of natural helper cells within the mediastinal fat-associated lymphoid cluster and lung in papain induced lung asthma mouse model

Yaser Hosny Ali Elewa<sup>1,2</sup>、市居修<sup>1</sup>、中村鉄平<sup>3</sup>、昆泰寛<sup>1</sup>

北大院・獣医解剖学<sup>1</sup>、エジプト・Zagazig 大<sup>2</sup>、日本食品分析センター<sup>3</sup>

Mediastinal fat-associated lymphoid clusters (MFALCs) are a recently discovered type of lymphoid tissue associated with mediastinal fat and their development have associated with the progression of respiratory diseases specially the inflammatory one. However, no reports concerning their role in the asthmatic condition. Therefore, in this study, we examined the correlations between the development of MFALCs and progression of lung asthma in 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 (PNAd) was performed to detect T- and B-cells, macrophages, and high endothelial venules. Additionally, the occurrence of CD127<sup>+</sup>cKit<sup>+</sup> natural helper (NH) cells were observed by immunofluorescent microscopy. Here we revealed a significantly higher ratio of lymphoid cluster (LCs) area to total mediastinal fat tissue (MFT) area in the papain group than the PBS group. Also, a significant numerous goblet cells (GCs) and higher index ratios of different immune cells including NH 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. Interestingly, the papain group at 7 d when compared with that of 3 d showed tendency reduction in the ratio of LCs area to total MFT area as well as significant reduction in GCs number as well as NH cells within the lung and MFALCs suggesting the recovery stage. Thus, we suggest a potentially important role for MFALCs as well as the NH cells in the progression and recovery of lung asthma following papain induction. However, further investigation is required to clarify the pathogenesis of the development of such asthmatic condition.

(COI: No)

## 23 創傷治癒過程における TRAF5 を介した形質細胞様樹状細胞 (pDC) の関与

小林周平<sup>1,3</sup>、宗孝紀<sup>2</sup>、石井直人<sup>3</sup>、大和田祐二<sup>1</sup>  
東北大学大学院 医学系研究科 器官解剖学分野<sup>1</sup>  
富山大学大学院 医学薬学教育部 分子細胞機能学分野<sup>2</sup>  
東北大学大学院 医学系研究科 免疫学分野<sup>3</sup>

TNF 受容体スーパーファミリー (TNFRSF) の下流分子として同定された TNF-receptor associated factor 5 (TRAF5) は、リンパ球に強い発現が認められ、生体の恒常性を維持するための様々な機能を有する分子として挙動することが報告されているが、リンパ球以外の免疫細胞における役割は不明な点が多い。そこで本研究では、組織常在性および浸潤細胞など様々な細胞群が相互作用することで進行する皮膚の創傷治癒モデルを用いて、pDC (形質細胞様樹状細胞) に着目した検討を行った。

TRAF5 欠損マウスの皮膚では多量の pDC の浸潤を伴う創傷治癒の亢進が認められる一方で、野生型および TRAF5 欠損マウスの両群間の定常状態における皮膚組織の pDC の細胞数は同程度であることから、pDC のケモタキシスに関する解析を行った。その結果、TRAF5 欠損 pDC における皮膚指向性ケモカイン受容体 CXCR3 の発現および、CXCR3 リガンドに対する走化性が亢進していた。さらに CXCR3 特異的な阻害剤を投与したマウス群では、TRAF5 欠損マウスで認められた創傷治癒の亢進が阻害された。また、Toll-like receptor 7 (TLR7)/9 の発現量に差は認められないものの、TRAF5 欠損 pDC では TLR7/9 刺激に対して転写因子 Interferon regulatory factor 5 (IRF5) の発現の亢進を伴う炎症関連遺伝子の発現上昇が認められた。さらに、IRF5 の遺伝子のノックダウンにより炎症関連遺伝子の発現が正常化した。

以上より pDC は、TRAF5-IRF5-CXCR3 axis を介して創傷治癒過程に関与することが明らかとなった。(COI: No)

## 24 細胞集積法で立体造形された血管網への周皮細胞接着に及ぼす細胞外マトリクス添加の効果

渡邊 誠二<sup>1</sup>、成田 大一<sup>1</sup>、下田 浩<sup>1</sup>、松崎 典弥<sup>2</sup>、明石 満<sup>3</sup>  
弘前大学 生体構造医科学講座<sup>1</sup>、大阪大学 院工<sup>2</sup>、大阪大学 院生命機能<sup>3</sup>

【背景・目的】我々が開発した細胞集積法による生体組織形成技術はヒト静脈内皮細胞 (HDVEC) の立体的なネットワーク構築を可能とするが、生体血管の機能形態に必須とされる平滑筋細胞や周皮細胞等による血管壁の構造を再現するには至っていない。本研究の目的は、ヒト脳血管由来周皮細胞 (BVP) の内皮細胞への接着に対する細胞外マトリクスおよび血小小板由来成長因子 (PDGF-BB) による影響を検討し、生体同様の機能構築をもつ毛細血管網を内含有する三次元組織を開発することである。【方法】1) ラミニン及び Type IV コラーゲン (Col IV) 存在下で BVP と HDVEC を 7 日間共培養して得た立体組織において、内皮細胞に接着する周皮細胞の分布と形態変化を解析した。2) ラミニン存在下で構成した立体組織に PDGF-BB を種々の濃度で添加し、周皮細胞の接着性を解析した。【結果】1) ラミニン添加群では、複数の BVP が内皮細胞から成る脈管網の外表面に接着し、内皮細胞上で仮足を伸ばしながら互いに連結するような像を示した。これに対して、ラミニン・Col IV 添加群では、静脈管網に接着する BVP が減少し、Col IV のみを添加した群では内皮に接着する BVP はほとんど見られなかった。2) ラミニン存在下で PDGF-BB を添加すると、BVP の内皮細胞への接着が著明に促進され、生体内の毛細血管網と類似の形態を呈した。【結論】血小小板由来増殖因子などを含有する細胞外マトリクスの構成が BVP の血管内皮細胞への接着に密接に関与し、これを制御することにより生体類似の壁構造を有する血管網を三次元的に構築できることが示唆される。(COI: No)

## 25 ラット大唾液腺における塩素イオン輸送関連分子の特異的局在

○横山拓矢<sup>1</sup>、平川正人<sup>1</sup>、松浦誠<sup>2</sup>、齋野朝幸<sup>1</sup>  
岩手医科大学<sup>1</sup>解剖学講座 細胞生物学分野、<sup>2</sup>臨床薬学講座 地域医療薬学分野

【背景と目的】大唾液腺では Cl<sup>-</sup>の移動が水や電解質の分泌や再吸収の駆動力となり、その輸送には Ca<sup>2+</sup>依存性 Cl<sup>-</sup>チャネル TMEM16A や cAMP 依存性 Cl<sup>-</sup>チャネル CFTR が関係しているが、局在の詳細は不明である。また、腎尿細管や尿管の Cl<sup>-</sup>の輸送には陰イオン交換体 SLC26A6 が関与しているが、大唾液腺における発現は明らかでない。本研究では、大唾液腺における Cl<sup>-</sup>輸送関連分子の発現を RT-PCR および免疫組織化学によって解析した。【材料と方法】Wistar ラット (雄、8-15 週齢) の大唾液腺 (耳下腺、顎下腺、舌下腺) から total RNA を抽出後、RT-PCR によって TMEM16A、CFTR、SLC26A6 の mRNA 発現を解析した。免疫組織化学では、各大唾液腺の凍結切片を TMEM16A、CFTR、SLC26A6、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>共輸送体 NKCC1 に対する抗体によって蛍光染色した。【結果】RT-PCR では、各大唾液腺において TMEM16A、CFTR、SLC26A6 mRNA の発現が認められた。免疫組織化学では、TMEM16A 陽性反応は各大唾液腺の腺房細胞と介在部導管の内腔面に観察されたが、線条部導管には認められなかった。対照的に、CFTR 陽性反応は線条部導管の管腔面のみ観察され、腺房細胞と介在部導管には認められなかった。SLC26A6 陽性反応は各大唾液腺の腺房細胞の内腔面のみ観察され、SLC26A6 陽性腺房細胞の基底外側面には、Cl<sup>-</sup>の細胞内輸送に関わる NKCC1 陽性反応が認められた。一方で、SLC26A6 陽性反応は介在部導管および線条部導管には認められなかった。【考察】TMEM16A と CFTR は腺房細胞と線条部導管にそれぞれ関与しており、SLC26A6 は腺房細胞の Cl<sup>-</sup>輸送に特異的に関係していることが示唆される。(COI: No)

## 26 ニワトリの実験的肝障害に対するヒアルロン酸および 4-メチルウンベリフェロン投与の影響

白井真紀、○深沢英恵、杉山真言、谷口和美、吉岡一機  
北里大学 獣医学部 獣医解剖学研究室

目的: ヒアルロン酸の一部は、正常な肝臓の類洞内皮細胞において分解される。慢性肝障害では、肝線維化に伴い類洞内皮細胞が傷害され、血中ヒアルロン酸が増加し、炎症に寄与すると考えられている。一方、4-メチルウンベリフェロン(4-MU)はヒアルロン酸合成抑制剤であり、肝線維化を抑える効果があると哺乳類で報告されている。しかし、鳥類に対する影響は研究されていない。そこで本研究では、ニワトリの肝障害に対するヒアルロン酸、および 4-MU 投与の影響について検討した。材料・方法: 10 週齢のメスのニワトリ(ジュリア種)を、胆管結紮(BDL)群、ヒアルロン酸投与群、BDL 群 + BDL 群、4-MU (0.15g/day)投与 + BDL 群の 3 群に分けた。薬剤は BDL 後、腹腔内へ 7 日間投与し、8 日目に肝臓を採材した。その組織を用いて、光学顕微鏡学的検索および免疫組織学的検索を行った。結果: BDL 群において、門脈域を中心に炎症細胞の浸潤、線維化、肝内胆管の増生が見られた。また、線維化領域に一致してヒアルロン酸の増加が見られた。ヒアルロン酸投与群は、BDL 群と比較し、炎症が軽度であり、線維化や胆管増生もより軽度であった。一方で、4-MU 投与群でも BDL 群と比較し、同様の変化が見られた。考察: ニワトリにおいてもヒアルロン酸は肝線維化の増悪因子となりうるということが明らかになった。一方、ヒアルロン酸拮抗剤である 4-MU 投与においても肝線維化が軽度となり、その原因として薬物代謝などの動物種差や投与量、投与方法などが関与していると考えられた。(COI: No)

## 27 マウス、ラット、ニワトリにおける実験的肝障害の比較検討

○萩原幸大、深沢英恵、杉山真言、谷口和美、吉岡一機  
北里大学 獣医学部 獣医解剖学研究室

胆管結紮モデル動物として一般的にマウス、ラットが汎用されており、様々な肝疾患の病態解析に関し、多くの報告がなされている。一方、当研究室では現在までに胆管結紮モデル動物としてニワトリを用いてきた。しかし、これら動物種間における病態の違いは検討されていない。そこで本研究ではマウス、ラット、ニワトリを用いて動物種間の肝病態について比較した。性成熟後の各動物群に胆管結紮を施し、術後 6 週目に肝臓と血液を採取した。採取時に肝臓重量を測定し、組織学的検索には HE 染色、AZAN 染色に加え Albumin、PCNA、Cytokeratin、CD44 に対する免疫組織学的検索を行った。血液生化学検査では肝機能マーカーを測定した。全動物種で胆管結紮群の肝臓重量が増加し、その増加率はニワトリ、ラット、マウスの順で高値を示した。血液生化学的に組織学的肝障害の程度と相関するのは AST と TBA であった。組織学的には全動物種における共通の所見として胆管増生と線維化が認められたものの、その領域には種差があり、マウスは門脈域に、ラットではその周囲にまで広範に、ニワトリでは小葉全域にびまん性に見られた。肝細胞の増殖活性はマウスにおいて増加していたものの、ラットやニワトリでは低下を示し、特にニワトリでは変性・萎縮に陥っていた。さらに、CD44 免疫染色で陽性を示す再生性変化としての小型肝細胞の出現はニワトリでのみ認められ、肝障害の程度や鳥類の高い再生能力が関連していると考えられた。(COI: No)

## 28 ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞を基盤とした三次元組織の構築と応用

○浅野義哉<sup>1</sup>、岡野大輔<sup>1</sup>、齋藤絵里奈<sup>1</sup>、明石満<sup>3</sup>、下田浩<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>弘前大学大学院医学研究科神経解剖・細胞組織学講座、<sup>2</sup>弘前大学大学院医学研究科生体構造医科学講座、<sup>3</sup>大阪大学大学院生命機能研究科ビルディングブロックサイエンス共同研究講座

脂肪組織由来間葉系幹細胞 (adipose tissue derived mesenchymal stem cells, ASC) は多分化能および組織再生促進の効果を持ち、細胞移植および組織構築による再生医療研究が報告されてきた。我々はこれまで、本研究グループで開発した三次元培養技術の細胞集積法を用いて、線維芽細胞を基盤とする人工ヒト三次元脈管組織を構築してきた。本研究では脈管組織の再生医療への応用を目的として ASC を基盤とする人工組織を構築した。ヒト皮膚由来 ASC (hASC) とヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞 (HUVEC) を用いて組織を構築した結果、細胞間マトリクスの豊富な線維組織様の構造が形成され、線維芽細胞を基盤とする組織に比べ、より三次元的な血管ネットワークの構築を認めた。また血管近傍では、一部の hASC でペリサイト様分化を認めた。この組織はヌードマウス皮下に移植可能であり、宿主血管との吻合と血流を伴うヒト細胞由来血管の生着と hASC 由来のペリサイト様細胞による被覆がみられ、移植後の増殖と脈管構造の支持が示唆された。また、一部は静脈様小血管を形成し、平滑筋様の壁構造を伴っていた。今後はこれらの形成機構および脈管機能の解析、ならびにマウス虚血性疾患モデル等、病態モデルを用いた研究を進める予定である。(COI: No)

## 29 Localization of cells expressing TRPC2 in the olfactory organ of turtle

○Sayed Sharif Abdali<sup>1</sup>、Shoko Nakamura<sup>2</sup>、Kosuke Nagae<sup>2</sup>、Yoshio Yamamoto<sup>1,2</sup>、Nobuaki Nakamura<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>UGSVS, Gifu University; <sup>2</sup>Laboratory of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Iwate University

In many vertebrates, the olfactory epithelium contains ciliated olfactory receptor neurons (ORNs), while the vomeronasal organ contains microvillous ORNs. Generally, ORNs in the olfactory epithelium express odorant receptors, whereas those in the vomeronasal organ express vomeronasal receptors. The olfactory organ of turtle consists of the upper chamber epithelium (UCE), containing ciliated ORNs, and the lower chamber epithelium (LCE), containing microvillous ORNs. To date, only a limited number of ORNs have been demonstrated to express vomeronasal receptors in the olfactory organ of turtle. Thus, we addressed the possible presence of unknown vomeronasal receptors and their expression by the microvillous ORNs in the LCE. *In situ* hybridization analysis indicated the expression of TRPC2, an ion channel involved in the signal transduction of vomeronasal receptors, by a small number of ORNs. TRPC2-cells were contained mainly in the LCE and distributed evenly along the rostro-caudal axis of the olfactory organ. Since the density of TRPC2-cells was almost equal to that of the cells expressing vomeronasal receptors, we conclude that unknown vomeronasal receptors are unlikely to present and most of the microvillous ORNs in the olfactory organ of turtle do not express vomeronasal receptors. (COI: No)

### 30 セクレトグランリン III (SgIII) ノックアウトマウスで見られた内分泌学的ストレスに対する脆弱性

○渡部 剛<sup>1</sup>、甲賀 大輔<sup>1</sup>、穂坂 正博<sup>2</sup>

旭川医科大学・医学部・解剖学講座顕微解剖学分野<sup>1</sup>、秋田県立大学・生物資源学部・応用生物科学科<sup>2</sup>

SgIIIは、クロモグラニン A (CgA) とコレステロールの双方に選択的に結合し、内分泌細胞における分泌顆粒形成に重要な役割を果たすことが示唆されている。そこで、今回我々は、SgIIIを欠失させたノックアウトマウス (SgIII-KO マウス) の表現型を解析した。

その結果、通常の飼育条件下では、SgIII-KO マウスは野生型と変わらぬ発生・発達、成長、繁殖性を示し、特に病的な症状・症候は呈さなかった。しかし、高脂肪・高糖質食で飼育すると、SgIII-KO マウスでは顕著な肥満と耐糖能低下が顕在化し、その成因としてプロセッシング障害による活性型インスリンの調節性分泌予備能の低下が認められた。一方、この SgIII-KO マウスに拘束ストレスをかけると、適応性の ACTH 分泌が有意に障害され、下垂体前葉では ACTH の前駆体 POMC から活性型 ACTH へのプロセッシングが有意に低下していた。

以上の結果より、通常の飼育条件下では、SgIII が欠損した個体でも分泌顆粒形成やペプチドホルモンの調節性分泌は他のグランリン蛋白により代償され、内分泌学的な症候は認められないものの、不適切な食餌や身体的拘束などのストレスが負荷されると需要が増加した活性型ホルモンへのプロセッシングが間に合わず、当該ホルモンの不足症状が顕在化する傾向が示された。これらの所見は、グランリン蛋白の欠損・変異が糖尿病など生活習慣病の潜在的な危険因子となっている可能性を示唆するものと思われる。(COI:No)

### 31 SLC:Wistar/ST ラットで認めた片側性甲状腺形成不全の解析

○中村鉄平<sup>1,2</sup>、市居 修<sup>2</sup>、寸田祐嗣<sup>3</sup>、Yaser Hosny Ali Elewa<sup>2,4</sup>、服部秀樹<sup>1</sup>、長崎健一<sup>1</sup>、昆 泰寛<sup>2</sup>  
日本食品分析センター<sup>1</sup>、北大院・獣医解剖<sup>2</sup>、鳥取大 農・獣医病理<sup>3</sup>、エジプト・Zagazig 大<sup>4</sup>

【背景と目的】甲状腺の発生異常は甲状腺管嚢腫、異所性甲状腺及び甲状腺低形成等を発症させ、甲状腺機能低下症の原因となり得る。しかし、ヒト甲状腺形成不全を模倣した動物モデルは乏しく、その病理発生には不明な点が多く残されている。今回、演者らは SLC:Wistar/ST ラットが片側性の甲状腺形成不全を呈することを発見し、その表現型を解剖組織学的に精査した。

【材料と方法】7~42 週齢の SLC:Wistar/ST ラット及び BrlHan:WIST@Jcl (GALAS) ラットを用いた。甲状腺の重量を測定し、後大静脈から得た血漿中の甲状腺刺激ホルモン (TSH)、総トリヨードサイロニン (T3) 及び総サイロキシン (T4) 濃度を ELISA 法により測定した。また、甲状腺を含む咽頭喉頭部の 10% 中性緩衝ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作成し、組織学的に解析した。

【結果と考察】SLC:Wistar/ST ラットでは左右甲状腺葉の大きさが異なり、約 27% で甲状腺片葉の低形成を、約 20% で甲状腺片葉欠損を呈した。これら形成不全は主に左側に発生したが、発生率に性差及び年齢変化はみられなかった。SLC:Wistar/ST ラットでは若齢時に血中 TSH 値が上昇したが、総 T3、総 T4 値及び体重値に変化はなかった。甲状腺片葉欠損個体では、残存した甲状腺の重量は増加したが、濾胞上皮細胞の高さ及び増殖細胞数に差は認められなかった。甲状腺形成異常を認めた部位において、上皮小体は正常に位置した。加えて、同側の前甲状腺動脈近傍に細胞小塊又は嚢胞構造も見られた。それらは嚢胞体遺残物のマーカーに陽性であり、内部にカルシウム陽性細胞及び炎症細胞が存在した。

以上、SLC:Wistar/ST ラットは片側性の甲状腺低形成を呈するが臨床は無症状であることを明らかとし、これらはヒトにおける甲状腺片葉欠損の表現型と類似した。甲状腺低形成部位に認められた構造物は嚢胞体遺残物であり、咽頭嚢由来内分泌器官の下降に甲状腺の存在は必須ではないことが示唆された。当該系統はヒトの甲状腺及び咽頭嚢由来内分泌器官の発生に関する新規モデル動物として有用であると結論した。(COI:No)

### 32 紫外線照射に伴う眼球毛様体小帯の変化

○白戸佑貴、北山義尚、椎谷賢、嵯峨涼、吉野浩教、細川洋一郎、敦賀英知  
弘前大学大学院 保健学研究科 放射線技術科学領域

弾性系線維は、組織に対し弾性を与える細胞外基質の一つである。弾性系線維は微細構造学的にエラスチンと微細線維の 2 つの構成要素からなり、その構成比率により弾性線維、エラウニン線維、オキシラン線維の 3 つに分類される。眼球の毛様体小帯はオキシラン線維より構成され、その主な構成分子は Fibrillin-1、Fibrillin-2、Microfibril-associated glycoprotein (MAGP)-1、Latent TGF- $\beta$ -binding protein (LTBP)-2 等である。眼球の毛様体小帯は毛様体筋の収縮を効率的に水晶体に伝える役割を担う。加齢に伴う毛様体小帯の変化は水晶体の機能に影響を及ぼすと考えられる。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。

無色素毛様体上皮細胞をコンフルエントから 5 週間培養し、UV-A および UV-B (0, 50, 100 および 150mJ/cm<sup>2</sup>) を照射し、24 時間後の各分子の形態学的変化を免疫染色により解析した。UV-B 照射では、Fibrillin-1 陽性線維、Fibrillin-2 陽性線維共に線維依存的な分解傾向が確認され、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、MAGP-1、LTBP-2 分子においても同様の結果が確認された。

以上の結果から、UV-B 照射により毛様体小帯は分解され、MMP-2、MMP-9 が分解機構に関与する可能性が示唆された。(COI:No)

### 33 肺胞の弾性線維は X 線に感受性を示す

○北山義尚、白戸佑貴、椎谷賢、嵯峨涼、寺島真悟、細川洋一郎、敦賀英知  
弘前大学 保健学 放射線技術科学領域

肺は呼吸により大きく構造が変化するため、呼吸作用には弾性を生み出す弾性線維が必要となる。肺胞の弾性線維の形成は、初めに糖タンパク質であるフィブリリン分子が肺胞線維芽細胞から分泌され、分子間で架橋結合を起こし微細線維を形成する。その後、トロポエラスチンが互いに架橋結合を起こしながら微細線維の束に沈着することで弾性線維が形成される。この肺胞弾性線維の破壊により、肺炎および肺気腫様症状が生じることが報告されている。放射線治療の有害事象として放射線肺炎がある。放射線治療の際の肺照射体積によって、放射線治療の副作用である放射線肺炎の発生が起こりうる線量が変化する。線量の変化については、照射体積が全肺の 1/3 (%) であると 45Gy であるのに対し、2/3 (%) であると 30Gy で放射線肺炎が生じると日本腫瘍学会ガイドラインで報告されている。放射線肺炎の定義はまだまだ完全には定義づけされていないが、損傷を受けた肺組織と、感染症を伴う炎症の組み合わせと考えられている。しかし、肺胞の弾性線維が X 線照射によって分解されることは報告されていない。そこで、細胞培養系を用いて、X 線照射後のラット肺胞線維芽細胞の弾性線維の主要成分であるエラスチンの変化を、蛍光免疫染色および吸光度測定により解析した。蛍光免疫染色で得られた染色像を面積解析したところ、X 線照射を行ったエラスチン陽性像の面積は線量依存的に減少した。また、吸光度測定においても、X 線照射を行った照射群は、コントロール群と比較して有意に差が生じた。以上の結果から、エラスチン自体が X 線に感受性を有すること、また、エラスチンの足場である微細線維が分解されエラスチンの沈着がなされなかったことが考えられた。(COI:No)

### 34 皮膚の膠原線維の紫外線による影響

○椎谷賢<sup>1</sup>、白戸佑貴<sup>1</sup>、北山義尚<sup>1</sup>、敦賀英知<sup>1</sup>  
弘前大学保健学研究科放射線技術科学領域<sup>1</sup>

【緒言】皮膚の真皮層には膠原線維が存在し、それらは形態の保持を担っている。皮膚の形態保持に関して、皮膚の老化がしばしば問題となっている。膠原線維のうち Type I collagen が皮膚真皮に存在する主な線維である。紫外線(UV)を主とした太陽光による老化は特に光老化と呼ばれ、シワやたるみなどの有害事象を引き起こす。そこで、シワやたるみの原因である膠原線維の紫外線影響を解析した。

【方法】ヒト皮膚真皮線維芽細胞を培養し、UV-A(0, 10, 20 J/cm<sup>2</sup>)を照射した際の膠原線維の変化を抗 Type I collagen 抗体を用いた免疫染色により解析した。

【結果】コンフルエントから 7 週後では、連続した Type I collagen 陽性線維の形成が確認された。陽性線維は、照射量に依存して線維径が細くなり、一部線維の連続性が失われている箇所が観察された。ImageJ を用いた面積解析では非照射群と 10 J/cm<sup>2</sup>照射群、非照射群と 20 J/cm<sup>2</sup>照射群の間で有意な線維の減少が確認された。DAPI 像では照射量により変化は見られなかった。

【考察】このレンジでの UV-A 照射で Type I collagen の分解傾向が確認されたこと、および UV-A に直接線維を分解するだけのエネルギーが無いことから、Type I collagen を分解する酵素群が活性化しているのではないかと考えられる。また、DAPI 像に変化がないことから、線維の減少は細胞死等による細胞数の減少ではないと考えられる。

【結論】膠原線維に UV-A を照射したところ膠原線維は有意に減少した。(COI:No)

### 35 The biological effect of bone-specific blood vessels by intermittent PTH administration in mice

Shen Zhao<sup>1,2</sup>, Tomoka Hasegawa<sup>2</sup>, Kanchu Tei<sup>1</sup>, Norio Amizuka<sup>2</sup>  
Department of Oral and Maxillofacial Surgery<sup>1</sup>, Developmental Biology of Hard Tissue<sup>2</sup>, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

**Background and objectives:** Intermittent administration of parathyroid hormone (PTH) promotes preosteoblastic proliferation and differentiation into osteoblast, coupling with osteoclast, finally, result in bone formation. Endomucin-high-positive bone-specific blood vessels have reported to interact with osteoblastic cells and may activate osteoblastic bone formation. However, it is still unknown if PTH could affect the distribution of the bone-specific blood vessels and other cell-types surrounding the blood vessels. In this study, we have attempted to histologically examine the bone-specific blood vessels after the intermittent PTH administration.

**Materials and Methods:** Six-weeks old C57BL/6J mice received vehicle (control group), 20µg/kg/day of hPTH[1-34] (PTH group) for 2 weeks. Mice were then fixed with a paraformaldehyde solution, and their femora and tibiae were examined for immunohistochemistry and RT-PCR.

**Results and Discussion:** After the PTH administration, the number and the gene expressions of endomucin-,  $\alpha$ SMA-, EphA4-, and ephrinB2-positive blood vessels were increased in the metaphysis in mice femora, compared to the control mice. The diameter of endomucin-positive blood vessels significantly expanded in PTH administrated mice. Furthermore,  $\alpha$ SMA-positive cells located in contiguity with endomucin-positive blood vessel, and they were divided into two distinct cell types. To summarize, the intermittent administration of PTH may affect not only osteoblastic cells but also bone-specific blood vessels in bone. (COI: No)

## 36 ヤツメウナギのビタミンA貯蔵細胞

○吉川 究, 三浦光隆, 八月朔日泰和  
秋田大学大学院 医学系研究科 細胞生物学講座

動物はビタミンAを合成することができず、全てを食餌に依存している。ビタミンAの血中濃度は常に一定の範囲内に制御されているが、これを制御しているのは体内の余剰のビタミンAを取り込んで脂質滴に貯蔵する能力があるビタミンA貯蔵細胞である。すなわち、ビタミンA貯蔵細胞はビタミンAが関与する様々な生理機能の恒常性を維持するために働きを持つ非常に重要な細胞であると言える。

肝臓の星細胞 (stellate cells) はビタミンA貯蔵細胞の代表的な細胞であり、ヒトを含む哺乳類では体内の総ビタミンAの約 80%を貯蔵しているとされている。腸管壁、膵臓、肺、腎臓等の諸臓器にもビタミンAを貯蔵する間葉系の細胞が存在するが、それらの数やビタミンA貯蔵量は肝臓星細胞に比べて圧倒的に少ないとされている。これに対して円口類に属するヤツメウナギは、肝臓以外の臓器にも多量のビタミンAを貯蔵していることが知られている。我々は、ヤツメウナギの鰻に新たなビタミンA貯蔵細胞を同定し、本学会で報告した。本研究ではヤツメウナギの他の臓器および組織におけるビタミンA貯蔵細胞の存在を探索した。

蛍光顕微鏡観察において、皮下、筋層間、血管壁等の結合組織に存在する脂肪細胞に強いビタミンAの自家蛍光を認めた。この結果は、ヤツメウナギは多量のビタミンAを全身の脂肪細胞に貯蔵する能力を有することを示唆する。ヤツメウナギは哺乳類とは異なり、全身の脂肪組織がビタミンA貯蔵組織として機能していると考えられる。(COI: NO)

## 37 鳥類と哺乳類の卵巣におけるヒアルロン酸の局在

○日野野航大, 深沢英恵, 杉山真言, 谷口和美, 吉岡一機  
北里大学 獣医学部 獣医解剖学研究室

ヒアルロン酸は哺乳類の卵巣において、卵丘細胞で合成・分泌され、組織内にスポンジ状で弾力のあるマトリックスを形成することが知られている。しかし、鳥類の卵巣におけるヒアルロン酸の局在や機能については不明な点が多い。そこで本研究では、哺乳類と鳥類におけるヒアルロン酸の局在について検討した。材料としてニワトリとラットの性成熟前後の卵巣を用いた。方法として、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、ヒアルロン酸の解析としてアルシアン青(AB)染色およびヒアルロン酸結合タンパク質(HABP)による組織化学的染色を行なった。ラットとニワトリの未熟な卵胞の構造は基本的に類似していたが、ニワトリにおいて、表面上皮に隣接する卵胞膜が限局的に菲薄化し、外側へ突出していた。一方、ラットではそのような部位は認められず、卵胞膜は一定の厚さであった。AB染色において、ニワトリの卵胞では白色卵胞に至るまでの時期に、突出部の卵胞膜が強く青染し、その他の卵胞膜では薄い青色を呈した。しかしラットでは、どのステージの卵胞膜においても薄く青染するのみであった。また、HABPによる組織化学的染色においても、染色性や局在の点において、AB染色の結果と概ね一致していた。よって、鳥類と哺乳類の卵胞膜におけるヒアルロン酸の局在には違いが認められ、このことは排卵過程の違いに関係していると考えられた。(COI:No)

## 38 e型ジアシルグリセロールキナーゼ欠損は白色脂肪組織の褐色化を惹起する

○中野 知之, 後藤 薫, 山形大学医学部解剖学第二講座

生体内での脂質代謝機構に不全が生じると、肥満やインスリン抵抗性など病的状況に陥る。脂質は主にトリグリセリド (TG) として脂肪細胞内の脂肪滴に貯蔵され、必要に応じてジアシルグリセロール (DG) と脂肪酸に分解されてエネルギー源となる。DG は TG の第一分解産物 (合成中間産物) であるのみならず、二次情報伝達物質としても機能する脂質である。よって、DG 代謝は脂質代謝と細胞内情報伝達系の双方を調節する役割を果たす。我々は、DG のリン酸化酵素である DG キナーゼ (DGK) の機能解析を行っている。我々は最近、e型 DGK 欠損マウスを高脂肪食 (HFD) で 40 日間給餌すると、内臓脂肪での脂肪沈着が亢進し、インスリン抵抗性を惹起することを報告した。しかし、長期間の HFD 給餌により惹起される表現型の解析は不十分であり、今回我々は DGKe-KO マウスを HFD で長期間給餌し、表現型の解析を行った。給餌 90 日において、DGKe-KO マウスと野生型マウスの間に大きな体重差は認められなかった。しかし組織学的解析の結果、DGKe-KO マウスの内臓脂肪では炎症性細胞の浸潤が認められ、この中にサイクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) の免疫陽性反応が検出された。さらに 180 日給餌した DGKe-KO マウスでは、白色脂肪組織中に多胞性脂肪滴を有する細胞が出現する“褐色化”が生じた。この過程における COX-2 の役割を解析するために、COX-2 阻害薬を給餌 90 日目から 180 日目まで投与した。その結果、褐色化が抑制されていた。本研究の結果、DGKe欠損条件の内臓脂肪では、COX-2 依存性に褐色化が惹起される可能性が示唆された。(COI:NO)

## 39 Analysis of the ratio of correct answers and regions or organs/tissues in the laboratory examinations of human cadavers

Hiroshi Abe<sup>1</sup> and Akimitsu Ishizawa<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>TRUST, a long-term care health facility  
<sup>2</sup>Guidance Division, Kashiwa City Board of Education

In laboratory examinations on anatomical terms using human cadavers, the ratio of correct answers for each question seemed to differ depending on the body regions or organs/tissues. Only one question indicated by needles was set on each cadaver. Thirty-three questions were prepared on 33 dissection tables. In the first round, each student visited each dissection table and answered the question, moving every 1 minute to another table. In the second round, each student changed tables every 30 seconds. The same examination was performed for approximately 125 students, divided into 4 groups in a day, twice a year in 2013–2017 in Akita University Graduate School of Medicine. The ratio of correct answers was classified into one of the following 9 body regions, depending on where the needle pointed: head, neck, upper limb, thoracic organ, abdominal organ, trunk wall, pelvic organ, pelvic wall, and lower limb. The ratios for the submandibular and suboccipital triangles and suprahyoid area were included in those for the head. The ratios for the shoulder girdle were included in those for the trunk wall. The ratios for the perineum and genital organs were included in those for the pelvic organ. Questions with a ratio of correct answers of <10% were eliminated. The mean ratio of correct answers in each region was determined using the analysis of variance (ANOVA). At least some pairs of regions in 2017, along with the ratio of correct answers, were significant ( $P < 0.05$ ), but specific regions could not be proved by multiple comparisons (Scheffé's method). The head showed a low ratio, whereas the trunk and pelvic wall showed high ratios. Similarly, the ratio of correct answers was classified into 7 kinds of organs/tissues. At least some pairs of organs/tissues in 2015, along with the ratio of correct answers, were significant in the ANOVA ( $P < 0.05$ ), but specific organs/tissues could not be proved with Scheffé's method. The somatic and autonomic nerves showed low ratios, whereas the veins and musculoskeletal system showed high ratios. To dissect the specific parts with a low ratio, teacher guidance seemed most important. The authors thank Prof. Emeritus Katsuyuki Murata, for his sincere advice on the statistical analysis. (COI: None)