

## 日本解剖学会

## 第96回近畿支部学術集会

会期：令和2年11月14日（土）

会場：和歌山県立医科大学紀三井寺キャンパス（誌上開催）

## A1 抗がん剤治療における新たな制吐剤の開発

小山佳久<sup>1,2</sup>、柳川博斗<sup>3</sup>、小林悠輝<sup>3</sup>、小林光<sup>3</sup>、島田昌一<sup>1,2</sup><sup>1</sup>：大阪大学大学院医学系研究科神経細胞生物学<sup>2</sup>：大阪精神医療センターこころの科学リサーチセンター依存症ユニット<sup>3</sup>：大阪大学産業科学研究所半導体材料・プロセス研究分野

抗がん剤治療は多くの癌に対して有効であるが、様々な副作用のため臨床現場での利用は制限されている。特に嘔吐は頻度が高く、患者さんの生活の質(QOL)を著しく低下させるため制吐剤が必要となる。既存の制吐剤は受容体拮抗剤であるため、生体にとって必要な機能を損なうリスクがある。それゆえ、新たな副作用のない制吐剤の開発が急務である。

抗がん剤は生体内抗酸化作用を抑制するため、酸化ストレスが増大し副作用の原因となる。それゆえ、抗酸化剤は有効な制吐剤になる可能性がある。我々のシリコン製剤(Si製剤)は、経口投与によって抗酸化物質である水素を腸管内で長時間大量に発生することができる。抗がん剤投与に伴う副作用である悪心・嘔吐に対するSi製剤の有効性を検討した。C57BL/6JマウスをSi製剤含有食群と通常食群に分け、各食餌開始1週間後に抗がん剤であるシスプラチンを腹腔投与した。投与24時間後、延髄背側部にある嘔吐関連神経核群の活性を神経活性化マーカー-c-Fosを用いた蛍光免疫染色法にて比較解析した。その結果、未投与群の延髄背側部にある最後野、迷走神経背側運動路核及び孤束核における多くの陽性細胞が観察されたが、投与群ではこれらの神経核群の陽性細胞数は有意に減少した。これらの結果は、Si製剤がシスプラチン服用に伴う悪心・嘔吐の症状緩和に有効であることを明らかにした。

副作用の報告がない水素を利用した抗酸化剤であるSi製剤は、より安全な制吐剤となり、抗がん剤治療に取り組む患者さんのQOL改善に大いに役立つと思われる。

## A2 APEX多標識タグと広域連続電子顕微鏡技術を用いた大脳皮質・線条体路の解析

滋野修一<sup>1</sup>、V. Sampathkumar<sup>2</sup>、L. Hanyu<sup>2</sup>、T. Uram<sup>2</sup>、N. Ferrier<sup>3</sup>、N. Kasthuri<sup>2,3</sup><sup>1</sup>大阪大学・医・神経機能形態学、<sup>2</sup>シカゴ大学・生命・神経生物、<sup>3</sup>アルゴンヌ国立研究所

報酬・忌避予測や意思決定に関わる線条体は、複数種の神経細胞とグリア細胞が相互に情報伝搬・制御に関与すると考えられるが、大脳皮質全域や視床、側坐核、淡蒼球、黒質緻密部などからの入出力の複雑さのために伝導経路は不明な部分が多い。また複数種のシナプスや電気結合は高密度で縫い合わせた三次元構造を持つことから一般に電子顕微鏡での正確な空間的全体像の把握は困難であった。そこで本研究は、電子線で複数の細胞種を標識可能な enhanced ascorbate peroxidase 2 (APEX2) タグを発現させ、大脳皮質からの長距離軸索の可視化および線条体中型有棘細胞(MSN)への回路を調べた。大脳皮質体性感野 S1 に AAV-mitochondria-APEX2、運動野 M1 に AAV-cytoplasm-APEX2 を主に第5層興奮性投射ニューロンを標識する Thy1-cre 系統マウスで発現させた。線条体腹部広域 2.5mmX1.2mm の連続超薄切片作成装置 ATUMtome で作成し、電界放出形走査型電子顕微鏡(FE-SEM)により、400µmX250µmX140µm (12nm/pixel)および 140µmX75µmX25µm (6nm/pixel)サイズの画像セットを取得した。これらの三次元再構築像を用いて形態追跡した結果、領域内の細胞タイプを同定し、特定 MSN シナプスタイプの全識別、ミエリン化した投射ニューロン側枝の分布、シナプス集塊の様態、MSN 間結合の様式や三次元構造を明らかにした。今後、本解析をさらに進めることにより線条体の微小回路をナノスケールで解明し、機能予測に貢献する高解像モデルを作成していく。

## A3 Inhibition of HDAC increases BDNF expression and promotes neuronal rewiring and functional recovery after brain injury

佐田直基<sup>1</sup>、藤田幸<sup>1,2</sup>、山下俊英<sup>1,4</sup><sup>1</sup>大阪大学大学院医学系研究科分子神経科学、<sup>2</sup>大阪大学免疫学フロンティア研究センター、<sup>3</sup>大阪大学生命機能研究科、<sup>4</sup>大阪大学医学系研究科創薬神経科学

脳損傷は、深刻な運動・感覚・認知障害を引き起こす。先行研究から、HDAC阻害剤が中枢神経系への傷害に対して神経保護効果を発揮する事が報告されており、本研究ではマウスのBDNFの発現と脳損傷後の機能回復に対するHDAC阻害の効果を調べた。shRNAを用いて初代培養神経細胞におけるHDAC2発現を阻害すると、シナプス数が増加した。脳損傷後、HDAC阻害剤を投与すると、皮質脊髄路におけるシナプス数が増加し、脳損傷後の運動機能回復が促された。組織免疫染色の結果から、健康マウスの脊髄内において、HDAC2は主に神経細胞で発現していることがわかった。脳損傷後では脊髄存在ニューロンにおいて発現が上昇した。一方、BDNFは脳損傷後に発現減少した。HDAC2阻害は、BDNFプロモーターにおけるH4K5ac領域のアセチル化と脳損傷後のBDNFの発現を増加させた。以上の結果から、HDAC阻害はBDNFの発現を増加させることがわかった。また、これにより脳損傷後の神経回路の再編成と運動機能の回復を促進することが示唆された。

## A4 延髄髄体切断後の新生児と成体の遺伝子発現プロファイルの比較

辻岡洋、山下俊英

大阪大学医学系研究科分子神経科学

哺乳類は中枢神経系損傷後、切断された軸索の再生はほとんど見られないが、損傷を受けていない神経細胞から新たに軸索が伸長し、代償的な神経回路を形成することで、部分的な機能回復が見られる。マウス延髄髄体切断モデルでは片側の延髄髄体切断後、頸髄で非損傷側の皮質脊髄路から除神経側の脊髄固有ニューロンに接続する新たな神経回路が形成される。上記能力は新生児の方が成体より高いが、神経回路修復能を規定する要因に関して完全にはわかっていない。

延髄髄体切断後早期の頸髄での反応を新生児と成体で比較するため、トランスクリプトーム解析を行った。7日齢の新生児もしくは8週齢の成体マウスの左延髄髄体を切断し、2日後に頸髄(C4-7)からRNAを抽出し、RNA-sequencingを行った。切断後に成体選択的にCd52、Ccl6、Mpeg1、Ly86等の炎症関連遺伝子の発現上昇が見られ、炎症関連のパスウェイも上昇していた。皮質脊髄路が通る脊髄後索でのミクログリアの集積は成体でのみ見られ、Mpeg1やLy86は上記ミクログリアで発現していた。一方、一部のアストロサイトマーカーの発現は新生児と成体で異なっていた。成体特異的なミクログリアの活性化やアストロサイトの性質の違いが神経回路修復能に影響を与えている可能性がある。

## A5 高親和性鉄結合蛋白ラクtofエリンはマウス中枢神経系において特定の神経細胞に局在する

演者：駕岡成佳、濱岡仁美、井上順治、近藤洋一

所属：大阪医大・医・解剖学

脳において鉄は髄鞘形成や神経伝達物質の合成に必要である。一方で鉄の恒常性破綻は活性酸素の産生へつながり、神経細胞に重大なダメージを与える。高親和性鉄結合蛋白質であるラクtofエリン(Lf)は、有毒な鉄をキレートすることで神経細胞を保護していると考えられており、神経変性疾患の病変部に過剰発現することが知られるが、正常脳における詳細な分布や機能については不明である。我々はLf特異的抗血清を作製し、マウス正常中枢神経系におけるLfの局在を解析した。抗血清の特異性をウエスタンブロット(WB)法により確認したのち、免疫組織化学染色を行った。さらに、Lfの合成部位を特定するために、ISH法と定量PCR法を用いてLf遺伝子の発現解析を行った。WB解析の結果、マウス脳より抽出した蛋白質に対し、分子量約80kDa付近に特異的な陽性バンドを確認した。免疫組織化学染色の結果、脳と脊髄の全域にわたり特定の神経細胞でLf陽性反応が確認された。特に内分泌機能の中核である視床下部やエネルギーを必要とする運動神経および運動調節系の神経核において強い反応がみられた。

本研究では正常マウス中枢神経系においてLf蛋白質が幅広く分布し、特定の神経細胞集団で陽性であることを初めて確認した。また、中枢神経系でLf遺伝子の発現は確認できず、脊髄で最も高い発現がみられた。Lf受容体は血液脳関門に存在することが報告されており、Lfは正常マウスの中枢神経系で合成されるのではなく、血液から取り込まれている可能性が示唆された。

## A6 Sema3E の大脳皮質 Va 層異所発現による細胞移動の障害

秋山久徳<sup>1</sup>、岡雄一郎<sup>1,2</sup>、猪口徳一<sup>1,3</sup>、佐藤真<sup>1,2</sup>

1 大阪大学医学系研究科 解剖学講座 (神経機能形態学)  
2 大阪大学連合小児発達学研究所 こころの発達神経科学講座  
3 福井医療大学 保健医療学部

大脳皮質の6層構造の形成とそれに応じた回路形成の機構はいまだ完全には解明されていない。マウス大脳皮質において、軸索ガイダンス受容体 PlxnD1 が II-Va 層に、その特異的リガンドである Sema3E が Vb-VI 層に発現している。我々は、両者を介するシグナルが皮質形成に関与すると考え、Sema3E の異所発現実験を行った。ICR マウス 1 次体性感覚野 (S1) の Va 層に HAtag を付加した野生型 (wt) あるいは Furin-like endoprotease による切断部位を変異させた非切断型 (uncl) Sema3E の発現ベクターを子宮内電気穿孔法 (IUE) により導入した。PlxnD1 発現細胞を可視化するため、pPlxnD1-Cre、および Cre 依存的 GFP レポーターも同時に導入した。生後 5 日目に脳組織を摘出、vibratome 切片を作成し、浮遊法による免疫染色により大脳皮質の6層構造における Sema3E (HAtag) の分布と PlxnD1 発現細胞の分布を解析した。GFP 陽性 PlxnD1 発現ニューロンは Va 層を中心に分布していたが、Sema3E を導入した個体ではより深層にも分布していた。また Sema3E を導入した個体において CTIP2 陽性の Vb 層が脳表側へ偏位しており、この変化は control では認められなかった。Vb-VI 層に PlxnD1 は発現していないため、間接的なメカニズムによりこのような migration 障害が生じる可能性があると考えられる。

## A7 ラットの視床髄板内核群内に存在する oval paracentral nucleus から大脳皮質への投射とその特異性

水野 友香、堤 友美、佐藤 文彦、井上 美沙樹、森田 弥生、古田 貴寛、吉田 篤

大阪大学大学院歯学研究科 口腔解剖学第二教室

oval paracentral nucleus (OPC) は、ラットで、視床髄板内核群の中心傍核 (PC) から独立した核として同定された。我々は、ラットの閉口筋筋紡錘感覚が OPC に伝達されることを報告した。しかし、OPC から大脳皮質への投射の様態やその特異性については未だに解明されていない。そこで本研究では、その解明のため、(1) 閉口筋筋紡錘感覚を中継するラットの OPC に順行性トレーサー (BDA) を注入した。BDA 標識終末が、一次体性感覚野 (S1) 吻側部、二次体性感覚野 (S2) 吻側部、尾側部を除く顆粒性島皮質 (GI) に認められた。(2) OPC に隣接する PC の尾側部に BDA を注入した。BDA 標識終末は、内側無顆粒性皮質の最吻側部の外側部、外側無顆粒性皮質の吻側部に多く認められ、これは (1) で示された OPC からの投射とは明らかに異なっていた。(3) (1) で多くの標識終末が認められた S1、S2、GI に逆行性トレーサー (FG) を注入した。S1、S2、GI のすべてに強く投射する核は、視床髄板内核群の中では OPC だけであり、感覚視床においてもそのような核は認められなかった。以上の結果は、OPC から大脳皮質への投射は、他の視床髄板内核群や感覚視床とは異なり、閉口筋筋紡錘感覚などを伝達して、感覚識別や情動の処理に関与する可能性があることを示唆している。(COI: 無し)

## A8 ラット海馬におけるケラタン硫酸を発現したユニークな静止型ミクログリア

大籠友博<sup>1,2</sup>、神野尚<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大阪河崎リハビリテーション大学、<sup>2</sup>九州大学

活性化ミクログリアは不均一な亜集団によって構成されていることが古くから知られている。それに対して、静止型ミクログリアの不均一性については 1 細胞解析や RNA-seq 技術の進歩によって研究が進みつつあるが、未だ完全には解明されていない。我々は以前、ラットの脊髄に存在するミクログリアの亜集団には、ケラタン硫酸 (KS) と呼ばれる特殊な構造の硫酸化糖鎖抗原が発現していることを報告していた。そこで本研究では、新たに正常ラットの海馬における静止型ミクログリアの形態学および分子生物学的な表現型を調べた。正常ラットの海馬に存在する静止型ミクログリアの亜集団では KS が発現することを確認できたが、マウス海馬には KS を発現したミクログリアは存在しなかった。KS 陽性ミクログリアの空間分布密度は他の層や領域と比較して、CA3 の上昇層において高いことを明らかにした。形態学的解析からは KS 陽性/陰性の両ミクログリア共に静止型を示したが、突起の分岐数や終末の数、突起の複雑性などが KS 陽性ミクログリアにおいて高く、形態学的に異なる集団に属することを明らかにした。分子生物学的解析からは、KS 陽性ミクログリアは P2Y12 受容体、IL-1β の発現量が高いことを見出した。またシナプス終末とミクログリアのコンタクト率は、KS 陰性ミクログリアよりも KS 陽性ミクログリアの方が高かった。これらのことは、正常ラットの海馬には少なくとも異なる 2 つの亜集団が存在し、シナプスミクログリアのコミュニケーションに関与する可能性があることを示唆している。

## A9 脳梗塞後の自発運動が機能回復と脳組織に与える影響

山口 菜摘

立命館大学大学院 生命科学研究科 薬理学研究室

脳梗塞後のリハビリテーションは、神経可塑性に働きかけ機能回復を促進するとの報告が多く存在するが、その機序は十分に明らかになっていない。本研究は、梗塞巣周辺の領域に着目し、リハビリテーションの一つである運動が与える影響を詳細に解析することを目的とした。我々は、C.B-17/Icr-<sup>tm4</sup>Jcl マウスに中大脳動脈閉塞術 (MCAO) を施すことにより、作製される梗塞巣が一定である条件下での検討を可能としている。脳梗塞後、14 日間の運動によって機能回復が促進される際、反対側半球に対する梗塞側半球面積の割合及び梗塞側の残存した皮質体積は運動によって変化しなかった。しかし、梗塞巣周辺の運動野第 5 層において、非運動群で見られた樹状突起スパイン数の減少が運動群では抑制されていた。さらに、運動群では GFAP 細胞のうち脳梗塞後初期に新生したものが多く存在していた。これらのことから、脳梗塞後の運動がスパイン数減少の抑制に働きかける機序には脳梗塞後に新生した GFAP 細胞が関与している可能性があることが示唆された。

## A10 白質におけるオリゴデンドロサイトの微細構造解析

田中達英<sup>1</sup>、大野伸彦<sup>2</sup>、西村和也<sup>1</sup>、竹村晶子<sup>1</sup>、辰巳晃子<sup>1</sup>、和中明生<sup>1</sup>

<sup>1</sup>奈良県立医科大学 医学部 解剖学第 2 講座

<sup>2</sup>自治医科大学 医学部 解剖学講座 組織学部門

脳の発達や機能、精神神経疾患の病態には、ミエリン (髄鞘) による神経伝達の調節が深く関わっている。中枢神経系のミエリンはオリゴデンドロサイト (OL) が形成しているが、白質に存在する OL の特徴は細胞体が一列に並んだビーズ状の分布をとることである。この規則的に並んだ白質の「細胞ビーズ」がどのように形成されるのか、またこの規則的な配列にどのような意義があるのか、などの問いに対して、現時点では明確な回答はない。

コネクトーム解析により脳構造の全容を理解するための大規模プロジェクトが世界規模で進行しているが、これまでの研究は灰白質の神経細胞の形態やシナプス結合を対象とした研究がほとんどであり、こうした先端イメージング技術のグリア細胞への応用は極めて少ない。我々は、細胞ビーズを形成する OL の詳細な形態を 3 次元超微細構造解析で明らかにすることを目的とした。マウス脳梁組織の連続電顕画像データを 2000 枚取得し、各 OL が形成するミエリンの形態を詳細に解析した結果、ビーズ状の OL は不均一な集団であり、各々が神経軸索の特徴を識別してミエリンを形成する可能性が高いことや、細胞体近傍の神経軸索にはミエリンを形成せず、むしろ非常に長い突起を伸ばして遠隔部の軸索にミエリンを形成することなど、既存の OL の構造的概念とは大きく異なる新たな知見を取得した。

## A11 ラット *in vivo* 脳幹軸索内標識による 三叉神経一次感覚ニューロンの解析

榎原智美<sup>1,2</sup>、竹中 綾<sup>2</sup>、吉田 篤<sup>2</sup>、古田貴寛<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 明治国際医療大・解剖、

<sup>2</sup> 大阪大学・歯・口腔解剖第二

三叉神経一次感覚ニューロンは偽単極性ニューロンである。顔面の感覚受容器と脳幹の三叉神経核を結ぶため、長いリーチを示す。この単一細胞を可視化するため、従来、ラットの三叉神経節の神経細胞体 (Tomomura et al. 2015) または眼窩下神経軸索 (Furuta et al. 2020) において、単一細胞内記録・標識法を実施してきた。近年新たに、実験動物に侵襲性の低い脳幹三叉神経路の軸索からのニューロン全貌標識に成功し、昨年度の本学会で末梢側の解析結果を報告した。ラット (250~300g) の後頭骨の一部開き、ラムダと外後頭隆起との中点から外側へ約 3~3.5mm の小脳表面から下方へ 6~7mm の三叉神経路で、ヒゲ洞を含む顔面領域に受容器を呈する一次感覚ニューロンを捉えた。先端を無研磨のガラス電極を用いて 20% neurobiotin で標識すると、注入時間わずか数秒から 3 分程度で生存時間約 15 時間後、三叉神経根で 10 本の中枢軸索が確認された。そのうち 7 本が側枝もすべて脳幹の広範囲にわたリトレスでき、さらに 3 本は背髄路核の末端の終末まで追跡できたが、末梢側の受容器確認には至らなかった。一方、電極先端を約 1 ミクロン径に研磨すると、30 分以上安定して記録および標識が可能で、刺激実験記録後、5~10% BDA (3,000 MW) を電気的に 10 分以上注入し、生存時間 10~14 日で受容器も明瞭に確認できた。本手法により、複数の三叉神経一次感覚ニューロンを同一個体で標識・可視化し、注入位置、標識受容器と中枢終末の位置を照らし合わせ、受容器形態と電気生理学的発火特性の情報を有する中枢軸索を併発的に可視化・トレス可能であることがわかった。

## B1 中枢神経回路形成におけるクロマチンの三次元的な構造変化の役割

藤田 幸<sup>1,2</sup>、山下 俊英<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>大阪大学大学院 医学系研究科 分子神経科学、<sup>2</sup>大阪大学 免疫学フロンティア研究センター、<sup>3</sup>大阪大学 生命機能研究科、<sup>4</sup>大阪大学 医学系研究科 創薬神経科学

コヒーシスは染色体接着に関わるタンパク質複合体で、4つのサブユニットから構成されるリング状の構造を形成する。このリング状の構造の中に、細胞周期S期での複製により生じた姉妹染色分体を束ねて接着し、染色体を正確に分配するという、細胞の分裂・増殖に必須の役割を担っている。一方で、コヒーシン複合体は、クロマチンループ形成を制御し、遺伝子の転写を調節すると考えられている。ヒトではコヒーシン関連遺伝子の変異により、コヒーシンの機能が低下すると、分化・発達障害を伴うコヒーシン病 ('cohesinopathies') を引き起こす。コヒーシン病の一種であるコルネリア・デ・ラング症候群 (CdLS) では、顔貌や四肢の形成異常に加え、精神遅滞や自閉症様行動などの高次脳機能の障害を呈することから、コヒーシンの機能が中枢神経系の分化、発生に重要であることが示唆される。そこで、コヒーシンサブユニットの一つである Smc3 のコンディショナルノックアウトマウスを作成し、中枢神経系におけるコヒーシンの機能解析に取り組んだ。コヒーシンの機能低下により、大脳皮質における遺伝子発現変動が生じ、シナプスや樹状突起などの神経回路構築に必須の構造に異常が認められた。本研究の成果は、脳発生・発達過程におけるクロマチン立体構造の重要性を示唆している。

## B2 性分化攪乱マウス系統 (B6J-XY<sup>POS</sup>) における性腺原基の卵巣化に関する免疫組織化学的研究

中村大河<sup>1</sup>、横山俊史<sup>1</sup>、三浦由佳<sup>1</sup>、加藤菜<sup>1</sup>、奥西宣祐<sup>1</sup>、成田大翔<sup>1</sup>、万谷洋平<sup>1</sup>、星信彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸大院・農・形態機能

【背景と目的】C57BL/6J (B6J) に *Mus musculus poschiavivus* 由来の Y 染色体 (Y<sup>POS</sup>) を導入したマウス B6J-XY<sup>POS</sup> では、性決定遺伝子 *Sry* の発現開始が遅延して卵巣または卵巣が形成されることが報告されている。その遺伝的背景を B6N 背景に変更すると (B6N-XY<sup>POS</sup>)、*Sry* の発現遅延程度が B6J-XY<sup>POS</sup> より軽減されて両側に精巣を有する個体も出現した [Umehura *et al.*, 2015]。この性腺表現型の差異が遺伝的背景の影響によることを示すため、B6J 系統 (B6JmsSlc; B6Js) に再置換すると (B6Js-XY<sup>POS</sup>)、B6J-XY<sup>POS</sup> とは異なり卵巣を有する個体のみが出現した [Yokoyama *et al.*, 2019]。そこで、再置換後の B6Js-XY<sup>POS</sup> における卵巣化 (精巣化の破綻) 機序を検討した。

【材料と方法】胎齡 11.5、12.5 日付近 (尾体節数 13~20、26~30) の野生型 (B6J) および B6Js-XY<sup>POS</sup> 生殖腺の、*Sry*、*Sox9* の発現を免疫組織化学的に検索した。

【結果】B6Js-XY<sup>POS</sup> 生殖腺における *Sry* 発現は個体差が大きく、野生型よりも発現が遅延する個体、全く発現しない個体に加えて、野生型と同時期に発現が始まる個体も出現した。精巣化実行因子である *Sox9* は全く発現していない、もしくは散在的に発現する個体のみが認められた。

【考察】B6Js-XY<sup>POS</sup> における精巣化破綻機序は単一ではなく、既報の *Sry* の発現遅延に加えて、*Sry* から *Sox9* への上方向制御に起因する卵巣化が起きていることが明らかとなり、B6J 亜系統内においても性分化関連遺伝子の発現制御領域に差異が生じていることが推測された。

## C1 恐怖記憶の抑制は Exercise-induced hypoalgesia に関与する

上 勝也<sup>1,2</sup>、仙波恵美子<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>宝塚医療大学 和歌山保健医療学部 リハビリテーション学科

<sup>2</sup>和歌山県立医科大学 医学部 リハビリテーション医学

<sup>3</sup>大阪行岡医療大学 医療学部 理学療法学科

運動は疼痛抑制効果を発揮すること (exercise-induced hypoalgesia: EIH) が知られているが、その脳メカニズムは未だ不明な点が多い。私達は最近、恐怖条件付けに重要な役割を担う扁桃核 (Amyg) 中心核 (CeA) において、神経障害性疼痛 (NPP) により活性化された GABA ニューロンの自発運動 (VE) による抑制が、EIH 効果の発現に関与することを突き止めた (Kami *et al.* Mol Pain, 2020, in press)。一方、海馬は背側 (dHPC) と腹側 (vHPC) に区分され、とくに vHPC は Amyg 基底外側核や CeA への出力を介して恐怖の文脈化、条件付け、消去に影響を及ぼしている。そこで本研究は vHPC と EIH との関係について検討した。坐骨神経部分損傷 (PSL) により NPP モデルマウスを作製し、PSL の前後 2 週間、マウスには自発運動 (VE) を行わせた。PSL-Runner の熱痛覚過敏は有意に改善し、また文脈性恐怖条件付け (電気ショック) 後の文脈性恐怖消去テストでも PSL-Sedentary と比較して freezing 時間が有意に短縮した。vHPC-CA1 領域において、NPP に伴い高まった glutamate ニューロンの活性化は VE により抑制され、さらに VE は CA1 領域に局在し錐体細胞を抑制する parvalbumin 陽性 GABA 介在ニューロンの活性化を高めた。PSL-Sedentary の Amyg に逆行性トレーサー・RetroBeads Red (RBR) を注入すると、vHPC-CA1 領域には多くの FosB-RBR 陽性ニューロンが観察された。以上の結果は、EIH 効果には VE に伴う文脈性恐怖記憶の抑制が重要な役割を担うとともに、これには NPP により亢進した vHPC-Amyg 経路の抑制が関与する可能性を示唆した。

## C2 *Zbtb16* は社会性認知行動と神経発達を制御する

白井紀好<sup>1,2</sup>、Stefano Berto<sup>3</sup>、小西彩海<sup>1</sup>、近藤誠<sup>1,2</sup>、Genevieve Konopka<sup>3</sup>、松崎秀夫<sup>4,5</sup>、島田昌一<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> 阪大院・医・神経細胞生物学、<sup>2</sup> 精神医療センター・こころ・依存症、<sup>3</sup> テキサス大・神経科学、<sup>4</sup> 福井大・子ども・脳機能発達、<sup>5</sup> 阪大院・連合小児

我々は社会性に関わる遺伝子として *Zbtb16* 遺伝子を新たに同定した。*Zbtb16* はジックフィンガー型転写因子をコードし、骨髄や精子の発生において細胞増殖や細胞分化を制御する。近年 *ZBTB16* の変異が自閉スペクトラム症 (ASD) 患者で同定され、ASD の病態に *ZBTB16* が関与する可能性が示唆されたが、*Zbtb16* の脳における機能と ASD における役割は不明である。我々は *Zbtb16* 遺伝子のノックアウトマウス (KO) を導入し、7 週齢の雄マウスを用いて行動解析、RNA シークエンスを用いた遺伝子発現解析、免疫染色とゴルジ染色を用いた脳の組織学的解析を行った。*Zbtb16* KO マウスは社会性行動の低下、反復行動の増加、認知機能の低下を示し、ASD 様行動を示すことを見出した。遺伝子発現解析では、*Zbtb16* KO マウスで有意に発現が変動する 533 個の遺伝子を同定し、これらの遺伝子の多くが神経発生やミエリン形成に関わることを見出した。脳の発生・発達が障害されていることが示唆されたので、*Zbtb16* KO マウスの脳を解析したところ、大脳新皮質における TBRI 陽性の深層ニューロン数の減少と第 6 層の薄層化を見出した。さらに、*Zbtb16* KO マウスでは PDGFRα 及び APC 陽性のオリゴデンドロサイトの数が減少しており、大脳新皮質におけるミエリン形成が障害されていることを見出した。以上から、*Zbtb16* が社会性認知行動と神経発達を制御することを明らかにした。

## C3 ADHD 治療薬がゼブラフィッシュの行動と脳トランスクリプトームに及ぼす影響

鈴木志穂<sup>1</sup>、木村亮<sup>1</sup>、前川真吾<sup>2</sup>、中田昌利<sup>1</sup>、萩原正敏<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 京大・医・形態形成機構学、<sup>2</sup> 京大・情報・脳認知科学

注意欠陥/多動性障害 (ADHD) は、不注意、多動性、衝動性を特徴とする、神経発達症である。小児の約 5% に見られ、その症状はしばしば大人になっても続く。治療にはメチルフェニデート (MPH) やアトモキセチン (ATX) が広く用いられているが、これらの薬剤が、なぜ症状の改善に繋がるのか十分にわかっていない。本研究では、2 種類の ADHD 治療薬をゼブラフィッシュに 8 日間投与し、新規環境下での探索行動と RNA-Seq による脳の遺伝子発現の解析を行った。行動解析では、メチルフェニデートは不安様行動を高めるのに対し、アトモキセチンは同行動を軽減することが示された。

また脳組織の遺伝子発現解析では、各薬剤投与で発現が変化した複数遺伝子から、共通の遺伝子を見出した。これら共通遺伝子は各薬剤に対して相反する挙動を示しており、脂質代謝に関わっていることが明らかになった。本結果から、ADHD 治療薬が行動や脳へ与える影響の一端が明らかになった。

## D1 *Apoe* ノックアウトマウスにおける動脈硬化病変の石灰化は骨形成に類似する

柴田雅朗<sup>1</sup>、高橋遼<sup>1</sup>、武井明日香<sup>2</sup>、白岡千夏<sup>1</sup>、近藤洋一<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 大阪医科大学医学部 <sup>1</sup> 解剖学教室、<sup>2</sup> 形成外科学教室

石灰化を伴う動脈硬化病変は不安定プラークとなり得ることが強く示唆されている。方法: *Apoe* ノックアウト (*Apoe*-KO) マウスの動脈硬化病変を用いて、骨芽細胞分化誘導因子および骨芽細胞マーカーについて、免疫組織染色を行った。また、*Runx2* の Real-time RT-PCR 解析を行った。結果: BMP-2 は正常動脈で弱い発現を認めたが、動脈硬化病変部やその周辺の血管壁では、BMP-2 および BMP-4 とともに強い発現を観察した。骨・軟骨化した部位ではこれらの発現はむしろ著しく低下し、その病変近傍では強い発現が見られた。BMP の下流にある分子である *Runx2* の Real-time RT-PCR 解析の結果、正常動脈と比較して、動脈硬化病変では有意な上昇が示された。RUNX2 と Osteonectin との 2 重免疫蛍光染色において、初期～進行性病変では RUNX2 を発現している骨芽細胞が頻りに観察されたが、石灰化を伴う動脈硬化病変では RUNX2 を発現していない骨芽細胞が主体であった。考察: 動脈硬化の石灰化は、骨形成に類似した病態であることが示唆された。

## D2 SNX25 はNF- $\kappa$ B シグナルを介して炎症性サイトカインの発現を調節する

西村和也<sup>1</sup>、田中達英<sup>1</sup>、竹村晶子<sup>1</sup>、辰巳晃子<sup>1</sup>、和中中生<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>奈良県立医科大学 医学部 解剖学第2講座

Sorting Nexin (SNX) はメンブレントラフィッキング、細胞内シグナルなどに関わるタンパク質ファミリーであり、その一部は免疫系にも寄与することが知られている。そのファミリーの一つである SNX25 は TGF $\beta$  受容体の分解に関わることが報告されているが、免疫系に関与するという報告はそれ以外には存在しない。今回、我々はマクロファージ cell-line である RAW264.7 を用いて、SNX25 が細胞内において炎症性サイトカインの発現にどのように寄与しているのかを検討した。siRNA により SNX25 の発現を低下させた RAW264.7 に Lipopolysaccharide (LPS) を投与すると、コントロール群に比べ炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 の発現量が上昇した。さらに、炎症性サイトカインの発現に重要な NF- $\kappa$ B シグナルが亢進しており、それは NF- $\kappa$ B の阻害因子である I $\kappa$ B のユビキチンプロテアソーム系による分解の亢進によるものであることが分かった。これらの結果により SNX25 は I $\kappa$ B の分解を制御することで NF- $\kappa$ B シグナルを調節し、それによって LPS 投与後の炎症性サイトカインの発現に影響を与えていることが示唆された。

## D3 ランソプラゾール(LPZ)は p38 MAPK 経路を介して抗酸化ストレス因子 Nrf2 を活性化する

池田達志、林大貴、横山珠希、山岸直子、金井克光  
 和医大・医・第1解剖

我々はプロトンポンプ阻害剤であるランソプラゾール(LPZ)が抗酸化ストレス転写因子 Nrf2 を活性化することでラットの薬剤誘導性肝炎を抑制することを報告している。本研究では、肝細胞における LPZ の Nrf2 活性化分子メカニズムの解明を目的とした。

ラット正常肝由来 RL34 細胞株を用いて LPZ 処理実験を行ったところ、Nrf2 の核への局在移行に伴って核内 Nrf2 発現量が顕著に増加した。このとき Nrf2 の標的遺伝子 HO1 mRNA 発現量はコントロールの 15 倍に増加していた。また、Nrf2 結合配列 ARE (antioxidant response element) の転写活性が 20 倍に増加していた。以上の結果から LPZ は肝細胞の Nrf2 を活性化することが示唆された。次に、LPZ による Nrf2 活性化シグナル経路の同定のため MAPK (Mitogen-activated Protein Kinase) に着目した。MAPK のうち、リン酸化 p38 の発現量が LPZ によって顕著に増加していた。そこで p38 阻害剤 SB203580 を処理したところ、LPZ による Nrf2 の核移行、HO1 の誘導、転写活性の増加いずれの現象も完全に消失した。以上の結果から、LPZ は p38 MAPK 経路を介して Nrf2 を活性化することが示唆された。

今後さらに詳細なメカニズムが明らかとなれば、LPZ は生体防御の中心を担う Nrf2 の活性化剤として臨床における役割の拡大が期待される。

## E1 ラット消化管粘膜上皮表面における常在細菌の定着程度の概日リズムに関する定量組織学的解析

坂田奈那美<sup>1</sup>、万谷洋平<sup>1</sup>、中西怜稀<sup>1</sup>、横山俊史<sup>1</sup>、星 信彦<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸大院・農・形態機能

【目的と方法】我々はこれまで、消化管各部位における常在細菌の定着部位や組成を組織学的に解析してきたが、それらの日内変動は明らかにされていない。そこで成獣ラットを用い、Zeitgeber time (ZT) 0, 6, 12 および 18 各 6 匹の消化管各部位における常在細菌の定着程度の概日リズムを組織学的に解析した。

【結果】胃無腺部では、粘膜上皮表面にグラム陽性菌の接着がいずれの ZT でも認められ、上皮に接着してコロニーを形成するグラム陽性菌の量は ZT0 で他の ZT と比較して少なかった。回腸では、グラム陽性菌が腸絨毛間隙に浮遊して認められるとともに、グラム陰性菌が絨毛門柱上皮細胞に直交して接着する像が認められた。腸絨毛間隙におけるグラム陽性菌数は ZT0 および ZT6 で多かった。加えて、グラム陰性菌の上皮への接着は ZT0 で多く、腸絨毛頂部から基部にかけて広範囲に認められたのに対し、他の ZT では腸絨毛頂部に局限していた。一方、食道では上皮細胞表面にコロニーを形成するグラム陽性菌が ZT12 で ZT0 に比べてやや多く、上行結腸では粘膜ヒダ間に存在する細菌の層が ZT6 で ZT18 に比べてやや薄くなったが、個体ごとのばらつきが大きく ZT による差は明瞭ではなかった。加えて、舌では糸状乳頭背面でコロニーを形成するグラム陽性菌の量に日内変動は認められず、下行結腸では上皮表面に細菌はほとんどみられなかった。

【結論】ラット消化管各部位のうち、舌、食道、胃無腺部、回腸および上行結腸ではそれぞれ固有の細菌が 1 日を通じて粘膜表面に定着すること、加えて常在細菌の定着程度には胃無腺部および回腸でそれぞれ異なる ZT でピークを示す概日リズムの存在が示唆された。

## E2 ランソプラゾールがプレオマイシンによる腹膜線維化を亢進させる

奈須 翔太、谷地 晃、山本 悠太、金井 克光  
 和医大・医・第1解剖

プレオマイシンは抗がん剤として扁平上皮癌などの治療で用いられるが副作用に肺線維症があり、実験医学的には肺線維症モデルを作製する薬剤として用いられる。我々は胃潰瘍薬ランソプラゾールが食餌性の非アルコール性脂肪肝炎モデルで Tg $\beta$  の活性化抑制を介して肝線維化を抑制したため、肺線維化の抑制にも利用できないかと思い検討を行った。ラットにランソプラゾール (LAP)、プレオマイシン (BLM) またはプレオマイシンとランソプラゾール (LAP+BLM) を 28 日間皮下投与により投薬後に臓器を採取したところ、肝臓を覆う臓側腹膜の肥厚を肉眼で確認した。このため、肝臓の臓側腹膜に着目し組織学的解析を行った結果、LAP または BLM 群では認めない臓側腹膜の強い肥厚を LAP+BLM 群で認めた。

さらに、LAP+BLM 群では免疫組織化学により肥厚した臓側腹膜にマクロファージを認め、Tg $\beta$  および Coll1a1 の遺伝子発現の増加をリアルタイム PCR により認めた。プレオマイシンおよびランソプラゾールはいずれも臨床で用いられる医薬品であり、今後は後ろ向き研究を行い、この現象がヒトで確認されるか検討を行いたい。

## E3 胃切除によるラット肝臓のコレステロール合成への影響

松井啓悟、角田大和、伊藤隆雄、金井克光  
 和医大・医・第1解剖

胃はペプシンを分泌しタンパク質を消化する消化器官であると同時に、ガストリンやグレリンなどのホルモンを分泌する器官でもある。これまで我々は、胃の壁細胞にはアロマターゼが発現し、エストロゲンを合成していること、また胃切除により、骨代謝障害、脂肪肝、高血糖などを発症することを見出してきた。今回、我々は、胃切除術により、肝臓が発現する、エストロゲンによって制御を受ける遺伝子の発現について検討を行なった。胃切除 5 日後のラット肝臓において、コレステロール合成に係る酵素である HMG-CoA 還元酵素 (Hmgcr) の mRNA 発現低下と肝組織中のコレステロール量の有意な減少を認めた。しかしながら、エストロゲンの他に Hmgcr の発現を制御する Srebf2 の mRNA 発現には有意な差は認められなかった。次に、胃切除 10 日後の Hmgcr と Srebf2 の mRNA 発現は、胃切除 5 日と同様の結果が認められたが、肝組織中のコレステロール量には有意な差が見られなかった。肝組織中のコレステロール量の調節に関与する遺伝子の mRNA 発現について調べたところ、VLDL 合成に関与する遺伝子である ApoB、MTP および、胆汁酸合成に関与する遺伝子である Cyp7a1、Cyp27a1 の mRNA 発現が胃切除群で有意に減少した。以上の結果から、胃切除 5 日、10 日の肝臓 Hmgcr mRNA 発現低下は胃由来のエストロゲンの低下によって引き起こされ、胃切除 10 日のコレステロール量の回復は VLDL 合成低下と胆汁酸合成低下によるコレステロールの消費の低下によるものであると考えられる。

## F1 古代日本人の顔面についての表現 - 「かほ」と「おも」 -

野田 亨・びわこリハビリテーション専門職大学

現在、我々は顔面を通常、「かお」と呼んでいるが、古代日本人はどう呼んでいたのかという点に興味を持ち、上代、中世の文字資料をもとに検討した。日本古典対照分類語彙表によると、「かほ」の用例は万葉集 (以下、万と略す) で 3 例、竹取物語 (以下、竹と略す) で 3 例が認められ、「かたち」では、万が 3 例、竹が 8 例であった。これに対して、同じく顔面を表す語と考えられる「おも」は万で 13 例、竹で 1 例あった。また派生語として「おもかた」では、万で 1 例、竹で 0 例、「おもて」では、万で 1 例、竹で 1 例であった。これらのことから、顔面を表す表現は「おも」が古く、次第に「かほ」に置き換わっていったのではないかと考えられる。鎌倉時代の塵袋では、筆者が「顔トイフハ面カ。」と、「かほ」と「おもて」にどのような違いがあるのかと自問している。さらに中国の文献を引用し、「顔謂眉目之間トイヘルハ、イサナル事ニカ」と疑問を述べている。このことから、中国では、おそらく顔の両目、両眉を含む領域を「顔」の文字で表したが、この漢字が日本に取り入れられた際に、当時の日本語の「かほ」に当てはめられたのではないかと考えられる。「おも」の意味とするところは、「みなも (水面)」、「かほも (川面)」などの例から、人の顔の表面やその形状、つまり人間のおもて (うらに対する反意語としての) に現れているところを指していると考えられる。一方、「かほ」は、「かこちがほ」、「したりがほ」など、接尾語としての用例からも、顔の表情を含む表現として用いられてきたものと考えられる。本研究は JSPS 科研費 JP17K18497 の助成を受けたもので、COI はない。

## F2 Adachi の C 型腕神経叢に伴う腋窩動脈が後神経束を貫き遠位で腕神経叢より浅層に現れる一例

山本凜太郎<sup>1</sup>、櫻屋透真<sup>1</sup>、荒川高光<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸大・院保健

Adachi (1928) の C 型腕神経叢は、内側/外側神経束が一つにまとまり腹側束となる形態である。このとき腋窩動脈は近位で内側神経束あるいは T1 の前を乗り越えた後に腹側束と後神経束の間に入る。今回、神戸大学医学部実習体 (97 歳女性) の右側に、腕神経叢が Adachi の C 型を呈すが、腋窩動脈の走行が上記と異なる例に遭遇した。本例の腋窩動脈は、腕神経叢の尾側を走行し、胸肩峰動脈、外側胸動脈、胸背動脈を分岐した後に、後神経束からの枝と第 2 肋間神経外側皮枝からの枝との吻合部の深層、後神経束本幹の浅層を走行した。この吻合した神経は遠位で肋間上腕神経を出した。腋窩動脈はその後、後上腕回旋動脈、肩甲回旋動脈、肩甲下筋枝を出す動脈を分岐したのち、腹側束から起始し遠位で吻合して内側前腕皮神経となる 2 本の枝によるワナを深層から浅層へと貫き、正中神経よりも浅層に達して浅上腕動脈となった。すなわち本例において腋窩動脈は、一度近位で後神経束の層を貫くものの、遠位で腹側束の層を浅層へと貫くことで腕神経叢に対して浅層へと現れる例といえる。

## F3 下胸筋動脈は浅上腕動脈形成のきっかけとなるか

櫻屋透真<sup>1</sup>、山本凜太郎<sup>1</sup>、宮崎安奈<sup>1</sup>、志水沙耶果<sup>2</sup>、助野巴菜<sup>2</sup>、荒川高光<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>神戸大学大学院保健学研究科 <sup>1</sup>神戸大学医学部保健学科

Kodama et al. (1987) から提唱された下胸筋動脈 (A. pectoralis inferior) は、大胸筋深層面の神経血管進入部のうち最も遠位に進入する枝であり、浅上腕動脈 (Adachi, 1928) の近位部から分岐することがあるため、浅上腕動脈が形成されるきっかけとなる動脈と考えられている。神戸大学医学部解剖学実習において浅上腕動脈が 5 例発見されたため、本 5 例を対象として下胸筋動脈に着目し、腋窩動脈の各枝の詳細と腕神経叢の位置関係を精査した。5 例中 2 例において、腋窩動脈から下胸筋動脈が単独で分岐し、その遠位で通常の肩甲下動脈が深層へ分岐し、その後正中神経ワナの浅層を走行して浅上腕動脈となった。また 5 例中 1 例では下胸筋動脈が外側胸動脈から分岐し、それよりも遠位から通常の肩甲下動脈が分岐し、その後浅上腕動脈となった。すなわち、今回の 5 例では下胸筋動脈は浅上腕動脈のきっかけとなつてはなかった。浅上腕動脈の近位から動脈枝が出ていることもなかった。よって、浅上腕動脈の形成には下胸筋動脈など近位の動脈枝がきっかけとなるだけでなく、遠位の動脈枝や、動脈以外の周囲との関係性によって形成される可能性が考えられた。

## F4 総頸動脈から分岐した上甲状腺動脈の一例

西柚葉、芦田宗馬、山本悠太、金井克光  
 和医大・医・第一解剖

上甲状腺動脈は外頸動脈の第一枝であるが、内頸動脈と外頸動脈の分岐部から分岐する場合と、まれに総頸動脈から分岐する場合がある。令和 2 年度の肉眼解剖実習のご遺体 (77 歳、男性、死因は心不全) で左側の上甲状腺動脈が総頸動脈から分岐し、更に上喉頭動脈に分岐し、喉頭と甲状腺を栄養していたのに対し、右側の上甲状腺動脈は内頸動脈と外頸動脈が分岐する位置から分岐し甲状腺へ直接栄養しており、上喉頭動脈は、上甲状腺動脈とは独立して外頸動脈から分岐していた。下甲状腺動脈は教科書の記載通りに左右ともに鎖骨下動脈から分岐し、更に下喉頭動脈に分岐し甲状腺と喉頭を栄養していた。過去の報告では、上甲状腺動脈の総頸動脈から分岐が 5-10% といわれ、上喉頭動脈が上甲状腺動脈から独立して発生頻度も 5-10% といわれている。このため、本症例で両方の変異例に遭遇できたのは非常に希少であったと考えられる。