

日本解剖学会

第68回九州支部学術集会

会 期：平成24年10月13日（土）

会 場：久留米大学・筑水会館

1 解剖学実習中に見いだされた過剰な冠状動脈について

○朴 智善, 杉野嘉彦, 大田 諭, 矢内正恒, 田平陽子, 中村守厳, 高橋長弘, 嵯峨 堅, 山木宏一

久留米大学解剖学実習に供された 2008 年度 21 体および 2012 年度 28 体の計 49 体の御献体において、右冠状動脈の過剰枝として知られる第三および第四冠状動脈の調査を行った。右冠状動脈や過剰枝の大動脈弁直上の開口部の位置や形状、本来の右冠状動脈との位置関係、過剰な冠状動脈の直径や走行を調査項目として、御献体の調査を行った。調査中にさらにこれまでに報告のない第五冠状動脈とも呼べる過剰枝をもつ例にも遭遇したため、各過剰な冠状動脈を区分するために以降のようにそれぞれを定義した。第三冠状動脈は右冠状動脈の基部より分岐すべき円錐枝が上行大動脈から独立して起こる変異であり、主に動脈円錐の前面に分布する。第四冠状動脈は第三冠状動脈に加えて存在する枝で、第三冠状動脈同様に右冠状動脈の円錐枝の変異だが、こちらは主に動脈円錐の後面に分布する。第五冠状動脈は第三・第四冠状動脈に加えてさらに過剰に独立して起こる変異とした。その結果、第三冠状動脈までをもつ例が 15 体（30.6%）、第四冠状動脈までをもつ例が 4 体（8.2%）、第五冠状動脈までをもつ例が 1 体（2.0%）であった。

2 重複する二筋束が存在する左縫工筋の破格例

○出宮 睦之, 光山 由祐, 江田 誠, 伊東 智樹, 田平 陽子, 中村 守厳, 高橋 長弘, 嵯峨 堅, 山木 宏一

2012 年度久留米大学医学部系統解剖学実習において 70 歳男性の左側の縫工筋の破格例に遭遇したのでその実態について報告する。

本例の左縫工筋は、起始部である上前腸骨棘から斜めに下行し、約 20cm 下方にて外側筋束と内側筋束（副頭）2 つの筋束に分岐していた。観察された縫工筋の外側筋束は内側筋束よりも近位で腱膜状に移行し脛骨粗面内側上部に付着していた。一方、内側筋束は、薄筋を覆うように走行し腱膜状になり脛骨粗面内側下部に付着していた。両筋束ともに大腿神経の枝により支配されていた。下肢の筋において、他の破格は観察されなかった。縫工筋が 2 個の縦筋束を持つ破格例は、本邦では森田（1947）、宮崎ら（1958）、Mori（1964）、足達ら（1971）、山田ら（1992）、高橋ら（2009）に報告された 6 例をみるにすぎず、本例が 7 例目となる極めて稀なものである。なお、本教室では 3 例目である。

現在、この重複縫工筋における筋内神経分布を Sihler 染色を用い、詳細な解析を進めている。

3 非計測的形質に基づくアジア・ヨーロッパ・アフリカ人頭蓋の相違性

小岩智大¹、佐伯和信²、弦本敏行²、岡本圭史²、H. Beukers³、分部哲秋²（¹:長崎大・医学部学生、²:長崎大院・医歯薬総合・肉眼形態学、³:オランダ・Leiden 大）

長崎大学医学部の平成 23 年度リサーチセミナーにおいて、オランダ Leiden 大学に赴き、同大学に所蔵されている近代人頭蓋(ヨーロッパ人 108 例、スマトラ人 53 例、ジャワ人 88 例、アフリカ人 45 例)の非計測的形質 32 項目の出現状態を調査し、その出現頻度による分析を行った。比較・分析には調査した 4 集団の他に、日本列島の縄文人、弥生人、現代日本人、中国春秋・戦国時代人、現代中国人、現代ロシア人の 6 集団の成績を加えて集団間の類縁関係の検討を行った。主要な項目の出現頻度をみると、舌下神経管二分はヨーロッパ人(19.4%)が現代ロシア人とともに高頻度を示すのに対して、スマトラ人(10.6%)、アフリカ人(12.5%)は、現代日本人と同様に低頻度で、ジャワ人(16.1%)は中間値を示した。眼窩上縁孔の頻度はスマトラ人(36.5%)、ジャワ人(41.4%)が、中国春秋・戦国時代人、現代中国人、日本列島の弥生人、現代日本人と同様に高頻度を示し、ヨーロッパ人(27.1%)、アフリカ人(18.6%)は、ロシア人や縄文人とともに低頻度を示した。多変量解析を行った結果、ヨーロッパ、インドネシア、東アジア、それぞれの地域内での類似がみられ、同時に 3 地域には地理的な勾配が認められた。今回調査したアフリカ人はヨーロッパ人やロシア人と近い関係にあり、このことから Leiden 大学に所蔵されているアフリカ人の資料は、北アフリカ地域出自の標本と推測した。

4 マウス精巣におけるサイトケラチンの免疫組織化学的解析

福井達也¹、村上加奈¹、吉永一也^{1,2}¹熊本大学大学院保健学教育部 検査技術科学分野²熊本大学大学院生命科学研究部 構造機能解析学分野

サイトケラチン（CK）は上皮系細胞の細胞骨格を構成する中間径フィラメントで、現在 20 種類以上のファミリータンパク質が知られている。CK は、生体内では上皮細胞の種類やその成熟段階でケラチンの構成成分が異なるため、臨床的には上皮細胞や上皮性悪性腫瘍のマーカーとして診断や治療のモニターとして注目されている。我々は最近、男性生殖系組織における CK の発現と機能に関する研究を行っている過程で、CK14 が精巣で発現することを見いだした。そこで本研究では、この発現意義を明らかにすることを目的として、精巣における CK14 の発現動態を免疫組織化学的に精査したので報告する。

材料には成熟マウス精巣を用い、4%パラホルムアルデヒドで灌流/浸漬固定後、パラフィン包埋切片を作製し、特異抗体を用いて CK14 の発現パターンを解析した。その結果、陽性反応は精子細胞に特徴的な構造と関連して分布・局在することが判明した。このような所見から、CK14 は精子形成過程における生殖細胞の形態分化に関与している可能性が示唆された。

5 マウス精巣上体上皮におけるサイトケラチン発現細胞の同定と発現パターンの解析

村上加奈¹、福井達也¹、吉永一也^{1,2}¹熊本大学大学院保健学教育部 検査技術科学分野²熊本大学大学院生命科学研究部 構造機能解析学分野

サイトケラチン（CK）は上皮系細胞の細胞骨格を構成する中間径フィラメントで、現在 20 種類以上のファミリータンパク質が知られている。これらは、生体内では上皮細胞の種類やその成熟段階でケラチンの構成成分が異なるため、臨床的には上皮細胞や上皮性悪性腫瘍のマーカーとして診断や治療のモニターとして注目されている。本研究では、精巣上体上皮の分化メカニズムを明らかにすることを目的として、マウス精巣上体の生後発達過程における CK の発現及び局在変化について免疫組織化学的に調べた。

材料には幼若～成熟雄マウス精巣上体を用い、4%パラホルムアルデヒドで灌流/浸漬固定後、パラフィン包埋切片を作製し、特異抗体を用いて CK の発現パターンを比較・検討した。その結果、CK5/CK14 は共に生後 1 週以降に精巣上体上皮・基底細胞の細胞質に分布・局在することが判明した。さらに、CK5/CK14 をマーカーとして基底細胞の動態を観察したところ、興味深い所見が得られた。今回の所見とこれまでの知見をもとに、CK の発現と精巣上体上皮の機能的分化との関連について考察する。

諸言：沖縄は、本土に先駆けて食生活の欧米化が進み、その結果として肥満、糖尿病などの代謝性疾患患者数が全国一となっている。そこで、我々はこれら疾患の原因の1つと考えられる食行動に注目し、視床下部を中心に形態学的手法を用いて解析を進めている。本研究では、視床下部の正常な神経回路を明らかにする目的で、様々なマーカー分子に対する抗体を用いた免疫組織化学的解析を行った。方法：成熟マウスを(1)GABA 伝達関連分子、(2)GABA 作動性神経のマーカーであるカルシウム結合蛋白質、(3)アミン系伝達関連分子に対する抗体を用いて染色した。結果：以下のことが明らかになった。(1)GABA 神経終末は全体に広く均一に分布していた。(2)カルシウム結合蛋白質はそれぞれ特徴的分布を示した。(3)TH 陽性神経細胞の細胞体と線維は内側核・弓状核に局在していた。セロトニン陽性線維は視床下部全体に広く分布し、脳室周辺帯の最表層でも認められた。考察：GABA 神経終末は全体に均等に分布しているにもかかわらず、3 種類のカルシウム結合蛋白質の発現がそれぞれ異なる分布を示したことから、視床下部における GABA 作動神経回路がいくつかのサブクラスに分類される可能性が示唆された。以上の結果を基にして、今後は高脂肪食摂取マウスや、ob/ob、db/db マウスなどの遺伝性代謝疾患マウスにおいて同様に検討を行い、その病態解析を進めたいと考えている。

肩甲上腕関節の後方関節包は前方や上方、下方の関節包と比べて薄く、伸張性に富んだ引っ張り特性を持っている。後方関節包の伸張は骨運動ならびに関節包に付着する筋により直接的な作用を受ける。今回、後方関節包を補強する筋である小円筋に着目し、九州歯科大学解剖実習献体を用いて肉眼的観察を行った。小円筋は二頭性で、筋線維あるいは腱線維が関節包に付着するものではないものを確認した。また、小円筋の関節包への付着の有無により上腕三頭筋長頭腱の起始部の位置に多様性がみられた。一般的に上腕三頭筋長頭腱の起始部は肩甲骨関節下結節である。小円筋の関節包への付着例では、長頭腱は肩甲骨関節下結節より内側に拡がり、小円筋の関節包への付着がない例では、長頭腱は関節下結節より外側に拡がり関節包の後下方に付着していた。小円筋の関節包への付着により、肩関節外旋運動時の関節包のゆるみを小円筋が受動的に引っ張り、関節包の挟み込みを防止する。一方、関節包への付着がなく、長頭腱が関節包に付着していることによって関節包を後下方に引き下げようように働く。小円筋の停止部と上腕三頭筋長頭腱の起始部の位置関係が、後方関節包の受動的伸張を相互に補っているのではないかとと思われる。

2012 年度の長崎大学医学部の解剖学実習において、74 歳女性で左外頰動脈の走行が顎二腹筋後腹の浅層を通る極めて稀な例に昨年度に続いて出会った。左総頰動脈が外頰動脈と内頰動脈に分岐する高さは甲状軟骨上縁と舌骨の間にある。上甲状腺動脈はこの分岐部より低い位置で分岐し、外頰動脈を少し上行すると舌動脈と顔面動脈の共同幹が分岐し、ほぼ同じ高さで内方に上行咽頭動脈が分岐する。なお、共同幹からは上行口蓋動脈が分岐して茎突舌骨筋の深層へ分布して行く。外頰動脈はやや上行して後頰動脈を分岐した後、前外側に屈曲しながら上行して顎二腹筋後腹と茎突舌骨筋の浅層を通り、下顎頰の高さで通常通り、顎動脈と浅頰動脈に分岐する。顎二腹筋後腹の浅層を通る時に後耳介動脈が後方へと分岐すると共に、前内側面から無名の細枝が分岐して前方に向い、茎突舌骨筋と茎突舌筋の間へ向う。また外頰動脈は耳下腺への細枝も分岐する。この例には右側の外頰動脈の走行にも特殊所見を認め、顎二腹筋後腹と茎突舌骨筋の間で茎突舌骨筋の支配神経の外側を走る。この関係も極めて稀と考えられる。顎二腹筋後腹の浅層を走る外頰動脈は極めて稀で、今回の例は 6 例目になるようである。成因については、後耳介動脈が引き金になる可能性を推測している。なお、上行口蓋動脈の枝と顎二腹筋後腹の浅層を通る時に分岐する無名の細枝が交通すると本来の走行に対応するとも考えられる。

大分医学技術専門学校は、柔道整復師科と鍼灸師科からなり、3 年課程である。両科とも解剖学の時間数が多く、一年前期から解剖学の講義が始まる。教科書を開いてみると、見られない、聞きなれない解剖学用語がたくさん出てくる。読めない、書きづらい漢字が一杯。この時点で解剖学が嫌いになる学生は少なくない。解剖学は人体の仕組みを理解する楽しい学問であるはずなのに、用語を覚えることのみ追われ、面白くない授業になりがちである。解剖学の授業を骨学から始めていることから、いかに学生たちに解剖学特に骨への興味・関心を抱かせるかが、大きな課題である。学生が骨を楽しく学ぶために、骨実習に加えて、骨名や部位の語源を学生たちに教授することも必要であろう。解剖学用語の日本語学名は、本来国際解剖学用語（Paris Nomina Anatomica, P.N.A.）に準拠したものである。ラテン語学名の語源はいろいろな本に記載されているが、日本語学名や漢字の語源についてまとめた本は知る限り少ない。今回、和漢三才図絵、新字源、字統、医学用語の起こり等の資料を参考にして、骨名や部位の語源を調べる。

【はじめに】近年、患者中心とした、医師とコメディカルスタッフらによるチーム医療が確実に広がりつつ有る。基礎医学を学ぶ医学部生に対して、早い段階からチーム医療に対応する教育の必要性を痛感している。医師となる為には様々な能力を身につける必要性、また社会からの要求は年を追うごとに増大している。【目的、方法】少なくなりつつある解剖学の教育時間数、教員数で如何に効率的にチーム医療教育をベースにした肉眼解剖が実践可能かを模索することである。一班に 3 週間で交代する班長を決め、実習の進捗状況を報告、教員からの質問に答える義務を負わせる。将来医師となる倫理面を含む学習態度、服装、解剖器具の管理、出欠を含めた時間の管理能力、コミュニケーション能力、問題解決能力、外科的手技の向上等を目的として様々なアイデアを考案している。班別、個人別の評価法についても考案した。無線 LAN の構築によって、各解剖台 1 台割当の iPad 2 の双方向使用を含め、実習効率を上げる方法も考案している。【結語】チーム医療教育を目的として、iPad 2 を積極的に活用している取り組みについて紹介した。今後、この教育システムを長期的に検証する予定である。

二足歩行を行う人間にとって特に重要な筋の一つは下腿三頭筋である。共同腱である踵骨腱はしばしば断裂が起こり、その治療法には観血的治療法と非観血的治療法とがあり二者のどちらかが選択される。そこで非侵襲性である超音波診断装置を用いて損傷部を確認することは治療法の選択に有用で有り、また損傷部の経過観察においては損傷部の病態確認が行えるため治療計画の判断に役立っている。しかし超音波診断装置による損傷部位の観察においては体表から長軸、短軸操作を行い描出画像から得られるデータをもとに、損傷部の程度を予測、判断しているため、観察部位によっては個人差があり、実際に形態が異なる場合も多い。そこで本研究では、御遺体において踵骨腱への筋腱移行部、特に踵骨腱断裂の好発部位である踵骨腱が停止する踵骨への付着部より近位に位置する狭小部並びにヒラメ筋の筋腱移行部の肉眼解剖学的観察を行った。また、超音波診断装置を用いて同部位の御遺体と被験者の描出画像の比較検証を行うことで、臨床における超音波診断装置の描出画像の読影には肉眼解剖学的観察が必要であることが示唆された。

12 ヒト褐色脂肪組織(brown adipose tissue: BAT)の胸郭局在部位

千葉政一¹⁾、魏会興¹⁾、晏琼²⁾、北村和裕²⁾、伊奈啓輔²⁾、森脇千夏¹⁾、青佐泰志¹⁾、後藤孔郎¹⁾、正木孝幸¹⁾、浜口和之³⁾、加隈哲也¹⁾、原政英¹⁾、藤倉義久²⁾
¹⁾大分大学医学部総合内科第1講座、²⁾大分大学医学部分子解剖学講座、³⁾大分大学医学部地域・老年看護学講座

ヒト褐色脂肪組織(BAT)は幼児期のみに存在し、加齢で退縮すると考えられてきた。しかし近年、核医学の発達により、80歳以上の高齢者でもヒトBATは存在し機能し続けることが確認され、ヒトBATの機能的意義が注目されている。我々も昨年、ヒトBATの組織学的特徴について本会に報告した。

今回我々は、健康診断を受診した健康成人1550名(男/女:858/692名、平均58.8 +/- 12.4歳、平均BMI 23.3 +/- 3.5歳、平均外気温 16.9 +/- 8.1度)を対象とし、¹⁸F-FDGを用いたpositron emission tomography and computed tomography (PETCT)画像診断結果におけるブドウ糖取り込み能(SUVmax) 2.5以上を示す脂肪組織をBATと判定し、胸郭におけるその検出数、検出部位、検出条件について検討した。

その結果、胸郭BATは対象者の56名(男/女:15/41名、平均50.7 +/- 11.6歳、平均BMI 21.9 +/- 2.9歳、平均外気温 10.8 +/- 6.7度)に検出され、女性であること、年齢、体格指数(BMI)、平均外気温がより低いことが、それぞれ有意に独立して検出を促進した。一方で、胸郭BATは主に縦隔領域と鎖骨上窩領域から構成されるが、これらの領域におけるBAT検出頻度および検出条件に有意な差が認められた。

以上より、性別、年齢、体格、外気温に修飾されるヒト胸郭BATの機能は、その局在部位が深く関与する可能性が示唆された。

13 ラット単離胃粘膜モデルで見い出されたオートファジーを介する胃小窩壁細胞剥離現象の凍結技法を応用した機能形態解析

○豊嶋(青山)典世、高橋 伸育、井手 惣幸、澤口 朗
(宮崎大学 医学部解剖学講座 超微形態科学分野)

凍結技法は従来の化学固定法とは違い、細胞や組織を瞬時に凍結することで形態や抗原の局在などを、生体に限りなく近い状態で保持する方法である。当研究室では凍結技法と組織・細胞培養法を融合した胃底腺壁細胞の機能形態解析を進めてきた。ラット胃底腺壁細胞は、胃底腺峡部の細胞増殖帯から表層の胃小窩領域へ向かう胃小窩壁細胞と胃底腺頸部を経由して底部領域へ向かう腺体部壁細胞の二系統に分けられ、とりわけ胃小窩壁細胞は酸分泌刺激に与る細胞として知られるが、その転帰は不明な点が多い。我々は、生体の胃粘膜に近い組織形態を保ち、培養液中に添加した試薬に速やかな反応性を示す「ラット単離胃粘膜モデル」を開発し、酸分泌刺激後の単離胃粘膜で多数の胃小窩壁細胞が腺腔に剥離する現象を見い出した。高圧凍結技法による電顕観察の結果、細胞内に多重膜構造物が形成されることが判明し、免疫組織化学的解析の結果、剥離前後の胃小窩壁細胞内にLC3の強い陽性反応が認められたことから、オートファジー機構の亢進による細胞変性が細胞剥離を誘導するものと推測された。また、ヒスタミン投与による比較検討の結果、胃小窩壁細胞の剥離現象と酸分泌刺激の相関が確認され、さらにH2受容体阻害剤やプロトンポンプ阻害剤の投与による胃酸分泌抑制が胃小窩壁細胞の剥離を抑制することも判明した。これまでの研究から、オートファジーを介した胃小窩壁細胞の剥離亢進が胃粘膜上皮の連続性を破綻させ、びらん性胃炎の発症起点となる可能性が示唆された。

14 FIB/SEMを用いたトロンビン刺激による血小板構造変化の定量解析への試み

太田啓介¹・鈴木英紀²・都合亜記暢³・岡山聡子¹・中村桂一郎¹

1. 久留米大学・医学部・解剖学講座(顕微解剖・生体形成部門)
2. 財)東京都医学総合研究所 細胞膜研究室
3. 久留米大学電子顕微鏡室

FIB/SEMを用いた3次元解析(FIB/SEM Tomography)は樹脂包埋した標本をFIBによって一定量ずつ切削しその空間情報を得るため、得られるデータには定量性があると考えられている。今回、この定量性能に注目し、血小板の形態変化をFIB/SEM Tomographyによって定量的に解析できるかを検討した。血小板は何かの刺激を受けると、急激にその形態を変化させ、相互に凝集し血栓形成に関与する。もともと円盤状の外形を示す血小板がトロンビンの刺激を受けると、偽足形成を伴う星形の形態に瞬時に変形する。突起偽足形成時には血小板内部に陥入している開放小管系が血小板表面に動員されると考えられている。今回、末梢血より得られた、ヒト正常およびトロンビン刺激後5分の血小板を、グルタルアルデヒドで固定後、OTO法、ウラン、鉛でen bloc染色し樹脂に包埋した。各50個の血小板についてFIB/SEMを用いて空間分解能20nmで3D再構築を行い、その体積および表面積を算出した。結果、トロンビン刺激後、形態の変化と平均体積の増加が確認された。体積増加は血小板の凝集に起因すると考えられる。刺激後、平均表面積も上昇したが、表面積体積比はほとんど変化しておらず、刺激5分では膜の動員が進んでいないことを示唆した。これらの結果はFIB/SEM Tomographyを用いた3D解析が定量解析にも対応できることを示している。

15 ペリニューロナルネットの発現様式は背側海馬と腹側海馬で異なる

関善弘、山田純、神野尚三
九州大学 大学院医学研究院 形態機能形成学分野

ニューロンの一部には、細胞体の周囲を覆っている網状の細胞外基質が存在する。この特殊な構造は、100年ほど前にゴルジによって発見され、ペリニューロナルネット(PNN)と呼ばれている。PNNは中枢神経系のほぼすべての領域に分布しているが、その多くはバルブアルブミン(PV)を発現しているGABAニューロンの周囲に認められる。PNNの機能については、長い間分かっていなかったが、視覚皮質やバレル皮質において神経可塑性の制御や神経保護に関与していることが示され、注目が集まるようになった。一方で、記憶や情動の中枢である海馬におけるPNNの役割については、不明な点が多い。本研究では、近年注目が集まっている海馬の長軸方向に沿った機能分化に着目し、PNNの発現様式について免疫組織学的手法による解析を行った。実験にはマウスを使用し、PNNの可視化にはWFAレクチンを用いた。ImageJによる定量的画像解析の結果、アンモン角(CA1領域)と歯状回において、PNNの発現強度は背側海馬の方が腹側海馬よりも強いことが示された。一方で、背側海馬と腹側海馬のどちらにおいても、PNNの発現強度はアンモン角の方が歯状回より強かった。これらの結果は、てんかんに対して腹側海馬の方が背側海馬より脆弱である事や、海馬の領域による神経可塑性の差異の構造的基盤となっている可能性がある。

16 カルシウム結合タンパク S100A6は神経幹細胞からニューロン・アストロサイトへの分化の制御に関わる

山田純、神野尚三
九州大学 大学院医学研究院 形態機能形成学分野

海馬の歯状回においては、生涯にわたってニューロン新生が持続する。歯状回の神経幹細胞では、神経活動に伴って細胞内にカルシウムイオンが流入し、ニューロンへの分化が促進されることが示されている。カルシウム結合タンパクはカルシウムイオンとの結合やシグナル伝達を介して、幹細胞の分化に関与する可能性があるが、その詳細は分かっていない。本研究で我々は、カルシウム結合タンパクの一つであるS100A6が、成体海馬歯状回顆粒細胞下層に発現していることを見出した。分子マーカーを用いた解析によって、S100A6は神経幹細胞に発現しているが、幼若ニューロンや成熟顆粒細胞には発現していないことが示された。さらに、アストロサイトの一部において、S100A6の発現が認められた。このため、BrdUによる標識実験を行ったところ、BrdU投与後3日目には、BrdU陽性新生アストロサイトの多くがS100A6を発現していたが、BrdU投与後14日目には、BrdU陽性新生アストロサイトのほとんどがS100A6陰性であった。また、カルシウムキレート剤BAPTA-AMやS100タンパクの阻害剤であるトリフルオロペタジンの投与によって、新生アストロサイトの数が減少した。これらの結果は、S100A6によるカルシウムシグナル伝達の制御が神経幹細胞からアストロサイトへの分化の制御に関わっている可能性を示唆するものである。

17 マウス嗅球におけるCa結合蛋白secretagodin陽性ニューロンの特徴

○小坂克子¹、小坂俊夫²

九州大学大学院医学研究院保健学部門¹、基礎医学部門神経形態学分野²

我々はげつ歯類嗅球における介在ニューロンの化学的・形態的特徴による詳細解析を進めてきている。今回はマウス嗅球において、新たに発見されたカルシウム結合蛋白secretagodin陽性ニューロンについて分布・形態的特徴解析の結果を報告する。

secretagodin陽性ニューロンは糸球体層と顆粒細胞層に広く分布し、特に糸球体層ではcalbindin, calretinin等のこれまでの他のカルシウム結合タンパク陽性ニューロンと比較したところ、calbindin陽性ニューロンとは重複がなく、calretinin陽性ニューロンとは一部重複していた。また、tyrosine hydroxylase陽性GABAドーパミンニューロンとも一部重複することが明らかにできた。また、transcription factorsであるSp8とTbx21について共存関係の解析を行い、secretagodin陽性ニューロンがすべてSp8陽性Tbx21陰性であることを初めて示した。これらのsecretagodin陽性ニューロンの形態はいわゆる傍糸球体細胞と考えられるものと短軸索細胞と考えられるものが混在、あるいは両者の性質を有したこれまでとは別のカテゴリーの介在ニューロンも存在している可能性も示唆された。

顆粒細胞層、外網状層のsecretagodin陽性ニューロンの一部は、calretinin陽性であることが確認できた。

18 三叉神経節における VNUT の発現について

郡司掛香織、後藤哲哉、片岡真司、蔵田清香、黒石加代子、山口和憲
九州歯科大学

顎顔面領域の末梢神経の傷害後、三叉神経節ニューロンは様々な神経ペプチドを産生し、末梢へ逆行性に放出することにより、炎症を調節する。アデノシン三リン酸 (ATP) は、生理的または病的状態において疼痛伝達を含むシグナル伝達を行っている。ニューロンはサテライトグリア細胞 (SGCs) に囲まれており、これらの細胞は ATP を介して情報伝達を行っていることが分かっているが、三叉神経節において、どの細胞が ATP を放出しているかについてはよく分かっていない。そこで、この研究では三叉神経節における ATP の動態を調査するために、小型型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) の発現を調べた。

ラット三叉神経節細胞からRNAを抽出し、VNUT遺伝子に特異的なプライマーを用いてRT-PCRを行った。またラット三叉神経節におけるVNUTとATPレセプターであるP2X₃の発現を免疫染色にて調べた。

RT-PCRから、三叉神経節にVNUT mRNAが発現しており、免疫染色でニューロンとSGCsにVNUTの発現が認められた。またP2X₃レセプターもニューロンとSGCs両方に発現が認められた。

これらの結果から、ATP がニューロンと SGCs の両方から細胞外に放出され、三叉神経節内の細胞がレセプターを介して受け取り、細胞間で情報伝達が行われていることが示唆された。

19 マウス脚内核ニューロンの免疫組織化学的多様性

宮本雄太、福田孝一
熊本大学大学院生命科学研究部形態構築学分野

本研究では、基底核出力部の脚内核 (淡蒼球内節) の形態学的特徴を免疫組織化学染色により明らかにすることを目的とした。抗 NeuN 抗体、抗 Parvalbumin (PV) 抗体、抗 Substance P (SP) 抗体を用いてマウス脚内核の三次元的広がり、脚内核ニューロンの構成とその多様性を検討した。

脚内核の吻尾方向への広がりを明らかにするために、抗 SP 抗体による免疫染色を行った。脚内核は前交連の尾側 1040 μm から 1920 μm に及んでいた。従来、代表的な脚内核ニューロンは PV 含有 GABA ニューロンと考えられてきたが、抗 NeuN 抗体と抗 PV 抗体の二重染色、Neurolucida を用いて連続切片の三次元的分布を検討したところ、脚内核ニューロンの 65% が PV 陰性ニューロン、35% が PV 陽性ニューロンであった。脚内核吻側 1/2 において大多数は PV 陰性ニューロンであった。一方、尾側 1/2 においては中心部分に集結している PV 陽性ニューロンを取り囲むように PV 陰性ニューロンが存在していた。さらに、尾側においてこの PV 陽性ニューロンが集結するコア領域では SP 染色性が低く、コア領域の周囲では SP 染色性が高いことも明らかになった。

以上の結果から、脚内核は PV 陽性ニューロンが集結するコア領域とそれを取り巻く PV 陰性ニューロンが存在するシェル領域に区分できることが明らかになった。

20 マウス精巣のパラフィン包埋切片におけるオリゴ DNA プローブによる in situ hybridization 法を用いた microRNA 発現解析

○遠藤大輔、宋寧、小路武彦
長崎大学大学院歯歯薬学総合研究科組織細胞生物学分野

microRNA は近年発見された 18-25 塩基の small RNA であり、多くの標的遺伝子の翻訳阻害や、mRNA の分解促進により細胞の増殖、分化を制御すると考えられている。精子形成過程における microRNA の役割を解明する上で、その microRNA の体細胞或いは生殖細胞での発現の有無や、発現生殖細胞の分化段階の同定が必須であると思われる。そこで、我々は当研究室で確立されている、パラフィン切片に於ける 25-45 塩基のオリゴ DNA プローブを用いた in situ hybridization 法を改変し、精巣に於ける mmu-miR-34c 及び mmu-miR-652-3p 発現細胞の同定を試みた。その結果、通常のハイブリダイゼーションバッファーからホルムアミドを除くこと、除蛋白処理に於いて proteinase K 濃度を下げることにによりそれぞれシグナルの強度及び特異性が改善され、mmu-miR-34c がパキテン期の精母細胞から円形精子細胞にかけて細胞質中に発現していることが判明した。

これらの結果は本法が精子形成過程に止まらず様々な細胞活動の調節機構に於ける microRNA の役割の解析での有効性を強く示唆する。

21 伝統的秘薬の有効成分ノルジヒドログアイアレチン酸による炎症性骨破壊制御

李銀姫¹、久木田明子²、○渡辺敏之¹、屈鵬飛¹、久木田敏夫¹
¹九大・歯・分子口腔解剖、²佐賀大・医・微生物

ノルジヒドログアイアレチン酸 (Nordihydroguaiaretic acid, NDGA) は北米先住民の間で関節リウマチ等に有効な伝統的秘薬として用いられてきたメキシコハマビシ Creosote bush の有効成分である。本研究では NDGA の炎症性骨破壊に対する有効性を検討するとともに、骨吸収細胞である破骨細胞の分化に対する効果について検討した。ヒト慢性関節リウマチ (RA) のモデルであるアジュバント関節炎ラットに NDGA を投与したところ、関節の腫脹等の炎症パラメータには有意な効果が認められなかったが、関節炎に伴う距腿関節周囲の骨破壊が顕著に抑制された。μCT を用いた定量的解析により NDGA による骨吸収の顕著な阻害が認められた。組織化学的解析により NDGA の投与により脛骨遠位端や距骨に於いて、破骨細胞数の著しい減少を認めた。破骨細胞分化因子 RANKL を用いた試験管内破骨細胞形成系において、NDGA は破骨細胞の形成を顕著に抑制した。RANKL 刺激による ERK のリン酸化は NDGA は有意に阻害した。更に NDGA は破骨細胞分化のマスター遺伝子である転写因子 NFATc1 の発現を抑制し、NFATc1 の核移行を阻害した。また、RANKL 刺激によって誘導される破骨細胞前駆細胞内のカルシウム オシレーションを顕著に抑制した。また、試験管内骨吸収系でも NDGA が骨吸収を阻害した。以上の結果より、アジュバント関節炎ラットにおいて NDGA は関節炎そのものは抑制しなかったものの、破骨細胞の分化と機能を抑制することにより炎症性骨破壊を抑制することが分かった。

22 ラット棘上筋腱付着部の超微形態における機能解剖学的構造解析

金澤知之進¹、太田啓介¹、東龍平²、都合重記暢²、中村桂一郎¹

[目的]今回我々は、ラット腱骨付着部の超微形態レベルでの直接観察とその3次元構造を、次世代走査型顕微鏡(FIB/SEM)を用いて解析し、そこに存在する細胞と周囲の細胞外繊維の相互関係を検討した。[方法]検体には、SD Rat 棘上筋腱付着部を用いた。検体を脱灰/包埋後、棘上筋腱付着部の骨側から腱側にかけて、FIB/SEM を用いて電子顕微鏡レベルでの3次元再構築(Ion-beam Serial Abrasion and Reconstruction)を行った。その後この画像を基に付着部領域の3次元解析を行い、各領域における細胞の微細形態と周囲のコラーゲン線維配列を検討した。[結果]骨/軟骨領域における細胞の形態は、比較的球状で突起は乏しく、軟骨細胞様であった。これに対し、腱領域での細胞形態は紡錘形で、線維芽細胞様であった。同時に、隣接するコラーゲン線維束に対して一定の方向性を持った細胞突起を多数認め、その細胞間結合も豊富であった。腱骨付着部領域においては、細胞形態は骨側に認めた軟骨様の細胞と同様に球状であったが、一部突起を伴っており、腱領域に認めた細胞と同様、一定の方向性を持っていた。また、細胞間結合は認めなかった。[考察]一般的に腱骨付着部は、線維軟骨を介したいわゆる4層構造を構築し、線維芽細胞と軟骨細胞で成るとされる。しかしながら今回我々は、付着部において形態的に線維芽細胞と軟骨細胞の中間的形態を呈する細胞の存在を認め、さらにその細胞突起は、隣接するコラーゲン線維束に対して一定の方向性を持つことを示した。これらの所見は、棘上筋腱骨付着部形成のプロセスを解明する上で、一助となるものと思われる。

23 胃がん組織における二本鎖RNA依存プロテインキナーゼの局在

¹森本景之、¹馬場良子、^{1,2}中俣潤一、^{1,2}石松那葉

¹産業医科大学・医学部・第2解剖学 ²第2内科学

消化管粘膜上皮は体内に存在しながら、絶えず外来抗原に暴露されており、多種多様な抗原に対処するため、強固な免疫防御システムを発達させている。Double-stranded RNA dependent protein kinase (PKR) は、ウイルス感染やインターフェロン等に応答して活性化し、細胞の防御機構に関わる分子であり、アポトーシスや細胞の癌化にも関連することが報告されている。我々はこれまでに、正常胃粘膜上皮において壁細胞特異的に PKR が発現することを明らかとしたが、その役割については未だ不明である。最近、肺がんにおける PKR の発現および活性化状態と患者予後との相関に関する報告がなされた。そこで、胃の粘膜上皮における PKR の発現と胃がんとの関連の有無を解析することを目的として今回の研究を行った。

ヒト正常胃および胃がんティッシュスライドを用いて *in situ* ハイブリダイゼーション法と免疫組織化学法による PKR の発現解析を行った。ティッシュアレイはそれぞれ 59 名の正常または胃がん組織で構成されている。胃がん組織については癌の種類やステージは様々であり、正常組織については同一人の正常胃組織である。解析の結果、正常胃組織に比べて胃がん組織の上皮で PKR は強く発現しており、胃がんのタイプによっても、発現差が認められた。以上のことから、胃がんと PKR 発現亢進との関連が示唆された。今後、胃がんのステージや悪性度と PKR 発現との相関性について詳細に検討する予定である。