

## 日本解剖学会

## 第58回東北・北海道連合支部学術集会

会 期：平成24年 9 月22日（土）、23日（日）

会 場：山形大学医学部大講義室

## 特別講演 血管平滑筋のカルシウム動態イメージング

佐藤洋一・岩手医科大学 医学部 解剖学講座（細胞生物学分野）

細胞内カルシウム濃度（ $[Ca^{2+}]_i$ ）の変動を指標として、局所血流調節に重要な役割を果たしている細動脈の生理機能を調べた。細動脈の平滑筋においては、ノルアドレナリンの効果は驚くほど限局的であり、しかも一過性であった。それに対して、ATPやセロトニン、エンドセリンに対してほとんど全ての平滑筋細胞で $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を生じ、収縮も生じた。この反応は持続的で、不可逆的なことさえあった。ATPに対する反応は、脳の細動脈ではP2XとP2Yの受容体を介するのに対し、精巣や心臓の動脈ではP2Xだけであった。また脳の細動脈のほうが精巣の血管に比べてセロトニンに対する反応性も強かったが、血管径が細くなるとセロトニンの反応性が消失した。これに反してプロテアーゼに対する反応は、細い血管に強く見られた。抗アルドステロン薬では、予想に反して細胞内カルシウムイオン濃度の上昇と平滑筋の収縮が見られた。ジピリダモールによる血管収縮抑制は、細胞外カルシウムイオンの流入を抑制するためであることが示された。我々の結果は、細動脈平滑筋の各種伝達物質に対する反応性が、臓器や血管径ごとに異なることを明らかにした。また、降圧薬の作用機序が、今まで考えられていたものとは異なることが示された。バイオイメージングは、生理学や薬理学を包括した動的形態学の道を開くものと思われる。

## 01 電子線トモグラフィー法を用いたオートファゴソーム最終形成過程の微細構造解析

山本雅哉、和栗聡

福島県立医科大学 医学部 解剖組織学講座

オートファジーは近年理解が著しく進歩した細胞内タンパク質分解経路である。飢餓ストレスなどがきっかけとなりタンパク質のリサイクル等に寄与すると考えられてきたが、細胞内に進入した微生物の排除や、癌発生機構を始めとする様々な疾患に関わることが分かってきた。その過程は動的な膜変化を伴い、まず隔離膜（あるいはphagophore）という2重膜構造が形成・伸張し、細胞質を包み込むことで直径約500nmのオートファゴソームと呼ばれる小胞を形成する。ここにリソソームが融合し、内容物の分解が進行する。特に粗面小胞体由来の隔離膜形成に際しては、オメガソームと呼ばれるDFCP1 (double FYVE domain-containing protein 1) が特異的に分布するリング状構造が隔離膜形成に先行して形成されることが知られている。これまで我々は、このオメガソームが細管構造から成る可能性を報告してきた。本研究では同構造に対して電子線トモグラフィー法を用い、さらに詳細な形態解析を進めた。

アミノ酸飢餓によりオートファジーを誘導したマウス線維芽細胞を固定、エポン包埋し、250nm厚の切片を電子線トモグラフィー法により観察した。閉鎖直前段階にある隔離膜構造、約10個について3次元立体構築を行い、約1nmの解像度を有する100nm厚の3次元像を得た。オメガソーム細管は約20～30nmで、隔離膜辺縁近傍に存在する粗面小胞体から出芽した。細管には分岐や既存細管との融合部分が見られ、全体として入り組んだ細管構造が隔離膜閉鎖途中の間隙部を埋める形で存在していた。さらにその一部は比較的幅広い管状構造となり、その管腔部分が一挙に失われることで隔離膜に移行していた。これらの結果は、オメガソーム細管が粗面小胞体から隔離膜を形成する過程の中間構造体であることを強く示唆するとともに、本知見はオートファゴソーム形成における膜動態機構解明への手掛かりとなる。

## 02 Aurora B キナーゼによる細胞質分裂制御

○上条 桂樹  
東北大学大学院 医学系研究科 人体構造学分野

細胞質分裂における収縮環形成は低分子量 G タンパク質 Rho が、分裂後期の微小管上の Rho 調節因子複合体（キネシン MKLP1, MgcRacGAP, RhoGEF ECT2）によって、活性型に転換されることによって制御される。分裂後期には、動原体微小管など多くの微小管があるにもかかわらず、Rho 調節因子複合体は分離した染色体間の微小管（中央微小管と星状体微小管の一部）にのみ局在するが、この局在を制御する機構は詳しくわかっていない。分裂期キナーゼとして知られる Aurora B は、分裂後期に動原体から中央微小管上に再配置されるだけでなく、キネシン MKLP1 を基質とすることから、Rho 調節因子複合体の局在を制御する有力な候補である。しかし Aurora B は、動原体での紡錘体チェックポイントなど、分裂中期にも多くの役割を担っているため、阻害剤を使用すると、正常な細胞周期の進行が阻害される。そこで、HeLa 細胞をキネシン Eg5 阻害剤 monastrol で処理して分裂前期に同調培養後、ミオシンの阻害剤 blebbistatin 処理することにより、染色体は分離しているが分裂溝は形成されていない分裂後期の細胞を得た。この細胞に、Aurora B 特異的阻害剤 AZD1152 HQPA を作用させたところ、MKLP1 の微小管への局在および Rho の細胞表層への局在が失われ、分裂溝の形成も阻害された。一方、Aurora A 特異的阻害剤 Aurora A Inhibitor I および MLN8237 では、MKLP1 と Rho の局在および分裂溝の形成に影響は認められなかった。こうしたことから、Aurora B が、Rho 調節因子複合体の染色体間の微小管への局在に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

## 03 涙腺腺房細胞におけるプロテアーゼ活性化型受容体の発現とその機能解析

及川 誠<sup>1,2</sup>、○齋野朝幸<sup>1</sup>、黒坂大次郎<sup>2</sup>、佐藤洋一<sup>1</sup><sup>1</sup> 岩手医科大学統合基礎講座解剖学講座細胞生物学分野  
<sup>2</sup> 岩手医科大学医学部眼科学講座

目的:Protease-activated receptor (PAR)は、特定のプロテアーゼによって活性化される G タンパク共役型 7 回膜貫通型受容体であり、4 つのアイソタイプが存在する。この受容体は外分泌腺上皮細胞に存在すると言われており、種々の機能制御に関与している。我々が以前に、細動脈、及び上頭神経節での PAR 受容体の反応性について報告している。今回、ラット涙腺での PAR の機能をカルシウムイメージング法を用いて検討した。  
結果:涙腺腺房細胞においてRT-PCRで確認したところPAR-2 受容体のみ発現が認められた。これを示唆するようにPAR-1,3,4 のアゴニストであるトロンピンでは反応を認めないのに対し、トリプシンやPAR-2 アゴニスト(PAR2-AP)のSLIGRL-NH<sub>2</sub>の投与によって $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を認めた。この際、筋上皮細胞の $[Ca^{2+}]_i$ の上昇反応も腺房細胞と同調して認められた。 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は、細胞外のCa<sup>2+</sup>除去によっても消失せず、同様に非特異的Ca<sup>2+</sup>チャネルブロッカーのGd<sup>3+</sup>投与によっても抑制されなかった。また、PLC抑制薬のU73122 でもこの反応は阻害されなかった。Thapsigarginで細胞内Ca<sup>2+</sup>ストアを枯渇させてから、PAR2-APで刺激しても $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は起こらず、双方同じ細胞内ストアに働いていることが示唆された。細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入機構について検討したところ、capacitative calcium entry (CCE)の抑制薬の低濃度Gd<sup>3+</sup>やcalyculin Aの投与で完全抑制されず、NOのdonorの投与でCa<sup>2+</sup>流入の増強を認めた。  
考察:以上から、PAR-2 は細胞内ストアを刺激して $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を引き起こすが、これはIP<sub>3</sub>非依存性の反応であった。また、細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入は、capacitative calcium entry (CCE) とnon-capacitative calcium entry (NCCE) が協調している可能性が示唆された。

## 04 生体内イメージングによる骨髄内巨核球の血小板産生過程の検討

古和田 周吾<sup>1</sup>、磯貝 純夫<sup>2</sup>、燕 軍<sup>2</sup>、木村 英二<sup>2</sup>、武智 正樹<sup>2</sup>、  
齊藤 絵里奈<sup>2</sup>、人見 次郎<sup>2</sup>  
岩手医科大学 内科学講座 血液・腫瘍内科<sup>1</sup>  
岩手医科大学 解剖学講座 人体発生学分野<sup>2</sup>

哺乳類のみが持つ止血作用に特化した血液細胞（無核の血小板）は、骨髄の巨核球より生み出される。しかし血管外に位置する巨核球が、どのような過程で仕組みで、血管内を流れる血小板を生み出すのかについては、未だ定かではない。これまで複数のモデルが提唱されてきたが、観察手法により提唱されるモデルは異なっている。現在の所、培養巨核球での検討が容易な proplatelet model が広く支持されているが、生きた個体中で proplatelet の形成・分離過程を観察した報告は無い。

今回我々は、2 光子顕微鏡を用いて、麻酔下で生きた個体（遺伝子改変マウス）中の骨髄中の巨核球を経時的に観察した。その結果、proplatelet 形成・分離過程に加え、proplatelet とは異なる性質を持つ突起の形成・分離過程を観察した。また固定骨髄組織において、両者の光顕・電顕的構造の違いを明らかにした。

生体内の血小板産生過程において、巨核球は血流を利用しており、需要に応じた産生方法を持っている可能性が考えられた。

05 マスノスケ (*Oncorhynchus tshawytscha*) 下顎歯の交換について

土門 卓文  
北海道大学大学院歯学研究科 口腔機能解剖学教室

【目的】 哺乳類以下の下等脊椎動物の歯性は生涯の間に何回でも歯が生えかわる多生歯性である。爬虫類においては Edmund (1960) が提唱する Zahnreihen theory と呼ばれる規則正しい歯の交換が報告されているが、硬骨魚類における歯の交換はよく分かっていない。今回、硬骨魚類のマスノスケ (サケ目サケ科、Chinook salmon) の下顎歯の交換について検索し、そこで Zahnreihen がみられるかどうかを検討した。【方法】 札幌市豊平川さけ科学館より提供された体長 (SL) 148~165 mmのマスノスケ4匹の下顎骨を採取後、固定、脱灰、パラフィン包埋した。下顎骨は前頭断・水平断方向から厚さ5 μm 間隔の連続切片を作成し HE 染色後、光顕観察した。切片上で観察された歯・歯胚はその発生過程によって6段階に分類し、歯の位置を横線に、歯の発生段階を縦線にした歯の交換の表を作成した。【結果】 歯と歯胚は2列に並び、唇側に歯が、舌側に歯胚が観察された。破歯細胞による吸収像が観察される脱落歯の出現は不規則であり、歯が存在しない位置の下顎骨周囲に多数の破骨細胞が観察される像がしばしば認められた。このような像を脱落直後の歯と仮定して歯の交換の表に加えると、歯の出現位置とその発生過程において、前方から後方へと向かう Zahnreihen 上に並んでいた。【結論】 体長 (SL) 148~165 mmのマスノスケ下顎歯では、Edmund が提唱する Zahnreihen theory と類似する一定の規則性のもとに、歯が交換している可能性が示唆された。

06 マウス歯髄発生における NOS に関する免疫組織化学的検索

高橋進也<sup>1</sup>、柏原祥顕<sup>2</sup>、茂呂祐利子<sup>3</sup>、安部仁晴<sup>3</sup>、中川敏浩<sup>3</sup>、渡邊弘樹<sup>3</sup>  
奥羽大学歯学部口腔外科学講座<sup>1</sup>、大学院歯学研究科口腔組織構造生物学<sup>2</sup>、歯学部生体構造学講座口腔組織学分野<sup>3</sup>

【目的】一酸化窒素(NO)は生体内環境に対し、反応性の高いフリーラジカルの1つであり、その働きとして血管拡張、神経伝達物質、免疫系における抗菌・抗腫瘍作用などが知られている。口腔内では、歯周組織や歯髄の炎症に関する NO の反応については報告されているが、歯の発生段階における NO の存在については報告がない。今回、われわれはマウス下顎臼歯の歯乳頭や歯髄における NO の発現について、nNOS、iNOS、eNOS を指標として、発生学的に免疫組織化学的に検討した。【結果】胎生14、17日齢の歯乳頭では、nNOS、iNOS、eNOS に対して陰性を示した。生後0~7日齢の歯髄の間葉細胞と内皮細胞においては、nNOS に対して陰性を示し、iNOS、eNOS に対して弱陽性を示した。生後10、14日齢の歯髄間葉細胞と内皮細胞では、nNOS に対して弱陽性、iNOS、eNOS に対して陽性を示した。生後0~7日齢の象牙芽細胞層、ヘルトヴィッヒ上皮鞘では nNOS に対して陰性を示し、iNOS、eNOS に対して弱陽性を示した。生後10、14日齢のヘルトヴィッヒ上皮鞘に関しても nNOS に対して弱陽性を示し、iNOS、eNOS に対して陽性を示した。【考察】生後10日齢以降に各種 NOS 抗体による陽性反応が強くなることから、マウス歯髄では、この時期から組織の分化や増殖にフリーラジカルが働いていることが示唆された。よって、歯牙発生においても NO が形態形成や組織分化に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。

07 骨密度と構成元素の解析を利用した修復骨基質の石灰化の検討

大方 広志<sup>(1)(2)</sup>、中村 恵<sup>(2)</sup>、逸見 晶子<sup>(2)</sup>、島内 英俊<sup>(1)</sup>、笹野 泰之<sup>(2)</sup>

東北大学大学院歯学研究科  
歯内歯周治療学分野<sup>(1)</sup>、顎口腔形態創建学分野<sup>(2)</sup>

【目的】骨の修復過程については、発生成長過程と比較して石灰化の知見が乏しい。本研究では、ラット頭頂骨規格化骨欠損実験系を用いて、修復骨の骨密度と構成元素の分布および濃度を解析し、修復骨基質の石灰化を検討することを目的とした。【方法】全身麻酔下に、生後12週齢ラットの頭頂骨に直径3.8mmの規格化骨欠損を作製した。術後1週、2週、4週および8週の段階でラットを4%パラホルムアルデヒドで灌流固定後、頭蓋骨を摘出し、規格化骨欠損部に形成された修復骨の骨密度をマイクロCTで定量解析した。さらに試料を非脱灰で凍結包埋して修復骨中央の切片を作製し、組織学的に検討した。また、切片を得た凍結包埋試料を凍結乾燥し、修復骨中央断面を対象に走査電子顕微鏡によるエネルギー分散型X線分析(SEM-EDX)を用いて構成元素(Ca、P、C)の分布と相対的な濃度を解析した。生後12週齢ラットの頭頂骨をコントロールとし、同様に解析した。【結果】マイクロCT画像と組織像との検討で、術後1週で欠損部に修復骨の形成が認められた。修復骨の骨密度(BMD)は術後1週で平均235.9±23.6mg/cm<sup>3</sup>だったが術後週齢が増すに伴い上昇し、術後8週で平均663.5±66.1mg/cm<sup>3</sup>に達した。SEM-EDXによる分析では、修復骨におけるCaの元素分布はPの元素分布にほぼ対応し、Cの元素分布とは相補的であった。術後週齢が増すに伴い、CaとPの元素分布はその範囲を拡大し、Cの元素分布は縮小した。また、術後週齢とともに骨基質における元素濃度比Ca/Pは上昇し、C/CaおよびC/Pは低下した。

08 間葉系細胞分化調節における DGK $\zeta$  と Retinoblastoma 蛋白の役割

○土谷 理恵子<sup>1,2</sup>、飯野 光喜<sup>2</sup>、後藤 薫<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>山形大・医・解剖学第二講座、<sup>2</sup>山形大・医・歯科口腔形成外科学講座

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は、ジアシルグリセロールをフォスファチジン酸に変換する酵素であり、様々な細胞内情報伝達系を制御する。一方 Retinoblastoma 蛋白 (Rb) は E2F を介して細胞周期を調節する転写因子として細胞の最終分化に関与するが近年、DGK アイソザイムのうち DGK $\zeta$  が Rb と結合することが報告された。さらに、筋芽細胞 C2C12 では DGK $\zeta$  の強制発現により Rb のリン酸化が抑制され、筋細胞への分化を誘導することが明らかになっている。しかし、その他の間葉系組織である軟骨組織や脂肪組織における DGK $\zeta$  の機能的意義は未だ不明である。本研究では、筋肉組織と同じ間葉系に属する軟骨細胞および脂肪細胞の分化調節における DGK $\zeta$  と Rb の機能解析を目的として、両者の細胞内局在解析、軟骨細胞培養系 (ATDC5) および脂肪細胞培養系 (3T3-L1) における DGK $\zeta$  の発現解析を行った。遺伝子導入細胞において、DGK $\zeta$  と Rb は共に核内に局在が認められた。また、軟骨細胞分化過程および脂肪細胞分化過程において DGK $\zeta$  蛋白の発現量は分化初期で増加し、分化後期では減少することが明らかになった。これらの結果から、細胞の核に局在する DGK $\zeta$  が間葉系細胞の分化誘導に関与する可能性が示唆された。

09 ブラナリア多能性幹細胞特異的抗体を用いたヒト多能性幹細胞特異的因子の探索

○明石英雄<sup>1</sup>、若尾昌平<sup>1</sup>、黒田康勝<sup>2</sup>、柴田典人<sup>3</sup>、阿形清和<sup>3</sup>、田岡万悟<sup>4</sup>、磯辺俊明<sup>4</sup>、藤吉好則<sup>5</sup>、北田容章<sup>1</sup>、出澤真理<sup>1</sup>。東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野<sup>1</sup>、人体構造学分野<sup>2</sup>、京大大学理学研究科生物科学専攻<sup>3</sup>、首都大学東京大学院理工学研究科<sup>4</sup>、名古屋大学大学院創薬科学研究科基盤創薬学専攻<sup>5</sup>。

最近、我々は、1細胞から三胚葉への分化が可能な多能性幹細胞 Muse 細胞が成人ヒト間葉系組織に存在することを報告した。Muse 細胞は、生体に存在する自然の細胞であり、腫瘍形成能を持たない。さらに40年に渡る骨髄移植においてヒトに移植されていた細胞であることから、高い安全性を有し、再生医療への応用が期待される。生物界を見渡すと、Muse 細胞と同じく間葉系組織に存在し、かつ、三胚葉への分化能を有する多能性幹細胞ネオプラストが、約5億年前に出現したブラナリアにも存在する。我々は、「生体に存在する多能性幹細胞」として、ヒト Muse 細胞とブラナリアのネオプラストとの共通性に着眼した。ネオプラスト特異的抗体を用いてヒト Muse 細胞を免疫染色したところ、ネオプラストに見られたのと同様に核での染色像が得られた。ネオプラスト抗体に対するヒト抗原因子を同定するために、多能性を有するヒト NTERA2 細胞を用いて免疫沈降実験、質量分析実験を行った結果、2種類の特徴的な産物が同定された。Muse 細胞において、これらの産物を特異的に認識する抗体を用い、ネオプラスト抗体との二重免疫染色実験を行ったところ、細胞内局在の一致が観察された。以上のことから、本研究で同定した因子は、Muse 細胞においてブラナリア抗体のヒト抗原因子の候補であるとともに、進化的に保存された自然の多能性幹細胞に共通な制御機構に関与している可能性がある。今後、これら抗原因子群の Muse 細胞での発現と機能を解析し、生体内多能性幹細胞の共通性と相違点に迫りたい。

10 成人ヒト間葉系細胞に内在する多能性幹細胞の探索

○黒田康勝<sup>1</sup>、北田容章<sup>2</sup>、若尾昌平<sup>2</sup>、明石英雄<sup>2</sup>、繁本妙子<sup>2</sup>、出澤真理<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院人体構造学分野  
<sup>2</sup>東北大学大学院細胞組織学分野

近年、胚性幹細胞(ES 細胞)や人工多能性幹細胞(iPS 細胞)といった多能性幹細胞を再生医療へと利用する研究に注目が集まっている。しかし、現状ではこれらの細胞を生体へ移植した場合は高確率で奇形腫が形成されることが知られており、安全性が大きな問題となっている。このような状況の中、発表者らは骨髄間葉系細胞(Bone Marrow Stromal Cell, BMSC)や皮膚に存在する fibroblast といった間葉系細胞から、多能性を持ちつつも奇形腫を形成しない新たな多能性幹細胞を単離することに成功した。そしてこの細胞を Multilineage differentiating stress enduring (Muse) cell と命名し、報告した。BMSC は骨髄に存在する細胞であり、これまでも同じ中胚葉系の骨や軟骨、脂肪へと分化することが知られていたが、最近になり中胚葉系も含めた3胚葉全ての細胞へ分化することが可能であることが報告されていた。また皮膚に存在する fibroblast も BMSC と同様、胚葉を越えた分化を行うことが報告されており、これら間葉系細胞集団中には多能性を持った細胞が存在していることが以前から示唆されていた。そこで、発表者らは幹細胞の特性に着目した手法を用い、多能性幹細胞の単離を試みた。その結果、発表者らが単離した Muse 細胞は浮遊培養を行うことでヒト ES 細胞の胚様体とよく似た Cluster を形成した。さらに、この Cluster は多能性幹細胞マーカーの発現、自己複製能、3胚様性の細胞への分化能といった多能性幹細胞の特徴を有していた。加えて、免疫不全マウスへ移植しても奇形腫を形成しないが、移植部位周辺で3胚葉性の細胞へと分化すること、損傷モデルマウスへ移植すると損傷部位へと遊走・生着し、それぞれの組織に応じた細胞へと分化することが明らかにした。このように、Muse 細胞は多能性を持つ一方で ES 細胞や iPS 細胞とは異なり腫瘍形成能を持たない、生体から直接採取可能な新規の多能性幹細胞であり、今後の再生医療への応用が期待される。



## 11 ヒト脂肪組織由来間葉系細胞に内在する多能性幹細胞の探索

○小椋 文貴<sup>1</sup>、若尾 昌平<sup>1</sup>、黒田 康勝<sup>2</sup>、相場 節也<sup>3</sup>、出澤 真理<sup>1,2</sup>  
東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学<sup>1</sup>、人体構造学<sup>2</sup>、皮膚科学<sup>3</sup>

以前、我々はヒト間葉系細胞にユニークな幹細胞があることを見出し、Multilineage-differentiating Stress Enduring (Muse) 細胞と命名して報告した。Muse 細胞は、ヒト多能性幹細胞マーカー-SSEA-3 で標識され、Nanog, Oct3/4, Sox2 などの多能性マーカーも発現する。自己複製能と一細胞から三胚葉性細胞へ分化する能力などを有する一方、ES 細胞や iPS 細胞とは異なり、生体由来の adult stem cell であるため腫瘍形成能を示さない特異な細胞である。生体に投与すると傷害部位に遊走し生着、組織に応じた細胞に分化することによって組織再生に寄与することが劇症肝炎、筋変性、皮膚損傷などにおいて分かっている。現在、ヒト真皮、骨髄に内在していることは証明されているが、他の間葉系組織にも内在している可能性がある。そこで、ヒト脂肪組織に注目し、成人ヒト皮下脂肪やヒト脂肪組織由来間葉系細胞から Muse 細胞の単離を試みた。FACS 解析の結果、細胞集団の中に SSEA-3 陽性細胞が内在していることが確認され、SSEA-3 陽性細胞のみが一細胞から細胞塊を形成した。形成された細胞塊は多能性幹細胞マーカーを発現し、一細胞から三胚葉性細胞へと自発的に分化でき自己複製能を有することが確認された。さらに、免疫不全マウス精巣内に移植し 6 ヶ月経過しても腫瘍化は認められなかったことから、ヒト脂肪組織由来間葉系細胞にも多能性幹細胞である Muse 細胞が内在していることが確認された。

## 12 ヒト生体内多能性幹細胞 Muse 細胞を用いた神経細胞への Direct conversion

村上 徹<sup>1</sup>、若尾 昌平<sup>1</sup>、出澤 真理<sup>1,2</sup>  
東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学分野<sup>1</sup>、人体構造学分野<sup>2</sup>

Pang らはヒト線維芽細胞に 4 つの遺伝子(Ascl1, Brn2, Myt1l, NeuroD1)を導入することで人工的に神経細胞(iN 細胞)を誘導できることを示した。この現象は iPS 細胞を経由しない分化転換、Direct conversion と呼ばれている。ヒト生体由来多能性幹細胞(Multilineage-differentiating Stress Enduring cell: Muse 細胞)は、ヒトの間葉系組織(皮膚・骨髄・脂肪組織等)に存在し、3 胚葉性の細胞への分化能を持つ細胞である。iN 細胞を誘導する際に線維芽細胞が用いられているが、ヒト線維芽細胞の中にも Muse 細胞が含まれていることが確認されている。本研究ではヒト iN 細胞誘導に必要な 4 つの遺伝子を、すでに多能性を有する Muse 細胞と Muse 細胞以外の細胞(non-Muse 細胞)に導入した際の挙動の違いを明らかにすることを目的としている。そこで、正常ヒト皮膚線維芽細胞に 4 つの遺伝子を導入したところ、神経様の形態を示し、qPCR で MAP2, Tuj-1, Sodium channel III  $\alpha$  といった神経細胞に特異的な mRNA の発現上昇が認められた。また、免疫細胞化学で MAP2, NeuN が検出されたことから、線維芽細胞から神経様の細胞が誘導されたことが示唆された。今後は線維芽細胞をフローサイトメトリーで Muse 細胞と non-Muse 細胞に分けて、同様の方法で誘導した場合に、誘導効率や神経としての成熟度に差があるかどうかを明らかにする予定である。

## 13 多様なコロニーからヒト iPS 細胞を選別するための形態的特徴と遺伝子発現

若尾昌平<sup>1</sup>、北田容章<sup>1</sup>、黒田康勝<sup>2</sup>、小椋文貴<sup>1</sup>、村上徹<sup>1</sup>、出澤真理<sup>1,2</sup>  
東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学<sup>1</sup>、人体構造学<sup>2</sup>

iPS cells は、体細胞に Oct3/4 や Sox2, Klf4、c-Myc といった転写因子を導入することで得られる多能性幹細胞である。iPS 細胞の作製過程において多様な形態を示すコロニーが多数出現するが、これらの中のごく一部のコロニーが ES 細胞様の形態を示し、このコロニーが iPS 細胞として樹立される。現在はこれらの多様なコロニーから iPS 細胞を選別する方法は、形態学的に ES 細胞様であることを指標に遂行されており、信頼性のある客観的なパラメーターは存在しない。本研究において我々は、ヒト成体皮膚由来線維芽細胞に山中 4 因子をそれぞれレトロウイルスベクターで導入するシステムと、ポリシストロニックベクターを用いて 4 因子が同時に発現するシステムの 2 つの手法を用いて遺伝子導入し、iPS 細胞誘導を試みた。遺伝子導入から 35 日後、出現した全てのコロニーについて形態的な特徴を 6 つのパラメーターを用いて解析すると、それぞれ iPS 細胞を含め 4 因子別々での導入で 7 つ、ポリシストロニックベクターで 6 つのサブタイプに分類することが可能であった。iPS 細胞を判断する上での必要条件は、核小体は一つで大型である、核/細胞質比が大きく(0.87 以上)、核/核小体比が小さい(2.19 以下)ことが示された。遺伝子発現においては、内在性の Oct3/4、Nanog といった多能性幹細胞マーカーの発現は iPS 細胞以外においても発現が見られること、内在性の Sox2 および Cdx2 の発現が信頼できるマーカーであることが新たに分かった。今回の結果は様々なコロニーの中から iPS 細胞を樹立するためには形態的特徴と複数のマーカーによって判別することが必要であることを示唆している。

## 14 MRL マウス胎子精巣における卵細胞形成過程の解析

○大塚沙織<sup>1</sup>、市居 修<sup>1</sup>、佐々木宣哉<sup>2</sup>、橋本善春<sup>3</sup>、遠藤大二<sup>4</sup>、昆 泰寛<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大・獣医解剖、<sup>2</sup>北大・獣医実験動物、<sup>3</sup>北大・獣医学教育改革室、<sup>4</sup>酪農大・放射線獣医学)

【背景】哺乳動物の生殖細胞の性分化は胎子期に雌性生殖細胞が減数分裂に移行する一方で、雄性生殖細胞が有糸分裂の G0/G1 期に停止することによって起こり、その結果、雌では卵のみが、雄では精子のみが産生される。しかしながら、我々は生後間もない MRL/MpJ (MRL) マウスの精巣精細管内に卵細胞を発見した(第 52 回日本解剖学会 東北・北海道連合支部学術集会)。今回は生殖細胞の性分化が始まる胎子期に着目し、MRL マウス胎子精巣内における卵形成過程を観察した。【材料と方法】MRL および C57BL/6 (B6) マウスの胎子生殖腺における減数分裂前期マーカー (Sycp3、Dmcl1)、卵細胞形成マーカー (Nobox)、ならびに顆粒層細胞マーカー (Foxl2) の発現を検証した。【結果と考察】MRL 精巣では E13.5 から Sycp3 が恒常的に、B6 でも E14.5 から 15.5 にかけて一過性に検出された。E18.5 の MRL 精巣では Dmcl1 と Nobox を共発現する細胞が観察された。MRL 精巣では、減数分裂移行細胞の周囲には Foxl2 陽性細胞が観察された。これらの雌性化細胞は、MRL マウス胎子精巣の頭側辺縁あるいは、中腎との結合部に局在していた。上記の所見から MRL マウス胎子精巣では、一部の生殖細胞が卵巣内卵細胞と同様に、減数分裂に移行して、卵形成過程を進行すし、卵細胞へと分化することがわかった。さらに、精巣内卵細胞形成過程は周囲体細胞の雌性化と関連することが示唆された。

## 15 精巣でのグルコース輸送体とモノカルボン酸輸送体の発現解析—生殖細胞の栄養源は何か

高橋理程、岩永ひろみ、岩永敏彦  
北海道大学 医学研究科 組織細胞学分野

細胞の主要な栄養源は、グルコースである場合と、乳酸・ビルビン酸などのモノカルボン酸である場合がある。どちらを使うかは、細胞の種類や分化度、環境などにより規定されると考えられる。本研究では、マウスとラットの精巣を用いて、in situ hybridization 法と免疫組織化学法で生殖細胞が何を栄養源としているかを調べた。精祖細胞は GLUT を発現していないが、MCT1 を選択的に発現していた。このことから、精祖細胞は栄養源をモノカルボン酸に頼っている可能性が高い。一方、一次精母細胞以降の生殖細胞は MCT1 の代わりに、GLUT3 を非常に強く発現していた。精祖細胞と一次精母細胞との間にはタイト結合による関門が存在するため、グルコースは血液からの単純な浸透によってもたらされるものではないと言える。曲精細管内の未熟な精子は尾部全体に GLUT3 を発現すると共に、主部に MCT2 を発現していた。一方、精管内の成熟精子では MCT2 の発現部位が主部から消え、完全に中節に移動していた。このことは、女性生殖器の内部ではグルコースよりも乳酸などのモノカルボン酸が豊富に存在するため、ミトコンドリアが集中する中節でのモノカルボン酸の強力な取り込みが要求されたためだと考えられる。

## 16 北極圏動物の星細胞系と生物多様性

今井克幸<sup>1</sup>、日崎喜弘<sup>1</sup>、三浦光隆<sup>1</sup>、森井真也子<sup>1</sup>、藤原陸憲<sup>2</sup>、妹尾春樹<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>秋田大学大学院医学系研究科細胞生物学講座、  
<sup>2</sup>日赤医療センター臨床病理部

ヒトをはじめとする哺乳類では、全身のビタミン A の 50-80% は、肝臓星細胞の細胞質に脂質滴の形で貯蔵されている。ところで、ホッキョクグマやホッキョクギツネ、シロカモメ、ヒゲアザラシなど北極圏の食物網の上位に位置する動物では、肝臓に大量のビタミン A が貯蔵されている。かつてホッキョクグマの肝臓を食べた極地探検隊員がビタミン A 中毒にかかった報告例がある。イヌイットは先祖からのタブーとしてホッキョクグマの肝臓は食べない。北極圏にあるスピッツベルゲンやグリーンランドで捕獲した野生動物の肝臓、および動物園で飼育されたホッキョクグマ肝臓には、大量のビタミン A を貯蔵している星細胞が存在した。このデータから北極圏の食物網の上位の動物は肝臓星細胞系に十分なビタミン A 貯蔵能があり、自身の身体がビタミン A 中毒に陥ることを防衛しているといえる。もし、肝臓星細胞系におけるビタミン A 貯蔵許容量が低ければ、これら動物は、北極圏の食物網の上位に位置することは困難である。星細胞系はビタミン A の貯蔵機能を最大限に発揮することで、その地域での食物連鎖(食物網)を成立させ、かつ北極圏にみられる生物多様性を維持している。

大久保 未花、平賀 武夫、○植田 弘美  
酪農学園大学獣医学類獣医解剖学

【目的】糖尿病に対する鍼治療の優れた有効性を実証し、さらにその作用機序を解析するため、ストレプトゾチン（STZ）により誘発した糖尿病ラットに鍼治療を施し、形態学的、生化学的に検索した。【材料と方法】6 週齢の Wistar 系ラットを用い、それらを STZ 50 mg/kg を腹腔内投与した糖尿病群と、生理的食塩水を投与した非糖尿病群に区分した。さらに糖尿病群を施術群と無処置群に分け、前者には糖尿病発症確認後（STZ 投与 48 時間後）直ちに鍼施術を施した。今回は中脘、天枢、気海、脾俞、三焦俞、腎俞の経穴を用い、1 週間に 2 回の割合で 1 ヶ月間（合計 8 回）の単施術を行った。実験終了後、血液、肝臓、脾臓、腎臓、骨格筋を採取し、血液は生化学的検査を、その他の臓器は固定法を施し、形態学的観察を行った。【結果】肝臓で顕著な相違が認められた。すなわち、無処置群では多くの肝細胞に大小様々な大きさの脂肪滴が多数認められたが、施術群では少数の肝細胞でのみみられた。PAS 反応を施すと、施術群では無処置群とは異なって強く染色され、肝細胞中にグリコーゲン顆粒が多数認められた。【考察】鍼施術を施すと、肝細胞中の多くの脂肪滴が減少する反面、グリコーゲン顆粒の蓄積が顕著に現れた。鍼施術による刺激は、東洋医学的経路である経絡を通して中枢神経系に伝達され、自律神経の失調を調整することで代謝障害を修復することが知られている。今回の結果が自律神経を介するものかは不明だが、鍼施術が肝機能を高めるものと推察され、糖尿病の改善の一助になっているものと思われる。

○竹花一成<sup>1)</sup>、美名口順<sup>1)</sup>、遠目塚千沙<sup>2)</sup>、楠畑雅<sup>2)</sup>、永易彩<sup>1)</sup>、  
沢谷里恵<sup>1)</sup>、志賀徹子<sup>1)</sup>、葛華江<sup>1)</sup>、原崇洋<sup>1)</sup>、小山洋一<sup>2)</sup>  
酪農学園大学獣医組織解剖<sup>1)</sup>、(株)ニッビ、バイオマトリックス研究所<sup>2)</sup>

[目的と方法] 多くの健康食品が開発されているが、その効果については十分な科学的な根拠に乏しいものが多い。コラーゲンは古くは爪への効果（Rosenberg e al., 1957）や髪への影響（Scala et al., 1976）が報告され、その後、骨密度への影響、アキレス腱の強化作用、コラーゲンの真皮への作用、関節痛の低減効果、皮膚の紫外線障害抑制効果、肌への体感効果、脂質代謝に対する影響など、科学的な解析が報告された。今回は既にコラーゲンペプチドの経口摂取により血中トリアシルグリセリドやVLDLの低下が報告（Saito et al. 2009）されている事より、マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1（培養系で脂肪細胞へと変化する系）において、過去に報告(Iwai et al., 2005)がある経口摂取したコラーゲンペプチドの主要な消化吸収成分であるプロリルヒドロキシプロリンが、前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化に及ぼす作用を調べた。[結果と考察] 分化した 3T3-L1 細胞中の脂質量はこれらの処理による影響を受けなかったが、脂肪滴のサイズがプロリルヒドロキシプロリン処理により有意に減少した。プロリルヒドロキシプロリンのようなオリゴペプチドを細胞内に取り込むペプチドトランスポーターPTPT1、PTPT2、PHT1、Ci1 の遺伝子は、未分化およびないし分化した 3T3-L1 細胞で発現していることが real-time PCR で確認された。これらの結果は、経口摂取したコラーゲンペプチドの消化吸収成分であるプロリルヒドロキシプロリンが、脂肪滴の融合を抑制し、脂肪細胞の機能を変化させる可能性を示唆している。

○米代 武司<sup>1</sup>、会田 さゆり<sup>2</sup>、松下 真美<sup>2</sup>、亀谷 利光<sup>3</sup>、河合 裕子<sup>3</sup>、斉藤 昌之<sup>2</sup>、岩永 敏彦<sup>1</sup>  
北海道大学 医学研究科 組織細胞学分野<sup>1</sup>、天使大学 看護栄養学研究科 栄養管理栄養専攻<sup>2</sup>、LSI札幌クリニック<sup>3</sup>

【背景】褐色脂肪（BAT）は代謝的熱産生の場として寒冷暴露時の体温維持や過食時の体脂肪量の制御に寄与している。最近我々は PET と X 線 CT を組み合わせた PET/CT と免疫組織化学を併用することにより、ヒト成人にも BAT が存在し、寒冷刺激が PET/CT における BAT 検出感度を大幅に向上させることを明らかにした。本研究では寒冷刺激を組み合わせた FDG-PET/CT を用い、ヒトにおける BAT の存在量について検討した。【方法】健康成人 162 名を対象として、室温 19℃で足部を冷却する寒冷刺激を 2 時間行った後に PET/CT を行ったところ、67 名で BAT が検出された。このうち 50 名を無作為に選択して PET/CT 画像を詳細に調べた。X 線透過度（CT 値）と FDG 取込み活性値（SUV）から BAT 領域を特定し、その体積と重量を算出した。【結果】BAT は鎖骨上部や傍脊柱部によく検出され、全身の BAT 体積の合計は 3.1~667.8 cm<sup>3</sup>であった。この体積に比重 0.9 を乗じて算出した組織重量は 125.2 ± 21.2 gであった。BAT 体積に男女差は認められなかった。BAT 体積と SUV との間には強い正の相関関係が認められた（ $r = 0.67$ 、 $p < 0.0001$ ）。【結論】健康なヒトの BAT 量が初めて明らかとなった。また、煩雑な画像解析により BAT 量を算出しなくとも、SUV を求めることで BAT の総量を推定可能であることが示された。

○小林 裕人、吉田 沙織、孫 英傑、白澤 信行、内藤 輝

山形大学医学部 解剖学第一講座

【目的】ラットの胃粘膜上皮の酵素 Aromatase により合成される多量の 17β-Estradiol は、門脈に分泌され、肝臓で機能維持に作用した後に代謝される。胃 Estrogen 合成と門脈に分泌される Estrogen 量の日内変動と、体循環 Estrogen 量の日内変動との関連性には不明な点は多い。本研究は胃 Estrogen 合成分泌の日内変動と肝臓 Estrogen 受容体 (ERα) との関連性を明らかにすることを目的とした。【材料と方法】自由摂食と自由飲水の照明 7:00-19:00 で飼育した 10 週令 Wistar 系雄ラットを、8:00 から 4 時間毎に組織採取した。門脈と動脈血中 17β-Estradiol 量の測定し、胃粘膜上皮 Aromatase と肝臓 ERα の遺伝子発現とタンパク質量を検討した。遺伝子発現は Real-time PCR を行い、8:00 の発現量を 1 として比較検討した。結果は、回帰分析を行って相関関係を調べた。【結果】1) 門脈血中 17β-Estradiol 量は 24:00 で最も高く、12:00 で最も低く、動脈血中 17β-Estradiol 量も同様の傾向を示す。2) 門脈と動脈血中 17β-Estradiol 量の日内変動には正の相関関係がある。3) 胃 Aromatase 遺伝子発現は 8:00 と比較して 20:00 と 24:00 で 2 倍以上に増加し、血中 17β-Estradiol 量と正の相関関係がある。4) 肝臓の ERα 遺伝子発現は 4:00 で最も低く、門脈血中 17β-Estradiol 量とは負の相関関係が認められる。【考察】胃の Estrogen 合成分泌と肝臓 ERα 発現の相反する日内変動は、門脈血中 17β-Estradiol 量に応じた動脈血中 17β-Estradiol 量の日内変動として反映されることが示された。本研究により、体循環血中 17β-Estradiol 量は「胃の合成分泌量」と「肝臓での消費」の各条件によって、日内変動を維持していることが明らかとなった。

○暮地本 由己、赤木 康司、渡部 剛  
旭川医科大学解剖学講座顕微解剖学分野

下垂体前葉性腺刺激ホルモン (LH/FSH) 産生細胞では、GnRH アゴニスト投与後初期にホルモン分泌が強く刺激されると、網工状の粗面小胞体塊が一過性に出現する。そこで今回私達は、飲水への PTU 付加あるいはサイロキシン (T4) 充填チューブ移植によりホルモン産生・分泌が持続的に促進あるいは抑制された TSH 産生細胞の微細構造を光顕および電顕免疫組織化学法で検討し、LH/FSH 産生細胞で見られた上記の変化と比較した。その結果、PTU 投与後初期には TSH 産生細胞で小胞体シャペロンであるカルネキシン<sup>1</sup>の発現が増強する所見が認められた。そこで同時期の TSH 産生細胞における粗面小胞体の微細構造を電顕で観察したところ、PTU 投与後初期の TSH 産生細胞では軽度で虚脱した粗面小胞体が観察されたが、網工状の粗面小胞体塊はほとんど認められなかった。また、粗面小胞体内腔は T4 充填チューブ移植後は徐々に虚脱するのに対し、PTU 投与後には徐々に拡張するのが観察された。さらに PTU 投与 4 週後には、TSH 産生細胞の粗面小胞体が強く拡張し一部で印環を形成するのに加え、去勢後の LH/FSH 産生細胞では見られない槽内顆粒が出現した。以上の結果から、TSH 産生細胞でも、LH/FSH 産生細胞と同様に、特異的な分泌刺激に応答して分泌経路上流でも微細構造変化が生じることが明らかになったが、このようなホルモン産生・分泌の促進刺激付加に伴う細胞内膜系小器官の変化は下垂体前葉内分泌細胞の種類により異なることが示唆された。

○渡部 剛<sup>1</sup>、暮地本 由己<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・生物資源科学部・応用生物科学科<sup>2</sup>

典型的な内分泌細胞である LH/FSH 細胞では、ゴルジ装置は全体として球状の配置をとり、その中心領域に、細胞周辺部に向かい放射状に分布する微小管の起点となる中心小体が位置している。今回我々は、この LH/FSH 細胞のゴルジ装置の高い空間対称性に着目し、コルヒチン腹腔投与によりゴルジ装置の微細構造や分子局在にどのような変化が生じるか、免疫組織化学および電顕観察で検討した。その結果、対照群では主にゴルジ装置 cis 側に局在していた p23 分子が、コルヒチン投与から 1 時間後には、細胞周辺部に散在するのが観察された。一方、ゴルジ装置 cis 側と trans 側にそれぞれ局在する GM130 分子と TGN38 分子は、この時点では対照群と同様に環状に配列して細胞内に局在していた。電顕観察では、内腔はやや虚脱しているものの、対照群と同様に積層し環状に配列したゴルジ層板が認められたが、p23 はゴルジ装置を離れ新たに細胞周辺部に出現した多数の空腔に局在していた。さらに、コルヒチン投与 8 時間後には、GM130 も TGN38 も細胞内に散在し、ゴルジ装置は著明に断片化した。以上の所見から、コルヒチンによる微小管の破壊により、ゴルジ装置に局在する p23、GM130、TGN38 分子のうち、まず p23 だけが細胞周辺部に出現した多数の空腔構造に移行し、その後、ゴルジ装置はその側方連続性を失い断片化することが明らかになった。この所見は、微小管および微小管依存性モーター蛋白が、少なくとも二つの異なる機構でゴルジ装置の大局的な構築の維持に関わることを示唆するものと思われた。



## 23 生後発達期マウスパイエル板 M 細胞 apical 側における Epidermal fatty acid binding protein (E-FABP/FABP5)発現

鈴木良地<sup>1</sup> 大和田祐二<sup>2</sup> 阿部寛<sup>1</sup>  
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<sup>1</sup>  
山口大学大学院医学系研究科 器官解剖学分野<sup>2</sup>

マウスパイエル板において Epidermal fatty acid binding protein (E-FABP/FABP5)は上皮内の M 細胞と上皮下の樹状細胞、杯中心のマクロファージに発現する。特に M 細胞における発現様式は腸管内抗原取り込みとの関連を示唆するものである。生後 16 日から 19 日の間に上皮内の E-FABP 発現最薄は激増する。この変化は腸内細菌叢の変化とビオチン標識 IgA の取り込み能に相関する。また、M 細胞内 E-FABP は apical 側に偏在するが、これを実現する共役タンパク質を E-FABP 抗体を用いた免疫沈降と質量分析により同定を試みた (第 117 回解剖学会総会)。

今回、生後発達期マウス M 細胞での E-FABP 発現変化と上記共役タンパク質の発現変化を検討した。下図に生後 16 日、19 日、8 週 C57BL/6 マウスパイエル板 M 細胞における E-FABP と Galectin4 二重染色の所見を示す。

おける染色様態と同様に apical 側の陽性反応が強くなる。8 週齢の所見と同様に apical 側の強陽性反応部位は Galectin4 陽性反応部位と一致した。

M 細胞の抗原取り込み能が成獣型になることと、apical 側における両者の共存が相関することが示せた。

## 24 ヒト大腸癌細胞株における Dipeptidase-1 の機能局在解析

○永井千晴<sup>1</sup>、植村武文<sup>2</sup>、山本雅哉<sup>2</sup>、澤田直樹<sup>2</sup>、竹之下誠一<sup>1</sup>、和栗聡<sup>2</sup>  
福島県立医科大学 医学部 器官制御外科学講座<sup>1</sup>  
福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座<sup>2</sup>

Dipeptidase-1 (DPEP1) は小腸や腎臓の刷子縁に局在する glycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカー型メタロプロテアーゼであり、近年は大腸癌のマーカーとして注目されている。本研究では DPEP1 の癌病態における機能を解明するために、DPEP1 を高発現するモデル培養細胞を開発し、同細胞における局在解析を行った。6 種類のヒト大腸癌由来細胞株 (Lovo, RKO, HT29, HCC56, SW480, CaCO2)、HeLa 細胞及び A549 細胞をウェスタンブロット法で解析したところ、HCC56 細胞において DPEP1 の発現量が顕著に高かった。3 日間培養した HCC56 細胞は培養ディッシュ上で島状に細胞塊を形成する。この条件下で蛍光抗体法による局在解析を行うと、apical 側や basolateral 側の細胞膜に沿って点状のシグナルが観察された。二重免疫蛍光法により、これら点状シグナルはラフトマーカーである caveolin-1 や flotillin-1 とはほとんど共局在せず、別の GPI アンカー型タンパク質である CD59 と高い共局在性を示した。包埋前金コロイド増感法を用いた免疫電子顕微鏡解析では、微絨毛を有する膜ドメイン及び平滑な細胞膜の特定部位にシグナルが集積した。これらの結果は、DPEP1 が GPI アンカー型タンパク質特異的な膜ドメインで作用することを示唆する。また、本培養条件下で観察された DPEP1 の細胞全周性局在は大腸癌の浸潤部位における局在と類似したことから、同細胞が癌の悪性化過程における DPEP1 の機能解析に有用であることを示唆する。

## 25 網膜におけるジアシルグリセロールキナーゼの発現局在解析

○八月朔日泰和、後藤 薫  
山形大学医学部解剖学第二講座

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は、プロテインキナーゼ C の活性化因子として知られる二次伝達物質ジアシルグリセロールをリン酸化し、フォスファチジン酸に変換する酵素である。本研究において我々は、ラット網膜における DGK アイソザイムの発現局在を、免疫組織化学染色法を用いて解析したので報告する。ラット網膜において、ノーザンブロット法にて mRNA シグナルが検出された DGK $\alpha$ 、DGK $\beta$ 、DGK $\zeta$ 、DGK $\iota$ および DGK $\epsilon$ について、特異抗体を用いてタンパクレベルで発現局在を詳細に検討した。DGK $\alpha$ については免疫反応が微弱であったため、TSA biotin system を用いてシグナル増幅を行った。DGK $\alpha$ は神経節細胞の核および樹状突起領域である内網状層に発現していた。DGK $\beta$ 免疫反応は神経節細胞の核と双極細胞の核および軸索に強く検出された。DGK $\beta$ および DGK $\iota$ は外網状層において強く、内顆粒層に比較的弱く発現が認められた。外網状層には光受容細胞と双極細胞または水平細胞との間に形成されるシナプスが集積するので、外網状層に樹状突起を有する双極細胞または水平細胞における DGK $\beta$ および DGK $\iota$ の発現局在を、各種マーカーとの多重染色により解析した。その結果、DGK $\beta$ は双極細胞と水平細胞の両者に局在することが明らかとなったが、DGK $\iota$ は双極細胞にのみ発現し、水平細胞における免疫反応は検出限界以下であった。一方 DGK $\epsilon$ 免疫反応は内顆粒層において外境界膜とほぼ一致して検出され、外網状層、内顆粒層および内網状層には微細な粒子状に弱く認められるのみであった。以上の結果より、DGK アイソザイムは網膜において特徴的な発現局在を示すことが明らかになった。特に、DGK アイソザイムのうち DGK $\beta$ と DGK $\iota$ は光受容細胞と双極細胞間のシナプス領域に局在し、両細胞間のシグナル伝達に関与する可能性が示唆された。さらに近年、哺乳類の網膜光情報伝達機構に、イノシトールリ脂質シグナル伝達系が関与していることが報告されており、とりわけ DGK アイソザイムの中で DGK $\epsilon$ が視細胞における光受容機構に関与している可能性が考えられた。

## 26 イプシロン型 DGK の細胞内局在解析

○松井 祐興、後藤 薫

山形大学 医学部 第二解剖

イプシロン型 DGK (DGK $\epsilon$ ) は、DGK アイソザイムの中で唯一ステアリン酸／アラキドン酸含有 DG に特異性を示し、脳において灰白質に特に強い発現を示す特徴を有する。DGK $\epsilon$  は細胞内で小胞体に局在することが報告されているが、DGK $\epsilon$  の局在決定部位は不明である。本研究では、種々の欠失変異体を用いて DGK $\epsilon$  の細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡にて検討した。野生型 DGK $\epsilon$ 、DGK $\epsilon$  (1-180)、DGK $\epsilon$  (1-55)、DGK $\epsilon$  (1-112)、DGK $\epsilon$ -KD は小胞体マーカーである calreticulin との共局在を示すが、DGK $\epsilon$  (56-112)、DGK $\epsilon$  (113-180)、DGK $\epsilon$  (181-567)、DGK $\epsilon$  (56-567) は細胞全体にびまん性の局在を呈した。よって、DGK $\epsilon$  の小胞体局在化は N 端側 55 アミノ酸領域により制御されており、酵素活性には依存しないことが示された。さらに、DGK $\epsilon$  の N 端側 20 から 40 番目は疎水性アミノ酸に富むことから、この領域が小胞体移行シグナルとして機能することが示唆された。

## 27 DGK $\zeta$ 結合タンパク NAP は DGK $\zeta$ を細胞質へ移行させ、p53 を介して細胞死を抑制する

○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) はプロテインキナーゼ C 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細胞死のシグナル伝達への関与が注目されている。これまで我々は、DGK アイソザイムのうち核移行シグナルを有する  $\zeta$  型 DGK が核内に局在すること、そしてラット脳虚血実験において、海馬錐体ニューロンの核内から細胞質へ移行しアポトーシスの初期過程に関与する可能性があることを報告してきた。

HeLa 細胞を DNA 損傷因子である Doxorubicin で処理すると p53 タンパクが核内に増加し細胞死が誘導されるが、我々は、核移行シグナルを欠失した細胞質型 DGK $\zeta$  の遺伝子導入によって p53 は細胞質優位となり、またそのタンパク発現誘導が強力に抑制されることを明らかにした。このタンパク発現誘導の抑制は、プロテアソーム阻害剤 MG132 の添加により消失することから、p53 の発現抑制はユビキチン-プロテアソーム系を介するタンパク分解系の促進によると考えられた。今回、我々は DGK $\zeta$  結合タンパクとして同定した nucleosome assembly protein 1 like 1 および like 4 が DGK $\zeta$  を核から細胞質へ移行させること、そして nucleosome assembly protein 1 like 1 および like 4 の過剰発現は HeLa 細胞の DNA 損傷モデルにおいて、p53 の発現制御を介して細胞死を抑制することを明らかにした。この時、NAP の細胞保護作用は、DGK $\zeta$  のノックダウンにより消失することから、DGK $\zeta$  の細胞質移行を介するものであると考えられた。

## 28 血管内皮細胞における $\gamma$ 型ジアシルグリセロールキナーゼの発現

中野 知之、後藤 薫・山形大学医学部解剖学第二講座

DGK の基質であるジアシルグリセロールと反応産物であるフォスファチジン酸は情報伝達分子としての機能する。よって、DGK は細胞内情報伝達系においてハブ的な役割を果たす分子であると考えられている。本研究ではラット大動脈血管内皮細胞における DGK $\gamma$  と誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の mRNA およびタンパク発現を RT-PCR 法、ウェスタンブロット法および免疫細胞化学法により解析した。内皮細胞において、DGK $\gamma$  免疫陽性反応は細胞質にチューブ様網状構造として検出された。GM130 および Golgin97 抗体との二重染色の結果、この構造がゴルジ体であり、DGK $\gamma$  は主に cis 側に局在することが明らかとなった。ゴルジ体形成阻害剤であるブレフェルディン A 処理の結果、DGK $\gamma$  免疫陽性反応は凝集塊様構造として検出され、ゴルジ体マーカーとの共局在は消失した。一方、微小管形成阻害剤であるノコダゾール処理によってゴルジ体は分断化されたが、DGK $\gamma$  免疫陽性反応は依然としてゴルジ体マーカーと一致して検出された。また DGK $\gamma$  mRNA 発現は IL-1 $\beta$  刺激により増強し、この発現増強は p38 MAP キナーゼ阻害剤である SB203580 によって抑制された。同様に IL-1 $\beta$  により発現が誘導される iNOS は DGK $\gamma$  と一致してゴルジ体に局在し、その発現は DGK 阻害剤、R59949 および R59022 によって抑制された。以上の結果から、血管内皮細胞において、DGK $\gamma$  はゴルジ体に局在し、その発現は IL-1 $\beta$  / p38 MAP キナーゼ経路を介して誘導され、iNOS 発現を調節する可能性が示唆された。

29 実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルを用いた脱髄および軸索の形態学的解析

○板東良雄<sup>1</sup>、野村太一<sup>1</sup>、暮地本宙巳<sup>2</sup>、渡辺剛<sup>2</sup>、吉田成孝<sup>1</sup>  
旭川医科大学 解剖学講座 機能形態学分野<sup>1</sup>、解剖学講座 顕微解剖学分野<sup>2</sup>

多発性硬化症は中枢神経系における炎症性脱髄性疾患であり、脱髄および軸索変性によって種々の神経症状が出現すると考えられている。しかしながら、脱髄の機序については未だ不明な点も多い。そこで本研究では、多発性硬化症の動物モデルとして確立されている実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE)モデルを用いて、髄鞘および軸索の形態学的変化について形態学的に解析した。

C57BL/6 雌マウス(6-8 週齢)にミエリン構成蛋白の一つである Myelin oligodendrocyte glycoprotein 35-55 (MOG35-55)をアジュバンドとともに皮下に免疫することによって EAE を誘導した後、脊髄を経時的に採取した。正常ならびに EAE 発症時における脊髄をオスミウム浸軟法により処理し、走査型電子顕微鏡を用いて髄鞘や軸索を観察したところ、コンパクトな髄鞘構造を保持したまま軸索から離れる髄鞘や髄鞘過形成などの形態学的変化が認められた。また、このような異常な髄鞘構造は EAE 発症とともに経時的に増加する傾向にあった。さらには軸索内の細胞内小器官の構造にも変化が認められた。

以上のことから、髄鞘の変性に伴う髄鞘および軸索の劇的な形態変化が EAE によって誘導される脱髄ならびに軸索変性に関与している可能性が示唆された。

30 ラット頸動脈小体における小胞性グルタミン酸トランスポーター陽性神経終末

○横山拓矢<sup>1,2</sup>、山田美鈴<sup>1,2</sup>、山本欣郎<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>岩手大学・農学部・獣医細胞システム学研究室、<sup>2</sup>岐阜大学大学院・連合獣医学研究科・基礎獣医学講座

【目的】頸動脈小体 (CB) の化学受容細胞にはNMDA受容体の発現が報告されており、グルタミン酸がCBの化学受容活性を増強している可能性がある。本研究では、グルタミン酸によるシグナル伝達の指標となる小胞性グルタミン酸トランスポーター (vGLUT) のCBにおける組織学的分布を探索し、グルタミン酸による調節機構について考察した。【方法】WistarラットのCB切片を作製後、vGLUT1、vGLUT2 を用いて免疫組織化学を行った。また、vGLUTとチロシン水酸化酵素 (TH)、グリア線維性酸性蛋白 (GFAP)、P2X<sub>3</sub>型ATP受容体、ドパミンβ-水酸化酵素 (DBH)、小胞性AChトランスポーター (vAChT) との共存を検討した。【結果】CBにおけるvGLUT1 陽性反応は明らかではなかったが、TH陽性の化学受容細胞およびGFAP陽性の支持細胞の周囲にvGLUT2 陽性反応が観察された。化学受容細胞あるいは支持細胞にvGLUT2 陽性反応は認められなかった。感覚神経終末への発現が示唆されているP2X<sub>3</sub>型ATP受容体との二重染色では、P2X<sub>3</sub>陽性神経終末の化学受容細胞との接触面にvGLUT2 陽性反応が認められた。一方で、DBH陽性神経およびvAChT陽性神経にvGLUT2 陽性反応は観察されなかった。【考察】化学受容細胞を取り囲む感覚神経終末にvGLUT2 が分布していることが示唆された。感覚神経終末はグルタミン酸を放出して化学受容細胞の活性を調節している可能性がある。

31 脳におけるK<sub>ATP</sub> チャネルの調節サブユニット SUR2A と SUR2B の局在

○周 明、阿部 寛  
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

ATP感受性K<sup>+</sup> (K<sub>ATP</sub>) チャネルは、細胞内ATP濃度またはATP/ADPの比の上昇に敏感に反応しチャネルを閉じる。逆に細胞内ATPが減少すると活性化される。このチャネルは、K<sup>+</sup>イオンが通過するポア分子Kir6.x (Kir6.1, Kir6.2)とATPと結合する調節分子SURs (SUR1, SUR2A, SUR2B) からなり、8 量体を構成して機能する。このうちSUR2A とSUR2BはC末端の 42 個のアミノ酸のみ配列が異なる。我々は、RT-PCR、western blot、in situ hybridization、免疫染色法によりラット脳におけるSUR2AとSUR2Bの発現局在を精査した。またGFAPとCNPaseに対する抗体を用いて、SUR2AあるいはSUR2Bとの共存を蛍光二重染色法により観察した。

その結果、SUR2A と SUR2B では脳内の局在が明確に異なっていた。SUR2A は広い範囲で神経細胞に、特に大型神経細胞と樹状突起に発現した。例えば大脳皮質と海馬の錐体細胞や小脳皮質の Purkinje 細胞などにおいて、SUR2A は中等度以上の強度で観察された。一方 SUR2B では反応が弱く、樹状突起の陽性反応も観察されなかった。これまで報告した Kir6.x の局在と比較すると、ニューロンでは主に SUR2A と Kir6.1、Kir6.2 がチャネルを構成する可能性が高いと考えられた。ただし橋と延髄の神経細胞においては SUR2A と SUR2B が両者とも観察された。脳梁、小脳白質において SUR2A はオリゴデンドロサイトのみに発現し、SUR2B はアストロサイトとオリゴデンドロサイトの両者に発現していた。これらの発現局在の相違は二つのサブユニットの機能の相違の解析に有益であると考えられる。

32 ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの脳における非ヘム二価及び三価鉄局在

目黒玲子、小田桐紗織、谷利樹、浅野義哉、下田浩  
弘前大学大学院医学研究科

(目的) 鉄は、脳の様々な酵素の補因子として働いているが、細胞傷害性の強いヒドロキシラジカル生成にも関与するため、脳の鉄取り込みは血液脳関門により制御されている。今回、毛細血管の老化が脳の鉄蓄積に及ぼす影響を調べるため、細胞老化の促進因子である高血糖において、ラット脳の鉄局在を観察した。

(材料と方法) Wistar ラットにストレプトゾトシン (50 mg/kg)を腹腔内投与し高血糖ラット(血糖値 300 mg/dL 以上)を作製した。対照ラットはクエン酸緩衝液を投与した。2-3 ヶ月後、脳を摘出し、組織化学染色により二価鉄(灌流Turnbull 法)、三価鉄(Perls 染色)、老化細胞を観察した。

(結果) 高血糖ラット脳は対照ラット脳よりも、二価鉄と三価鉄陽性の毛細血管が多かった。特に血管内皮細胞のサイトゾルの鉄含有の増加が電顕観察で確認された。老化陽性細胞は高血糖ラット脳に多く、主に毛細血管に分布していた。

(まとめ) 高血糖はラット脳の毛細血管内皮細胞に、特異的に二価鉄と三価鉄の蓄積を引き起こした。高血糖による内皮細胞の老化は、内皮細胞の鉄含有を増大させ、その結果、内皮細胞の傷害・老化が加速され血液脳関門の機能低下に関与すると推測される。

33 マーモセット上側頭溝周辺領域におけるバイオロジカルモーション刺激反応部位の同定と神経線維連絡の探索

谷利樹<sup>1</sup>、境和久<sup>2</sup>、鈴木航<sup>2</sup>、坂野拓<sup>2</sup>、宮川尚久<sup>2</sup>、外崎敬和<sup>1</sup>、下田浩<sup>1</sup>、戸紀孝<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>1</sup>  
国立精神・神経医療研究センター微細構造研究部<sup>2</sup>

動物またはヒトの関節部分の動きを光点で表し、それらの光点の協調的な動きから、動物またはヒトの運動を想起させるバイオロジカルモーション刺激の知覚は他個体の認知に深くかかわっていると考えられる。先行研究からヒトやマカクザルにおける、バイオロジカルモーション刺激に应答する大脳皮質領域は上側頭溝内及び、その周辺領域であることが報告されている。しかし、ヒトやマカクザルでは上側頭溝が深く、その周辺の領域の構造が複雑であるためバイオロジカルモーション知覚に関わる詳細な神経メカニズムの解明は難しい。一方、視覚系がよく発達した小型の霊長類マーモセットは大脳皮質に溝が極めて少なく、ほとんどの大脳皮質領域が脳表面に露出しているため、上側頭溝周辺の神経活動と神経線維連絡を詳細に調べるのに適している。そこで我々はマーモセットを用いてバイオロジカルモーション刺激反応領部位の同定とその神経線維連絡の探索を行なった。バイオロジカルモーション刺激に選択的な反応を示す領域を上側頭溝尾側部に見出し、その領域に逆行性の蛍光トレーサー (コレラトキシン B-subunit Alexa 555) を注入し神経線維連絡を調べたところ、腹側の視覚野、体性感覚野、頭頂野運動系からの線維連絡が確認された。この結果からバイオロジカルモーション刺激から得られた体の形状と運動の情報が上側頭溝尾側部に集まっていることが示唆された。

34 マウス外側膝状体におけるグルタミン酸受容体 GluD1 の局在解析

西川晃司、今野幸太郎、渡辺雅彦  
北海道大学大学院医学研究科解剖発生学分野

グルタミン酸受容体 GluD1 は、アミノ酸配列の相同性からイオンチャネル型グルタミン酸受容体に分類されるが、長い間リガンドが不明なオーファン受容体の 1 つであった。最近 GluD1 のリガンドが Clq ファミリーである Clbn1-4 であることが判明したが、GluD1 自体の脳における発現局在や生理学的意義はいまだ不明である。本研究ではマウス脳の外側膝状体に着目し、光顕および電顕レベルでの局在解析を行った。外側膝状体には網膜および一次視覚野からの密な投射があり、それぞれ網膜・膝状体 (RG) シナプス、皮質・膝状体 (CG) シナプスを形成している。蛍光抗体法を用いて検討した結果、外側膝状体において 2 型小胞膜性グルタミン酸トランスポーター (VGluT2) 陽性の網膜由来終末と GluD1 との近接が認められた。一方、VGluT1 陽性の皮質由来終末との近接は認められなかった。さらに VGluT2 と GluD1 との 2 重包埋後免疫電顕法を用いて検討した結果、GluD1 は VGluT2 陽性終末の非対称性シナプスのシナプス後膜に局在が認められた。以上の結果より、外側膝状体において GluD1 は RG シナプスの後部に局在することが明らかとなった



## 35 ドーパミンは背外側線条体においてシナプス伝達とボリウム伝達の中間的伝達様式を示す

内ヶ島基政 渡辺雅彦  
北海道大学大学院医学研究科解剖学講座解剖発生学分野

線条体では黒質ドーパミンニューロンからの投射線維によっていわゆるドーパミンシナプスが形成される。通常、シナプスでは神経伝達物質の放出部位と受容体が向かい合うが、ドーパミンシナプスにおいてそのような配置を伴うかは不明である。本研究はこの問題点を検討するため、マウス背外側線条体ドーパミンシナプスにおける免疫組織化学的解析を行った。ドーパミン終末は投射型ニューロンである中型有棘ニューロンの樹状突起およびスバインと高頻度にドーパミンシナプスを形成した。神経伝達物質の放出部位を構成するアクティブゾーン関連タンパクの1つであるCASTは、グルタミン酸およびGABAシナプスと同様、ドーパミンシナプスの前シナプス膜近傍に集積が認められた。一方、線条体で豊富な発現を示すドーパミン受容体D1RおよびD2Rの免疫反応は中型有棘ニューロンの樹状突起と細胞体に認められ、D2Rはドーパミンおよびアセチルコリン終末でも検出された。中型有棘ニューロンに着目して包埋前および包埋後免疫電子顕微鏡法を行ったところ、D1RとD2Rはポストシナプス側となるスバイン、樹状突起、細胞体の細胞表面に幅広く分布し、その分布密度はどちらも樹状突起>スバイン>細胞体であった。しかし、どちらの受容体もドーパミンシナプスへの集積は認められなかった。以上の結果から、ドーパミンシナプスは線条体ニューロン上にドーパミン放出機構を集約化させるが受容体の集積を伴わない、いわば“ヘミシナプス”の性質を有していると考えられ、ドーパミンはシナプス伝達とボリウム伝達の中間的な伝達様式をとることが示唆される。

## 36 孤東核においてコレシストキニンA受容体は迷走神経下神経節由来のグルタミン酸作動性神経終末のシナプス外膜に局在する

○今野幸太郎<sup>1)</sup>、岩永敏彦<sup>2)</sup>、渡辺雅彦<sup>3)</sup>  
北海道大学医学研究科 解剖発生学分野<sup>1)</sup>、組織細胞学分野<sup>2)</sup>  
コレシストキニンA受容体(Cholecystokinin A receptor: CCK-AR)は主要なCCK受容体として知られている。CCK-AR mRNAは、迷走神経下神経節に発現し、その投射先である孤東核にはCCKに対するbinding siteが存在することが報告されている。しかし、孤東核におけるCCK-ARの局在は不明である。今回、我々は蛍光 *in situ* hybridization 法による細胞発現、CCK-ARに対する特異的抗体を作製し孤東核における局在を蛍光抗体法および免疫電顕法を用いて細胞内局在を検討した。蛍光抗体法では、CCK-ARの免疫反応は孤東核の最後野に近接する領域に限局して網状に認められた。CCK-ARの反応が認められた孤東核領域は、Evans Blueを全身投与した際に血液脳関門を欠如する最後野から漏出して広がった領域と一致した。CCK-ARの免疫反応は、グルタミン酸作動性終末のマーカーである2型小胞性グルタミン酸トランスポーター(VGLUT2)と一致し、他の終末マーカーとは一致しなかった。包埋前免疫電顕法を用いて軸索終末におけるCCK-ARの局在を解析した結果、CCK-ARの免疫反応は神経終末のシナプス外膜に認められた。迷走神経下神経節において二重蛍光 *in situ* hybridizationを行った結果、CCK-AR mRNA発現細胞は全てVGLUT2 mRNAの共発現が認められた。次に、孤東核におけるCCK-AR陽性終末が迷走神経下神経節由来であるかどうかを確認する目的で、逆行性および順行性トレーサーであるコレラトキシンBサブユニットを胃壁へ投与した。迷走神経下神経節では逆行性に標識された細胞体が認められ、この細胞体はCCK-AR/VGLUT2共陽性であった。孤東核ではトレーサーはCCK-AR陽性の軸索終末に認められた。さらに、迷走神経下神経節を切除することで孤東核におけるCCK-AR陽性終末が著明に減少することも確認した。以上の結果より、孤東核におけるCCK-ARは消化管に投射する迷走神経下神経節由来のグルタミン酸作動性ニューロンの軸索終末に局在し、最後野から漏出してきたCCKによって活性化される可能性が示唆された。

## 37 弥生時代相当期の日本列島および韓半島南部における頭蓋顔面形態の親和性 ― 三次元データからの検討 ―

○大野 憲五<sup>1)</sup>、川久保 善智<sup>2)</sup>

東北大学医学系研究科人体構造学分野<sup>1)</sup>、佐賀大学医学系研究科生体構造機能学講座解剖学・人類学分野<sup>2)</sup>

本研究では三次元幾何学的形態測定学を用いて日本列島と韓半島南部から出土した古人骨の顔面骨格形態を比較解析した。分析には渡来系弥生人と呼ばれる北部九州弥生人(18例)と山口弥生人(10例)、韓国の勒島遺跡(6例)・禮安里遺跡(4例)出土の人骨、および日本列島の様々な地域縄文時代人骨(15例)の成人男性頭蓋を用いた。まず三次元計測器で眼窩や梨状孔周辺の標識点27箇所の座標を計測した。次に、一般化プロクラステス分析に基づいて全個体の標識点セットの位置や向きを揃えた後、主成分分析を行った。

分析の結果、主成分得点は、おおむね縄文集団とそれ以外の集団に分かれ、渡来系集団と韓国集団は基本的には同質であり、二重構造モデルを補強していることが示唆された。韓国集団には眼窩が高い個体が多く認められ、この特徴は渡来系弥生人と地域差を表している可能性もあるが、韓国集団のサンプル数の少なさによるバイアスも考慮する必要がある。韓国の禮安里41号だけは縄文集団の近くにプロットされた。禮安里41号は縄文時代人の特徴のひとつである突出した鼻骨や眉間、深く落ち窪んだ鼻根部は有していないものの、低顔や低眼窩といった縄文時代人と共通する特徴が認められた。対馬海峡を挟んで西日本と向かい合う韓半島南部には、様々な交流の中で縄文的な身体的特徴を持った人々も住んでいた可能性があるが、韓国の古人骨資料はまだ少なく、今後の発掘や更なる調査が必要である。

## 38 A practical learning program of nerves in the upper and lower limbs using electrical stimulation

Mitsuhiro Nito, Wataru Hashizume, Saori Yoshida, Hiroto Kobayashi, Ying-Jie Sun, Nobuyuki Shirasawa, Akira Naito  
Department of Anatomy and Structural Science, Yamagata University School of Medicine

In order to make medical students understand nerves in the human limbs, we have been providing a practical learning program using electrical stimulation to the nerves of the students since 2003. For electrical stimulation, rectangular pulses (width: 0.2 ms, amplitude: 20-60 V, frequency: 2 and 20 Hz for the upper limb, 2 Hz for the lower limb) are delivered with bipolar surface electrodes. In the upper limb, the median nerve is stimulated at the place 2-3 cm proximal to the distal end of the medial intermuscular septum of the arm and the hollow between the distal tendons of the palmaris longus and flexor carpi radialis, the ulnar nerve is at the groove for the ulnar nerve of the humerus and the place ulnar to the distal tendon of the flexor carpi ulnaris, and the radial nerve is at the boundary between muscle bellies of the extensor digitorum and extensor carpi radialis brevis. In the lower limb, the tibial nerve is stimulated at the center of the popliteal fossa and the place posterior and inferior to the medial malleolus and the deep peroneal nerve is at the head of fibula and the place lateral to the distal tendon of the extensor hallucis longus.

In 2012, we conducted a questionnaire on the program with our Anatomy class students. More than 75% of the students answered that the program was helpful to understand muscles and areas of cutaneous sensation innervated by the nerves and paths and paralyses of the nerves and gave them an incentive to dissect the limbs. The results elicited our motivation to continue the program.

## 39 Thiel 法固定遺体を用いた腹腔鏡下鼠径ヘルニア手術手技の研究

川原田陽<sup>1)</sup>、藤宮峯子<sup>2)</sup>、才川大介<sup>3)</sup>、奥芝俊一<sup>1)</sup>、小野田貴信<sup>1)</sup>、山本和幸<sup>1)</sup>  
岩城久留美<sup>1)</sup>、鈴木善法<sup>1)</sup>、北城秀司<sup>1)</sup>、加藤絃之<sup>1)</sup>  
KKR斗南病院 外科<sup>1)</sup>、札幌医科大学 解剖学第二講座<sup>2)</sup>、広城紋別病院 外科<sup>3)</sup>

腹腔鏡、胸腔鏡等による内視鏡外科手術は、その整容性、低侵襲性といったメリットのみならず、拡大視効果により微細な解剖構造レベルでの手術が可能となり、あらゆる手術において導入されている。しかしながら、高度な技術の習得が必要であることが、その普及の妨げとなっている。内視鏡外科手術の教育にあたって重要な点は、①鏡視下手術手技の習熟 ②鏡視下での解剖の十分な理解である。①についてはドライラボやシミュレーター、アニマルラボなどを用いたトレーニングが行われている。一方②の解剖の理解に関しては、教科書だけではなかなか解剖構造をイメージすることは難しく、Cadaverを用いた学習が最も有効とされる。Cadaverは通常手術では見ることのできない深部の解剖を確認しながら手術をシミュレーションできる点で有用である。Thiel 法固定によるCadaverは生体に近い柔らかさが保たれており、通常手術のように気腹を行うことが可能である。感染の心配もなく、ヨーロッパでは既に腹腔鏡手術のトレーニングに用いられている。腹腔鏡下鼠径ヘルニア手術においては、鼠径部腹壁の層構造を認識して手術を行うことが重要であるが、その点でThiel 法Cadaverは腹壁の層構造が良好に保たれているため、腹腔鏡下の解剖を理解するのに有用であり、手術手技のレベルアップにも適していることが判明した。今後さらに取り入れて、内視鏡下手術のトレーニングに活用していきたいと考える。

## 40 献体を使った医療技術研修(その10):現在、過去、未来

○辰巳治之<sup>1)</sup>、藤宮峯子<sup>2)</sup>、鈴木大輔<sup>2)</sup>、安宅弘司<sup>2)</sup>、永石歓和<sup>2)</sup>、松村博文<sup>2)</sup>  
内山英一<sup>3)</sup>、二宮孝文<sup>1)</sup>、市川量一<sup>1)</sup>、新見隆彦<sup>1)</sup>、菊池真<sup>1)</sup>  
札幌医科大学 医学部 解剖学第一講座<sup>1)</sup>、解剖学第二講座<sup>2)</sup>  
同大学 保健医療学部 理学療法学科 基礎理学療法学講座<sup>3)</sup>  
2002年、患者を手術の練習台にして死亡させたとして、刑事事件に発展した慈恵医大青戸病院事件を契機として、村上氏が当大学で始めた「献体を使った医療技術研修」は、当初、種々の誤解や抵抗もあり挫折しかけたが、それを引き継ぎ10年目にして、そのガイドラインが外科学会及び解剖学会総会でも承認され、今年度、厚生労働省から「平成24年度実践的な手術手技向上研修事業実施団体」の公募があった。これにより解剖学教室も医学・医療・社会に対しさらに貢献できるようになった。今後、国民を巻き込んだ安全、安心、そして安価な医療の提供には、まだまだ、大きな関門が待ち構えている。今年度は、ある程度予算化されたが、これは一時的なもので、この仕事をいつまでも解剖学教室が担うことには限界がある。さらに医学において、良い研究をし、良い医療を提供しようとする、動物だけでなく人体を使った研究・開発が必須のものとなる。今後、あらゆる人体のデータを無駄なく安価に集め、研究開発の為に自由に再利用できる枠組みが、ますます必要になる。同意および倫理面をクリアすることはもちろんのことであるが、人類の公共の福祉増進の為に、日本人特有の心の壁を乗り越え、研究の立場から社会貢献するためにも「人体の細胞、組織、諸データ利用に関する法律」という「情報業」があれば、さらなる飛躍が望まれるものと考えている。