

日本解剖学会

第69回九州支部学術集会

会期：平成25年11月2日（土）
会場：鹿児島大学・鶴陵会館

特1 細胞内におけるタンパク質相互作用の形態学的解析

森本景之

産業医科大学 医学部 第2解剖学講座

ゲノム DNA の塩基配列読解が終了した現在、遺伝子情報によって作り出されたタンパク質がタンパク質間相互作用や翻訳後修飾によって、多彩な機能を発揮するメカニズムを解析することは非常に重要である。免疫沈降法やリコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* 結合実験等の生化学的手法によって、他分子との協調やユビキチン化等のタンパク質結合修飾によるタンパク質の機能調節が解析されてきた。しかし、それらの解析手法ではタンパク質の相互作用や翻訳後修飾が生じる細胞内の位置情報は無視され、また、抗体の性質や *in vitro* における結合が生理的状況を反映するの否か等の問題も指摘されている。そこで我々は、生細胞内で形態学的にタンパク質相互作用を検出する方法として、分割蛍光 (Bimolecular Fluorescence Complementation, BiFC) 法を用いた。BiFC 法は2つの分子が結合すると、それらを標識する2分割された蛍光タンパク質も再会合し、励起によって蛍光を発することを利用し、タンパク質結合の有無を検出する方法である。BiFC 法は、類似の方法である FRET 法と比較してバックグラウンドが低い、分割蛍光タンパク質のため付加による影響が小さい、一般的な蛍光顕微鏡で検出可能等の利点がある。

本講演では、BiFC 法が有するタンパク質の機能を形態学的に解析する能力とさらなる可能性についてご紹介したい。

特2 肉眼解剖学における謎解きの愉しさ

児玉公道

九州中央リハビリテーション学院院長、熊本大学名誉教授

「肉眼解剖学」というのは「解剖する」という手法が、そのまま学問の名前になってしまったため、数百年以上に渡って続いている「解剖」によって、「もう解剖し尽くして、何も新しいことはないのではないか？」という意見があります。確かに人体の構造の中で「新発見」は、ほとんど期待薄であります。すなわち先人たちの目をすり抜けてきた稀有な例を破格例として報告したり、統計的に出現率が何パーセントであるという「肉眼解剖学」はほとんど終りにきていと言えましょう。

では「肉眼解剖学の未来はなにか？」という問いに対して、私は、人体を生命の起源から解き起こしていくという視点に立て、つまり個体発生学と系統発生学を土台として、地球上に現存する生物、特に脊椎動物の比較形態学的解明を通して、人体構造の成り立ちを解き明かすことが、これからの肉眼解剖学の進むべき道であろうと考えております。地球上の動物の中で、人体ほど多数例をより詳細に解剖されてきた動物はおりません。このように、人体の地図を作ってきた先人の学問的成果に踏まえ、私たちは人体の歴史・人体構造の成り立ちや、形態の持つ必然性を明らかにしていこうとしました。

私は、解剖学実習で観察する、末梢神経・筋肉・血管・内臓など、肉眼あるいは実体顕微鏡下で見えるものを全てを研究対象にしています。

本日の九州支部学術集会では、若手解剖学者の先生が、教育義務として実践されている、「解剖学実習」を少しでも興味を持って積極的に取り組んでいただく為に、私の実習への姿勢と、実習体からどのような事を学んだかを、私が取り組んできたいくつかの研究内容を御紹介して、少しでも「肉眼解剖学研究」に理解をしていただけたら、と願いながらお話をさせていただきます。

1 腎臓内部における動脈および腎杯の形態学的観察 —安全な腎生検のための解剖学的考察—

志方真妃¹、佐伯和信²、分部哲秋²・岡本圭史²、真鍋義孝³、弦本敏行²

¹長崎大・医学部4年生、

²長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・生命医科学講座・肉眼形態学分野、

³長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・生命医科学講座・顎顔面解剖学分野

【目的】腎生検を安全に施行するためには、腎臓内部構造の理解は重要である。本研究は、腎臓における腎杯と動脈枝の形態学的分類や位置関係を明らかにすることを目的とした。【対象と方法】解剖実習体8体の計12例(右8例、左4例)の腎臓を対象に、(1)腎杯形態の分類(Fine, 1966)、(2)動脈分岐型の分類(Shoja, 2008)、(3)小腎杯と動脈枝の数の関係、(4)腎区画ごとの動脈分布状態について剖割、解析した。【結果】腎杯の形態、動脈分岐型の分類に関しては、過去の報告とはやや異なる割合を示した。動脈枝の数と小腎杯数の間には有意な相関が認められた。腎臓4区画の動脈分布は、上区においては前枝・後枝に分かれて分布している例がほとんどであった。下区においては前枝からのみ栄養されている例が75%と高率であった。前区においては上前区動脈と下前区動脈の分布は腎杯の分布に一致していたが、その走行にはばらつきがあった。後区の動脈は腎盂領域を通過して分布する例が67%であった。【考察】腎杯の形態、動脈分岐型が Fine、Shoja の結果とやや異なつたのは、対象とした腎臓の例数が少ないことが影響していると考えられる。動脈枝の数と小腎杯数に相関があることから、腎盂造影などで腎盂腎杯の形状がわかれば、動脈の数をある程度推測できると思われる。動脈の分布状態を考慮すると、腎臓の上区、前区および後区中間部を穿刺した場合、出血をきたす確率が高いことが推察された。一方、下区の後方部分には太い動脈分布が少なく、出血の可能性は低いと考えられる。結論として、腎生検における穿刺は腎臓下極後方から行うことが最も安全であると考えられる。

2 解剖学実習で発見された馬蹄腎の1例

中島奈津実¹、池田憲司郎¹、古森元崇¹、松山裕敏¹、岩永 譲²、嵯峨 堅²、田平陽子²、山本宏一²

¹久留米大学 医学部 医学科第2学年

²久留米大学 医学部 解剖学講座(肉眼臨床解剖部門)

2013年度久留米大学医学部学生系統解剖学実習において、過剰腎動脈を伴う馬蹄腎の1例を経験したので報告する。症例は87歳女性、死因は老衰であった。腎臓は下極で腎実質により癒合し、腹大動脈と下大静脈の腹側に位置するもので、両側腎門部が腹側に向かっている典型的な馬蹄腎を呈していた。右側の腎門は右腎内前方に縦に大きく広がり、左側の腎門は右側よりもさらに大きく橋部近くまで広がっていた。また左右ともに腎盂に軽度の肥大を認めた。動脈系では、正常と思われる左右の腎動脈がそれぞれ左右の腎門上部に入っていた。さらに下腸間膜動脈とほぼ同じ高さの腹大動脈右側から右腎門の下部へ過剰腎動脈が1本、下腸間膜動脈よりやや下方の腹大動脈左側から左腎門の下部へ過剰腎動脈が1本、また右総腸骨動脈起始部内側より馬蹄腎橋部背側へ1本、計3本の過剰腎動脈が認められた。静脈系については、ほぼ動脈系に伴行する形で認められた。また橋部実質も組織学的に検討を行った。本邦における馬蹄腎の頻度は0.15%~0.48%とされている。本症例は久留米大学医学部系統解剖学実習における7例目の馬蹄腎であり、1941年から2013年までの馬蹄腎の頻度は0.27%(7/2595)であった。

3 精巣上体・プロトン分泌細胞の出現と機能分化に関する免疫組織化学的解析

村上加奈¹、吉田彩香¹、吉永一也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 大学院生命科学部 構造機能解析学分野

哺乳動物の精子は精巣上体を通過中に前進運動能を獲得し、受精に必要な能力を備えていく。精巣上体管上皮は主細胞、明細胞、基底細胞で構成され、管腔液の分泌吸収を行うことで精子の輸送・成熟・濃縮・貯蔵に重要な役割を担う。とりわけ、管腔内の酸性環境は精子の活性化を抑制し、貯蔵や休眠状態の維持に不可欠と考えられ、明細胞によるプロトン分泌が管腔内の安定的な酸性化に寄与している。本研究では、生後発達過程における精巣上体・明細胞の分化動態を明らかにする目的で、幼若~成熟マウス精巣上体について免疫組織化学的に解析した。

4%PFA で灌流/浸漬固定後、パラフィン包埋切片を製作して調べた結果、液胞型プロトンポンプ V-ATPase 抗体陽性の明細胞は、生後1~2週に出現することが判明した。その後、明細胞は各領域で異なる分布パターンを示し、精子貯蔵の場となる精巣上体・遠位部や精管に多数存在した。このような明細胞の分化動態の意義について、機能分化の観点から考察する。

4 内側中浅上腕動脈の1例

奥陽一郎¹, 石神よし乃¹, 石橋まりか¹, 岩田知幸¹, 峰和治², 下高原理恵², 田松裕一², 島田和幸², 児玉公道³

¹ 鹿児島大学 歯学部 2 年生, ² 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 人体構造解剖学分野, ³ 九州中央リハビリテーション学院

2013 年度の鹿児島大学歯学部解剖学実習で、尺骨神経の内側を回って正中神経の浅層に出る上腕動脈が 70 歳男性の左側に認められた。本例の左腋窩動脈は浅層甲下動脈を分枝した後、通常例と同様に内側・外側神経束の間を貫通していた。上腕動脈に移行した後は、正中神経と尺骨神経を内側から巻き込むようにして浅層に出て、正中神経の浅層を下り行っていた。この動脈は肘窩で橈骨動脈と尺骨動脈に分岐しており、上肢の主幹動脈になっていた。腕神経叢貫通後に正中神経と尺骨神経の間から浅層に出る通常の中浅上腕動脈よりもさらに内側を回る上腕動脈は、内側中浅上腕動脈(児玉, 2000)として区別される。過去に数例の報告があるが、今回の 1 例には分岐形態の違いが見られた。

この動脈が浅層に現れるのは腕神経叢貫通部の約 8 cm 下方で、その近位で尺骨神経が外側に屈曲して正中神経の深層に潜り込み、さらにその深層を上腕動脈が斜走して両神経の内側に出ている。この交差部より近位では、烏口腕筋枝、後上腕回旋動脈と上腕深動脈代償枝との共同幹、外側乳頭枝、上腕三頭筋枝を分岐していた。交差部の深層で出るやや太い枝が本来の経路をとる(深)上腕動脈であり、正中神経に伴行しながら下行し、下尺側側副動脈となって終わっていた。浅層の上腕動脈は上腕二頭筋に太い筋枝を送った後、いくつかの細い筋枝を出しながら前腕へと続いていた。本例の形成過程では、交差部の近位で内方に向かって出る外側乳頭枝と、正中神経の浅層を横切る上腕二頭筋枝が鍵になると考えられた。

5 マウス前立腺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

吉田彩香¹, 村上加奈¹, 吉永一也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所 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、ヒトで 20 種類以上のサブタイプが知られている。これら CK は上皮細胞の種類やその分化・成熟段階で構成成分が異なるため、臨床的には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利用されている。本研究では、前立腺上皮細胞の細胞学的特性と分化マーカーを探索する目的で、CK の発現・局在をマウス前立腺について解析した。

材料には C57BL/6 系雄マウスの前立腺を用いた。4%パラホルムアルデヒド液で灌流/浸漬固定後、パラフィン包埋切片を作製し、各種特異抗体を用いて CK の免疫組織化学的発現・局在パターンを比較・検討した。その結果、陽性反応は前立腺・管上皮細胞 luminal cells や基底細胞 basal cells に認められた。興味深いことに、基底細胞には背の低いドーム型と背の高い伸張型が区別された。以上の所見をもとに、前立腺上皮における CK の発現や基底細胞の存在意義について、機能分化の観点から考察する。

6 マウス耳介皮膚における miR-34c 過剰発現の細胞増殖・分化動態への影響

岡田宗大¹, 福田智美², 遠藤大輔², 近藤志穂², 小路武彦²

¹ 長崎大学 医学部 医学科第 3 学年,

² 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 生命医科学講座 組織細胞生物学分野

microRNA は、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。microRNA の 1 つである miR-34c は c-myc を抑制しアポトーシスを誘導するが、発がんとの関連など示唆され、近年着目されている。この miR-34c は生後マウス皮膚でも発現がみられることから、我々は皮膚の恒常性の維持に関与していると考え、miR-34c の過剰発現モデルを作成し解析を行った。

8 週令雄 ICR マウスの耳介皮膚に MU6-miR34c-SV40-GFP、もしくは MU6-LacZ-SV40-GFP をエレクトロポレーション法 (NEPA21) で導入し、導入後 1, 2, 3, 4, 7 日目に屠殺し、組織採取、4%PFA/PBS (pH 7.4) で固定後、パラフィン包埋し、連続切片 (5 um) を作製した。ベクター導入については抗 GFP 抗体を、細胞増殖については抗 PCNA 抗体を、角化上皮細胞のマーカーとして抗 Keratin (K) 5 抗体、抗 K 14 抗体を用い、酵素抗体法で検討した。細胞死に関しては TUNEL 法を用い解析した。

結果、miR-34c 発現ベクター導入後 1 日目に TUNEL 陽性細胞数が、3, 4 日目には PCNA 陽性細胞数が有意に上昇した。増殖が先進された 4 日目の切片で、K14 陽性細胞が有棘層までみられた。今回の結果から miR-34c の過剰発現は皮膚の恒常性を破綻させ、上皮細胞の異常増殖もしくは分化を誘導する可能性が示唆された。

7 妊娠中期の低栄養が新生児の小腸に及ぼす影響に関する超微形態学的研究

熊谷奈々¹, 馬場良子³, 森本景之³, 西田麗代², 中村宏子¹, 川俣紗織¹, 藤田 守^{1,2}

中村学園大学¹・大学院², 産業医科大学 医学部 第 2 解剖学³

【目的】妊娠中の栄養は母体だけではなく胎児の健康に大きく影響する。妊娠中の低栄養が胎児の様々な臓器の発育を抑制し、出生後の疾病の発症に関連することが報告されている。しかし、出生後の栄養の消化・吸収において重要な場である小腸に関してはあまり報告されていない。本研究では、妊娠中期の低栄養が新生児の小腸に及ぼす影響について詳しく知る目的で超微形態学的に検索を行った。【材料と方法】Wistar 系妊娠ラットを妊娠初期 (妊娠 0~6 日) は通常摂食、妊娠中期 (妊娠 7~13 日) は水のみを与えて絶食、妊娠後期 (妊娠 14~21 日) は通常摂食させて飼育した (実験群)。正常群として、妊娠期間中通常飼育を行った。各群の妊娠ラットから出生した新生仔ラット (生後 0 日齢、母乳未摂取) の小腸 (空腸・回腸) を採取し、超微形態学的に検索を行った。【結果】正常群の空腸および回腸を形態学的に検索した結果、管腔に向かって伸びた絨毛とその基部に浅い陰窩が観察された。走査型電子顕微鏡を用いて検索を行った結果、空腸では表面が滑らかで長さの異なる指状の絨毛が観察された。回腸では、表面に凹凸があり長さの異なる絨毛が観察された。透過型電子顕微鏡を用いて検索を行った結果、空腸吸収上皮細胞頂部では小胞および小管状膜構造が観察され、回腸では空腸とは異なる特殊な小管状膜構造が観察された。一方、実験群の空腸および回腸を形態学的に検索した結果、絨毛とその基部に開口する浅い陰窩が観察された。走査型電子顕微鏡を用いて検索を行った結果、空腸では変化が見られなかった。しかし、回腸では正常群と比較して短い絨毛が多く観察された。【考察】実験群の回腸において、正常群と比較して絨毛に形態学的変化が認められたことから、妊娠中期の低栄養は、出生後の回腸におけるタンパク等の栄養の消化・吸収に影響を及ぼすことが示唆される。

8 胃底腺壁細胞の腺内分布と酸分泌能の関与

入江(前蘭)理恵¹, 津山新一郎²

¹ 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 遺伝子治療・再生医学分野

² 同神経解剖学分野

酸分泌を行う胃底腺壁細胞は、その機能状態により超微構造変化が起こる。分泌活性時は細胞内分泌細管(IC)、微絨毛(MV)が伸長し、非活性時は小管小胞(TV)の占有面積が増大する。超微構造変化は、細胞骨格アクチンが細胞膜上の CD44 にリン酸化エズリンを介して結合し、エズリンの脱リン酸化により解離することにより起こる。今回我々は、壁細胞での H⁺, K⁺-ATPase、リン酸化エズリン及び CD44 の発現に注目し、腺内分布と酸分泌能の関係について検討した。成熟ラット胃を自由摂食群及び絶食群に分け、光顕用には急速凍結・凍結置換法、電顕用には高圧凍結法を用いて組織標本を作製した。自由摂食群では、抗 H⁺, K⁺-ATPase 及び抗リン酸化エズリン抗体は IC 及び TV の膜に標識されたが、絶食群では抗リン酸化エズリン抗体は弱く標識された。また、腺上部から腺底部にかけての壁細胞について、コロイド金(CG)標識の上記抗体で染色し、標識された CG の粒子数を計測、標識の数量化により、酸分泌の活性化と非活性化を評価した。結果、抗 H⁺, K⁺-ATPase 抗体及び抗 CD44 抗体は、腺上部から腺底部にかけての壁細胞の MV と TV の膜に分布したのに対し、抗リン酸化エズリン抗体は、自由摂食群の腺頸部から腺上部の間に存在する壁細胞の MV 膜に優位に強く局在した。以上から、腺頸部から腺上部にかけての壁細胞が高い酸分泌能を有していることが示唆された。

9 マウス消化管における E3 ユビキチンリガーゼ HRD1 の免疫組織化学的解析

日野真一郎, Chojookhuu Narantsog, 菱川善隆

宮崎大学医学部 解剖学講座 組織細胞化学分野

【目的】栄養飢餓等や低酸素などにより小胞体で起こる蛋白質の折りたたみに異常をきたすと、細胞防御機構である小胞体関連分解 (ER-associated degradation; ERAD) と蛋白質品質管理遺伝子群の転写誘導 (unfolded protein response; UPR) が作動する。小胞体膜貫通型ユビキチンリガーゼである HRD1 は ERAD の中心的役割を担うとともに、UPR によっても誘導をうける。我々の解析から、小腸における HRD1 はパネート細胞、間質のリンパ球系の細胞、神経叢の神経細胞に発現を認め、大腸では粘膜表面のすべての上皮細胞に発現していることが明らかとなった。本研究ではリンパ球系の細胞の同定を行うとともに、HRD1 発現と細胞防御機構 UPR との関連を検討した。【方法】ICR 雄 (6 週齢) の小腸および大腸を採取し、4%パラホルムアルデヒド固定パラフィン包埋切片を用いて免疫組織化学により検討した。【結果】T および B リンパ球に HRD1 の発現は認められなかったが、形質細胞に発現を認めた。消化管においては、小胞体の負荷により誘導される UPR 遺伝子の 1 つである GRP78 の発現と HRD1 発現細胞において相関は認められなかった。【まとめ】HRD1 が小腸における形質細胞の特定の機能に関与している可能性が示唆された。消化管においては、小胞体の負荷による HRD1 の発現誘導とは異なる機構が存在することが示唆された。

10 Developmental change of estrogen receptor beta and its possible role in mouse small intestinal function

Narantsog Choijookhuu, Shin-ichiro Hino, Yoshitaka Hishikawa

Division of Histochemistry and Cell Biology, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, University of Miyazaki

Although, the existence of functional estrogen receptors (ER) are demonstrated in small intestine, the precise localization and its role in the small intestinal epithelium are largely unknown. In present study, we evaluated target sites of estrogen signaling in small intestine. C57BL/6 mouse intestinal tissues were obtained from prenatal and postnatal mouse at the various days. ER β mRNA and ER α , ER β protein expressions were examined by RT-PCR and immunohistochemistry, respectively. Southwestern histochemistry was used to investigate the estrogen-dependent active sites in intestine. As a result, ER β was detected in small intestinal epithelium, but not ER α by immunohistochemistry. Estrogen responsive element (ERE) expression was detected in intestinal crypt and villi. In addition, the localization of ER β was gradually changed from crypt to villi at postnatal day 20. Interestingly, ERE and ER β proteins were co-localized in initial part of duodenum, but remained part of duodenum expresses only ER β . Moreover, ER β mRNA and protein expressions were detected in the epithelial cells of duodenum, but not those of jejunum and ileum. These results strongly indicate that the ER β is a predominant ER type in small intestine and may reflect to the development and differentiation of the duodenal epithelium.

11 PPAR α アゴニストのCKD 治療薬としての可能性

晏 瓊, 伊奈啓輔, 北村裕和, 立川修二, 藤倉義久

大分大学医学部 分子解剖学講座

【目的】透析患者が増え続けており、その原因疾患である CKD の治療薬の開発が喫緊の課題である。その治療薬として、抗脂血薬である PPAR α アゴニストのフェノフィブラートについて検討した。

【方法】CKD における腎機能低下と尿管間質線維化の程度がよく相関することが知られている。本薬の CKD 治療効果は線維化に対する効果として検討した。CKD の腎線維症モデルとして、腎線維芽細胞 NRK49F に TGF- β 1 を作用させた。

【結果】TGF- β 1 を作用させると、線維芽細胞は α 平滑筋アクチン (SMA) を発現した筋線維芽細胞に分化転換し、培地中には 1 型コラーゲンが蓄積 (線維化) した。さらに本薬も作用させると、 α SMA の発現も 1 型コラーゲンの蓄積も抑制された。

【結語】フェノフィブラートは線維化を抑制し、CKD 治療薬としての可能性が示された。今回の本薬の効果は抗脂血作用を介さない線維芽細胞への直接作用によるが、その詳細な作用機序については今後の検討課題である。

12 心臓刺激伝導系の命名の由来

島田達生¹, 須磨幸蔵²

¹大分医学技術専門学校

²東京女子医科大学

「心臓刺激伝導系、Cardiac conduction system, Reizleitungssystem」という語句は、解剖学のみならず医学全域に使われ、国際的にも「Cardiac conduction system」という名で広く知られている。我々が知り限り、1906 年に発刊された田原淳の原著「Das Reizleitungssystem des Säugetierherzens. Eine anatomisch-histologische Studie über das Atrioventrikulärband und die Purkinjeschen Fäden.哺乳動物の刺激伝導系、房室束とプルキンエ線維の解剖・組織学研究」の中に刺激伝導系という語句がでてくる。さて、この語句の命名者は誰であろうか？その謎の解答は、田原が第 16 回九州沖縄医学会 (福岡、明治 43 年 4 月) で講演した概要にあった。そのタイトルは、「心臓に於ける刺激伝導系一名所謂ヒス氏筋索に就て」。内容の一部を抜粋すると、「標題ノ心臓ニ於ける刺激伝導筋系ト申スハ初メテ私たわらノ附ケタ名前デアリ且比較的新ラシキ事デアル・・・刺激伝導筋系ト云フ新名ヲ附シテ発表シマシタ」。このように、田原は房室結節 (田原結節) の発見者だけでなく、刺激伝導系の命名者でもあった。

13 上腕骨大結節稜・小結節稜の形態的特徴と上肢筋の停止部との関係

野口 敦¹, 後藤哲哉², 片岡真司², 小林繁²

¹北九州リハビリテーション学院 理学療法学科

²公立大学法人 九州歯科大学 頭頸部構造解析学分野

上腕骨大結節稜に停止部をもつ大胸筋、上腕骨小結節稜に停止部をもつ広背筋や大円筋は主に上腕骨を内転する作用を有する。本研究は大胸筋、広背筋および大円筋の停止部と大結節稜、小結節稜の形態との関係を調べ、それらの筋の機能的作用を考察することを目的とし、九州歯科大学解剖学実習用ご遺体を用いて肉眼的観察を行った。

大胸筋は、大結節稜に停止するものの広範囲に分布し、大結節や小結節まで延伸していた。広背筋や大円筋は、小結節稜に停止するものの広範囲に分布し、小結節まで延伸し、また、小結節稜を越えて大結節稜まで延伸、結節稜間溝の底部を構成するように走行していた。

大結節稜・小結節稜の長さ比べて大胸筋、広背筋および大円筋の停止部の幅は大きく、それらの筋の停止部は大・小結節稜にとどまらず広範囲に存在する。これにより上肢の多様な動きに対応し、上腕骨の強力な作用を産み出す。また、大・小結節稜間を走行する上腕二頭筋長頭筋を前方・後方から覆い、腱の保護作用や動的安定化作用をもつことが示唆される。

14 上顎結節周辺領域に関する解剖学的研究

柴田健太郎¹, 内田雄基², 後藤昌昭², 増子貞彦³, 倉岡晃夫¹

¹佐賀大学医学部生体構造機能学講座 解剖学・人類学分野

²同 歯科口腔外科学講座

³同 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学分野

【目的】歯科インプラント (IM) を上顎結節から蝶形骨翼状突起部に埋入する場合、重要な血管等が近接することから、埋入方向を誤ると重篤な合併症を引き起こす。そこで同領域の主要な解剖学的構造物の位置関係に関する基礎的データを収集する目的で、上顎骨、口蓋骨、蝶形骨の距離を直接計測した。【対象と方法】佐賀大学医学部解剖学教室所蔵の乾燥頭蓋骨 24 標本 (上顎第三大臼歯の萌出している群 [萌出群] 38 例、埋伏している群 [埋伏群] 10 例) を用いた。各側の上顎結節最上後方点 (MT) から翼口蓋窩最下点 (PF) の垂直距離 (MT-PF)、MT から翼突上顎縫合部最下点 (PM) の垂直距離 (MT-PM)、MT から大口蓋孔の最外側縁 (GPF) までの水平距離 (MT-GPF-Hor)、MT から GPF までの垂直距離 (MT-GPF-Ver) をカリパスで計測した。萌出群と埋伏群間で各計測項目の t 検定も行った。【結果】全標本の平均値は、MT-PF: 16.9 \pm 2.6mm, MT-PM: 4.9 \pm 1.6mm, MT-GPF-Hor: 6.0 \pm 1.9mm, MT-GPF-Ver: 6.8 \pm 2.2mm であった。萌出群と埋伏群の t 検定で MT-PF と MT-GPF-Ver 間にのみ有意差 (p<0.01) を認めた。各々の平均値は、MT-PF で萌出群 17.7 \pm 2.2mm, 埋伏群 13.7 \pm 1.4mm, MT-GPF-Ver では萌出群 7.3 \pm 2.1mm, 埋伏群 4.8 \pm 1.5mm であった。【考察】本結果から、予後良好とされる長径 13~15mm の IM を上顎結節から埋入する場合、方向を誤ると翼口蓋窩や大口蓋孔の脈管や神経を損傷する可能性があること、また上顎第三大臼歯の萌出の有無が歯槽骨の発育に関与することが示唆された。今後、CT データとの比較により、画像診断による危険度の術前評価が可能か検証を試みたい。

15 経テノン囊滑車下神経ブロックの試み

園田真也, 田松裕一, 島田和幸

鹿児島大学 大学院歯学総合研究科 神経病学講座 人体構造解剖学分野

【目的】涙道手術の伝達麻酔として、滑車下神経ブロックが行われているが、現行の手法は、経皮膚・鋭針を用いるために、球後出血・眼球損傷などのリスクを完全に回避することは不可能である。また正しく滑車下神経近くに針先を誘導することは難しい。解剖学的構造に即した、より安全・確実に除痛を得られる手法を模索する。

【対象と方法】鹿児島大学歯学部解剖実習体を用いて経テノン囊、鈍針を使用した手法を検証する。その際にサーフロー二点針を用いて歯科用印象材を注入。針先の到達部位と滑車下神経の関係を調べた。

【考察】一般に伝達麻酔は、知覚神経の中核側に麻酔薬を注入し、その働きを阻害して除痛を得ることが目的である。涙道手術の際には、涙囊付近の痛覚を支配する滑車下神経をブロックする必要があるため、本神経の走行経路である眼窩内にアプローチすることになる。涙管チューブ挿入術などでは、本神経の涙囊枝分岐部付近まで麻酔針の先が入ればほぼ有効な除痛が得られると考えられる。涙囊鼻腔吻合術など鼻操作を伴う術式では、さらに中核側の鼻腔内に分布する前篩骨神経分岐部付近まで針を刺入する必要がある。ただし、前篩骨動脈に近づくことで球後出血のリスクは上がる。経テノン囊による手法は鈍針を用いているために球後出血のリスクを軽減させる。また挿入角度を間違えなければ針先は対象部位に到達しやすく、確実に除痛を得られる可能性が示唆された。

16 ラット象牙芽細胞における ATP の小胞分泌

岩鍋恵理奈¹, 後藤哲哉², 郡司掛香織¹, 小林繁²¹九州歯科大学 顎口腔機能矯正学分野,²九州歯科大学 頭頸部構造解析学分野

【目的】歯の疼痛伝達には象牙芽細胞が感覚受容細胞として機能していることが分かっている。その機能については動水力学説を初めとして多くの説が存在しているが、象牙芽細胞から神経へのシグナル伝達に関しては解明されていない。また近年、ATP レセプターである P2X₃ 受容体、NTPDase (ATP 分解酵素) が象牙芽細胞周囲の神経線維で発現していることが報告されている。しかし、象牙質の痛みの伝達に ATP が関与しているかについては明らかでない。ATP の分泌機序に小胞型スクレオチドトランスポーター (VNUT) によるものがある。VNUT は ATP を小胞内へ取り込み、ATP の小胞分泌を行う。本研究では、象牙芽細胞からの ATP の放出に VNUT が関与するかどうかについて調べた。【材料と方法】*In vivo* では 6 週 SD ラットより臼歯を抜歯し、歯髄を分離して RT-PCR を行った。また、上顎第一臼歯近心面削合後、凍結切片を作成し、抗 Nestin 抗体と抗 VNUT 抗体および抗 SNAP25 (膜融合タンパク) 抗体で抗 P2X₃ 抗体で免疫染色を行った。*In vitro* では odontoblastic cell に熱刺激を加え、VNUT および HSP の遺伝子発現を RT-PCR 法、象牙芽細胞からの ATP の放出をルシフェラーゼによる ATP 計測法をそれぞれ用いて調べた。【結果と考察】象牙芽細胞で VNUT および SNAP25 の局在が示された。また *In vitro* の研究により熱刺激による象牙芽細胞から細胞外への ATP の放出が確認された。これらより、象牙芽細胞による疼痛伝達において VNUT を介した ATP 分泌が関係している可能性が示唆された。

17 マウス iPS 細胞の骨芽細胞分化における交感神経系・知覚神経系の関与について

長尾怜美¹, 後藤哲哉², 小林 繁²¹九歯大 口腔機能,²九歯大 解剖

【背景と目的】骨と神経の関係について様々な研究がされているが、特に近年では交感神経と知覚神経の骨代謝制御機構が明白になりつつある。しかし、未分化間葉系組織から骨芽細胞までの分化段階においては、どのように神経ペプチドが関与しているかは定かになっていない。今回、我々は、人工多能性幹細胞である iPS 細胞から骨芽細胞へ分化させ、その分化段階において、神経ペプチドレセプターの発現を調べた。【方法】MitomycinC 処理をしたマウスフィーダー細胞 (SNL) 上に播種したマウス iPS 細胞は、胚様体形成を経て骨芽細胞用培地で 4 週間培養し、骨芽細胞を形成し von Kossa 染色で骨形成を確認した。iPS 細胞未分化能維持期、胚様体形成前期後期、骨芽細胞分化期を 1 週間毎に RNA 抽出し、RT-PCR で神経系レセプターの mRNA 発現を調べた。発現した CGRP-receptor(R)、β2-AR、NK1-R mRNA を real-timePCR にて経時的に調べ、CGRP-R、β2-AR のタンパク発現量を免疫染色で確認した。【結果と考察】交感神経系の β2-AR、知覚神経系の CGRP-R は多分化維持期から発現し、骨芽培地 1 週間で最も発現し、その後発現が減少した。NK1-R は骨芽培地 1 週間から発現し 4 週間で最も発現した。これらのことから、iPS 細胞の骨芽細胞分化過程において、多分化能維持期より交感神経系の β2-AR および知覚神経系の CGRP-R、NK1-R の分子機構が関与している可能性が示唆された。

18 ヒト無色素毛様体上皮細胞によるオキシラン線維形成の解析

山之内 香¹, 川越 慈¹, 中富佑香¹, 中島一記¹, 敦賀英知², 沢 禎彦², 石川博之¹¹福岡歯科大学 成長発達歯学講座矯正歯科学分野²福岡歯科大学 生体構造学講座機能構造学分野

【目的】眼球の毛様体小帯はオキシラン線維で構成され、その形成は無色素毛様体上皮細胞が関係していると考えられている。今回、その形成過程について細胞培養系を用いて検討した。

【方法】ヒト無色素毛様体上皮細胞を 8 日間培養し、Fibrillin-1、-2 の遺伝子発現とタンパク質沈着を生化学的、形態学的に分析した。

【結果および考察】Fibrillin-1 陽性の比較的細いオキシラン線維が出現後、徐々に線維径が増加した。Fibrillin-2 は、線維径が増大した線維に陽性であった。ノーザンブロット法より、Fibrillin-1 遺伝子発現は経時的に大きな変化を示さなかったが、Fibrillin-2 遺伝子発現は培養 5 日目に著しく増加した。ウェスタンブロット法により、Fibrillin-1 タンパク質沈着は経時的に増加傾向を示し、Fibrillin-2 タンパク質沈着は培養 5 日目以降著しく増加した。また、Fibrillin-1、-2 の発現をそれぞれ抑制すると、線維径の増大は観察されなかった。

以上の結果より、Fibrillin-1 陽性のオキシラン線維が足場となり、そこに Fibrillin-1 および Fibrillin-2 を含む微細線維が沈着し、その沈着がオキシラン線維径の増大に関与すると考えられる。

【結論】ヒト毛様体小帯のオキシラン線維形成過程において、Fibrillin-1 と Fibrillin-2 はともに線維径の増大に関与することが示唆された。

19 プログラム細胞死の免疫組織化学

蓮井和久

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科

(先進治療科学専攻腫瘍学講座人体がん病理学分野)

鼻型 NK/T 細胞リンパ腫 (NK/TCL) の特異な壊死病変等の解析を通じて、ヒト病理標本でのプログラム細胞死 (PCD) の免疫組織化学を確立した。PCD は、アポトーシス、自己食細胞死、その他の PCD に分類されている。NK/TCL 壊死病変で、抗 cleaved caspase-3 抗体の抗原回復免疫染色で陽性細胞を認めず、抗アポトーシス因子の Flip 発現や survivin (inhibitor of apoptosis-1) の腫瘍性発現が見られ、アポトーシス以外の PCD であることが示唆された。自己食の過程を、beclin-1 の酵素処理超高度免疫染色と LC3 (pH 非依存性による抗原回復)、ミトコンドリアの凝集とリソソーム酵素の cathepsin D の抗原回復免疫染色で検索し、NK/TCL の特異な壊死は、EBV による自己食の異常亢進に伴う cathepsin D の発現低下と自己リソソームでの消化不全に続く自己食細胞死であることが判明した。変性ミトコンドリアはマクロ自己食される代表的細胞小器官であり、内的活性酸素種 (ROS) の供給原であり、DNA の酸化産物の thymidine glycol (TG) の pH 非依存性抗原回復免疫染色での核の強い標識は慢性的な ROS による TG 蓄積と修復酵素不全の結果であり、TG による DNA 合成障害による遅発する細胞死を意味し、その細胞死はその他の PCD の一つであった。従って、cleaved caspase-3、survivin とその他の抗アポトーシス因子、beclin-1、LC3、凝集ミトコンドリア、cathepsin D、TG の抗原回復免疫組織化学は、PCD の免疫組織化学であることが明らかになった。(中国医科大学の賈心善、鹿児島大学の永井拓、金藏拓郎、河野嘉文、出雲周二、松山隆美らとの共同研究)

20 ラット棘上筋腱-骨縫合後の三次元超微形態構造解析

金澤知之進, 太田啓介, 都合亜記暢, 中村桂一郎

久留米大学医学部解剖学講座 顕微解剖・生体形成部門

【目的】腱板縫合後の腱骨間は力学的に脆弱であり、正常付着部とは全く異なる組織構築で修復される。そのため、正常付着部構造及び腱板縫合後における腱骨間癒着過程を超微形態的に把握することは、腱骨付着部修復を検討する上で重要であると思われる。本研究では、ラット棘上筋腱縫合モデルの腱骨間癒着過程を、電子顕微鏡レベルでの三次元超微形態構造解析 (FIB/SEM tomography) を行い、正常付着部の組織構造と比較した。【方法】検体には SD ラット棘上筋腱を用いて腱板縫合モデルを作製、術後 2、4 週にて屠殺、縫合部の腱骨付着部を抽出し、力学的評価と組織学的評価とともに、FIB/SEM tomography を用いて三次元再構築を行い超微形態レベルで観察した。対象には、正常棘上筋腱付着部を用いた。【結果】正常付着部：骨側から腱側までの構造は非常に滑らかであり、細胞および細胞突起は一定の方向性と極性を有していた。縫合後付着部：腱骨間には、方向性を持たない血管線維性組織が介在し、骨側と明瞭な境界を有していた。術後 2 週では介在組織内に存在する細胞の細胞突起に方向性や極性は認めなかったが、術後 4 週においては、一部骨と血管線維性組織を結合している細胞を認め、その細胞突起は主に腱組織がかかる張力に対し平行に伸びていた。【結論】縫合後 4 週までの腱骨間には、血管線維性組織が介在していた。この介在組織は骨側と明瞭な境界を有しており、細胞群の配列も一定の方向性は認めなかった事から、術後 4 週までの腱-骨付着部間は電子顕微鏡レベルにおいても未熟であり、生体力学的に脆弱である可能性が示唆される。

21 ラットの視神経におけるグリア細胞の分布：緑内障の発症メカニズムの解明を目指した研究

河野 純

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経解剖学分野

視神経は、眼球と脳をつなぐ神経細胞 (網膜神経節細胞) の軸索と、その周囲を取り囲むグリア細胞とで構成されている。形態学的に、ラットの視神経は、網膜貫通部・無髄部・有髄部の 3 つに区分されている。眼科学で、緑内障は、網膜神経節細胞の機能不全や細胞死により、進行性の視機能障害を呈する疾患と定義され、視神経変性を随伴する。緑内障は、視神経変性が失明の原因となる疾患の中で最多を占め、視神経の一区分が緑内障発症の原因部位 (の一つ) であることが、報告されている。このように、緑内障の発症メカニズムを解明する上で、「視神経のどの部位の異常が、緑内障を引き起こすのか」を知ることが大切であるにもかかわらず、視神経の区分の情報は、未だ不十分なものでしかない。本研究は、緑内障の発症メカニズムを解明するための形態学的基盤の構築を目的として、グリア細胞の分布の違いを基準に、ラットの視神経の新たな区分を試みたものである。免疫組織化学法で解析したところ、ラットの視神経は、従来の 3 つではなく、9 つの部位に区分された。今後、本研究の区分を用いて、緑内障モデル動物 (ラット) の視神経におけるグリア細胞の分布を解析し、神経変性の詳細を知ること、緑内障の発症メカニズムの解明の手がかりが、つかめるかもしれない。