日本解剖学会

第59回東北・北海道連合支部学術集会

会期：平成25年9月14日（土）、15日（日）

会場：北海道大学大学院獣医学研究科講義棟講堂

特別講演

グルタミン酸伝達機構によるシナプス回路の刈込みと可塑性

渡辺雅彦・北海道大学医学研究科 解剖学講座 解剖発生学分野

遺伝子プログラムの時系列的発現により形成される初期シナプス回路は、ステレオタイプで個性に乏しく、重複が多く特異性に乏しい未熟な回路である。生後、受容器からの感覚刺激の増大とそれによる神経活動の亢進は、ポスト側となる中枢ニューロンの活性化を招く。この過程において、活動性に応じたシナプス回路の強化と除去の選別化（刈込み）が起こり、同時に活動性の高低に応じた神経回路の拡大・縮小（可塑性）も起こる。我々は、グルタミン酸シグナル伝達に関わる分子に着目し、その遺伝子ノックアウトマウスを用いた形態生物学的解析を通して、活動依存的なシナプス回路改築の制御機構を明らかにしてきた。

小脳プルキンエ細胞では、グルタミン酸受容体 GluR2 による平行線維シナプスの接着機構とカルシウムチャネル Cav2.1 を介する優勢な登上線維の強化機構が競合することにより、樹状突起におけるそれぞれの支配テリトリーが確立し、登上線維の単一支配が確立する。これは、大脳回路のシナプス刈込みにおける NMDA 型グルタミン酸受容体の機能的役割と相同であり、活動依存的な細胞内 Ca²⁺ イオン濃度上昇がシナプス刈込みの共通原理であることを物語る。一方、シナプス回路の拡大・縮小（可塑性）には、細胞外グルタミン酸濃度を調節するグルタミン酸トランスポーターが重要な役割を果たしている。したがって、発達過程で起こるシナプス回路の活動依存的改築を、グルタミン酸受容体とグルタミン酸輸送体からなる伝達機構が制御している。

1 ヒト Muse 細胞内に存在するサブポピュレーションの解析

○若尾昌平¹、黒田康勝^{1,2}、出澤真理¹

¹ 東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野

² Texas A&M Health Science Center College of Medicine

我々はヒト間葉系組織には、自己複製能と三胚葉性の細胞への分化能を有する自然の多能性幹細胞の存在を明らかとし、Multilineage-differentiating stress enduring (Muse)細胞と命名し、報告した。Muse 細胞は、ヒト多能性幹細胞マーカーである SSEA-3 を用いることで単離可能であるが、SSEA-3 は糖脂質であり蛋白ではないため、その遺伝子が存在しない。そのため、遺伝子改変動物の作製や発生学的解析が困難であり、SSEA-3 に代わる蛋白マーカーを探索する必要がある。Muse 細胞は、浮遊条件下で培養すると一細胞から ES 細胞由来の胚様体に類似した、多能性幹細胞マーカーを発現する細胞塊（多能性細胞塊）を形成することが確認されている。そこで、ヒト皮膚由来線維芽細胞を用いて様々な細胞表面抗原において FACS 解析を行うことで SSEA-3 と二重陽性になる表面抗原を探索し、得られた細胞について細胞塊の形成率を検証した。その結果、SSEA-3 陽性細胞の一部のみが mC-1 陽性であり、通常 SSEA-3 単独で単離した場合の細胞塊形成率が 50%程度であるのに対し、mC-1 を用いて単離した場合には細胞塊の形成率が顕著に上昇し、大きな細胞塊を形成することが分かった。これらのことから、mC-1 と SSEA-3 の二重陽性細胞は特に多能性活性が高い細胞であると考えられるため、これら Muse 細胞中に存在するサブポピュレーションについて、single cell PCR により多能性関連遺伝子群や細胞増殖関連遺伝子群についての遺伝子発現解析を行うことで、その特性について解析を行う。

2

新生児由来の多能性幹細胞 Muse 細胞の探索と機能解析

串田 良祐¹、小椋 文貴²、若尾 昌平²、出澤 真理^{1,2}

東北大学大学院医学系研究科人体構造学分野¹、細胞組織学分野²

間葉系幹細胞は胚葉を超えた細胞に分化する「多能性」を持つことが報告されている。しかし、間葉系幹細胞は様々な種類の細胞から構成されているため、多能性を持つ細胞の実体は明らかになっていなかった。当研究グループはこの間葉系幹細胞の中で多能性を有する幹細胞として Multilineage-differentiating Stress Enduring cell (Muse 細胞)を同定した。この Muse 細胞は多能性細胞マーカーである SSEA-3 を用いることで単離でき、①ストレス耐性、②自己複製能、③ES 細胞の胚様体様の多能性細胞塊の形成、④多能性マーカーの発現、⑤1 細胞から三胚葉性の細胞への分化などの特徴を持つ。また、組織修復に寄与し、腫瘍形成能を持たないため、Muse 細胞は細胞移植治療に適した細胞として考えられている。

これまでヒト成人由来の Muse 細胞の特徴は明らかになりつつあるが、胎児や新生児の幼若組織由来の Muse 細胞の特性については明らかにされていない。本研究では、新生児線維芽細胞から単離した Muse 細胞を用い、成人由来 Muse 細胞との比較を通じて、新生児由来 Muse 細胞の多能性を解析した。その結果、新生児由来 Muse 細胞は、多能性細胞塊の形成、多能性マーカーの発現が認められ、1 細胞から三胚葉性の細胞への分化することが確認された。このことから、新生児由来 Muse 細胞は成人由来 Muse 細胞と同様に多能性を持つことが示唆された。

3

ウサギ Muse 細胞を用いた気道再生

○鈴木亮¹、小椋文貴²、串田良祐³、若尾昌平²、仲江川雄太¹、柳川明弘¹、

野本幸男¹、大森孝一¹、出澤真理^{2,3}

福島県立医科大学 耳鼻咽喉科学講座¹

東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学分野²

我々は、ポリプロピレン製骨格とコラーゲンポンジの足場からなる組織再生誘導型人工材料を喉頭や気管といった気道の再建材料として臨床応用し、良好な結果を得ている。複数例の臨床経験をふまえ、再建後の人工材料内腔面の上皮化に要する時間短縮や、成長期にある小児への適応拡大のために改良を次の課題と位置づけ、組織再生誘導型人工材料に培養細胞を付加した新規気道再建材料の開発研究を行っている。これまでに、線維芽細胞などの培養細胞を組織再生型人工材料に付加して作製した新規人工材料を用いて、実験動物での評価を行い、移植部位の気管内腔の上皮化を促進させることができることを報告してきた。一方、ヒト間葉系組織には、自己複製能や三胚葉性の細胞へと分化する能力を有する天然の多能性幹細胞である Muse (Multilineage-differentiating stress-enduring) 細胞が存在する。この Muse 細胞は、ヒト多能性幹細胞マーカーである SSEA-3 を用いることで単離可能な細胞であり、最大の特徴として腫瘍形成能を持たない細胞であるため、再生医療における組織再生に寄与する細胞ソースとして非常に有用であると考えられる。

本研究において我々は、ウサギの脂肪組織から脂肪組織由来間葉系細胞を樹立し、SSEA-3 をマーカーとしてウサギ Muse 細胞の単離を行った。また、多能性を有する Muse 細胞が組織再生に大きく寄与する可能性が考えられるため、Muse 細胞を組織再生誘導型人工材料に付加し、気管欠損モデルのウサギに自家あるいは他家移植を行うことで気管再生への寄与を検討する。

4

Ex-vivo differentiation of Multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cells into insulin producing cells

Shahed Al-Sariera¹, Yasuko Kimura^{1,2}, Yasumasa Kuroda³, Hideo Akashi¹, Shohei Wakao¹ and Mari Dezawa¹

¹ 東北大学大学院医学系研究科細胞組織学講座、² 先端医療振興財団臨床研究情報センター、Kobe, Japan, ³ Texas A & M Health Science Center, Temple, TX

We confirmed the differentiation ability of Multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cells into insulin-producing cells, beta cells of Langerhans Islet, ex-vivo. Muse cells that has been isolated from adult human bone marrow-mesenchymal stem cells (hBM-MSC) as SSEA-3(+) cells can spontaneously differentiate into triploblastic lineage after forming cluster in single-cell suspension culture and transferred to gelatin coat. The differentiation ability of naïve human Muse cells into insulin-producing cells has been also confirmed after subjecting to mouse pancreatic extract in ultra-low attachment microsphere culture. After 21 day of induction, Muse spheroid showed positive staining for Fluozin-3 (fluorescent Zinc-indicator), an indicator of beta cells of Langerhans islet. RT-PCR analysis showed that induced Muse cells expressed beta cells related genes, Insulin and ISL-1. Those data suggested that Muse cells are capable of differentiating into insulin-producing cells ex-vivo which might be helpful in establishing safe and efficient auto-cell transplantation therapy for DM.

5 雌ラットの生後発生と性周期に伴う 胃の 17 β -estradiol 合成分泌の解析

○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】我々は雌ラットの生後発生過程で、胃 Aromatase 発現と血中 17 β -estradiol 量の変化を報告してきた。しかし、雌には生後発生過程の卵巣の成熟と性周期に伴う卵巣 Aromatase 発現や血中 17 β -estradiol 量の変化があり、胃と卵巣の 17 β -estradiol 合成分泌との関連は不明である。本研究では、雌ラットの生後発生過程と性周期における胃の 17 β -estradiol 合成分泌量の変化を明らかにすることを目的とした。【方法】15 日令から 40 日令までの生後発生過程と、性周期が確認される 10 週令の雌ラットを用いた。各ステージの動物から麻酔下で採血と組織採取を行った。血中 17 β -estradiol 量は ELISA 法、Aromatase タンパク質量は Western blotting 法と免疫組織化学法、遺伝子発現は real-time RT-PCR 法を用いた。【結果】1) 雌ラットの生後発生過程において、胃の Aromatase のタンパク質と抗体陽性細胞は 20 日令以降から出現し始め、徐々に増加し、40 日令では 10 週令とほぼ同程度にまで達した。2) 門脈血中 17 β -estradiol 量も胃 Aromatase 量の増加に伴って上昇した。3) 性周期の門脈血中 17 β -estradiol 量は常に動脈血よりも高値を示し、性周期に伴う有意な差は認められなかった。4) 胃の Aromatase タンパク質も性周期で変化しなかった。【まとめ】雌の生後発生において、胃 Aromatase は卵巣の性周期よりも早く発現し、この発現時期は先行研究とほぼ一致することから、胃の Aromatase 発現には性差がないことが示された。また、胃 Aromatase 量や門脈血中 17 β -estradiol 量に性周期に伴う変化が認められないことから、胃の 17 β -estradiol 合成分泌は性周期には影響されないことが明らかとなった。

6 MRL/MpJ マウス新生子卵巣に出現する肥満細胞の解析

○中村鉄平^{1,2}、市居修¹、大塚沙織¹、坂田侑子²、長崎健一²、昆森寛¹
¹北大・獣医解剖、²一財) 日本食品分析センター 千歳研究所

【背景と目的】マウス胎子期の卵細胞は各々の細胞間橋で連結し、nest と呼ばれる塊を形成する。生後間もなく nest は分断され (nest breakdown)、各卵細胞は原始卵胞を形成していく。従者らは nest breakdown の時期に一致して、MRL/MpJ(MRL)マウスの卵巣に多数の肥満細胞を発見した。本研究では、MRL の卵巣内肥満細胞(Ovarian Mast Cell: OMC)を精査し、その出現意義の解明を試みた。【材料と方法】胎齢(E)15.5 日から生後(P)14 日のマウスを用いた。全身臓器における肥満細胞の出現を C57BL/6 (B6) と MRL で、OMC の出現を計 11 系統で比較した。B6 と MRL の OMC の表現型を形態学および分子生物学的に精査し、OMC と卵細胞の局在ならびに OMC の出現と卵細胞数の相関を解析した。【結果と考察】PO において、MRL の肥満細胞数は観察した全臓器で B6 よりも多い傾向にあり、特に卵巣で顕著な差がみられた。MRL の OMC は E17.5 に顕著に増加し、PO をピークに生後は減少した。MRL の OMC は、卵巣皮質、特に表面上皮近傍に局在する傾向にあった。系統差解析の結果、OMC 数は MRL で最も多く、DBA/1、BALB/c、NZW、DBA/2 の順に MRL の約半数程度認められ、C57BL/6、NZB、AKR、C3H/He、CBA、ICR では少数だった。MRL の OMC は B6 よりも高率に卵細胞、特に nest を形成する卵細胞と接し、OMC は nest breakdown を制御する TNF- α を発現した。超微形態観察において、OMC と接する卵細胞には圧迫された細胞質や空胞変性がみられ、卵細胞死が示唆された。PO において、nest を形成する卵細胞数は MRL で B6 よりも有意に少なく、一方、一次卵胞数は MRL で B6 よりも有意に多かった。また、卵胞形成マーカー遺伝子群の発現も MRL で B6 よりも高かった。PO において、MRL の OMC 数は nest を形成する卵細胞数と有意な正の相関を示した。以上の結果から、肥満細胞は PO の MRL 卵巣において他の臓器、時期、系統よりも多く出現することが明らかとなり、TNF- α 等の液性因子を介して nest breakdown に関与する可能性が見出された。

7 ヒト射出精液中精子の頭部形態と DNA 切断の関連性について

渡邊 誠二¹、張 賀晃²、谷 利樹¹、外崎 敬和¹、下田 浩¹
弘前大学大学院医学研究科生体構造医学講座¹、弘前大学医学部医学科²

【背景】近年、不妊治療が盛んになり質の高い精子を選択する有効な形質の検索が続いている。そこで、精子頭部のサイズと DNA 切断の関連を調査し、DNA 切断精子のリスクを減らす頭部形態形質の検索を行った。

【方法】本学付属病院産婦人科不妊外来を受診した男性 7 名 (WHO1999 正常基準) の精液で次の検討を行った。1) 4%ホルマリン固定後に 2%ギムザ液で染色した精子塗抹標本で 100 精子の頭部幅及び長さを計測した。WHO 基準に基づき頭部の大小により精子を 9 群に分類した。2) 同様の標本上で、TUNEL 法により DNA 切断を検出し、DNA 切断精子 100 個について頭部幅及び長さを測定し、各頭部形態の DNA 切断率を算定した。

【結果】1) 7 名の正常頭部比率は有意差 (P<0.05) をもって高頻度グループ①と低頻度グループ②に分けられた。2) グループ①では正常頭部の DNA 切断リスクが低く、グループ②では DNA 切断リスクが高かった。同時に、グループ②では小型頭部が多数出現し、正常精子の DNA 切断率と相関する可能性が示唆された。一方、全サンプルで細めの頭部に DNA 切断が少ないことが判明した。

【結論】グループ①及び②の間では不妊治療の成績に差が出る可能性が考えられ、臨床成績との比較が重要であった。グループ②に見られた高頻度の小型頭部は、簡便に精液の質を判定できる指標となり得る。現在は WHO の基準に従い正常頭部精子が良質と考えられているが、今回の結果はこれを支持しなかった。

8 正常ヒト皮膚線維芽細胞からの Schwann 細胞の誘導

○村上 徹¹、若尾 昌平¹、出澤 真理^{1,2}
東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学分野¹、人体構造学分野^{1,2}

Schwann 細胞は末梢神経の軸索を形成する末梢性グリア細胞であり、軸索のミエリンを形成するだけでなく、神経線維の伸長を促進することが知られており、末梢神経障害に対する細胞移植治療への利用が期待されている。しかし、患者の Schwann 細胞を得るためには末梢神経組織を採取する必要があり、自家神経移植と同様の問題がある。また、Schwann 細胞を初代培養する際に線維芽細胞が大量に混入し、Schwann 細胞の純粋培養は容易ではない。以上の背景から、当研究室では骨髄間葉系細胞や臍帯間葉系細胞からの Schwann 細胞の誘導が行われてきた。ラットやサルへの移植実験から、これらの誘導された細胞が in vivo でミエリンを形成し、切断された末梢神経の再生を促進する作用があることが確認されている。

本研究では、骨髄や臍帯と比較しても、採取に際して侵襲がより少なく、皮膚生検のサンプルなどからも採取できる正常ヒト皮膚線維芽細胞からの Schwann 細胞の誘導を試みた。これまで行われてきた方法と同様に、正常ヒト皮膚線維芽細胞に β メルカプトエタノールとレチノイン酸を用いた後、サイトカイン処理をすることにより、Schwann 細胞に特異的な複数のマーカーの発現が、免疫細胞化学(GFAP, p75, S100, P0, O4)および RT-PCR(P0, S100B, Sox10, Krox20)で確認された。

9 小脳プルキンエ細胞におけるイプシロン型ジアルグリセロールキナーゼの発現局在および行動解析

○八月朔日 泰和¹、藤原 浩樹²、金子 健也²、藤井 聡²、後藤 薫¹
¹山形大学医学部解剖学第二講座
²山形大学医学部生理学講座

ジアルグリセロール (DG) 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 DG 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。DGK アイソザイムのうちイプシロン型 DGK (DGK ϵ) は、グリセロール骨格の sn-3 にアラキドン酸を含む DG を特異的にリン酸化する特徴を有し、イノシトール 脂質代謝系と密接な関連を持つ。本研究では、DGK ϵ の特異抗体を製作し、豊富な発現を示す小脳プルキンエ細胞における細胞内局在について、共焦点レーザー顕微鏡および電子顕微鏡を用いた免疫組織化学的解析を行った。また、協調運動機能への DGK ϵ の関与を検討するため、DGK ϵ -KO マウスを用いてロータロッド試験 (回転棒試験) を行った。

ラット小脳蛋白のウェスタンブロット解析において、DGK ϵ 特異抗体は細胞膜および内膜系を含む画分に、推定分子量付近に単一バンドを検出した。次に、DGK ϵ の神経細胞における詳細な細胞内局在を明らかにするため、関連分子抗体を用いた蛍光多重染色による共焦点レーザー顕微鏡解析を施行した。その結果、DGK ϵ 免疫反応はプルキンエ細胞の樹状突起、軸索および細胞体に顆粒状構造物として検出された。これらの DGK ϵ 免疫反応は、1 型イノシトール三リン酸受容体 (IP3R1) の免疫反応の多くと共存を示した。更に、DGK ϵ はエンドカンナビノイドである 2-アラキドノイルグリセロールの産生酵素ジアルグリセロールリパーゼ- α (DGL α) と、プルキンエ細胞の樹状突起において近接して局在することが明らかとなった。包埋前金コロイド銀増感免疫電子顕微鏡法を施行したところ、DGK ϵ はプルキンエ細胞の樹状突起形成膜直下の滑面小胞体である subsurface cisterna (表面下槽) 内部に検出された。またロータロッド試験による行動解析では、DGK ϵ -KO マウスは野生型マウスに比べ、協調運動の学習能力が低下していることが明らかとなった。

以上より、DGK ϵ は小脳プルキンエ細胞の subsurface cisterna に局在し、カルシウムチャンネルである IP3R1 やエンドカンナビノイド産生酵素である DGL α と密接な関連をもつ小脳機能に関与する可能性が示唆された。

10 マウス線条体における Neuroigin-3 の免疫組織化学的分布

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

Neurexin と Neuroigin (NL) は、それぞれプレシナプス膜およびポストシナプス膜に発現し、シナプス間隙にて互いに結合し合うことでシナプス形成を促進する。このうち、NL は NL1-4 までが同定されており、NL1 は興奮性シナプス、NL2 は抑制性シナプス、NL4 はグリシン作動性シナプス特異的に発現することが報告されている。一方、NL3 については、組織切片を用いた詳細な発現解析の報告はほとんどない。そこで本研究では、成体マウス線条体における NL3 の発現分布を分子解剖学的手法を用いて解析した。NL3 に対する特異的抗体を製作し、線条体にて蛍光免疫染色を行ったところ、NL3 の免疫反応はニューロピル領域に点状の分布を示し、興奮性終末と抑制性終末のいずれの分子マーカーとも近接した位置関係を示した。包埋後免疫電子顕微鏡法では、蛍光免疫染色の所見と一致するように、NL3 の免疫反応は興奮性および抑制性シナプスのいずれのポストシナプス膜において認められ、その分布密度は抑制性シナプス<興奮性シナプスであった。さらに、NL2 を欠損したマウスにおける NL3 の発現変化を検討したところ、NL3 の顕著な発現亢進が抑制性シナプスにおいて認められた一方、そのような発現亢進は興奮性シナプスにおいて観察されなかった。以上の結果から、NL3 は興奮性および抑制性シナプスのいずれにも発現することによってそれぞれのシナプスの形成に関与するだけでなく、他の NL family の代償作用も兼ね備えることでシナプス形成の恒常性維持に寄与することが示唆される。

11 肺魚嗅覚系における NCAM 抗体陽性細胞の局在

○中牟田 祥子^{1,2}、山本 欣郎^{1,2}、谷口 和之³、中牟田 信明^{1,2}岩手大学農学部獣医解剖学研究室¹、岐阜大学大学院連合獣医学研究科基礎獣医学連合講座²、岩手大学農学部³

多くの脊椎動物は、主嗅覚系と副嗅覚系、2つの嗅覚系を持ち、嗅上皮から出た軸索は主嗅球へ、副嗅球から出た軸索は副嗅球へ、それぞれ投射する。副嗅球は系統発生的に魚類と両生類の間で出現したと考えられている。肺魚は両生類に最も近い魚と言われるが、その嗅覚系には四足動物の副嗅球に似た陥凹部上皮と、副嗅球に相当する嗅球腹外側部が存在する。神経細胞接着因子である NCAM は、ほとんどの神経細胞の細胞膜に発現し、哺乳類の嗅覚系では嗅細胞と副嗅球細胞の両方に発現がみられる。本研究において我々は、肺魚の嗅覚系における NCAM の発現が、組織内で占める位置によって細胞ごとに異なることを見出した。肺魚脳のウェスタンブロット解析では、120 kDa と 140 kDa の位置にバンドが検出された。細胞体が NCAM 抗体に陽性の細胞は、陥凹部上皮の基底部と、ラメラの辺縁部に位置する嗅上皮に偏在し、ラメラの中央部には見られなかった。細胞増殖マーカーであるホスホヒストン H3 に陽性の細胞も、陥凹部上皮とラメラの辺縁部に観察され、未成熟なニューロンのマーカーである GAP43 は、嗅球と嗅覚器の両方で NCAM とよく似た染色像を示した。これらの結果は、本研究で用いた NCAM 抗体が肺魚において 120 kDa と 140 kDa、2つのアイソフォームを認識し、それらは未成熟な感覚細胞の細胞体に発現するが、成熟した感覚細胞の細胞体には発現しないことを示しており、嗅球における NCAM 陽性糸球体の分布は、陥凹部上皮の基底部とラメラの辺縁部に位置する未成熟な感覚細胞の軸索投射を反映していることが示唆された。

12 哺乳動物の腸の粘膜固有層に存在するビタミン A 貯蔵細胞の形態と機能

今井克幸¹、目崎喜弘¹、森井真也子²、蛇口琢²、吉野裕顕²、三浦 光隆¹、妹尾春樹¹、¹秋田大学大学院医学研究科細胞生物学講座、
²秋田大学大学院医学系研究科小児外科学講座

腸の粘膜固有層は疎水性結合組織であり、多彩な細胞成分が存在している。ヒトをふくむ哺乳類においては生体のビタミン A の総量の約 80% は肝臓星細胞に貯蔵されていることが知られている。脊椎動物を系統発生的に解析すると、魚類では肝臓以外にも、鰓、消化管、幽門垂、腎臓などに高濃度にビタミン A を貯蔵している。そこで、哺乳動物の消化管においてもビタミン A を貯蔵できる細胞が存在するのか、さらにその細胞の形態と機能を明らかにする目的で本研究をおこなった。レチニールパルミテートをラットに皮下注射、あるいは胃チューブにより投与した。皮下注射群のラットでは、ビタミン A は肝臓星細胞以外に、腸の粘膜固有層の細胞にも取り込まれ貯蔵された。経口投与群のラットでは、ビタミン A は腸粘膜吸収上皮細胞により吸収され、ついで粘膜固有層の細胞に取り込まれ、貯蔵された。これらの細胞は、脂質滴にビタミン A を貯蔵していた。この細胞形態は肝臓のビタミン A 貯蔵細胞（肝臓星細胞）によく似ていた。

以上の結果は、この小腸粘膜固有層の細胞はビタミン A を、消化管からの吸収によっても、また大循環からも取り込み、貯蔵する能力を持つことを示している。つまり、哺乳動物でも肝臓以外に小腸にビタミン A を取り込み貯蔵する細胞が存在し、生体内ビタミン A の恒常性維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

13 発現分子によるパイエル板 M 細胞のサブタイプ解析

木村 俊介、木村 恵、テイ・ビョウ、岩永 敏彦
北海道大学大学院 医学研究科 組織細胞学分野

M 細胞は腸管のリンパ性器官であるパイエル板上皮に存在し、管腔内の抗原を取り込み、粘膜免疫応答の開始に働く特殊な細胞である。上皮細胞と免疫応答開始機構の関係を理解するために重要であるだけでは無く、ワクチン開発など応用面でも着目されているが、その分化機構は明らかになっていないことが多い。M 細胞はパイエル板上皮のおよそ 10% 程度しか存在しておらず、従来の組織切片では解析が困難であった。本研究では M 細胞を効率良く解析する研究手法の開発を行った。

パイエル板上皮を EDTA 処理後機械的に剥離することで単層の上皮シートの状態の標本を作成する。これによって幹細胞が分化・増殖する陰窩から、上皮細胞の寿命が終わる頂部まで FAE 全体を一度に観察することが可能である。本方法を用いて二種類の M 細胞発現分子 M-Sec と Gp2 の分布を調べたところ、M 細胞には M-Sec、Gp2 両陽性細胞と M-Sec 陽性 Gp2 陰性細胞の 2 つのサブセットが存在していることが明らかになった。後者の Gp2 陰性細胞はより陰窩に近いところで観察でき、管腔内に投与した蛍光ビーズの取り込み能が前者の陽性細胞に比べて低いことから、未成熟な M 細胞であると考えられる。本方法は今後の M 細胞の機能と分化機構の解析に大きく貢献することが期待できる。

14 マウスパイエル板 M 細胞における Epidermal fatty acid binding protein (E-FABP/FABP5) 発現と腸内細菌叢変化

鈴木良地・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

マウスパイエル板 M 細胞における Epidermal fatty acid binding protein (E-FABP/FABP5) 発現は腸内細菌叢の変換期である生後 16 日から 19 日の間に激増する。また、この時 M 細胞はビオチン標識 IgA 取り込み能を獲得する。(第 117 回、118 回解剖学会総会)。ovalbumin (OVA) 1mg をアジュバンド oligodeoxynucleotides containing immunostimulatory CpG motifs (CpG-ODN: TCCATGACGTCCTGACGTT) 50µg とともに 250µl saline に溶解し成獣 C57BL/6 マウスに経口投与することで OVA 特異的 IgA を誘導できる (Alignani D., et al. J Leukocyte Biol. 2005)。特異的 IgA が誘導されると OVA と巨大な複合体を形成し、M 細胞への取り込み効率は低下した。

これが腸内細菌叢形成に影響を与えるか検証した。野生型 C57BL/6 と同一の飼育環境で育った E-FABP ノックアウトマウスそれぞれの糞便を材料に腸内細菌叢のメタゲノム解析を行った。16S ribosomal RNA 遺伝子の種特異的変異部位を Tag 付 PCR product として増幅し、Gs Junior (Roche) によりシーケンスを行いデータベース上の配列と比較した。野生型と比較して E-FABP ノックアウトマウスの糞便中では *Lactobacillus acidophilus* が増えていた。*Lactobacillus acidophilus* を認識する分子である DC-SIGN 発現は免疫染色で E-FABP ノックアウトマウス M 細胞において低下傾向にあり、ウェスタンブロットで 24kDa のスプライシングバリエーションに相当するバンドが増強した。E-FABP 発現による DC-SIGN 転写制御が腸内細菌叢決定のメカニズムの一つであることが考えられた。

15 マウスにおける十二指腸空腸曲形成機序の解析

○尾之内 佐和、市居 修、大塚 沙織、昆 泰寛
北海道大学 大学院獣医学研究科 比較形態機能学講座 解剖学教室

腸管は直線状の管から劇的な形態変化を経て形成され、その形成過程は遺伝的に制御されると考えられる。本研究では、腸管屈曲形成機序の解明を目的とし、胎子期の十二指腸空腸曲(DJF)形成過程の観察及び形成関連候補遺伝子の検索を行った。

供試動物として C57BL/6 マウスを用いた。形態的に、生後個体(0-50 日齢)の腸管走行は同齢間で完全に一致しなかったが、胎子では同胎齢間で一致した。特に DJF は全個体で共通する屈曲部位であり、後の解析対象とした。膨化期 DJF(胎齢 10.75 日)では、腸管径が増加し、屈曲はなかった。腸壁間葉細胞の形態は DJF 内外側予定域で異なり、細胞増殖は屈曲方向で活発だった。屈曲形成期 DJF(胎齢 11.25-11.75 日)は腸管前後軸を軸として回転し、胎子背側方向に屈曲した。DJF 外側の腸壁の間葉細胞及び中皮細胞は内側よりも扁平で、その長軸は腸管前後軸に沿った傾向にあり、細胞増殖は活発だった。屈曲伸長期 DJF(胎齢 12.75-13.75 日)は後方から左側前方へ伸長した。観察期間を通じて、背側腸間膜による牽引力が屈曲形成へ関与する可能性は低いと考えられた。遺伝子解析では、形態形成に関与するシグナル経路関連遺伝子について、多くが DJF 内外側予定域で発現量が高い傾向にあった。特に、Retinoid 経路及び Hedgehog 経路関連遺伝子は屈曲軸に沿った発現勾配を示し、DJF 形成部位で検出された。

以上より、DJF 形成には、膨化期から屈曲形成期における腸壁の細胞形態、細胞増殖、及び収縮伸長強度の DJF 内外側予定域における差が原動力となると考えられ、その分子メカニズムとして Retinoid 経路及び Hedgehog 経路の関与が示唆された。

16 Identification of microRNAs expression profile in Muse Cells

Mozhdeh Bagheri, Hideo Akashi, Fumitaka Ogura, Makoto Nojima, Yasumasa Kuroda, Toru Murakami, Mari Dezawa

Multilineage differentiating stress enduring cells, termed Muse cells are new member of pluripotent adult stem cells. Muse cells are non-tumorigenic type of stem cells, capable of differentiating into multiple cell types of the three germ layers. Muse cells may therefore serve a pivotal role in the cell-based therapy.

MicroRNAs are a class of post-transcriptional regulators with short nucleotide (~ 21-23) length that play important roles in most biological processes in the early development of mammals including the formation of the hind limb and differentiation of hematopoietic stem cells. Therefore, we hypothesized Muse cells express different microRNAs for their unique characteristics.

17 三次元積層培養法で作製したヒト培養組織における脈管ネットワークの組織学的評価

○藤田朋之¹、浅野義哉¹、松崎典弥²、西口昭広²、岡野大輔¹、齊藤絵里奈¹、明石満²、下田浩¹
 弘前大学大学院医学研究科神経解剖・細胞組織学講座¹
 大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻分子創成化学コース有機工業化学領域²

三次元積層培養法では、細胞外マトリクスの成分であるフィブロネクチン、コラーゲンの薄膜をヒト培養細胞にコーティングすることにより、高度な組織構築を伴った三次元積層培養組織の構築が可能である。我々は、臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)あるいは皮膚由来リンパ管内皮細胞(HMVEC-dLy)を皮膚由来線維芽細胞の積層間で培養することで、血管およびリンパ管のネットワークをそれぞれ構築した。今回は、これらの微細構造を光学顕微鏡および電子顕微鏡解析により評価した。その結果、積層培養組織においてHUVECは毛細血管様の管腔構造を形成し、接着装置を伴う内皮細胞間結合が確認された。内皮細胞膜には豊富な小胞様構造がみられ、この脈管構造の周縁には基底膜様構造が存在した。免疫組織化学的検討では、血管様構造周縁にラミニンが分布し、基底膜の形成が強く示唆された。さらにその周囲には線維芽細胞間に細線維を含有する細胞外マトリクスが分布していた。また、HMVEC-dLyによる脈管構造では、より不規則な管腔の形態、少ない小胞様構造、内皮細胞間における乏しい接着構造あるいは離開等、毛細血管様の特徴を有していた。以上により、本積層培養組織による脈管網形成モデルでは、細胞外マトリクスを伴う間質の中に形成された血管ならびにリンパ管のネットワークが *in vivo* でみられる毛細血管・リンパ管に相同性を示す機能形態を形成することが判った。

18 セロトニンによるラット頸動脈小体細動脈平滑筋における細胞内Ca²⁺濃度変化

○横山拓矢^{1,2}、中牟田信明^{1,2}、日下部辰三³、山本欣郎^{1,2}
 岩手大学・農学部・獣医解剖学研究室¹、岐阜連合大学大学院・連合獣医学研究科・基礎獣医学講座²、国土館大学・体育学部・スポーツ医科学科³

【目的】頸動脈小体(CB)の化学受容活性はセロトニン(5-HT)により興奮性に調節されている。我々は、CBの化学受容細胞と血管周囲の交感神経に5-HT合成酵素(TPH1)、5-HT輸送蛋白(SERT)が存在することを示した。このうち交感神経の5-HTは、CB内の細動脈収縮による血流低下を介して化学受容機能を増強していると考えられる。本研究では、頸部交感神経幹の低酸素応答を調べると共に、CB内の血管に対する5-HTの作用を細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)を指標として解析した。また、前頸神経節におけるTPH1、SERTの遺伝子発現・蛋白局在を探索した。【結果】双極電極によりラット頸部交感神経幹の電気活動を記録して10%酸素を負荷した結果、交感神経幹の発火頻度が増加した。CBから分離した細動脈にCa²⁺指示薬Fluo-4を負荷後、共焦点レーザー顕微鏡下で5-HTに対する血管平滑筋の[Ca²⁺]_i変化を観察した結果、直径20μm以下の細動脈では血管平滑筋の[Ca²⁺]_i上昇が認められ、直径約50μmの細動脈では[Ca²⁺]_i上昇は観察されなかった。一方、交感神経の伝達物質であるノルアドレナリンでは、直径20μm以下の細動脈において[Ca²⁺]_i上昇は認められず、直径約50μmの細動脈において血管平滑筋の[Ca²⁺]_i上昇が観察された。前頸神経節では、RT-PCRによりTPH1、SERT mRNAの発現が認められ、免疫組織化学によって神経節細胞にTPH1、SERTの陽性反応が観察された。【考察】交感神経の5-HTは、CB内の局所的な血流量を低下させることで化学受容活性を増強している可能性がある。

19 細静脈と細動脈の血管平滑筋カルシウム動態に及ぼす神経伝達物質の効果比較

佐々木香奈、平川正人、齋野朝幸、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)

血管の生理学的な研究では、比較的太い動脈から材料が取られていたのが一般的で、血管平滑筋細胞は全て同じ性質を有しているかのように見なされてきた。しかしながら、細動脈平滑筋はその血管径や臓器により、細胞内カルシウム濃度変動([Ca²⁺]_i)に関与し、かなりの相違が認められることが明らかにされてきている。本研究はこれまで研究成果が乏しかった細静脈血管平滑筋の反応性を、細動脈血管平滑筋と比較検討した。【方法】ラット精巣から細動脈と細静脈標本を取り出した。両標本ともCa²⁺感受性蛍光色素 Indo-1/AM (10 μM)を負荷し、カルシウムイメージング法で、各種伝達物質に対する反応性を調べた。【結果】細動脈の紡錘形の平滑筋においては、ノルアドレナリンの効果は限局的かつ一過性であったのに対し、ATPやセロトニンでは全体的な[Ca²⁺]_iの上昇を生じ、持続的な収縮も生じた。一方、細静脈の多角形の平滑筋ではノルアドレナリンにのみ反応が認められ、ATPやセロトニンでは[Ca²⁺]_iの上昇は生じなかった。【考察】全身的に血圧上昇をきたすノルアドレナリンは静脈血管平滑筋の収縮を引き起こすが、ATPやセロトニンは局所的な細動脈収縮により組織内血流の調節に関与すると思われる。また、細静脈の反応性を解析することは、炎症時における extravasation 機構を考える上で重要であろう。

20 Wrist motion and force by combined electrical neuromuscular stimulation to the extensor carpi radialis longus and brevis with the semiprone forearm

Mitsuihiro Nito¹, Wataru Hashizume¹, Makoto Naganuma², Toshiaki Sato³, Katsuhiko Suzuki⁴, Akira Naito¹
¹Dept. Anat., Yamagata Univ. Sch. Med., ²Dept. Phys. Ther., Yamagata Coll. Med. Arts Sci., ³Occup. Ther. & ⁴Phys. Ther., Yamagata Pref. Univ. Health Sci.

Control of wrist motion and force by combined electrical neuromuscular stimulation (ENS) to the extensor carpi radialis longus (ECRL) and brevis (ECRB) with the semiprone forearm were examined in four normal human subjects (male, 21-29 years). For ENS, rectangular pulses (0.2 ms width, 20 Hz, 0-20 V) were delivered with bipolar intramuscular wire electrodes. The maximum contraction provoked by ENS to each of ECRL and ECRB (stimulation intensity: 100%) produced wrist-bending motion to the maximum range of motion (ECRL-M, ECRB-M) and force (ECRL-F, ECRB-F). In all subject, simultaneous ENS, in which the intensity was increased from the motor threshold (0%) to 100% in one muscle and that was from 0% to 10-100% in another, induced motion and force in direction between ECRL-M and ECRB-M, and ECRL-F and ECRB-F, respectively. Alternating ENS, in which the intensity was increased from 0% to 100% and kept at 100% in one firstly, that was from 0% to 100% and kept at 100% in another secondly, and that was decreased from 100% to 0% in one thirdly, induced arc-drawing motion and force between ECRL-M and ECRB-M, and ECRL-F and ECRB-F, respectively. The results indicate a possibility that the combined ENS produces every wrist motion and force by changing a pair of wrist extensors and flexors.

21 中耳と内耳の解剖方法の工夫と結果

阿部 寛、金野 直言、金津 嘉徳、石澤 章光、周 明、鈴木 良地
 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

平衡聴覚器の解剖実習において、電動ドリル(ホビー・ルーター)と3種類の刃を各実習班に供給し、外耳道・鼓室上壁・内耳上壁除去併用法(第115回解剖学会総会、学生セッション、秋田大学 金野 直言)を用いて実習を行った。必要な観察項目として次の6点を列挙した。1. 鼓膜、2. ツチ骨およびキヌタ骨、3. 鼓索神経(鼓室内)、4. 前庭神経と蝸牛神経、5. 半規管、6. 蝸牛ラセン管。33体(66側)に対して各項目ごとに学生が観察できた割合を評価した。実習中は市販の平衡聴覚器のモデル、3次元プリンターによる平衡聴覚器の透視模型、パソコン上に実習手順を常に供覧した。その結果、午後2回の実習(約8時間)で、鼓膜、ツチ骨・キヌタ骨、蝸牛の少なくとも一部を観察できた割合は7割を超えていた。しかし前庭神経と蝸牛神経とを分離できたのは4分の1程度(27.4%)に留まり、鼓室内の鼓索神経や、蝸牛軸すなわち2階建て以上の断面の見える蝸牛ラセン管の観察は3分の1程度に留まった。また少なくとも1個の半規管を観察した割合は約半数(54.8%)に達したが、総脚または半規管を2本以上観察できたのは3分の1程度に留まった。

ドリルの使用と外耳道・鼓室上壁・内耳上壁除去併用法により、2回の実習で一定の成果を得たが、今後はこれら約3分の1しか観察できなかった項目について、より丁寧な指導が必要であろう。

22 献体を用いた手術手技研修プロジェクトの歩みと将来展望

辰巳治之¹、藤宮峯子²、名越 智³、鈴木大輔³、安宅弘司²、永石和伸²、松村博文²、内山英一⁴、二宮孝文¹、市川量一¹、新見隆彦¹、菊池真¹
 札幌医科大学 医学部 解剖学第一講座¹、解剖学第二講座²
 生体工学・運動器治療開発講座³、保健医療学部 理学療法学講座⁴

H15年からの早期献体による医学・医療発展の為の新たな教育・研究及び臨床研修の試みは、H18年文科省プロジェクトとして「未固定凍結標本を用いた手術解剖教育の確立(代表:村上)」が採択された。社会的評価も高く、良い成果を上げながらも、その後プロジェクトを提案するも不採択であった。それは安全安心医療実現の為の医師による献体利用は、医学・歯学教育の向上に資することを目的とした「献体法」の枠組みでは、違法性阻却事由としてはグレーと言われたからで、外科学会も積極的でないと指摘があった。行政解釈よりも民意が重要であるとの助言を得て、H20年に市民フォーラムで強い支持を受け、厚生労働科学研究班が組織された。その成果を受けて、全国医学部長・病院長会議においても検討ワーキングが設置され、H24年には、外科学会・解剖学会にて「臨床医学の教育及び研究における死体解剖のガイドライン」が承認された。そして厚生労働省から「実践的な手術手技向上研修事業実施団体」が公募され、スタート地点に辿り着いた。しかし、解剖学教室への負担増や、諸々の問題は解決できていない。例えば、安全・安心医療に対する社会的ニーズが高くなかで、公募による単年度予算で毎年続けて行くには限界があり、継続するための別の枠組みが必要と考える。まずは、厚生労働省で採択された各実施団体を中心に、現状の問題点を把握し、今後の方向性の議論等が必要であろう。札幌医科大学では整形形成外科を中心に卒後研修サークルトレーニング準備委員会を組織し、これらの現場のニーズから課題解決型医療機器開発などが重要な要素として浮かび上がってきた。

23 分界条床核に投射するノルアドレナリンニューロンの神経化学的特徴解析

○長路 敬太、渡辺雅彦

北海道大学医学研究科解剖学講座産生学分野

神経化学特性の研究進展に伴い、モノアミンや神経ペプチドなどの神経調節性の伝達物質は、グルタミン酸や GABA などのアミノ酸系神経伝達物質と共放出されることが理解されつつある。ノルアドレナリン (NA) ニューロンは、不快情動生成に関与すると考えられている分界条床核 (BST) へ密な投射線維を送り、その機能を制御していることが薬理学、行動学的手法によって明らかにされている。しかし、分界条床核に投射する NA ニューロンの神経化学的特性については不明な点が多い。そこで本研究では、逆行性神経標識法に蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法を組み合わせたことにより、BST に投射する NA ニューロンにおける神経化学的特性を解析した。まず、BST に逆行性トレーサーであるコレラトキシン B サブユニット (CTB) を注入したところ、脳幹 NA 細胞群が分布する A1, A2 領域において CTB 標識されたニューロンが確認された。CTB 標識されたニューロンにおいて蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションを行ったところ、過去の報告に合致して、A1, A2 いずれの領域においても NA 合成に必要な dopamine β hydroxylase (DBH) mRNA が検出された。さらに、A2 領域の CTB 標識ニューロンでは、グルタミン酸の小胞充填に関わる 2 型小胞膜グルタミン酸トランスポーター (VGLUT2) mRNA も検出された。一方、GABA 伝達に関わるグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD67) mRNA は検出されなかった。そこで、DBH と VGLUT2 の発現が確認された A2 領域において蛍光二重 *in situ* ハイブリダイゼーションを行ったところ、多くのニューロンで DBH mRNA と VGLUT2 mRNA の共発現が確認されたが、両者の発現強度には逆相関性が認められた。以上の結果から、A2 領域に分布する NA ニューロンは、BST に対して NA 伝達のみならずグルタミン酸伝達も行うが、個々のニューロンレベルでは一方の伝達の強いニューロンでは他方の伝達は弱く抑制されていることが示唆された。

24 マウス脳におけるグルタミン酸受容体 GluD1 の細胞選択的およびシナプス選択的発現

今野幸太郎¹⁾、柚崎通介²⁾、渡辺雅彦¹⁾北海道大学医学研究科 解剖学産生学分野¹⁾、慶應義塾大学医学部 神経生理学分野²⁾

デルタ型グルタミン酸受容体はイオンチャネル型グルタミン酸受容体に属し $\delta 1$ 型 (GluD1) および $\delta 2$ 型サブユニット (GluD2) により構成されている。GluD2 は小脳プルキンエ細胞に限局して発現し、平行線維-プルキンエ細胞間シナプスの形成と維持に重要な役割を担っている。一方、脳内における GluD1 の分布やシナプス局在および機能については不明である。今回、我々は *in situ* hybridization 法による細胞発現、GluD1 に対する特異的抗体を作製しマウス脳内における局在を蛍光抗体法および免疫電顕法を用いて検討した。*In situ* hybridization を行った結果、GluD1 mRNA は脳内に広く発現し海馬ではグルタミン酸作動性ニューロンに小脳では GABA 作動性介在ニューロンに強いといった細胞種選択的な発現が認められた。GluD1 タンパク質は mRNA の発現パターンと同様に脳内に広く分布し、特に大脳皮質や大脳辺縁系(海馬、扁桃体中心核、中隔、分界条床核)、小脳分子層に強かった。海馬では、嗅内野皮質からの投射を受ける網状分子層に豊富に認められた。続いて、小脳における GluD1 に着目しその局在を蛍光抗体法および免疫電顕法を用いて検討した。光顕および電子顕微鏡により、小脳分子層において GluD1 は平行線維-介在ニューロンの細胞体シナプス後膜にほぼ限局して局在することが明らかとなった。最後に、GluD1 が GluD2 と同様にシナプス形成能を持つかどうかを調べる目的で、GluD1 遺伝子欠損 (GluD1-KO) マウスを用いて介在ニューロンにおける細胞体シナプス数の変化を光顕および電顕レベルで検証した。光顕レベルでの検証では、介在ニューロンマーカーとして parvalbumin、平行線維終末マーカーとして vesicular glutamate transporter 1 (VGLUT1)、シナプスマーカーとして bassoon を用いて免疫染色を行った。GluD1-KO マウスでは wild-type マウスと比較して parvalbumin 陽性介在ニューロンの細胞体に近接する VGLUT1(+) bassoon(+) puncta が明らかに減少していた。電顕レベルにて介在ニューロンの細胞体における非対称性シナプス数を測定した結果、GluD1-KO は WT に比べ約半分にまで減少していた。以上の結果より、GluD1 は GluD2 と同様に、細胞種選択的・入力選択的に発現し、シナプス形成を促進する働きを持つことが示唆された。

25 ラット軟口蓋、喉頭蓋及び咽頭における TRPM8, TRPV1, TRPV2 の分布

佐藤 匡、佐々木 里香、藤田 雅俊、狩野 充浩、澤浦 亮平、鈴木 敏彦、市川 博之
東北大学大学院 歯学研究科 口腔器官構造学分野

一部の transient receptor potential (TRP) ionchannel は温度刺激に反応するセンサーとして、脊髄神経や三叉神経における一次感覚ニューロンに含まれている。TRPM8 は 8~28℃の冷刺激やメントール刺激により活性化することが知られている。一方、TRPV1 は 43℃以上の熱刺激、カプサイシンや酸による刺激により活性化し、TRPV2 は 52℃以上の熱刺激や機械刺激により活性化することが知られている。本研究では、ラット軟口蓋・咽頭・喉頭及び喉頭蓋における TRPM8, TRPV1 ならびに TRPV2 の分布を免疫染色により調べた。

TRPM8 は軟口蓋における小唾腺管・喉頭蓋の喉頭側粘膜及び喉頭粘膜における上皮細胞に観察された。TRPV1 を含む細胞は観察されなかった。しかし、TRPV2 は咽頭や喉頭蓋上皮内や上皮下の樹状細胞と喉頭の上皮細胞に豊富に認められた。一方、TRPM8 を含む神経線維は口腔と咽頭との境界領域で豊富であったが、それ以外ではまれであった。TRPV1 を含む神経線維は軟口蓋、咽頭、喉頭蓋、喉頭の上皮下や上皮内に多く観察された。咽頭や喉頭蓋には TRPV2 を含む樹状細胞の長い突起が上皮内や上皮下に多数存在したため、咽頭や喉頭蓋における TRPV2 を含む神経線維の分布は明らかではなかった。しかし、軟口蓋の一部においては、TRPV2 を含む樹状細胞はまれで、TRPV2 陽性神経線維が上皮内に侵入していることが確認された。

以上の結果から、TRPV1、TRPV2 ならびに TRPM8 が咽頭及びその周囲組織における侵害受容に関与している可能性が示唆された。

26 下垂体前葉 ACTH 細胞における K_{ATP} チャネル分子の局在

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

下垂体前葉 ACTH 細胞において、どのような分子構成の K_{ATP} チャネルが発現するか検討した。RT-PCR により、ラット下垂体に Kir6.1、Kir6.2、SUR1、SUR2A および SUR2B のバンドを明瞭に検出した。免疫組織化学では前葉の内分泌細胞にこれら 5 種のサブユニットを検出した。SUR2A と SUR2B は C 末端の 42 個のアミノ酸のみ異なる splicing variant であるが、我々が初めて作成した特異抗体を用いて区別した。

蛍光二重染色で ACTH およびサブユニット分子 (Kir6.2、SUR1、SUR2A および SUR2B) との共存を検討した。ACTH と共存するのは主に Kir6.1 と SUR2B であり、Kir6.2 と SUR2A もわずかに共存した。さらにサブユニットどうの共存では、Kir6.2/SUR2A と Kir6.1/SUR2B の少なくとも 2 種類の分子構成の K_{ATP} チャネルが発現すると考えた。2 組の蛍光二重染色のデータを含めると、ACTH 細胞では主に Kir6.1/SUR2B チャネルが発現し、Kir6.2/SUR2A チャネルは、一部の ACTH 細胞のみに発現すると考えた。またこれらのサブユニットの分子発現は、その代謝の機能状態を反映する可能性が示唆された。

27 硬骨魚類マスノスケの上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】硬骨魚類は多生歯性であるが、その歯の交換様式はよく分かっていない。演者は昨年日本解剖学会第 58 回東北・北海道連合支部学術大会において、硬骨魚類のマスノスケ(サケ目サケ科)の下顎歯の交換について Edmund (1960) が提唱する Zahnreihen theory の観点から報告した。今回、演者はマスノスケの上顎歯の交換について探索し、下顎歯の交換と比較し検討を行った。

【方法】札幌市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 匹を用いた。上顎骨を採取後、固定・脱灰し、パラフィン包埋した。上顎骨は前頭断・水平断方向から厚さ 5 μ m 間隔の連続切片を作成し、HE 染色を行った。得られた連続切片は光顕観察し、歯の発生過程によって 6 段階に分類した。観察した歯は、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に記入した。

【結果と考察】歯と歯胚は唇側と舌側の 2 つの歯列で観察され、唇側には歯が、舌側には歯胚が観察された。口腔内に萌出している歯は左・右側とも 22~26 歯であった。歯の交換の表から、歯の位置とその発生段階の間には、ほぼ 3 歯間隔で歯が交換する Zahnreihen が認められた。これら Zahnreihen と下顎歯で見られたそれらとはほぼ同様であった。

【結論】体長 (SL) 148~165 mm のマスノスケの上顎歯は下顎歯と類似する規則性をもって交換している可能性が示唆された

28 骨発生・成長における石灰化過程の解析

○逸見晶子¹⁾、大方広志²⁾、穴田貴久³⁾、三上靖人¹⁾、鈴木治³⁾、笹野泰之¹⁾東北大学 大学院歯学研究科
顎口腔形態創生学分野¹⁾、歯内歯周治療学分野²⁾、顎口腔機能創生学分野³⁾

【目的】骨発生・成長における石灰化過程については知見が乏しい。本研究では、胎生期および生後成長期のラット頭蓋骨を対象に、骨基質を構成する元素 (Ca, P, C) の分布と相対的濃度及び結晶の構造を解析し、骨の石灰化過程を検討することを目的とした。

【方法】胎生 16、18、20 日齢、生後 1、6 週齢のラットを浸漬または還流固定し、頭部を試料とした。試料を非脱灰で凍結包埋して頭蓋骨前部に至るまで前頭方向に切片を作製し、組織学的に検討した。切片を得た凍結包埋試料を凍結乾燥し、断面を対象に分析走査電子顕微鏡 (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。さらに、X 線回折 (XRD) により、各発生・成長段階のラット頭蓋骨基質に沈着した石灰化物の結晶構造を解析した。

【結果】組織切片上で、胎生 16 日に頭蓋骨の形成が認められた。SEM-EDX による分析では、骨組織に一致して Ca と P の集積が見られ、その他の部位に C の集積が見られた。骨基質における元素濃度比 Ca/P は胎生 16 日で低く、発生・成長に伴い上昇する傾向が見られた。また、C/Ca、C/P は胎生 16 日が高く、胎生 18 日以降は低下した。さらに、XRD による結晶構造解析では、胎生 16 日以降生後 6 週に至る過程で骨基質に沈着した石灰化物が非晶質リン酸カルシウムから低結晶性のアパタイトに成熟することが示された。

【結論】ラット頭蓋骨は発生・成長過程で、Ca/P の上昇および有機質の相対的な減少を伴いながら石灰化が進行し、石灰化物は非晶質リン酸カルシウムから低結晶性のアパタイトに成熟する。

29 子ウシ浅趾屈筋腱の構造解析

林 瑞木、美名口 順、○竹花一成
酪農学園大学 獣医学群 組織解剖学

【背景と目的】近年、子ウシにおいて原因不明の起立不能症が増加しており、運動器、特に腱の機械的障害によると考えられている。そこで本研究では子ウシの後肢浅趾屈筋腱の基本構造を明らかにすることを目的とした。【材料・方法】健康な子ウシより右後肢浅趾屈筋腱の3部位（筋腱接合部、中足骨中央部、腱骨付着部）を採取し、定法に従い厚切りと超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡で観察した。【結果】腱横断面は特に腱骨付着部と筋腱接合部で大きく、水分含有量は筋腱接合部で他の部位に比べ少なかった。コラーゲン細線維の直径は全体的に細く、腱骨付着部と中足骨中央部では一峰性の分布を示し、筋腱接合部では二峰性の分布を示した。腱骨付着部では直径50 nm以下の細いコラーゲン細線維が多く、筋腱接合部では100 nm以上の太いコラーゲン細線維が多く観察された。【考察】浅趾屈筋腱は筋や骨との付着部において広い面積を有して接着し中間部では狭い形状を示した。これは成ウマの浅趾屈筋腱（watanabe 2008）と同様で長い腱における基本構造であることが明らかになった。しかしコラーゲン細線維の直径分布は成体と比較して全体に細いほうに移動していた。また通常二峰性に観察される直径分布が一峰性であったため、子ウシでは微細構造が十分に完成していないことが示唆された。成ウマでは筋腱接合部で細いコラーゲン細線維直径が多く、腱骨付着部で太いコラーゲン細線維が多く観察されるが、子ウシでは逆であったことも腱の構造が全て完成していないことを示唆するものと考えた。

30 担癌悪液質モデルマウスの骨格筋萎縮過程におけるオートファジーの関与

○安納弘道¹⁾、加藤弘毅²⁾、土橋悠²⁾、片平清昭²⁾、和栗聡¹⁾ ²⁾

1) 福島県立医科大学医学部解剖・組織学講座

2) 福島県立医科大学医療-産業トランスレショナルリサーチセンター

悪液質は複雑な代謝性疾患として捉えられ、著しい骨格筋萎縮を伴う。一方オートファジーは細胞内の大規模な分解機構として知られ、同現象が悪液質に伴う筋萎縮にどのように関連性するかは良く分かっていない。本研究では、ヒト直腸癌組織をマウスに移植した異種担癌動物モデルを確立し、悪液質における骨格筋萎縮とオートファジーの関係について免疫組織学的手法を用い検討した。直腸癌患者より採取した癌組織をNOGマウスの腋窩皮下に移植し、一定期間飼育した。移植癌組織が生着、増殖した5匹について、腓腹筋を摘出し、固定、OCT包埋後、凍結切片を作製した。オートファゴソームマーカーであるLC3、ライソソームマーカーであるLAMP1、オートファゴソーム基質のp62に対する抗体を用いて免疫蛍光染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。担癌マウス群の腓腹筋では対照マウス群に比し、筋線維内により多くのLC3陽性顆粒が認められ、しばしばリング状を呈した。筋線維あたりのLC3陽性顆粒を数えたところ、対照群より担癌マウス群の方が約7倍増加していた（ $p < 0.001$ ）。LAMP1およびp62陽性顆粒数は、対照群より担癌マウス群のほうが多い傾向が認められ、両者とも一部はLC3陽性顆粒と共局在を示した。これらの結果は、オートファジー-ライソソーム分解系が悪液質における骨格筋萎縮に関与する可能性を強く示唆する。

31 ゴルジ局在型クラスリンアダプターGGAsの分布解析

○石塚幹太郎、亀高論、植村武文、和栗聡
(福島県立医科大学 解剖・組織学講座)

ゴルジ体は分泌蛋白質や膜蛋白質を選別する機能を担い、その機構の一つとして積荷蛋白質のクラスリン被覆小胞への積み込みがある。この過程には積荷蛋白質とクラスリンをつなぐアダプター分子の機能が必須である。クラスリンアダプター分子の一種であるGGA (Golgi-associated, gamma adaptin ear containing, ARF binding protein)は、哺乳動物では3つの構造的、機能的に類似した蛋白質 (GGA1-3)として存在するが、個々のGGA蛋白質の生体における特異機能は解明されていない。

そこで本研究では、個々のマウスGGAに対する特異抗体を作製し、マウス個体における組織分布を解析した。まず、低温誘導性プロモーターを用いた大腸菌発現システムを用いて全長のマウスGGA1, 2, 3蛋白質を作製した。GSTアプルダウンアッセイにより、これらリコンビナント蛋白質がマンノース6リン酸受容体のアミノ酸配列 (DXLL) を認識することを確認した。次に、リコンビナント蛋白質を抗原としてウサギに免疫し、各GGAに対する抗体を得た。これら抗体は、免疫蛍光法によりトランスゴルジ網を特異的に染色した。また、RNAi法により各GGA遺伝子を発現低下させたマウス胎児性線維芽細胞を用いてウェスタンブロットを行い、各抗体が内在性GGA1, 2, 3を特異的に認識することを確認した。8週齢の雄C57BL/6Jマウスより大脳、小脳、膵臓、肺、胃、肝臓、脾臓、膵臓、精巣の組織抽出液を調整し、各GGAの蛋白質発現量を半定量的イムノブロット法により解析したところ、GGA1とGGA3は類似した組織発現パターンを示し、大脳、小脳に発現が高かったが、GGA2は胃、膵臓、脾臓に発現が高かった。これらの結果は、GGA1/3とGGA2が特異的な生理機能をもつ可能性を示唆する。

32 DGK ζ 結合蛋白NAP1-like proteinsによるp53を介した細胞周期制御因子p21とアポトーシスの調節

○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。これまでの研究において我々は、新規 DGK ζ 結合蛋白として Nucleosome assembly protein 1-like 1 (NAP1L1) および NAP1-like 4 (NAP1L4) を同定し、これらの過剰発現が DGK ζ の核-細胞質移行を誘導し、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てきた。NAP1L1および NAP1L4は、クロマチンリモデリング、転写、ヒストン修飾などに関与すると考えられている。しかしながら、NAP1L1 および NAP1L4の細胞周期およびアポトーシスに関する機能的役割については、未だ不明な点が多い。今回我々は、NAP1L1および NAP1L4が、p53によって誘導される細胞周期制御因子 p21に対して及ぼす影響を siRNA ノックダウン実験により解析した。NAP1L1をノックダウンした細胞においては、ウェスタンブロット解析により p21発現量が減少することが見出された。この時、WST-1アッセイにて細胞増殖が促進していることが認められた。一方、NAP1L4をノックダウンした細胞においては、p21発現量は増加しており、細胞増殖が抑制されていることが明らかとなった。次にDNA損傷における応答を解析したところ、NAP1L1をノックダウンした細胞では、p21の発現量が増加し、アポトーシスの亢進が起こるのに対して、NAP1L4をノックダウンした細胞では、p21の発現量はあまり増加せず、アポトーシスが抑制されていることが明らかとなった。

33 GnRHアゴニスト持続投与開始直後に生じるラット下垂体前葉性腺刺激ホルモン産生細胞 (LH/FSH細胞) の内膜系小器官の経時変化

○暮地木宙己¹⁾、穂坂正博²⁾、板東良雄³⁾、甲賀大輔⁴⁾、平義樹¹⁾、牛木辰男⁴⁾、渡部剛¹⁾
旭川医科大学 解剖学講座 顕微解剖学分野¹⁾、秋田県立大学 生物資源科学部 応用生物科学科 分子細胞機能研究グループ²⁾、旭川医科大学 解剖学講座 機能形態学分野³⁾、新潟大学大学院 医歯学総合研究科 顕微解剖学分野⁴⁾

私達はこれまで、GnRHアゴニストであるLeuprorelin持続投与1日後に、ラットLH/FSH細胞において管状細網構造をとる特殊な小胞体 (ER patch) が一過性に出現するとともに、ゴルジ装置が断片化することを報告してきた。今回私達は、LH/FSH細胞において同剤持続投与から1日後までに生じる細胞内膜系小器官の変化を、光顕及び電顕免疫組織化学と走査電顕観察により、検討した。

その結果、Leuprorelinを充填した浸透圧ポンプの背部皮下挿入4時間後に、まず、生理的条件下では球状の構築をとるLH/FSH細胞のゴルジ装置が断片化し、細胞内に散逸するのが観察された。続いて、同剤の持続投与開始8時間後には、小胞体シャペロンであるCalnexin (CNX) が同細胞内で斑状に集積するのが観察された。電顕観察では、このCNXの集積は網状の小さな小胞体塊に一致しており、この構造が発達して同剤投与後1日で見られたようなER patchとなることが示唆された。

以上の結果より、これまでLeuprorelin持続投与1日後あるいは去勢手術後早期に観察された細胞内膜系小器官の変化のうち、ゴルジ装置の断片化と分散がまず先行して起こり、その後、管状細網構造をとる特殊な小胞体塊が出現するという、両者の出現時期の差異が明らかになった。このLH/FSH細胞を刺激した後の細胞内小器官の形態変化の時間差は、GnRH受容体刺激と細胞内膜系小器官の構造変化の因果関係を解明していく上で興味深い所見であると思われる。

34 e型ジアシルグリセロールキナーゼの欠損は糖・脂質代謝異常を惹起する

山形大学医学部解剖学第二講座
中野 知之、後藤 薫

肝臓は近年の生活習慣病に代表される様々な代謝疾患の病態発生の場として知られる。肝臓においてジアシルグリセロール (DG) は、トリグリセリド生合成の中間産物であるだけでなく、プロテインキナーゼC ϵ 活性化を介してインスリン抵抗性を惹起するなど、代謝疾患の病態形成における情報伝達因子として重要な役割を果たす。DGキナーゼ (DGK) はDGをリン酸化してフォスファチジン酸に変換する酵素である。本研究ではDGKによる糖・脂質代謝の制御メカニズムを解析するために、DGK ϵ 遺伝子欠損 (DGK ϵ -KO) および野生型 (WT) マウスを高脂肪食もしくは通常食で40日間飼育して表現型の解析を行った。肝臓をオイルレッドOで染色すると通常食摂取食群では脂肪滴沈着の程度に大きな差はないが、高脂肪食摂取食群ではDGK ϵ -KOマウスの肝臓に著しい脂肪滴の沈着が認められた。精巣上体周囲の白色脂肪の重量を測定すると、通常食および高脂肪食群ともにDGK ϵ -KOマウスにおいて顕著な増加が認められた。また、高脂肪食群においてDGK ϵ -KOはWTマウスよりも高い血糖値を示し、ウェスタンブロット解析ではglucose transporter 1のタンパク発現が認められた。本研究により、高脂肪食負荷DGK ϵ -KOマウスでは血糖値が上昇し、脂肪組織と肝臓における脂肪滴の沈着が亢進することが明らかとなった。DGK ϵ は脂質合成の場である小胞体に局在する分子である。特に肝臓では脂質の合成・分解が生体エネルギー代謝機構において重要な役割を果たすことから、DGK ϵ は肝臓や脂肪組織において糖・脂質代謝を制御する可能性が示唆された。

35 慢性腎障害モデルに対する Muse 細胞の治療効果の検討

内田 奈生^{1,3}、黒田 康勝^{1,4}、串田 良裕²、若尾 昌平¹、呉 繁夫³、出澤 真理^{1,2}
 東北大学大学院細胞組織学講座 1、人体解剖学講座 2、小児病態学講座 3
 Texas A&M Health Science Center College of Medicine 4
 当研究室では、未分化ヒトES細胞のマーカーであるSSEA-3を用いて、間葉系細胞から多能性幹細胞であるMultilineage-differentiating stress enduring (Muse) 細胞を同定する方法を確立した。今回、慢性腎障害モデルマウスを作成し、Muse細胞とそれ以外の間葉系細胞 (nonMuse) の腎機能に与える効果の違いを検討した。
 <方法> 細胞: ヒト骨髄間葉系幹細胞由来のSSEA-3陽性 (Muse) 細胞とSSEA-3陰性 (non-Muse) 細胞。動物: 11-13週齢のBalb/cマウスに塩酸ドキシソルピシンを投与し、慢性腎障害モデルを作成した。塩酸ドキシソルピシン投与後7日目に、3群に分け、それぞれMuse細胞 2×10^4 個、nonMuse細胞 2×10^4 個あるいは生理食塩水を尾静脈より投与し、6週後の腎機能の評価した。
 <結果> ドキシソルピシン投与後6週目の血清クレアチニン値、クレアチニンクリアランスは、Muse細胞投与群で他の2群より有意に良好であった。尿タンパク量、血清BUN値に有意差は認められなかった。
 <考察> Muse細胞がnonMuse細胞に比べ、より効果的に慢性腎障害の進展を抑制する可能性が示唆された。

36 ラット脳梗塞モデルに対する新規多能性幹細胞の移植における細胞動態と機能回復の解析

森田隆弘^{1,2}、黒田康勝^{1,4}、若尾昌平¹、松坂義哉³、串田良裕¹、内田浩喜^{1,2}、遠藤俊毅²、富永悌二²、出澤真理¹
 東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学分野1 神経外科学分野2 生体システム
 動物の脳梗塞モデルを用いた移植実験は、骨髄間葉系細胞を含む体性幹細胞、胚性幹細胞 (ES細胞)、人工多能性幹細胞 (iPS細胞) など様々な細胞が用いられて数多く行われてきた。近年では体性幹細胞を用いてヒトにおける臨床試験も行われ、安全性は確認されたが、治療効果としては不十分であり臨床応用には至っていない。
 Muse細胞は2010年に当研究室が報告した間葉系細胞中に含まれる多能性幹細胞であり、自発的分化で3胚葉成分のいずれにも分化しうる多能性を持つ一方、ES細胞やiPS細胞でみられる奇形腫の形成能をもたない。この性質は細胞治療に望ましい性質である。そこで雄の10週齢、Wistar ratのMCAOモデルを作成し、その2日後にヒト線維芽細胞よりSSEA-3をマーカーとしてFACSで分離したMuse細胞を脳内に直接注入移植した。ControlとしてはMuse細胞以外の細胞であるnonMuse細胞と、PBSを使用した。移植後3か月間FK506 0.5mg/kgで免疫抑制を行いつつ行動解析を行った結果、Muse細胞移植群では他の2群と比較して脳梗塞の症状改善効果が認められ、特に2か月以降の後期において顕著であった。3ヶ月後の脳組織ではMuse細胞群でヒト細胞の生着を認め、約10%前後で神経細胞、astrocyteへの分化が認められた。一方nonMuse細胞移植群では、明らかな症状改善効果はなく、3か月後の脳内にもほとんどヒト細胞は認められなかった。
 以上から、ラットの脳内に移植されたヒト線維芽細胞由来のMuse細胞が、脳内に生着・分化し、脳梗塞で失われた細胞を置換して症状改善効果を示している可能性が示唆された。

37 マウス多発性硬化症モデルにおける Kallikrein 6 を介した脱髄機序の解析

板東良雄、村上公一、田中達英、吉田成孝
 旭川医科大学 解剖学講座 機能形態学分野

Kallikrein 6(KLK6)は中枢神経系において主にオリゴデンドロサイトから分泌されるセリンプロテアーゼであり、多発性硬化症のような中枢性脱髄疾患の病態に関与していることを我々は明らかにしてきた。今回、我々はマウス多発性硬化症モデル (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: EAE)を用いて KLK6 ノックアウト(KO)マウスに EAE を発症させ、脱髄時における KLK6 の機能を明らかにすることを目的とした。
 C57BL/6 を背景に持つ野生型および KLK6 KO 雌マウス (6-8 週齢)を用いて、アジュバントに混濁したペプチド(Myelin oligodendrocyte glycoprotein 35-55)を皮下に注射し、百日咳毒素の腹腔内投与により、EAE を誘導した。組織学的検討は定法によって凍結切片を作成し、蛍光標識抗体を用いた2重染色法を行った。
 KLK6 KO マウスでは野生型マウスに比べて EAE の発症時期が遅延し、臨床症状も軽度であった。また、脊髄白質内への炎症細胞の浸潤および脱髄病変の組織学的評価も臨床評価の重篤度と一致していた。さらに KLK6 KO マウスでは血液脳関門の破綻が有為に抑制されていた。そこで、発症早期における各種サイトカインおよびケモカインの発現量を RT-PCR において検討したところ、KLK6 KO マウスでは炎症性サイトカインやケモカインの発現上昇が抑制されていた。
 以上のことから、オリゴデンドロサイトから分泌される KLK6 は EAE の発症早期から病態形成に積極的に関わる可能性が示唆された。

38 牛乳由来蛋白ラクトフォリンによるロタウイルス下痢症緩和メカニズムの解析
～脂肪滴形成との関連性

○小林純子¹、稲垣瑞穂²、大野翔平³、金丸義敬³、中込とよ子⁴、中込治⁴、鈴木徹²、岩永敏彦¹
 北大院医 組織細胞¹、岐阜大院 連合農学 ゲノム微生物学²、岐阜大 応用生物 食成分機能化学³、長崎大院 医歯薬 分子疫学⁴
 【背景】ロタウイルスは乳幼児に感染し、重篤な下痢症状をひきおこす。近年、2種類のロタウイルスワクチンが臨床応用され、疾病の予防に用いられているが、ロタウイルス感染症の病理メカニズムは未だ不明な点が多い。我々は、ウシ乳清より精製した糖タンパク質であるラクトフォリンの18 kDa 断片 (LP18) が、ロタウイルスにより引き起こされる乳飲みマウスの下痢症状を緩和すること、*in vitro* 試験においてロタウイルスの増幅抑制効果を発揮することを報告してきた。興味深いことに、*in vitro* 試験において、LP18 は直接ウイルスと出会わなくてもウイルス粒子の増幅を阻害する。つまり、LP18 が宿主細胞になんらかの変化をもたらし、それがロタウイルス感染に影響すると予想されるが詳細は不明である。本研究では、LP18 によるロタウイルス下痢緩和メカニズムを明らかにするため、LP18 投与により回腸上皮細胞で生じる形態変化を解析した。【材料と方法】生後5日目のマウスにLP18 もしくはPBSを投与し、1時間後にヒトロタウイルスMO株を感染させ、48時間後(生後7日)に回腸を採材した。一部のマウスはウイルスの代わりにPBSを投与して、ウイルス非感染群とした。【結果】BODIPY493/503により脂肪滴を染色すると、ウイルス非感染のLP18投与群で、吸収上皮細胞の核上部にBODIPY陽性の脂肪滴が多数観察された。ウイルス感染群ではLP18投与群、PBS投与群ともに吸収上皮細胞の細胞質内にBODIPY陽性の脂肪滴が蓄積しており、LP18投与群でより大きな脂肪滴が観察された。透過電顕により観察すると、PBS投与群では管腔側細胞質に膜で包まれたウイルス粒子が多数認められたが、LP18投与群ではその数が少なかった。LP18投与群では、大型の脂肪滴の周囲に集積したウイルス様構造物が観察された。【考察】LP18は脂肪分解阻害活性をもつことが報告されている。LP18投与群では、脂肪滴で作られたウイルス粒子が、最終形成の場である粗面小胞体に移行することを妨げることににより、子孫ウイルス粒子の増幅を抑制している可能性が示唆された。