

日本解剖学会

第103回関東支部学術集会

会 期：平成27年11月 7 日（土）

会 場：慶應義塾大学日吉キャンパス来往舎 1 階シンポジウムスペース

特別講演 Cruising inside cells

宮脇敦史

国立研究開発法人 理化学研究所

細胞の中を動き回る生体分子の挙動を追跡しながら、ふと、大洋を泳ぐクジラの群を想起。クジラの回遊を人工衛星で追うアルゴシステムのことである。背びれに電波発信器を装着したクジラを海に戻す時、なんとかくクジラが自分の種の群に戻ってくれることをスタッフは願う。今でこそ小型化された発信器だが昔はこれが大きかった。やっかいなものをぶら下げた奴と、仲間から警戒され村八分にされてしまう危険があった。クジラの回遊が潮の流れや餌となる小魚の群とどう関わっているのか、種の異なるクジラの群の間にどのような interaction があるのか。捕鯨の時代を超えて、人間は海の同胞の真の姿を理解しようと試みてきた。

バイオイメージング技術において、電波発信器の代わりに活躍するのが発光・蛍光プローブである。生体分子の特定部位にプローブをラベルし細胞内に帰してやれば、外界の刺激に伴って生体分子が踊ったり走ったりする様子を可視化できる。発光・蛍光の特性を活かせば様々な情報を抽出できる。今生物学はポストゲノム時代に入れたと言われる。ポストゲノムプロジェクトを云々するに、より実質的な意味において、細胞内シグナル伝達系を記述するための同時観測可能なパラメータをどんどん増やす試みが重要である。我々は、細胞の心をつかむためのスパイ分子を開発している。材料となるのは主に蛍光タンパク質である。近年の遺伝子導入技術の進歩のおかげで、蛍光タンパク質を利用したスパイ分子がますます活躍している。

超ミクロ決死隊を結成し、微小管の上をジャックコースターのように滑走したり、核移行シグナルの旗を掲げてクロマチンのジャングルに潜り込んだりして細胞の中をクルージングする、そんな adventurous な遊び心をもたいたいと思う。大切なのは科学の力を総動員すること、想像力をたくましくすること。そして whale watching を楽しむような心のゆとりが serendipitous な発見を引き寄せるのだと信じている。

1 裂手症ニホンザルの前腕および手の筋構成

小島龍平, 鈴木翔太郎, 時田幸之輔

埼玉医科大学保健医療学部理学療法学科

左右の手および足に先天性形態異常を有するニホンザルの左前肢を肉眼的に解剖し、筋および末梢神経の構成について観察した。左手の形態異常は裂手症に相当すると考えられた。指は2本で指間の切れ込みは橈骨および尺骨の遠位端より近位に達していた。2本の指はそれぞれ母指および小指に相当すると考えられた。上腕骨の形態および肘関節の構成に異常は認められなかった。橈骨は尺骨よりも長く、橈骨遠位端は丸い鈍端をなし、前腕骨間膜、下腕尺関節は認められなかった。上腕の筋および末梢神経の構成や走行、分岐に異常は認められなかった。前腕の筋では、上腕骨から起こり前腕の近位部に停止する筋は、標準的な構成の筋と対応づけることは容易であった。また、長掌筋、尺側手根屈筋、腕橈骨筋等についても相当する筋を推測することは比較的容易であった。しかし、手指に停止する筋については構成に大きな乱れがあり、相当する筋を推測することは困難であった。手筋については短掌筋に相当すると考えられる筋束以外は認められなかった。筋の構成の乱れに対して、前腕における末梢神経の構成や走行、分岐のパターンは比較的標準に近いと思われた。これらの形態についてその形成過程と関連づけて考察を試みたい。本研究は2015年度京都大学霊長類研究所共同利用・共同研究として行っている。

2 シクリッド小脳における背腹の小区画：終脳からの局所対応性投射と内在性回路について

井村幸介¹、山本直之²、吉本正美³、遠藤雅人⁴、船越健悟¹、伊藤博信⁵
1. 横浜市立大学 医学部 神経解剖学、2. 名古屋大学 生命農学研究科 水圏動物学研究分野、3. 東京医療学院大学 保健医療学部 リハビリテーション学科、4. 東京海洋大学 生物生産学講座 水産養殖学、5. 日本医科大学

シクリッド小脳（ティラピア；*Oreochromis niloticus*）の小脳体尾側部（CC）は、視蓋前域の後交連傍核（nucleus paracommissuralis：NPC）を介して、異なった終脳領域からの情報を局所対応性に背腹方向に受ける。その入力様式から、CCの正中付近では、背腹の顆粒細胞層小区画（dGLとvGL）として分けられることが知られている（Imura et al., 2003）。また近年、シクリッドを含めたいくつかの硬骨魚類において、我々がこれまで注目していたCCの尾側部正中領域が、成体におけるニューロン新生の活発な領域の一つになっていることが報告されており大変興味深い（Maruska et al., 2012）。dGLとvGLへの入力は、顆粒細胞の平行線維を介して、Purkinje細胞で受容される。ここでの硬骨魚類の小脳内回路は、哺乳類と基本的には同じであるが、最終出力となる小脳核が硬骨魚類には存在せず、Purkinje細胞層に存在する広樹状突起細胞（Eurydendroid cell）がその役割を担うことが知られている。しかしながら、背腹に分かれた終脳由来の情報がCCの小区画内でどのように処理され、出力されるのかその詳細は不明である。本研究では、背腹の小区画に注目してその線維連絡を明らかにした。dGLは、最終出力として遊泳中枢に相当する内側縦束核や、脊髄に投射すると考えられる網様体に情報を送る。またvGLからの情報は、腹側に位置するPurkinje細胞に受容された後、背側に位置するdGLの入力を受けるPurkinje細胞層に投射する。小脳体小区画の腹側領域は、内在性の出力を背側領域に送り、背側からは小脳体外の遊泳運動に関連した領域などに情報を送ることが明らかとなった。

3 Dab1 核細胞質間シャトリングの脳新皮質層形成における役割の解明

本田岳夫、仲嶋一範

慶應義塾大学医学部 解剖学教室

大脳新皮質の興奮性神経細胞は脳室帯や脳室下帯で主に産生され、放射状線維に沿って脳表面に向かって移動する。*reelin* 遺伝子に欠損を持つ *reeler* マウスでは、神経細胞の移動過程の異常により大脳新皮質の層構造が正常に形成されない。*Reelin* は脳表面にある Cajal-Retzius 細胞から主に分泌され、神経細胞に発現する ApoER2 や VLDLR によって受容される。そのシグナルはこれら受容体に結合する Dab1 により細胞内に伝達される。これまでの研究から *Reelin* は、N-cadherin や Integrin の活性化を誘導し神経細胞移動を制御していることが示されている。一方、我々は Dab1 が1つの核移行シグナル(NLS1)と、二つの核外移行シグナルを持つ核細胞質間シャトルタンパク質であることを明らかにした（Honda and Nakajima, JBC, 2006）。しかしながら意外なことに、Dab1 の NLS1 に変異を導入したのみでは核移行活性が消失しなかったため、未知の核移行シグナルの存在が示唆された。また、NLS1 配列と全長 Dab1 の NLS1 変異体に核移行活性の生化学的違いがあること、NLS1 と R⁶⁷・R⁶⁹ への変異導入により Dab1 の核移行活性が消失することから、Dab1 は NLS1 と未知の核移行配列を用いて核移行していることが示された。次に Dab1 の核移行の神経細胞移動に於ける役割を *In utero* エレクトロポレーション法を用いて解析した。その結果、神経細胞移動には細胞質の Dab1 タンパク質量が適量になるよう調節される必要があり、細胞質におけるタンパク質量調節を Dab1 が核移行することで制御している可能性が示唆された（Honda and Nakajima, Cerebral Cortex, in press）。

4 Distinct expression patterns of pSmad2 and pSmad3 in the developing mouse dentate gyrus

Kyoji Ohyama, Toru Sato, Keiko Toda, Tatsunori Seki

Department of Histology and Neuroanatomy, Tokyo Medical University

GFAP+ neural progenitors around the dentate notch give rise to granule neurons in the hippocampus (Seki et al., J Comp Neurol, 2014). Previous studies also showed that both BMP and Wnt signals via pSmad1/5 and Lef1, respectively, control the differentiation of dentate granule neurons. In contrast, conditional deletion of TGF β type II receptor does not seem to affect their differentiation (Choe et al., J Neurosci, 2013). However, it was unclear what cells express pSmad2/3, downstream signal transducers of TGF β . It also remains obscure whether pSmad2/3 controls the generation of other neuronal and/or glial cells.

We therefore examined expression patterns of pSmad2/3 in the developing mouse dentate gyrus. pSmad3 expression was found in the cohorts of GFAP-GFP+ progenitors that include not only granule neurons but also basal/secondary radial glia and protoplasmic astrocytes. In contrast, pSmad2 was expressed in both CA3 and Cajal-Retzius neurons that do not express pSmad3. These data suggest that pSmad2 and pSmad3 may exert distinct functions in developing dentate gyrus.

セロトニン神経系のグルタミン酸受容体発現における役割

吉村由祐子¹、石川千尋¹、増田知之^{1,2}、志賀隆^{1,2}筑波大学大学院人間総合科学研究科¹
筑波大学医学医療系 神経生物学研究室²

現在うつ病の治療薬として脳内セロトニン（5-HT）濃度を上昇させる効果を持つ選択的 5-HT 再取り込み阻害薬が主流である。一方、近年グルタミン酸神経系を標的とした薬剤がうつ病治療において即効性を持ち、その抗うつ効果の下流に AMPA 型受容体が関与することが報告されている。しかしながら、AMPA 型受容体の発現における 5-HT 受容体の役割は未だ不明である。そこで本研究では、マウス大脳皮質神経細胞を用い、5-HT 受容体作動薬が AMPA 型受容体発現に及ぼす影響を調べることを目的とした。胎生 18 日 BALB/c マウス由来の大脳皮質神経細胞の初代分散培養を行い、3 日目あるいは 14 日目に 5-HT1A 受容体作動薬 8-OH-DPAT を添加した。添加 3 時間、24 時間後にリアルタイム RT-PCR で AMPA 受容体サブユニット (*GluR1*, *GluR2*) および脳由来神経栄養因子 (*BDNF*) の mRNA 発現量を測定した。培養 3 日目に 8-OH-DPAT を添加すると 3 時間、24 時間後に *GluR1* および *BDNF* の mRNA 発現量が有意に増加した。一方、*GluR2* mRNA については変化がみられなかった。また、培養 14 日目においては *GluR1*、*GluR2*、*BDNF* のいずれにおいても mRNA 発現量に変化がみられなかった。このことから、5-HT1A 受容体は AMPA 型受容体の発現をサブユニット特異的・時期特異的に調節している可能性が示唆された。

ASD モデルマウスにおけるスパイン動態異常の分子メカニズム

福本景太^{1,2}、玉田紘太¹、中井信裕¹、田中慎二³、岡部繁男³、内匠透^{1,2}1、理研BSI
2、広島大学大学院医歯薬保健学研究科
3、東京大学大学院医学系研究科

自閉スペクトラム症(ASD)は、幼少期に発症する精神神経疾患である。ASD 患者において、これまで様々なシナプス関連遺伝子の変異やコピー数多型(CNV)が見つかっており、これらの異常を基に作製されたASDモデルマウスでは、多様なシナプス形態の異常がみられる。

我々は、これまでにASD患者のCNVを基にヒト染色体15q11-13領域の重複モデルマウス(patDp/+)を作製し、社会性の異常などが生じることを示した。また、patDp/+マウスではスパイン動態が促進していることを発見し、本スパイン動態の促進が他のASDモデルマウスと共通する表現型であることを明らかにした。しかしpatDp/+マウスでは、6 Mbにも及ぶゲノム領域が重複しており、その中には多数の遺伝子が存在するため、どの領域、遺伝子がスパイン動態を促進させるかは不明であった。

本スパイン動態変化の原因遺伝子を探索するため、我々は2光子顕微鏡を利用した in vivo imaging 法を用いてスクリーニングを行った。今回は本スクリーニング結果に加え、候補遺伝子の神経細胞における多面的解析を紹介する。

海馬顆粒細胞形成時の神経前駆細胞における CXCR4 分子の細胞内移行について

山本夕香、篠原広志、柏木太一、佐藤亨、戸田恵子、大山恭司、石龍徳
東京医科大学 組織・神経解剖学

海馬歯状回に存在する C 字形の顆粒細胞層は、胎生期に脳室層から軟膜側に移動する GFAP 陽性増殖性神経前駆細胞から形成される。このような顆粒細胞層の形成には、海馬溝の細胞が密接に関わっていることが示唆されている。海馬溝に蓄積する Cajal-Retzius 細胞は、CXCL12 (SDF-1) を分泌することが知られている。一方、移動中の顆粒細胞の前駆細胞は、CXCL12 の受容体である CXCR4 を発現していることが、in situ ハイブリダイゼーションによって示されている。また、CXCR4 のノックアウトマウスでは、顆粒細胞層の発生異常が報告されている。しかし、CXCR4 分子が個々の細胞にどのように発現し、その細胞移動をどのように調整しているかについては、まだ分かっていない。本研究では、神経前駆細胞における CXCR4 分子の動態に着目して、顆粒細胞層形成過程における、CXCR4 分子作用機序を解析した。移動中の神経前駆細胞は、GFAP-GFP マウスや蛍光タンパク遺伝子の子宮内電気穿孔法によって可視化した。免疫組織化学によりマウス胎仔の CXCR4 分子発現を調べたところ、海馬脳室層では、CXCR4 は神経前駆細胞の細胞膜に発現していた。一方、軟膜側を移動中の神経前駆細胞や顆粒細胞では、CXCR4 は細胞内の核周辺や突起の基部に顆粒状に発現していた。免疫系の細胞の研究では、CXCR4 は CXCL12 が結合するとエンドサイトーシスされ、ゴルジ体へ移行することが知られている。その後、Ras などのシグナルが活性化され、細胞移動を調節すると考えられる。そこでゴルジ体のマーカーと CXCR4 の共染色を行ったところ、顆粒状の CXCR4 のほとんどはゴルジ体と共存していた。また、CXCR4 アンタゴニスト AMD3100 により CXCR4/CXCL12 シグナルを阻害したところ、軟膜側の細胞や歯状回の細胞では、細胞内顆粒状の CXCR4 発現が消失し、細胞膜に CXCR4 の発現が現れた。また、阻害剤処理群では、脳室層から軟膜側に移動する顆粒細胞に移動の遅延がみられた。これらのことから、CXCR4 分子の細胞内移行が顆粒細胞層形成に関与していることが推測された。

大脳皮質神経細胞接着の制御とその数理モデル

松永友貴¹、野田万理子¹、村川秀樹²、三浦岳³、久保健一郎¹、仲嶋一範¹1 慶應義塾大学医学部 解剖学教室
2 九州大学大学院 数理学研究院
3 九州大学大学院 医学研究院 系統解剖学分野

哺乳類の大脳皮質は、脳表面に平行な 6 層からなる神経細胞層を有する。発生過程において、各層を構成する神経細胞は脳室面近くで誕生し、脳室帯に位置する放射状グリア細胞が脳表面に伸ばす突起（放射状線維）を足場として移動し、脳表面の辺縁帯直下まで移動する。個々の神経細胞がこのような移動を繰り返すことで、大脳皮質では早生まれの神経細胞ほど最終的により深層に、遅生まれの神経細胞ほどより浅層に配置される層構造が形成される。辺縁帯に存在する Cajal Retzius 細胞から細胞外に分泌されるリーリンが欠損するリーラーマウスでは、層構造が全体として逆転するという大きな表現型を呈する。リーリンは、脳室面から移動してきた細胞の「移動停止シグナル」と考えるのが一般的であったが、最近我々は、リーリンが *in vivo* において細胞の凝集を誘導することを見いだした。興味深いことに、細胞はリーリンが異所的に局在する部分に向かって放射状に配列するとともに、樹状突起を中心部に向かって発達させ、さらにその中心部（リーリン存在部位）からは細胞体が排除されてしまうことを見いだした。そこで次に、リーリンが本来産生される辺縁帯の直下において同様の細胞凝集がみられるか検討したところ、移動を終えたばかりの未熟な神経細胞が皮質板最表層に帯状に密に配列していることを見だし、primitive cortical zone (PCZ) と命名した。一方我々は最近、発生期大脳皮質の細胞を分散後、回旋させながら再凝集させる培養系において、神経細胞と神経幹細胞とが再凝集塊内で選別配置されることを見いだした。この現象は、リーリンによる上記の神経細胞凝集によって単純に説明できない可能性があると考えられたため、いかなる作用・性質を想定すれば良いのかを予測するため数理モデルによる検討を行った。

腫瘍増殖促進と腫瘍血管の形態変化をもたらす CXCL17 の役割

松居 彩、森川 俊一、江崎 太一

東京女子医科大学 医学部 解剖学・発生生物学講座

腫瘍が生体で増殖するには、酸素や栄養を供給する血管が不可欠である。そのため、従来から腫瘍血管を絶やすことが癌治療において有用だとされていたが、一方で血管新生の速度を調整して腫瘍内の血液循環を維持させる方が抗癌剤や放射線による治療効果を高めるとも言われている。ただし、血管新生促進因子を標的とした場合、長期的な制御が困難とされているため、腫瘍血管の形態と機能自体に影響を与える因子に注目する必要がある。そこで本研究では、その様な因子の 1 つとして、腫瘍増殖を促進するケモカイン CXCL17 に着目し、腫瘍血管の形態と機能に与える影響を形態学的に検討した。CXCL17 を強制発現させた癌細胞をマウス皮下に移植すると、非発現の細胞に比べて腫瘍の増殖が促進した。これらの腫瘍を蛍光免疫染色法を用いて三次元的に解析した結果、CXCL17 を発現する腫瘍内の血管は細い分岐を有する血管網を形成し、腫瘍の中心部付近まで血流が維持されていることが判った。しかし、コントロールでは腫瘍の増殖に伴って網目が粗くなり、血管網が破綻していく様子が観察された。また、CXCL17 発現腫瘍の血管透過性において、蛍光標識レクテンによる血管外漏出が減少し、pericyte は複数の突起を伸ばして血管にしっかりと絡みついていた。CXCL17 は CD11b⁺Gr-1⁺細胞に対して特異的な細胞遊走能を持っている。CXCL17 発現腫瘍には、コントロール腫瘍に比べて CD11b⁺Gr-1⁺細胞の浸潤が多く見られた。さらに、CD11b⁺Gr-1⁺細胞を CXCL17 非発現腫瘍と共移植すると、移植していない群よりも腫瘍の血管網が発達し、より突起を伸ばした pericyte の形態変化を認めた。これらのことから、CXCL17 は CD11b⁺Gr-1⁺細胞を腫瘍部位へ集積させることで、腫瘍血管の量的・質的变化をもたらし、腫瘍増殖を促進させる可能性が示唆された。

コラーゲンをういた筋芽細胞シートに対する間葉系細胞の影響

芹川雅光、梅澤貴志、北村啓、森田純晴、山本将仁、阿部伸一
東京歯科大学 解剖学講座

目的: 類粘膜炎などの広範な粘膜摘出後に咀嚼・嚥下機能を回復させるためには、粘膜直下に存在する筋層を再構築させる必要がある。現在我々は上皮細胞シートと筋芽細胞シートの間に関葉系細胞の層を挟んだより正常組織に近い三層構造の積層シート of の作製に取り組んでいる。本研究では筋層の構築において筋芽細胞と間葉系細胞の関係に着目し、長期培養によって生じる筋芽細胞に対する間葉系細胞の影響について検討した。

方法: 6 ウェルプレートインサート上に日本家兎口腔粘膜から分離した骨格筋筋芽細胞をコラーゲンゲルに混ぜたものを播種し、間葉系細胞と共培養した時の適切な培養条件の検討並びに関葉系細胞との共培養の有無による影響について検討を行った。2 週間隔で 6 週まで培養後シートを回収し、RT-PCR 並びに形態学的、組織学的解析を行った。

結果: 日本家兎由来骨格筋筋芽細胞は、長期培養において間葉系細胞との共培養により Desmin や Coll IV の発現に増加傾向が見られた。間葉系細胞との共培養では Pax7 や CD34 などの未分化性因子の発現が長期でも認められた。

結論: 骨格筋筋芽細胞シートに対する間葉系細胞の影響についてはさらに詳細な検討が必要であるが、長期培養を行うことによっても間葉系細胞の存在により筋芽細胞へ影響を与える可能性が考えられた。

11 後頭下筋群における形態学的バリエーションの解明

山内真人、笠原正彰、小高研人、廣内英智、松永智、阿部伸一
東京歯科大学 解剖学講座

【目的】
後頭下筋群は大後頭直筋、小後頭直筋、上頭斜筋および下頭斜筋により構成される。この筋群は頭部の深層に存在する小筋群であり、環軸関節周囲に存在するため、頭部運動に際し補助的な役割を果たしていると考えられている。これまで後頭下筋群については、付着形態の内眼ならびに組織学的観察から機能を推察しているが、各筋の形態学的バリエーション、筋線維特性を明らかにした報告はみられない。そこで今回は、後頭下筋群の形態学的バリエーション、筋線維特性に焦点を当て解明を試みた。
【方法】
実習用遺体 22 体 44 例、未固定新鮮遺体 1 体 2 例を用いた。後頭下筋群の内眼観察を行い、新鮮遺体より後頭下筋群、コントロールとして胸鎖乳突筋を採取し凍結切片を製作した。抗 myosin heavy chain fast 抗体、抗 myosin heavy chain slow 抗体を用い免疫組織化学的染色を行い、速筋線維、遅筋線維の筋線維束の断面積を検索した。
【結果および考察】
44 例の内 5 体 9 例の 20.5%において、特徴的な所見が認められた。大後頭直筋と小後頭直筋の吻合が 3 例 (6.8%)、二頭性の大後頭直筋 2 例 (4.5%)、三頭性の大後頭直筋 1 例 (2.3%)、二頭性の小後頭直筋 1 例 (2.3%)、小後頭直筋の欠損が 2 例 (4.5%) であった。また、1 体において付着部位に異常はないが、大後頭直筋における筋腹の幅が左右異なる症例も存在した。筋線維特性として、胸鎖乳突筋、後頭下筋群はすべて、速筋線維の占める割合が大きかった。速筋線維では、胸鎖乳突筋と比較して後頭下筋群では筋断面積は小さかった。これまで速筋線維は、収縮速度は遅いが持久性に優れ、速筋線維は、収縮速度は速いが疲労しやすいと報告されている。したがって、後頭下筋群に速筋線維が多いこと、速筋線維の断面積が胸鎖乳突筋と比べ小さいことは、持続的に頭部を伸展させるという機能の裏付けとなった。

12 分散培養における軸索の成長とミトコンドリア分布の時間変化の解析

清水夕貴、小橋一喜、岡部繁男
東京大学医学系研究科 神経細胞生物学分野

神経細胞の分散培養において、培養後3-7日の間に軸索の伸張や退縮、分岐が顕著に起こる。この時、細胞内では生体と同様に微細管の重合やタンパク輸送が起こっていると考えられている。分散培養における細胞の成熟過程を観察する事で、生体内で神経細胞が突起を形成、伸長し、シナプスを形成するまでの過程を類推する事ができる。
ミトコンドリアはATP産生、Ca²⁺バッファ、シトクロムCを介したアポトーシスの調節を行う細胞内小器官であり、軸索中にも存在する。ミトコンドリアは細胞体から軸索先端まで微細管をレールとして輸送される事が知られており、軸索の伸長や新たな分岐の形成が起こった時にミトコンドリアの分布調節が引き起こされる。
ミトコンドリア動態と軸索伸長の関係は明らかになっていない。ミトコンドリアの分布と軸索の成長に何らかの関係があるかを調べるため、海馬の分散培養を用いて細胞の形態とミトコンドリアの同時タイムラプスイメージングを行った。今回、このイメージングで得られた画像を利用して軸索伸長とミトコンドリアの分布・動態の関係性を解析した内容を紹介する。

13 生後発達期の皮膚刺激がマウスの脳と行動の発達に与える影響

橋本奈々¹、増田知之²、志賀隆²
1 筑波大学医学群医療科学類
2 筑波大学医学医療系神経生物学研究室

脳と行動の発達は生後早期の母仔分離 (Maternal separation: MS) によって障害を受けるが、仔舐め行動や毛づくろいなどの母親の養育行動によって改善される。皮膚刺激 (Tactile stimulation: TS) は養育行動における重要な要素であるが、その働きは不明である。そこで、本研究では生後早期に MS を受けたマウスに対して、TS が仔のストレス応答や成体期での行動にどのような影響を及ぼすかを検討した。BALB/c マウスを用い、コントロール群 (C 群)、母仔分離群 (MS 群)、母仔分離+皮膚刺激群 (TS 群) の 3 群を用意した。生後 1 日目 (P1) から P10 まで、MS 群には毎日 3 時間の MS、TS 群には 3 時間の MS に加えて TS を 15 分間行った。C 群は MS、TS を行わずに通常飼育した。新生仔期のストレス応答を見るために、MS および TS 中の鳴き声頻度と血中コルチコステロン濃度を解析した。さらに、成体期で、高架式十字迷路、ホットプレートテスト、モリス水迷路、強制水泳試験を行い、それぞれ不安様行動、痛覚過敏、空間記憶学習、うつ様行動を評価した。その結果、TS は MS 群と比較して体重の回復と発声頻度の増加がみられた。また、温痛覚感受性とうつ様行動において MS 群と比較して改善が見られた。

14 クライオ電子線トモグラフィー法を用いた真核生物纖毛タンパク質 LC2 の局在の特定

安部樹、小田賢幸、吉川雅英
東京大学大学院 医学系研究科 生体構造学教室

真核生物の纖毛および鞭毛 (以降、纖毛と呼ぶ) は、細胞表面に存在する細胞小器官であり、波打つことで流れを生み出す機能や外界の化学的・力学的な刺激を感知する機能を有する。纖毛の構造は多くの種で保存されており、多くは9本の周辺微細管が2本の中心微細管を取り囲む「9+2構造」をとっている。9本の周辺微細管の上には、モーター分子であるダイニン複合体が周期的に配置されている。
我々は、ダイニンの中でも推進力の3分の2以上を生み出している外腕ダイニン (Outer Arm Dynein, ODA) に注目した。纖毛のモデル生物であるクラミドモナスのODAは、3種の重鎖、2種の間鎖、10種の軽鎖などから構成されている。重鎖がATPを加水分解して波打ち運動を生み出すのに対して、間鎖や軽鎖はダイニンの微細管への結合、assemblyや活性制御などに関わっているとされる。軽鎖の構成タンパク質の1つであるLC2は主にダイニンのassemblyに関わっており、LC2欠損株であるoda12ではODAが欠損することが知られている。
現在までに間鎖の局在は特定されているが、軽鎖の局在は分かっていなかった。我々は、LC2がダイニンのassemblyに関わっており、LC2が欠損するとODA全てが欠損することから、LC2はODAの基部に存在してODA全体をまとめる機能を持っているのではないかと仮説を立てた。この仮説を検証するために、遺伝学的手法とクライオ電子線トモグラフィー法を用いて、LC2の微小管上の位置を特定することにした。クライオ電子線トモグラフィー法とは、急速凍結した試料を複数角度から撮影し、これらの投影像から3次元像を再構成する手法である。LC2をタグで標識することで、ODAの基部に局在することを確認した。

15 胎仔期から乳仔期マウスの造血系におけるアクアポリンの発現変化

喜多碧、向後寛、向後晶子、澤井信彦、松崎利行
群馬大学大学院 医学系研究科 生体構造学

[背景]細胞膜の水チャネルであるアクアポリン (AQP) には、水選択性の高いアイソフォーム (AQP1, 2, 4, 5, 6, 8) と、水に加えてグリセリンの透過性も高いアイソフォーム (AQP3, 7, 9) がある。このうち、ヒトの赤血球には機能が異なるAQP1とAQP3の発現が報告されている。また造血細胞に注目すると、卵黄嚢で始まる一次造血系細胞ではAQP3やAQP8の発現が優位で、胎児肝臓と生後骨髄で行われる二次造血系細胞ではAQP1やAQP9の発現が優位であるとの報告があり、造血の時期により必要とするアイソフォームが異なると考えられる。我々は、マウスの胎仔期から成獣における造血系組織でのAQP発現の経時変化をタンパク質レベルで明らかにすべく、研究を行っている。今回は、二次造血系である胎仔肝臓でのAQP1, 3の発現とその局在を調べた。
[方法]胎生13日、16日、生後1日、5日のマウスの肝臓を対象に、RT-PCRおよび免疫染色を行った。
[結果とまとめ] AQP1 と AQP3 が胎生 13 日 と 16 日の肝臓に発現することが、RT-PCR および免疫染色で確認できた。免疫染色では、AQP3 は胎生 13 日 と 16 日で同程度に造血系の細胞で検出された。一方、AQP1 も造血系の細胞で検出されたが、胎生 13 日に比べて胎生 16 日で発現が増加していた。乳仔期になると肝臓から造血系の細胞が減少するが、残っている造血系の細胞には引き続き AQP1 と AQP3 の発現が認められた。つまり、AQP3 は AQP1 と比べて、より早期から造血系の細胞で必要であると考えられる。各アイソフォームの機能的な違いと関係があるのかも知りたい。現在、卵黄嚢での一次造血系や、骨髄造血系についても検討を進めている。

16 ウサギ上腸間膜動脈から腸管への動脈分布

池上怜央奈、柴田秀史
東京農工大学大学院農学研究科・農学部獣医学科・獣医解剖学研究室

【はじめに】ウサギの腸管は非常に長く、特に盲腸と結腸は円錐状に回転する複雑な走行を示す。ウサギでは腸閉塞の際に外科手術が動物医療における第一選択となる。外科手術において術野周辺の動脈分布の知見は不可欠であるが、ウサギ腸管への詳細な動脈分布の報告はない。そこで、本研究ではウサギ腸管に主として血液を供給する上腸間膜動脈 (SMA) の分布を肉眼解剖学的に明らかにした。
【材料と方法】ニュージーランドホワイト種の子ウサギ雌17羽、雌3羽 (体重2.5~3.0kg) を用いた。ペントバルビタール (i.p.) による安楽死後、色素で着色した液体ゴムを胸大動脈より注入した。次いで、7日間以上ホルマリンで固定した後、血管を剖出し肉眼的観察を行った。
【結果と考察】SMAは腹腔動脈より1.7~2.3 cm尾側で腹大動脈から起始した。起始後、約1cm右側に進んだ後、左尾外側に走行しながら12本の下膝十二指腸動脈、13本の中結腸動脈、1本の回盲結腸動脈、13~19本の空腸動脈を分岐した。下膝十二指腸動脈は全20例中14例でSMAの第1枝であり、右尾外側に走行しながら分岐して十二指腸全体に分布した。中結腸動脈はSMAから直接分岐するほか、回盲結腸動脈からも0~3本分岐し、上行結腸遠位部、横行結腸、下行結腸に分布した。回盲結腸動脈は腹側に走行し、回盲腸動脈、回結腸動脈、右結腸動脈、虫垂動脈を分岐するが、これらの分岐パターンは非常に多様であった。回盲結腸動脈分岐後、SMAは空腸動脈を分岐しながら尾側に走行し、終末枝は回腸動脈と吻合した。以上の結果より、ウサギのSMAの分布は、系統発生学的に近縁のげっ歯類における報告とは異なる点が多く、また、多様な個体差が存在することが明らかとなった。ウサギの外科手術の際には、本研究の知見を十分考慮する必要がある。

17 ウサギ副腎への動脈分布

木賀田哲人, Amiry Ahmad Faisal, 柴田秀史
東京農工大学大学院農学研究大学院および農学部獣医解剖学研究室

【はじめに】ウサギはストレスに対して非常に弱く、これは動物医療及び実験での扱いに当たって留意すべき重要な性質である。ストレス反応は副腎を中心に調節されており、副腎血流量の変化がステロイドホルモンの合成や放出に影響するとの報告がある。従って、副腎動脈の肉眼解剖学的分布を詳細に明らかにすることはウサギにおけるストレス応答を理解するために重要である。そこで本研究ではウサギの副腎への動脈分布の肉眼解剖学的な特徴を詳細に観察した。【方法】ニュージーランドホワイト種（2.5〜3.0kg）の雄18匹、雌2匹と日本白色種（3.0〜4.1kg）の雌11匹をペントバルビタールで深麻酔しホルマリンによる灌流固定を行ったのち胸大動脈からラテックスを注入し、手術用顕微鏡を用いて観察した。【結果】右側においては上、中、下副腎動脈が下横隔動脈から起始する例が7例（23%）で最も多く観察された。次いで上、中、下副腎動脈が上腹動脈から起始する例が4例（13%）と二番目に多く観察され、その他の例では非常に多様な個体差が観察された。左側においては上、中副腎動脈が上腹動脈から、下副腎動脈が上腹動脈および腹大動脈から1本ずつ計2本起始する例が8例（26%）で最も多く観察された。次いで上、中副腎動脈が上腹動脈から、下副腎動脈が3本存在し、上腹動脈、腎動脈および腹大動脈からそれぞれ起始する例が4例（13%）と二番目に多く観察され、その他の例では非常に多様な個体差が観察された。【考察】以上のように上・中・下副腎動脈の起始と本数には多様な個体差が存在し、その原因の一つとしてウサギの副腎がヒトや齧歯類に比べて尾内側に位置していることが影響している可能性がある。

18 発生期のマウス海馬及び大脳新皮質における特異的な細胞移動様式についての解析

北澤 彩子^{1,2}、シン ミンギョン²、林 周宏²、久保 健一郎²、仲嶋 一範²
¹国立精神神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第2部
²慶應義塾大学 医学部 解剖学教室

脳室帯付近で誕生した大脳新皮質神経細胞は、その後、放射状グリア線維に沿って脳表面へ向かう‘locomotion mode’と言われる方法で移動することが知られている。一方、海馬神経細胞も脳室帯付近で生まれ、放射状グリア線維が張り巡らされた場所を移動することが知られているが、詳しい移動機構は不明のままであった。我々は以前、マウス海馬CA1領域の錐体細胞の誕生から錐体細胞層上部に到着するまでの細胞動態について子宮内電気穿孔法を用いて解析した。その結果、錐体細胞層を移動する際には、同時に複数の放射状グリア線維に接触し、細胞体の移動方向を変更しながらゆっくりとジグザグに移動する様子が観察された。この海馬の細胞移動様式は従来報告がなかったため‘climbing mode’と命名した（Kitazawa, et al., *J. Neurosci.*, 2014; Hayashi, et al., *Front. Neurosci.*, 2015）。我々は次に、このclimbing modeがCA1錐体細胞自身が持つ性質であるのか、それとも環境に依存した移動方法であるのかどうかを検討するために、CA1錐体細胞を大脳新皮質に移植してその移動の様子を観察することにした。まず初めに、CA1の脳室帯を子宮内電気穿孔法により標識し、2日後に標識された神経細胞を大脳新皮質の脳室帯付近に移植した。細胞の動態は凍結切片及びTime-lapse imagingにより観察した。一方、大脳新皮質は海馬に比べ進化的に新しい部位であり、locomotion modeは長距離を移動するために獲得されたものであると考えられている。そこで我々は、大脳新皮質の錐体細胞についても同様に標識し、CA1の脳室帯付近に移植した。これにより、両者の細胞の移動様式の違いが細胞特異的なものであるのか、あるいは周囲の環境によって変化しうるのかどうかを検討した。

19 海馬興奮性シナプスにおけるBRAG2-Arf6シグナル経路を介したAMPA受容体輸送機構

深谷 昌弘、阪上 洋行
北里大学 医学部 解剖学

Brefeldin A-resistant Arf-GEF 2 (BRAG2) は小胞輸送に関与する低分子量 GTPase Arf6 特異的なグアニンスクレオチド交換因子 (GEF) であり、シナプス可塑性の基盤となる AMPA 受容体のシナプスでの輸送に関与することが報告されている。しかしながら、BRAG2-Arf6 シグナル経路による AMPA 受容体の輸送調節機構は不明な点が多い。そこで本研究では、AMPA 受容体輸送の BRAG2-Arf6 シグナル経路による調節機構を明らかにすることを目的として実験を行った。まず、BRAG2 特異抗体を用いて、マウス海馬における包埋後免疫電顕法による局在解析を行ったところ、スプライズバリアントの一つである BRAG2c がシナプス後肥厚部 (PSD) に選択的に局在していた。そこで BRAG2c に特異的な C 末端領域と結合する分子を酵母ツーハイブリッド法により探索したところ、エンドサイトーシスに関与する endophilin 3 が単離された。BRAG2c と endophilin 3 との相互作用の役割を明らかにするため、海馬初代培養神経細胞に endophilin 3 との結合能を欠損した変異 BRAG2c を BRAG2 shRNA と共に導入し、mGluR 依存性 AMPA 受容体の表面発現量変化を解析した。その結果、mGluR 依存性 AMPA 受容体の表面発現量の低下は、BRAG2 のノックダウンによって消失し、shRNA 耐性野生型 BRAG2c の導入でレスキューされたが、shRNA 耐性変異 BRAG2c ではレスキューされなかった。さらに、BRAG2c と endophilin 3 との相互作用は BRAG2c の Arf6 に対する GEF 活性を有意に促進していた。以上の結果から、BRAG2c は PSD-95 と結合することで PSD に局在し、endophilin 3 との相互作用を介して Arf6 の活性化および mGluR 依存性 AMPA 受容体エンドサイトーシスを制御していることが明らかとなった。

20

異所性灰白質は離れた脳部位の神経活動に影響を与えて行動の異常を引き起こす

久保健一郎¹、石井一裕¹、遠藤俊裕²、吉田慶太郎³、ベナー聖子²、伊藤亨子⁴、相澤秀紀⁴、荒巻道彦¹、山中章弘⁵、田中光一²、高田則雄³、田中謙二³、三村将³、遠山千春²、掛山正心^{2,6}、仲嶋一範¹ ¹慶應大・医・解剖、²東京大院・医・疾患生命工学セ・健康環境医工学、³慶應大・医・精神、⁴東京医科歯科大院・疾患生命・分子神経、⁵名大・環境研・神経2、⁶早大・人科・予防医・応用生理

異所性灰白質を持つ患者には、てんかんや知的（能力）障害以外に、統合失調症、うつ病などの精神疾患や、自閉症スペクトラム障害、注意欠如・多動症（ADHD）などの発達障害に見られる、様々な精神症状や認知機能異常が合併することが報告されている。我々は、異所性灰白質と、様々な精神・神経症状との間にどのような関連があるのかを明らかにするため、以前に確立した子宮内胎児脳電気穿孔法を用いて人為的に異所性灰白質を体性感覚野に作成した（Kubo *et al.*, *J. Neurosci.* 2010）。その際に、3種類の異なる分子をマウスの脳にそれぞれ遺伝子導入したところ、いずれも異所性灰白質が形成された。これらの3種類の方法で別々に作成したマウスの行動を解析したところ、作業記憶の低下と競争的優位性の低下を認めた。これらの機能低下は、異所性灰白質が存在する体性感覚野から離れた脳部位である前頭葉の機能異常に起因すると考えられた。実際に異所性灰白質を持つマウスの前頭葉における神経活動を Immediate early gene の遺伝子発現を用いて解析したところ、神経活動に低下が生じていた。さらに、DREADD システムを用いて、異所性灰白質を中心とした神経細胞の活動を人為的に興奮させると、低下した作業記憶が改善された（Ishii, Kubo *et al.*, *J. Neurosci.* 2015）。これらの結果から、異所性灰白質は神経連絡を介して、これまで想定されていなかった離れた脳部位の神経活動に影響を与え、行動の異常を引き起こすことが明らかになった。