日本解剖学会

第70回中国・四国支部学術集会

会 期：平成27年10月24日（土）、25日（日）

会 場：愛媛大学城北キャンパス南加記念ホール

特別
講演

恐竜脳を知るために鳥類の脳を研究する

河部壮一郎（岐阜県博物館）

恐竜などの絶滅動物の脳に関する知見を私たちが得るには、脳化石の中の頭蓋腔の形態を調べるのがほとんど唯一の方法である。最近では、CT スキャナーを化石研究に用いることが一般的になり、頭蓋腔のエンドキャスト（内形型）をコンピューター上で作製し、それを解析することが可能になってきた。哺乳類や鳥類に加え、一部の絶滅恐竜のエンドキャストは、ほとんどその脳形態を反映していることから、エンドキャストを研究することがまさに恐竜などの絶滅動物の脳を知ることにつながる。

絶滅動物の研究をする際、多くの場合は現在生きている近縁な動物を参考にすることで、様々な議論を進展させることができる。上述の通り、エンドキャストは脳の外部形態を保持しているが、その内部に関する情報はほとんど記録していない。一方、現生動物においては、はるかに多くの知見が得られていることから、現生動物における解剖学的知見は絶滅動物の理解に向けて非常に重要になってくる。さて、恐竜について見ると、恐竜の唯一の生き残りは鳥類である。つまり、私たちがイメージする太古の地球に繁栄していた巨大爬虫類の脳を知る手がかりは鳥類に残されていると言える。これまで多くの研究によって、鳥類の脳形態と様々な認知・運動能力との関係について明らかにされてきた。しかし、意外なことに脳形態に関する詳細な議論はほとんどなされてきていなかった。よって、演者はこれまで、恐竜などの絶滅動物への応用を考え、現生鳥類の脳形態に関する研究をおこなってきた。

本講演では、これまでに演者らが明らかにしてきた、鳥類の脳を形作る要因について概説し、それらの結果がどのように絶滅動物の研究に応用できるか説明する。また、様々な絶滅動物の脳に関する理解がどこまで進んできているのか紹介し、今後の古神経学の課題や発展性について考える。

101 うつ病様行動障害における手綱核グリア細胞の役割

○相澤秀紀

広島大学 歯薬保健学研究院（医）神経生物学

グリア細胞の一種であるアストロサイトは細胞外のカリウムやグルタミン酸等の物質の取り込みにより、脳の興奮性制御に重要な役割を果たしている。近年、うつ病の病態におけるグルタミン酸神経伝達の関与が多数報告されることから、アストロサイトの機能異常がグルタミン酸神経伝達の過剰を介してうつ病様の行動障害や睡眠障害を引き起こす可能性が高い。

最近の機能画像研究によると、手綱核と呼ばれるモノアミンの上位中枢がうつ病患者において病的血流上昇を示しており、「手綱核の過剰活性化はうつ病様の行動障害を引き起こす」という仮説が注目を集めている。

この仮説検証のため、我々はアストロサイトのグルタミン酸輸送を担うGLT-1 遺伝子に注目した。手綱核特異的なGLT-1 欠損を引き起こしたマウスは、手綱核神経細胞の病的な発火率上昇を示していた。動物行動試験によると、このマウスは尾懸垂試験や Novelty-suppressed feeding 試験において絶望状態の増悪や不安の亢進などのうつ病様行動異常を示した。

これらの結果は、手綱核グリア細胞の機能異常が多様なうつ病様行動異常の一部を引き起こすのに十分であることを示している。

102 Targeted disruption of organic cation transporter 3 (Oct3) ameliorates ischemic brain damage through modulating histamine and regulatory T cells.

○朱 鵬翔¹、秦 龍二²、小笠原 正人³、曹 芳¹、亀田健治⁴、前山一隆³、阪中雅広¹
¹愛媛大学大学院医学系研究科機能組織学、²藤田保健衛生大学医学部解剖学1、³愛媛大学大学院医学系研究科薬理学、⁴愛媛大学大学院学術支援センターADRES 病態機能解析部門

The organic cation transporters OCT1, 2, and 3 (SLC22A1-3) have been implicated in the elimination of biogenic amines such as histamine. Among them, OCT3 was identified as an uptake-2 transporter, responsible for clearance of histamine. Because increasing evidence suggests the involvement of histamine in cerebral ischemia, we investigated the effects of targeted disruption of organic cation transporter-3 (Oct3) on the severity of ischemic brain damage. Transient focal ischemia for 1 hour was induced by occlusion of the middle cerebral artery (MCA) of homozygous Oct3-deficient mice and their wild-type (Wt) littermates. Although targeted disruption of Oct3 did not affect physiological parameters after MCA occlusion, this disruption significantly increased histamine content in the ischemic cortex and significantly reduced the infarct volume after cerebral ischemia. Furthermore, targeted disruption of Oct3 prevented the reduction of regulatory T-cell proportion after cerebral ischemia while this disruption did not affect Th1 and Th2 cell proportions after ischemia. Since repeated administration of L-histidine (a precursor of histamine) to Wt mice also showed the same effects, our observations suggested that OCT3 is the molecule responsible for clearance of ischemia-induced histamine in the brain and targeted disruption of Oct3 ameliorated ischemic brain damage through an increase in regulatory T cells.

103 細胞多様性の元となる分化多能性の必要要件
～ヒト iPS 細胞を用いた検討～○加藤英政^{1,2}、加門啓子²、竹越大輔³、岡崎康司²、阪中雅広¹¹ 愛媛大学大学院医学系研究科機能組織学² 埼玉医科大学・ゲノム医学研究センター・TR 部門³ 東北大学医学系研究科・呼吸器内科

いかなる多細胞生物も、その始まりは1つの細胞である。この性質は、現在わが国でも大きな関心を集めている再生医学の礎となっている幹細胞生物学が中心的に扱う研究テーマである。一方、このいかなる体細胞への分化能を保持した潜在能力である分化多能性は、通常のライフサイクルでは長期間維持されない人工的な性質であり、その持続的成立は（進化的に考えても）一切保証されておらず、任意である。そのため、iPS 細胞を始めとしたこれら幹細胞の性質は、我々科学者が決定する他ない。

現在の幹細胞生物学最大の関心事は、ヒト分化多能性幹細胞の目的細胞への分化能が（マウスに比べて）極端に低いことである。我々は、ヒト iPS 細胞を樹立する過程において、初期胚の発生進行に不可欠で DNA 脱メチル化に働く TET1 が十分に発現しないことに気づき、本因子を加えることによって、現行のヒト iPS 細胞の初期化をより完全に近づけることに成功している。その証左として、このようにして樹立した TET1-iPS 細胞は、デフォルト分化に際して、その他の脊椎動物と同様に神経外胚系系に効率良く分化するだけでなく、他方の分化系譜である中内胚系系への分化能も向上していた。TET1-iPS 細胞は、現行のヒト iPS 細胞と比較して、分化能が向上した、より望ましい分化多能性を有していることが見出された。

104 ヒト Oct4 遺伝子と Oct4 偽遺伝子の機能的差異

○戎井孝太¹、大前凌^{1,2}、水野伸彦¹、小阪美津子¹、大塚愛二¹

1) 岡山大学大学院歯薬学総合研究科人体構成学分野

2) 岡山大学医学部医学科四年

マウス OCT4A は、POU ファミリーに属する転写調節因子であり、初期胚、生殖細胞および ES 細胞に特異的に発現する。一方、ヒト Oct4/POU5F1 には多数の偽遺伝子が染色体上に存在しており、それらの判別が難しく Oct4 遺伝子解析上の課題となっている。ヒト Oct4 遺伝子がヒト腫瘍において高発現している報告が多数あるが、実はそのほとんどが偽遺伝子との区別ができていないことが分かってきた。

我々が Oct4 遺伝子と偽遺伝子を区別できる方法を確立して、最近再調査した結果、Oct4 遺伝子と Oct4 偽遺伝子 PG-I,3,4 双方がヒトがん細胞株で高発現している例が多いことが分かった。PG-I,3,4 は Oct4 遺伝子と塩基配列相同性が極めて高く、OCT4A と類似したアミノ酸配列をもつ蛋白質をコードする可能性が示唆されているが、機能については不明である。

本研究では、Oct4 偽遺伝子産物が果たして OCT4A と同等の機能を持つか否かについて、in vitro 強制発現系を用いて検討した。その結果、Oct4 偽遺伝子産物は、OCT4A が有する転写調節活性、トランスフォーム活性、等を有さないことが分かった。さらに、それらの機能的差異が生じる理由について、部位特異的変異挿入法を用いて検証したので報告する。

105 REIC/Dkk-3 の生体内における発現パターンの解析

○井上 順治、藤田 洋史、板東 哲哉、近藤 洋一、公文 裕巳*、大内 淑代
岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 細胞組織学分野
*新見公立大学

近年の研究で、がん細胞で REIC/Dkk-3 遺伝子の発現が減弱ないし消失していることが注目され、これを用いたがんの遺伝子治療の臨床開発が進められている。一方、REIC/Dkk-3 遺伝子は様々ながん種においてがん抑制遺伝子として機能していることが報告されているが、生体内での局在や機能については、未だに多くが解明されていない。そこで、本研究では REIC/Dkk-3 遺伝子の生体内における機能解明を目的とし、まず初めに成体マウスのほぼ全ての器官組織での REIC/DKK-3 の発現パターンを *in situ* hybridization 法と免疫組織化学法により解析した。

その結果、REIC/Dkk-3 遺伝子は様々な器官組織で発現していることがわかった。特に、神経系では脳や眼に、リンパ性組織では胸腺、リンパ節、脾臓に、内分泌系では下垂体、甲状腺、副腎、さらに心房において、また生殖系では精巣、前立腺、卵巣、子宮で発現していることがわかった。消化器系では、胃や小腸などの消化管の組織で発現が確認されたことに加え、胃腔や小腸の管腔においても、免疫染色陽性像が観察された。

以上の結果により、REIC/Dkk-3 は、神経系、リンパ性組織、内分泌系、生殖系系の特定の細胞において多面的な機能をもち、消化管では特に分泌性タンパク質としての役割をもつことが示唆された。

106 マクロファージの M1/M2 分化における FABP の関与

○児玉孝憲^{1,2} 宮崎啓史³ 澤田知夫² 大和田祐二³ 徳田信子¹
山口大学大学院医学系研究科保健学専攻¹
山口大学大学院医学系研究科器官解剖学分野²
東北大学大学院医学系研究科器官解剖学³

【背景・目的】近年、各種脂肪酸の摂取と炎症性・代謝性疾患におけるマクロファージの役割に関連して、脂肪酸の細胞内キャリアである脂肪酸結合蛋白質 (FABP) による機能制御が注目されてきた。例えば、動脈硬化巣など炎症部位に集積するマクロファージの FABP4 高発現と炎症性サイトカイン産生調節や、我々が本学会 120 回総会で報告した Kupffer 細胞特異的な FABP7 発現とその機能制御がある。本研究では、マクロファージ系細胞に発現する FABP サブタイプの違いと同細胞機能との関連を検討するため、マクロファージ系培養細胞株 RAW264.7 を用いて FABP4 または FABP7 の強制発現株を作成し M1 (炎症促進型) /M2 (抗炎症型) 極性分化の誘導刺激に対する応答について検討した。

【結果・考察】それぞれの強制発現系および Mock に LPS 刺激 (M1 刺激) または IL-4 刺激 (M2 刺激) を行い、M1/M2 マーカーの遺伝子発現について qPCR 法で検討したところ、FABP4 強制発現株では M1 刺激に対して IL-1 β や iNOS などの M1 マーカーの発現は増加し、M2 刺激に対しては IL-10、Arg-1 といった M2 マーカー発現が抑制された。一方で FABP7 強制発現株では M1 刺激に対してマーカーの発現増減は見られなかったが、M2 刺激に対しては M2 マーカーの発現が増加した。以上の結果から、マクロファージ系細胞では、発現する FABP サブタイプの違いによって細胞内脂質環境が変化し、M1/M2 刺激応答に影響する可能性が示唆された。

107 蛍光ナノ粒子を用いたマクロファージ取り込みのタイムラプスイメージング

○中村 教泰、木戸 玲子、鶴尾 吉宏
徳島大学大学院医歯薬学研究部 顕微解剖学分野

免疫反応などの生体現象に重要な働きをするマクロファージについて、物質を取り込む動態を我々が開発した蛍光ナノ粒子を用いてタイムラプスイメージングで解析した。ナノ粒子の蛍光強度を経時的に調べることににより、一細胞当たりの取り込む量と速度を細胞ごとに測定することが可能となった。粒子表面の分子構造の違いによってマクロファージの取り込みは変化するから、ポリエチレングリコール(PEG)を表面に修飾したナノ粒子を作製し、マクロファージへの取り込みが抑制されるステルス効果について、PEG 修飾した粒子と無修飾粒子を同時投与して検討した。PEG 修飾した粒子は大部分の細胞では取り込まれず、一部の細胞群で無修飾粒子と同程度に取り込まれたことから、PEG のステルス効果に抵抗性を示すマクロファージの存在が明らかとなった。また PEG 抵抗性マクロファージでは PEG 修飾粒子と無修飾粒子の細胞内分布が異なることも判明した。蛍光ナノ粒子を用いた一細胞イメージング解析法によって、ナノ粒子の表面構造を修飾することによってマクロファージへのナノ粒子の取り込みを操作できること、およびナノ粒子の表面構造によって細胞内への取り込み経路の違いがあることが示された。

108 IgG 依存性食食と非依存性食食過程への cofilin の関与と形態様式の差異

路 艶蒙^{1,2}、曹 蕾^{1,3}、江上 洋平¹、川合 克久¹、○荒木 伸一¹
¹香川大・医・組織細胞生物学、²南方医科大・分析測試中心、³南方医科大・生物医学工程学院

マクロファージによる IgG オプソニン化粒子の取り込み過程 (Fc γ レセプター介在性食食) に比べ、オプソニン非依存性の取り込み過程の分子機構はあまり調べられていない。今回、我々は、actin-depolymerizing factor である cofilin の両食食過程への関与と役割解明を目的として、IgG オプソニン化赤血球、IgG コートラテックススビーズ、非処理ラテックススビーズを食食ターゲットとした RAW264 マクロファージの食食過程を GFP-cofilin のライブセルイメージングと走査顕微鏡での形態観察により比較検討した。

IgG を介する食食過程では、GFP-cofilin は食食ターゲットを包み込むように伸展するカップ状偽足に局在してくるのが観察される。IgG 依存性食食の定量解析では、リン酸化型 cofilin (不活性型変異体) の過剰発現で食食は抑制されないが、脱リン酸化型 cofilin (活性型変異体) 発現により食食促進が見られた。このことは、IgG 依存性食食に cofilin は必須の要素ではないが、取り込み過程を促進する働きがあることを示している。一方、IgG 非依存性のラテックススビーズの食食では GFP-cofilin のリクルートは見られず、活性型ないし不活性型 cofilin 変異体の過剰発現にも影響されなかった。IgG 依存性食食と非依存性食食の取り込み様式は、走査顕微鏡による微細形態観察でも差異があり、cofilin のかわりも異なることが明らかとなった。

109 経皮的内視鏡下椎間板ヘルニア摘出術(PED)における未固定遺体を用いたサージカルトレーニングの有用性

○東野恒作^{1,2}、酒井紀典²、高田洋一郎²、阿部光伸²、山下一大²、寺井智也^{2,4}、造見達彦^{2,4}、福井義浩³、西良浩²
¹徳島大学病院クリニカルアナトミー教育・研究センター、²徳島大学大学院運動機能外科学、³機能解剖学、⁴鳴門病院整形外科

【目的】経皮的内視鏡下椎間板ヘルニア摘出術(PED)は低侵襲手術として普及が期待されている。しかしながら、PED を安全に確実に施行するにあたり、技術習得を行う必要がある。我が国でも「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」が公表され、サージカルトレーニングが可能となった。今回、未固定遺体を用いた PED 手術手技トレーニングと実臨床での手術を比較検討した。【方法】台湾 IRCAD サージカルトレーニングセンターおよび徳島大学のクリニカルアナトミー教育・研究センターでの PED 手術手技トレーニングに参加した脊椎を専門とする整形外科医師計 13 名を対象とした。台湾 IRCAD では未固定遺体 3 体を用い、4 時間×2/日の研修を 1 回、徳島大学では未固定遺体 3 体を用い、4 時間×1/1 日の研修を 3 回行った。映像・手技について実臨床での手術と比較を行った。トレーニング終了後に全員にアンケート調査を行った。【結果および考察】PED 手術手技トレーニングに参加した 13 名全員が未固定遺体でのサージカルトレーニングは有用であると回答し、5 人の PED 経験者も手技向上のために有用であると回答した。PED 手技では、ガイドワイヤー挿入後に椎間板へ染色液インジゴカルミンと造影剤を注入し、その広がりを確認する必要がある。未固定遺体 PED は、カニューレ挿入時の軟部組織の感覚が実臨床と全く同様であり、硬膜外静脈叢の血管を同定し出血部位を確認できる。以上より、未固定遺体 PED の有用性が確認された。

110 就実大学薬学部生 6 名の解剖実習

○洲崎悦子¹、藤原有里¹、松下舞¹、徳永智典¹、東裕子¹、平松梓¹、廣井円香¹、福田裕司¹、隅田寛²、石村和敬²、青山裕彦⁴ ¹就実大学薬学部、²広島国際大学保健医療学部、³広島大学大学院人間生活学部、⁴広島大学医歯薬保健学研究所解剖学および発生生物学

就実大学薬学部 5 年生 6 名が、例年のように広島大学医学部で 3 日間の解剖実習を行った。2 グループに分かれて①自律神経系、②腹部血管系の解剖を行った。

①の御献体では、頸部に迷走神経を見つけ、反回神経、心臓枝、食道神経叢を確認しながら腹部へと進んだ。また、交感神経幹を下方に進めたが、その枝である大内臓神経は左右ともに明瞭であった。さらに横隔膜を経て腹腔神経叢まで進み、左に 3 個、右に 1 個の神経節も確認できた。合わせて、胸管を静脈角まで進めることもできた。その他、甲状腺に錐体葉が存在し、また、腕頭動脈が気管にかぶさるように走行しており、気管切開・穿刺の際に注意が必要な走行であった。

②の御献体は虚血性心疾患を長く患っておられた方で、ペースメーカーの装着や左内胸動脈を利用したバイパス手術を観察できた。腹部血管系については、腹腔動脈から左下横膈動脈が分岐した後、左胃動脈、脾動脈の分岐のみであり、上腸間膜動脈から総肝動脈が分岐するという非常に珍しい変異があった(存在比率 0.4~4.4%)。総肝動脈は、通常通り胃十二指腸動脈、右胃動脈を分岐して固有肝動脈となり肝臓へ至っていた。Tandler の説に基づく腹部動脈の変異型として、通常は胃脾肝動脈幹と腸間膜動脈幹から派生する腹腔動脈と上腸間膜動脈が、本例では左に偏位した胃脾肝動脈幹と失われた肝への脈管を補う肝腸間膜動脈幹として形成されたと考えられる。

今年も例年と同じテーマで解剖を行ったのであるが、臨床的にも発生学的にも参考となる、私達としては初めての例を多く観察することができた。

111 タブレット端末で操作する3D解剖アトラスを用いた理学・作業療法学科解剖学実習の試み

○津森登志子¹⁾、加藤洋司¹⁾、武本秀徳²⁾、積山和加子²⁾、高宮尚美²⁾、金指美帆²⁾
 県立広島大学保健福祉学部看護学科¹⁾
 県立広島大学保健福祉学部理学療法学科²⁾

県立広島大学は平成26年度文部科学省「大学教育再生加速プログラム」に採択され、授業改善と教育方法の充実・転換を目指したアクティブ・ラーニングを全学的に導入している。保健福祉学部では、理学・作業療法学科(各30名)2年次前期に解剖学実習(90時間)を行っているが、従来からの骨学・組織学・肉眼解剖学の内容に、今年度から3D解剖アトラスを利用した課題解決型グループ学習を組み込んで試行したので紹介する。市販のアプリケーション2種類:ザイゴット3D解剖アトラス(南江堂)とMuscle Premium(Visible Body)をインストールしたタブレット端末を班単位で配布し、毎回の実習内容に即した討論課題および作図とそのスケッチ課題を与えた。実習終了後には受講学生にアンケートを行い、新しい試みが解剖学への関心度や学習モチベーションに与える影響を測った。

アンケートの結果、ほとんどの学生がMuscle Premiumを用いたグループ討論や3D解剖アトラスを用いた作図・スケッチは知識の整理や考察に役に立ったと回答した。興味を持った討論課題は「回旋筋腱板を形成する筋の作用」「胸郭の運動と呼吸筋・呼吸補助筋との関係」、作図・スケッチ課題については、「胸郭と心臓・出入りの血管との位置関係」「梨状筋上・下孔と神経の位置関係」などに関心が高かった。さらに自由記載からも、今回の試行が「学習意欲につながった」「理解が深まった」「解剖学が楽しいと思えた」など受講者に肯定的に捉えられていることが明らかになった。

112 学生目線で作る魅力的な解剖学教材

○里見雪音^{1,2)}、百田龍輔²⁾、大塚愛二²⁾
¹⁾岡山大学医学部医学科3年
²⁾岡山大学大学院医歯薬学総合研究科人体構成学

解剖学は、医学の基礎中の基礎であり、医師になる勉強をする上ですべての基盤となるものである。しかし、人のからだは複雑で、用語も難しく、構造同士の間を正しく理解し覚えることは今日の医学生にとって大きな壁となっている。解剖学をもっと楽しく、親しみやすくすることが出来れば、学習への大きな後押しとなるだろうと考え、作成したのが解剖トランプである。筋肉や神経などのわかりやすい挿絵や解説を入れ、学生たちが手に取りやすいよう工夫をした。解説を加えることで一人でフラッシュカードのように用いて学習することもできるようにしたほか、複数人数でゲームをして遊ぶことも可能で、実際に同級生や先生方とこのトランプを用いて遊んでみたところ、「意外と面白かった」、「難しかったが楽しく勉強になった」との声が多くあり、解剖トランプが、解剖学を楽しく学ぶためのツールとして有用であることが明らかになった。

今後、ゲームを発展させ解剖学の学習に苦しむ多くの医学生の学習を手助けしていきたい。

113 系統解剖学実習中に見出された右鎖骨下動脈の起始異常の一例

○原田 裕¹⁾、鈴木 辰吾²⁾、太田 健一²⁾、割田 克彦^{2,3)}、三木 崇範²⁾
¹⁾香川大学医学部医学科4年、²⁾香川大学医学部神経機能形態学、³⁾鳥取大学農学部共同獣医学科獣医解剖学

【目的】系統解剖学実習中、誤嚥性肺炎により亡くなられた96歳女性の大動脈弓において右鎖骨下動脈の起始異常が見出された。そこで本研究では、より詳細な観察を通して、本例の発生学的意義と臨床との関連についての考察を行った。また右反回神経についても同様の観察と考察を行った。

【所見】本例における右鎖骨下動脈は大動脈弓の第4分枝として分岐し、気管・食道の背側を回旋するように走行していた。また下喉頭神経が右迷走神経から反回せずに生じていた。本例のように右鎖骨下動脈の起始異常が存在する場合、右の下喉頭神経が迷走神経から分岐した後、直接下咽頭収縮筋へ走行する場合と、若干下行したのち下咽頭収縮筋へと走行する場合の二種類があるが、本例は前者であった。さらに、本来反回神経から分岐する食道枝・気管枝は下喉頭神経からではなく迷走神経から直接分岐していた。

【考察】右鎖骨下動脈の起始異常の発生頻度は0.5%~1.6%であり、多くは無症状のまま経過されると報告されている。本例において目視で観察する限り、大動脈弓やその近傍の組織に異常は見出されなかったため、起始異常に起因する症状はなかったのではないかと推察された。Tbx1-Six1/Eya1-FGF8経路が鎖骨下動脈の起始異常に関与するという報告もあるため、同様の異常が観察された場合、今後は遺伝子解析を併せて実施することが望ましいと考えられた。

114 脳発達期の母子分離による海馬興奮性シナプス形成の異常

○加地 智洋¹⁾、太田 健一²⁾、鈴木 辰吾²⁾、割田 克彦³⁾、三木 崇範²⁾
¹⁾香川大学医学部(医学科4年)、²⁾香川大学医学部神経機能形態学、³⁾鳥取大学農学部共同獣医学科獣医解剖学

脳発達期における母子分離は記憶/学習を中心とした様々な高次機能に影響を与えることが報告されている。しかしながらそのメカニズムは未だに明らかになっていない。我々は昨年の本学会において母子分離を受けた生後早期のラットの海馬でBDNF-ERKシグナルが一過性に低下していることを報告した。生後早期は特にシナプスが增加する重要な時期であり、この時期のBDNF-ERKシグナルはシナプス形成を促す重要な経路である事が指摘されている。そこで今回は生後2-20日間に母子分離を受けたラット仔の21日齢における海馬のシナプスを評価した。

海馬においてシナプスマーカーの発現をウェスタンブロットで解析すると、母子分離群は正常群と比較してPSD95の発現量が低下していることが見出された。次にPSD95は興奮性シナプスの足場蛋白質であることから、ゴルジ染色にて興奮性シナプス後部を構成する樹状突起スパインの評価を海馬で行った。その結果、母子分離群ではCA1領域において錐体細胞の樹状突起スパイン数の減少が認められた。これらの結果は、脳発達期の母子分離が海馬の神経回路網形成、特に興奮性シナプスの形成を阻害している可能性を示唆している。母子分離を受けた仔では成熟後の海馬に関連した記憶/学習試験の成績が低下しており、これは今回認められた発達期における海馬の神経回路網形成障害に起因しているかと推測される。

115 光活性化Rac1誘導性エンドサイトーシス経路における膜リン脂質動態解析

○沢田 光一¹⁾、西垣 新¹⁾、川合 克久²⁾、荒木 伸一²⁾
¹⁾香川大・医・5年、²⁾香川大・医・組織細胞生物学

マクロパイノサイトーシスは、細胞が行う非選択的な細胞外液の取り込み機構であり、他のエンドサイトーシスと比べ大きなサイズ(0.2~10µm)のバイノゾームを形成するのが特徴である。これまでに我々は、RAW264マクロファージ様細胞において、光活性化Rac1(PA-Rac1)によりRab10陽性の新規型のマクロパイノサイトーシスが誘導されることを報告している。

本研究では、PA-Rac1により誘導されるRab10陽性マクロパイノサイトーシスにおいて、脂質組成がどのように変化するかを、蛍光タンパク質を融合した複数の脂質プローブにより解析した。RAW264細胞にPA-Rac1および脂質プローブを一過的に共発現させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いてライブイメージングを行った。その結果、細胞膜に豊富に存在するPI(4,5)P₂およびホスファチジル酸は、Rab10陽性マクロパイノゾーム形成時に速やかに減少した。また、従来マクロパイノゾームに集積することが知られているPI(3,4,5)P₃およびPI(3)Pは、Rab10陽性マクロパイノゾームでは集積が見られなかった。PI(4)Pは、PI(4,5)P₂減少に伴い一過的にRab10陽性マクロパイノゾームで増加し、その後減少した。

以上の結果から、PA-Rac1誘導性エンドサイトーシス経路には、典型的なマクロパイノサイトーシスとは異なる、PI(4,5)P₂-PI(4)P-PIとなる膜リン酸化カスケードが存在する可能性が示唆された。

116 新たなエンドサイトーシス経路における管状構造のライブイメージング解析

○守家 聖二¹⁾、野本 菜摘¹⁾、西垣 新²⁾、川合 克³⁾、荒木 伸一³⁾
¹⁾香川大・医・4年、²⁾香川大・医・5年、³⁾香川大・医・組織細胞生物学

マクロパイノサイトーシスはエンドサイトーシスの一つであり、液相の取り込みやウイルスの進入経路など様々な役割を持つが、その機構はいまだ詳しく解明されていない。今までの研究で、光活性化PA-Rac1で誘導されるマクロパイノゾーム様構造にはRab10陽性のものが存在し、そこから管状構造物が伸びることを発見した。今回、我々はPA-Rac1を導入したRAW264細胞を用いて管状構造の形成、輸送についてライブセルイメージング解析を行った。

PA-Rac1で誘導されるRab10陽性マクロパイノゾーム様構造は、Rab5陰性であり、典型的なRab5陽性マクロパイノゾームとは異なる経路である。Rab10陽性マクロパイノゾームからは管状構造物が微小管に沿って伸長し、細胞中央部に向かって直線的に移動していることが観察された。管状構造の伸長に伴いマクロパイノゾーム様構造は小さくなり次第に消失する。ノコダゾールで微小管を壊すと、細胞中央部に向かう移動は抑制されたが、管状構造自体の形成は抑制されなかった。以上の所見から、管状構造の初期形成過程は、微小管非依存性であるが、管状構造が微小管に接することでさらに伸長し、微小管マイナス端方向への輸送がおこなわれることが示唆された。

117 Hippo シグナル経路によるマウス初期胚のサイズ制御の研究

○安達 直、加納 聖、今井啓之、日下部健、木曾康郎

山口大 獣医解剖

Hippo シグナル経路はショウジョウバエにおいて、がん抑制シグナル経路として同定され進化的に保存されているシグナル経路である。Hippo シグナル経路は、細胞密度レベルの変化に応じて、細胞分裂を調節し、肝臓などの器官の大きさなどを制御することが明らかとなっている。一方、マウス初期胚においては細胞極性など分化制御との関連が報告されているが、胚のサイズ制御における Hippo シグナル経路の関与は分かっていない。そこで、本研究では、このシグナル経路の下流因子 Yap に着目し、マウス初期胚の細胞数や大きさの条件を変えることで、Hippo シグナルと初期発生との関連を考察した。まず、凝集胚(×2胚、×3胚)、demi胚(×1/2胚)、コントロール胚(×1胚)を作成し、4.0日から5.5日にかけての初期胚のサイズ、細胞数の変化を比較したところ、各期間において、胚の成長率、生存率の違いが観察された。次に、コントロール胚に対する Yap の免疫組織化学染色を行ったところ、4.0日、5.5日の胚において、Yap の局在が観察された。凝集胚、demi胚、コントロール胚の内部細胞塊と栄養外胚葉における Yap の局在の結果に基づき、初期胚のサイズ制御における Hippo シグナル経路の関与について考察する。

118 マウス四倍体胚の発生の特性に関する研究

○小杉七草¹、加納 聖¹、今井啓之¹、日下部健¹、木曾康郎¹¹山口大 獣医解剖

【目的】哺乳類の多倍体胚は着床後致死となることが知られており、多倍体個体は存在しない。一方、両生類や魚類においては多倍体個体が存在することから、哺乳類は多倍体胚の発生に関して、独自の何らかの発生停止機構が働くことが考えられる。これまでの我々の研究から、マウス四倍体胚において、胚葉形成不全が見られたため、トランスジェニックマウスを用いてこの表現型をレスキューすることにより、哺乳類における多倍体胚発生の特性について考察する。

【方法】中胚葉形成の重要な因子である BMP4 関連因子のトランスジェニック(Tg)マウスを作成し、Tg オスマウスと交配させた野生型メスマウスから採取した受精卵から、電気融合法により四倍体胚を作成し、偽妊娠マウスに移植し、その発生を観察した。

【結果】コントロールの四倍体胚では 10.5 日齢胚の退縮が観察されたのに対し、Tg 由来四倍体胚では一部、胚構造が観察された。同時に 12.5 日齢、15.5 日齢の Tg 由来四倍体胚の一部においても胚発生の進行が観察された。

【総括】以上の結果より、胚葉形成不全がマウス四倍体胚の致死に関連することが示唆された。

119 四倍体マウス胚性幹細胞の細胞生物学的特性の解析

○今井啓之¹、藤井 渉²、日下部健¹、木曾康郎¹、加納 聖¹¹山口大院連合獣医 獣医解剖、²東大院農生命 応用遺伝

ゲノムの倍数性変動は、多くの生物学的意義を有する。これまでの研究から、倍数性変動は脊椎動物の進化や生物の環境適応に深く関与することが示されている。例えば、腫瘍の一部は四倍体細胞であり、腫瘍形成との関連性が示唆されている。しかし、多くの腫瘍細胞は異数倍性により不均一な細胞集団であるため、これらの細胞を用いた四倍体細胞の細胞生物学的特性の解析は困難である。本研究では、以前樹立したマウス四倍体胚性幹細胞のゲノム量の安定性と細胞の均一性に着目し、その性状解析を行うことによりマウス胚性幹細胞に対するゲノムの倍数性変動による細胞生物学的影響を調べた。マウス四倍体胚性幹細胞は、二倍体胚性幹細胞とほぼ同様であるが、増殖速度が顕著に低下していた。そこで、細胞周期の解析を行ったが、両者に顕著な差は見られなかった。次に、1細胞あたりの遺伝子発現の絶対量を定量するために、 2×10^5 個の細胞に対して外来 RNA(1.2×10^8 コピー)を添加し、qRT-PCR 解析を行った。その結果、二倍体胚性幹細胞と比較して、四倍体胚性幹細胞では細胞あたりの遺伝子の発現量が約 2.2 倍に増加していた。続いて細胞のサイズの比較解析を行った。細胞標本から細胞の面積を、フローサイトメトリ解析から細胞の直径比を測定し、体積比を推計すると約 2.2 倍であった。四倍体化によるゲノム量の倍加に伴い、細胞あたりの遺伝子発現量が増加するが、細胞の体積も大きくなるため、倍数性の変動にもかかわらず細胞内の転写産物濃度は一定に維持される可能性が示唆された。

120 ラットとマウスの視交叉上核及び室傍下帯における性ホルモン受容体の発現分布と形態学的種差

○根本 穰、Mir Rubayet Jahan、Md. Nabiul Islam、柳井章江、Greggory Wroblewski、石井健裕、田中敬祐、藤永竜太郎、篠田 晃

山口大学医学系研究科機能神経解剖学

中枢性概日リズムは外因性の光刺激等以外に内因性の性ホルモン等によっても修飾されることが知られる。しかし視交叉上核(SCN)などの関連領域におけるアンドロゲン受容体(AR)とエストロゲン受容体 α (ER α)の発現の詳細については不明である。今回我々は雄ラットと雌マウスを用い SCN および周囲の関連領域における AR と ER α の発現を免疫組織化学的に明らかにし比較検討した。SCN の AR 発現はマウスでより顕著に強く、コア部に集中しており、ラットではわずかにシェル部に見られた。アンドロゲン投与によりマウスでは AR 発現がコア部で増強し、ラットではシェル部で増強した。一方 SCN の ER α は両種においてまばらで弱い発現であった。また、概日リズム関連領域である室傍下帯 Subpaventricular zone(SPVZ)内ではマウス特異的に AR 発現ニューロンの集積部位が落涙核 Tear drop nucleus(TDN)として同定され、その背側キヤップ領域に ER α 発現ニューロンの集積が見出された。ラットでは相応領域に同様な集積的発現は見られなかった。以上の結果より、SCN、SPVZ において AR の発現は明らかにマウスで強く、特にマウスでは概日リズムのアドロゲン感受性は高いものと推察された。また両領域内での性ホルモン受容体の分布にも種差が確認され、これらのデータは概日リズムに対する性ホルモン制御が種間で異なる事実を裏付ける形態学的根拠と考えられた。

121 筋分化におけるコンドロイチン硫酸の役割と機能の解明

○大島奈々¹、割田克彦¹、保坂善真¹¹鳥取大学 農・獣医解剖学

【背景と目的】グリコサミノグリカンの一種のコンドロイチン硫酸(CS)は、二糖の繰り返し構造を持ち、硫酸基の結合位置とその数から 7 種類に分類される。近年 CS は筋分化を抑制する因子であるとの報告がなされたが、その詳細は不明である。本研究では CS が筋分化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。【材料および方法】骨格筋の分化過程を再現できる筋芽細胞 C₂C₁₂ に 5 種類の CS (CS-A、B、C、D および E) をそれぞれ添加し一定期間分化誘導を行った。さらに最も筋分化を抑制した CS 種を使用し、濃度もしくは添加時期を変え分化誘導を行った。形成された筋管は抗ミオシン重鎖抗体で染め出した。その際、筋管中の核数から算出した筋管係数(FI)値を筋分化の評価指標とした。また CS 糖鎖が筋分化の抑制因子であることを確認するため、培地中に CS の分解酵素(コンドロイチナーゼ ABC; ChABC)を加え筋分化への影響を観察した。【結果及び考察】CS-A、B、C、D および E 全ての CS 種が筋管形成を抑制し、中でも CS-E が顕著な抑制を示した。濃度の異なる CS-E を添加した結果、筋管の形成は濃度依存的に抑制され、ChABC で CS-E を分解すると筋管形成は抑制されなかった。さらに CS-E が分化過程のどの時期に筋分化抑制を示すのかを検討するため、分化培養期間を前期、中期、後期に分け CS-E を添加した結果、中期(分化誘導開始後 3~6 日)での CS-E 添加で最も筋分化が抑制された。以上から、CS の筋分化抑制機能が裏付けられ、CS は筋分化の中期に必要な量以上存在すると筋分化の進行に必要なメカニズムを直接的あるいは間接的に抑制すると考えられた。

201 側板中胚葉由来する腸管壁の発生

○朝克吉楽、青山 裕彦

広島大学大学院医歯薬保健学研究科解剖学及び発生生物学研究室

脊椎動物の胚発生において側板中胚葉は体壁の結合組織や四肢の骨格をはじめ様々な構造を形成する。腸管壁(粘膜炎を除く)もそのひとつである。我々は、ニワトリ 2.5 日胚の側板中胚葉細胞に GFP 遺伝子を導入することで、側板中胚葉を局所的に標識する系を開発した(第 119 回日本解剖学会全国学術集会, 2014)。遺伝子導入 8 時間後において、次の 3通りの標識が可能であった。①中腎管近傍から背外側の領域(壁側板)、②中腎管近傍から折れ戻り部(側板は内胚葉と接する部分から接しない部分に移行するところで折れ戻り)と折れ戻り部より腹外側の一部の領域(臓側板内側部とする)、③折れ戻り部より腹外側部のみ(臓側板外側部とする)の3部である。②と③では臓側板外側部の一部に標識の重複が見られた。今回、この染め分けの確実性について定量的に解析したので報告する。臓側板由来する粘膜炎を除く腸管壁の発生を、7日胚(HH31-HH32)から18日胚(HH44)まで、全載標本および組織標本を用いて追跡した。標識は片側の臓側板外側部、もしくは臓側板内側部に施した。7日胚では、標識した側の腸管壁のみに蛍光が見られた。発生が進むにつれ対側にも標識細胞が見られるようになった。とくに筋細胞において顕著であった。四肢形成に体節由来する筋芽細胞の移動はよく知られているが、平滑筋細胞も発生中に移動することを示している。また、ニワトリの盲腸は結腸の両側にひとつずつ形成されるが、実験例のものは粘膜炎以外の腸管壁が全周にわたって標識されていたのに対して、対照例では全く標識されていなかった。盲腸は結腸のそれぞれの側から形成されることが確認できた。

202 マウス腸管の発生過程における腸管上皮細胞数と Interkinetic nuclear migration (INM)の解析

新田哲哉¹, 小川典子¹, 倉本純子¹, 元矢知志¹, 古屋智英¹, Rafiq Ashiq Mahmood², Jahan Esrat¹, 松本 暁洋¹, 大谷 浩¹

¹島根大学医学部解剖学講座発生生物学

²島根大学研究機構戦略的研究推進センター

[背景] 腸管が器官・組織形成期における急速な伸長や絨毛を形成する機構には多様な現象が関与している。[目的] マウス腸管の発生における基礎的情報を得るため、上皮細胞数の変化と Interkinetic nuclear migration (INM) について検討した。[方法] 胎生 11.5 日 (E11.5)、E13.5 及び E15.5 の C57BL/6J マウス腸管の横断連続切片を、Caudal-type homeobox protein2 (CDX2) 抗体で染色し、腸管上皮細胞数をステオロジ解析にて計測した。また、母獣に E13.5 の時点で 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) を腹腔内投与し、E14.0 まで経時的に胎仔を採取後、EdU 染色を行い、EdU 陽性腸管上皮細胞の頂底軸に沿った核位置を計測、分布パターンの変化を多次元尺度構成法にて解析した。[結果] 上皮細胞数及び腸管径は E11.5 では腸管の部位により異なっていたが E13.5 はほぼ一定であった。E15.5 では細胞数が吻側に多く、尾側にかけて腸管長軸に沿って徐々に少なくなっていた。E13.5-14.0 における INM パターンは部位により差異が認められた。[考察] 腸管伸長過程で、E11.5・E13.5 ではそれぞれ異なる部位で収縮伸長が生じ、E15.5 では分化が進み吻側から絨毛ひだが形成されていると考えられた。E13.5 では腸管径や上皮細胞数、偽重層の層数はほぼ一定であったが、INM パターンは部位により異なっており、その後の絨毛ひだ形成の部位による差に影響を与えている可能性がある。

203 マウス胎仔尿管の伸長過程における上皮細胞核の再配置

○元矢 知志¹, 新田 哲哉¹, Rafiq Ashiq Mahmood², Jahan Esrat¹, 小川 典子¹, 古屋 智英¹, 松本 暁洋¹, 宇田川 潤³, 大谷 浩¹

¹島根大学医学部解剖学講座発生生物学, ²島根大学研究機構戦略的研究推進センター, ³滋賀医科大学解剖学講座生体機能形態学部門

【背景】 Convergent extension (CE) とは、中心軸に向かって細胞の再配置が起こり、太く短い構造が細く長い構造へと変化する発生段階において重要な現象である。当教室では、CE 様の上皮細胞核の再配置が、ヒトの十二指腸における急速な伸長に関与していることを報告した。【目的】本研究では尿管上皮の伸長過程に注目し、十二指腸と同様の現象が存在するか検討を行なった。【方法】 C57BL/6J の妊娠マウスに embryonic day (E) 11.5 の時点で Bromodeoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与し、それぞれ 1, 12, 24 時間後 (E11.5, E12.0, E12.5 に相当) にマウス胎仔を採取した。10%ホルマリン/70%メタノールにて固定・パラフィン包埋した後、5 μm の連続切片を作成し、BrdU 免疫染色を行なった。各時間における尿管上皮の BrdU 陽性細胞、および陰性細胞の細胞核の数を尿管の長軸に沿って計測し、細胞核分布の変化を分析した(各群 n=3)。【結果】尿管上皮において、時間経過とともに尿管が太く短い構造から細く長い構造へと変化していた。加えて、E11.5 の時点では BrdU 陽性細胞が尿管の中央部に分布しているが、時間経過とともに、長軸方向に沿って中央部から両端へと細胞分布の変化がみられた。【考察】マウス尿管の発生において CE 様の上皮細胞核の再配置、および長軸に沿った細胞移動が起きていることが示唆された。

204 マウス胎盤における補体制御因子 Crry の発現

○花田 紗季¹, 日下部 健¹, 武下 愛², 加納 聖¹, 木曾 康郎¹

¹山口大 獣医解剖, ²和歌山医大 医・分子医学研

補体系は自然免疫の要素であり異物排除に関与する。妊娠期において胎子は、母子間の免疫寛容により免疫学的侵襲から回避されている。この環境を維持するべく補体系も適切に制御される必要がある。補体制御因子である Crry の欠損は、着床部位への過剰な補体沈着と胚致死を導くことが知られている。従って、胎盤局所における補体制御は、妊娠維持において重要な機序の一つであると考えられる。本研究では、マウス胎盤における Crry の発現動態について解析した。

自然交配により妊娠させた C57BL/6 マウスの着床部位を観察すると、正常部位の他に 16%の割合で流産部位が認められた。妊娠 6~12 日目の正常部位からパラフィン切片を作成し、免疫組織化学的手法により Crry の局在を調べた。また、両部位を用い、リアルタイム PCR により Crry と Th1 サイトカインである IFN-γ の mRNA 発現を比較した。

正常着床部位における Crry の局在は、妊娠 8 日目の外胎盤円錐と基底脱着膜、妊娠 10、12 日目の迷路部と接合部で確認された。リアルタイム PCR では、正常部位と比較し、流産部位では Crry mRNA の減少と IFN-γ mRNA の増加が確認された。

以上の結果より、Crry は妊娠初期から胎盤形成期にかけての補体活性の制御に関与していると考えられた。また、流産部位における Th1 サイトカインの増加は Crry の発現動態に関係している可能性が示唆された。

205 Comparative study of muscle regeneration in cardiotoxin and glycerol models

○Mohamed A. A. Mahdy¹, Katsuhiko Warita¹, Hsiao Yin Lei², Jun-Ichi Wakamatsu², Yoshinao Z. Hosaka¹, Takanori Nishimura²

¹Dept. Vet. Anat., Fac. Agric., Tottori Uni., ²Lab. Muscle Biol. Meat Sci., Res. Fac. Agric., Hokkaido Uni.

To study muscle regeneration several animal models had been used. However, time course of regeneration differs depending on the type of injury. Therefore, our study aims to compare muscle regeneration in two chemically-injured models, cardiotoxin (CTX) and glycerol. Tibialis anterior (TA) muscles of adult male mice were injected either with CTX or glycerol. CTX injection induced greater muscle degeneration than glycerol injection. Moreover, regeneration in CTX model was better than glycerol model. On the other hand, adipocyte infiltration was detected in glycerol model. In contrast, no adipocytes could be detected in the CTX model. Furthermore, ultrastructural analysis showed a significant difference in myofiber damage and regeneration between the two models. Furthermore, the three dimensional structure of intramuscular connective tissue (IMCT) showed a transient increase in endomysial collagen deposition in CTX model. In contrast, glycerol model showed slight endomysial collagen deposition. These results suggest that IMCT affect the efficiency of muscle regeneration. Studying the three dimensional structure of IMCT may help clinical therapies to reduce skeletal muscle fibrosis. Future studies are required to clarify factors controlling fibrosis and adipogenesis during muscle regeneration.

206 長管骨伸長プロセスにおけるヘッジホッグシグナル経路の役割

○原口竜摩¹, 北澤理子^{1,2}, 北澤莊平¹

¹愛媛大学・医・分子病理 ²愛媛大学附属病院・病理診断科

長管骨の伸長は、成長板内部の軟骨細胞が増殖・分化を経て、骨へと順次置換することで達成される。骨の伸長は、いわば成長板軟骨が骨へと変化していくプロセスであるともいえ、それに関与する分子機序が報告されてきた。ヘッジホッグ(Hh)シグナル経路は、成長板軟骨より発せられる内軟骨骨化シグナルの一つであり、軟骨細胞の増殖/分化や石灰化による骨置換を制御することで知られる。これまでの研究の多くは、胎生期の軟骨化中心や成長板軟骨での Hh シグナル関連分子についての機能解明に主眼がおかれてきた。しかし、Hh リガンドを供給する軟骨組織は、長管骨の発生プロセスにとって不可欠ではあるが、それ自身が骨組織へと分化することは決してなく、直接的に骨の組織構築に寄与するのは、Hh シグナル支配下の別の細胞系列であると考えられている。私どもは、成長板軟骨からの Hh シグナルに応答した細胞集団を、Cre/loxP レポーターシステムを応用したマウス Genetic Lineage Tracing (GLT) 法により可視化することに成功しており、マウス長管骨伸長過程における Hh シグナル経路の役割について、組織系譜制御という観点からの検証を現在行なっている。

207 癌細胞のスタチン系薬剤感受性に関わる細胞特性に関する研究

○割田克彦^{1,2}, 保坂善真¹, 三鶯友子², 太田健一³, 鈴木辰吾³, 三木崇範³, Zoltan N. Oltvai²

¹鳥取大 農・獣医解剖学, ²ピッツバーグ大 医・病理学, ³香川大 医・神経機能形態学

【目的】近年、血中コレステロール降下薬であるスタチン系薬剤の制癌作用が着目されている。しかし、スタチンがどのような特徴を有する癌細胞に有効なのか、具体的な部分は未だ不明である。そこで癌細胞のスタチン感受性を決める細胞特性について解析を試みた。【材料と方法】スタチン系薬剤の1つであるアトルバスタチンを用い、本薬剤で細胞死が引き起こされる感受性株とスタチンが効かない耐性株、計14種の癌細胞株(大腸癌、卵巣癌、乳癌、肺癌、前立腺癌、メラノーマ、脳腫瘍から各2種類)についてプロテオーム解析を試みた。発現がスタチン感受性に相関するタンパクをスクリーニングした後、免疫染色によりその細胞内局在を確認した。さらに、そのタンパクを発現制御することでスタチン感受性が変わるか否かを検討した。

【結果および考察】プロテオーム解析の結果、耐性株には上皮系細胞に特有の細胞接着因子 E-cadherin が高発現しており、感受性株には間葉系細胞に特有の中間径フィラメント Vimentin が高発現していることが明らかとなった。また、耐性株では E-cadherin の発現が細胞膜上であるのに対し、中等度感受性株ではその発現が核内や細胞質内など異所性にみられ、顕著に増殖抑制がみられる感受性株では E-cadherin の発現がみられない傾向が示された。感受性株に E-cadherin を強制発現させると、50%阻害濃度 IC₅₀ が 1.16 μM から 4.30 μM (約 3.7 倍) に増加し、スタチンに対する耐性の獲得がみられた。以上から、癌細胞の E-cadherin 発現とスタチン耐性との関係が裏付けられたとともに、E-cadherin の細胞内局在がスタチン感受性と強く相関するものと考えられた。

208 ヨザル (*Aotus lemurinus*) 網膜の解剖生理学的特徴

○日下部健¹、吉田優司¹、伊藤良樹¹、倉石 武²、服部正策²、吉澤 緑³、甲斐知恵子²、木曾康郎¹
¹山口大学共同獣医学部、²東京大学医科学研究所、³宇都宮大学農学部

ヨザルは中南米原産の新世界ザルで、マラリアへの感染性感受性を示すため、実験動物学的に注目されている。また、ヨザルは真猿類の中では唯一の夜行性の生態を示し、霊長類における独自の視覚的特性をもつと考えられている。本研究では、近縁種で昼行性のリスザルとの比較により、ヨザルの網膜の生物学的特徴を調べた。

東大医科研・奄美病害動物研究施設で飼育されているヨザル・リスザル各 8 頭を使用した。サルは深麻酔下で安楽死させ、眼球を採取して外形計測を行い、固定後にホルマウント標本またはパラフィン切片を作成した。一部の網膜標本にタンニン酸・オスミウム酸処理および凍結乾燥を施し、SEM で観察した。また、各 3 頭に対して麻酔下で LED コンタクト電極を装着し、各種光刺激に対する網膜電位を測定した。

ヨザルの眼球はリスザルよりも横径で約 1.3 倍、角膜径で約 1.6 倍大きかった。網膜の構成細胞密度 (cells/mm²) はヨザルとリスザルでそれぞれ、杆体細胞で 347x10³ と 101x10³、錐体細胞で 2.9x10³ と 8.7x10³、神経節細胞で 2.5x10³ と 3.5x10³ であった。ヨザルにはリスザルのような明確な中心窩は見られなかったが、神経節細胞の高密度領域が存在した。杆体系刺激に対する網膜電位は両サル間で差は無かったが、錐体系刺激についてはヨザルで 18.8μV、リスザルで 58.1 μV と有意差を示した。SEM で網膜を調べるとヨザルの錐体細胞はリスザルに比べ細く、特に内節の発達が悪かった。

ヨザルは網膜の細胞分化過程を調べるための良いモデルとなり、また環境適応や生物進化の研究においても有用な動物であると考えられた。

209 ヒトの脳頭蓋および骨産道形態の小進化について

○岡崎健治 (鳥取大学医学部解剖学講座)・高椋浩史 (土井ヶ浜遺跡・人類学ミュージアム)・中橋孝博 (九州大学)

ヒトの脳頭蓋には短頭化現象と呼ばれる形態変化が報告されている。日本人においては、縄文・弥生時代から中世までは長頭化、中世から現代までに短頭化が進行している。こうした時代変化の要因については、咀嚼機能適応説など、諸説があるが未だ明確な答えは示されておらず、人類学的課題として残されている。

本研究では、まず、縄文・弥生・中世・現代の未成人骨を調査し、頭蓋形態における集団差の発現過程を明らかにした。その結果、頭形の集団差は、乳幼児期に最大となり、その後、加齢と共に減少していた。それに対し、咀嚼圧に比較的敏感に反応する下顎骨の集団差は、10 歳未満においては不明瞭であり、成長期のかなり遅い時期から次第に顕在化していた。したがって、この結果は、咀嚼機能適応説と一致しない。

つぎに、頭形の時代差が乳幼児期において最も強く発現することが明らかになったため、出産時の問題に着目した。国内の成人女性人骨の骨産道形態についてその時代変化を示し、骨産道と児頭の関係について産科学の観点から検討した。その結果、中世人において産科真結合線が最小となり、CPD (児頭骨盤不均衡) のリスクが高い狭骨盤となり、短頭傾向の強い新生児を分娩することは困難であった可能性が伺えた。中世の周産期死亡率を踏まえ、中世人の長頭性と出産の問題について考察する。

210 ヒト舌動脈の走行経路に関する肉眼解剖学的研究

○関伸一郎¹・角田佳折¹・山下菊治¹・北村清一郎²
¹ 徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔顎顔面形態学分野
² 森ノ宮医療大学保健医療学部理学療法学科

【緒言】舌動脈は通常、外頰動脈から起始し、舌背枝や舌下動脈を出した後、舌深動脈となり舌体に分布する。また、外頰動脈付近での舌動脈起始部は変異に富むことが知られている。しかし舌動脈が起始してから舌体に至るまでの走行経路の詳細を体系的に調べた報告はほとんどない。本研究では、舌深動脈へと至る動脈を舌動脈と定義し、変異を含めて舌動脈の走行経路を体系的に調べた。

【方法】解剖学実習用遗体 6 3 体 1 1 1 例を用いて舌動脈を含めた周囲組織を肉眼解剖学的に調べた。

【結果】舌骨舌筋や顎舌骨筋との位置関係から、舌動脈の走行経路が、内側型：舌骨舌筋の内側を走行する通常例 (1 0 4 例)、外側型：舌骨舌筋の外側を走行する変異例 (2 例)、推移型：舌骨舌筋の外側から内側へと推移して走行する変異例 (2 例)、貫通型：顎舌骨筋を貫通する変異例 (2 例)、内側型と貫通型が共存する例 (1 例) に分けられた。内側型および推移型、外側型、貫通型の起始はそれぞれ外頰動脈、顔面動脈、オトガイ下動脈であった。外側型と貫通型では、変異舌動脈に加えて、通常の舌動脈の遺残 (遺残舌動脈) が見られた。

【考察】推移型の変異舌動脈は、遺残舌動脈の不在や、舌骨舌筋の筋走行を考慮すると内側型 (通常例) との近縁性が示唆される。変異を含めた舌動脈の走行経路の詳細は超選択的動注療法等で有用なデータになるとと思われる。

211 ラット中心灰白質外側部は脚橋被蓋核コリン作動性ニューロンを介して延髄腹外側部の neurokinin-1 受容体発現ニューロンへ投射する

○岡 達郎、横田茂文、浅野裕彦、安井幸彦
 島根大学医学部・解剖学講座神経形態学

中脳中心灰白質外側部 (IPAG) および脚橋被蓋核 (PPT) が呼吸の調節に関与することは以前より知られているが、その背景にある神経路については不明な点も多い。そこで本研究ではまず、呼吸リズムの生成に重要な役割を果たすと考えられている延髄腹外側部 (VLM) の neurokinin-1 受容体 (NK1R) 発現ニューロンへの PPT コリン作動性ニューロンからの入力について形態学的に解析した。その結果、PPT からの投射線維終末と NK1R 陽性ニューロンの分布が VLM で一致していた。さらに、PPT から順行性に標識され、かつ小胞性アセチルコリン輸送体に免疫陽性を示す軸索終末が、NK1R 陽性 VLM ニューロンに近接していた。次に、IPAG からの投射線維終末とコリンアセチル転移酵素 (ChAT) に陽性を示す VLM 投射ニューロンの分布が、PPT、とくにその緻密部において一致していた。この領域を電顕下で観察すると、IPAG からの投射線維終末と ChAT 陽性ニューロンの間に非対称性シナプスが形成されていた。IPAG では、GABA 作動性ニューロンよりもグルタミン酸作動性ニューロンの方が圧倒的に多いことを合わせて考えると、IPAG のグルタミン酸作動性ニューロンから PPT 緻密部のコリン作動性ニューロンを介して VLM の NK1R 陽性ニューロンへ至る神経路が存在し、呼吸の調節に関わっている可能性が示唆された。

212 脂肪酸結合タンパク質 FABP3 による抑制性介在神経制御機構

○山本由似¹、澤田知夫¹、徳田信子¹、大和田祐二²
 山口大学医学部医学系研究科 器官解剖学分野¹
 東北大学大学院医学系研究科 器官解剖学分野²

【背景】脂肪酸結合蛋白質 (FABP) は、脂肪酸の細胞内キャリアーであり、脳神経細胞は FABP3 のみを発現する。我々は、FABP3 が、辺縁系に属する帯状皮質の、抑制性介在ニューロンに高発現すること、FABP3 欠損 (KO) マウス帯状皮質では、GABA 合成酵素 (GAD67) が過剰発現し、また認知・情動行動に異常がみられることを報告した。今回、FABP3 の帯状皮質における GAD67 発現調節や、シナプス伝達調節への関与について検証した。

【方法・結果】10 週齢マウス帯状皮質のパンチアウトサンプルを作製し、GAD67 遺伝子発現調節への関与が強く示唆されている、プロモーター領域への転写抑制因子の結合を、クロマチン免疫沈降法により解析した。FABP3 KO マウス帯状皮質では、GAD67 プロモーター領域における転写抑制因子の結合量が野生型マウスに比べ減少していた。ホルセルパッチクランプ法による、帯状皮質第 2・3 層の錐体細胞への興奮性入力と抑制性入力をそれぞれ測定した結果、FABP3 KO マウスの帯状皮質で抑制性入力が増加していた。一方、興奮性入力には変化がなかった。

【考察】FABP3 の欠損が帯状皮質・抑制性介在ニューロンの GAD67 遺伝子の発現制御に異常をもたらし、それが帯状皮質の興奮/抑制バランスを破たんさせ、FABP3 KO マウスの行動異常を引き起こしたと考えられる。

213 感覚情報伝達における A 型ボツリヌス毒素の効果

○丸濱功太郎、寺山隆司、杉本朋貞

岡山大学・院・医歯薬・口腔機能解剖学

A 型ボツリヌス毒素 (BoNT/A) は、神経終末におけるシナプス小胞と膜タンパク質の結合を阻害することで神経伝達物質遊離を抑制することが知られており、片頭痛や神経障害性疼痛での疼痛抑制効果が報告されている。しかし、正常な感覚情報の伝達における BoNT/A の効果は明らかになっていない。本研究では、機械および熱刺激情報の伝達機構における BoNT/A の効果について検討した。

ラットの一侧の足底部皮内に BoNT/A (10MLD, 20MLD) を投与し、投与前後の足底に機械刺激 (von-Frey test) と、熱刺激 (Hargreaves test) を加え、逃避行動の閾値と潜時を BoNT/A 投与後 4 週間にわたり測定した。その結果、BoNT/A 投与 1 週間後から足底部への逃避行動を誘発する機械刺激の閾値に低下が認められた。また、足底部への熱刺激による逃避行動の潜時はベースラインを維持した。この結果は、末梢組織の機械的侵害受容器と一次侵害受容ニューロンの神経終末との間に何らかの化学シナプス様の伝達機構が存在する、そして BoNT/A が足底部皮膚に存在する感覚上皮細胞から一次侵害受容ニューロンの神経終末への化学物質を介したシグナル伝達を抑制する可能性を示唆している。

214 末梢神経損傷後の侵害受容1次ニューロンの収斂投射

○岸本宜子¹⁾²⁾ 寺山隆司²⁾ 山本祐也¹⁾²⁾ 丸濱功太郎²⁾ 杉本朋貞²⁾
 1) 岡山大・院・歯歯薬学・顎口腔再建外科学分野
 2) 岡山大・院・歯歯薬学・口腔機能解剖学分野

末梢神経切断後に、除神経領域に近接する受容野の侵害刺激に応答する後角内2次ニューロン数が増加することが知られている。この増加は損傷神経に含まれる1次ニューロンの後角内終末域とその周囲にみられることから、その付近の興奮伝達の効率が上昇し、結果的に2次ニューロンの興奮性が上昇したものと考えられる。本研究では、受傷1次ニューロンからの侵害情報伝達を受けて興奮する2次ニューロンと損傷を免れた1次ニューロンからの侵害情報伝達を受けて興奮する2次ニューロンをそれぞれ extracellular signal-regulated kinase (ERK) のリン酸化および c-Fos の誘発を指標に免疫二重染色し、その関係を分析した。脛骨神経切断後、ラットの後足を熱湯で刺激したところ、第4,5 腰髄後角に誘発される Fos 陽性細胞数は未切断と比べて切断3日後に大幅に減少したのち増加し、14日後に対照と同様にまで回復した。熱刺激の1.75時間後に神経断端に強い電気刺激を加えて第4,5 腰髄後角に誘発されるリン酸化 ERK (p-ERK) 陽性ニューロン数は神経切断の影響を受けなかった。Fos/p-ERK 二重陽性ニューロンは3日後から14日後にかけて大幅に増加した。このことから、神経切断後の侵害受容2次ニューロンの過剰興奮は末梢から隔離された2次ニューロンに対する近隣の1次ニューロンからの収斂投射によるものと考えられる。

215 神経障害性疼痛におけるミクログリア活性阻害の効果

○山本祐也¹⁾²⁾ 寺山隆司²⁾ 岸本宜子¹⁾²⁾ 丸濱功太郎²⁾ 杉本朋貞²⁾
 1) 岡山大・院・歯歯薬学・顎口腔再建外科学分野
 2) 岡山大・院・歯歯薬学・口腔機能解剖学分野

末梢神経の損傷は、しばしば神経障害性疼痛を引き起こすことが知られている。このメカニズムの1つとしてミクログリアの活性化が示唆されている。そこで、損傷誘導ミクログリアの活性化を抑制することが知られているミノサイクリンを投与し、脛骨神経を切断したラットで術前後の行動実験および組織染色により神経障害性疼痛の抑制効果を検討した。脛骨神経を切断したラットに手術日から8日間連続でミノサイクリン (30mg/kg/day, ip) を投与した群、7日後から8日間連続で投与した群、それぞれのコントロール (生食群) で行動実験を行った。生食群では術後14日目まで痛覚過敏が起こったが、手術日からのミノサイクリン投与群は痛覚過敏が抑制された。7日後からのミノサイクリン投与群では効果がみられなかった。OX-42 を用いた免疫染色では、手術日からのミノサイクリン投与群では免疫活性の上昇が抑制されたが、7日後からのミノサイクリン投与群では抑制できなかった。c-Fos, p-ERK を用いた2重免疫染色では手術日からのミノサイクリン投与が、切断され入力が遮断されている脛骨神経領域への他の領域からの収斂投射を抑制したことが示された。これらよりミクログリアの活性化は神経障害性疼痛に関与しており、その抑制が病的疼痛の抑制に有効である可能性が示唆された。

216 ラット臼歯部咬合支持の喪失がオトガイ舌骨筋および咬筋の筋組成へ与える影響

○馬場拓朗¹⁾、岡村裕彦²⁾、Yang Di²⁾、永尾寛¹⁾、羽地達次²⁾、市川哲雄¹⁾
 1) 徳島大学・歯歯薬学研究部・口腔顎顔面補綴学分野
 2) 徳島大学・歯歯薬学研究部・口腔組織学分野

【背景・目的】超高齢社会の到来とともに、摂食嚥下障害による誤嚥性肺炎の急増が社会問題となっている。開口筋であるオトガイ舌骨筋および閉口筋である咬筋は摂食嚥下機能において重要な役割を担っており、その脆弱化は摂食嚥下障害をもたらすと考えられる。ところが、高齢者における歯の欠損が開口・閉口筋の筋組成に影響を与えるかどうかは未知の点が多い。そこで、本研究では、臼歯部欠損による咬合支持の喪失がオトガイ舌骨筋および咬筋の筋組成に与える影響について検証した。

【方法】24週齢のラットの上顎両側臼歯を抜歯した。8週後、摘出したオトガイ舌骨筋および咬筋からサンプルを調製し、リアルタイム PCR とウエスタンブロットにより Myosin Heavy Chain (MyHC) のサブタイプを指標として筋組成を調べた。

【結果・考察】抜歯群では、対照群と比較し、オトガイ舌骨筋および咬筋の筋組成は、MyHC I mRNA の発現が低下し、MyHC II mRNA の発現が増加していた。タンパク質レベルにおいても、抜歯群では、MyHC type II の発現が増加していた。MyHC type I から MyHC type II への筋組成の変化は、筋肉の速筋化を示しており、廃用性筋萎縮の特徴である。これらの所見から、老齢ラットでの臼歯部咬合支持の喪失は、オトガイ舌骨筋および咬筋において速筋化による廃用性萎縮を進行させることが示唆された。高齢者での多数歯欠損による咬合支持喪失は、口腔周囲の筋肉の脆弱化を促進し、閉口・開口筋の筋活動レベルを低下させることで、摂食嚥下障害の一因となると考えられる。

217 Pim-2 を標的とした骨髄腫細胞による骨破壊の抑制

○寺町順平¹⁾、日浅雅博²⁾、岡村裕彦¹⁾、安倍正博²⁾、羽地達次¹⁾
 1) 徳島大学大学院 歯歯薬学研究部 口腔組織学分野
 2) 徳島大学大学院 歯歯薬学研究部 血液・内分泌代謝内科学分野

【背景・目的】多発性骨髄腫(MM)は、骨髄微小環境に依存した進展を示し、広範な骨破壊病変を形成する。セリンスレオニンキナーゼである Pim-2 は骨病変部骨髄微小環境との相互作用により、骨髄腫細胞および骨髄間質細胞においてその発現が亢進し、腫瘍進展や骨形成の抑制に重要な役割を演じていることが分かっている。しかしながら、MM の骨吸収亢進における Pim-2 の役割は不明であったため、今回 MM での破骨細胞形成促進における Pim-2 の役割について検討を行った。【方法・結果】1) MM 骨病変部の破骨細胞は正常骨組織のそれと比べて Pim-2 の発現が亢進していた。また、前破骨細胞において骨髄腫培養上清や骨髄腫微小環境で高産生されている TNF- α や RANKL が NF- κ B 経路を介して Pim-2 の発現を誘導することがわかった。2) Pim 阻害薬 SMI-16a 処理および Pim-2 siRNA の導入により RANKL や MM 細胞培養上清による RAW264.7 細胞の破骨細胞分化を抑制し、骨吸収の亢進を抑制した。3) そのメカニズムを解析したところ、RAW264.7 細胞において SMI-16a は NF- κ B の核内移行や転写活性に影響しなかったが、NFATc1 の核への移行を誘導する Ca²⁺ オシレーションを抑制した。4) 脛骨内移植マウス骨髄腫モデルにおいて、SMI-16a 投与群では骨髄腫腫瘍進展の抑制とともに破骨細胞形成も抑制され、骨量が回復していた。【まとめ・考察】 Pim-2 は MM における破骨細胞の分化と機能を促進する重要な調節因子であり、Pim-2 は腫瘍進展、骨形成の抑制に加え骨吸収の亢進にも関わる枢軸的な MM の治療標的であることが示された。

218 骨芽細胞と脂肪細胞の分化におけるプロテインホスファターゼ PP2A α の役割

○岡村裕彦、寺町順平、羽地達次
 徳島大・大学院歯歯薬学研究部・口腔組織学分野

プロテインホスファターゼ PP2A は触媒サブユニット(PP2A α)を中心に三量体を形成し、様々な蛋白質の脱リン酸化に関与する。今回、骨芽細胞および脂肪細胞分化における PP2A α の役割について検討した。【方法】1. 骨特異的にドミナントネガティブ PP2A α を発現したマウス(PP2A-Tg)の体重、骨量および骨髄内脂肪量を調べた。2. 骨分化誘導培地で培養した MC3T3-E1 細胞において PP2A α の発現と PP2A 活性を調べた。3. PP2A α の発現を抑制した MC3T3-E1 細胞 (shPP2A) を樹立し、リアルタイム PCR、ALP 染色、alizarin red 染色を用いて、骨芽細胞分化能を調べた。4. shPP2A 細胞と未分化間葉系細胞 C3H10T1/2 細胞を共培養し、リアルタイム PCR、Oil red O 染色、Triglyceride assay を用いて、脂肪細胞分化に与える影響について調べた。【結果と考察】 PP2A-Tg マウスは野生型に比べて、体重、骨量および骨髄内脂肪量の増加が認められた。骨芽細胞分化に伴い PP2A α の発現および PP2A 活性が低下した。shPP2A 細胞では骨分化マーカーの発現が増加し、骨芽細胞分化能が亢進した。shPP2A 細胞と共培養した C3H10T1/2 細胞では脂肪分化が促進された。以上の結果から、PP2A α は、骨関連因子の発現を介して骨芽細胞分化と骨形成を調節する重要な因子であることが分かった。さらに、骨芽細胞の PP2A α 発現は未分化間葉系細胞の脂肪細胞分化に関与すると考えられる。