

日本解剖学会

第62回東北・北海道連合支部学術集会

会 期：平成28年9月3日（土）、4日（日）

会 場：帯広畜産大学畜産学部講義室

特別講演

結合組織に魅せられて
－腱炎解析から経口摂取効果、遺伝子疾患解析まで幅広く－

竹花一成 （酪農学園大学）

腱は筋と骨を結び、筋の運動によって生じた応力を骨に伝えて関節を可動させるばかりでなく、応力を集積し増強させる組織でもある（Roberts 2002）。腱の70%は水分で、残りは細胞および細胞外マトリックス（ECM）よりなる（Dowling et al. 2000）。ECMの70-80%はコラーゲンであり、I型コラーゲンがその大半を占めている（Kannus 2000）。非コラーゲン成分としてはプロテオグリカンや弾性線維、無機物が含まれる。プロテオグリカンはコア蛋白および結合するグリコサミノグリカン（GAG）からなる大分子であり（Benjamin and McGonagle 2001）、コラーゲン細線維の形成に重要な役目を持つ（Iozzo 1997）。また、GAGはそれ自身が組織の恒常性に重要な役割を果たし、腱に対し摩擦や圧縮力に耐える生体力学的特性を与え、この成分の大部分は腱細胞（および腱芽細胞）により産生される（Kannus 2000）。演者は腱における正常と損傷および治療時のコラーゲン細線維の超微形態と生化学的变化について研究を行ってきた。本講演では主にその研究内容と現在進めているコラーゲンペプチドの摂取が生体にどのような影響を与えるのかについて紹介する。加えてコラーゲンの難治病であるEhlers-Danlos症候群のモデルマウス（*Zip13*-KO マウス）の皮膚の解析結果も紹介する。（COI：なし）

1 マウス嗅皮質領域における層構造の多様性

○近藤大輔、佐々木基樹、北村延夫
帯広畜産大学 獣医解剖

嗅皮質領域である前梨状皮質と嗅結節はともに3層構造（IおよびII、III層）を示す古皮質（旧皮質）であるが、それらの層構造を組織学的に比較した報告はほとんどない。本研究では、レクチン *Vicia villosa* agglutinin（VVA）の結合様式による、嗅皮質領域の副層構造の同定を試みた。嗅皮質のI層において、レクチン VVA は浅層側のみと組織化学的に結合したが、この領域は嗅球からのトレーサー試験の陽性領域（Ia層）と一致したことから、VVAがI層の副層構造を簡便に区別するツールとなることが示された。また、VVA陽性のIa層は陰性のIb層と比較して、前梨状皮質では有意に厚く、嗅結節では有意に薄かった。Ia層は嗅球からの投射線維を、Ib層は他の嗅皮質領域からの投射線維を豊富に含んでいることから、前梨状皮質では嗅球からの情報をより直接的に、嗅結節では他の情報と十分に混合させた後に、錐体細胞へと伝えている可能性が示唆された。II層では、数珠様に繋がるドット状のVVA陽性反応がいくつかの神経細胞の周囲に認められ、それらは前梨状皮質でのみ、II層の浅層側半分に有意に多く認められた。脳内においてVVAは多くの抑制性介在ニューロンと特異的に反応することから、II層のドット状反応は介在ニューロンの軸索ボタンを反映していたと考えられる。前梨状皮質では、この介在ニューロンに制御される神経細胞がII層の浅層に集まり、副層構造を形成している可能性がある。以上のような前梨状皮質と嗅結節における副層構造の相違は、嗅皮質領域の機能的多様性を反映しているのかもしれない。（COI:No）

2 再発・寛解型マウス多発性硬化症モデルにおける再発時の髄鞘構造の変化

○佐々木千恵¹、板東良雄¹、暮地本宙己²、吉田成孝¹¹ 旭川医大・解剖・機能形態、² 旭川医大・解剖・顕微解剖

多発性硬化症は中枢神経系に脱髄病変を生じ、再発・寛解を繰り返す神経難病であるが、再発の機序には不明な点が多い。我々はこれまでにマウス実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル（Experimental Autoimmune Encephalomyelitis：EAE）において、脱髄時に異常な髄鞘構造が認められることを明らかにしてきた。そこで本研究では、異常な髄鞘構造の有無が再発の病態形成に関与するか否かについて再発・寛解型EAEモデルを用いて形態学的に検討した。SJL雌マウスにミエリン構成蛋白であるPLP 139-151を免疫し、再発・寛解型EAEを誘導したところ、再発した群（67%）と再発しなかった群（33%）が認められた。そこで、走査型電子顕微鏡を用いて各群の脊髄白質における髄鞘構造を観察したところ、再発しなかった群に比べて再発した群では寛解期から再発時にかけて髄鞘の過形成などの異常な髄鞘構造が多く認められた。また、再発した群ではミエリン構成蛋白であるMBPの発現が増加していることが免疫組織化学法により明らかとなった。以上の結果から、再発・寛解型EAEでは寛解期から再発時にかけて認められる髄鞘構造の異常な変化が再発に関与している可能性が示唆された。（COI:No）

3 抑肝散はクプリゾン誘発性脱髄を抑制する

○野村太一、板東良雄、吉田成孝

旭川医科大学 解剖学講座 機能形態学分野

髄鞘が破壊される病態を脱髄といい、中枢神経系における代表的な脱髄疾患に多発性硬化症がある。多発性硬化症は原因不明であり、根治治療も確立されていないが、病態形成にはミクログリアの産生する炎症性サイトカインの関与が示唆されている。一方、漢方薬である抑肝散は様々な精神疾患に有用とされ、ミクログリアに作用し、抗炎症作用をもつことが示唆されている。

今回、多発性硬化症のモデルのひとつである、クプリゾン投与マウスを用いて、抑肝散の脱髄抑制効果について検討した。銅のキレート剤であるクプリゾンを投与することにより、脳梁においてLuxol Fast Blue（LFB）染色とミエリン塩基性蛋白（MBP）免疫染色で染色性の低下を認め（MBPのintensity：正常比0.55）、脱髄の惹起が確認された。さらに脱髄巣におけるミクログリアの集積も認められた。一方、クプリゾン投与マウスに抑肝散を投与すると、LFB染色とMBP免疫染色の染色性が保たれ（MBPのintensity：正常比0.83）、集積するミクログリアの数は有意差を持って約35%減少していた。そこで、抑肝散のミクログリアに対する作用を検討するため、マウスミクログリア細胞株である、BV2細胞を用いて検討した。western blotting法とRT-PCR法において、抑肝散投与はLPS刺激により産生されるIL-1βとiNOSの発現量を有意に減少させた。以上により、抑肝散がミクログリアに作用し、クプリゾン誘発性脱髄を抑制する可能性が示唆された。（COI:No）

4 延髄腹外側部アドレナリン作動性ニューロンおよび結合腕傍核外側部への上行性投射系の神経化学的特性

○暮地本宙己¹、今野幸太郎²、宮崎太輔²、山崎美和子²、渡部剛¹、渡辺雅彦²
旭川医大・解剖学・顕微解剖学¹、北海道大・医区・解剖学・解剖発生学²

延髄のC1、C2、C3の各領域に分布するアドレナリン作動性神経細胞は、その投射先においてアドレナリンに加えグルタミン酸を共放出する可能性が想定されている。そこで、成体マウスのアドレナリン作動性神経細胞およびその主要な投射先の1つである結合腕傍核外側部（LPBN）における神経終末の神経化学的特性に関して解析を行った。まず免疫組織化学により、C1、C2、C3においてアドレナリン合成に必要なチロシン水酸化酵素（TH）、ドーパミンβ水酸化酵素（DBH）が、ノルアドレナリンをアドレナリンに変換するフェニルエタノールアミン-N-メチルトランスフェラーゼ（PNMT）陽性細胞に共局在することを確認した。またC1、C2、C3のPNMT免疫反応陽性細胞は小胞膜グルタミン酸輸送体VGLUT2 mRNAを発現することを確認できたが、VGLUT1やVGLUT3、小胞抑制性アミノ酸輸送体やグルタミン酸炭酸脱水素など他の神経化学的マーカー遺伝子の発現は観察されなかった。次に、LPBNで神経化学的検討を行ったところ、多くのPNMT免疫反応陽性神経終末にTHおよびDBHが共局在していた。さらにPNMT免疫反応陽性終末の一部はVGLUT2を共発現し、微小管結合蛋白MAP2で標識される樹状突起に近接してシナプス前部のアクティブゾーン蛋白Bassoonやシナプス後肥厚部の足場蛋白Homer-1の局在が観察された。LPBNへの逆行性トレーサー標識によりC1の標識細胞の一部でPNMTの免疫反応が見られ、VGLUT2 mRNAも共発現することが確認された。これらの知見から、C1からLPBNへのアドレナリン作動性神経投射系は、VGLUT2を介したグルタミン酸作動性の神経化学的特性を併せ持つ可能性が示唆された。（COI:No）

分界条床核における GluD1/Cbln1 複合体は、結合腕傍核由来神経終末との接着形成に必須である

今野幸太郎¹⁾、森さくら¹⁾、崎村建司²⁾、柚崎通介³⁾、渡辺雅彦¹⁾
北海道大学医学研究科 解剖発生学分野¹⁾、新潟大学脳研究所 神経細胞生学分野²⁾、
慶應義塾大学医学部 神経生理学分野³⁾

デルタ型グルタミン酸受容体 GluD1 はイオンチャネル型グルタミン酸受容体に属し、高次脳機能領域に豊富に発現する。小脳において GluD1 は細胞選択的に発現し入力選択的に局在する特性を有しており、シナプス形成を促進する働きを持つ。GluD1 は情動表出に深く関わる脳領域の一つである分界条床核 (BST) に特に高密度に発現している。背外側 BST の亜核の一つである oval BST (ovBST) において GluD1 はクラスター状に分布しているが、詳細な局在やシナプス形成への関与は不明である。初めに GluD1 の細胞発現特性および詳細な局在解析を行った。ovBST において、GluD1 はエンケファリン陽性 GABA 作動性神経に選択的な発現が認められた。次に包埋前免疫電顕法を用いて局在を検討した結果、GluD1 は接着構造の後部に特に豊富に局在していた。次に GluD1 クラスターに入力する神経終末の神経化学特性を解析した結果、その多くは小胞性アセチルコリン輸送体 (VACHT) および小胞性グルタミン酸輸送体 2 (VGluT2) の 2 種類の神経化学マーカーを発現するコリン作動性/グルタミン酸作動性終末であった。続いて、GluD1 クラスターに入力する神経核を同定するために ovBST に逆行性トレーサーを注入し、逆行性に標識された細胞において蛍光抗体法あるいは蛍光 *in situ* hybridization 法を用いて神経化学的特性を検討した。その結果、橋の結合腕傍核において逆行性に標識された細胞が認められ、標識細胞はコリン作動性/グルタミン酸作動性であることが明らかとなった。さらに、標識細胞において GluD1 のリガンドの一つである Cbln1 の発現も認められた。最後に GluD1 遺伝子欠損マウスを用いて、ovBST における VACHT 陽性終末の変化を検討した。その結果、野生型マウスと比較して、GluD1 遺伝子欠損マウスおよび Cbln1 遺伝子欠損マウスにおいて VACHT 陽性終末の著明な減少が認められた。以上の結果から、ovBST において GluD1 は Cbln1 を介して結合腕傍核との神経回路構築に重要な役割を担っていることが明らかとなった。(COI : No)

視床下部グリアに発現する FABP7 のレプチン感受性と摂食行動における機能

安本 有希・東北大学大学院医学系研究科器官解剖学分野

近年、視床下部における脂肪酸感知がインスリン分泌、脂肪蓄積、摂食行動などのエネルギーバランス制御に深く関わっていることが示唆されている。これまでに我々は、脂肪酸結合タンパク質 7 (FABP7) が視床下部弓状核、正中隆起のグリア細胞に強く発現することを報告した。今回は、摂食行動発現に重要である視床下部弓状核ニューロンのレプチン感受性に対する FABP7 の役割について検証した。

8 週齢の雄マウスにレプチンを投与し、レプチン投与後の摂食量と体重を測定したところ、WT マウスに比べて FABP7KO マウスにおいて有意に低下していた。レプチン投与 30、60 分後の弓状核の pSTAT3+細胞数は、FABP7KO マウスで WT マウスと比較して有意に増加していた。一方、両者間で POMC+および AgRP+神経細胞数に変化が認められなかった。さらにレプチンの視床下部移行に重要である正中隆起における Evansブルーの漏出や、有窓毛細血管のマーカーである MECA32+を示す有窓毛細血管数にも変化は認められなかった。FABP7 はアストロサイトに発現しており、ニューロンだけでなくアストロサイトにもレプチン受容体が発現していることから、FABP7KO マウスにおけるレプチン感受性の亢進は、アストロサイトにおけるレプチンシグナルの変化がニューロンに与えた結果であると考えられた。そこでアストロサイト初代培養のウェスタンブロットを行ったところ、WT と比較して FABP7 はレプチン下流シグナル分子 (pAKT、pERK1/2) の低下が認められた。

以上の結果から視床下部グリア細胞の FABP7 は、グリア・ニューロン連関を介して視床下部弓状核ニューロンのレプチン感受性を制御している可能性が示唆された。COI:なし

脂肪酸結合蛋白質は前帯状皮質の GABA システムを制御する

○山本由似¹⁾、石田雄介¹⁾、上条桂樹¹⁾、大和田祐二²⁾
東北医科大学 解剖学¹⁾、東北大学 器官解剖学分野²⁾

【背景】脂肪酸キャリアーである脂肪酸結合蛋白質 (FABP) ファミリーのうち、中枢神経において FABP3 は神経細胞にのみ発現する。我々はこれまで、前帯状皮質の抑制性介在神経に FABP3 が高発現すること、FABP3 欠損 (KO) マウスでの認知・情動行動異常、前帯状皮質における GABA 合成酵素 (GAD67) が過剰発現していることを明らかにした。本研究では、FABP3KO マウスでの GAD67 のエビジェネティクスな発現調節に関する知見と、前帯状皮質でのシナプス伝達調節に関する電気生理学的知見について報告する。

【方法・結果】10 週齢マウス前帯状皮質のパンチアウトサンプルを作製し、GAD67 遺伝子発現に関与す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で解析した。FABP3KO マウス前帯状皮質では、GAD67 プロモーター領域への転写抑制因子結合量が野生型マウスに比べ減少していた。ホルセルバッツクランプ法を用いて前帯状皮質第 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、FABP3KO マウスでは抑制性入力の有意な増加が検出されたが、興奮性入力には変化がなかった。

【考察】前帯状皮質の抑制性介在ニューロンにおいて、FABP3 は GAD67 遺伝子の発現制御に関わり、その FABP3 の欠損は前帯状皮質の興奮/抑制バランスを破壊させることで認知・情動行動に異常を引き起こすと考えられる。(COI : No)

Inhibition from flexor digitorum superficialis to flexor carpi radialis motoneurons in humans

Mitsuhiro Nito, Wataru Hashizume, Manabu Jimenji, Akira Naito
Dept. Anat. Struct. Sci., Yamagata Univ. Sch. Med.

Effects of low threshold afferents from the flexor digitorum superficialis (FDS) to the flexor carpi radialis (FCR) motoneurons were examined using a post-stimulus time-histogram (PSTH) and electromyogram-averaging (EMG-A) methods in 4 healthy men. Electrical conditioning stimulation to the median nerve branch innervating FDS with the intensity below the motor threshold was delivered. In the PSTH study, the stimulation produced an inhibition in 12/28 (43%) FCR motor units for all the subjects. The remaining motor units received no effects. A stimulus to the skin never provoked such an inhibition. The central latency of the inhibition was 1.3±0.5 ms longer than that of the homonymous monosynaptic Ia facilitation of FCR. In the EMG-A study, the stimulation produced an inhibition in rectified and averaged EMG of FCR in all subject. The amplitude of the inhibition was 83-88% (nadir) of the control (100%). The latency of the inhibition in the PSTH study was limited within the latency and duration of the inhibition in the EMG-A study in each subject. These findings suggest that an oligosynaptic inhibition of group I afferents from FDS to FCR motoneurons exists in humans. (COI:NO)

次亜塩素酸ナトリウムを用いた骨格標本作製の試み

○岩崎 聖、中尾伊吹、平賀武夫、植田弘美
酪農学園大学 獣医学類 獣医解剖学

【目的】交連状態を維持したまま関節を伴って骨格標本作製することは、大変困難である。本研究では、簡便に交連状態を維持した骨格標本作製し、それらを組み立て全身骨格標本の作製を試みた。【材料と方法】成豚を用い、全身の筋肉を大まかに切除しながら頭蓋、頸椎、胸郭、腰椎以降(寛骨を含む)、四肢の 8 部位に分けた。次亜塩素酸ナトリウムを主成分とするジアエースに浸漬し、筋肉を溶解しさらに除肉を行った後、脱脂、漂白、ホルマリン固定を行った。組立ては針金を用いた。【結果】頭蓋では、顎関節は解離することなく連結した状態で、頸椎では、第 7 頸椎まで椎間円板を介して連結し作製された。胸椎、肋骨、胸骨は胸郭の状態で、腰椎以降では、腰椎が連結した骨盤として形成された。前肢は、肩甲骨から指骨まで、後肢は、大腿骨から趾骨まで擦る程度の軟組織を残すことで交連した状態で作製することができた。これらの標本を組み立て、非常に簡便に全身骨格標本作製することができた。【考察】次亜塩素酸ナトリウムの濃度や浸漬時間を調整しブラシなどで擦るなどの作業を加えると、骨に付着している筋肉は溶解され軟骨や靱帯を残すことが可能で、関節は解離されることはなく交連状態を維持した標本作製することができた。これらの骨格標本の数カ所を針金で固定し組み立てさえすれば、全身骨格標本作製することができ、より良い骨格標本作製法の一つと思われる。(COI:NO)

SEM による準超薄切片の超薄像観察

○甲賀 大輔¹⁾、久住 聡²⁾、暮地本 宙己¹⁾、牛木 辰男³⁾、渡部 剛¹⁾

¹⁾旭川医科大学 解剖学講座、顕微解剖学分野
²⁾鹿児島大学大学院 歯学部総合研究科 形態科学分野
³⁾新潟大学大学院 歯学部総合研究科 顕微解剖学分野

透過電子顕微鏡(TEM)の超薄切片の切削やグリッド操作は、技術的に困難であり、長期間の鍛錬が不可避である。そこで、長期に亘るこの大きな問題を克服するため、技術的難易度が低く、誰でも簡単に TEM のような超薄像を取得できる手法(切片 SEM 法)を開発した(Koga et al., 2015)。この手法では、ウルトラミクロームにより切削した樹脂包埋組織の準超薄切片(1μm 厚)をガラススライドに載せた後、ウラン・鉛の電子染色を施し、SEM 反射電子像を撮影することで、TEM のような超薄像が取得できる。従来の TEM による超薄切片観察とは異なり、①観察視野がグリッドに障害されることがないため、広視野観察が可能である。②巨大な切片(広領域)の観察が可能である。③TEM では困難である超低倍率観察が可能である。など多くの利点が挙げられる。さらに、組織を LR white 樹脂に包埋することで、金コロイド標識による免疫電顕法も容易に実演することが可能となった。金は重金属であるため(原子番号 79)、その局在を強い信号として観察することができた(反射電子の原子番号効果)。また、LR white 樹脂は、水溶性の樹脂であり、電子線にも強いので、免疫細胞化学的手技と SEM 観察に最適な樹脂であった。新たに開発した「切片 SEM 法」は、技術的に容易且つ、誰でも実践可能な超薄像観察技法であり、今後の普及と発展が期待される。(COI:NO)

11 ラット切歯象牙質とエナメル質の形成過程におけるカルシウム、リンおよび炭素のSEM-EDXを用いた元素分析

逸見 晶子¹、丸山顕太郎^{1,2}、大方 広志²、○笹野 泰之¹
東北大学 大学院歯学研究科
顎口腔形態創建学分野¹、歯内歯周治療学分野

【目的】ラット切歯を用い、形成過程の象牙質とエナメル質を対象に、ミネラルの構成元素であるカルシウム(Ca)とリン(P)および有機質の構成元素である炭素(C)の基質における濃度について、走査電子顕微鏡-エネルギー分散型 X 線分析(SEM-EDX)を利用して解析し、石灰化に伴う元素組成の変化を検討することを目的とした。
【方法】生後 2 週齢のラットを全身麻酔下で4%パラホルムアルデヒド-1%グルタルアルデヒドで灌流固定後、下顎を摘出して試料とした。試料を非脱灰で凍結包埋し、クライオームを用いて下顎切歯の規格化矢状断面を作製した。さらに試料を凍結乾燥し、断面の象牙質およびエナメル質を対象とし、蒸着操作なしに、SEM-EDXの低真空モードにてCa、PおよびCを分析した。ラット8個体から得た試料の象牙質とエナメル質の形成過程におけるCa、PおよびCの濃度(原子数%)とCa/P比を求めた。
【結果】象牙質形成の進行に伴い、象牙質では形成初期で低いCaとPの濃度およびCa/P比は速やかに上昇し、形成初期で高いC濃度は速やかに低下した。一方、象牙前質では象牙質と比較してCaとPの濃度は低くC濃度は高かったが、Ca/P比は同程度であった。エナメル質では、基質形成期の段階はCa、PおよびCの濃度およびCa/P比に変化はなかったが、成熟期エナメル質でCaとPの濃度およびCa/P比が上昇し、C濃度は低下した。
【結論】象牙質とエナメル質の形成に伴いミネラル結晶が成長する一方で、有機質が減少することが示唆された。
(COI: No)

12 三次元人工ヒト脈管ネットワーク組織の移植と生着後の組織形成

○浅野義哉¹、岡野大輔¹、松崎典彰³、明石満⁴、下田浩^{1,2,4}

¹ 弘前大・医・神経解剖・細胞組織学講座、² 弘前大・医・生体構造医科学講座、³ 大阪大学・工・応用化学専攻、⁴ 大阪大学・生命機能・ビルディングブロックサイエンス共同研究講座

細胞集積法は、培養細胞のECM薄層コーティングにより積層化と組織化を可能とする技術である(大阪大学、特許4919464号)。本手法を用いて、我々は人工ヒト血管およびリンパ管ネットワーク組織を開発した。人工ヒト血管ネットワーク組織をヌードマウス背皮下に移植すると生着、宿主血管との吻合と血液の流入がみられることから、本手法は人工組織による再生医療に有用である。

本研究では、さらに人工ヒトリンパ管ネットワーク組織をヌードマウスに移植し、生着と組織形成の分子形態学的な解析を行った。リンパ管を含む人工組織は、上記手法により、ヒト皮膚由来リンパ管内皮細胞(HDLEC)とヒト新生児皮膚由来線維芽細胞(NHDF)を三次元的に共培養して構築した。これらの結果、ヌードマウス(BALB/cAJcl-nu)の背部および腹部の皮下あるいは筋膜上に移植した後、免疫組織化学および透過型電子顕微鏡像により生着後の組織形成を評価した。

この結果、移植各所の皮下および筋膜上において、人工組織の生着とリンパ管構造の分布を確認した。これらの管腔構造はヒトリンパ管マーカーに陽性を示し、電子顕微鏡像では一層の内皮細胞による毛細リンパ管構造を示していた。また、生着した上記ヒト人工リンパ管の近傍にはヒト血管内皮マーカーに陽性を示す脈管構造の分布を確認した。これらにはマウス血液の流入が見られ、宿主血管との吻合が認められた。更に、ヒト線維芽細胞由来と考えられる平滑筋様細胞が上記脈管を囲み、小径血管様の構造を示していた。これらより、人工ヒトリンパ管ネットワーク移植後の生着と同化に際しては、リンパ管内皮細胞の血管内皮細胞への転化、ホスト脈管系との吻合、筋線維芽細胞の分化による壁細胞様細胞の付与といった組織形成が行われていることが示唆された。
(COI: No)

13 ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた 3 次元心筋組織の形態学的解析

○成田大一¹、島史明²、日浦綾美³、福本健³、明石満²、下田浩¹

¹ 弘前大学大学院 医学研究科 生体構造医科学講座

² 大阪大学大学院 生命機能研究科

³ 協和発酵バイオ株式会社

【背景と目的】我々の研究グループは、独自に開発したコラーゲンコート法を用いて、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (iPS-CM) を 3 次元立体組織に組み上げることに成功している。本研究では、3 次元ヒト iPS-CM 組織を組織学的・超微形態学的解析により評価し、その構造的特徴を明らかにすることを目的とする。

【方法】コラーゲンコート法を用いてタイプ I コラーゲンを iPS-CM (1×10⁵ 個) ならびにヒト心筋線維芽細胞 (1×10⁵ 個) にナノコートした後、両細胞を 24-Transwell insert にて 4 日間共培養して 3 次元ヒト iPS-CM 組織を構築した。この 3 次元組織の微細構造について光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて解析した。

【結果と考察】iPS-CM 立体組織では Sarcometric alpha actinin 陽性の心筋細胞が厚さ約 35 μm に至る三次元的なメッシュワークを構築していた。心筋細胞内には筋原線維や筋小胞体などがよく発達し、ミトコンドリアも豊富に分布していた。隣接する心筋細胞同士は desmosome を含む介在板様の構造により連結し、機能的複合体を形成していた。また心筋組織の周囲には laminin 陽性の基底膜が良好に形成されていた。

以上のように、我々が構築した 3 次元ヒト iPS-CM 組織は形態学的に生体類似の構造を再現することが可能であった。現在、生体移植材料として臨床応用性の高い立体組織の開発を目指して、ラット心不全モデルに対する生体移植環境下での機能形態の評価と解析を進めている。

(COI: なし)

14 細胞集積法で立体造形された血管網の構造形成に及ぼす平滑筋細胞及び周皮細胞添加の影響

渡邊 誠二¹、成田 大一¹、松崎 典彰²、明石 満³、下田 浩¹
弘前大学 院医 生体構造医科学講座¹、大阪大学 院工²、大阪大学 院生命機能³

【背景・目的】我々が開発した細胞集積法による生体組織形成技術はヒト静脈内皮細胞による血管網の立体構築を可能とする。本研究ではヒト臍帯由来平滑筋細胞 (SMC) やヒト脳血管由来周皮細胞 (PC) の共培養による三次元血管網の構造形成について検討した。【方法】 1) 10%牛血清培地で 4 日間培養して得た立体組織における SMC の分布と静脈血管網の構造変化を平滑筋アクチン、CD31 に対する免疫染色により解析した。 2) SMC の生存に対する血清の影響を確認するため、血清非存在下で同様の検討を行った。 3) SMC と PC を同時添加した場合の構造変化を CD31 及び周皮細胞マーカー NG2 に対する免疫染色により解析した。【結果】 1) 血清存在下: 対照群では最大 100 μm 径の幅広い血管による二次元的メッシュワークが形成され、これより組織表層に向って多数の新生血管が三次元的に出芽したのに対し、SMC 添加では多様な管腔径を呈する二次元血管網の浅層に、これから出芽した新生血管が連結した血管網が形成され、全体として三次元ネットワークを構築した。SMC は脈管網周辺に点在したが細胞変性を多く認めた。 2) 血清非存在下: 対照群では出芽が抑制されて二次元血管網の形成に止まったが、SMC 群では三次元血管網が血清存在下と同様に形成され、管腔径がより細く均一で脈管周囲に SMC がより高密度に生存した。 3) PC 添加により、多方向に伸びる多様な管腔径を呈する血管が互いに連絡した三次元ネットワークが築かれた。PC は組織全体に散在し、仮足を伸ばす像も観察された。【考察】血管網の複雑化(管径や分岐様式)に SMC や PC が関与することが示唆される。(COI: No)

15 下気道粘膜における M 細胞の分化誘導機構

○木村俊介¹、武藤麻未²、岩永敏彦¹

北海道大学 大学院医学研究科 解剖学講座 組織細胞学分野¹、大学院歯学
研究科 口腔機能学講座 歯科矯正学教室²

気道は外界とつながり、外気と共に侵入した外来抗原、病原体と接する部位である。上気道に発達した扁桃が存在する一方で、下気道には恒常的なリンパ小節はなく、M 細胞の存在も不明であった。

本研究ではマウスへの Receptor activator of NFκB ligand (RANKL) が気管・気管支上皮に M 細胞を誘導することを見出したので報告する。

C57BL/6 系統もしくは BALB/c 系統のマウス腹腔内へと RANKL を投与した後に気管・気管支上皮の組織切片を作成し免疫組織化学的解析を行った。その結果、腸管 M 細胞発現分子である Glycoprotein 2(GP2)、Tnfrap2 両陽性細胞の出現が認められた。GP2 抗体による免疫電子顕微鏡観察ではこの細胞は M 細胞と形態的特徴が一致した。さらに、経鼻投与したラテックスビーズを取込むことから、気道 M 細胞であると結論づけた。

次に気管上皮の初代培養系を構築し RANKL 存在下で培養を行ったところ、M 細胞関連分子の発現上昇を認めた。これらの結果は気管を構成する多列線毛上皮は M 細胞へと分化する能力を持つことを示している。

呼吸器疾患においては下気道に後天的に形成されるリンパ濾胞が認められる。本研究は下気道におけるリンパ性器官の誘導・形成機構の解明へとつながるものである。

COI: なし

16 マウスパリエル板における粘膜下樹状細胞の follicular associated epithelium (FAE) 内への誘導

○鈴木良地¹、大和田祐二²、阿部寛¹

秋田大 院医 形態解析学・器官構造学講座¹

東北大 院医学 器官解剖学分野²

パリエル板は主要な小腸粘膜免疫組織のひとつである。FABP5 (Fatty acid binding protein 5) の C57BL/6 マウスパリエル板 M 細胞、樹状細胞における発現様態は腸管内抗原認識への関与を示唆するものである。

一方、S100 タンパク質陽性細胞が離乳期のブタパリエル板 (G Lackovic et al., 1999) で確認されている。FABP5 のパリエル板 follicular associated epithelium (FAE) 内 M 細胞での発現もマウス離乳期に上昇することは自験例より判明している。両者の局在を生後発達期の C57BL/6 マウスパリエル板で検討した。

S100 タンパク質陽性反応は FAE と subepithelial dome (SED) の境界に認められる。この S100 タンパク質陽性反応は ER-TR7 陽性反応との共存から fibroblastic reticular cell (FRC) に存在することが判明した。上記の離乳期の FABP5 発現増強に伴い、FABP5 陽性 M 細胞、および、SED 内の FABP5 陽性樹状細胞に S100 タンパク質の貪食像が認められるようになるのが観察された。S100 タンパク質貪食像の出現に伴い、FAE 内 FABP5 陽性 M 細胞と SED 内 FABP5 陽性樹状細胞に挟まれた FRC には穿孔が生じる。この穿孔を通して FABP5 陽性樹状細胞が FAE 内に遊走していた。

腸管粘膜免疫機構が機能するためには腸管内の抗原を捉えた M 細胞直下の樹状細胞が FAE 内に誘導されなければならない。今回観察された FABP5 と S100 タンパク質の相互作用が、目的的な樹状細胞の FAE 内への誘導機構の一つであると考えられる。(COI: No)

17 腸上皮細胞間リンパ球 (IEL) における自己作用型 DNA 傷害および DNA 修復

○尾形雅君¹、香川慶輝¹、安本有希¹、伊藤恒敏²、大和田祐二¹
東北大学大学院 医学系研究科 器官解剖学分野¹、東北福祉大学²

マウスに抗 CD3 抗体を投与すると、十二指腸および空腸の絨毛上皮細胞に DNA 傷害が誘発され、その後上皮細胞の剥離に伴う下痢が生じることを見出し、その機構について *in vivo* で解析してきた。その結果、①上皮細胞の DNA 傷害は γ δ 型 IEL の活性化によるもので、②抗体刺激後に IEL が脱顆粒を起こし隣接する上皮細胞に DNA 傷害が誘導される、③上皮細胞の剥離は TNF α によるもので DNA 傷害には関与しない、④この DNA 傷害には IEL 含有の Granzyme B の関与が強く示唆されており、またこの現象は Perforin 非依存的に作用することも確認された。さらに⑤上皮細胞の DNA 傷害直後から DNA 損傷部位に修復分子が動員され、DNA は迅速に修復される。活性化後の IEL の転帰の解析において、IEL は脱顆粒 (に伴う縮小化) 後も、絨毛を離れることなく長時間にわたって絨毛上皮内に存在し続けることが確認されたが、上皮細胞と同様に IEL でも DNA 傷害が生じていることが確認された。TUNEL 法および免疫組織学的解析の結果、上皮細胞の DNA 傷害の動態と同一の時間的経過で IEL 自身にも Perforin 非依存的に DNA 傷害が生じること、そして IEL でも上皮細胞と同様に DNA 修復が行われることが確認された。以上のことより、これらの"Perforin 非依存的 DNA 傷害"および"DNA 修復"は、生細胞 (living cells) において普遍的な現象であるものと推察される。(COI:No)

18 哺乳動物細胞の収縮環の構造と形成機構

○上条 桂樹¹、加藤 薫²、高橋 正行³、細谷 浩史⁴
¹東北医科薬科大・医・解剖学、²産総研・バイオメディカル、³北大・理・化学、⁴神奈川大・総合理

動物細胞の細胞質分裂は、分裂後期に形成される収縮環により、細胞がくびれることで進行する。収縮環は、アクチンとミオシン II のフィラメントで構成されているが、その構造および形成機構の多くは未解明のままである。私たちは、高解像顕微鏡 (デルタビジョン) と超解像顕微鏡 (SIM, STED) で培養細胞 HeLa および LLC-PK1 の収縮環の構造および形成過程を解析した。デルタビジョンのライブイメージングでは、アクチンとミオシン II は、既存のフィラメントが動員されるのではなく、染色体の分離直後に染色体間の細胞表層 (赤道面) で、新たにフィラメントが形成されることが観察された。超解像顕微鏡による観察では、収縮環のアクチンフィラメントは線維状に、ミオシン II は双極性フィラメントとして確認できた。アクチンおよびミオシン II のフィラメントの向きは、染色体分離直後には一定ではなかったが、徐々に赤道面と平行になった。ミオシン ATPase 阻害剤 blebbistatin を加えると、赤道面にアクチンとミオシン II フィラメントが過剰に集積したものの、それぞれのフィラメントの向きは一定せず、アクチンフィラメントは伸長したままだった。これらの結果から、アクチンとミオシン II のフィラメントは、新たに赤道面に形成されること、アクチンとミオシン II の架橋およびアクチンの収縮にはミオシン ATPase 活性が必要であることが明らかになった。(COI:No)

19 Intracellular calcium dynamics and expression of P2Y and IP3 receptors in a cycling G1-phase cell

○Mchonde GJ¹, Saino T¹, Satoh Y^{1,2}
Department of Anatomy (Cell Biology)¹, and Medical Education², School of Medicine, Iwate Medical University, Japan

Regulating the intracellular events is critically important for a proliferating cell. These events can be altered by signaling molecules that are linked by cell-cycle regulatory mechanisms. Recent advances have linked the Calcium ion with the progression of the cell cycle through interphase and mitosis phases. However, the fundamental relationship between the Calcium signal and associated receptors to the interphase sub phases between nucleoplasm and cytoplasm remains unclear. The current study investigated how calcium signaling and the associated purinergic receptors are related to the cell cycle between nucleoplasm and cytoplasm in cultured G1-interphase cells of HeLa/fucci2 and fucci/mouse fibroblasts. Ratiometric fluorescence and RT-PCR techniques were employed to assess the intracellular calcium ion concentration and expression of purinergic and IP3-receptors respectively. The results demonstrated the existence of two distinct subcellular increase of intracellular calcium ion concentration in a single individual G1-phase cell suggesting the variations between early and late G1-phases of the cell cycle. In addition to the calcium wave, the RT-PCR results indicated variability in both P2YRs and IP3Rs subtypes within the G1-cells. Based upon these observations we proposed that the receptor expression and calcium signals could be functionally distinct within individual interphase sub phases. (COI:No)

20 ウスヒラムシのネオプラストとその予定運命

岡野大輔^{1,4}、石田幸子^{2,4}、小林一也^{2,4}、石黒誠一³、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、弘前大学農学生命科学部生物学科²、弘前大学農学生命科学部分子生命科学科³、岩手大学大学院連合農学研究科⁴

自由生活性の扁形動物は高い再生能力を有しており、間充織中に分布するネオプラストと呼ばれる多能性幹細胞がその再生能力を支えていると考えられている。扁形動物門渦虫綱多岐腸類であるウスヒラムシ (*Notoplana humilis*) は高い再生能力を有していることからネオプラストの存在が示唆されていたが、いまだに実証されていなかった。ウスヒラムシのネオプラストの存在を検証するため、ネオプラスト様細胞の免疫組織化学的解析と超微細構造解析を行った。その結果、分裂細胞が間充織および腸管上皮組織の基底部に存在することを確認し、また、透過電子顕微鏡により間充織および腸管上皮組織基底部にネオプラストの組織学的特徴をもつネオプラスト様細胞の存在を確認した。更に、透過電子顕微鏡でネオプラストの組織学的特徴を持った細胞の分裂像を確認したことから、ウスヒラムシの間充織および腸管上皮組織基底部にはネオプラストが分布していることが明らかとなった。BrdU と CM-DiI 色素のラベルトレース実験により腸管組織と間充織のネオプラストの予定運命とその由来について検討した。その結果、腸管上皮ネオプラストは間充織ネオプラストに由来し、腸管組織幹細胞としての働きがあることが示唆された。(COI:No)

21 脂肪酸結合蛋白質 FABP7 の細胞核局在の意義 -caveolin-1 遺伝子発現制御と関連-

香川慶輝、Ariful Islam、尾形雅君、大和田祐二

東北大学 医学系研究科 器官解剖学分野

【背景】近年、細胞内外の脂質環境と、DNA メチル化やヒストン修飾などのエピゲノム変化との関連が注目されている。アストロサイトに発現する脳型脂肪酸結合蛋白質 (FABP7) は長鎖脂肪酸と結合し可溶化することでアストロサイトの細胞内脂質動態を調節する。これまでに我々は細胞内シグナル伝達の開始点として重要な役割を果たす脂質ラフト機能に FABP7 が関与することを明らかにした。今回我々は、FABP7 の細胞内局在変化が、脂質ラフト骨格蛋白質 caveolin-1 遺伝子 (*Cav1*) 発現およびエピゲノム修飾に及ぼす影響について検証した。【方法・結果】FABP7 過剰発現 NIH-3T3 細胞では *Cav1* mRNA 発現が増加し、ルシフェラーゼアッセイでその転写調節領域活性が増加することが明らかになった。アセチル化ヒストンに対する抗体を用いたクロマチン免疫沈降法やバイサルファイトシークエンス法では、FABP7 過剰発現により *Cav1* 転写調節領域のヒストンアセチル化レベルが増加し、DNA メチル化レベルが減少することが明らかになった。一方、FABP7-KO アストロサイトでは *Cav1* 転写調節領域のヒストンアセチル化レベルが減少、DNA メチル化レベルが増加していた。核内移行シグナルペプチドを付加した FABP7 を強制発現させた NIH-3T3 細胞では、単に FABP7 を過剰発現させたものに比べ、*Cav1* 発現が増加していた。【考察】FABP7 が調節する核内脂質環境が、エピゲノム修飾を介して *Cav1* 発現を制御する可能性が示唆された。(COI:No)

22 オートファジー関連分子 WIPI-1、WIPI-2 の浸透圧ストレスへの関与

田村直輝、和栗 聡
福島県立医科大学、医学部、解剖・組織学講座

細胞内分解系の一つであるオートファジーはアミノ酸飢餓などによって誘導され、細胞内小器官を含む細胞成分を隔離膜で包みこみ、リソゾームへと運び分解する。この隔離膜の形成過程は Atg (autophagy-related genes) を始めとする様々な分子群によって制御されており、なかでもホスホイノシタイド結合分子群である WIPI family は中心的な役割を担っていると考えられている。WIPI family は WIPI-1-4 の 4 分子によって構成され、WIPI-1, 2, 4 の 3 つについてオートファジーへの関与が報告されている。浸透圧ストレスは最も広く知られたストレスの一つで、哺乳類では、泌尿器系や消化器系などの組織で日常的に起きる。今回、我々はマウス胎児由来線維芽細胞において高浸透圧ストレスが WIPI family の WIPI-1 と WIPI-2 の細胞内局在を変化させることを見出した。等張圧下では細胞質に局在していた WIPI-1 と WIPI-2 は、高浸透圧環境下で培養することにより強いドット状の局在を示した。この局在変化はアミノ酸飢餓と比べて短時間で起こり、飢餓時におけるドットとは異なる形態パターンを示した。興味深いことに、この高浸透圧下で誘導される WIPI-1 あるいは WIPI-2 陽性ドットは、飢餓時のオートファジーに必須な FIP200 の欠損細胞でも認められたが、隔離膜のマーカーである LC3 や Atg16L などと共局在していた。また、この現象は大腸癌由来の RKO 細胞や悪性メラノーマ由来の G361 細胞などのヒト培養細胞株でも観察され、細胞間で保存性の高い現象であった。(COI:No)

23 GnRH antagonist 持続投与による下垂体前葉性腺刺激ホルモン産生細胞の微細構造変化

堀 淳一¹、墓地本宙己²、甲賀大輔²、柿崎秀宏¹、渡部 剛²
1. 旭川医科大学 腎泌尿器外科学講座
2. 旭川医科大学 解剖学講座・顕微解剖学分野

前立腺癌の内分泌治療として長年使用されてきた GnRH agonist は、一過性の強い受容体刺激作用があるもののその後の長期的な受容体不応現象の惹起により、下垂体前葉性腺刺激ホルモン産生細胞の産生・分泌を強く抑制する。一方で、最近前立腺癌に対して保険収載された GnRH antagonist の degarelix は、投与開始直後から速やかに下垂体前葉性腺系の機能を抑制することが知られている。しかし、その直接的な標的細胞である下垂体前葉性腺刺激ホルモン産生細胞の微細構造や機能分子局在に与える影響については、ほとんど知見がない。そこで今回我々は、degarelix 徐放性製剤 4mg/kg をラット背部皮下へ投与し、投与後 28 日まで経時的に血漿 LH 濃度測定及び光顕/電顕用サンプルの作成を行い、同剤の影響を検討した。その結果、血漿 LH 濃度は投与後 4 時間で速やかに測定範囲下限値以下となりこの状態が 1 か月間にわたって維持された。また、精巣重量も経時的に減少し、組織学的には顕著な曲精細管の萎縮を認めた。以上から、投与量及び投与経路が妥当であることが確認された。また、免疫組織化学による解析では、下垂体前葉性腺刺激ホルモン産生細胞中の LH 蓄積量は経時的に低下するものの、基質タンパクである CgA は相対的に増加した。透過電顕による観察では、経時的に粗面小胞体が扁平化しゴルジ装置の縮小を認めたものの、分泌顆粒の量やサイズに変化を認めなかった。以上から、LH を含む古い分泌顆粒が、LH を含まない CgA などの基質タンパクを含む分泌顆粒へと次第に置換されていくことが示唆された。(COI: なし)

24 ラット副腎髄質細胞におけるセロトニンによる細胞内 Ca²⁺濃度上昇の抑制的調節

○横山拓矢¹、山本欣郎²、齋野朝幸¹
岩手医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野¹、岩手大学 農学部 獣医解剖学研究室²

【背景と目的】副腎髄質細胞にはセロトニン (5-HT) が存在しており、細胞興奮を調節していると推測される。本研究では、髄質細胞に対する 5-HT の作用を細胞内 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) 変化を興奮の指標として解析した。また、5-HT 受容体の発現を RT-PCR および免疫組織化学により調べた。【材料と方法】Wistar ラット (雄、8-15 週齢) から分離培養した副腎髄質細胞に Ca²⁺指示薬 Fura-2 AM を負荷後、[Ca²⁺]_i 変化を観察した。RT-PCR では、副腎髄質から抽出した total RNA を用いて 5-HT 受容体の mRNA 発現を解析した。免疫組織化学では、副腎の凍結切片を 5-HT、5-HT1A 受容体、アドレナリン合成酵素 (PNMT) に対する抗体を用いた二重蛍光抗体法により染色した。【結果と考察】5-HT の単独投与では髄質細胞の [Ca²⁺]_i には変化は認められなかった。アセチルコリン (ACh) を投与すると強い [Ca²⁺]_i 上昇が認められ、ACh と 5-HT の併用投与により一部の細胞で [Ca²⁺]_i 上昇が抑制された。また、ACh による [Ca²⁺]_i 上昇は、5-HT1A 受容体作動薬 8-OH-DPAT の併用投与により大きく減弱した。一方、5-HT1B 受容体作動薬 CP93129、5-HT2 受容体作動薬 α-me5-HT、5-HT3 受容体作動薬 m-CPBG を併用投与しても、ACh による [Ca²⁺]_i 上昇には変化は認められなかった。RT-PCR では、副腎髄質において 5-HT1A 受容体の mRNA 発現が認められた。免疫組織化学では、PNMT 陽性のアドレナリン細胞に 5-HT 強陽性反応および 5-HT1A 強陽性反応が観察され、PNMT 陰性細胞に 5-HT1A 弱陽性反応が認められた。以上のことから、副腎髄質細胞の興奮は 5-HT1A 受容体を介して 5-HT によって抑制的に調節されている可能性がある。COI: No

25 延髄セロトニン作動性神経に対するグルタミン酸および GABA 入力形態学的基盤

○森永涼介、中牟田信明、山本欣郎
岩手大学 農学部、獣医解剖学研究室
岐阜大学大学院 連合獣医学研究科 基礎連合講座

【背景】延髄に存在する呼吸中枢は、セロトニンにより調節されていることが報告されてきた。延髄におけるセロトニン作動性神経は、縫線核や傍錐体路領域 (PPY) に分布し、グルタミン酸や GABA によって神経活動が調節されていることが予測されている。しかしながら、セロトニン作動性神経に対するグルタミン酸や GABA の入力形態学的基盤は十分明らかにされていない。そこで、本研究ではセロトニン作動性神経とグルタミン酸作動性神経終末および GABA 作動性神経終末の組織学的関係を検索した。【材料・方法】Wistar ラットを 4%パラホルムアルデヒドにより還流固定後、凍結切片を製作し、免疫染色に供した。一次抗体にはトリプトファン水酸化酵素 2 (TPH2)、小胞性グルタミン酸トランスポーター 1、2、3 (VGLUT1、VGLUT2、VGLUT3)、グルタミン酸デカルボキシラーゼ 65 (GAD65)、小胞性抑制性神経伝達物質輸送体 (VIAAT)、Bassoon に対する抗体を用いた。【結果】VGLUT1、2、GAD65、VIAAT の陽性反応は延髄の縫線核、PPY に点状に認められ、特に RPA で最も多く認められた。それぞれの陽性反応はシナプス前膜蛋白である Bassoon の陽性反応を伴って TPH2 陽性神経の細胞体や突起に接していた。また、VGLUT3 陽性反応は TPH2 陽性神経の細胞体に認められた。【考察】延髄のセロトニン作動性神経は、VGLUT1、2 を用いたグルタミン酸作動性神経の興奮性入力を受けるとともに、VIAAT を用いた GABA 作動性神経の抑制性入力を受けている。(COI: なし)

26 マウス大動脈瘤モデルにおける Muse 細胞治療の効果検討

細山勝寛^{1,2}、若尾昌平¹、齋木佳克¹、出澤真理¹
東北大学大学院医学系研究科外科病態学講座心臓血管外科分野¹、細胞組織学分野²

[背景]大動脈瘤の細胞移植による再生治療は MSC などにより試みられてきたが、治療効果は限定的で未だ臨床応用には至っていない。今回、高い自発分化能と組織修復能を有する Muse 細胞(Multilineage-differentiating stress enduring cells)を用いて、マウス大動脈瘤モデルにおけるその治療効果を検討した。[方法]SCID マウス(8 週齢)において塩化カルシウム及びブタエラストラーゼを腹部大動脈周囲に塗布し大動脈瘤を作成した。Muse 細胞は市販ヒト骨髄間葉系幹細胞にレンチウイルスを用いて GFP を導入した後、FACS により GFP 及び SSEA-3 二重陽性細胞を単離した。また Muse 細胞以外の MSC を Non-Muse 細胞として単離した。大動脈瘤作成術後 3 日目、10 日目、17 日目に経尾静脈的に 20,000 細胞/回、計 60,000 細胞を投与し、Muse 群、Non-Muse 群、MSC 群、Vehicle 群(PBS 投与)で比較検討した。細胞投与後 3 週間(急性期)及び 8 週間(慢性期)でマウスを安楽死させ、腹部大動脈を摘出し評価した。[結果]大動脈瘤径拡大率は急性期・慢性期ともに Muse 群で有意に低値を示した。蛍光免疫染色では Muse 群において GFP/CD31 及び GFP/α SMA の二重陽性細胞を認めた。Elastica-Masson 染色では急性期 Muse 群において有意に弾性線維が保たれる傾向にあった。[結論]Muse 細胞は大動脈組織構成細胞である血管内皮細胞及び平滑筋細胞に自発分化し弾性線維などの効率的な組織修復効果に寄与することで、有意な大動脈瘤治療効果を示す可能性が示唆された。(COI: 申告済み)

27 Cytokine-directed Differentiation of Muse cells into Atrial and Ventricular Cardiomyocyte-like cells

Mohamed Amin^{1,2}, Yoshihiro Kushida¹, Shohei Wakao¹, Kazuki Tatsumi^{1,3}, Mari Dezawa¹
¹ Dept. Stem Cell Biology & Histology, Tohoku Univ. Graduate School of Medicine, Sendai, Japan. ² Dept. Biochemistry, Fac. Pharm., Mansoura Univ., Mansoura, Egypt. ³Tohoku Laboratory Non-clinical Research Division, Clio, Inc., Sendai, Japan.

Muse cells are pluripotent stem cells that have the ability of self renewal and are collectable as stage specific embryonic antigen-3 (SSEA-3)⁺ cells from easily accessible sources like bone marrow, adipose tissue, and dermal fibroblasts. Muse cells show higher pluripotency compared with SSEA-3⁺ fraction in mesenchymal stem cell population. We tested if Muse cells would be able to commit to cardiac fate in vitro by cytokine induction. We found that 1) suspension of Muse cells in 5'-azacytidine for 3 days, 2) transfer onto adherent and supplying cytokines relevant to early cardiac differentiation including Wnt3a ,BMP2/4, and TGFβ1 for 7 days, and 3) treatment with late cardiac differentiation cytokines including IGF-1 and cardiotrophin-1 for 14 days, successfully converted Muse cells into cardiomyocyte-like cells that expressed Cx43 and sarcomeric striation-like pattern of tropinin-I. According to myosin light chain expression pattern, maturation of atrial subtype was achieved. When Noggin and DKK-1 incubation was inserted between 2) and 3), Differentiation towards fetal ventricular subtype was achieved. Both the induction system and Muse collection are free from any genetic manipulation which facilitates future clinical and industrial applications. (COI: properly declared)

28 肺虚血再灌流傷害モデルラットに対する Muse 細胞による細胞治療

矢吹 皓¹、若尾昌平²、串田良祐²、岡田克典¹、出澤真理²
東北大学加齢医学研究所呼吸器外科学分野¹
東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野²

【背景】肺移植後急性期死因の主な原因は虚血再灌流傷害による移植肺機能不全であり、虚血再灌流傷害を制御することで肺移植後生存率の改善が期待できる。Muse 細胞は MSC 中に数%含まれる多能性幹細胞として注目されている。本研究では Muse 細胞による細胞治療が肺虚血再灌流傷害に有効であるかを検討した。【方法】抗 Stage specific embryonic antigen-3 (SSEA-3) 抗体により MSC 中の Muse 細胞を標識し、Magnetic-activated cell sorting (MACS) を用いて Muse 細胞を分離した。ラットの左肺門を 2 時間遮断、その後遮断解除し肺虚血再灌流肺傷害モデルを作成した。遮断解除した直後に Muse 細胞、MSC を 10⁵ 細胞、または PBS を左肺動脈より投与した。3 日目、5 日目に動脈血血液ガス分析および左肺コンプライアンス測定を行った。組織学的評価は肺傷害の grading、TUNEL 法の陽性細胞数を比較し行った。左肺よりタンパク質を抽出し、Western blot を行った。【結果】血液ガス分析および左肺コンプライアンス、組織学的肺傷害の評価において Muse 群が他の 2 群と比較して有意に改善しており、TUNEL 陽性細胞数も Muse 群で有意に少なかった。Western blot では、Muse 群で肺を保護する因子の発現が高く、炎症性サイトカインの発現は低かった。【結論】虚血再灌流肺障害モデルラットにおいて、Muse 細胞を投与することで抗炎症作用、組織修復促進作用により肺機能の改善が促進される。(COI: Properly Declaired)

35 急性膵炎マウスモデルに対する Muse 細胞の有効性

深瀬正彦^{1,2}、坂田直昭¹、若尾昌平²、串田良祐²、海野倫明¹、出澤真理²
東北大学 消化器外科学¹、細胞組織学²

【背景】急性膵炎 (Acute pancreatitis: AP) に対して、間葉系幹細胞を用いた細胞移植治療が実験的に行われつつある。この間葉系幹細胞中の分画であり、多能性を持ち、組織修復作用を持つ Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) 細胞を用いて AP をより効果的に治療できると考え、実験を行った。【方法】多能性マーカーである抗 SSEA-3 抗体を用いてヒト骨髄由来間葉系幹細胞中から FACS で Muse 細胞と non-Muse 細胞を分離した。AP モデルマウスに 10 万個の Muse、non-Muse 細胞、生理食塩水を経静脈投与して各群を比較した。AP モデル作製 72 時間後の膵組織の評価を、膵房間の浮腫、マクロファージの浸潤数、膵腺房細胞の TUNEL 染色陽性細胞数、ウェスタンブロット法で比較したほか、Muse 細胞のサイトカイン産生量を ELISA によって定量した。【結果】non-Muse および対照群と比較して Muse 群で有意に膵腺房の浮腫が改善していた ($p < 0.05$)。また、マクロファージの浸潤数は Muse 群で最も少なく、non-Muse 群 ($p < 0.05$)、対照群 ($p < 0.001$) との有意差を認めた。さらに、TUNEL 陽性細胞も Muse 群で最も少なく、対照群より有意に少なかった ($p < 0.01$)。また、Muse 群マウスの膵組織には、組織修復、抗炎症にかかわる因子が多く発現していた Muse 細胞培養上澄中にも同様の因子の分泌が多く認められた。

【結論】Muse 細胞投与は膵臓の炎症改善と組織修復を促進して AP を改善する。(COI: Properly Declaired)

36 ラット糖尿病モデルの膵臓ランゲルハンス島における DGK ζ の局在変化

○八月朔日 泰和、後藤 薫
山形大学医学部解剖学第二講座

インシトールリン脂質 (PI) 代謝系は、外的刺激を受けたフォスホオリパーゼ C (PLC) による phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP₂) の加水分解によって、ジアシルグリセロール (DG) とインシトール3リン酸を産生する。DG キナーゼ (DGK) はプロテインキナーゼC (PKC) の活性化因子として知られる 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。我々は昨年の本学会において、副腎における DGK アインザイムの細胞発現と局在の多様性を報告した。同じ内分泌器官に属する膵臓は外分泌部と内分泌部からなり、内分泌部であるランゲルハンス島は血中グルコース量に反応してホルモンの分泌を行う。近年、DGK の発現が膵臓においても報告されているが、詳細は不明である。本研究では、RT-PCR 法、ウェスタンブロット法、さらに特異抗体による免疫組織化学染色法を用いて、ラット膵臓における DGK アインザイムの細胞内発現および局在について解析を行った。さらに、ランゲルハンス島のβ細胞に特異的に毒性を生じるストレプトゾトシン投与によりラット糖尿病モデルを作製し、DGK アインザイムの発現や局在の変化について解析した。

RT-PCR 法およびウェスタンブロット法による解析の結果、膵臓において DGK ζ の強い発現が認められた。一方、その他の DGK アインザイムの発現はごく弱い検出限界以下であった。膵臓で強い発現が認められた DGK ζ について、発現細胞の同定および細胞内局在を検討するために免疫組織化学染色を行った。その結果、DGK ζ の発現はランゲルハンス島内に限らず、α、β およびδ細胞の核内に認められた。また糖尿病モデルの膵臓において、DGK ζ はストレプトゾトシン投与3日後よりβ細胞の核から細胞質に移行した。さらにウェスタンブロット解析により、細胞質に移行する時期に一致して DGK ζ の発現が一過性に上昇し、その後減少することが明らかになった。

以上より、DGK ζ が膵臓に発現する主要なアインザイムであること、また DGK ζ は膵内分泌細胞において、ストレス刺激に反応して一過性に発現が増加し、核から細胞質に移行することが明らかになった。これらの結果は、膵内分泌細胞のストレス応答に DGK ζ の細胞質移行が関与することを示唆する。(COI: No)

37 高脂肪食により惹起される DGK ϵ 欠損脂肪組織の形質転換

中野 知之、後藤 薫
山形大学医学部解剖学第二講座

ジアシルグリセロール (DG) は 50 もの分子種が存在する脂質である。細胞内においても、情報伝達因子や、中性脂質 (TG) 合成の前駆物質として多様な役割を担う。我々はこれまでに DG のリン酸化酵素である DG キナーゼ (DGK) のうち、 ϵ 型の遺伝子欠損 (DGK ϵ KO) マウスを高脂肪食 (HFD) で 40 日間給餌すると肥満やインスリン抵抗性が表現型として出現することを発表した。本研究では、DGK ϵ KO マウスを HFD で長期間給餌すると、40 日と異なる表現型を見出したので報告する。既報の通り HFD40 日では DGK ϵ KO マウスの体重や白色脂肪沈着量が野生型を大きく上回っていたのに対し、HFD90 日では両マウスの体重差は減少し、120 日では差が認められなくなった。精巢上体周囲白色脂肪の組織学的な解析を行うと、HFD90 日の DGK ϵ KO マウスでは、野生型には認められない、大型で球形核を有する細胞が出現していた。免疫組織化学解析の結果から、この細胞は cyclooxygenase-2 (COX-2) 陽性反応を示し、複数の脂肪滴を有することが明らかとなった。HFD120 日給餌の DGK ϵ KO マウスにおいては、単胞性の白色脂肪細胞群の中に多胞性の褐色脂肪様細胞が多数出現していた。白色脂肪組織中に出現する褐色脂肪様細胞は“ベージュ脂肪細胞”と呼ばれる。本研究の結果は、DGK ϵ KO マウスでは長期間の高脂肪食給餌により COX-2 依存性に“ベージュ化”が惹起されることを示唆する。(COI: No)

38 DGK ζ 結合蛋白 NAPIL1 による NF- κ B 転写遺伝子 Mcl-1 の発現制御

○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 PKC 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炎症や癌のシグナル伝達への関与が注目されている。我々はこれまでの研究において、DGK ζ が NF- κ B 転写活性に負の制御を及ぼすことを報告してきた。本研究では、新規 DGK ζ 結合蛋白として同定した Nucleosome assembly protein 1 (NAP1) -like 1 (NAPIL1) および NAP1-like 4 (NAPIL4) が NF- κ B 転写活性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。NF- κ B は I κ B α と結合し細胞質に保留されているが、TNF- α 刺激によって I κ B α が分解されると核内に移行し、転写活性を發揮する。本研究から、NAPIL1 ノックダウン細胞においては、ルシフェラーゼアッセイにて NF- κ B 転写活性が減少することが明らかとなった。この時、ウェスタンブロット解析により I κ B α 分解が抑制されることから NAPIL1 の減少により NF- κ B は細胞質に保留されやすくなると考えられた。一方、NAPIL4 ノックダウン細胞では、I κ B α 分解および NF- κ B 転写活性に対する影響は認められなかった。さらに ChIP アッセイ法をもちいて NF- κ B に誘導される遺伝子群を解析すると、NAPIL1 ノックダウンにより bcl-2 family 遺伝子群の中で、特に Mcl-1 の発現が抑制されることが明らかとなった。以上より、NAPIL1 は NF- κ B 転写活性を介して Mcl-1 の発現調節を行うことにより、アポトーシスに影響を与える可能性が示唆された。(COI: NO)

39 Galectin-3 陽性マクロファージの組織分布と異物取り込みへの関与

○小林純子、岩永敏彦
北海道大学 大学院医学研究科 組織細胞学分野

ガレクチンはI型結合したガラクトースを認識する動物レクチンで、15種類のサブタイプが生体内に広く分布する。galectin-3はマクロファージ表面抗原であるMac2と同一の分子で、マクロファージの他、消化器や尿生殖系の粘膜上皮細胞および皮膚に発現する。本研究では、galectin-3陽性マクロファージの組織分布を、特異抗体を用いた免疫組織化学により、マウスおよびラットを用いて明らかにした。特に、マウスのマクロファージマーカーであるF4/80の局在との関係に注目して解析した。異物の取り込みとの関係を明らかにするため、2.5%グルタルアルデヒドにより固定したヒト血球をラットの尾静脈より投与し、8時間後に肝臓を採取して、解析を行った。

肺動脈マクロファージと肝臓のクッパー細胞はgalectin-3陽性であった。固定したヒト血球を投与したラットの肝臓では、galectin-3陽性反応はクッパー細胞の細胞質に顆粒状もしくはリング状に観察された。免疫電顕により観察すると、galectin-3陽性反応はライソソームと思われる小胞内に集積していた。取り込まれた白血球の周囲には強いgalectin-3陽性反応が認められたが、赤血球周辺にはgalectin-3陽性反応は観察されなかった。腸間膜リンパ節では、galectin-3陽性のマクロファージはB220陽性B細胞が少ない傍皮質に多く分布しており、これらの細胞はF4/80陰性であった。髄質のマクロファージはgalectin-3とF4/80に二重陽性であった。脾臓では辺縁帯のマクロファージがgalectin-3陽性では髄質が、髄質のF4/80陽性マクロファージの大半はgalectin-3陰性であった。胸腺では髄質にgalectin-3陽性マクロファージが多く認められたが、これらの細胞はF4/80陰性であった。胸腺皮質のマクロファージは、F4/80およびgalectin-3いずれの抗体でも染色された。副腎では樹状状に突起を伸ばす細胞がgalectin-3陽性反応を示した。皮質のgalectin-3陽性細胞は時に皮質と髄質の境界部に集積していた。

galectin-3は多くの組織のマクロファージに発現するが、一部のgalectin-3陽性マクロファージはF4/80陰性であった。肝臓のクッパー細胞では、galectin-3は特定の糖鎖構造を認識して異物の取り込みに関与する可能性が考えられた。(COI: なし)

40 遠位尿管上皮細胞の形態機能を制御する IL-1F6/IL-36 α

○市居 修¹、中村鉄平^{1,2}、岡村匡史³、木村純平⁴、堀野太郎⁵、昆 泰寛¹
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¹、一財)日本食品分析センター 千歳研究所²、国立国際医療研究センター研究所³、田辺三菱製薬株式会社⁴、高知大学 医学部 内分泌代謝・腎臓内科学⁵

我々は、慢性腎臓病 (CKD) モデルマウスの腎臓内伝子発現を網羅的に解析し、病態時には Interleukin-1 family member 6 (IL-1F6 = IL-36 α) が顕著に高発現することを発見した。IL-1F6/ IL-36 α は外傷性腎障害、薬酸誘導性急性腎障害、ストレプトゾトシン誘導性糖尿病、片側尿管結紮 (UUO) モデルマウスの腎臓でも高発現し、病態特異性は認められなかった。IL-1F6/ IL-36 α は遠位尿管、特に遠位尿管上皮細胞の核及び細胞質に強く局在し、その発現上皮細胞は扁平化し、指状細胞間連結や基底陥入の配列は乱れていた。IL-1F6/ IL-36 α 発現細胞は管腔への脱落傾向を示し、急性腎障害や糖尿病モデルマウスの尿中に出現した。IL-1F6/ IL-36 α 発現尿管周囲には炎症細胞や筋線維芽細胞等が集簇し、IL-1F6/ IL-36 α 発現量と尿管間質傷害進行には正の相関がみられた。UUO モデルマウスにおいて、遠位尿管における IL-1F6/ IL-36 α は結紮後 12 時間から出現した。本モデルにおける腎臓内 IL-1F6/ IL-36 α 発現量は血中腎機能マーカー (BUN, Cr) の上昇と正の相関を示し、その相関係数は代表的な近位尿管傷害マーカー KIM-1 と同等だった。CRISPR/Cas9 システムにより IL-1F6/ IL-36 α を欠損させたマウスに UUO を施した結果、尿管間質の炎症像に野生型との顕著な差は認められない一方、BUN は IL-1F6/ IL-36 α 欠損マウスで低かった。

IL-1F6/ IL-36 α は遠位尿管上皮細胞の形態機能的変化を制御し、尿管間質傷害の進行に主要な役割を果たす。腎臓内 IL-1F6/ IL-36 α 発現量は腎機能悪化とも強く相關するため、腎臓病の新たな治療法・診断法開発の標的分子として興味深い。COI: No

41 自己免疫疾患が卵管の卵子捕捉機能に及ぼす影響について

○細谷実里奈¹、中村鉄平^{1,2}、Yaser Hosny Ali Elewa^{1,3}、市居 修¹、昆 泰寛¹
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¹、日本食品分析センター千歳研究所²、Zagazig 大学³

排卵された卵子の卵管による捕捉は受精成立に必須のプロセスである。自己免疫疾患は雌性生殖器官の形態機能を大きく変化させ、その障害は不妊の一因となる。本研究ではモデルマウスを用いて、自己免疫疾患と卵子捕捉機能障害との重大な関連性を見出した。

3 及び 6 ヶ月齢の C57BL/6N (B6) 及び重度自己免疫異常を示す MRL/MpJ-Fas^{lpr} (*lpr*) を用いた。各マウスに過排卵処理を施し、卵巣と卵管を摘出後、卵管膨大部内の卵子数を“捕捉卵子数”として実体顕微鏡下で計測した。同時に、採取した卵巣の連続切片を作成し、出血体及び卵胞膜が破れた卵胞の数を“排卵卵子数”として計測した。両計測値から卵管の“卵子捕捉率”を算出した。自己免疫異常の指標として脾重量／体重比を計測し、卵巣と卵管から免疫組織化学的方法で炎症細胞を検出した。特に卵管漏斗部の組織構造を走査型電子顕微鏡で観察した。

B6 の卵子捕捉率は 3 及び 6 ヶ月齢で変化しなかった。一方、*lpr* の卵子捕捉率は加齢に伴い低下した。*lpr* の卵子捕捉率は脾重量／体重比や卵巣内 T 細胞数と負の相関を示した。6 ヶ月齢の *lpr* は、同齢 B6 と比較し、卵管漏斗部及び卵管間膜における顕著な炎症細胞浸潤、卵管漏斗部線毛細胞の減少、さらには卵管漏斗部粘膜の腫脹を示した。すなわち、*lpr* の自己免疫疾患進行と、卵子捕捉機能の低下及び卵管漏斗部の形態変化には有為な相関のあることが明らかとなった。これらの結果は、自己免疫疾患における雌性不妊を考察する上で、重要な知見を提供する。(COI: No)

42 オーストラリアハイギョを用いたリンパ管の系統発生学的解析

○齊藤絵里奈¹、磯貝純夫²、奥時織¹、成田大一²、岡野大輔¹、下田浩^{1,2}
弘前大学大学院 医学研究科 神経解剖・細胞組織学講座¹ 生体構造医科学講座²

現在リンパ管研究のモデル生物としてゼブラフィッシュなどの小型魚類が広く利用されているが、近年になって哺乳類のリンパ管形成に必須である転写因子 *prox1* がゼブラフィッシュのリンパ管形成には必須ではないことが明らかになり、リンパ管研究のモデル生物として小型魚類を使用することを疑問視する声が出始めている。ヒトを含む哺乳類は真骨魚類からではなく、肉鰭類から進化したと言われている。そこで我々は、肺魚のリンパ管を調べることによりリンパ管の本質を捉えるだけでなく、現在使われているゼブラフィッシュなどの小型魚類のリンパ管を理解することにもつながると考え本研究を行った。

リンパ管を描出するため、オーストラリアハイギョ *Neoceratodus forsteri* の腹腔に朱墨を注入し横断面を観察したところ、椎骨の左右両側、脊椎周囲、背鰭の基部、側線を長軸方向に沿って朱墨が入っており、ゼブラフィッシュの集合リンパ管の配置と一致していた。ズゲン黒染色と HE 染色により、それらの部分は脂肪細胞と緩やかな結合組織、それらを取り囲む厚い膠原繊維からなっていた。鍍銀染色により、脂肪細胞の周囲に細網繊維が検出され、SEM と TEM を用いた観察により、脂肪細胞周囲の細網繊維の間や血管壁の結合組織の間に朱墨の粒子が確認された。以上の結果から、ハイギョにはゼブラフィッシュや哺乳類に見られるような集合リンパ管は発達しておらず、代わりに脂肪組織などに存在する脈管外通液路がその役割を担っていると考えられる。(COI: No)

43 生後の硝子体血管系に発現する栄養素トランスポーター

岸本 亜由子
北海道大学大学院 医学研究科 組織細胞学分野

成体の脳や網膜では、血管内皮にグルコーストランスポーター GLUT1 が発現しており、BBB を介したグルコースの取り込みが行われている。一方で、新生子期では GLUT1 よりも乳酸やケトン体の輸送体である MCT1 (monocarboxylate transporter1) がより強く発現している。本研究では、網膜での両輸送体の発現様式を硝子体血管系に注目して 免疫組織化学的方法で調べた。

【背景】 胎子期に硝子体動脈が眼球乳頭部から侵入し、分岐した血管網が 網膜に沿って硝子体全体に広がる 固有硝子体血管 (VHP) をつくる。別の血管束は水晶体に向かい、水晶体後面をおおう 水晶体血管膜 (TVL) をつくる。これらは次第に消退するが、入れ代わりに 血管網 (網膜中心動脈) が 網膜の表層を広がる。

【結果】 硝子体内の VHP や TVL の血管内皮は、新生子でありながら GLUT1 を強く発現していた。MCT1 の発現は、GLUT1 陽性の内皮シートにモザイク状にはまり込む一部の内皮細胞に認められた。

【まとめ】 脳や網膜の血管内皮が新生子期に MCT1 を強く発現するのは対照的に、硝子体血管系には GLUT1 が強く発現する。さらに、血管内皮には少なくとも 2 種類の細胞が存在し、MCT1 陽性細胞は GLUT1 陽性細胞の間にモザイク状にはまり込む。硝子体血管系において 退縮に伴う GLUT1 の発現変化は 認められなかった。(COI: なし)

44 脆弱性を示す皮膚の形態解析
～D4ST1-deficient Ehlers-Danlos syndrome マウスモデルの検討～

広瀬拓哉¹、吉沢隆浩²、笠原優子³、岡田尚巳³、増田千明³、島津苑子³、高橋有希⁴、古庄知己⁴、美名口順¹、竹花一成¹

¹酪農学園大学獣医組織解剖学 ²信州大学ヒト環境科学研究支援センター動物実験部門 ³日本医科大学生化学・分子生物学 ⁴信州大学医学部附属病院遺伝子診療部

【目的】 Ehlers-Danlos syndrome (EDS) は皮膚や関節、血管などの結合組織の脆弱性を示す遺伝性疾患である。我々が新型の EDS として発見した Dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient EDS (DDEDS) は日本での報告例が多く、発生異常、進行性の結合組織脆弱性を呈する重症型で病態解明、治療法の開発が期待されている。DDEDS の原因遺伝子は *CHST14* であり、本研究は *Chst14*-/-マウスの皮膚の形態解析を行った。【方法】 光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて皮膚、特に真皮の構造について観察を行った。Glycosaminoglycan (GAG) の観察については、Cupromeronic blue (CB) 染色法を施し、透過型電子顕微鏡の観察に用いた。【結果】 *Chst14*-/-マウスは *Chst14*+/-マウスに比べ、真皮を構成するコラーゲン線維束間が広い傾向にあった。加えて、コラーゲン細線維の密度の低下や無秩序な走行が観察された。CB 染色ではコラーゲン細線維に付着する GAG 鎖は長く、コラーゲン細線維間に突出している様子が観察された。【考察】 DDEDS 患者の皮膚形態所見は、コラーゲン細線維がばらけた状態で存在することが報告されている。これは、D4ST1 の欠損に基づくデルマトン硫酸 (DS) の生成不全が生じ、コラーゲン細線維の assembly 異常が生じるためと推測されている (Miyake et al., 2010)。本研究により *Chst14*-/-マウスの皮膚形態は DDEDS 患者と同様、コラーゲン細線維の assembly 異常が明らかとなった。よって、*Chst14*-/-マウスは DDEDS の皮膚病態を再現しており、モデルマウスとしての可能性が示された。(COI: なし)

45 コットンラットの咽頭喉頭部、甲状腺及びその周囲組織にみられる形態学的特徴

中村鉄平^{1,2}、入江隆夫³、市居修²、篠原明男⁴、孝口裕一³、越本知大⁴、長崎健一¹、昆泰寛²

1 一財) 日本食品分析センター 千歳研究所、2 北大院・獣医解剖、3 北海道立衛生研究所 感染症部・医動物、4 宮崎大 フロンティア科学実験総合センター

【背景】 咽頭嚢由来内分泌器官の発生ならびに形成過程に異常があると、遺残物が嚢胞や小窩、嚢管を形成し、頸部腫瘤等の原因となる。演者らは、ヒト感染症モデルとして利用される齧歯目であるコットンラット (*Sigmodon hispidus*) の咽頭喉頭部、甲状腺、胸腺及び上皮小体に特異な表現型を発見し、その形態学的特徴を精査した。

【方法】 北海道立衛生研究所 (HIS/Hiph 系、生後 0–26 ヶ月齢) 及び宮崎大学 (HIS/Mz 系、生後 2–3 ヶ月齢) で維持されたコットンラットを用いた。咽頭喉頭部、甲状腺及びその周囲組織を採材後、10% 中性緩衝ホルマリンで固定し、組織学的に観察した。

【結果と考察】 両系統ともに、胸腺及び上皮小体に線毛上皮及び杯細胞により内張される嚢胞構造が認められた。加えて、咽頭喉頭部の梨状陥凹に管状構造が認められた。HIS/Hiph において、管状構造は甲状腺内へと伸び、その内張上皮細胞は重層扁平または立方上皮から構成され、カルシトニン陽性細胞が散在した。HIS/Mz において、管状構造は甲状腺外側を走行して上皮小体周囲に終止した。一部の個体では管状構造が分岐し、一方は尾側へ、他方は上皮小体へ向かった。管状構造の内張上皮は線毛上皮及び杯細胞により構成され、カルシトニン陽性細胞は認められなかった。

以上、コットンラットは咽頭嚢由来の遺残を高率に有し、咽頭喉頭部周囲の管状構造はヒトにおいて急性甲状腺炎の原因となる“下咽頭梨状嚢嚢”に類似した。管状構造の系統差は発生原基の違いを反映し、HIS/Hiph における管状構造は鰓後体に、HIS/Mz におけるそれは胸腺咽頭管に由来することが示唆された。(COI: No)