日 本 解 剖 学 会

第79回中部支部学術集会

会 期：令和元年10月19日（土），20日（日）
会 場：松本歯科大学講義館201教室

O1-1 高脂肪食摂取下でのフロリジン投与がアウエルバッハ神経叢に与える影響

志茂聡[1]、齊藤成[2]、Nguyen HB[3]、Thai TQ[3]、生友聖子[4]、村松憲[5]、大野伸彦[6]
[1]健康科学大学作業療法学科、[2]藤田医科大学医学部解剖学Ⅱ、[3]山梨大学大学院解剖学講座構造生物学教室、[4]東京医療学院大学、[5]杏林大学保健学部理学療法学科、[6]自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門・生理学研究所超微形態研究部門

【目的】本研究では、SBF-SEM を用いて高脂肪摂食下でのアウエルバッハ神経叢の 3 次元微細構造解析をおこなった。さらに、2 型糖尿病における新規治療薬である、Na+・グルコース共輸送体阻害剤（フロリジン）の投与がアウエルバッハ神経叢に及ぼす影響を検討した。【材料と方法】4 週齢雄マウスに 20 週齢まで通常食(STD 群)もしくは高脂肪食(HFD 群)を与え、試料採取 18 時間前と 2 時間前にフロリジンもしくは DMSO(Vehicle)を投与した。樹脂包埋後、SBF-SEM によりアウエルバッハ神経叢の連続断面画像を取得し、得られた画像は Fiji および Amira を用いてセグメンテーション後に 3 次元再構築をおこなった。統計学的解析では、アウエルバッハ神経叢内における軸索の Varicosity 数および短径と軸索内ミトコンドリアの短径、表面積および体積を各群で比較した。【結果】STD 群では軸索の Varicosity に直径 40-60nm の球形の明るいシナプス小胞の集積を豊富に認め、さらに軸索からは複数の側枝の形成を認めた。一方、HFD 群では軸索はらせん状となり、軸索の Varicosity は減少しており、シナプス小胞の集積はほとんどみられなかった。HFD 群フロリジン投与後は、シナプス小胞の集積を豊富に認め、Varicosity 数の増加と短径の拡大および軸索に多数の側枝の形成を認めた。軸索内ミトコンドリアの比較では、HFD 群では STD 群に比較して体積の増加を認めた。【結論】アウエルバッハ神経叢において高脂肪摂取が Varicosity のシナプス動態の異常を惹起することに加えて、フロリジンがアウエルバッハ神経叢内の軸索に保護的に作用する可能性が示唆された。

O1-2 高脂肪摂食モデルマウスを用いた腸管粘膜内血清蛋白の免疫組織化学的解析

坂本祐太 [1,2)]，志茂聡 [3)]，村松憲 [4)]，丹羽正利 [5)]
1. 健康科学大学 健康科学部 理学療法学科，2. 杏林大学大学院 保健学研究科，
3. 健康科学大学 健康科学部 作業療法学科，4. 杏林大学 保健学部 理学療法学科，
5. 杏林大学 保健学部 作業療法学科

【はじめに】肥満・糖尿病では免疫機能が低下し，易感染性や感染の易重症化することが問題となっている．本研究は，高脂肪食摂取（肥満・糖尿病モデル）マウスの腸管における IgA，IgM，IgG1 局在を免疫組織化学的に解析した．
【方法】20 週齢マウスの高脂肪摂食群（以下，HFD 群）と通常食摂食群（以下，STD 群）の小腸を生体内凍結技法で固定し，パラフィン包埋試料を作製した．形態学的解析は，HE 染色を用いた．免疫組織化学的解析は，抗 IgA，IgM，IgG1 抗体を用いた．統計学的解析は，各抗体に対する陽性細胞数を群間で比較した．
【結果】形態学的解析では，STD 群は粘膜上皮に正常な単層円柱上皮細胞を認め，HFD 群は単層円柱上皮細胞内に多くの空胞を認めた．免疫組織学的解析では，IgA は STD 群の粘膜上皮に顆粒状の陽性像と粘膜固有層内の形質細胞に陽性像を豊富に認めたが，HFD 群では粘膜上皮の顆粒状の陽性像は減少し，粘膜固有層内の形質細胞陽性像は減弱した（p<0.05）．IgM は STD 群の粘膜固有層の形質細胞に陽性像を認めたが，HFD 群では陽性像は減少した（p<0.05）．IgG1 は STD 群で粘膜固有層間質，形質細胞，および血管に陽性像を認めたが，HFD 群では減弱した形質細胞の陽性像のみを確認した（p<0.05）．
【考察】HFD 群では IgA，IgG1 陽性の形質細胞の減少がみられ，腸管粘膜における液性免疫機能の低下が示唆された．また，HFD 群では IgM が減少する所見を認め，高脂肪摂食が免疫機能および IgA 産生へのクラススイッチの過程にも影響を与えている可能性が示唆された．

O1-3 腸管神経系におけるシナプス結合-腸管グリア細胞間インタラクションの三次元微細構造解析

玉田宏美、木山博資
名古屋大学大学院医学系研究科機能組織学

【目的】腸管神経系は、独自の神経回路をもつ第三の自律神経系で、内在性の知覚・介在・運動神経及び外来性の神経が互いにシナプス結合を形成する。腸管グリア細胞も多く存在し、中枢神経での astrocyte とシナプスからなる tripartite structure 様の構造を形成する可能性も議論されている。しかしこれら神経節内での神経間のシナプス結合の構造はよくわかっていない。本研究では、三次元微細構造解析が可能な SSSEM 法（Serial Section SEM）を用い、腸管神経節内のシナプス結合とグリア細胞のインタラクションを解析した。【材料と方法】マウス結腸を材料とし、Half Karnovsky 固定液(2% PFA +2%GA)での前固定後、rOTO 法、酢酸ウランによる処理を施し、脱水後エポキシ樹脂包埋し、FIB / SEM (Focused Ion Beam Scanning Electron Microscopy: FEI)で連続電顕像を取得した。像取得後、画像解析ソフトウェア Amira (FEI)で立体再構築した。【結果および考察】筋層間神経叢の神経節中、1 axon 中にシナプス小胞や mitochondria を多く含む肥大した領域が複数ある、典型的な varicosity 構造が確認できた。1 varicosity に着目し接している要素を立体再構築した結果、後シナプス結合部と考えられる構造物が確認できた。この構造は axon より太い突起で、シナプス結合部は顕著に肥大していた。また、複数のグリア細胞の細長い突起が、シナプス結合部周囲をとり囲む様子が見られ、他の神経線維の一部と思われる構造も、複数近傍を走行していた。tripartite structure 様構造に似たグリア細胞の分布も確認でき、そのグリア細胞は他の典型的なグリア細胞とは異なる特徴的な分枝を持つ細胞形態を呈していた。

O1-4 3D architectures of primary cilia of collecting duct cells in rat kidney revealed by SBF-SEM

齊藤 成 1，熊本 海生航 2，大野 伸彦 3,4，高橋 和男 1，長尾 静子 2
1. 藤田医科大学 医学部 解剖学講座 II 2. 藤田医科大学 疾患モデル教育研究サポートセンター 3. 自治医科大学 医学部 解剖学講座組織学部門
4. 生理学研究所 超微形態研究部門

Renal primary cilia are microtubule-based organelles that play variously sensory roles of renal tubular cells. Abnormality in renal primary cilia may cause a broad spectrum of disease, such as polycystic kidney disease. After human genome projects in 20 centuries, proceeding functional genomic screening for modulator of callogenesis and cilium length, a direct analysis of this requires new methodologies of imaging cilia architecture. We used the renal tissues of two adult SD rats perfused transcardially with aldehyde fixative. Samples were trimmed into rectangular shapes in the outer medulla, treated by rOTO staining, and embedded in epoxy resin with carbon. They were then imaged using serial block-face scanning electron microscopy (SBF-SEM). The serial images of SBF-SEM were handled with Fiji/ImageJ and segmented and reconstructed into 3D images using MIB and Amira software, resulting in a voxel-based 3D reconstruction of data for morphometrics of primary cilia. SBF-SEM images showed two types of epithelium in the collecting ducts: primary cilia and microvilli on the apical surfaces of principal cells. By contrast, intercalated cells had only microvilli without primary cilia. The primary cilia of the principal cells showed curved shapes anchoring with mother and daughter centrioles. SBF-SEM imaging is suitable for analyzing principal cells of renal tissue.

O1-5 シグナル蛋白 Lin7 はマウス精細胞で膜骨格蛋白と複合体形成する

上條 明生 [1,2]、齊藤 百合花 [1,3]、寺田 信生 [1]
1. 信州大学大学院 医学系専攻保健学分野 医療生命科学ユニット
2. 安曇野赤十字病院 リハビリテーション科
3. 帝京科学大学医学教育センター

これまで我々は、マウス精細胞における膜骨格蛋白 4.1G および 4.1B－Membrane palmitoylated protein 6 (MPP6)複合体を報告してきた。本研究では、MPP6 やシグナル伝達蛋白と結合しながら細胞接着の制御が考えられる Lin7 (VELI/MALS)ファミリー蛋白について、マウス精細管における局在と膜骨格蛋白との関係を検討した。正常および MPP6 欠損 (KO) マウスの精巣を化学固定後、ショ糖包埋して凍結切片を作製し、Lin7、Cell adhesion molecule-1 (CADM1)、Melanoma cell adhesion molecule (MCAM)、β-catenin、および精粗細胞マーカーLin28A について免疫染色した。これらの蛍光二重染色、メチルグリーン染色や包埋前免疫電顕法を用いて、Lin7 陽性細胞を同定した。さらに培養精粗細胞における局在も検討した。また免疫沈降法で Lin7 と MPP6 の蛋白結合性を確認し、Western blot による蛋白量の比較も行った。Lin7 とくに Lin7c は精粗細胞から早期精母細胞に染色され、免疫電顕法で細胞膜直下に局在していた。培養精粗細胞では、Lin7 は細胞間接着部位に局在していた。蛍光二重染色で Lin7 陽性細胞は、4.1G、CADM1 や MCAM の局在パターンと類似点があり、Lin28A 陽性 type A 精粗細胞での染色性も認めた。MPP6-KO 精巣で、Lin7 の免疫染色性と Western blot による染色性が減少していたが、精細管の形態やステージ分類さらに Lin7 による輸送の報告がある β-catenin の局在について、野生型との変化は認めなかった。以上から、マウス精細胞において MPP6 によって Lin7 の一部が細胞膜への輸送や保持をされることが明らかとなり、Lin7c が精粗細胞分化度の指標となることが示唆された。

O1-6 膝内側側副靱帯損傷の疼痛に関する基礎的研究 ―ラット膝内側側副靱帯の神経分布の観察―

川崎悠貴[1]、堀紀代美[2]、中村恒夫[2]、奥田洋明[2]、白石昌武[2]、石川達也[2]、尾崎紀之[2]
1, 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科医学専攻機能解剖学
2, 金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学

【目的】スポーツ外傷や交通事故などで、膝内側側副靱帯(MCL)損傷の発症頻度はとても高いが、その病態生理および疼痛と治癒過程の関連については未だ不明な点が多い。本研究では、MCL 損傷の疼痛について基礎的な解析を進めるため、その基盤となる正常ラット MCL の神経分布を肉眼解剖学的および免疫組織学的に検討した。また、MCL 損傷のモデルラットを作成し、痛覚の変化について調べた。【方法】SD 系雄性ラットを用いて、大腿部の鍍銀染色により MCL 周囲の神経の走行を肉眼解剖学的に観察した。また、CGRP（Calcitonin-gene-related peptide）および PGP9.5（Protein Gene Product 9.5）を標識して MCL の表層および実質内の神経分布を免疫組織学的に観察した。さらに、ラットの MCL を完全切断した損傷モデルを作成し、損傷部の皮膚および深部の疼痛について行動学的に評価した。【結果】鍍銀染色による肉眼解剖学的検討では、伏在神経の枝が内側側副靱帯に向かって走行するのが観察された。免疫組織学的検討では、靱帯表層の epiligament に CGRP 陽性神経線維が認められ、また、PGP9.5 陽性神経線維が靱帯表層に網目状に分布するのが観察された。MCL 損傷モデルは損傷後 1 日目に皮膚の痛覚過敏が認められ、損傷後から 10 日間にわたって深部の圧痛が認められた。【結論】ラットの MCL には伏在神経が分布し、靱帯損傷時の痛みの知覚に関わることが示唆された。MCL 損傷モデルラットは損傷部深部の痛覚過敏を有し、MCL 損傷の痛みの解析に有用であると思われた。

O1-7 酸感受性イオンチャネル X（ASICX）の痒みへの関与

横井雄斗、柴田泰宏、熊本奈都子、植田高史、鵜川眞也

[背景と目的]
痒みの発生機序として、Intensity Theory、Labeled Line Theory などが提唱されている。我々は、痛覚ジェネレーターである ASICX の痒みへの関与を調べることで、それらの仮説の検証を試みた。
[方法と結果]
1）マウス痒み誘発試験　野生型マウスおよび ASICX ノックアウトマウスを対象に、クエン酸痒み誘発試験を行った。野生型マウスは、クエン酸投与後 30 分以内に 70 回程度、局所を掻いた。一方、ASICX ノックアウトマウスは、20 回程度しか掻かなかった（有意差あり、P <0.01）。
2）in situ hybridization　後根神経節における ASICX 陽性細胞と（痒み神経のマーカーである）MrgprA3 陽性細胞との組織学的関係を調べた。全後根神経節ニューロンの約 30%が ASICX 陽性、数%が MrgprA3 陽性であった。MrgprA3 と ASICX の両者を発現する感覚神経は同定できなかった。
[考察]
ASICX は MrgprA3 陽性の痒み神経には発現していなかったことから、他の痒み受容体との共存、あるいは未同定の痒み受容体との共存が予想される。さらに、痛み神経が少し刺激されることで痒みが誘発される（Intensity Theory）可能性も残る。今後、他のモデルを用いて解析を行う。

O1-8 下歯槽神経損傷に伴うアロディニア発症メカニズム －延髄マイクログリア活性化の解析－

1)松本歯科大学大学院歯学独立研究科顎口腔機能制御学
2)松本歯科大学歯学部口腔解剖学講座
○上田敬介[1)]、奥村雅代[1),2)]、田所治[1),2)]、金銅英二[1),2)]

末梢神経の損傷によりアロディニアを誘発する神経因性疼痛のモデル動物としては坐骨神経を用いたものが多く使われており、神経損傷に伴うアロディニア発症には損傷した神経の中枢投射領域におけるマイクログリア活性化が深く関与していると報告されている。三叉神経領域においても、下顎神経の一部である下歯槽神経を切断することで、上顎神経支配領域アロディニアを発症するモデル動物が開発されているが、このモデルでは処置を受けたラットの約半数はアロディニアを発症しない。本研究では、ラット下歯槽神経切断処置後の、上顎神経支配領域におけるアロディニア発症と三叉神経中枢投射領域である延髄におけるマイクログリア活性化の関連について解析を行った。これまでに報告されていたとおり、下歯槽神経切断後のラットでは、三叉神経投射領域である延髄後角において顕著なマイクログリアの活性化が観察された。またこのマイクログリアの活性化は、延髄後角のなかでも第三枝の投射領域として知られる背側部にほぼ限局されていた。連続切片を観察すると、マイクログリアの活性化は頚髄レベルから延髄後角全域に渡って確認され、さらに吻側の三叉神経中脳路核にまでかなり広範囲に広がっていた。この広範囲におけるマイクログリア活性化をアロディニア発症群、アロデニィア非発症群において比較してみたところ、どちらの群に置いてもほぼ同程度のマイクログリアが確認されたが活性化のパターンの差異が示唆された。

O1-9 神経成長因子は下肢虚血に起因する筋の痛覚過敏に関与する

堀紀代美、奥田洋明、中村恒夫、白石昌武、石川達也、尾崎紀之

金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学

【目的】末梢動脈疾患（peripheral arterial disease: PAD）は、末梢の組織の虚血を主病態とし、一定の距離を歩くと下肢の筋に痛みが出現する間歇性跛行が症状として最も多く、進行すると安静時にも疼痛が起こり、身体的・精神的な苦痛をもたらす。我々はこれまでに、慢性の筋の痛覚過敏や間歇性跛行を呈する PAD モデルラットを開発し、虚血性の筋の痛覚過敏にはイオンチャネルの ASIC3 が関与することを報告してきた。本研究では PAD で見られる筋の痛覚過敏に対する神経成長因子（Nerve Growth Factor: NGF）の関与を検討した。
【方法】左総腸骨動脈および左腸腰動脈を結紮し下肢の血流を阻害した PAD ラットを作成し、腓腹筋の NGF 量を ELISA 法にて定量した。また、PAD ラットで見られる筋の痛覚過敏に、NGF 受容体 TrkA の阻害薬や NGF の中和抗体を用いた行動薬理学的検討を行った。さらに、後根神経節（DRG）における TrkA の発現変化、および ASIC3 の発現増加に対する NGF の関与について免疫組織化学的に検討した。
【結果】PAD モデルの虚血下肢筋で NGF 量が増加した。TrkA の拮抗薬および NGF 中和抗体は PAD モデルの筋の痛覚過敏を抑制した。DRG における TrkA の発現は PAD 群と対照群とで変化を認めなかった。NGF 中和抗体は PAD 群の DRG の筋の知覚神経で見られた ASIC3 の発現増加を抑制した。
【結論】下肢の血流阻害による筋の痛覚過敏には NGF の関与が示唆され、PAD における痛覚過敏の発現に重要と思われた。

O1-10 口腔組織における感覚受容関連分子の発現解析基盤の確立と応用

領家崇[1,2]、黒田一樹[2]、村田航志[2]、酒井涼[2]、吉村仁志[1]、佐野和生[1]、深澤有吾[2]
[1]福井大学学術研究院 医学系部門 医学領域 感覚運動医学講座 歯科口腔外科学分野
[2]福井大学学術研究院 医学系部門 医学領域 形態機能医科学講座 脳形態機能学分野

【目的】近年、象牙質形成細胞である象牙芽細胞に、各種感覚受容体発現が認められることが報告されており、歯髄・象牙芽細胞における各種受容体の役割を解明することが歯痛の機序解明に重要と考えられる。しかしながら、硬組織を含んだ組織における遺伝子発現やタンパク質発現を細胞レベルで捉えるには、脱灰処理を行う必要があり、この前処理により mRNA *in situ* hybridization（ISH）法や免疫組織化学的手法による標的検出効率の低下を招くという技術的制約を受ける。そこで、歯を含む硬組織を対象に簡便且つ高感度に組織学的解析を行うための条件について検討した。
【材料と方法】成熟雄 Wistar ラットの三叉神経節及び顎骨を含む口腔組織に対し、灌流固定の有無、脱灰液の種類、包埋方法、および、切片作製法（パラフィン切片・通常クリオスタット切片・川本法：Cryofilm 法による切片）の各種条件を設定し、組織形態の保存性と mRNA の検出感度への影響を検討した。感覚受容体遺伝子として TRPA1, V1, V2, V3, V4, M8, Piezo1, 2, ASIC1-4、象牙芽細胞特異的遺伝子として DSPP、陽性対照遺伝子として、β-actin, 及び GAPDH を解析対象遺伝子とした。
【結果および結論】顎骨を含む口腔組織において、上記組織標本作製条件の違いにより、組織形態と mRNA 検出感度に顕著な差を認めた。今回の条件設定内では、灌流固定・非脱灰標本から川本法を用いて作製した組織切片が、組織形態の保存性および ISH による mRNA 検出シグナルの強度（検出感度）の両面で優れていることが示唆された。

O1-11 解剖学教育における授業外学修の組織化：反転授業の実践と評価

富山大学・学術研究部医学系・解剖学講座
一條裕之、中村友也、川口将史、竹内勇一

解剖学教育における moodle を利用した授業外学修の組織化を報告する。2015～2019 年度の医学部医学科二年次生の「解剖学および解剖学実習」の履修者を対象とした。moodle に「解剖学および解剖学実習」のコースを作成し、①各日の実習内容を示した説明文書、②10 分程度の説明動画、③実習の達成目標、④多肢選択方式の復習問題を作成してアップロードし、授業外学修の教材とした。moodle のフィードバック機能を利用して、⑤各週末の振り返りと全体の振り返りを行った。moodle の視聴履歴に基づいて教材がコース全体に及ぼす影響を検討した。
92%の学生が Moodle コースは役にたったと評価し、33%の学生が全ての動画を視聴した。31%ほどの学生が 3/4 ほどの動画を選択して視聴した。19%の学生は 1/2 ほどの動画を選択して視聴した。学生の授業外学修時間の最頻値は一日当たり 2 時間だった。92%の学生が Moodle コースは役にたったと評価し、44%は非常に役に立ったとした。
医学科の解剖学教育では学生が主体的に活動する機会が実習の中に準備されており、Active learning の実践に適したフィールドと考えられた。従来は各日の実習開始時に行っていた小講義を動画にすることで、授業外学修と講義・実習を有機的に結びつける仕組みを構築することができた。

O1-12 足関節外側靭帯複合体（LALC）の関節内における線維構造

○掛川晃，住友憲深，柳樂彩太，福島菜奈恵
信州大学　医学部医学科　人体構造学

足関節の外側には，関節包内靭帯である前距腓靭帯（ATFL）と後距腓靭帯（PTFL），関節包外靭帯である踵腓靭帯（CFL）が存在し，足関節外側靭帯複合体（lateral ankle ligament complex: LALC）を構成している．ATFL の解剖学的構造に関する報告は多く存在するが，PTFL の線維構造の報告はごく僅かである．本研究は PTFL に着目し，PTFL の線維が関節内でどのように LALC を構成しているのか明らかにすることを目的とした．

信州大学医学部解剖実習体 23 足を対象とした．足関節後部の軟部組織を除去し，腓骨下端部より 1cm 上方で下腿を水平断し ATFL と PTFL を頭側から剖出し以下の項目を調査した．①PTFL の前方線維の最短線維長，後方線維の最長線維長，靭帯中央部の前後幅・上下幅をデジタルノギスを用いて計測した．②関節内における ATFL と PTFL の連続線維の有無を調査した．連続線維の構造を明らかにするため腓骨遠位部を含めた LALC を採取し，脱灰後にクリオスタットにて水平断し連続線維の組織学的検討を行った．③PTFL の線維構造を明らかにするため PTFL をいくつかの細かい線維束に裂き，腓骨側・距骨側の付着部をマーキングし線維の走行を調査した．

PTFL は最短線維長：9.9±1.7 mm，最長線維長：29.9±2.0mm，前後幅：9.9±0.9 mm，上下幅：5.6±1.1 mm であった．19 足（83%）は，関節内で ATFL と PTFL を連続する線維が存在した．外果窩の前方に付着する線維は短い線維が多く，距骨の外側周囲に付着していた．外果窩の後方に付着する線維は長い線維が多く，距骨後方突起周囲に付着していた．LALC を構成する ATFL と PTFL は関節内で連続する線維を持ち，両靭帯線維によって距骨を安定させる構造をしていることが明らかになった．

O1-13 副肝管と肝動脈系との解剖学的な局所関係の調査

田中 貴士[1]、中田 貴之[2]、木南 利栄子[1]、加賀谷 美幸[1]、伊藤 哲史[1]、川井 克司[1]、本間 智[1]
[1]金沢医科大学 医学部 解剖学Ⅱ、[2]金沢医科大学 アナトミーセンター

通常の肝外胆道系は左右の肝管が合流して総肝管を形成し、総肝管と胆嚢管が合流して総胆管となるが、この他に合流する余剰な管を副肝管と呼ぶ。副肝管は腹腔鏡下の胆嚢摘出術において損傷の危険性が指摘されているが、肝動脈系との解剖学的な局所関係についての報告はない。本研究では副肝管の合流パターンとともに、副肝管と肝動脈系との局所関係を肉眼的に調査した（2015 年と 2019 年に金沢医科大学の肉眼解剖学実習で用いたご献体 59 体）。

59 体中 9 体（15%）で 10 本の副肝管が観察された。総肝管よりも右側に位置するものを右副肝管（7 本）、左側に位置するものを左副肝管（3 本）と定義した。右副肝管は全て右内側前区域から出ており、総肝管に合流するものが 5 本、胆嚢管に合流するものが 1 本、総肝管と胆嚢管の分岐部に合流するものが 1 本であった。左副肝管は 3 本全てが尾状葉の前面から出て、総肝管に合流していた。肝動脈系との局所関係をみると、右副肝管は肝動脈系の浅層を走行するものが 6 本、深層を走行するものが 1 本であり、左副肝管は 3 本全てが肝動脈系の深層を走行していた。

副肝管の肝動脈系に対する解剖学的な局所関係は、概ね肝臓の区域との位置関係に裏付けられることが明らかになった。本知見は、術中の副肝管や周囲の肝動脈系の損傷回避に有用であると考える。

O1-14 CT を用いた鼓索神経小管の三次元的解析

藺村貴弘[1]、加納隆[1]、岩田哲成[3]、勝又明敏[2]、江尻貞一[1]
1 朝日大学 歯学部 解剖学分野
2 朝日大学 歯学部 歯科放射線学分野
3 朝日大学 医科歯科医療センター 口腔診断放射線科

鼓索神経は顔面神経の枝で、舌の前 2/3 の味覚および副交感神経性の顎下腺と舌下腺の分泌を支配することから、臨床的にも頭頸部外科や口腔外科などにおいて重要な神経である。多くの成書では、鼓索神経は側頭骨の顔面神経管内において茎乳突孔の直前で顔面神経から前上方に分枝し、鼓索神経小管を通って鼓室に出ると記載されているが、我々は、鼓索神経が多くの成書にあるように顔面神経から前上方に分枝するのではなく、外上方に分枝することが多いことに着目し、その走行を Multislice CT を用いて詳細に三次元的に解析して、従来の成書の記載の妥当性を検討した。

まず、本学に献体された解剖実習体 5 体の左側頭頸部を 1N塩酸を用いて脱灰後、内頭蓋底の内耳道から顔面神経管を追跡し、顔面神経管の垂直部は後方から前額断で開放し茎乳突孔付近で鼓索神経小管の基部を明らかにし、鼓室に至るまでの走行を確認した。さらに、より正確に鼓索神経の走行を解析するために、成人 5 名の頭部 CT を撮影し、三次元再構築ソフトを用いて顔面神経管と鼓索神経小管の走行を三次元的に再構築して計測したところ、鼓索神経は顔面神経管本幹に対して相対的に約 13° 外側に傾斜し、また約 11° 前方に傾斜して走行していた。これらの結果から、多くの解剖学の成書にあるような鼓索神経が前上方に分枝するという記載は正確とは言い難く、後方から前額断で鼓索神経を剖出することが望ましいと考えられる。

O1-15 顎二腹筋の外側を通る外頚動脈の分枝、特にオトガイ下動脈と舌下動脈について

田所 治
松本歯科大学歯学部口腔解剖学講座

我々が以前に報告したⅣ型の外頸動脈において，オトガイ下動脈と舌下動脈に興味深い所見が得られたので報告する．松本歯科大学解剖学実習において，74 歳男性の右側頭頸部に顎二腹筋後腹の外側を通る外頸動脈がみられた．外頸動脈は，舌骨上縁の高さで総頸動脈から起こり，外頸動脈の起始部付近で上甲状腺動脈を，その直上で舌顔面動脈幹を出していた．舌顔面動脈幹は外径約 3.2mm の太い枝と外径約 1.3mm の細い枝に分かれ，茎突舌骨筋と茎突舌筋のあいだを通っていた．太い枝は上行口蓋動脈を出したのちに前下外方に向かい，顎下腺枝を出していた．その次に太い枝は，舌下動脈とオトガイ下動脈の共通幹を出し、顎舌骨筋の後縁で舌下動脈とオトガイ下動脈に分かれ、オトガイ下動脈は顎二腹筋前腹の外側で５本の小枝を分けていた．太い枝はさらに舌動脈を分けており，舌骨舌筋の内側を前走して筋の前縁を出た後に舌深動脈と舌下動脈を分けていた．その一方，舌顔面動脈幹から分かれた細い枝は，顎下腺と舌神経の内側を前走して舌下動脈として分布していた．本例Ⅳ型の外頸動脈から分かれた舌顔面動脈幹は、オトガイ下部と舌下部に多くの枝を分けていた。舌下動脈が欠如する場合にはオトガイ下動脈が舌下動脈の分布範囲をカバーすることが知られている．しかし，本例では豊富なオトガイ下動脈と舌下動脈が同時にみられたことから，臨床的には舌下部出血で動脈を結紮する際には困難が想定される．また，下顎前歯部の舌側歯槽部の歯肉剥離や，同部のインプラント埋入時には，舌下動脈を念頭におく必要があることから，詳細な術前検査が必要と考えられる．

O2-1 Lzts1 による前駆細胞の位置移動が大脳皮質ニューロンの運命に与える影響

名古屋大学大学院医学系研究科　細胞生物学分野
○林祐希、宮田卓樹、川口綾乃

【背景】大脳の発生過程で、前駆細胞から生じたニューロンは外側へと移動し大脳皮質を形成し、その位置と個性は誕生日に対応することが知られている。最近我々はニューロン分化の早いタイミングで発現上昇する分子 Lzts1 が細胞の脳室面からの離脱を強く促すことを見出した。大脳原基に Lzts1 を過剰発現させると、前駆細胞を含むほぼ全ての細胞が脳室面から離脱し脳室下帯へ移動する。そこでこの変化がニューロンの個性獲得へ与える影響を検討した。
【方法】胎生 13 日目（E13）と E14 マウスの大脳原基へ子宮内エレクトロポレーション法(IUE)による Lzts1 過剰発現操作を行い、生後 4 日目に固定し抗 Cux1 抗体、抗 Tbr1 抗体、抗 GFP 抗体で免疫染色。遺伝子導入当日に BrdU とその 2 日後に EdU を投与した。
【結果と考察】E13-IUE では Lzts1 過剰発現細胞は皮質板内でもより深い層まで幅広く分布した。また Cux1 陽性率は低下し、Tbr1 陽性率は増加する傾向が見られた。E14-IUE では GFP 陽性細胞はコントロール群で LayerⅡ/Ⅲ中心に、過剰発現群では LayerⅣを中心に位置していた。BrdU・EdU ラベルから E13 過剰発現で深層に分布したニューロンは深層にそのまま留まると考えられた。よって前駆細胞あるいはそこから生じた幼若ニューロンは、より早生まれのニューロンが存在する脳室下帯の環境下に置かれることで、その運命が変化した可能性がある。

O2-2 ミクログリア貪食能不全はアストロサイトにより補完される

[1]名古屋大学 大学院医学系研究科 機能組織学
[2]宮崎大学 医学部医学科 感染症学講座免疫学分野
小西博之[1]、佐藤克明[2]、木山博資[1]

脳内において死細胞はミクログリアに貪食され速やか除去されると考えられている。最近我々はミクログリアにジフテリア毒素受容体が発現するマウスを用い、ミクログリア特異的に細胞死を誘導する実験系を確立した。この実験系では、ミクログリアの貪食能は機能していないにもかかわらず、ミクログリアの残骸は脳内から除去される。そのため、ミクログリア残骸はミクログリア以外の細胞により除去される可能性が考えられた。まず、手がかりを得るために、各種細胞マーカー分子の発現をリアルタイム PCR で調べたところ、ミクログリア除去後の脳においてアストロサイトマーカーGFAP が顕著に発現上昇することを見出した。そこで、免疫組織化学と電子顕微鏡によりアストロサイトを観察した結果、アストロサイトは活性化し、太く変化した突起を用いてミクログリア残骸を貪食することが明らかとなった。さらに、アポトーシスを誘導したミクログリアとアストロサイトの共培養実験から、アストロサイト細胞膜に発現する TAM ファミリー分子が貪食受容体として機能することが判明した。貪食性アストロサイトは、ミクログリア貪食能が低下する IRF8 ノックアウトマウスでも頻繁に見られたことから、ミクログリアの貪食能不全はアストロサイトにより補完されることが示唆された。この補完作用は、脳内の残骸除去システムの維持に貢献していると考えられる。

O2-3 ATF6beta protects hippocampal neurons against ER stress.

Nguyen Thi Dinh , Hori Osamu
·Department of Neuroanatomy, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

Accumulating evidence has demonstrated that activating transcription factor 6α(ATF6α),a key transducer in the unfolded protein response (UPR), contributes to the neuronal survival and glial activation in the neuropathological conditions such as brain ischemia, neurodegeneration, excitotoxic death and demyelination. However, the role of its isoform, ATF6β, in the central nervous system (CNS) has not been clear yet. Here, we demonstrate that the expression of ATF6β was highly observed in the neurons under normal condition, and was mildly, but significantly, increased by endoplasmic reticulum (ER) stress. Analysis using primary hippocampal neurons revealed that ER stress-induced death was enhanced in Atf6β-/- neurons, compared with Atf6β+/+ neurons. Furthermore, the expression of calreticulin, a molecular chaperone in the ER with a high Ca-binding capacity, was selectively and constitutively decreased in Atf6β-/- neurons. The Lenti-virus vector-mediated overexpression of calreticulin rescued neuronal survival under ER stress in Atf6β-/- hippocampal neurons. In a mouse model, the calreticulin expression was also selectively decreased in the CNS of Atf6β-/- mouse in normal condition, and, consistently, hippocampal neurons in Atf6β-/- mouse were more sensitive to kainate-induced neuronal death. These results suggest that ATF6β protects hippocampal neurons against ER stress by increasing Ca-binding capacity of the ER.

O2-4 肢間位相の異常を呈するAPC1638Tマウスの脊髄CPG領域の解析

石田裕保　山田名美　千田隆夫
岐阜大学大学院医学系研究科　病態制御学講座　解剖学分野

APC(adenomatous polyposis coli)はβ-catenin以外にも多くの分子と結合するドメインを有し、その結合を介した多彩な生理機能を有している。APC1638Tマウスは、1639番目のアミノ酸以降のC末端側が欠損している。このC末端側の欠損領域には微小管、EB1、DLG、PSD-95などが結合するドメインが存在するので、神経との関連性が濃厚であると思われるが、生体内でのAPCの機能について未だ多くのことが解明されていない。私たちは、APC1638Tマウスが四肢の協調性を欠いた異常歩行を呈することに気づいた。DigiGait小動物用歩行解析システム（Mouse Specifics,Inc.）を用いて詳細に解析した結果、APC1638Tマウスの後肢の肢間位相に異常があることを明らかにした。四肢の協調的な歩行運動には、Th11-L1の腹内側面に局在するCPG(central pattern generator)と呼ばれる脊髄介在ニューロン群が関与していることが知られている。CPGは、歩行時に無意識的でリズミカルな基本リズムを生成するとともに、歩行に参画する屈筋・伸筋群の運動パターンを決定する役割を有する。したがって、APC1638Tマウスでは、脊髄のCPGに関与する介在ニューロンの数やシナプス構造、神経連絡に何らかの異常をきたしていることが推察される。現在、APC1638TマウスのCPG相当領域の脊髄の形態学的解析を進めており、脊髄における有髄神経線維の分布と量に著明な違いは認められないが、脊髄前角部の運動ニューロンの数がAPC1638Tマウスで少ないことが分かっている。今後、肢間協調に関与する脊髄介在ニューロンを同定し、その差異を追求していく。(COI；なし)

O2-5 有酸素運動によるがん悪液質性筋萎縮抑制機構の解析

森長真言、亀高諭
名古屋大学大学院医学系研究科リハビリテーション療法学専攻

がん悪液質の主症状として知られる骨格筋萎縮は、身体の活動性低下を引き起こし、患者のＱＯＬ低下の要因となる。先行研究では、がん悪液質性筋萎縮に対して有酸素運動が抑制効果を示したことが報告されているが、その詳細な分子機構については未だ不明な点が多い。近年、有酸素運動により発現量が上昇することが知られている脂肪組織由来ホルモン、アディポネクチンが骨格筋萎縮に対して抑制的に作用することが報告されている。そのため、有酸素運動により活性化されたアディポネクチンシグナルと、筋萎縮抑制効果の関連が示唆されるが、それらを詳細に検討した研究報告はない。そこで、本研究においては有酸素運動によるがん悪液質性筋萎縮抑制効果におけるアディポネクチンの関与について検討した。マウス結腸がん由来のC26細胞をマウス（Balb/c、雌性、12週齢）の背側皮下に1×10^6個播種し、がん悪液質モデルマウスを作製した。作製したがん悪液質モデルマウスに対してトレッドミルを用いた有酸素運動（12ｍ/s、30分、5日/週）を4週間実施した後、前脛骨筋を採取し、解析を行った。その結果、がん悪液質モデルマウスの前脛骨筋において、重量と筋線維横断面積が有意に減少し、有酸素運動によりそれらが有意に抑制された。また、がん悪液質性筋萎縮に伴い骨格筋内のアディポネクチン、AdipoR1、APPL1のmRNA発現量が上昇する傾向が見られた。現在、培養骨格筋モデルを用いてがん悪液質性筋萎縮に対するアディポネクチンおよびアディポネクチン受容体のアゴニストの効果を検討している。

O2-6 脂肪滴の核内における動態

○大崎　雄樹、ソウティシク　カミル、程晶　磊
名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学

【目的】我々はこれまでに、肝由来細胞では中性脂質とリン脂質一重膜で構成される脂肪滴が細胞質だけでなく核内にも存在し、核内脂肪滴は小胞体内腔で生まれる中性脂質顆粒リポプロテイン前駆体が内核膜陥入構造を通り核質に移行して形成されること、phosphatidylcholine (PC)新規合成経路の律速酵素CCTalphaの活性化場所として機能し得ることをこれまでに報告した。本研究では一旦形成された核内脂肪滴の核質内での動態を制御する因子を検索し、候補となる分子を同定したのでこれを報告する。
【材料と方法】ヒト肝がん由来培養細胞Huh7を用いて、細胞質脂肪滴の融合制御に関与するCide familyのひとつCidebのRNA干渉法による発現抑制などを行った際の核内脂肪滴量変化を蛍光プローブ染色にて、脂肪滴間の脂質輸送速度変化を光退色後蛍光回復法 (FRAP法)にて解析した。
【結果】Cidebが核内脂肪滴にも局在し、Cidebの発現抑制により内核膜陥入構造と核内脂肪滴顆粒数が増加した。Cideb発現抑制により隣接する核内脂肪滴の間の脂質輸送が遅延した
【結論】Cidebは隣接する核内脂肪滴の間の融合制御にも関与している可能性が示唆された。また分子機構は不明だが内核膜陥入構造の形成にも関与し、核内脂肪滴の形成数に影響すると考えられる。現在、CidebのPC合成活性への影響の有無を探索中である。

O2-7 ハイパードライヒト乾燥羊膜（HD羊膜）の創傷治癒促進効果の検討

○吉田淑子[1]、岡部素典[1]、天野浩司[2]、大場次郎[3]、古市恵津子[1]、奥寺敬[3]
1富山大学大学院医学薬学研究部　再生医学講座
2堺市立総合医療センター　救命救急科
3富山大学大学院医学薬学研究部　危機管理学講座

古くから創傷の被覆材として利用されてきた羊膜の特性を保持しつつ、安全で操作性の良い医療材料として開発した乾燥羊膜（ハイパードライヒト乾燥羊膜：HD羊膜）の創傷治癒促進効果(肉芽形成効果)について、マクロファージに着目して検討した。
難治性創傷モデルとして露出腸管を伴う開放創モデルマウスおよびⅢ度熱傷モデルマウスを作成し、経時的に創傷部位を採取し、肉芽形成過程を形態学的、分子生物学的に検討した。免疫組織学的な検討では、Iba1, CD86, iNOS, CD163抗体によりマクロファージのサブタイプを検出するとともに、α-smooth muscle, VEGFおよびCD31抗体により、形成される肉芽の構成について観察した。
いずれのモデルにおいても、HD羊膜添付群は非添付群と比較して有意に肉芽形成が促進され、新生肉芽内では基底側から表層に向け、血管の新生が顕著であった。M2マクロファージのマーカーであるCD163陽性細胞が、処置後7日目にHD羊膜添付群で著しく増加し、その後、一気に減少した。特に、露出腸管モデルでは、CD163陽性細胞がHD羊膜に集約して存在し、HD羊膜とマクロファージの関連性が示唆される像が観察された。
HD羊膜添付による露出腸管モデルおよびⅢ度熱傷モデルにおける肉芽形成の有意な増成に、CD163陽性マクロファージの出現が関係する事が示唆された。

O2-8 腱断裂修復モデルにおける新しい再生医療用スカフォールドの癒着防止効果の検証

〇岡部素典[1)]、頭川峰志[2)]、長田龍介[2)]、木村友厚[2)]、川口善治[2)]、吉田淑子[1)]
富山大学大学院医学薬学研究部　1）再生医学 2）整形外科学

【目的】種々の疾患に対し被覆材や足場として利用してきたハイパードライヒト乾燥羊膜(HD羊膜)を腱断裂修復モデルに対し、癒着の抑制効果および安全性について検証する。
【材料と方法】ICの得られた帝王切開症例より羊膜を採取し、減圧、遠赤外線、マイクロウエーブを制御してHD羊膜を作製した。腱断裂修復モデルとして8週齢家兎に趾屈筋腱修復処置を行い、１）趾屈筋腱の腱縫合のみ(Positive Control:Pos Cont)、２）腱縫合部の周囲にHD羊膜を巻いた群(羊膜処置群)、３）無処置群(Negative Control:Neg Cont)、の3群を準備した。腱周囲組織の癒着の評価として関節可動域測定、引張り試験、癒着スコア評価、組織学的評価を行った。
【結果】関節の可動域は、Pos ContよりHD羊膜処置群で有意に可動域が増加した。引張り試験・癒着スコア評価では、Pos ContよりHD羊膜処置群で張力・スコア評価が有意に減少した。組織学的評価ではHD羊膜処置群で癒着の形成が少なく、異物反応が認められなかった。一方で、縫合した腱自体の強度にはPos ContとHD羊膜処置群の両群で有意差はなかった。
【考察】HD羊膜は腱断裂疾患に対し、安全で、有効な腱癒着防止効果を有する新しい再生医療用スカフォールドとして臨床への利用が可能であると考えられた。

O2-9 抜歯窩治癒におけるマクロファージ浸潤の経時的解析

堀部　寛治、原　弥勒力、中村　浩彰

松本歯科大学歯学部口腔解剖学講座

【目的】マクロファージは貪食能を有する免疫細胞だが、近年は組織修復誘導能が注目されている。しかし、歯周組織、歯槽骨の治癒におけるマクロファージの役割は定かではない。そこで、我々はマウスを用いた抜歯実験を行い、抜歯窩浸潤マクロファージに注目し抜歯窩治癒過程を経時的に解析した。
【材料と方法】5週齢マウスの上顎第一臼歯を麻酔下にて抜去した。抜歯処置から1，3，7日後に上顎を採取し、マイクロCT撮影、組織学的・免疫組織学的手法により抜歯窩治癒の状態およびマクロファージの浸潤を経時的に観察した。
【結果と考察】処置１日後の抜歯窩は、壊死巣で占められているが、成熟マクロファージマーカーである F4/80、炎症性細胞や食細胞で発現する Galectin-3 陽性細胞が残存歯根膜近傍に認められた。処置３日および７日後、抜歯窩内の壊死巣はほとんど見られず、線維性骨・新生骨形成が認められた。抜歯窩には、骨折治癒時に骨前駆細胞が発現するα-SMA、骨芽細胞マーカーRunx2、Osterix，Osteopontin の陽性がみられた。また、CD206 陽性の組織修復性に働く M2 マクロファージが多数認められた。一方で、骨折治癒に寄与するとされる CD169 陽性マクロファージの浸潤は限局的であった。多重蛍光免疫染色で抜歯後３日、７日で浸潤した F4/80 陽性および CD206 陽性マクロファージに組織治癒を亢進する TGF-βとの共局在が認められた。これらの結果から、抜歯後早期に M2 様マクロファージが抜歯窩内に浸潤し、TGF-βの産生を行うことによって組織修復・骨新生に寄与していると考えられた。

O2-10 IKK2 KO マウスにおける組織学的検討

○吉田　聡[1]、吉田　淑子[2]、岡部　素典[2]、古市恵津子[2]

1 富山大学大学院医学薬教育部生命・臨床医学専攻

2 富山大学大学院医学薬学研究部　再生医学講座

NF-kB パスウェイに関与する分子である IKK2 をノックアウトしたマウスはアトピー性皮膚炎症状を呈することが報告されている。この度我々は同マウスを生後７日目、28 日目から採取した皮膚について組織学的検討を行った。生後７日のマウス皮膚では真皮乳頭の破壊が目立ち、HE 染色で好酸性を呈する細胞が表皮内に浸潤していた。免疫染色により、この細胞は間葉系由来であることが示唆された。本研究により、上記皮膚炎マウスは間葉系細胞を由来とする皮膚炎をきたしている可能性が示唆され、アトピー性皮膚炎の病態解明ならびに NF-kB パスウェイを解する炎症性疾患の解明に寄与する可能性が示された。