

# 日本解剖学会

## 第108回関東支部学術集会

会期：令和2年10月31日（土）  
会場：オンライン開催

### 特別講演

医学と解剖学の歴史

坂井建雄

順天堂大学保健医療学部

現代の医学・医療は、深い知見と高度な技術により多くの人々を病氣から救い、日々進歩を続けている。しかしそのように進歩する西洋近代医学は19世紀に始まったもので、18世紀以前の西洋伝統医学はまったく違っていたことが知られている。『図説 医学の歴史』(医学書院、2019)では、古代以来の西洋伝統医学を母体として、西洋近代医学が生まれ出た発展した過程を、原典資料をもとに多数の図表とともに紹介した。今回はとくに解剖学の役割に焦点をあてて、西洋医学の歴史を紹介する。

古代ローマのガレノスは、古代の医学文献を抄録して、医学一般から自然学・疾患学・薬理学などにわたって広範囲の多数の著作を残し、また自ら解剖を行って詳細な解剖学文書を残している。ガレノスの著作は中世・ルネサンス期に権威あるものとして尊重された。16世紀のヴェザリウスは精緻な解剖図を含む『ファブリカ』(1543)を著し、書物よりも人体の探究を優先して近代医学の祖と評される。しかしヴェザリウスの解剖学の記述のほとんどは、ガレノス解剖学に依拠していた。ヴェザリウス以後に解剖学が最先端の科学となり、17世紀には数々の発見がもたらされた。しかし解剖学の発見は外科には多少役立ったが、内科的疾患の医療は18世紀まで古代とほとんど変わらず、疾患の原因は体液の不均衡で説明され、治療は植物薬が中心で瀉血が広く行われた。

18世紀以前の大学医学部では、おもに4つの教科が教えられた。1) 医学理論は医学の理論的な基礎を扱い、①生理学、②病理学、③徴候学、④健康学、治療学の5部に分かれる。2) 医学実地では局所性の疾患(頭から足へ順列)と全身性の熱病について、診断・治療・予後が教えられ、3) 解剖学/外科学、4) 植物学/薬理学、も教えられた。その内容を詳しく見ると、経験的な医療と推論的な考察が中心となっており、人体と病気の関連する科学的探究と呼べるものは、解剖学だけであった。これは最近10年ほどの研究の成果であり、『医学教育の歴史』(古今と東西)(編、法政大学出版局、2019)の拙稿を参照された。

19世紀になって、ミクロの構造の研究(組織学)、臓器機能の実験的な研究(生理学)、臓器の病変の研究(病理学)、薬剤の効能の研究(薬理学)病原菌の発見(細菌学)、健康・疾患の環境要因の研究(衛生学)など、人体と疾患の科学的探究として基礎医学の諸分野が生まれた。また診断技術(打診、血圧計、X線、心電計)が生まれ、麻酔と消毒法により外科手術の応用が広がった。最近40年ほどの医学・医療の進歩は目覚ましいものである。

西洋伝統医学は、他の伝統医学(中国伝統医学、アーユルヴェーダ医学、ユナニ医学)と同様に、経験的医療と推論的考察が中心であった。そしてもう一つの解剖学=科学的探究の伝統が、19世紀以後の近代医学の誕生をもたらすことになった。

### 1

#### Apercyctosis: 細胞膜損傷による FGF 分泌機構

○土谷香蓮<sup>1)</sup>、藤巻立生明<sup>2)</sup>、村井花奈<sup>3)</sup>、小西真衣<sup>3)</sup> 三宅克也<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 国際医療福祉大学・成田保健医療学部・理学療法学科

<sup>2)</sup> がん研有明病院・臨床検査センター・検体検査部

<sup>3)</sup> 国際医療福祉大学・医学部・医学科

<sup>4)</sup> 国際医療福祉大学・成田キャンパス基礎医学研究センター

【目的】線維芽細胞増殖因子 (FGF) の細胞質内に一様に存在し、どのように細胞外に分泌されるのか未だ不明である。McNeilらは、運動負荷によって骨格筋線維は5~30%が常に細胞膜損傷修復を繰り返していることを突き止め、この瞬間に開く膜損傷部からFGFが分泌されるApercyctosis (漏出分泌) を提唱した。また、近年、細胞質が切り取られ分泌される細胞外小胞 (エクソソーム) が報告されている。本研究では細胞膜損傷時に細胞外小胞によってFGFが分泌されるのか、またはApercyctosisによって直接細胞外に分泌されるのか、カルシウムイメージングを用いて検討した。

【結果・考察】培養細胞 (A431, HeLa, C2C12, BS-C-1, Raw264) を用い、ウエスタンブロットを行い、細胞内可溶性タンパク質の検出を行ったところ、細胞内および細胞外損傷液中にFGF (FGF1, 2) が検出され、ライブイメージングでは損傷部からナノレベルの蛍光顆粒の放出が観察された。さらに、大量の培養細胞をシリンドロディングで損傷し、全エクソソーム単離試薬により分泌されたエクソソームを収集した。電子顕微鏡およびクライオ電子顕微鏡を用いて収集されたエクソソームを形態学的に解析したところ、膜を伴った多くの細胞外小胞は検出できなかった。さらにCa1520またはRhod-4を用いて損傷時に引き起こされるカルシウム波を観察した。その結果、損傷細胞からそれに接触する細胞、損傷していない細胞、さらに遠くの非接触細胞へとカルシウム波が広がった。また、損傷液、損傷液から抽出したヘパリン結合タンパク質、rhbFGF、またはrhbFGFを加えたところ、それぞれ約10~60秒でカルシウム波が広がる様子が確認できた。しかしながら、損傷液から抽出した全エクソソーム、IL-6、HGFには反応がなかった。このことは、生体内でも、膜損傷によってFGFなどが分泌され、それらが引き起こすカルシウム波によって損傷状況を他の細胞に伝える細胞外シグナル伝達機構が存在することが考えられた。

【結論】Apercyctosis、つまり細胞膜損傷部より漏出分泌された FGF などの成長因子が、周囲の無損傷の細胞へカルシウム波を伝達することが明らかになった。

### 2

#### 細胞膜損傷修復における膜ダイナミクスの機能

○袴田大輝<sup>1)</sup>、松田武士<sup>1)</sup>、John E. Heuser<sup>2, 3)</sup>、三宅克也<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 国際医療福祉大学成田保健医療福祉学部・理学療法学科

<sup>2)</sup> NIH/NICHD, USA

<sup>3)</sup> 国際医療福祉大学・成田キャンパス基礎医学研究センター

【目的】細胞膜のダイナミクスを担う分子として、DynaminおよびESCRTが知られている。とくにDynaminはエンドサイトーシスの膜切断を担う分子として知られ、他の分子と協働し、小胞輸送、アクチンの安定化、微小管などの細胞骨格制御にも機能することが知られている。また骨格筋線維膜修復時に強く発現するタンパク質としてMG53が知られている。本研究では、細胞膜損傷時のDynamin、ESCRTならびにMG53の動態について観察を行なった。

【方法】培養細胞 (C2C12, BS-C-1) および骨格筋線維に免疫蛍光染色を行いDynaminの局在を観察した。ESCRTおよびMG53については、GFPタグをつけたESCRT I (TSG101)、ESCRT III (GMP48) およびMG53を培養細胞またはマウス骨格筋線維に発現させ、二光子レーザーで損傷後その動態を観察した。

【結果・考察】培養細胞内のダイナミンは主に小胞様構造を呈した。損傷直後の細胞膜にDynaminの強い染色が見られた。このことは細胞内にあった小胞様構造にあったDynaminが修復時に細胞膜に融合したと考えられた。骨格筋のダイナミンの局在は主に筋小胞体またはT細管付近に局在し、Dysferlinと極めて近い局在を示した。Dysferlinは骨格筋の膜修復に必要なタンパクであり、Dynaminも骨格筋線維膜修復時に協働する可能性が考えられた。MG53-GFPは損傷約30秒後に損傷部に集まり、損傷約60秒後に損傷部に最も多く凝集した。また、損傷後長時間観察した結果、MG53は損傷後5分以上損傷部に集積している様子が観察された。膜修復は3秒以内に行われると考えられるため、MG53が膜修復後の細胞膜再構築に関与している可能性が示唆された。一方、損傷部に集積すると報告されているESCRTの活動は全く観察できなかった。

【結論】細胞膜修復における膜ダイナミクスを検討した。膜修復後の細胞膜にDynaminの強い局在が見られた。また骨格筋線維内においてDynaminは、Dysferlin様の局在を呈し膜修復との関連性が強く示唆された。MG53は膜修復後の細胞膜再構築に関与していると思われた。ESCRTについては、膜修復に関与するというこれまでの報告を支持する結果は得られなかった。

### 3

#### 骨格筋線維膜修復に必要な Dysferlin の局在と機能

○松田武士<sup>1)</sup>、袴田大輝<sup>1)</sup>、John E. Heuser<sup>2, 3)</sup>、三宅克也<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 国際医療福祉大学成田保健医療福祉学部・理学療法学科

<sup>2)</sup> NIH/NICHD, USA

<sup>3)</sup> 国際医療福祉大学成田キャンパス基礎医学研究センター

【目的】運動によって5~30%の骨格筋線維が常に傷つき膜修復を行っている。我々はDysferlinを作れない肢体型筋ジストロフィーは細胞膜の修復ができないことを発見した。しかしながら、Dysferlinの詳細な局在とその機能は未だ明らかになっていない。我々は、エレクトロポレーションによりDysferlin-GFPをマウス短趾屈筋に発現させ、高感度レーザー顕微鏡 (GaAsP) でライブイメージングを行った。また、二光子レーザーとFM1-43を用い、小さな孔を開けた際の細胞表面の小胞融合とT細管の関係について詳しい観察を行った。これらの実験に平行し免疫蛍光染色を行い、Airyscan (準超解像モード) および電子顕微鏡によって膜修復に関わるDysferlinの局在の詳細な検討を行った。

【結果・考察】Dysferlin-GFPの動きを観察したところ、Dysferlinが膜損傷部に多くの小胞として集簇する様子が観察された。また、FM1-43を用いた多光子レーザー顕微鏡によりライブイメージングを行ったところ、細胞膜損傷とほぼ同時に、多くの小胞が瞬時に損傷部へ次々と融合する様子が確認された。また、この動きと並行し、免疫染色を行った骨格筋線維を観察したところDysferlinが局在する細胞内器官を明瞭に同定することができなかった。そこで、Airyscanで観察したところ、筋線維膜直下、筋原線維間にある不規則な構造、それらをつなぐ細い細管構造に局在していた。電子顕微鏡像では、そこには筋小胞体と多くの小胞、T細管、ミトコンドリアが存在していた。

【結論】Dysferlinは骨格筋線維の膜修復において、損傷時に細胞内に流入するカルシウムと結合し、T細管、筋小胞体との連携を用い、細胞内に流れ込んだCa<sup>2+</sup>の回収と膜修復のための小胞輸送を行う可能性が考えられた。

### 4

#### 骨細胞のみを含む骨片 (osteocyte-enriched bone fragment, OEBF)

培養系における副甲状腺ホルモンPTHの作用について

○林田 千代美、佐藤 卓也

明海大学歯学部口腔解剖学分野

骨細胞は骨吸収と骨形成のバランスを調節し、骨の恒常性を維持している。骨粗鬆症患者へのPTH製剤の投与は、骨吸収、骨形成の両者を活性化し、netで骨量を増加させる。PTHの骨形成促進機構として、PTHが骨細胞に作用し、骨芽細胞分化抑制因子 sclerostin 産生を抑制することが知られている。骨吸収促進機構として、PTHは骨細胞による破骨細胞形成因子 RANKL 産生を促進し、また RANKL のデコイレプターで破骨細胞形成を抑制する OPG 産生を抑制することが知られている。一方、PTHに応答する他の骨細胞由来因子には不明点が多い。我々は、in vivo に近い状況で骨細胞のみを培養する系として、OEBF (osteocyte-enriched bone fragment) 培養系を開発してきた。今回、本培養系を用い、PTHによって産生調節される骨細胞由来因子の探索を行うこととした。まずOEBFsのPTHへの反応性を調べた結果、PTHは sclerostin 遺伝子 *Sost* 及び *Opg* の mRNA 発現を抑制し、*Rankl* mRNA 発現を促進した。次に、骨髄細胞からの破骨細胞形成系でのOEBFsの作用を調べた。RANKLに依存せずOPGが破骨細胞形成抑制作用を示さないM-CSFによる破骨細胞前駆細胞誘導期に、OEBFsを共存培養しPTHを作用させると、その後RANKLによって誘導される破骨細胞形成が増加した。これらの結果は、OEBFsが in vivo に近いPTH反応性を有することを示唆する。そこでOEBFsにPTHを作用させ、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、PTHが産生を促進する骨細胞由来因子の候補の1つとして、破骨細胞形成促進作用が報告されている *Wnt5a* が見出された。Real-time RT-PCRを用いた検討でも、PTHはOEBFsの *Wnt5a* mRNA 発現を促進した。これらの結果からPTHは、骨細胞に作用し *Wnt5a* 産生を促進し、破骨細胞形成を促進する可能性が考えられた。

## 5

## ラット唾液腺における腺房・導管系と線維芽細胞の関係

○小野澤 豪<sup>1,2</sup>、長坂 新<sup>1</sup>、小笠原 悠大<sup>1,3</sup>、坂東 康彦<sup>1</sup>、崎山 浩司<sup>1</sup>、天野 修<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>明海大学歯学部解剖学分野  
<sup>2</sup>明海大学歯学部顎顔面外科(I)  
<sup>3</sup>明海大学歯学部顎顔面外科(II)

唾液腺組織は比較的厚い疎性結合組織により小葉に区分され、小葉内に腺房、介在部導管、線条部導管などの機能的な上皮性腺組織が存在する。腺房や導管が分泌や再吸収などの機能を発揮するためには、毛細血管や神経系を含む間質（小葉内結合組織）との連携が必須である。しかし、血管や神経の分布については古くから多くの研究がなされているが、結合組織本体の線維芽細胞の分布や、腺房や導管系との関係についてはほとんど分かっていない。本研究では、コラーゲン結合性シャペロンである47kDa熱ショックタンパク質（HSP47）をマーカーとして用い、ラット大唾液腺における線維芽細胞の分布と形態を詳細に調べた。

8週齢のWistar系雄ラットを4%パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定し、耳下腺、顎下腺および舌下腺を摘出した。その後、クライオスタットで10µmの厚さで凍結切片を作成し、抗HSP-47抗体により免疫組織化学的染色を行った。一部の組織は透過型電子顕微鏡での観察も行った。

いずれの腺においても、小葉間結合組織の線維芽細胞は強く染色され、導管を取り巻くように配列していたが、導管細胞と密接な線維芽細胞は比較的少数であった。粘液性の舌下腺では、腺房周囲に小型で細い突起をもつ線維芽細胞が全周を取り巻いていたが、線条部導管の周囲には取り巻く線維芽細胞はほとんど認められなかった。漿液性腺房をもつ顎下腺と耳下腺では、腺房周囲にはとくに密接する線維芽細胞は認められなかったが、介在部導管に沿って、多数の線維芽細胞がまわりつくように存在していた。顎下腺特有の顆粒性導管の周囲には密接する線維芽細胞は少数であった。

以上の結果から、ラット大唾液腺の小葉内結合組織の線維芽細胞の分布には規則性があり、粘液性腺房と、漿液性腺房に接続する介在部導管周囲に特に密接する線維芽細胞が多数存在することが明らかとなった。

## 6

## 胎生期マウスの外側口蓋突起におけるライブ観察法の確立

○長坂 新<sup>1</sup>、崎山 浩司<sup>1</sup>、坂東 康彦<sup>1</sup>、小笠原 悠大<sup>1,2</sup>、小野澤 豪<sup>1,3</sup>、天野 修<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>明海大学歯学部解剖学分野  
<sup>2</sup>明海大学歯学部口腔顔面外科II分野  
<sup>3</sup>明海大学歯学部口腔顔面外科I分野

二次口蓋は、舌をはさむように位置する左右の外側口蓋突起が舌の沈下に伴って水平方向に挙上し、やがて正中部で接着・癒合することによってその形ができあがる。この発生過程のどこかで異常が生じると口蓋裂が発症することになる。マウスを用いた解析によって口蓋裂発症に対する生化学的な理解が進んでいる一方、二次口蓋の正常な発生過程でその組織を構成する細胞がどのような形態変化や動態を示すのかは不明な点が多い。そこで本研究では、口蓋発生過程の中でも特に大規模な組織の変形を伴う「外側口蓋突起の挙上」という現象に着目し、挙上時における細胞の形態・動態を明らかにするため、組織培養を組み合わせたライブイメージング法の確立を目的とした。挙上が起こる胎生13日目のマウス胎仔から外側口蓋突起の冠状面スライスを作製し、コラーゲンゲルを用いてディッシュ上に保持した。そして、生きている状態の細胞を観察するためにCO<sub>2</sub>ガスの供給およびディッシュヒーターによる加温を行い、外側口蓋突起に存在する個々の細胞の形態・動態を観察するために標識色素を用いて核を可視化し共焦点顕微鏡によるライブ観察を行った。

観察条件の探索の結果、組織に存在する細胞の可視化および動態の観察を行うことが出来た。また、観察開始から360分間における組織変形を解析したところ、頬側部分よりも舌側部分の変形の方が大きいことが明らかとなった。今回の方法は標識試薬を用いて簡便に組織内の細胞を可視化し観察することが可能であり、口蓋突起以外の口腔組織でも利用することが出来ると思われる。

## 7

## 変形性顎関節症モデルマウスを用いた硬・軟組織の連動的変化の観察

○廣内英智<sup>1</sup>、石東 徹<sup>1</sup>、内藤 哲<sup>1</sup>、高木 貴博<sup>1</sup>、山本 悠太郎<sup>1</sup>、山本将仁<sup>1</sup>、松永 智<sup>1</sup>、北村 啓<sup>2</sup>、山本 仁<sup>2</sup>、阿部伸一<sup>1</sup>

東京歯科大学 <sup>1</sup>解剖学講座、<sup>2</sup>組織・発生学講座

## 1. 研究目的

変形性顎関節症(TMJ-OA)は、下顎頭をはじめとする顎関節組織が骨変化や破壊を示す進行性病変がある。臨床症状は関節雑音、顎関節痛、開口障害などの主要症候とともに、関節臼板の断裂や穿孔を伴うなど多岐にわたる。近年、組織同士のクロストークが疾患の増悪に関与していることが指摘され、筋疾患の有病者は骨疾患にも罹患していることが明らかになってきた。すなわち TMJ-OA による骨の器質的変化が筋に影響する可能性がある。しかしながら、TMJ-OA 発症時の筋の病態については不明な点が残されている。そこで本研究では TMJ-OA 発症時の骨ならびに筋の病態について検索を試みた。

## 2. 研究方法

試料として C57BL6J マウスを用いた。変形性顎関節症モデルマウス作出のため、顎関節の関節臼板部分切除術を行った。深麻酔後、マウス耳前部に切開を加え左側顎関節へと到達し、関節臼板を部分切除後、ナイロン糸にて閉鎖した。TMJ-OA 発症後 8,12,16 週をそれぞれ別の群に分け、各種計測を行った。なお、この研究は東京歯科大学動物実験委員会承認を得て行った(承認番号 190104)。

## 3. 研究成績および結論

TMJ-OA マウスとノーマルマウスの下顎頭の形態を比較すると、TMJ-OA 群の下顎頭の体積は有意に増加した。また側頭筋の形態変化を観察したところ、ノーマル群と比較すると TMJ-OA 群の側頭筋は大きく変形した。しかしながら、術後 8,12,16 週の 3 群で比較したところ、下顎頭、側頭筋ともに有意な差は認められなかった。すなわち TMJ-OA の術後経過には個体差があることが明らかになった。そこで我々は、下顎頭の肥大の程度が側頭筋の変化に影響するのではないかと仮説を立て、骨と筋の相関分析を行った。その結果、下顎頭の肥大ともない、側頭筋の変形も大きくなることがわかった。また、手術群全体の 25% に側頭筋と咬筋の癒着が観察された。本研究により、骨と筋の器質的変化は互いに影響を及ぼしながら、TMJ-OA が進行していくことが明らかになった。

## 8

## iPS 細胞由来 GFP 標識ドパミン神経細胞の光顕-電顕相関観察

○横田睦美<sup>1</sup>、角田宗一郎<sup>2</sup>、志賀孝宏<sup>3</sup>、石川景一<sup>3,4</sup>、服部信孝<sup>4</sup>、赤松和土<sup>3</sup>、小池正人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>順大・医・神経生物、<sup>2</sup>順大・形態解析、<sup>3</sup>順大・ゲノム再生、<sup>4</sup>順大・医・脳神経内科

パーキンソン病は中脳黒質におけるドパミン神経の変性を特徴とする神経変性疾患である。家族性パーキンソン病の原因遺伝子の一つである *PARK2* は、ミトコンドリアの品質管理（良質なミトコンドリアを維持する機構）に関与している。病態発症の要因としてこのミトコンドリアの品質管理の破綻による損傷ミトコンドリアの蓄積が示唆されているが、ドパミン神経特異的な細胞死の機序については不明な点が多い。

我々はドパミン神経特異的に発現する Tyrosine Hydroxylase (TH) 遺伝子に CRISPR/Cas9 システムによる GFP 遺伝子のノックインを行い、ドパミン神経特異的に GFP を発現する (TH-GFP) 健常者及び *PARK2* 変異患者 iPS 細胞株の作出に成功した。これらの TH-GFP iPS 細胞株から分化誘導を行った GFP 発現ドパミン神経細胞についてライブイメージングや光顕-電顕相関観察を行い、GFP 陽性ドパミン神経と GFP 陰性細胞の比較解析を行った。本学術集会では、健常者と *PARK2* 変異患者についてドパミン神経細胞特異的に認められたミトコンドリアの形態的特徴とミトコンドリア膜電位について報告する。

## 9

## マウス大脳新皮質錐体細胞との比較による海馬 CA1 錐体細胞の移動制御要因の解明

○北澤 彩子、シン ミンギョン、大石 康二、吉永 怜史、林 周宏、久保 健一郎、仲嶋 一範  
 慶應義塾大学 医学部 解剖学教室

脳の発生過程において興奮性神経細胞である錐体細胞は生まれた場所から目的の場所まで移動する。錐体細胞は大脳新皮質、海馬、扁桃体領域などに多く存在し、例えば、脳室面付近で発生したマウス大脳新皮質の錐体細胞は、段階的に移動様式を変化させながら目的の場所へ移動し、特に皮質板領域を移動する際には、放射状グリア線維を足場とするロコモーションと言われる移動様式によって長距離を素早く移動することが知られている。この細胞移動の過程に異常が生じると、ヒトやげっ歯類などの高次脳機能に影響することが示唆されている。

以前発表者も、マウスの発生過程において、海馬 CA1 領域における錐体細胞の移動形態が、大脳新皮質錐体細胞とは異なることを発見し、クライミングモードと命名した (Kitazawa et al., *J. Neurosci.*, 2014)。海馬はシナプス形成や回路研究等の生理学的研究において盛んに研究されているものの、正常発生時の細胞移動機構についての研究は少なかった。しかし、CA1 錐体細胞も脳室面付近で生まれ、放射状グリア線維を利用して目的の場所まで移動することが知られており、また、接着因子に関係するタンパク質の類似性などから、大脳新皮質の錐体細胞と区別無く扱われることが多い。発表者も、タイムラプス解析などによりクライミングモードを詳細に観察した際には、移動形態こそ違え両者の移動を制御する機構は共通ではないかとの印象を持っていた。顕微鏡や電子顕微鏡などによる観察結果では、移動場所の細胞密度が異なっていたことから、物理的な環境の違いが要因ではないかとの仮説を立てたが、続く異所移植、及び足場である放射状グリア細胞との共培養の結果においては、周囲の環境ではない所にそれぞれを特徴づける要因があるとの結論をえた。本研究では、類似性が指摘される大脳新皮質ロコモーションとの比較を通して、クライミングモードを特徴付ける要因や遺伝子について検討した結果について発表する。

## 10

## 大殿筋停止構造の解剖学的特徴

○姉帯飛高、市村浩一郎、坂井建雄

順天堂大学医学部解剖学・生体構造科学講座

緒言：大殿筋は強力な股関節伸筋であり、ヒトの直立二足歩行において重要な役割を担っている。しかし、大殿筋の大半の線維は大腿骨の股筋粗面ではなく腸脛靭帯に停止するとされており、これは大殿筋が強力な股関節伸張作用を有することと矛盾する。本研究の目的は、大殿筋の筋構造、特に停止構造を再精査し、その機能について検討することである。

材料と方法：順天堂大学解剖学実習に供された実習体 49 体 50 肢において、大殿筋を骨格から取り外し、起始端から停止端までの筋構造を肉眼解剖学的に解析した。結果：大殿筋の筋束は概ね平行に配列され、外側下方へ向かって斜走しており、上部 2/3 では強靭な停止腱を形成していた。この停止腱は急激に下行し、大腿骨の股筋粗面に停止する。停止腱外側浅層の一部の線維は、腸骨稜から下行してきた腸脛靭帯の後部と結合するが、この部分はそのまま外側大腿筋間隔となつて大腿骨に至る。一方で大殿筋下部 1/3 は、上部由来の停止腱ならびに外側大腿筋間隔の内側後面に筋性に停止していた。

結論：大殿筋は上部 2/3 の主要部と、下部 1/3 の副部の 2 部に区分することができ、主要部は大腿骨に直接的かつ強力に作用する形態である。

## 11 胸腰椎数の変化と腰仙骨神経叢成分の関係-ブタ胎仔標本を用いた観察-

○坂本雅貴<sup>1</sup>, 時田幸之輔<sup>2</sup>, 小島龍平<sup>2</sup>

1) 埼玉医科大学大学院 医学研究科 医学専攻 理学療法学分野  
2) 埼玉医科大学 保健医療学部 理学療法学科

緒言:ブタの胸腰椎数には多くの変異を認める。胸腰椎数の変化により腰仙骨神経叢の形態はどのような影響を受けるのかわからなくするためにブタ胎仔標本を用いて内視鏡学的に観察を行った。

方法:ブタ胎仔標本(Bio Corporation 社)7体7個を用いて、腰仙骨神経叢由来の各神経の起始分節、走行経路、分布を観察した。観察対象は以下の神経である。尾下節の脊髄神経根枝外側皮枝(Rc), 腹直筋支配神経(Rna), 外側大腿皮神経(CFL), 閉眼神経(O), 大腿神経(P), 腰仙骨神経根(T), 坐骨神経(L), 陰部神経(P)

ブタ胎仔では仙椎骨は癒合していない。仙椎骨の椎間板が腰椎骨や尾椎骨の椎間板に比較して薄いことを用いて、仙椎と腰椎・尾椎の区別を行った。

結果:胸腰椎数の組合せは①胸腰椎数 21(胸椎 14 腰椎 7), ②胸腰椎数 22(胸椎 14 腰椎 8), ③胸腰椎数 23(胸椎 16 腰椎 7)であった。仙椎は5個と一定であった。

各胸腰椎数における腰仙骨神経叢由来の各神経の起始分節(C1 から数える)を比較する

Rel21 群 25+26, 22 群 25+26, 23 群 26

Rna21 群 25, 22 群 25+26, 23 群 26+27

CFL21 群 26+27, 22 群 27+28, 23 群 28

O21 群 27+28+29, 22 群 27+28+29, 23 群 28+29+30

F21 群 28+29, 22 群 27+28+29, 23 群 28+29+30

Tr21 群 28+29, 22 群 29+30, 23 群 30+31

L21 群 28+29+30+31, 22 群 29+30+31, 23 群 30+31+32+33

P21 群 31+32, 22 群 32, 23 群 33+34 であった。

胸腰椎数の増加とともに、Rna 以下の腰仙骨神経叢の各神経の起始分節は尾側方向へずれていた。

また、Tr 起始分節は、第一仙骨神経(S1)から1~2分節頭側に位置していた。O・F 起始分節は最頭側のTr 起始分節から1~2分節頭側に位置していた。坐骨神経の最尾側の分節はS1より1~2分節尾側に位置していた。このように下肢筋へ分布する各神経の起始分節はS1からほぼ一定の範囲の分節から起始していた。

考察:胸腰椎数の増加と腰仙骨神経叢由来の各神経の起始分節の尾側へのずれは関係した変異であると考えたい。前述の変異が生じるにも関わらず、下肢筋へ分布する各神経の起始分節はS1から一定の範囲の分節より起始していたことから、仙椎骨の形成位置決定(S1 の位置決定)と下肢筋へ分布する神経の形態形成は関連することが示唆された。

## 12 小脳神経系におけるゴルジ体酸性環境の重要性

○曾高 友深、小池 正人

順天堂大学大学院神経生物学形態学講座

新核生物の細胞内には脂質二重膜で囲まれたコンパートメントであるオルガネラが存在する。オルガネラの多くはダイナミックな膜動態(小胞輸送)による物質交換を行うことで、その固有環境を保持している。小胞輸送経路のうち、分泌経路やエンドサイトーシス経路に位置するオルガネラは酸性オルガネラと総称され、その内腔を細胞質より低いpHに保持している。酸性オルガネラの内、エンドソーム・リソソームの酸性環境と疾患の相関性が古くから解析されてきたのに比べ、ゴルジ体に関してはその酸性環境に焦点を当てた研究は希少であった。これは、ゴルジ体の酸性環境のみを特異的に制御する術が無かったことが考えられる。一方で、ゴルジ体の酸性環境不全はその特徴的な形態を劇的に変化させる。そして、酸性環境不全に起因したゴルジ体の形態変化は疾患病巣部の細胞において観察される形態に類似していることが報告され、疾患とゴルジ体変性の関連が注目されている。そこで、我々は以前に同定したゴルジ体内腔の酸性化に寄与する分子、GPHR(Golgi pH regulator)の遺伝子改変マウスを用いて、特異組織におけるゴルジ体内腔酸性環境のみを不活化した手法を樹立した。そして、神経細胞内における神経伝達物質受容体やシナプス構成因子などの軸索・樹状突起への厳密な極性輸送など、神経細胞の機能維持においてゴルジ体が担う役割が重大であることを考え合わせ、小脳神経系特異的GPHR欠損マウスを作製・解析した。本学術集会では小脳神経系特異的GPHR欠損マウスの表現型解析および小脳神経回路形成・維持におけるゴルジ体酸性環境の重要性について発表する。

## 13 新規内包脱髄マウスモデルの開発

○山崎 礼二<sup>1,2</sup>, ジェフリー ハング<sup>1</sup>, 大野 伸彦<sup>2</sup>

1. ジョージタウン大学生物学部  
2. 自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門

多発性硬化症は中枢神経系の髄鞘(ミエリン)が脱落(脱髄)することにより、運動麻痺や感覚障害を引き起こされる難治性脱髄性疾患である。その患者数は本邦でも年々増加しており、全世界で250万人にもものぼるが、現在再ミエリン化を促進させる治療法は開発されていない。そのため、脱髄マウスモデルを使用した治療法の開発研究が盛んに行われている。しかしながら、現在使用されている脱髄マウスモデルでは、脱髄に伴う運動機能障害後の回復過程を再現性良く評価することは困難であった。そこで、我々は四肢の運動を制御する皮質脊髄路の主要経路である内包白質を局所的に脱髄させることで、既存の問題点を解決できると考えた。

まずはじめに脱髄誘導剤であるリゾレシチンを脳定位固定装置を用いてマウスの内包に投与した。その結果、リゾレシチン投与7日後には内包の局所脱髄により、半身麻痺を引き起こされることが明らかになった。その後、徐々に運動機能が回復し、リゾレシチン投与28日後にはPBS投与群と同レベルまで運動機能が回復することが明らかになった。さらに、内包脱髄マウスの詳細な組織解析を行ったところ、運動機能障害が見られるリゾレシチン投与7日後には大きな脱髄や炎症、軸索障害が観察されるのに対し、投与28日後には運動機能の回復と共に再ミエリン化が誘導され、炎症および軸索障害の軽減が見られることが明らかになった。本脱髄モデルの開発により、運動機能障害時から再生に伴う運動機能回復を解析できるようになり、新たな治療法開発において有効な薬剤評価が可能となることが期待される。

## 14 視覚遮断に応じたオリゴデンドロサイト形態変化の解析

○長内康幸<sup>1</sup>, 山崎 礼二<sup>1</sup>, 幸喜 富<sup>1</sup>, 矢田部 恵<sup>1</sup>, 山本 真理子<sup>2</sup>, 吉村 由美子<sup>2</sup>, 篠原 良章<sup>1</sup>, 大野 伸彦<sup>1,3</sup>

1. 自治医科大学 医学部 解剖学講座 組織学部門  
2. 生理学研究所 視覚情報処理研究部門  
3. 生理学研究所 超微形態研究部門

幼児期には外界からの刺激に応じて神経回路がダイナミックに変化する時期がある。この時期は臨界期と呼ばれ視覚臨界期に十分な視覚刺激を受けなければ生涯にわたり障害が残ることが知られている。しかし長期間にわたる視覚障害が起こるメカニズムは不明である。我々は視神経に髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトの異常が視覚障害の原因ではないかと仮説を立てた。離乳前のマウスの眼瞼を縫合する閉眼遮蔽法を用いて、オリゴデンドロサイトの形態が異常になるか解析を行った。従来オリゴデンドロサイトの形態を観察することは困難であったが、我々は弱毒性狂犬病ウイルスを用いた単一オリゴデンドロサイト標識法を開発し閉眼遮蔽マウス視覚伝導路のオリゴデンドロサイト形態を観察した。その結果、閉眼遮蔽をしたオリゴデンドロサイトが形成する髄鞘は短くなるのが明らかになった。また電子顕微鏡を用いた髄鞘の形態観察を行ったところ、興味深いことに、視神経において髄鞘の厚みは正常に近いが、視交叉以降において髄鞘の厚みが薄くなることが示された。以上の結果から閉眼遮蔽下においてはオリゴデンドロサイトの形態が異常になり、これが視覚障害の一因になる可能性が示された。今後はこのオリゴデンドロサイト形態の異常が閉眼遮蔽から開眼後も続くかを検討する。本研究により臨界期の刺激欠如が視覚障害を引き起こすメカニズムの一端が解明されると期待される。

## 15 Developmental changes in dendritic spine morphology in the striatum and their alteration in an A53T $\alpha$ -synuclein transgenic mouse model of Parkinson's disease

Laxmi Kumar Parajuli<sup>1</sup>, Ken Wako<sup>1</sup>, Suiki Maruo<sup>1</sup>, Soichiro Kakuta<sup>2,3</sup>, Tomoyuki Taguchi<sup>4</sup>, Masashi Ikuno<sup>4</sup>, Hodaka Yamakado<sup>4</sup>, Ryosuke Takahashi<sup>4</sup> and Masato Koike<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Cell Biology and Neuroscience, Juntendo University Graduate School of Medicine,

<sup>2</sup>Department of Cellular and Molecular Neuropathology, Juntendo University Graduate School of Medicine,

<sup>3</sup>Laboratory of Morphology and Image Analysis, Research Support Center, Juntendo University Graduate School of Medicine,

<sup>4</sup>Department of Neurology, Kyoto University Graduate School of Medicine,

<sup>5</sup>Advanced Research Institute for Health Science, Juntendo University,

The aging process is accompanied by various neurophysiological changes, and the severity of neurodegenerative disorders such as Parkinson's disease (PD) increases with aging. However, the precise neuroanatomical changes that accompany the aging process in both normal and pathologic conditions remain unknown. This is in part because there is a lack of high-resolution imaging tool that has the capacity to image a desired volume of neurons in a high-throughput and automated manner. In the present study, focused ion beam/scanning electron microscopy (FIB/SEM) was used to image striatal neuropil in both wild-type (WT) mice and an A53T bacterial artificial chromosome (BAC) human  $\alpha$ -synuclein (A53T-BAC-SNCA) transgenic (Tg) mouse model of PD, at 1, 3, 6, and 22 months of age. We demonstrated that spine density gradually decreases, and average spine head volume gradually increases with age in WT mice, suggesting a homeostatic balance between spine head volume and spine density. However, this inverse relationship between spine head volume and spine density was not observed in A53T-BAC-SNCA Tg mice. Taken together, our data suggest that PD is accompanied by an abnormality in the mechanisms that control synapse growth and maturity.

## 16 Unique synaptic topography of crest-type synapses in the interpeduncular nucleus

Laxmi Kumar Parajuli<sup>1</sup>, Ken Wako<sup>1</sup>, Suiki Maruo<sup>1</sup>, Soichiro Kakuta<sup>1,2</sup>, Masato Koike<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Department of Cell Biology and Neuroscience, Juntendo University Graduate School of Medicine, Tokyo, 113-8421, Japan

<sup>2</sup> Department of Cellular and Molecular Neuropathology, Juntendo University Graduate School of Medicine, Tokyo, 113-8421, Japan

<sup>3</sup> Laboratory of Morphology and Image Analysis, Research Support Center, Juntendo University Graduate School of Medicine, Tokyo, 113-8421, Japan

<sup>4</sup> Advanced Research Institute for Health Science, Juntendo University, Tokyo, 113-8421, Japan

Neurons in the central nervous system display a great diversity of synaptic architecture. While much of our knowledge on the excitatory synapse morphology derives from the prototypical asymmetric synapses, little has been studied about the atypical crest-type synapse that exists in the restricted brain regions. Here, we used focused ion beam scanning electron microscopy (FIB/SEM) to image a neuropil volume of interpeduncular nucleus (IPN) and manually reconstructed several dendrites to obtain an insight about the topography and quantitative features of crest synapses. Three-dimensional reconstruction showed numerous U-shaped structures protruding from the IPN dendrites. On either faces of the U-shaped structure, a pair of crest synapses are aligned in parallel such that there exists a positive correlation between the postsynaptic density (PSD) area of synapses that participate in pair formation. Interestingly, mitochondria are excluded from the site of crest synapses. Several presynaptic axons run through the hollow, cylindrical space of the U-shape grooves such that the plasma membrane of the axon and the dendrite are organized in a tight opposition without any intervening glial membrane. Unlike the peculiar dendritic morphology, IPN neurons possess typical somatic morphology with an oval, centrally located nucleus. In conclusion, our data reveals a hitherto unknown unique topographical feature of crest synapses in the IPN.

## 17 生後環境が海馬 CA1 領域に及ぼす生理学・形態学的変化

○篠原良章<sup>1</sup> 大野伸彦<sup>1</sup> 平瀬肇<sup>2</sup>

1 自治医科大学解剖学組織学部門

2 Center for Translational Neuromedicine, University of Copenhagen

生後の環境は動物の脳の状態に大きな影響を与える。マウスやラットを豊かな環境 (ENR) で飼育すると学習能力が上がり、様々な脳の疾患にも耐性がつくといわれている。一方、逆に動物を生後隔離環境 (ISO) で飼育すると自閉症や鬱に近い行動を示すとされる。しかし、環境依存的に神経細胞の集団活動をモニターする脳波測定で生後の環境への影響を見た論文はほとんどなかった。

そこでラットを離乳後に ENR と ISO 環境のどちらかで飼育し、4 週間後に海馬 CA1 からシナプス入力を反映するとされる  $\gamma$  波を測定した。測定位置は CA3 からの投射を受ける海馬 CA1 頂上層である。すると 1) ISO に比して ENR では左右の  $\gamma$  波振幅が増大し 2) ENR では右  $\gamma$  活動が左海馬 CA1 より有意に大きくなり 3) ENR では右海馬 CA1 錐体細胞シナプス数が左より 2 倍近く多くなった。一方、ISO では  $\gamma$  活動もシナプス数も左右で差がなかった。4) また、ENR では左右の  $\gamma$  活動の協調活動も増大した。

次に、この ISO と ENR の活動が永続的であるかどうかを ISO/ENR で 6 週間飼育のラットで測定したところ、左右の  $\gamma$  活動の差は減少し、ISO での  $\gamma$  活動が ENR に追いついた。また、ISO と ENR 環境で順番に 3 週間ずつ飼育した場合 (ISO→ENR, ENR→ISO) では、あまり両者の  $\gamma$  活動に差がなかった。つまり、離乳後 6 週間の長期飼育では ISO/ENR 間、左右海馬間の差が縮小した。ENR 飼育は若齢期のラットの右海馬選択的に、 $\gamma$  振幅増大を促すことになる。

さらに、海馬 CA1 が嗅内皮質から投射を受ける網状分子層でも  $\gamma$  波活動を測定した。すると、離乳後初期 (3 週間) の飼育環境が  $\gamma$  活動に与える影響は頂上層より長く続き、6 週間の時点でも ISO/ENR 間に差が生じていることが分かった。つまり、 $\gamma$  活動の時間的な影響は CA1 領域が投射を受けている領域に依存する。

## 18 Overlapping Projections of Neighboring Direct and Indirect Pathway Neostriatal Neurons to Globus Pallidus External Segment

岡本慎一郎<sup>1</sup>、孫在隣<sup>2</sup>、田中琢真<sup>3</sup>、高橋慧<sup>1</sup>、石田葉子<sup>1</sup>、山内健太<sup>1</sup>、古田貴寛<sup>4</sup>、小池正人<sup>1</sup>、藤山文乃<sup>4</sup>、○日置寛之

<sup>1</sup>順天堂大学医学部神経生物学・形態学講座、<sup>2</sup>生理学研究所大脳神経回路論研究部門、<sup>3</sup>滋賀大学大学院データサイエンス研究科、<sup>4</sup>大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座、<sup>5</sup>北海道大学大学院医学研究科組織細胞学教室

Indirect pathway medium-sized spiny neurons (iMSNs) in the neostriatum are well known to project to the external segment of the globus pallidus (GPe). Although direct MSNs (dMSNs) also send axon collaterals to the GPe, it remains unclear how dMSNs and iMSNs converge within the GPe. Here, we selectively labeled neighboring dMSNs and iMSNs with green and red fluorescent proteins using an adeno-associated virus vector developed in this study and examined axonal projections of dMSNs and iMSNs to the GPe in mice. Both dMSNs and iMSNs formed two axonal arborizations displaying topographical projections in the dorsoventral and mediolateral planes. iMSNs displayed a wider and denser axon distribution, which included that of dMSNs. Density peaks of dMSN and iMSN axons almost overlapped, revealing convergence of dMSN axons in the center of iMSN projection fields. These overlapping projections suggest that dMSNs and iMSNs may work cooperatively via interactions within the GPe.