

日本解剖学会

第76回九州支部学術集会

会期：令和2年10月24日（土）

会場：Web開催（Zoom）

SL-1 細胞微小環境の時空間解剖

太田 啓介
久留米大学 医学部 先端イメージング研究センター

細胞内小器官をはじめとする細胞内の微小環境は電子顕微鏡の発達とともにその構造が明らかになってきた。しかし、それらが細胞内でどのように三次元的な広がりを持つのかはまだ十分に把握されていない。細胞の微小環境すなわち分子が形へつらなるメソスケールは、多くの生命現象の場となるものの、二次元的な電子顕微鏡観察では理解が困難な場合が多く、今後、三次元的な解析が重要になると考えている。例えば、微絨毛を支えるアクチンバンドルは、数十本のアクチンが平行に配列していると考えられてきた。ところが電子線トモグラフィー法によりフィラメントの走行解析をすると、アクチンは実際には螺旋状に配列していることが確かめられた (JSB, 2012)。その機能的意味もあるのだが、螺旋配列を頭に浮かべて改めて微絨毛の縦断面 TEM 像を観察すると、そこにはそれを示唆するフィラメントの位相のズレが写り込んでいることに気がつく。写っているにも関わらず気が付かない。空間的な解析で初めて気がつく事実である。長らく解析が困難であったこのメソスケールも、前述の電子線トモグラフィー法や収束イオンビーム搭載型走査電子顕微鏡 (FIB-SEM tomography) の発達によりついに解析が可能となってきた。我々はこれらの手法を用いて細胞の真の構造の理解を目指して取り組んできた。また近年、これらの手法に光学顕微鏡での Live Imaging を組み合わせた相関顕微鏡法 (CLEM) を開発し、細胞の時空間における構造と機能との関係性に踏み込むようになってきた (Sci Rep, Miyazono 2018)。これらの取り組みを振り返り生体環境の時空間的解剖の展望について考察する。

SL-2 新型コロナウイルスに対する抗ウイルス薬について

馬場 昌範
鹿児島大学 ヒトレトロウイルス学共同研究センター
抗ウイルス化学療法研究分野

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の感染による COVID-19 の世界的な蔓延は人類の存在を脅かす重大な脅威である。現在、SARS-CoV-2 感染に対するワクチンが開発中であり、臨床試験が行われているが、その効果は未知数である。一方、治療薬は現時点で抗エボラ薬から転用されたレムデシビルが認可されているが、それ以外にも別の用途で開発された既存の薬剤の中から、COVID-19 の治療に転用しようとする動きがある。しかし、これらの薬剤は SARS-CoV-2 に対して必ずしも「最適化」されている訳ではなく、通常の投与量では効果が不十分ことや、副作用の問題などを解決する必要がある。SARS-CoV-2 に特異的な新規抗ウイルス薬の開発が待ち望まれている。

研究室ではこれまでに、マダニ媒介の致死性ウイルス感染症である重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の原因ウイルスである SFTSV、そして米国の研究機関との国際共同研究によりエボラウイルスの両方に対し、試験管内で強い抗ウイルス効果を有しているアモジアキシン誘導体を同定することに成功した。さらに、一部のアモジアキシン誘導体は SARS-CoV-2 に対しても、比較的強い抗ウイルス効果を有していることが分かった。また、以前に C 型ウイルス肝炎の治療薬として研究開発を進めていたフェナンスリジン誘導体の一部についても、強い抗 SARS-CoV-2 効果を認めている。

そこで今回は、我々の研究成果を交えながら、現在 COVID-19 に対する治療効果が期待されている薬剤について解説したい。

PD1-1 長崎大学医学部における COVID-19 に対応した解剖学実習実施について

○高村敬子^{1,2}, 佐伯和信¹, 遠藤大輔¹, 村井清人¹, 岡本圭史¹, 弦本敏行^{1,2}

¹長崎大学生命医科学域肉眼解剖学分野 ²長崎大学医学部 CST センター

2020年1月16日に国内初のCOVID-19陽性患者が確認されて以来、この新しい感染症はいまだ終息が見えず、教育を行う機関としては対応に苦慮することが多い。長崎大学医学部では、本年前期に第2学年の解剖学実習を終了した。今後解剖学実習を行われる他大学の参考になればと考え、我々が実際に行った解剖学実習への対応を報告させて頂く。

本学部では通常は4月から7月上旬まで計30回行いが、本年は大学本部で決定した感染対策に従い、実習は6月からの開始となり、計18回に組み直した。5月まではオンラインで実習手順スライドを配布し、学生に対して予習の充実を図った。また予習状況を確認するため、オンラインで提出させた。実習時間は例年13時から18時までのところ、本年は16時までに短縮した。更に、大学の実習実施基準(実習室の床面積+学生人数が4平米以上)に従って学生125名がローテーションで参加する形をとり、各回90名で行った。ところが、7月3日に大病院実習生に陽性患者が出たことで対面授業ならびに実習が不可となり、残り6回を残して解剖学実習は終了を余儀なくされた。結果的には本年度の実習は例年の1/3程しか行うことが出来なかった。納棺については学生からの強い希望もあったので、医学部長と相談した上で、分散して執り行った。本年度に実施出来なかった実習内容については、第4学年で行う解剖学実習で少しでも補うことを検討している。

未知の感染症の流行下に行う充実した解剖学実習のあり方について、今後も更なる検討が必要であると考えられた。【開示すべきCOIなし】

PD1-2 新型コロナウイルス時代の系統解剖学実習：産業医科大学の取り組み

○林 春樹, 安達泰弘, 東 華岳
産業医科大学 医学部 第1解剖学講座

今年2月以来、新型コロナウイルス感染症の発生に伴い、医学教育、解剖教育に大きな影響を受けている。産業医科大学では医学科2年次学生の系統解剖学実習は4月から6月までの間に実施する予定であった。ところが3月後半より新型コロナウイルス感染拡大の影響で、学生の大学構内への入構を禁止した。急ぎ後期に予定されている神経解剖学の講義を変更して4月よりZoomを用いた遠隔講義を実施した。系統解剖学実習は6月までに延期した。5月末からは北九州市が新型コロナウイルスの感染再拡大(第2波)が確認され、系統解剖学実習は余儀なく再延長となった。7月からは新型コロナウイルスの感染状況は落ち着き、系統解剖学実習は7月27日からスタートした。新型コロナウイルス感染防止策を徹底しながら、半分の人数、短期間・集中型の形で実施し、9月2日に無事終了することができた。実習の日程は、納棺を含めて当初の30回が25回になり、午前と午後の予定をそれぞれ半数の学生がローテーションで交替して逐次的に進めた。実質24回の予定のうち12回は解剖しない部位があり、次年度以降のカリキュラムの中で可能な限り補うなどの対策が課題として残った。今回のコロナ禍での系統解剖学実習の経験を日本解剖学会九州支部の皆様へ情報共有として報告する。【開示すべきCOIなし】

PD1-3 新型コロナウイルスパンデミック期間における系統解剖学実習の取り組み

○渡部功一¹, 田平陽子¹, 范 綾¹, 山下明浩¹, 嵯峨 聖², 菊地慶士郎³, 能間国光³
1.久留米大学医学部解剖学講座(肉眼・臨床解剖部門)
2.久留米大学医学部看護学科, 3.久留米大学大学院医学研究科博士課程

久留米大学医学部では例年第2学年の4月から7月中旬の13週間で系統解剖学実習を行っていた。本年度は新型コロナウイルスパンデミックによる緊急事態宣言によって、4月1日から5月31日まで出校禁止となった。このため、系統解剖学実習は、6月8日から7月17日までの6週間で9月14日から10月1日までの3週間の計9週で行った。4月と5月の出校禁止期間は、moodle というオンライン学習システムを使用して、実際の解剖学実習で行うスケッチ(計36課題)とマルチプルチョイス形式の問題(週10-20問程度)を行った。系統解剖学実習再開後は、学生にマスク、フェイスシールドを着用させた上でアルコール手指消毒剤を常備して感染予防を行った。また、三密を避けるため更衣室の時間差の使用や実習班を減らした上で班員を半分に分け、実習時間の前半と後半で片側ずつ解剖を行い、対面になることを出来る限り防止した。

実習時間の大幅な縮小および実習班を半分に分けて実習を行ったために、従来と比べて十分な解剖のための時間は取れなかったが、実習中では中だるみせず集中して解剖する様子が見られた。また逆にフェイスシールドのくもりや更衣室の利用など実習開始時の思惑通りに行かなかった事柄も多数見受けられた。抄録作成時はまだ系統解剖学実習は開催中であるが、終了時にアンケートを取り、本年度の実習について総括する予定である。【開示すべきCOIなし】

PD1-4 新型コロナウイルス感染症下における肉眼解剖学教育の試み

○福田 孝一、重松直樹、江角重行、宮本雄太、熊谷芳宏、木庭義和

熊本大学大学院生命科学研究所(医学系)形態構築学講座

新型コロナウイルス感染症は、現時点(2020年9月)では依然として終息の目処が立たず、かつ有効な治療薬やワクチン開発には至っていない。その中で、医学教育の根幹をしめる解剖学教育では、実際のご遺体を用いる実習が不可欠であるが、実習に伴う密集・密接状態を避けて行うことには大きな困難がある。熊本大学では前期に行う肉眼解剖学実習を後期に延期し、9月15日から開始した。以下の感染対策を実施している。まず日常生活における感染予防が何よりも大事であるとの観点から、医学科全体で学生に呼びかけている注意を再確認させ、毎日の健康チェックシートの記録、建物内でのマスク着用と講義室での座席固定(QRコード読み取り)、手指消毒の励行などを行わせている。更衣室入室時に手指消毒を行わせ、実習室では不織布マスクと手袋の義務化に加えて、フェイスシールドを全員に配布し着用させた。実習に伴う学生同士の discussion は教育上大切なことなので、局所排気装置付き実習台の内部に向かう位置で、実習に必要な会話は制限なく行わせている。局所排気の風量を測定すると以前より低下していたので、機械室のフィルターを洗浄・交換し、また劣化して伸びていた回転ベルトを取り替えて風量の回復を行った。更衣室とシンクでの密集を避けるために、全体を6グループに分け、5分ずつずらして使用させている。実習時間を例年より短縮し、終了時刻も固定化するともに、実習前の解説は講義室であらかじめ行うことで、実習室滞在時間の削減を行っている。後期へ移動したタイトなカリキュラムでは、全体を2グループに分けての実習が困難なため、例年通り各班4名での実習を行っている。以上の方策により継続している実習の状況や問題点を発表する予定である。

PD2-1 2020年 初めて取り組んだオンラインライブ組織学実習

○城戸瑞穂¹、西山めぐみ¹、吉本怜子¹、本田裕子¹、澤田孟志¹、内野勉¹、村田祐造¹、河野史²

¹佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学分野

²医学部 看護形態機能学領域

組織学実習では、細胞の形を認識し、組織の成り立ちを時間をかけて理解し、みる力そして違いを見抜く力を培うことが求められている。例年、顕微鏡像を楽しみながら造形の妙に感じ入ったり、制する教員の言葉によき、こっそり(のつもりで)スマホの中の先輩のスケッチをもとにやや珍妙な絵をそこそこ仕上げ、部活へと出る気持ちを抑えている学生さんたちと、空間や時間を共有し、それぞれのペースに合わせながら実施して来た。今年は、こうした景色が一変した。

本学では例年、浜松ホトニクス社のバーチャルスライドスキャナで撮像した画像データと画像閲覧ソフトウェアを用い、実習室のイントラネットの下で実習を実施してきた。今年は、初めて実習室ではない場所、つまり学生は各自の部屋から、オンラインで画像配信ソフトウェア NDP.Serve3 に接続し、同時に Microsoft Teams のライブ接続で解説や質問を共有しながら実習時間を過ごした。スケッチは pdf ファイルとして Moodle 上に提出するシステムを構築した。幸いなことに無事に実習期間を終えることができた。文字通り寝る時間を削って対応してくれたスタッフや関係各位の支援、学生たちの努力と協力に心から感謝している。

どのようにして誰も置き去りにしない、公平な教育を提供することができるのか、公正な評価とはどのようなものか、こうした経験を通して、新たな観点から教育のあり方を考える貴重な機会を得たと考えている。多くの先生方と、これまでのあり方を振り返りながら、これからの教育を考える機会となれば幸いです。【開示すべき COI なし】

PD2-2 COVID-19 下でのオンライン組織学実習への取り組み

○三井 薫^{1,2,3}、伊地知 暢広^{1,2}、井手 佳菜子¹、小賤 健一郎^{1,2,3,4}

¹鹿児島大学 遺伝子治療・再生医学、²同 革新的治療開発研究センター、

³同 南九州先端医療開発センター、⁴同 探索的医療開発センター

新型コロナウイルス感染症の拡大に伴い、大学機関は教育・研究活動ともに、大きな影響を受けた。鹿児島大学では、通常より遅い4月20日からの授業開始となり、また授業は原則「遠隔授業」にての実施が通達され、対面授業が不可能な状態となった。

我がが担当する組織学の講義および実習の授業である「解剖学 I」においても、授業時間の縮小と遠隔授業の実施により、当初の授業計画の急な変更を余儀なくされた。例年、顕微鏡下での組織スライド観察を中心に実習を実施してきたが、今年度は顕微鏡実習が不可能な状態となり、新しい試みとして Web 上でのバーチャルスライドによる組織観察を中心とした授業を行った。学習管理システムである manaba を使用して講義資料を予め配布し、Zoom を用いて講義やバーチャルスライドを使った解説を行い、なんとか無事に組織学実習の日程を終わることができた。対面授業ができない中で、遠隔授業でどのように組織学実習を進めたらいいのか。授業開始まで時間の無い中で行った取り組みであったが、「いつでも Web 上でスライドを確認できるため、理解を深めることができた」等、学生からは好意的な意見が寄せられた。今回のコロナ禍により余儀なくされた遠隔授業ではあったが、Zoom やバーチャルスライドを用いたメリット等の発見もあり、新しい授業方法を模索する良い機会となった。今回の経験を糧に、今後どのように組織学実習を進めて行くのか検討していきたい。【開示すべき COI なし】

PD2-3 COVID-19 下における組織学実習で協同的グループ学習は可能か？

○太田 啓介、平嶋 伸悟、丸九 由起子、中村 悠、中村 桂一郎

久留米大学医学部解剖学講座 顕微解剖・生体形成部門

久留米大学における組織学実習は第一学年後期に実施している。現在久留米大学ではお互いに助け合い切磋琢磨して成長を目指す「協同学習」を積極的に導入しており、この組織学実習でも、グループ内・外のディスカッション・共同作業・相互評価を取り入れて実習を行ない、高い学習効果を得てきた。しかし、今年度 COVID-19 感染拡大に伴い、緊密な議論を基本とする協同学習をベースとした実習の実施は極めて困難であると考えられた。このような状況下でも何らかの協同的グループ学習ができないか、試行錯誤しながら取り組んでいる。現況、密を避けるためには実習室にすべての学生をいれて実施することは難しく、また今後の状況次第ですべてをオンライン化する可能性がある。そこで我々は、すべての標準のバーチャルスライド化を行い、講義に相当するミニレクチャー・実習標準の解説のビデオ化を進めている。120名弱の学生は3名ずつ30のグループに分けて実施することとした。この中でグループワークは2つあり、1つは、Online 等でのグループミーティングである。密を避けた配置では実習室に80名しか参加できないため、学生グループには日替わりで2名のみ実習に参加し1名は自宅での学習としている。一方で、各グループは、実習終了後 Online で必ず集まってもらい1時間程度のディスカッションタイムを持つよう指示している。ここでお互いが学んだことの共有を行い、レポート作成をするよう指導している。もう一つのグループワークは例年行ってきたプレゼンテーションに代わる Wiki 作成である。グループで組織学に関わる Wiki を作り Peer review を行い、相互に協力できているかなどを評価する予定である。このような取り組みがどのような効果をもたらすのか、検討しつつ取り組んでいる。

OP1-1 社会的ストレスによるうつ病発症に対する海馬ミクログリアの関与

○藤川理沙子、神野尚三

九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

わが国では過労死の増加など、社会的ストレスによるうつ病が問題となっている。うつ病の発症仮説のひとつにミクログリア仮説がある。ミクログリアはストレスに伴う神経炎症に関与し、抑うつなどの気分障害の基盤である可能性が示唆されている。また、うつ病の心理学的仮説には、同レベルのストレスを受けた場合でも、ストレスに対して脆弱な場合に限ってうつ病を発症するという「ストレス脆弱性モデル仮説」があるが、そのメカニズムは明らかになっていない。興味深いことに、先行研究によって、ヒトの心理社会的ストレスに近似していることが報告され、近年注目されている「社会的敗北ストレスモデルマウス」では、一部のマウスがストレスに耐性を示し、ストレス負荷後もうつ様行動を示さないレジリエンス群が現れることが特徴である。本研究ではこのことに着目し、社会的敗北ストレスモデルマウスの脆弱性群とレジリエンス群のミクログリアを比較することで、うつ病発症におけるミクログリアの役割を明らかにすることを目指している。予備実験では、1日10分間の身体的ストレスと24時間の心理的ストレスを10日間与えたところ、全てのマウスがうつ様行動を示した。これらのマウスでは、海馬 CA1 領域のミクログリア分布密度の増加とミクログリア形態の複雑性低下がみられた。また、ストレス群ではミクログリアとシナプスのコンタクト率が増加傾向にあることが示された。これらから、ミクログリアが社会的ストレスに反応し、神経回路や行動に何らかの影響を与えている可能性が示唆される。現在、ストレス強度を調整し、脆弱性群とレジリエンス群の両方が得られるプロトコルを検討している。地方会で、脆弱性群とレジリエンス群のミクログリアの形態や分子発現の違いについて議論する予定である。【開示すべき COI なし】

OP1-2 マウスのコカイン誘発性場所嗜好性がケタミンによって抑制されるメカニズムの基礎検討

○山田純、神野尚三

九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

ケタミンは NMDA 受容体のオープンチャンネルブロッカーであり、麻酔薬として知られている。しかし近年、その即効性かつ持続性の抗うつ作用に注目が集まり、新しいうつ病の治療薬としての有用性が検討されている。我々も最近、ケタミンの抗うつ作用は成体海馬神経新生の促進作用に関与している可能性があると報告している。興味深いことに、ケタミンは薬物依存症の治療薬として有用であることを示す臨床研究が報告されているが、詳細はほとんど明らかとなっていない。本研究で我々は、薬物依存性が成体海馬神経新生の促進を介して改善する可能性があることに着目し、ケタミンが神経新生促進作用を介して薬物依存の治療薬として作用するかどうかを明らかにすることを旨とした。実験では、マウスに7日間のコカイン条件付け場所嗜好性試験を行い、条件付け終了後にケタミンまたは生理食塩水を投与した。ケタミン投与10日後から消去学習を行い、その後マウスにフットショックを与えて、ストレスによる依存の再燃と神経新生の変化を評価した。その結果、ケタミン投与群のマウスでは、生理食塩水投与群と比べて、コカイン条件付けボックスへの滞在時間が減少し、依存症様行動の再燃が軽減していた。一方で、ケタミンに加えて、神経新生を抑制するテゾロミドを投与したマウスでは、ストレスによる依存症様行動の再燃が認められた。さらに、コカイン投与群では神経新生が減少していたが、ケタミン投与群ではコカインによる神経新生の減少は認められなかった。これらの結果は、ケタミンが神経新生促進作用を介して、コカイン依存の再燃を抑制する可能性が示唆されるものである。【開示すべき COI なし】

OP1-3 マウス脚内核の内部区分とニューロンの分布領域の検討

○宮本雄太、福田孝一

熊本大学大学院 生命科学部 形態構築学講座

脚内核は、霊長類の淡蒼球内節に相当する領域であり、大脳基底核の出力部に位置する神経核の一つである。マウスの脚内核は、従来から異なるサブポピュレーション、すなわち Parvalbumin (PV)、Somatostatin (SOM) および Choline Acetyltransferase (ChAT) を有するニューロンから構成されることが知られているが、我々は新たに Nitric oxide synthase (NOS) に対して染色陽性を示すニューロンが存在することを以前の本学会にて報告した。また、脚内核は GABA および Substance P (SP) を神経伝達物質として用いている線条体の投射ニューロンから直接的な入力を受けるため、SP 陽性の軸索終末によって同定されるが、その軸索終末には Cannabinoid receptor type 1 (CB1R) が局在することから、脚内核は CB1R に対しても強い免疫染色性を示す。しかしながら、脚内核における SP と CB1R の染色性は必ずしも同様ではなく、両者の染色パターンは対照的である。本研究では、SP および CB1R の染色性に基づいて脚内核を吻側部の腹内側/背外側領域と尾側部のコア/シェル領域の4つに区分し、これらの区域と脚内核ニューロンの局在との関係を調べた。PV ニューロンは尾側部のコア領域に密集しており、NOS ニューロンは吻側部の腹内側領域に主に分布していた。SOM ニューロンは、脚内核全体に散在していたが、特に吻側部の腹内側領域および尾側部のシェル領域に多い傾向にあった。ChAT ニューロンは、4つの区域に関係なく、脚内核の辺縁部に分布していた。以上の結果は、脚内核に存在する個々のニューロンが異なる性質を持つ線条体投射ニューロンから入力を受ける可能性を示唆している。

OP2-1 髄液の流れと Blood Brain Barrier 再考

○福田孝一¹、橋本一成²

¹熊本大学・大学院生命科学部・形態構築学、²大阪大学医学部第一解剖学

脈絡叢で産生された脳脊髄液が脳室系を流れていく経路は、側脳室から第三脳室と中脳水道を経て第四脳室に至り、脊髄中心管に向かう経路を分けながら、正中口・外側口からも膜下腔に出るというものが、いわゆる教科書的な知識である。しかしこのような説明には、より本質的な脳脊髄液の流れが含まれておらず、脳脊髄液が脳の組織液であるという事実を曖昧化する恐れすらある。演者らはラットの側脳室に microperoxidase 20 mg を注入し、注入終了の 21 分後に 1/5 Karnovsky 液 (1%GA, 1%PFA in 0.1M cacodylate buffer) にて灌流固定した。ピラトーム切片を作成し DAB 反応を行なった後、超薄切片を電子顕微鏡 (Hitachi HU-11A) で観察した。中脳水道において、DAB 反応産物は上衣細胞の apical 側細胞膜上に認められただけでなく、上衣細胞の細胞間隙から深く脳の実質に侵入し、neuropil における全ての細胞外腔を満たし、シナプス間隙にも分布していた。さらに毛細血管周囲において、microperoxidase は astrocyte の vascular endfoot 間を自由に通過して内皮細胞周囲の基底膜に達していたが、毛細血管内には反応産物は認められなかった。上衣細胞は典型的な上皮細胞と異なり tight junction と基底膜を持たず、adherence junction と gap junction で接着していることが以上の結果を説明する。すなわち上衣細胞の apical 側の脳室と basolateral 側に位置する脳の実質は直接連絡しており、脳脊髄液はシナプス間隙を含む脳の細胞外腔を満たしている。また多くの成書において、内皮細胞間の tight junction とともに astrocyte が脳血液関門に関わっていることと記載されているが、今回の研究結果は、内皮細胞周囲の基底膜から脳室までバリアがないことを示している。(†2018年6月8日死去)

OP2-2 Maxillary molars extraction lead to mesencephalic trigeminal nucleus death and initiates TDP-43 pathology of the trigeminal motor neuron of wild type mice

○Ashis Dhar, Eriko Kuramoto, Haruki Iwai, Atsushi Yamanaka, Tetsuya Goto

Dept. of Oral Anatomy and Cell Biology

Graduate School of Medical and Dental science, Kagoshima University

The trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) controls periodontal mechanoreceptors and plays an important role in masticatory muscle. After tooth loss, mechanoreceptors disappear due to periodontal damages. The purpose of the study is to investigate the degeneration of Vmes and trigeminal motor nucleus (Vmo) neurons after tooth extraction. Maxillary molars in 8-week-old wild-type mice (C57BL/6J) were removed under anesthesia. Immunofluorescent staining was performed using primary antibodies against Piezo-2, ATF3, caspase 3, ChAT and TDP43. Adeno-associated virus (AAV), biotinylated dextran amine (BDA), and fluorogold (FG) were injected for retrograde and anterograde labeling. All experimental protocols were approved by the Animal Care Committee of Kagoshima University. Five days after tooth extraction, damaged ATF3-immunoreactive (IR) Vmes neurons appeared, increasing in number on day 5 but decreasing on day 10. Caspase 3-IR dead Vmes neurons were increased at 7 and 12 days after the extraction. One month after tooth extraction, the total number of Vmes neurons was significantly lower than that of control mice ($p < 0.05$). TDP-43 pathology appeared transiently one month after the tooth extraction. In conclusion, due to periodontal connection with Vmes neurons, tooth extraction causes Vmes neuron degeneration in 1 week, and Vmo neurodegeneration of Vmo neurons in 1 month due to Vmes-Vmo neuronal connection. No conflict of interest.

OP2-3 軟骨内骨化における TRPV4 遺伝子欠失の影響

○内野加穂、吉本怜子、西山めぐみ、本田裕子、澤田孟志、城戸瑞穂

佐賀大学医学部生体構造機能学講座組織・神経解剖学分野

【目的】細胞は細胞内外のカルシウム濃度によりその挙動を大きく変化させる。TRPV4 (transient receptor potential-vanilloid 4) は高カルシウム透過性の非選択的陽イオンチャネルで、低浸透圧や温度、機械刺激などにより活性化される。TRPV4 は全身に広く発現し、多様な疾患との関与から創薬標的としても注目されている。TRPV4 の単一遺伝子病は骨格異常を呈し、最も重症な致死性の変容性骨異形成症から、軽症の家族性短指短関節症まで、幅広い表現型が報告されている。軟骨代謝における TRPV4 機能研究は進展しているが、未だ骨格異常への TRPV4 の関与については不明な点が多い。そこで本研究では、軟骨内骨化における TRPV4 遺伝子欠失の影響を知ることを目的とした。

【方法】3週齢および8週齢の野生型マウスと TRPV4 遺伝子欠失マウスを 4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液により灌流固定し、脛骨と後足を取り出した。組織はマイクロCT撮影、もしくは脱灰後、通常に従い凍結切片を作製し、成長板軟骨の変化を HE 染色、ALP 染色、機械的刺激性に応じて細胞の増殖や分化を制御する YAP (yes-associated protein)、そのプロモーターである TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif) などの特異的抗体を用いた免疫染色により組織学的な解析を行った。

【結果と考察】TRPV4 は野生型マウスの脛骨成長板軟骨の増殖層に強い発現を示し、肥太層には弱く発現していた。TRPV4 遺伝子欠失マウスの脛骨および足骨の成長板軟骨の長さおよび体積は、野生型と比較して有意に大きかった。さらに、以上より TRPV4 は軟骨組織に強く発現し、軟骨基質の形成や軟骨内骨化に影響を与えていることが示唆された。【開示すべき COI なし】

OP3-1 冠状動脈開口部周辺における石灰化所見の CT 解析

○柴田 健太郎¹⁾²⁾、尾形 学³⁾、田北 諭³⁾、西原 恵美³⁾、北村 茂利³⁾、内田 雄基²⁾、城戸 瑞穂¹⁾、倉岡 晃夫²⁾

1)国際医療福祉大学 福岡薬学部

2)佐賀大学医学部 生体構造機能学講座 解剖学・人類学分野

3)同 附属病院 放射線部 4)同 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学分野

【背景と目的】冠状動脈開口部 (OS) 周辺にはしばしば肉眼的に明瞭な石灰化が認められ、冠状動脈内の硬化性病変との関連も示唆されるが、内腔面の石灰化を伴わない中膜レベルの変化を考慮した報告は少ない。本研究の目的は、CT で検出可能な OS 周辺部の石灰化像について解析を行い、その分布様式を明らかにすることである。【対象と方法】2016~19年度の佐賀大学医学部解剖実習生 88 体 (男性 52 体、女性 36 体、平均年齢 80.0 歳) より摘出した全心臓もしくは部分心臓標本を対象とし、Ai-CT 専用機 (SOMATOM scope, SIEMENS 社) にて管電圧 130kVp、スライス厚 0.75mm の条件下で撮像した。撮像データは、AZE Virtual Place Rajin (AZE 社) にて三次元再構築処理を施し、同定された石灰化物のうち、OS 辺縁からの最短距離が 5mm 以下のものを標本での実測に基づいて抽出し、検討に供した。【結果】右側の OS では 55 例 (62.5%)、左側では 40 例 (45.5%) に石灰化を認められた。石灰化物を、sino-tubular junction (STJ) の上方に存在する U 型 (upper type)、STJ をまたいで存在する C 型 (crossing type)、STJ の下方に存在する L 型 (lower type) の 3 パターンに分類し、これらが確認された標本における出現頻度 (右側/左側) をみると、U 型: 47.3% (26 例)/47.5% (19 例)、C 型: 20.0% (11 例)/10.0% (4 例)、L 型: 3.6% (2 例)/12.5% (5 例) となった。また、石灰化標本のうち、右側 16 例 (29.1%)、左側 12 例 (30.0%) において、同一の OS 周辺に複数のパターンが確認されたが、U 型のみを欠く例は見出されなかった。【考察】OS 周辺部の石灰化率は 50~60% 程度であり、石灰化物は STJ より上方に偏在する傾向が示唆された。STJ は、彎曲したバルサルバ洞壁から直線状の上行大動脈に移行する境界部位であり、動脈壁が受けるストレスの違いが石灰化物の出現頻度に変化をもたらした可能性がある。【開示すべき COI】なし

SP3-2 Revisiting the agenesis of 5Ps muscles: palmaris longus, pyramidalis, psoas minor, plantaris and peroneus tertius

○Loreto B. Feril, Jr.¹, Hiroshi Kida¹, Koichi Ogawa¹, Yutaka Irie¹, Hitomi Endo¹, Yoshiro

Chijiwa², Eiichi Goto² and Katsuro Tachibana^{1*}

¹福岡大学医学部解剖学 ²福岡大学病院整形外科 ³後藤麻酔科クリニック

The muscles palmaris longus, pyramidalis, psoas minor, plantaris and peroneus tertius, also known as the 5Ps, have been found to be absent in some individuals. This study aims to determine the rate of agenesis of these muscles in cadavers and analyze the statistical correlation of agenesis among the 5Ps. Three hundred and fifty body-halves of 175 cadavers were enrolled in this study. Each of the muscles were carefully identified during medical school anatomy dissection. Absence of one muscle in a cadaver were examined for statistical correlation to the other muscles under study. The results showed that of the 350 body-halves, rate of agenesis for palmaris, pyramidalis, psoas minor, plantaris, and peroneus tertius were 3.7%, 14.7%, 55.4%, 15.1% and 12.0%, respectively. Interestingly, absence of a plantaris indicates an increased chance of an absent psoas minor (OR, 2.3). Absence of a palmaris longus muscle is also associated with an increased chance of an absent pyramidalis (OR, 5.2). Agenesis is predominantly bilateral in the case of psoas minor and pyramidalis muscles, while left-sided agenesis was very common with plantaris muscle. Any of the 5Ps muscles could be absent in some individuals and the absence of one of these muscles may also indicate a greater chance of another muscle absent in that individual. These findings may provide additional anatomical information useful to basic medical scientists and clinicians whenever these muscles are involved in injuries or when used as tissue grafts for surgery. 【開示すべき COI なし】

OP4-1 Juvenile development of HCC in Myanmar is immunohistochemically characterized by the two Bcl9 antibodies that recognize different epitopes

Myo Win Htun¹⁾, Myat Thu Soe¹⁾, Yasuaki Shibata¹⁾, Kuniko Abe²⁾, Takehiko Koji¹⁾

¹⁾Department of Histology and Cell Biology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

²⁾Department of Pathology, Japanese Red Cross Nagasaki Atomic Bomb Hospital

The juvenile development and poor prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) in young generation is common in Myanmar. Bcl9 (B cell lymphoma 9) and Pygopus play an essential role in the Wnt/ β -catenin signaling, where Bcl9 is translocated into the nucleus by binding with Pygopus and overexpressed in nucleus of various tumors. However, the function of Bcl9 is a controversial issue because it may form a complex with various molecules at different domains, reflecting different functional states. Therefore, for a better understanding of Bcl9 function, IHC against different epitopes of Bcl9 would be useful. In this study, a total of 52 paraffin embedded liver tissues were collected from Myanmar. Bcl9 was localized using two antibodies; a conventional polyclonal-antibody (anti-Bcl9^{ABC}) against amino acid no.800-900 of human-Bcl9 and anti-Bcl9^{BIO} against amino acid no.50-200, covering Pygopus-binding sites of Bcl9. For statistical analysis, we used IHC-score depending on signal intensity. As a result, the Bcl9^{BIO} was localized in the cytoplasm while the Bcl9^{ABC} was detected mainly in the nucleus. The IHC-score of Bcl9^{BIO} in normal liver was significantly higher than that of any other differentiation stages of HCC whereas Bcl9^{ABC} showed no significant difference. The expression level of Bcl9^{BIO} was significantly lower in younger patients (<40 years) than aged ones. This finding suggests that in the younger HCC cases, almost all Bcl9 would be activated and translocated into the nucleus by binding to Pygopus, which covers the epitope of anti-Bcl9^{BIO}.

OP4-2 難治性疾患に対する増殖因子HGFとHB-EGFの生体内作用の解明と治療薬への研究

○松田 恵理子¹⁾, 小賤 健一郎^{1,2,3,4)}

¹⁾鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 遺伝子治療・再生医学分野, ²⁾ 革新的治療開発研究センター, ³⁾ 同 附属・南九州先端医療開発センター, ⁴⁾ 同 大学院 探索的医療開発センター

肝細胞増殖因子 (HGF) は、肝臓の栄養・増殖因子として発見された後、多くの組織・臓器への生理作用と治療作用について、精力的に研究が進められてきた。一方、ヘパリン結合 EGF 様増殖因子 (HB-EGF) は、治療作用の研究が非常に限られている。我々は、組換え蛋白質及びウイルスベクターでの遺伝子導入の手法を使い、これまでにも増殖因子の生理作用と治療作用の研究を進めてきた。HGF は、肝細胞に再生誘導作用だけでなく、強力な抗アポトーシス作用を賦与すること、さらに治療法のない劇症肝炎への治療薬となる可能性を明らかにした。HB-EGF は、急性肝障害に対し、HGF よりも遥かに強力な抗アポトーシス作用と肝再生誘導の作用を示すこと、さらには蛋白質医薬品としても、肝疾患への効果的な治療薬となる可能性について明らかにした。両増殖因子は、ネクロトーシスや線維化なども含む複雑な病態に治療作用と効果を示したが、その様式には様々な違いや特徴もあった。我々はさらに、両増殖因子の他の臓器や難治性疾患に対する、生理作用と治療作用を現在解明している。両増殖因子の特徴、生理作用、治療作用、そしてその成果を踏まえた治療薬への応用の可能性について発表する。【開示すべき COI なし】

OP5-1 上皮のトリセルラーコンタクトにおいて透過バリアが形成される仕組み

○菅原太一^{1,2,3)}, 古瀬京子¹⁾, 大谷哲久^{1,2)}, 若山友彦³⁾, 古瀬幹夫^{1,2)}

¹⁾生理学研究所・細胞構造研究部門, ²⁾総合研究大学院大学・生命科学研究所

³⁾熊本大学大学院生命科学研究所・生体微細構築学講座

上皮がバリアとして働くためには、細胞同士の間に生じるすき間を塞ぐ必要がある。膜タンパク質クローディングが形成する細胞間結合タイトジャンクション(TJ)は、2 つの形質膜を密着させて 2 細胞間のすき間を塞ぐ。さらに、3 つの細胞の角が接する領域(トリセルラーコンタクト, TC)では、TJ が特殊化したトリセルラー TJ (tTJ)と呼ばれる構造がその細胞間隙を塞ぐと考えられており、tTJ の構成分子として 2 種類の膜タンパク質、アンギユリンとトリセルリンが知られており、それらの分子がどのように tTJ 形成に関与するのかについて未だに不明な点が多い。本研究では、その分子機構を明らかにするために、イヌ腎臓由来の上皮細胞株 MDCK II に発現するアンギユリン-1 とトリセルリンをゲノム編集によりそれぞれノックアウト(KO)し、TC の細胞膜の微細構造と上皮バリア機能への影響を調べた。上皮細胞シートに対して水平な超薄切片を電子顕微鏡で観察すると、親株の TC では 3 枚の細胞膜が密着していたが、アンギユリン-1 KO 細胞の TC にはすき間が生じていた。また、アンギユリン-1 KO 細胞では、頂端側から基底側への蛍光トレーサーの透過性が上昇しており、上皮バリア機能の低下が観察された。一方、トリセルリン KO 細胞の TC を超薄切片法により観察すると、その細胞膜は密着していた。また、トリセルリン KO 細胞では、親株と比べて蛍光トレーサーの透過性は上昇しておらず、上皮バリア機能の低下は観察されなかった。以上より本研究は、アンギユリン-1 がトリセルリン非依存的に TC における細胞膜の密着構造と透過バリアの形成を制御することを明らかにした。

OP5-2 次世代の腫瘍溶解性ウイルスの開発と癌と再生医学への治療応用

○西川路 佑那¹⁾, 伊地知 暢広^{1,2)}, 三井 薫^{1,2,3)}, 小賤健一郎^{1,2,3,4,5)}

¹⁾鹿児島大学 遺伝子治療・再生医学, ²⁾ 同 革新的治療開発センター, ³⁾ 同 南九州先端医療開発センター, ⁴⁾ 鹿児島大学病院 探索的医療開発センター, ⁵⁾ ウィック・バイオテック・ファーマ

我々はまず、次世代の腫瘍溶解性ウイルスのプラットフォーム技術となる「多因子制御によるがん特異的増殖型アデノウイルス:m-CRA」を独自開発した。本技術でのハイスループット開発で見出した第一弾医薬のサバイビン反応性 m-CRA (Surv.m-CRA) は優れたがん治療効果とがん特異性(安全性)を示し、従来技術や競合技術に対する優位性を示した。この基礎研究を基盤として非臨床研究を進め、更に鹿児島大学での骨軟部腫瘍への First-In-Human 医師主導治験(第I相)では競合技術を凌ぐ安全性と治療効果を確認という、有望な結果を得た。現在は膝痛への第II/III相試験を進行中で、承認を視野に入れた骨軟部への第II相試験も本年度開始予定である。更に我々は、様々な免疫誘導遺伝子を搭載し、局所治療で転移巣を効率的に治療できる、第 2 世代の Surv.m-CRA の開発も進めている。なお一方、多能性幹細胞(hPSC)による細胞治療の開発が期待されているが、腫瘍化(奇形腫、がん化)が最重要の克服課題である。そこで我々は、m-CRA 技術を応用して「hPSC 由来の分化細胞中に残存する腫瘍化原因(未分化)細胞のみを特異的に殺傷治療できる」新技術を開発した。

本発表では、癌治療研究と再生医学の両分野における m-CRA 技術について発表する。

【開示すべき COI なし】

OP5-3 携帯型超音波診断装置を用いたナノバブルによる遺伝子導入法の開発

○貴田浩志, 遠藤日富美, Loreto B. Feril, 立花克郎

福岡大学 医学部 解剖学教室

近年、超音波応答性バブルのキャビテーションを利用した遺伝子導入法研究の中心はマイクロバブルからナノバブルへと移行しつつある。臨床用携帯型超音波診断装置とナノバブルを組み合わせた、簡便な遺伝子導入法の開発を目的として、研究を行った。

ソナゾイド®から分離抽出したリポドベースナノバブル(L-NBs)と、アルブミンベースナノバブル(A-NBs)を用いて実験を行った。In vitro 実験系では 96 ウェル細胞培養プレートでの接着細胞への超音波照射システムを応用して、口腔扁平上皮癌細胞株(HSC-2)に対する pNL1.3.CMV [secNluc/CMV] の導入と評価を行った。さらに in vivo 実験系では 5 週齢 ddY マウスに対し、同様のナノバブルと遺伝子を尾静脈投与し、研究用超音波照射装置および臨床用携帯型超音波診断装置(Vscan Dual Probe)を用いた経皮的超音波照射による、肝臓への遺伝子導入を試みた。ルシフェラーゼレポートアッセイで in vitro 実験系において 5W/cm², 5 秒間, Duty 比 50% の超音波照射での遺伝子導入により、L-NBs では希釈倍率(25%, 50%, 100%)に比例してルシフェラーゼ発現量が増加し、100% L-NBs ではナノバブル非含有と比較して 20 倍以上となった。A-NBs においても約 3 倍の発現増加を認めた。さらに照射時間を調整することにより、時間依存的に遺伝子発現量が増加した。In vivo 実験においても同様に、超音波照射によるルシフェラーゼ発現増加を認め、非照射と比較して、L-NBs で有意に高い発現が得られた。

臨床用携帯型超音波診断装置を用いた簡便な遺伝子導入法を確立した。今後さらに音響パラメータ、ナノバブルの封入ガス、溶質を最適化し、導入効率の向上を目指す。