

日本解剖学会

第97回近畿支部学術集会

会期：令和3年11月27日（土）～12月11日（土）
会場：Web上によるオンデマンド開催

M-01 深層学習を用いたiPS細胞由来心筋細胞の自発磁場検出

山口武志¹⁾、足立善昭²⁾、谷田任司¹⁾、岡住伸³⁾、吉田隆司⁴⁾、高橋謙治⁴⁾、田中雅樹¹⁾
1) 京都府立医科大学 大学院医学研究科 解剖学教室 生体構造科学部門
2) 金沢工業大学 先端電子技術応用研究所
3) 京都府立医科大学 大学院医学研究科 運動器機能再生外科学 小児整形外科学部門
4) 京都府立医科大学 大学院医学研究科 運動器機能再生外科学

現在、iPS細胞由来心筋細胞は再生医療や薬効試験における細胞材料として注目されており、その実用化において高速かつ簡便な品質評価手法が必要とされている。広く使用されている電気生理学的特性の評価法として、細胞外電位の測定や膜電位感受性蛍光色素を用いる方法があるが、我々は磁場計測が非侵襲・非接触・非破壊的に行えることに着目し、細胞の電気活動によって生じる自発磁場をSQUIDセンサーで計測することにより、細胞の活性を定量的に評価することを目指している。その前段階として本研究では深層学習を活用することにより、ノイズを含む計測データの中から、細胞由来の微小な磁場シグナルを検出する手法を検討した。最初にパラメーターの最適化により、マウスiPS細胞由来の心室タイプ心筋細胞、およびペースメーカー様細胞の活動電位を再現する計算モデルを作成し、次にこのモデルを用いて細胞集団に生じる電気活動伝播のシミュレーションを行った。さらにシミュレーションによって推定した自発磁場波形を教師データとした深層学習を行い、ニューラルネットワークの訓練を行った。最後にマウスiPS由来心筋細胞を計測した実際の磁場データから、訓練済みのネットワークによって微小な生体信号の検出を試みた。その結果、光学顕微鏡で観察された拍動周期や、同時間に測定した細胞外電位のピークと一致する磁場シグナルの検出に成功し、この手法の有効性が示唆された。

M-02 胃エストロゲンは血中トリグリセリドレベルを伝えるホルモンか？

伊藤隆雄、山本悠太、山岸直子、金井克光
和歌山県立医科大学 医学部 解剖学第一講座

哺乳類は全身のエネルギー状態を監視し、摂食行動や脂質合成などを調節する。胃（グレリン）、膵臓（インスリン）、脂肪組織（レプチン）や腸管や肝臓（求心性迷走神経）はそれぞれ空腹状態、血糖値、体脂肪レベル、摂食状態をモニターし、その情報を提供する。他方エストロゲン(E2)も中枢神経系や肝臓に作用し、摂食行動や脂質合成を抑制する。しかし、血中トリグリセリド(TG)レベルがどのようにモニターされるのか、血中E2レベルが脂質恒常性の観点からどのように調節されるのかについてはほとんどわかっていない。本研究では胃の壁細胞が血中TG濃度に応じてE2を分泌することをオスラットを用いて明らかにした。オスにおいてE2は脂肪細胞や胃の壁細胞から分泌されるが、肝臓の上流に位置するものの膵臓と同様に摂食した栄養の影響を直接受けない胃の壁細胞に着目した。E2合成にはエネルギーが必要だが、壁細胞は脂肪酸を主たるエネルギー源としていた。そこで血中E2濃度と血中TG濃度の関係を調べたところ、血中E2濃度は血糖値ではなく血中TG濃度の増加に応じて増加した。さらに胃組織中のE2量も血中TG濃度の増加に応じて増加した。しかし、胃を全摘したラットでは血中TG濃度が増加しても血中E2濃度の増加は認められなかった。

これらのことから胃の壁細胞が血中TG濃度に応じてE2を分泌することで肝臓での脂質合成や摂食行動を調節し、血中TG濃度を適切なレベルに維持していることが示唆された。

M-03 糖尿病性認知機能障害における神経軸索再生阻害因子RGMaの関連解明

宇野広樹¹⁾、糸数隆秀¹⁾²⁾、山下俊英¹⁾²⁾³⁾⁴⁾

- 1) 大阪大学大学院医学系研究科分子神経科学
- 2) 大阪大学大学院医学系研究科創薬神経科学
- 3) 大阪大学大学院生命機能研究科
- 4) 大阪大学免疫フロンティア研究センター (IFReC)

糖尿病に伴う様々な合併症の一つに認知機能障害がある。近年、ヒト患者及び動物モデルにおける解剖学的特徴として、記憶形成に重要な海馬神経新生が減少していることが報告され、病態形成の一因であると考えられている。我々はこれまで神経系に多様な機能を有する神経軸索再生阻害因子RGMaが、生理条件下における海馬神経新生を制御することを報告した。そこで、薬剤誘導性1型糖尿病モデルマウスを用い、RGMaが病態における神経新生の減少にも関与するか検討した。神経新生により産生される未成熟な神経細胞のマーカであるDoublecortinに対する抗体を用いた免疫組織化学染色により、病態下における海馬神経新生を評価したところ、糖尿病誘導4週後に顕著な海馬神経新生の減少を認めた。次に、病態に対するRGMaの関与を検討するため、抗RGMa中和抗体を投与したところ、海馬神経新生の減少が有意に改善した。さらに抗RGMa中和抗体が行動学的に認知機能障害を改善するか検討するため、海馬依存性の記憶形成を評価できる物体認識試験を実施したところ、糖尿病病態下で障害される認識記憶の形成が有意に改善した。これらより糖尿病に伴う海馬神経新生の減少と認知機能障害にRGMaが関与する可能性を示した。本研究で使用した抗RGMa抗体は、大阪大学・千葉大学・田辺三菱製薬株式会社が協同で開発したものである。創薬神経科学共同講座は田辺三菱製薬株式会社から資金提供を受けて大阪大学に設置されたものである。

M-04 痛覚鈍麻マウスの順遺伝学スクリーニングによる新規疼痛候補遺伝子の同定

田中達英¹⁾、奥田洋明²⁾、石西綾美¹⁾、辰巳晃子¹⁾、和申明生¹⁾

- 1 奈良県立医科大学 医学部 解剖学第2講座
- 2 金沢大学 医薬保健研究域 医学系 機能解剖学

疼痛は様々な疾患において伴われるが、発生メカニズムや神経系における伝達機構は多様でありその全貌は明らかではない。我々は、別の研究テーマで使用しているBACトランスジェニック(TG)マウスが疼痛刺激に対して鈍感になっていることを見出した。このTGマウスは、触覚や無害な機械刺激から神経因性疼痛と呼ばれる病態時の疼痛に及ぶまで鈍感になっていた。興味深いことに、この生理的および病理的痛覚に関して、疼痛鈍麻TGマウスの骨髄を野生型(WT)マウスに移植することで疼痛鈍麻の表現型に変換できること、さらには、WTマウス後肢の皮膚真皮層のマクロファージをクロドロン酸リポソームで枯渇させることで疼痛鈍麻を再現できることから、疼痛鈍麻の責任細胞が骨髄由来の真皮マクロファージにあることを強く示唆している。我々は、TGマウスの次世代シーケンスおよびcDNAマイクロアレイによる順遺伝学的手法で、感覚不全の原因遺伝子として細胞内トラフィックに関与するSorting nexin 25 (SNX25)を突き止め、SNX25-KOマウスおよびマクロファージ特異的にSNX25発現を減弱させたコンディショナルKOマウスでもTGマウス同様の表現型であることを見出した。これらのKOマウスでは末梢組織におけるNGF発現が低下することから、真皮マクロファージのSNX25はNGF発現を調節することで触覚や痛覚を制御していることが示唆された。

M-05 エストロゲン関連受容体ERRの核内動態変化を介した転写抑制機構には核マトリクス結合因子SAFB1との相互作用が関与する

谷田任司¹⁾²⁾、松田賢一²⁾、植村泰佑²⁾、山口武志²⁾、橋本隆³⁾、河田光博⁴⁾、田中雅樹²⁾

- 1)大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科 獣医学専攻 獣医解剖学教室
- 2)京都府立医科大学 大学院医学研究科 解剖学教室 生体構造科学部門
- 3)福井大学 医学部 解剖学教室
- 4)佛教大学 保健医療技術学部 理学療法学科

エストロゲン関連受容体 estrogen-related receptor (ERR) は、 α 、 β 、 γ の3つのサブタイプからなり、内在性ホルモンとは結合しないオーファン核内受容体である。これらは発生・分化や生体恒常性などを制御し、様々な内分泌・代謝疾患と関わる。核内受容体の核内動態は遺伝子発現の調節と密接に関わるが、ERRの核内動態やその転写制御における役割はほとんど明らかにされていない。そこで、合成リガンドDESにより転写を抑制した際のERRの細胞内局在変化を経時的に観察した。蛍光標識した各サブタイプのERRをCOS-1細胞に発現させると、いずれも核に局在した。DESを添加すると、5~20分ですべてのサブタイプのERRも核内で顆粒状のクラスターを形成した。FRAP法により、DES添加後にERRの核内における可動性が低下することが判明した。これらの所見は、ERRが核内構造体と相互作用することを示唆しており、核マトリクスに結合する転写抑制因子 scaffold attachment factor B1 (SAFB1)の関与を想定した。SAFB1と各サブタイプのERRを蛍光標識しCOS-1細胞に発現させDESを加えると、SAFB1とERRの顆粒状クラスターは核内で共局在した。更に、共免疫沈降法およびレポーターアッセイにより、SAFB1はいずれのサブタイプのERRとも相互作用し、その転写活性を抑制することが判明した。以上より、転写活性と連関したERRの核内動態変化が明らかになると共に、SAFB1がERRの転写抑制因子であることが示された。また、ERRは核内でSAFB1を介して可動性を低下させ、その結果転写が抑制されると考えられた。

M-06 発生中のマウスにおける中腎領域へのAMHの移行経路の検討

○加藤 栞、横山 俊史、奥西 宣祐、成田 大翔、桐月 優輔、藤川 大誠、万谷 洋平、星 信彦
神戸大院 農・形態機能

【緒言】雌性副生殖腺の原基であるミュラー管 (MD) は発生初期の雄にも形成されるが、精巣から分泌される抗ミュラー管ホルモン (AMH) の影響により出生前に消失する。我々は以前、発生初期に AMH が全身循環を介さずに精巣から中腎内へ移行して MD に作用し得ること、その際に AMH が主に精巣頭側部から中腎内に浸潤することを示唆する所見を示した [Yamamoto *et al.*, 2018]。しかしながら、AMH が精巣から中腎内に移行する詳細な経路は不明であるため、器官培養法を用いて検討した。【材料と方法】胎齢 12.5 日付近の ICR マウス胎子から性腺中腎複合体を摘出し、AMH の移行経路の候補領域を切断後、72 時間培養した。ゼンボン固定後に横断方向のパラフィン切片を作製し、中腎細管とウォルフ管の接続領域付近 (MD 頭部) および最尾側の中腎細管付近 (MD 中央部) の MD 管径を計測してその進行程度を評価した。また、胎齢 12.5 日以降の精巣頭部または尾部に AMH を注入後、切片上で免疫組織化学的に AMH を検出した。【結果と考察】頭部側での AMH の移行を阻害して培養すると、培養のみ行なった実験対照より MD 頭部の管径が増加した一方で、MD 中央部の管径に差異は認められなかった。また、AMH を注入すると、間質を含む精巣全体に加え、注入部付近の精巣・中腎境界領域および MD 近傍に AMH の陽性反応が認められた。これらの結果より、精巣・中腎境界領域の頭部側に AMH の移行経路が存在することが示されるとともに、尾部側からも AMH が中腎へ移行することが示唆された。

M-07 新生児マウスの視神経でみられるオリゴデンドロサイト前駆細胞の微細形態：3D-SEM を用いた解析

○小野勝彦¹、後藤仁志¹、野村真¹、松本真実^{2,3}、齋藤成^{2,4}、大野伸彦^{5,6}

1. 京都府立医科大学大学院 神経発生生物学、2. 生理学研究所 電子顕微鏡室、3. 名古屋立大学 脳神経科学研究所 神経発達再生医学分野、4. 藤田医科大学 医学部 解剖学 II、5. 自治医科大学解剖学講座組織学部門、6. 生理学研究所 超微形態研究部門

中枢神経系の大多数の細胞の微細形態は 1980 年代までに詳細に明らかにされた。しかし、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) は、この時代にはまだ見出されていなかったため、その微細形態には不明な点が残っている。本研究では、OPC の微細形態を明らかにすることを目的とした。生後 4 日目マウスの視神経を用いて、SBF-SEM により 500 近い細胞の連続画像を解析し、アストロサイト (As) でもミクログリア (Mg) でもない細胞 70 個を OPC とみなした。OPC と As のうちそれぞれ数個~10 個を三次元再構築し、細胞の外形や細胞小器官を比較した。OPC は、多くのものが単極型をして突起の数は少なく、小胞体などの細胞小器官は As と比較して少なく散在性に見られた。ゴルジ装置の多くは、細胞核の近くにみられた。細胞の外形やゴルジ装置の形態は、明らかに As のほうが複雑であった。OPC では、小胞体も核やゴルジ装置の近くに見られるものが多かった。この時期の視神経のグリア細胞では、すべてに中心小体が見られたが、OPC では線毛を持つ細胞は 4 割程度で、短いものが多かった。以上の結果から、OPC は外形や細胞小器官の分布や量から、他のグリア細胞と比較して形態的にも未分化であることが明らかとなった。
DOI:なし

M-08 TRPM8によるマウスの冷温度情報感知機構

春日 梨歌、宮田 清司
京都工芸繊維大学 大学院 応用生物学専攻

恒温動物は、環境温度変化を皮膚の感覚神経に存在する TRPチャネルによって感知し、自律神経系活動や行動変化により体温を一定に保つ仕組みがある。TRPM8 は、約 28℃ 以下の冷温度によって活性化される冷温度センサーである。TRPM8 knockout (KO) マウスは、非侵害性冷刺激に対する反応が欠損していることが報告されているが、侵害性冷刺激における TRPM8 の機能については明らかにされていない。本研究では、Wild type (WT) マウスと TRPM8 KO マウスの四肢に侵害性冷刺激 (9℃) と非侵害性冷刺激 (15℃) を与えた時の行動解析と脳神経活動を Fos 免疫組織化学にて調べた。9℃の冷却刺激は WT マウスと TRPM8 KO マウスに対して逃避行動を促したが、15℃の冷却刺激は WT マウスに対してのみ逃避行動を促した。さらに、9℃冷刺激による視床下部の Fos 陽性細胞数は、WT マウスに比べ TRPM8 KO マウスで有意に少なかったが、大脳皮質では WT マウスと TRPM8 KO マウスで有意差はなかった。一方、15℃冷刺激による大脳皮質の Fos 陽性細胞数は、WT マウスに比べ TRPM8 KO マウスで有意に少なかった。以上の結果より、TRPM8 は侵害性冷刺激と非侵害性冷刺激を問わず、視床下部神経系の活性化に重要であることが明らかになった。

M-09 マウスの LPS による炎症時における TRPM8 の働き

堀川璃々花・白木千夏・大江柚希・宮田清司
京都工芸繊維大学大学院・応用生物学系

細菌やウイルスによる感染初期は免疫力増強のために発熱を生じるが、重篤化すると全身疾患である敗血症を生じ体温低下を引き起こす。Transient Receptor Potential Melastatin 8 (TRPM8) は、28 度以下の冷温度やメントールによって活性化される非選択性イオンチャネルである。TRPM8 は末梢感覚神経や脳内で発現することがわかっているが、LPS 誘発性体温調節と炎症における TRPM8 の機能は不明である。本研究では、TRPM8 が LPS 誘発性の発熱及び敗血症に大きく関与していることを報告する。50 µg/kg の低濃度 LPS 腹腔内投与は、野生型マウスで発熱を引き起こすのに対し、TRPM8 KO マウスでは野生型と全く逆の低体温症を引き起こした。さらに、TRPM8 KO マウスは Fos 免疫組織化学より視床下部領域の体温調節に関連する脳部位の Fos 発現の増加がみられた。敗血症様低体温症を誘起する 5 mg/kg の高濃度 LPS 腹腔内投与では、TRPM8 KO マウスは野生型と比較して、より重度の低体温症を示し活動量も低下した。また、赤外線サーモグラフィにより、TRPM8 KO マウスは褐色脂肪組織の温度を測定する肩甲骨間皮膚温度がいずれの LPS 濃度でも有意に低下した。以上のことから、TRPM8 はエンドトキシンによる炎症時において発熱と低体温の切り替えに必要であり敗血症の新たな治療標的になることが明らかになった。

M-10 タニサイトによる脳脊髄液分子の脳へのTranscytosis

岡本 明洋、宮田 清司
京都工芸繊維大学 大学院 応用生物学専攻

血液脳関門 (BBB) は内皮のタイトジャンクションバリアによって構成され、血液由来の物質の自由な侵入を防ぎ、脳の恒常性を維持している。しかし脳室周囲器官 (CVOs) ではこれらの内皮細胞のバリアは存在せず、有窓の毛細血管を有している。そのため単純拡散により血液系と脳の情報連絡があり、インターフェイスとしての機能がある。

最近、BBB が存在する部位でも Transcytosis によって毛細血管から脳実質へタンパク質などが輸送されることが報告されている。しかし、脳脊髄液と脳実質の Transcytosis に関する知見は少ない。本研究では、タニサイトに着目し脳脊髄液と脳実質の Transcytosis について調べた。Cholera Toxin Subunit B を、脳室内投与すると CVOs である正中隆起、脳弓下器官、終板器官と弓状核で脳実質への取り込みが確認された。さらにタニサイトマーカーである Vimentin で免疫組織化学を行ったところ Cholera Toxin Subunit B とタニサイトが共局在していることが明らかになった。またレクチンの一種である Wheat Germ Agglutinin を脳室内投与すると、取り込みが確認されたが Vimentin との共局在は少なく、タニサイトの細胞外へ分泌されていることが分かった。

以上の結果より、脳脊髄液中の分子は脳室面に存在するタニサイトによって Transcytosis により脳実質へ輸送するシステムが存在することが示唆された。

M-11 伸筋支帯第 1 管の組織学的研究

西村優花¹⁾、山本凜太郎²⁾、堤真大²⁾、荒川高光³⁾
¹⁾神戸大学 医学部 保健学科 作業療法学専攻 ²⁾東京医科歯科大学 臨床解剖学分野 ³⁾神戸大学大学院 保健学研究科 リハビリテーション科学領域 生体構造学分野 ⁴⁾森ノ宮医療大学 インクルーシブ医科学研究科

伸筋支帯第 1 管に起こる de Quervain 病は頻発する腱鞘炎の 1 つであり、伸筋支帯第 1 管の背側、短母指伸筋腱付近に病態を認めることが多い。本研究では、伸筋支帯第 1 管の背側に腱鞘炎が頻発する機序を解剖学的に理解するため、その組織学的特徴を明らかにすることとした。神戸大学医学部解剖学実習体 4 体 5 側を用い、茎状突起近位レベルで伸筋支帯第 1 管の横断面の切片を作成し H-E 染色した上、光学顕微鏡で観察した。伸筋支帯第 1 管における長母指外転筋を覆う部 (掌側部) および短母指伸筋を覆う部 (背側部) の双方に腕橈骨筋停止腱が連続していた。掌側部に対し背側部では、線維配向性が比較的低くまばらであり、背側部の膠原線維間に血管が観察された。さらに、背側部に滑液鞘が折れ返る部分 (腱間膜) が存在した。腕橈骨筋腱と連続する背側部の膠原線維が掌側部に比してまばらであったことは、背側部が比較的脆弱であることを示すのかもしれない。また、病態が生じやすい背側部には血管が多く存在している。腱鞘炎によって腱間膜において癒着が生じ、de Quervain 病発症時に腱の滑走を妨げている可能性も考えられる。以上の組織学的特徴が伸筋支帯第 1 管の背側に生じる腱鞘炎の病態に関与する可能性が示唆された。

P-01 ラット閉口筋に生ずる自己受容感覚が入力する三叉神経上核の、遠心性ならびに求心性神経連絡

井上 美沙樹、佐藤 文彦、堤 友美、古田 貴寛、吉田 篤
大阪大学大学院歯学研究科 口腔解剖学第二教室

三叉神経上核 (Su5) は閉口筋筋紡錘 (JCMS) に生ずる自己受容感覚 (JCMS 感覚) が入力し、三叉神経運動核 (Mo5) に投射して顎反射に関わっている。しかし、JCMS 感覚の中核投射や顎反射との関連は完全には分かっていない。そこで、Su5 からの遠心性投射と Su5 への求心性投射の全容の解明をめざした。

雄性ラットを用いて、JCMS 感覚が入力する Su5 を同定後、その中に実験 1 では順行性トレーサーを、実験 2 では逆行性トレーサーを注入した。

実験 1 では、Su5 から、対側 (または対側優位で両側) の basilar pontine nuclei、橋網様核、deep mesencephalic nucleus、上丘、視床後内側腹側核尾腹内側縁、視床束傍核、不確帯、視床下部外側部への投射と、同側 (または同側優位で両側) の Mo5 と三叉神経間域、三叉神経吻側亜核、延髄背側網様核、舌下神経核への投射が認められた。実験 2 では、Su5 へ、対側優位で両側 (または対側) の一次と二次の体性感覚野、顆粒性島皮質からの投射と、同側 (または同側優位で両側) の背側脚皮質、分界条核、扁桃体中心核、視床下部外側部、parasubthalamic nucleus、三叉神経中脳路核、結合腕核、三叉神経傍核、三叉神経吻側亜核と尾側亜核、延髄背側網様核からの投射が認められた。

JCMS 感覚が入力し、顎反射に関わる Su5 は、口腔顔面の運動機能や感情情報伝達、自律機能に関与する様々な脳領域と神経連絡し、これらの機能との関与が示唆された。

P-02 音節の特徴から見た大和言葉による身体表現

野田 亨・びわこリハビリテーション専門職大学

身体語彙は語彙の中でも基本的な語彙で、なかでも単音節による大和言葉による身体語表現は現代でも「て (手)」や、「め (眼)」などにも見いだせる。そのような上代の文献で検索し、例を「読みかな」と (現代語の意味する部位) で示すと、「あ (足)」、「え (枝)」、「か (髪)」などが挙げられる。こうした単音節による身体語表現は、時代が進むと、単音節では同音異義語が生じ、表現上の誤解を生じるためか、単音節語に音節を追加してより正確に伝達できる複音節語に変化してきたと思われる。上記の単音節語が二音節語に変化した例として、加わった音節を下線部で示すと、「あし (足)」、「えだ (枝)」、「かみ (髪)」のように変化したと考えられる。言語学者の阪倉 (1993) によると、一般的に単音節語から複音節語への変化は、変化するパターンとしていくつかの可能性があり、1) 接頭語的なものを添えるもの、2) 接尾語的なものを添えるもの、3) 説明的要素の語を後に添えるもの、4) 説明的要素の語を前に添えるもの、5) 語形を拡張して語としての確立を計るものなどとしている。そのように加えられたと考えられる音節を下線部で示すと、それぞれの身体語の例は、1) 「うで」、2) 「あし」、3) 「きば」、4) 「むかもも」、5) 「ちち」などである。さらに単音節を反復する語 (疊語) による身体表現には、「身身」、「たたむき」、「みみせせ」の骨などがあり、複数の身体パーツを語の反復で表すという特徴が認められる。以上、音節から見た大和言葉による身体表現は、古代日本人の身体語を解釈する上で重要な視点を提供していると考えられる。

P-03 ストレス誘発型突発性難聴モデルマウスの確立

小山佳久^{1,2} 鷺見拓哉³ 島田昌一^{1,2}

1: 大阪大学大学院医学系研究科神経細胞生物学

2: 大阪精神医療センターこころの科学リサーチセンター依存症ユニット

3: 大阪大学大学院医学系研究科細胞生物学

突発性難聴は原因不明の急性感音難聴である。患者数の著しい増加や低い治療効率から、根治薬の開発は急を要する。難聴モデル動物の確立が必須であるが、主流の薬剤投与や騒音暴露などのモデルでは難聴発症の機序を完全に説明できない。

我々は難聴の原因としてストレスに着目し、反復性寒冷負荷を与えたマウスがストレス誘発型難聴モデル動物となりうるか、検討した。本学術集会では、現在までの成果を紹介する。

P-04 eラーニングシステム GLEXA を用いた人体解剖学実習における反転学習

○上村 守¹⁾、戸田 伊紀¹⁾、上村 竜也¹⁾、角 陽一²⁾、諏訪 文彦¹⁾

¹⁾ 大阪歯科大学 解剖学講座

²⁾ 大阪歯科大学 大学院歯学研究科 解剖学専攻

GLEXA は、オンライン学習・リモート研修・オンデマンド講習などのプラットフォームとして多くの企業研修やリカレント教育の現場で採用されている eラーニングシステムである。本学に 2020 年に導入され、コロナ禍による緊急事態宣言下でも 2020 年度・2021 年度人体解剖学実習 (解剖学 II) で使用した。以下、GLEXA は、SHISHIN-WEB (創立 100 周年マスコットキャラクター歯神さんより) と本学の呼称とし、2021 年度シラバスに基づき紹介したい。本学第 2 学年 126 名を奇数班と偶数班に 2 分割し、一方が実習を行っている間は自宅でオンデマンド講義を受講させ反転授業を実施した。20 班 20 遺体で各班は 3~4 人となり、密が回避され、少人数実習が可能となった。また、実習内容を事前に聴講していることから、実習説明を省くことができ、実習効率を高めることができた。その結果、中間試験、本試験の成績の向上がみられ、学生からの評価も高かった。アフターコロナにおいても、反転授業を実施することで、より良い人体解剖学実習を実施できると考える。

P-05 カダバー・サージカル・トレーニングを用いた歯科インプラント上顎洞底挙上の術式展開

牧草 一人¹⁾、安田 久理人¹⁾、江原 大輔¹⁾、桑原 明彦¹⁾、角 陽一²⁾、上村 守¹⁾

¹⁾ 大阪歯科大学 解剖学講座

²⁾ 大阪歯科大学 大学院歯学研究科 解剖学専攻

① 献体を使用した手術手技研修 (カダバー・サージカル・トレーニング: 以下 C S T) においては、医科の分野で文部科学省指導のもと活発に実施されている。しかし、歯科の分野においては、開催回数も少なく、参加人数も少ないのが現状である。また、海外に渡航し、C S T を実施する専門学校・研究会も存在し、高額な費用を必要とする。そこで、歯科大学という利点を活かし、安価で、安全に、しかも短時間で手術手技がマスターできるように「C S T を用いた歯科インプラント上顎洞底挙上の術式展開」を大阪歯科大学 C S T 委員会公認第 1 回歯科医師のための C S T (2021 年 9 月 11 日 (土)、12 日 (日)) の中で実施した。C S T 参加者は 31 名 (歯科医師 20 名インストラクター歯科医師 5 名、歯科衛生士 6 名) であった。4 遺体を SSS 法による防腐法で使用した。人体解剖学実習の心得、解剖学各論の講義のあと、上顎の人体解剖学実習 (上顎洞)、鼻腔周囲、臼歯部遠心側 (大口蓋孔、上顎結節遠心部) を行った。内容として、C T 像によるカンファレンス指導、上顎洞頰側粘膜炎の剥離、外側壁の開窓、ラウンドバーの手技、上顎洞骨壁の骨膜と粘膜上皮 (シュナイダー膜の違い)、粘膜剥離、柳刃を使っての粘膜の挙上、鼻腔側までの十分な剥離とそのテクニック等を実習として実施した。なお「大阪歯科大学 C S T 委員会」、「医の倫理委員会」の許可を得て行われた。

P-06 イヌ下顎骨下顎体における骨膜の微細血管鋳型構築

桑原 明彦、盛植 紘太郎、平山 和幸、上村 守
大阪歯科大学 解剖学講座

骨膜の微細血管構築の形態は年齢、骨の種類、部位によって異なることから骨膜の形態学的特徴を調査した。成雄性イヌ 4 頭中 2 頭は、硬・軟組織を除去した微細血管鋳型標本に、1 頭は、軟組織を除去した骨・微細血管同時鋳型標本作製に使用した。下顎骨前臼歯部の歯槽頂から下顎底部までの頰側骨膜を走査顕微鏡で観察した。残る 1 頭は、組織標本とした。頰側骨膜の外層には血管網が観察されなかったが、内層には観察された。内層は、付着歯肉・歯槽粘膜・移行・基底部分けることができた。付着歯肉部では、細静脈網は歯槽粘膜部よりも粗く、網目内には静脈性毛細血管網は認められなかった。歯槽粘膜部では、細かい細静脈網は、他のどの部位よりも細かった。粗い細静脈網は細かい細静脈網の中の所々に散在していた。骨膜を貫通する線維束の存在によって粗い細静脈網が存在すると考えられた。移行部では、歯槽粘膜部の細静脈網より粗い細静脈網となっており、細静脈網内には細い静脈性毛細血管網が多く認められた。基底部では、細静脈網は他のどの部位よりも粗くとなっており、この細静脈網内には静脈性毛細血管網が認められた。付着歯肉・歯槽粘膜・移行部の骨膜は下顎体の歯槽部に相当し、基底部の骨膜は下顎体の下部の骨に相当して基底部は影響を受けにくい。従って、歯槽部は、基底部より骨代謝が高いため、歯槽部骨膜の血管網は基底部より細くなると考えられた。

P-07 肥満2型糖尿病モデルラットにおける上顎第一臼歯口蓋側歯肉の粘膜下結合組織と毛細血管の形態学的研究

角 陽一¹⁾, 上村 竜也²⁾, 大草 亘孝³⁾, 戸田 伊紀²⁾, 上村 守²⁾

¹⁾大阪歯科大学 大学院歯学専攻 解剖学専攻

²⁾大阪歯科大学 解剖学講座

³⁾大阪歯科大学 歯科法医学室

肥満は生活習慣病の1つで、2型糖尿病の主要な危険因子の1つで、BMIが25以上であるのは世界人口の約33%と報告されている。しかし、肥満2型糖尿病(ODM)において、口腔諸器官を調査した報告はない。そこで、ODMモデルラットにおける上顎第一臼歯口蓋側歯肉の粘膜下結合組織と毛細血管について、正常ラットと比較し、形態学的差異を検索した。ODM群として生後8週齢SDT fatty雄性ラット9匹(体重:約303g、空腹時血糖値:約123mg/dL、HbA1c:約5.3%)、正常群として同週齢SD雄性ラット9匹(体重:約262g、空腹時血糖値:73mg/dL、HbA1c:約3.7%)を用いた。両群各3匹は上皮剥離標本にし、粘膜下結合組織の表面形態を観察した。両群各3匹は組織標本にし、結合組織乳頭の形態を観察し、断面積と高さを計測した。両群各3匹は微細血管鑄型標本にし、形態を観察し、毛細血管の直径を計測した。上顎第一臼歯口蓋側歯肉において、ODM群の結合組織乳頭の高さは低く、毛細血管網の網目は楕円形様で、網目上縁の走行は波状を呈していた。正常群の結合組織乳頭の高さは高く、毛細血管網の網目は長方形様で、網目上縁の走行は直線状を呈していた。結合組織乳頭の断面積、結合組織乳頭の高さ、毛細血管の直径は、ODM群が正常群より全ての値で、有意に小さかった。以上のことから、ODMラットの上顎第一臼歯口蓋側歯肉において、高血糖は、結合組織乳頭の断面積と高さに退行性変化を、毛細血管に糖尿病性細小血管症を引き起こしていた。

P-08 C5a誘導性NGF発現におけるSorting Nexinの機能と疼痛行動の関与

三谷早希¹⁾, 田中達英²⁾, 石西綾美²⁾, 辰巳晃子²⁾, 百田義弘¹⁾, 和申中生²⁾

1 大阪歯科大学 歯学部 歯科麻酔学講座

2 奈良県立医科大学 医学部 解剖学第2講座

NGFは炎症性疼痛に深く関与することが知られているが、NGFが疼痛を惹起するメカニズムは不明な点が多い。マウスの足底部にComplement C5a(C5a)をinjectionすると疼痛行動を示し、また真皮マクロファージにおいてNGF発現が亢進することが知られている。Sorting Nexin(SNX)は膜レベラドレックシグナルなどに関与するタンパク質ファミリーであり、その一部は免疫系にも寄与する。これまでに我々はSNX25欠損マウスでNGF発現が減弱することを見出し、今回我々は、マクロファージcell-line, J774.1を用いてSNX25がNGF発現にどのように関与しているかを細胞レベルで検討した。J774.1をC5aで処理すると30minでNGFおよびSNX25発現が亢進した。また、C5a誘導性NGF発現はSNX25 siRNAにより減弱することがウエスタンブロット法で明らかにした。また、SNX25欠損マウスとWTマウスの足底にC5aを注射してvon Frey testを行ったところ、WTマウスでは疼痛閾値が顕著に低下するのに対し、SNX25欠損マウスでは低下しなかった。このことから、SNX25はC5a誘導性NGF発現と疼痛行動に関与することが示唆される。

P-09 乳癌より分泌されるエクソソームとセンチネルリンパ節前転移ニッチのリモデリング

柴田雅朗¹⁾, 伊藤裕子²⁾, 白岡千夏¹⁾, 近藤洋一¹⁾

1)大阪医薬大・医・解剖学、2)大阪医薬大・医・消化器外科学

【目的】癌転移の成立には、転移に適した微小環境が重要である。エクソソームが転移予定臓器に到達し、前転移ニッチの形成に関与するという報告がある。そこで今回、マウス乳癌転移モデルを用いて、転移前後のセンチネルリンパ節(SLN)の形態学的・分子生物学的変化と転移前SLNにおけるエクソソームの電顕的解析を行った。【方法】転移性マウス乳癌細胞株をBALB/cマウス雌に移植し、移植後の3~7週に経時的に屠殺した。SLNについて病理組織学的ならびにmiRNAの網羅的解析を行った。また、乳癌組織分泌のエクソソームがSLNに到達しているか否かを確かめるために、エクソソームにヒトCD63融合GFPを発現させるベクターを乳癌細胞に対して遺伝子導入し、安定的発現株BJMC3879Luc2-hCD63を樹立した。その細胞株を移植の後、転移前SLNについて、ヒトCD63に対する免疫電顕を行い、エクソソームの観察を行った。【結果】移植後4週目の転移前SLNではLYVE-1陽性の顕著なリンパ洞過形成(前転移ニッチ)が生じ、転移後ではその程度は軽度となった。それを裏付けるように、VEGF-Cを抑制するエクソソームmiRNAあるいはSLN中のmiRNAが、転移前と比較して、転移後では著しい上昇を示していた。また、BJMC3879Luc2-hCD63の移植乳癌では、転移前SLNのリンパ洞内にヒトCD63⁺エクソソームが観察された。【考察】SLNにおける転移前から転移後にかけてのリンパ洞過形成のリモデリングには、エクソソームの関与が示唆された。(COI:なし)

P-10 自閉スペクトラム症モデルマウスにおける大脳皮質の形態学的特徴

白井紀好^{1,2,3)}, Berto Stefano⁴⁾, 小西彩海¹⁾, 入江浩一郎¹⁾, 小山佳久^{1,3)}, 中村雪子^{1,3)}, 近藤誠^{1,3,5)}, 松崎秀夫^{2,6)}, Konopka Genevieve⁷⁾, 島田昌一^{1,2,3)}

¹⁾阪大・院医・神経細胞生物、²⁾阪大・院連小児、³⁾大阪精神医療・こころ・依存、⁴⁾サウスカロライナ大・神経科学、⁵⁾大阪市大・院医・器管構築形態、⁶⁾福井大・子ども、⁷⁾テキサス大・神経科学

自閉スペクトラム症の発症メカニズムについては未だ不明な点が多い。我々はこれまで原因遺伝子の機能解析を行い、脳の発生・発達における役割を個体レベルで明らかにしてきた。自閉症関連遺伝子であるZbtb16転写因子のノックアウトマウスは社会性行動の低下と反復行動の増加という自閉スペクトラム症様の行動異常を示した。自閉スペクトラム症様の病態メカニズムを解明するため遺伝子発現解析を行い、Zbtb16ノックアウトマウスで発現が変動する533個の遺伝子を同定した。同定した遺伝子の多くが神経発生やミエリン形成に関与することが示唆されたので、Zbtb16ノックアウトマウスの脳の組織学的解析を行い、大脳皮質の薄層化を見出した。また、Zbtb16ノックアウトマウスではオリゴデンドロサイトが減少し、大脳皮質のミエリン形成が障害されていることを見出した。以上から、Zbtb16による大脳皮質を中心とした神経回路の障害が自閉スペクトラム症の病態形成の一因であることを見出した。

P-11 神経発達障がいモデルマウスにおける眼球運動異常のメカニズムの解明

入江 浩一郎¹⁾²⁾, 白井 紀好¹⁾³⁾⁴⁾, 島田 昌一¹⁾³⁾⁴⁾

¹⁾大阪大学・院医・神経細胞生物学 ²⁾大阪大学・院医・共同研

³⁾大阪大学・院連小児 ⁴⁾大阪精神医療センター・こころの科学・依存症

自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder; ASD)は社会的コミュニケーション・対人の相互反応の障がい、限定された反復行動・興味を呈する神経発達障がいである。これまでにASDや注意欠如・多動症を含む神経発達障がいにおいて眼球運動の異常が報告されており、新たな客観的診断方法としての活用が期待されている。しかしながら、眼球運動異常を引き起こすメカニズムは未だ解明されていない。

本研究では眼球運動異常を引き起こすメカニズムの解明および眼球運動の異常による客観的診断方法の確立を目的とし、ASDモデルマウスを用いた眼球運動の評価、およびモデルマウス脳における眼球運動関連領域の組織学的解析を行った。その結果、ASDモデルマウスにおいて眼球運動数の減少が観察された。さらにASDモデルマウス脳における眼球運動領域において成熟神経細胞数の減少が観察された。

P-12 腹膜炎におけるランソプラゾールのマクロファージ遊走作用

○山本 悠太、山岸 直子、伊藤 隆雄、金井 克光

和医大・医・一解

プレオマイシンは抗がん剤として扁平上皮癌などの治療で用いられるが副作用に肺線維症があり、実験医学的には肺線維症モデルを作製する薬剤として用いられる。我々は胃潰瘍薬ランソプラゾールがラット肝臓において抗酸化ストレスタンパク質であるヘオキシゲナーゼ1の発現を亢進させる作用がありその結果薬剤性の肝炎を軽減させる効果を見出した。さらに非アルコール性脂肪肝炎モデルでTgfβの活性化抑制を介して肝線維化を抑制したため、肺線維化の抑制にも利用できないかと思いを検討を行った。ラットにランソプラゾール(LAP)、プレオマイシン(BLM)またはプレオマイシンとランソプラゾール(LAP+BLM)を28日間皮下投与により投薬後に臓器を採取したところ、肝臓を覆う臓膜の肥厚を肉眼で確認した。このため、肝臓の臓膜に着目し組織学的解析を行った結果、LAPまたはBLM群では認めない臓膜の強い肥厚をLAP+BLM群で認めた。さらに、LAP+BLM群では免疫組織化学により肥厚した臓膜にマクロファージを認め、TgfβおよびCol1a1の遺伝子発現の増加をリアルタイムPCRにより認めた。さらにマクロファージが遊走するメカニズムを明らかにするため、肝臓の漿膜周辺部において発現が変化するサイトカイン類の遺伝子発現解析を行ったところケモカインのMcp1の発現がLAP+BLM群でのみ有意に増加していた。プレオマイシンおよびランソプラゾールはいずれも臨床で用いられる医薬品であり、この組み合わせは禁断とは言われていない。今後は後ろ向き研究を行い、この現象がヒトで確認されるか検討を行いたい。

P-13 カテキンの徐放速度の違いが骨形成に及ぼす影響鞆 雅楠¹、田中 知成²、本田 義知³、山本 一世¹¹大阪歯科大学歯科保存学講座；²京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科バイオペースマテリアル学専攻；³大阪歯科大学口腔解剖学講座

【背景】緑茶に含まれるカテキンである没食子酸エピガロカテキン(EGCG)は、抗酸化、抗炎症作用など様々な生理活性機能を有することが報告されている。過去の演者等の研究において、EGCGを化学的に結合させたゼラチンスポンジや同材料に真空加熱を施したスポンジが、ラット頭蓋冠臨界骨欠損部位などにおいて優れた骨再生能を持つことを明らかにしてきた。しかし、ゼラチンとEGCGの化学結合の有用性については解明の余地を残す。本研究では、EGCGの徐放速度が異なる2種類のEGCG修飾ゼラチンスポンジを用い、骨形成能を評価することを目的とした。

【材料および方法】EGCGで化学修飾した真空加熱ゼラチンスポンジ(AC-vhEGCG-GS)とEGCGを単純混合させた真空加熱ゼラチンスポンジ(NC-vhEGCG-GS)を作製した。AC-vhEGCG-GSは、水中での脱水縮合反応によってEGCGをゼラチンに化学結合させ、その後凍結乾燥と真空加熱を行いスポンジを作製した。NC-vhEGCG-GSは、EGCGとゼラチンを単純混合した溶液を調製した後、同手順を使用して作製した。材料の3次元構造を走査型電子顕微鏡にて評価した。また、リン酸緩衝塩溶液に浸漬し材料の溶解性を、ELISA測定によりEGCGの残存率を測定した。骨形成能と新生骨の骨質(コラーゲンの成熟度)は、ラット頭蓋骨に作製した9mmの臨界骨欠損モデルに材料を埋入し、4週後に組織学的評価を行い見積もった。

【結果及び結論】2種類のスポンジで、顕著な形状の差は認められず、材料の溶解性においても差は認められなかった。一方、NC-vhEGCG-GSは1時以内にほぼ100%のEGCGを放出したが、AC-vhEGCG-GSは24時間まで75%近くのEGCGを保持していた。また、in vivo実験でAC-vhEGCG-GS埋入群では骨形成が有意に優れていた。EGCGの化学結合の有無は、生体内での骨形成機能に影響を与えることが示された。