

日本解剖学会

第77回九州支部学術集会

会期：令和3年10月23日（土）
会場：Web 開催（Zoom）

SL-1 膀胱の進展に関わる分子メカニズムの解明と治療応用

泥谷直樹
大分大学医学部分子病理学講座

難治癌である膀胱の治療成績を改善するには、膀胱の進展に関わる分子メカニズムの解明が不可欠である。膀胱は尿管上皮内腫瘍から上皮内癌を経て浸潤性膀胱へと段階的に進行すると考えられている。このうち低異型度の尿管上皮内腫瘍から上皮内癌への進展過程では、遺伝子異常の段階的蓄積モデルが支持されている。しかし上皮内癌から浸潤癌への進行に関わるメカニズムの詳細は不明であった。私はその解明を目的として、浸潤過程で付加されるゲノム異常の同定を試みた。同一の膀胱症例に共存する上皮内癌と浸潤癌を回収しゲノム異常を比較することにより、浸潤癌特異的なゲノム異常として 8p11.22-ter 領域の片アリル欠失を同定した。さらに、トランスクリプトーム解析によりこの領域で発現低下する 9 遺伝子を抽出し、機能解析により新規がん抑制遺伝子候補として DUSP4 と ZNF395 を同定した。

DUSP4 は ERK を不活化する脱リン酸化酵素である。その発現低下に伴う ERK シグナルの恒常的活性化が癌細胞の増殖能の亢進に寄与すること、そして ERK シグナルが有望な治療標的になりうることを見いだした。一方、ZNF395 の発現低下はストレス応答 MAPキナーゼである JNK の不活化をもたらす、増殖能を亢進させることを明らかにした。

以上の知見は、膀胱においては 8p 欠失による DUSP4 と ZNF395 の発現低下が上皮内癌から浸潤癌へ進行するために重要であることを示している。【開示すべき COI なし】

SL-2 臨床応用のための顔面の肉眼解剖について

渡部 功一
久留米大学医学部 解剖学講座 肉眼・臨床解剖部

顔面は人体において最も機能的、形態的に重要な部位であり、その外見は社会的なコミュニケーションにおいて非常に重要な役割を持っている。また、解剖学的にも多くの神経血管が混在し、これらの全容の三次元的な解剖を理解することは困難である。

近年、顔面軟部組織の解剖は、抗加齢医療の進化とともに新たな発見が相次いでいる。これらの肉眼解剖研究には、凍結新鮮屍体を用いられることが多い。これは、手術所見と同様の所見を得るために、できるだけ生体に近い状態で解剖が必須であるとされているからである。これに対し、従来の肉眼解剖学的研究では、ホルマリン固定屍体を使用することが一般的であるが、組織が硬いために繊細な解剖を行うことは困難であった。また、解剖の手順は皮膚、皮下脂肪、表情筋と、浅層から深層に向かって順番に剥離、切除していくために、SMASやretaining ligamentなどといった近年発見された軟部組織の構造を確認することは困難であった。このため多くの解剖学者にとって、これらの構造物は実際に確認することができない構造であった。

我々は、顔面軟部組織の断面を作成した上で解剖を行う新たな解剖方法を開発した。この方法では、顔面の構造物の中でも特に線維組織やその連続性を容易に確認することが可能である。また、軟部組織の層構造、線維や神経血管などの各種組織の深層から浅層への連絡などの確認も容易である。今回の発表では、我々の新たな方法の詳細を紹介するとともに、それによる所見と柔らかな固定法であるブリザーブ法固定屍体での肉眼解剖学的所見を提示し、それらに対比しながら観察していきたい。【開示すべき COI なし】

OP1-1 諸富町大字為重地先から出土した古人骨について

○館川 大輔¹、竹下 直美²、大野 憲五²、川久保 善智¹、倉岡 晃夫¹
¹佐賀大学医学部 生体構造機能学講座 解剖学・人類学分野
²佐賀大学医学部 社会医学講座 法医学分野

【背景と目的】江戸時代の北部九州人の人骨資料は、関東に比べて著しく少ない。その中でもある程度まとまった数が発掘されている福岡市博多区の天福寺遺跡の人骨は、関東の江戸時代人と比較して強い長頭性や現代人に匹敵するほどの高顔性を示すことが先行研究によって明らかにされている。しかし、同遺跡は当時の都市部に位置し、中世には中国との貿易で栄えた国際都市でもあったため、これらを当時の一般的な北部九州人とみなすことには疑問が残る。本研究の目的は、近年、佐賀市諸富町で発掘された江戸時代人骨の調査を通して、北部九州の江戸時代人の地域的・時代的特徴を明らかにすることである。

【資料と方法】2018年、佐賀市諸富町大字為重地先で、有明沿岸道路の工事現場から100体近い江戸時代人骨が出土した。これらのうち保存状態が良好な成人男性21体の頭蓋を清掃・修復し、資料として用いた。計測方法はMartin and Saller(1957)とYamaguchi(1973)の方法に準じ、日本列島各地の時代や地域の異なる集団との比較を目的として、JMP ver.16(SAS Institute Inc.)およびExcel 365(Microsoft)を用いて単変量および多変量分析を行った。

【結果と考察】諸富の江戸時代人の頭蓋は長頭性を示し、顔面部については、上顔高が中上顔で、眼窩部が中眼窩、鼻部が広鼻に属していた。頭蓋計測12項目と顔面平坦度に基づくマハラノビス距離ならびに主成分分析では、山口の中世遺跡である吉母浜と北部九州現代人の間に位置していたことから、地域性や時代変化の方向性が明瞭となり、天福寺よりむしろ諸富の方が北部九州の江戸時代人資料として相応しい可能性が示唆された。

OP1-2 マウス海馬のコンドロイチン硫酸の発現と神経新生に対するリガ多糖 (LPS) とセサミンの作用に関する集学的解析

○前田祥一郎¹、征矢茉莉子¹、山田純¹、神野尚三¹
¹九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

ヒトを含む哺乳類の海馬で生涯に渡って産生される新生ニューロンは、認知・情動機能の制御に深く関わっている。我々は最近、新生ニューロンの産生が植物由来エストロゲン（フィトエストロゲン）の一種であるダイゼンによって促進される可能性があることを報告したが、その機序は現在も分かっていない。このため我々は、細胞外マトリックスのコンドロイチン硫酸が神経新生の重要な制御因子であるという自らの知見を踏まえ、その解明に取り組んだ。本研究では、経口投与後に脳内に移行することが確認されているフィトエストロゲンの一種であるセサミンを用いた。実験には、リガ多糖 (LPS) を投与した神経炎症モデルマウスを使用し、セサミンと LPS による成体海馬神経新生、認知・情動機能、コンドロイチン硫酸とその関連遺伝子の発現レベルの変化を集学的に検討した。免疫組織化学的解析では、セサミンによって海馬歯状回の神経前駆細胞・新生ニューロンの分布密度とコンドロイチン硫酸の発現レベルが上昇することが示された。恐怖条件付け試験では、LPS によって障害される文脈記憶がセサミンによって回復していた。また、アムパルス抑制試験では、LPS によって感覚運動ゲーティング機能が低下し、セサミンによって上昇していた。定量 PCR 解析では、コンドロイチン硫酸合成酵素と脳由来神経栄養因子 (BDNF) の遺伝子発現レベルがセサミンによって上昇していた。本研究の結果は、セサミンはコンドロイチン硫酸の発現上昇を介して成体海馬神経新生を促進し、神経炎症に関連した認知機能障害を改善する可能性があることを示唆するものである。【開示すべき COI なし】

OP1-3 褐色脂肪組織と白色脂肪組織の微視的解析—UCP1 タンパク質発現の差について

董曉敏¹、千葉政一¹、島田達生^{2,3}、濱田文彦¹
1 大分大学医学部解剖学講座
2 大分大学名誉教授
3 大分医学技術専門学校

【背景と目的】褐色脂肪組織はミトコンドリア内に uncoupling protein 1 (UCP1) を持つ褐色脂肪細胞から構成され、有胎盤哺乳類の動脈周囲に分布し、体温恒常性維持および過酸化反応制御を担う。近年、全身の白色脂肪組織が寒冷やカテコラミン刺激によりミトコンドリア内膜に UCP1 蛋白質を発現し褐色脂肪組織化することが広く報告され始めた。一方で、UCP1 蛋白質の発現を in situ で定量評価する方法として免疫化学染色を用いた透過型電子顕微鏡解析が知られている。今回我々は電子顕微鏡を用いた in situ による褐色脂肪組織への UCP1 蛋白質発現の定量評価方法の有用性について免疫組織化学的に解析した。【方法】C57BL/6 雄性 10 週令マウスの白色脂肪組織および褐色脂肪組織を用いた。抗 UCP1 抗体を用い、凍結サンプルについてウェスタンブロット法を、選流/浸潤固定したサンプルについて EnVision 法/物理現像法/蛍光免疫染色法および免疫組織化学染色による透過型電子顕微鏡解析を、それぞれ行った。【結果】白色脂肪組織では UCP1 蛋白質の発現はほぼ認められなかったが、褐色脂肪組織において抗 UCP1 抗体への有意な免疫組織化学反応が認められた。特に免疫電顕的解析で褐色脂肪組織ミトコンドリアのクステ内膜に一致した免疫組織化学反応が集中して観察できた。この免疫電顕的な組織化学反応は客観的に計測することが可能だった。【結語】以上より、褐色脂肪組織の UCP1 タンパク質発現の定量的な in situ 解析法として、透過型電子顕微鏡を用いた免疫電顕的解析が有用である可能性が示唆された。

OP2-1 大分県先哲叢書、田原淳資料集の発刊

島田達生
大分医学技術専門学校

1906年に田原淳が発見した心臓刺激伝導系は、心拍動の神経原説を覆し、筋原説を定着させた。田原の刺激伝導系の発見は、アインフォーヘンによる心電図の解説や心臓ペースメーカーの開発にも繋がった。国内外の解剖学や生理学、病理学、内科学の教科書には、心臓の房室結節を別名田原結節という名で記載されている。このように、田原淳は、医学・医療界に広く知られているが、一般人々にはほとんど知られていない。第4回学士恩賜賞の受賞者は田原淳であり、第5回が野口英世である。野口英世を知らない国民はいないが、田原は出身の大分県民にでもほとんど知られていない。なぜだろうか？

演者は当時東京女子大学第二病院須磨幸蔵心臓外科教授とともに、原著「Reizleitungssystem des Säugtierherzens. Eine anatomisch-histologische Studie über das Atrioventrikularkarbindel und die Purkinjeschen Fäden. 哺乳動物心臓の刺激伝導系、房室束とプルキンエ線維の解剖組織学的研究」復刻した。さらに、原著の和訳、田原淳顕彰シンポジウム、単行本、漫画、NHKドキュメント等の顕彰活動を約40年間続けた。

平成30年3月に、「大分県先哲叢書、田原淳資料集」が大分県教育委員会から発行された。監修者は島田達生。さらに、令和2年3月に、解説書である『評伝田原淳』が発刊された。

来年2023年は、田原淳生誕150年を迎える。

OP2-2 社会的敗北ストレスに抵抗性を示すマウスに特異的なミクログリアの形態学的フェノタイプ

○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

ミクログリアは脳に分布する免疫細胞である。先行研究によって、ミクログリアがストレスによって惹起される神経炎症に関与していることが示され、うつ病などの精神疾患の病態基盤をミクログリアの視点から理解する研究が進展している。一方、近年利用が進んでいる「社会的敗北ストレスモデル」では、ストレスに対して脆弱な個体と抵抗性を示す個体が存在することが明らかにされているが、ストレス抵抗性の差異を生み出すメカニズムの詳細は不明である。本研究で我々は、「社会的敗北ストレスモデル」を用いてストレス抵抗性とミクログリアの関連についての基礎研究に取り組んだ。実験では、大型のICRマウスに小型のC57BL/6J(B6)マウスを攻撃させ、身体的・精神的ストレスを与えた。ストレスに曝露したB6マウスを、ストレス脆弱性群と抵抗性群に分け、海馬ミクログリアの形態学的検討を行った。オプティカルイメージング解析では、脆弱性群のB6マウスでのみ、海馬CA1領域のミクログリア空間分布密度が増加していることが示された。三次元再構築から得られた形態学的パラメータのクラスター解析を行ったところ、脆弱性群のB6マウスでは、複雑性が低下したamoeboid様のミクログリアの増加し、抵抗性群のB6マウスでは、複雑性が増加したhyper-ramified様のミクログリアが増加していることが明らかになった。これらから、ストレス抵抗性の違いを生み出すメカニズムには、海馬ミクログリアの形態学的フェノタイプの差異が関わっている可能性が示唆される。現在、ミクログリアの形態学的フェノタイプとシナプスとの関係について、画像間演算による解析に取り組んでいる。地方会の発表では、脆弱性群と抵抗性群のミクログリアの機能的フェノタイプの差異についても議論する予定である。【開示すべきCOIなし】

OP2-3 抗認知症薬メマンチンによるコンドロイチン硫酸量の増加を介した成体海馬神経新生の促進

○山田純¹、前田祥一郎¹、飯沼今日子¹、神野尚三¹
¹九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学

NMDA受容体拮抗薬であるメマンチンは、抗認知症薬として用いられている。近年の研究によって、メマンチンによる海馬の神経新生促進が抗認知症作用に関わっている可能性が報告されているが、詳細は不明である。これまでに我々は、コンドロイチン硫酸が海馬の神経新生を促進する可能性を報告していることから、メマンチンが海馬神経新生を促進する作用機転として、コンドロイチン硫酸が関与する可能性を検討した。実験では、海馬の神経新生が低下している加齢オスマウスを使用し、メマンチンの腹腔内投与を行った。既報の通り、海馬歯状回の新生ニューロンの密度はメマンチン投与マウスの方がsaline投与マウスよりも高いことを確認した。次に、*Wisteria floribunda* agglutinin (WFA)を用いて海馬のコンドロイチン硫酸のレクチン標識を行い、組織学的検討を行ったところ、メマンチン投与マウスの方がsaline投与マウスよりも海馬のコンドロイチン硫酸量が多い可能性が示唆された。また、メマンチン投与マウスでは、コンドロイチン硫酸の合成に関わる酵素群の遺伝子発現が増加していた。さらに、恐怖条件付試験を指標とした行動実験の結果、メマンチン投与マウスの方がsaline投与マウスより記憶の保持機能が優れていることを見出した。最後に、コンドロイチン硫酸分解酵素(コンドロイチナーゼABC)を海馬に注入したマウスに、メマンチンを腹腔投与したところ、神経新生の促進や恐怖記憶の保持機能向上は認められなかった。以上の結果は、メマンチンの抗認知症作用には、コンドロイチン硫酸量の増加を作用機転とする海馬神経新生の促進に関与している可能性を示唆している。【開示すべきCOIなし】

OP2-4 マウス脚内核のニューロン上に局在する軸索終末の免疫組織化学的解析

○宮本雄太、永田陸、福田孝一
熊本大学大学院 生命科学部 形態構築学講座

齧歯類の脚内核は、大脳基底核を構成する神経核の一つであり、霊長類の淡蒼球内節に相当する領域です。基底核の出力部に位置する脚内核は、線条体、視床下核、淡蒼球外節から主な入力を受け、基底核外部へと投射します。脚内核は、視床の運動核に投射しているParvalbumin(PV)陽性ニューロンと外側手綱核へ投射しているSomatostatinおよびNitric oxide synthase(NOS)陽性ニューロンから構成されます。線条体、視床下核、淡蒼球外節から脚内核への入力は、それぞれ各領域の投射ニューロンであるSubstance P陽性GABAニューロン、グルタミン酸作動性ニューロンそしてPV陽性GABAニューロンが担っていますが、脚内核におけるこれらのニューロンの終止部位については不明確なままです。

本研究では、マウスの脚内核を構成するPVおよびNOS陽性ニューロンの細胞体上で線条体、視床下核、淡蒼球外節の投射ニューロンに由来する軸索終末がどのような局在を示すのかを免疫組織化学を用いて検討しました。脚内核のPV陽性ニューロンの細胞体上にはGABA合成酵素であるGADとPVの二重陽性を示す軸索終末が多数局在していました。一方、NOS陽性ニューロンの細胞体上では、主にGADのみ陽性の軸索終末の分布が観察されました。グルタミン酸作動性ニューロンからの入力を示すvGluT2陽性軸索終末の局在は、PVよりもNOS陽性ニューロンの細胞体上でより多く認められました。

以上の結果は、脚内核に収束する他の基底核領域からの入力が決して均一ではなく、脚内核を構成するニューロンの種類によって異なる神経回路を構築している可能性を示唆しています。【開示すべきCOIなし】

OP3-1 骨格筋損傷後のリンパ管の分布・形態変化—伸長性収縮による筋損傷モデルマウスを用いて—

○田村悠磨¹、川島隆史^{1,2}、紀瑞成^{1,3}、縣信秀⁴、伊東佑太⁵、河上敬介^{1,3}
¹大分大学大学院福祉健康科学研究科健康医学コース、²大分大学大学院医学系研究科解剖学講座、³大分大学大学院医学系研究科理学療法研究領域、⁴常葉大学保健医療学部理学療法学科、⁵名古屋学院大学リハビリテーション学部理学療法学科

リンパ管は様々な組織の炎症時に分布・形態が変化し、その回復過程において重要な役割を担うとされている。しかし、骨格筋損傷後に起こる炎症時やその回復過程におけるリンパ管の変化については不明であり、当然その役割についても明らかになっていない。そこで本研究の目的は、骨格筋損傷モデルマウスを用いて筋損傷後のリンパ管の分布・形態変化について明らかにすることである。10週齢のC57BL/6Jマウスの左前脛骨筋に対し、筋を収縮させながら引き伸ばす伸長性収縮(lengthening contractions:LC)を与え、筋損傷モデルを複製したLC群とした。LC群は筋採取時期の違いによって2day群、4day群、7day群に細分化した。採取した筋に対し、HE染色を実施し、筋線維の形態変化を観察した。連続切片に対し、抗LYVE-1抗体を用いて免疫染色を施し、リンパ管の数と面積を測定した。さらにReal-Time RT-PCRを用いてリンパ管新生因子(VEGF-C/D)とその受容体(VEGFR-3)のmRNA発現量を測定した。さらに筋機能評価として最大足関節屈トルクも測定した。各項目をLC非実施のControl(CON)群と比較した。HE染色像より、損傷した筋線維の回復過程でみられる中心核線維の割合が7day群で多く観察されたが、他の群ではほとんど観察されなかった。リンパ管の数や面積は他の群に比べ4day群で有意に大きい値であり、各mRNA発現量も他群に比べ4day群で有意に大きい値であった。最大足関節屈トルクはCON群に比べLC群で有意に小さかったが、7day群では2day群や4dayに比べ有意に大きかった。以上より、骨格筋損傷後のリンパ管の分布・形態変化が筋の回復に先行して起こることが明らかとなった。【開示すべきCOIなし】

OP3-2 廃用性筋萎縮時に生じるマウスヒラマ筋内リンパ管の分布応答

○川島隆史^{1,2}、田村悠磨²、紀瑞成^{2,3}、縣信秀⁴、伊東佑太⁵、濱田文彦¹、河上敬介^{2,3}
¹大分大学大学院医学系研究科解剖学講座、²大分大学大学院福祉健康科学研究科健康医学コース、³大分大学大学院医学系研究科理学療法研究領域、⁴常葉大学保健医療学部理学療法学科、⁵名古屋学院大学リハビリテーション学部理学療法学科

リンパ管は組織からの老廃物を回収する役割を持ち、高エネルギー代謝を行う骨格筋の機能にも重要な役割を果たすと考えられる。よって、筋の萎縮や肥大により分布変化が生じる可能性があるが、骨格筋内リンパ管の分布応答に関しての報告は、正常筋の分布状態も含めてほとんどない。そこで我々は、廃用性筋萎縮時のマウスヒラマ筋のリンパ管数およびリンパ管新生因子の変化とそのメカニズムの一端を検証した。

マウスを2週間/4週間の尾部懸垂群と、同週齢の対照群に振り分け、飼育終了後に各群から採取したヒラマ筋の連続横断切片に対し、HE染色、抗LYVE-1抗体および抗CD31抗体を用いた二重免疫染色を実施し、筋萎縮の程度やリンパ管数、毛細血管数を評価した。さらに、Real-Time RT-PCRを実施し、リンパ管新生因子(VEGF-C/D)とその受容体(VEGFR-3)のmRNA発現量を測定した。その結果、ヒラマ筋横断面積は、尾部懸垂2週間で減少し、その後4週間までは変化がなかった。対照群と比べたリンパ管数は2週間の尾部懸垂で変化がなかったが、その後4週間で減少した。4週間の尾部懸垂群では、対照群と比べVEGF-C/DのmRNAが減少した。なお、毛細血管数は、尾部懸垂2週間で減少し、その後4週間までは変化がなかった。

本研究の結果から、廃用性筋萎縮に伴い毛細血管数とリンパ管数が減少し、リンパ管数が減少する時期は毛細血管に比べて遅いことが明らかになった。これには、毛細血管とリンパ管の役割の違いが影響していると考えられる。また、リンパ管数の減少には、VEGF-C/Dの減少が関与していることが示唆された【開示すべきCOIなし】。

OP3-3 肺癌治療における選択的リンパ節郭清の解剖学的検討 -肺門・縦隔リンパ系の解剖学的解析-

○安部 美幸^{1,2}、三浦 真弘²、濱田 文彦²、杉尾 賢二¹

¹大分大学 医学部 呼吸器・乳腺外科学講座

²大分大学 医学部 解剖学講座

【背景・目的】原発性肺癌に対するリンパ節(LN)郭清は、上縦隔から下縦隔までの広範囲を郭清する「系統的 LN 郭清」が標準手術である。近年、早期肺癌に対する低侵襲手術として、肺葉特異的な LN のみに郭清範囲を縮小した「選択的 LN 郭清」も提唱され、多施設共同臨床試験が進行中である。しかし、選択的 LN 郭清範囲のリンパ流路は未だ詳細な解剖学的特徴は明らかにされていない。本研究では、肺リンパ系について肉眼解剖学的解析を行い、選択的 LN 郭清の解剖学的意義ならびに妥当性について検討した。

【対象・方法】検索には大分大学に供された成人解剖体 2 体を用いた。両肺・縦隔を含む胸腔内臓器は胸膜外で一塊摘出した後、各肺葉から肺門縦隔 LN に至るリンパ管・リンパ節を拡大鏡下に丁寧に剖出した。剖査結果はデジタル写真・スケッチにて記録した。

【結果】右上葉から気管傍 LN、右下葉から気管分岐下 LN には多数のリンパ管が直接流入したが、右上葉から気管分岐下 LN、右下葉から気管傍 LN には途中で肺門リンパ節が介在した。右中葉からは気管傍 LN・気管分岐下 LN いずれにも直接流入するリンパ管を認めた。左上葉から大動脈下 LN には直接流入するリンパ管を認めた。同様に左下葉から気管分岐下 LN へ直接流入するリンパ管を認めたが、気管傍 LN への流路には肺門 LN が介在した。

【考察】各肺葉から肺門 LN を介さず直接リンパ流を受ける縦隔 LN を認めた。これらの縦隔 LN はセンチネル LN となる可能性が示唆されたが、全て選択的 LN 郭清範囲と考えられた。

【結論】早期肺癌に対する選択的 LN 郭清は、LN 転移の正診性・低侵襲性を担保出来た網羅的センチネル LN 生検であり解剖学的に妥当な術式であることが示唆された。

OP3-4 冠状動脈開口部と sinotubular junction の位置関係について

○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、城戸 瑞穂⁴、倉岡 兎夫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】高齢化に伴い、心臓弁膜症に対する経カテーテルの大動脈弁置換術 (TAVI) の施行件数は、増加の一途をたどっている。冠状動脈開口部 (coronary ostium: CO) と sinotubular junction (STJ) の位置関係のバリエーションは TAVI 術後合併症の要因となり得るが、本邦ではほとんど報告されていない。本研究では摘出標本を用いて、CO と STJ の位置関係ならびに CO 領域の立体構築につき検討することを目的とした。

【対象と方法】2017~19 年度の佐賀医科大学解剖実習体 33 体 (男性 19 体、女性 14 体、平均年齢 85 歳) より摘出した心臓標本を用いて、単独のバルサルバ洞とこれに連続する上行大動脈壁からなる短冊状の心臓標本を製作した。STJ のレベルを上方向の基準として CO の位置を肉眼的に判定した後、Ai-CT 専用機 (SOMATOM scope, SIEMENS 社) にて撮像し、AZE Virtual Place Raijin (AZE 社) で作成した 3 次元再構築像につき詳細な検討を行った。

【結果と考察】CO が STJ より下位に存在する below type (Type B) は、右側の CO で 97% (32 例)、左側で 57.6% (19 例) を占めていたが、CO が STJ より上位に存在する above type (Type A) は、左側の CO で 1 例 (3.0%) のみ観察された。一方、STJ 上に CO が重なって存在する on type (Type O) は、右側で 1 例 (3.0%)、左側で 13 例 (39.4%) が認められ、3 次元再構築像を用いた解析から、二分化した STJ によって境界された領域に CO が存在している可能性が示唆された。

【開示すべき CO】なし

OP4-1 味蕾細胞におけるうま味受容体 TAS1R1 遺伝子の転写制御機構の解析

○豊野孝、松山佳永、片岡真司、瀬田祐司

九州歯科大学 歯学部 歯学科 健康増進学講座 解剖学分野

ヒト味蕾細胞におけるうま味受容体 TAS1R1 遺伝子の転写制御機構は、ほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、ヒト初代茸状乳頭味蕾細胞を用いて TAS1R1 遺伝子の転写開始点の決定およびプロモーター領域の解析を行った。

5'-RACE (5'-rapid amplification of cDNA ends)法により得られた 18 クロンの転写開始点を解析した。その結果、エクソン 1 の開始コドン上流 35bp, 37bp, 57bp, 61bp, 65bp および 67bp の 6 か所に転写開始点を同定した。この中において開始コドン上流 37bp が主要な転写開始点で、その近傍およびその下流には、転写活性化に関わるイニシエーターおよび下流プロモーター配列と相関性が高い配列が認められた。レポーターアッセイによるプロモーター領域の検索の結果、開始コドン上流 201bp の領域が、TAS1R1 遺伝子のプロモーター領域として認められた。本領域中には、Sp/KLF ファミリーが結合する GT box (CCCACC) が存在し、ヒト以外の多くの動物種においてもその配列が保存されていた。そこで、GT box に変異を導入したレポータープラスミドを作成し、レポーターアッセイを行った結果、レポーター活性の低下が認められた。

以上の結果から、開始コドン上流 201bp のヒト TAS1R1 遺伝子のプロモーター領域において、GT box が転写の活性化に重要な役割を果たしていることが推測された。

OP4-2 アデノウイルスベクターを用いたヒト多能性幹細胞への高効率遺伝子導入法

○三井 薫^{1,2,3}、高橋知之⁴、井手佳菜子¹、松田恵理子¹、小戔健一郎^{1,2,3,5}

¹鹿児島大学 遺伝子治療・再生医学、²同 革新的治療開発研究センター、³同 南九州先端医療開発センター、⁴久留米大学医学部医学科 小児科学講座、⁵鹿児島大学病院 探索的医療開発センター

自己複製能と多能性を有するヒト多能性幹細胞は、基礎研究のみならず、細胞移植治療のドナー細胞の供給源としても大きな可能性を秘めている。ヒト多能性幹細胞から機能的な細胞への分化過程の理解には、外因性の遺伝子を効率的かつ安全に導入・発現させる技術の開発が重要である。広い感染域を有し、一過性の強力な遺伝子発現が可能でアデノウイルスベクターは、細胞の増殖期/静止期を問わず、多くの細胞種さらには動物個体において、効率的に遺伝子導入することが可能であることから、様々な基礎研究・臨床試験に広く用いられている。しかしアデノウイルスベクターによるヒト多能性幹細胞への遺伝子導入は、これまでに十分な検討されていないことから、我々は遺伝子導入方法の最適化を試みた。細胞塊あるいは単細胞に分散させたヒト多能性幹細胞について、接着状態あるいは培地に懸濁させた浮遊状態でのアデノウイルスベクター感染という 4 種類の遺伝子導入法を比較した。その結果、単細胞に分散させたヒト多能性幹細胞を培地に懸濁した浮遊状態のアデノウイルスベクターを感染させる方法により、ヒト多能性幹細胞の未分化状態を損なうことなく、低い細胞毒性で高い遺伝子導入効率を得ることができた。我々は、多能性幹細胞への遺伝子導入のための最適化したアデノウイルスベクター遺伝子導入法を確立し、アデノウイルスベクターが多能性幹細胞への遺伝子導入に優れたツールであることを示した。【開示すべき CO】なし

OP4-3 1型糖尿病に対する肝細胞増殖因子 HGF 発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の安全性と治療効果の検証

○松田 恵理子¹、小戔 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同 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 大学病院 探索的医療開発センター

1 型糖尿病 (T1D) は、自己免疫反応が起因する β 細胞の破壊によりインスリン分泌量が欠乏する疾患である。主な治療法はインスリン療法であるが、低血糖の頻度が高いという問題がある。膵島移植による血糖コントロールの改善も報告されているが、ドナー不足をはじめとする種々の問題があるため、生体内での残存 β 細胞を保護し、増加させる治療法の開発が求められている。そこで、我々は、革新的なモダリティとして期待される遺伝子治療を用いた T1D の新たな治療戦略の開発を試みた。今回、治療遺伝子として、膵臓の生理機能に重要な役割を果たす多機能サイトカインである肝細胞増殖因子 (Hepatocyte Growth Factor: HGF) に着目した。これまでに、HGF 発現アデノウイルスベクターの高用量投与により、部分的な治療効果を得られたとの報告がある。しかし、ウイルスベクターの高用量投与による副作用については検証されていない。我々は、ウイルスベクターを用いた遺伝子治療で「重要な課題」として提起されている肝障害などを含む重篤な有害事象についても注視し、Streptozotocin 誘発 T1D マウスに対する安全かつ治療効果の高い遺伝子治療法の開発を試みたので、その結果について発表する。【開示すべき CO】なし

OP4-4 ヒロリ菌毒素 CagA は胃粘液顆粒の開口分泌を阻害する

○二宮 遼¹、久保修一¹、梶原 徹¹、小泉皓子¹、徳永暁暁²、内田智久³、鍋加浩明⁴、土居原拓也⁴、李成⁴、下川哲哉⁴、松田正司⁴、小林直人⁵、村上和成⁵、相垣敏郎⁷、福田光則⁸、山岡吉生⁹、濱田文彦¹

大分大・医・解剖学、²分子病理学、³消化器内科学、⁴環境予防医学、⁵福井大・ライフサイエンス支援センター、⁶愛媛大・院・医・解剖学発生学、⁷愛媛大・医・総合医学教育センター、⁸東京都大・生命科学・細胞遺伝学、⁹東北大・院・生命科学・膜輸送機構解析

Helicobacter pylori (ヒロリ菌) 感染は胃がんの最も強力な危険因子である。中でも CagA 毒素を持つ菌株の感染は、宿主の炎症反応を強く刺激し、消化性潰瘍や胃がんを引き起こす活性が、これを持たない菌株の感染に比べ、数倍以上高いことが知られている。しかし、CagA が胃粘膜の損傷を伴う激しい炎症を遷延化させる機序には不明の部分が多い。我々は、シウジョウバエを用いたゲノム規模の遺伝学的スクリーニングを行うことにより、CagA の標的分子として、低分子量 G 蛋白質 Rab27 のエフェクター分子である Slp2-a (synaptotagmin-like protein 2-a) を同定した。胃表層粘液細胞の粘液顆粒は、Slp2-a の C2 ドメインと細胞膜内葉に局在するリン脂質との結合を介して細胞膜にドッキングし、開口分泌されることが知られているが、我々は CagA が Slp2-a の C2 ドメインと結合し、リン脂質と Slp2-a との結合を阻害することを見出した。さらに我々はマウス胃オルガノイドを用いることにより、CagA が Slp2-a を介する粘液顆粒の細胞膜へのドッキングを強く阻害し、細胞内に粘液顆粒を著しく貯留させることを発見した。加えて、CagA 陽性ヒロリ菌感染症例では、CagA 陰性ヒロリ菌感染症例と比較し、表層粘液細胞内に高度に粘液が貯留することを確認した。

以上の結果から、CagA が Slp2-a を介する粘液顆粒の開口分泌を阻害することにより、胃粘膜を保護する粘液バリアーを崩壊させ、これが粘膜の損傷と慢性炎症、さらにはこれを基盤とする発がん過程を促進する可能性が示された。

OP4-5 EGFR 内在化経路を介したナノ粒子による遺伝子導入

○貴田浩志、遠藤日富美、Loreto B. Feril、入江豊、立花克郎
福岡大学 医学部 解剖学講座

【目的】細胞外物質のエンドサイトーシス経路として、クラスリン介在経路、カベオラ介在経路、マクロピノサイトーシス経路などが存在する。我々は細胞選択的な遺伝子導入の確立のため、EGFR 親和性のあるセツキシマブで修飾した遺伝子導入キャリアを開発し、その導入経路について検討を行った。

【方法】細胞表面に EGFR を発現している口腔扁平上皮癌細胞株(HSC2)を用いた。セツキシマブおよび正常ヒトIgG で修飾した遺伝子導入キャリアに分泌型ルシフェラーゼのプラスミド遺伝子(pNLI.3.CMV[secNluc CMV])を搭載して、細胞株に導入した。遺伝子量に対するキャリア量のモル比を変更し、導入効率の変革を確認した。24時間後に上清を回収して、基質発光強度から遺伝子導入効率を調べた。また pH 応答性蛍光色素でセツキシマブを修飾し、抗体内在化を評価した。

【結果】セツキシマブ修飾キャリアを用いて遺伝子導入を行った場合、ヒト正常抗体修飾キャリアを用いた場合と比較して、遺伝子導入効率が 57.5 倍まで向上した。また抗体内在化試験において、EGFR に結合したセツキシマブが内在化されることを確認した。

【考察】EGFR はセツキシマブの結合により、クラスリン介在性エンドサイトーシスを生じることが報告されており、本研究では同様の経路で遺伝子が導入されていると考えられた。