

日本解剖学会

第110回関東支部学術集会

会 期：令和 4 年10月 1 日（土）
会 場：群馬大学

特別講演

ABO 式血液型遺伝子の転写調節機構解明と血液型亜型の遺伝子解析

小湊慶彦・群馬大学大学院医学系研究科法医学講座

我々は ABO 式血液型遺伝子の転写制御機構を研究してきた。公表されているゲノムアノテーションデータを利用して、ABO 遺伝子の転写調節領域や結合する転写因子を推定し、実験的手法を用いて転写調節に関与するシスエレメント、プロモーター、第 1 イントロン内に血球特異的エンハンサー+5.8-kb site、遺伝子下流に上皮細胞特異的エンハンサー+22.6-kb site 等を同定し、+5.8-kb site に結合する転写因子 RUNX1 と GATA2、+22.6-kb site に結合する転写因子 E1f5 を明らかにし、次いで赤血球表面上の抗原が減少する血液型亜型のゲノム DNA を用いた人類遺伝学的検索から+5.8-kb site に変異を見いだした。以上より、ABO 式血液型遺伝子の転写調節領域を解明した。これらの知見に基づいて、日本人において血液型亜型の半数を占める Bm 型の遺伝子診断方法が開発され、日本赤十字社の血液型検査において利用されている。また、+22.6-kb site は ABO 遺伝子の 43.6-kb セントロメア側にある *Odorant Binding Protein 2* (*OBP2B*) に影響を及ぼすことを見い出し、*ABO* と *OBP2B* が Topologically Associating Domain 内に存在することを示した。さらに、白血病患者においては赤血球の血液型抗原減少が知られているが、骨髓異形成症候群の患者 13 名を調べたところ、赤血球表面上の A 抗原減少の見られた患者 2 名においては *RUNX1* と *GATA2* に変異が認められ、レポーターアッセイにおいてはそれらの変異は転写活性低下に至ることを示した。以上、我々は ABO 式血液型遺伝子の転写制御機構を解明し、それらの結果は臨床検査に応用されるに至っている。

1 抑制性シナプスの多様性解析

群馬大学大学院医学系研究科機能形態学
海老原瑞穂、一ノ瀬聡太郎、鈴木美博、岩崎広英

神経細胞は緻密な神経回路を形成し、シナプス受容体を介して情報を交換することで、様々な生理機能の基盤になる脳活動を適切に行う。シナプスには興奮性と抑制性の 2 種類があり、E/I バランスと呼ばれるその調整によって正確な情報伝達が可能になる。この 2 種類のシナプスは、その細胞骨格が大きく異なる。興奮性ポストシナプスは、アクチンを主成分とするスパインと呼ばれる特徴的な構造上に形成・成熟し、微小管はほぼ活動依存性ののみ入り込む。一方、抑制性シナプスは、アクチンと微小管の両方が存在する樹状突起のシャフト上に直接形成される。したがって、抑制性シナプス特異的なタンパク質の蓄積のみが、抑制性シナプス後膜と非シナプス後膜を区別している。受容体の蓄積は細胞骨格関連分子の時空間的多様性によって支えられている。この抑制性シナプス多様性に関して解析した最新の知見を紹介する。

2 咀嚼運動低下時における唾液腺タンパク質 AQP5, TMEM16A, NKCC1 の発現量の変化

藤田 慶恵¹⁾²⁾, 山本 華子¹⁾, 向後 晶子¹⁾, 向後 寛¹⁾, 横尾 聡²⁾, 松崎 利行¹⁾

群馬大学大学院医学系研究科 生体構造学分野¹⁾, 口腔顎顔面外科学²⁾

唾液の主成分である水の分泌に関与する主なタンパク質は AQP5 (水チャネル), TMEM16A (Cl⁻チャネル), NKCC1 (Na⁺・K⁺・Cl⁻共輸送体) である。我々は、ラットを一晚以上絶食にすることで唾液腺腺房細胞の AQP5 が減少することを報告している (Susa et al., Acta Histochem Cytochem 46: 187-197, 2013), その機序は不明である。絶食することで咀嚼運動が低下することが考えられるので、現在我々は咀嚼運動を低下させた状態での唾液分泌に関わるタンパク質の発現量の変化と、その機序の解明を目的として研究を進めている。9 週齢雄性ラットを、1) コントロール群 (固形餌と水を与える), 2) 液体食を摂取させることで咀嚼運動を低下させる群として液体食群 (液体食と水を与える), 3) 絶食群 (水のみ与える) の 3 群にわけ、48 時間後に各個体の耳下腺を採取した。まず、免疫染色では、AQP5, TMEM16A, NKCC1 各タンパク質の組織切片上でのシグナルは、AQP5 に関しては液体食群と絶食群において著明な減少を認めたが、TMEM16A および NKCC1 は明らかな変化は認めなかった。ウェスタンブロッティングによる半定量解析では、AQP5 のみ液体食群と絶食群で統計的に有意な減少を認めた。一方で、リアルタイム PCR における mRNA 発現量の変化については現在解析中であるが、AQP5, TMEM16A, NKCC1 はコントロール群と比較して液体食群と絶食群で大きな変化はなさそうである。以上の結果から、液体食群や絶食群における AQP5 の減少は咀嚼運動を低下させることで起こること、また AQP5 とともに唾液分泌に重要な TMEM16A や NKCC1 については咀嚼運動を低下させても変化がないこと、さらに AQP5 の減少は AQP5 分解の促進が主たる機序であることが示唆された。今後、咀嚼運動低下時に促進されると思われる AQP5 を分解するタンパク質分解機構について注目していきたい。

3 生後発達期大脳皮質の *Il17ra* の発現と自閉症モデル動物におけるその変化

筑波大学 医学医療系 生命医科学域 解剖学・神経科学研究室
筑波大学 医学群 医学類

ヘルパー T 細胞 17 (Th17 細胞) による免疫反応は、自閉スペクトラム症 (ASD)、統合失調症、うつ病などの精神疾患の病態に関与することが多くの臨床研究から示唆されている。しかし、免疫反応がどのような過程を経て神経系に器質的变化を引き起こすのか不明な点が多く、Th17 細胞の寄与については理解が進んでいない。インターロイキン (interleukin; IL) 17A は炎症性サイトカインの 1 つであり、IL17RA と IL17RC のヘテロ複合体からなる受容体に結合し下流経路を活性化させる。

先行研究によると、胚生 14.5 日のマウス脳において *Il17ra* が主にマウス胚脳の皮質板で発現していること、母体への poly (I:C) 投与 (母体免疫活性化自閉症モデル) により胎盤で増加した IL17A が *Il17ra* mRNA の発現量を上昇させることが報告されている。成体の中枢神経系における IL17A とその受容体の分布は複数の研究グループから報告されているが、現在も議論が続いている。

本研究では、新生仔期から若年成体期までの生後発達期における一次体性感覚野での *Il17ra* mRNA の発現を in situ hybridization により調査した。*Il17ra* mRNA は、調査した期間を通して第 VI 層に強く発現していた。発現は生後 14 日齢で最大となり、成体にかけて減少した。細胞マーカーとの二重染色により、第 VI 層ニューロンの約 60% に発現していることがわかった。また poly (I:C) 投与により、生後 14 日齢で *Il17ra* mRNA の発現低下が観察された。本研究は、IL17A と IL17RA の生後発達期中枢神経系における機能を解析する最初の手がかりを与えると考えられる。

4 Neonatal immune challenge による脳内 KIF 発現の変化

筑波大学 医学医療系 生命医科学域 解剖学・神経科学研究室
筑波大学 医学群 医学類

新生仔マウスに Poly (I:C) を投与し、ウイルス感染様の免疫反応を惹起 (neonatal immune challenge) させると、成獣になった際に統合失調症様の行動異常が生じることが報告されている (Ibi et al., 2009)。また、キネシン分子モータータンパク質 (KIFs) の異常によりマウスで統合失調症様の行動異常が生じることも報告されている (Alsabban et al., 2020)。これらのことから、neonatal immune challenge によって KIFs の発現がどのように変化するかを検証した。新生仔マウス (P2-P6) に対して 5 日間 Poly (I:C) を投与し、成獣に成長した後に脳組織を採取し、KIF1A、KIF2A、KIF5B、KIF13A、KIF17 のタンパク質及び mRNA の発現量解析を行った。Western blotting では、Poly (I:C) 投与群の海馬において KIF17 の有意な発現量上昇と KIF5C の有意な発現量低下が見られた。一方、小脳では、いずれの KIFs も発現量変化は見られなかった。海馬における *kif5c* と *kif17* の転写量を比較するためにリアルタイム PCR を行ったところ、*kif5c* では変化が見られなかったが、*kif17* については、Poly (I:C) 投与群で mRNA 量の有意な上昇が見られた。

小西真衣¹⁾・江上洋平²⁾・川合克久²⁾・荒木伸一²⁾・三宅克也³⁾
¹⁾国際医療福祉大学医学部・²⁾香川大学医学部組織細胞生物・³⁾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

細胞膜は傷ついても数秒で修復する。本研究では膜損傷後の汚染された細胞質がどのように時間をかけて修復するのかを形態学的に観察した。培養細胞(BS-C-1)を二光子レーザーで損傷し、Lgp120-GFP 導入標識したライゾソーム、または LC3-GFP 導入標識したオートファゴソームを観察したが、損傷部に小胞は集積せず、イオノマイシンによっても開口分泌される様子は観察されなかった。一方、マウスに Fdx-Lys-Dextran(10kD)を腹腔注射し、膜損傷数日後、多くの隔離小胞を持つ細胞を確認し、これらの細胞を二光子レーザーで膜損傷したところ、活発な開口分泌が ex vivo 実験で確認された。また、HRP 中で培養細胞を損傷後、30 分→24 時間後には膜によって HRP が隔離され、36 時間、72 時間と隔離膜に囲まれた HRP 隔離小胞が増加した。損傷後 30 分の修復細胞は、多くの細胞突起を伸ばして細胞外液と自らの HRP 陽性細胞質を激しく取り込む電子顕微鏡像が確認された。そこで Rab35-GFP を導入し、FM4-64 を用いて LIVE イメージングを行ったところ、膜損傷後 30 分ほどで活発なマクロバインサイトーシスが観察された。さらに、Fdx-Lys-Dextran(10kD)または Alexa555-Dextran(10kD)をスクランブローディングにより細胞内へ導入して経時の変化を 72 時間観察した。その結果、24〜72 時間と時間が進むに連れて、細胞内で膜に隔離された蛍光小胞が多く観察された。これらの隔離された蛍光小胞を持つ細胞を二光子レーザーで再び膜損傷修復させると、多くの隔離小胞は損傷部でない近くの細胞膜に融合し、その中の蛍光物質を細胞外へ出す開口分泌による排出が確認された。これらの細胞に Lgp120-GFP を導入したところ、隔離小胞の多くはライゾソームと考えられた。

6 筋線維膜損傷修復時に起こるマイオカイン(FGF1, 2)の分泌機構

山中 玲¹⁾・土谷香蓮²⁾・藤巻立生明³⁾・大月康弘⁴⁾・松田知榮⁵⁾・三宅克也⁶⁾
¹⁾国際医療福祉大学医学部成田保健医療・²⁾岩手医科大検査部・³⁾がん研有明病院臨床検査センター検体検査・⁴⁾香川大学呼吸器・乳腺内分泌外科・⁵⁾武田薬品工業リサーチ・ニューロサイエンス創薬・⁶⁾国際医療福祉大成田基礎医学研究センター
【目的】FGF の分泌機構は未だ不明であり、マイオカインとして注目されているのは FGF23 のみである。我々は運動負荷により骨格筋線維の 5〜30%が常に細胞膜損傷修復を繰り返し、この膜損傷部から FGF が分泌される損傷漏出分泌を提唱してきた。近年、細胞質が切り取られ分泌される細胞外小胞が多く報告されている。本研究では、FGF1, 2 の分泌が細胞外小胞によるものか、また損傷漏出分泌によって直接細胞外に分泌されるのかを検討した。【結果と考察】GFP-FGF1 を作製し、多光子顕微鏡を用いたライブイメージングによって、FGF1 の分泌現象を捉えることに成功した。さらに、培養細胞をシリジローディングで損傷し、細胞内 ATP の漏れを指標にした細胞膜修復アッセイを行った。この遠心損傷液上清に全エクソソーム単離試薬を加え、透過型電子顕微鏡を用いて観察したところ、膜に包まれていない壊れた細胞質の融合物が多く観察された。さらに Cal520 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、損傷修復細胞から、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、損傷液や損傷液から抽出したヘパリン結合タンパク質、またはリコンビナント FGF1, 2 を加えたところ、それぞれの時間(10〜60s)でカルシウム波が広がる様子が確認できた。しかし、損傷液から抽出した全エクソソーム、IL-6、HGF には反応しなかった。【結論】FGF1, 2 は、運動などの生理的な細胞膜損傷により、筋線維損傷部から細胞外へ損傷漏出分泌され、遠位の無傷細胞へ細胞外シグナルを伝達するマイオカインである。

7 Dysferlin と T 細管膜による骨格筋線維膜修復の可能性

松田武士¹⁾・三宅克也²⁾
¹⁾ 国際医療福祉大学大学院・医療福祉学専攻・理学療法学分野
²⁾ 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】骨格筋線維は常に傷つき膜修復を行っているが、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。Dysferlin は筋小胞体、T 細管または他の細胞内小胞に局在し、小胞融合によって膜修復を行っていると考えられるが、その詳細な局在と膜修復時の動態は明らかにされていない。
【方法】エレクトロポレーションにより Dysferlin-GFP と T 細管マーカー BIN1(Amphiphysin-2)-GFP をマウス短趾屈筋に導入した。10-30 日後、多光子顕微鏡と準超解像システム(Airyscan)により LIVE イメージングを行った。
【結果と考察】FM 試薬によって可視化された筋線維膜を二光子レーザーで損傷したところ、T 細管に沿って多くの小胞が縦列となり損傷部へ集積する様子が確認された。また、Dysferlin は BIN1 同様に T 細管に局在し、筋線維膜を損傷すると Dysferlin と BIN1 の両方が損傷部に集まる様子が観察された。しかし、BIN1 は Dysferlin よりも少し早く損傷部の内側に集まる様子が観察された。この動きは、まず T 細管を安定化させる BIN1 が変化し、T 細管膜が不安定となり、Dysferlin が小胞を形成して損傷部へ運ぶ動きをしているのではないかと考えられた。
【結論】Dysferlin は細胞膜直下の小胞と T 細管に多く局在していた。また細胞膜損傷の際に Dysferlin と BIN1 は共に細胞膜修復のために働いている一方で、その役割は異なり連携していると考えられた。

沢登祥史
獨協医科大学解剖学

胸腺髄質では胸腺細胞(T前駆細胞)の分化の後期であるネガティブセレクションが行われている。このため、ヒトやマウスにおいては、胸腺髄質にはネガティブセレクションを誘導する髄質胸腺上皮細胞(mTEC)と樹状細胞(DC)が存在し、その分布は様である。しかしながら、ラットにおいてはmTECが欠損した髄質領域が存在する。そこで、我々はこの領域を上皮細胞欠損領域(EFA)、その他の髄質領域を上皮細胞含有領域(ECA)と名付け、そこに局在する細胞群の解析を進めてきた。

そして、我々は以前の論文にて、免疫染色を用い、制御性T細胞のマーカーであるFoxp3を発現した細胞がEFAにECAのおよそ2倍の密度で存在すること、DCのうちXCRIを発現したconventional DC type 1サブセットは主にECAに存在することを報告した(Histochem Cell Biol. 2021)。

さらにその後、mEFAに存在しうる細胞のさらなる探索を進め、ラット DC マーカーであるCD103の発現は弱い一方、conventional DC type 2サブセットと共通してMHCII, CD172, CD4, CD11b/cを発現するcDC2-like cellや、platelet-derived growth factor beta(PDGFβ)*線維芽細胞を見出した。我々はこれらの知見をさらに発展させ、ネガティブセレクションにおけるEFAの役割を解明することを目指している。

9 動画から血流の脈波を検出する試み-無麻酔・非拘束・非接触・非侵襲の手法開発-

飯島典生¹⁾・高橋雅人²⁾・山口剛史¹⁾・小川恵子³⁾・津村徳道²⁾
1) 国際医療福祉大学 基礎医学研究センター、2) 千葉大学 大学院工学研究院、3) 広島大学病院 総合内科・総合診療科 漢方診療センター

RGB 動画から、Green チャネルシグナルのみを抽出し定量することにより、心拍を反映した血流の変動を捉えることができる。この手法が遠隔光電式容積脈波法(Remote Photoplethysmography:rPPG)である。我々はrPPG法をげっ歯類に適用して脈波の検出を試みた。現在まで実験動物から心拍変動を検出するためには、動物を麻酔、拘束、あるいはセンサーを侵襲的に装着させる方法がとられてきた。rPPG法がげっ歯類に適用できれば、無麻酔・非拘束・非接触・非侵襲で心電図に相当する生体情報の取得が可能となる。今回の撮影では以下の工夫を行った。①げっ歯類の心拍数はヒトと比べ約5倍高い。それに応じて250 frames per secondのカメラを用いた。②心拍の正確値を得るために埋め込み型の心電計を装着させ、rPPGと比較した。③全身が毛で覆われたラット・マウスにおいて、皮膚が露出する足底に着目し、ケージ下から撮影した。rPPGにより得られた脈波のピーク間隔と心電図Rピークを比較したところ、足底の脈波のピークは心電図ピークに一定のタイムラグの後に一致して検出された。さらに被写体動物をストレス下、麻酔による鎮静条件下で撮影すると、心電図に現れる変化に一致してrPPGも変化した。本研究により我々は、げっ歯類へrPPG法を適用することで心電図に相当する情報を得ることに成功した。心電図が情動・自律神経の解析に用いられているように、rPPG法を用いて非接触・非侵襲での解析法の発展が期待される。(COI:高橋・津村は千葉大学発ベンチャー 合同会社画像技術研究所を設立しました)

10 クレマスチンはマウスの内包脱髄に伴う運動機能障害を改善する。
○山崎礼二¹⁾・長内康幸¹⁾・幸喜富¹⁾・大野伸彦^{1,2)}

1. 自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門
2. 生理学研究所超微形態研究部門
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いるが、根治療は困難である。そのため、脱髄モデルマウス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モデルマウスでは、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半身麻痺が見られ、その後の再ミエリン化に伴い運動機能が回復する脱髄モデルマウスの開発に成功した。本研究では、再ミエリン化を促進させることが報告されているクレマスチンを内包脱髄モデルマウスに投与することで、有効な薬剤評価が可能であることを検討した。まず、脱髄誘導剤であるリゾレシチンをマウスの内包に投与して脱髄を誘発し、リゾレシチン投与3日後から1日1回、PBSまたはクレマスチン(10mg/kg)を腹腔内に投与した。脱髄誘導10日後の運動機能を複数の行動実験によって測定したところ、クレマスチン投与により運動機能障害が改善された。次に、組織学的に再ミエリン化が促進されているかを調べるためにマウス脳凍結切片を作製し、各種マーカーを用いた免疫蛍光染色法によって解析した。その結果、クレマスチン投与により髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイトの分化が促進された。最後に、電子顕微鏡観察を行なったところ、クレマスチン投与によって、ミエリンの厚さが有意に回復していることがわかった。以上の結果から、クレマスチンはマウスの内包脱髄に伴う運動機能障害を改善することが示された。従って、内包脱髄モデルマウスは有効な薬剤評価が可能であり、今後は脱髄性疾患の新規治療法開発への応用が期待される。

11 自閉スペクトラム症リスク遺伝子産物ミオシン Id の脳内発現と樹状突起スパイン局在機構

○金丸晴香^{1,2}、佐々木哲也^{1,3}、岩田卓^{1,3}、渡部嘉徳^{1,4}、曾我鷹平^{1,4}、武井陽介^{1,3,1}、筑波大学 医学医療系 生命医科学域 解剖学・神経科学研究室 2. 筑波大学 生命環境学群生物学類 3. 筑波大学大学院 人間総合科学学術群 ニュロサイエンス学位プログラム 4. 筑波大学 医学群医学類

自閉スペクトラム症(ASD)の病態の背景にはシナプスの構造・機能の異常があると想定されている。これまでにミオシンファミリーに属するいくつかの分子と ASD の関連が報告されている。ミオシンはアクチンフィラメントと結合するモータータンパク質である。アクチン結合タンパク質であるミオシンタンパク質は、加水分解エネルギーを用いてアクチンフィラメント上を移動する分子モーターで、13 のクラスを有する巨大なファミリーを形成する。その中の一つである *Myosin Id* (*Myoid*) は ASD 関連遺伝子であるが、神経細胞での局在や機能は明らかになっていない。私たちの研究室では、ミオシン Id の脳内局在と神経細胞内局在の解析を行った。ミオシン Id は成体マウスの線条体や脳幹を含む、脳の様々な場所に発現していた。また生後 14-28 日齢の脳で強く発現していることがわかった。さらに初代培養海馬ニューロンにおいて発現が認められること、そのタンパクはシナプトソーム分画に集積していることを見出した。初代培養海馬神経細胞に EGFP 融合ミオシン Id を発現させたところ、スパインが形成されていない未熟な神経細胞では、神経突起(糸状仮足)への集積がみられた。培養 14 日齢の成熟した神経細胞では樹状突起スパインと核周囲に EGFP シグナルの集積が認められた。樹状突起への局在には C 末端の TH1 ドメインが重要であることが判明した。Myoid は、スパインの形態形成やシナプス伝達に関与し、ASD の神経回路異常に寄与していると考えられる。

12 BRAG2 によるインテグリンの輸送制御を介した海馬神経細胞の樹状突起形成機構

深谷昌弘、森日菜子、阪上洋行
北里大学医学部 解剖学

神経細胞の樹状突起の伸長や退縮の調節には、インテグリンなどの接着分子の細胞内輸送が重要である。近年、細胞内小胞輸送に関与する Arf6 の活性化因子である Brefeldin A-resistant Arf-GEF 2 (BRAG2) が、癌細胞においてインテグリンのエンドサイトーシスを調節することで、細胞の運動性を制御することが明らかになってきているが、神経細胞におけるインテグリンの細胞内輸送調節機構は不明な点が多い。そこで本研究では、マウス海馬培養神経細胞において、BRAG2 がインテグリンの細胞内輸送制御を介した樹状突起形成に関与するかどうかを明らかにすることを目的として実験を行った。

まず、マウス海馬培養神経細胞での BRAG2 とインテグリン $\beta 1$ の局在を蛍光免疫染色で解析した結果、BRAG2 とインテグリン $\beta 1$ の陽性反応は、いずれも点状の反応として細胞体や樹状突起に観察され、部分的に共局在した。次に、海馬培養神経細胞の BRAG2 をノックダウンし、培養 9 日目まで樹状突起の長さや分岐数を計測した結果、BRAG2 がノックダウンされた神経細胞はコントロールと比べ、樹状突起の長さ、分岐数のいずれも有意に増加した。また、細胞膜表面に発現するインテグリン $\beta 1$ を免疫染色して定量した結果、BRAG2 がノックダウンされた神経細胞ではコントロールに比べ、樹状突起表面のインテグリン $\beta 1$ が有意に増加した。さらに、インテグリン阻害ポリペプチドであるエチスタチンを添加したところ、BRAG2 のノックダウンによる樹状突起の伸長と分岐形成の促進効果が有意に抑制された。

以上より、発達期のマウス海馬神経細胞において、BRAG2 はインテグリン $\beta 1$ の細胞膜表面量を減少させて、樹状突起の伸長や分岐を抑制的に制御していることが示唆された。

13 Analysis of myelination toward a particular class of neurons

Batpurev Battulga¹, Yasuyuki Osanai^{1,2}, Reiji Yamazaki¹, Tom Kouki¹, Megumi Yatabe¹, Yoshiaki Shinohara¹, Takeshi Shimizu², Kazuhiro Ikenaka², Nobuhiko Ohno^{1,3}
1.Division of Histology and Cell Biology, School of Medicine, Jichi Medical University, Shimotsuke, Japan. 2.Division of Neurobiology and Bioinformatics, NIPS, Okazaki, Japan. 3.Division of Ultrastructural Research, NIPS, Okazaki, Japan.

Oligodendrocytes myelinate neuronal axons during development and increase conduction velocity of neuronal impulses in the central nervous system. Neuronal axons extend from multiple brain regions and pass through the white matter; however, whether oligodendrocytes ensheath a particular set of axons or do so randomly within the mammalian brain remains unclear. We developed a novel method to visualize individual oligodendrocytes and axons derived from a particular brain region in mouse white matter using attenuated rabies virus, adeno-associated virus, and tissue clearing with immunostaining. We found that some oligodendrocytes preferentially myelinate a particular class of axons in the corpus callosum and cerebellum white matter, suggesting heterogeneity in preference of myelination toward a particular subtype of neurons.

14 マウス前障におけるGABA作動性神経細胞の形態学的解析

高橋慧^{1,2,3,4}、小林朋世^{2,3}、水間温日^{2,3}、岡本慎一郎^{2,3}、山内健太^{2,3}、岡本和樹^{2,3}、小池正人²、渡辺雅彦⁵、伊佐正¹、日置寛之^{2,3}

¹京都大・院医・神経生物学、²順天堂大・院医・神経機能構造学、³順天堂大・院医・脳回路形態学、⁴学術振興会・DC、⁵北海道大・院医・解剖発生学

The claustrum can be divided into the core and shell subregions and display distinct immunoreactivities for parvalbumin (PV) and somatostatin (SOM), suggesting their particular roles in regulation of cerebral cortical network activity (Marriott et al., *J Comp Neurol*, 2021). However, it remains unclear how GABAergic neurons contribute to the neuronal circuits of each claustral subregion. We here examined claustral GABAergic neurons for their distribution, neurochemical markers expression, and dendritic and axonal arborizations within the subregions. Combination of immunohistochemistry and in situ hybridization histochemistry demonstrated that approximately 10% neuronal nuclei-positive cells expressed glutamic acid decarboxylase 67 kDa (GAD67) mRNA in each subregion. We also showed that PV, SOM, or vasoactive intestinal polypeptide-positive neurons consisted of 20%, 30%, and 10% of claustral *GAD67*-expressing neurons, respectively, with few colocalization of these immunoreactivities. Furthermore, we labeled PV or SOM neurons using adeno-associated virus vectors and acquired image stacks of optically cleared brain slices to reconstruct their whole structures. The dendrites and axons of PV and SOM neurons infrequently crossed the subregional boundary, and the axons were highly extended in the rostrocaudal direction. These results suggest the almost homogeneous distribution of claustral GABAergic neurons, and the compartmental arborizations of PV and SOM neurons in the claustral core and shell regions.

15 Arf4は逆行性輸送を介して神経細胞移動を制御する

○原芳伸、阪上洋行
北里大学医学部解剖学教室

神経細胞移動は大脳皮質層形成期に見られる現象である。脳室帯で産み出された神経細胞は、中間帯、皮質板を経て上層へ移動する。この過程で移動神経細胞は N-カドヘリンなどの接着分子を足として使い、それらを細胞内小胞輸送機構により再配置しながら運動性や方向性を調節する。近年、神経細胞移動における細胞内小胞輸送機構の重要性が認識されつつあるが、個々の膜分子の輸送がどのように時空間的に調節されているか詳細は不明である。ADP リボシル化因子 (Arf) は細胞内小胞輸送を制御する低分子量 G タンパク質で、哺乳類では 6 種類が同定されている。演者らは、これまで Arf6 が N-カドヘリンのリサイクリングを介して神経細胞移動を制御することを明らかにしてきたが、他の Arf については不明である。そこで、本研究ではトランスゴルジ網 (TGN) での小胞輸送を制御する Arf4 及び Arf5 に着目して解析を行なった。子宮内電気穿孔法による発現抑制実験の結果、Arf4 ノックダウン (KD) でのみ神経細胞移動が乱れた。免疫組織染色による細胞小器官の形態解析の結果、Arf4 及び Arf5KD 細胞ではゴルジ装置網の拡大と TGN の縮小が見られた。また、Arf4KD 細胞でのみ抗 EEA1 抗体陽性の初期小胞及び抗シタキシン (STX) 13 抗体陽性のリサイクリング小胞の蛍光強度が低下する一方で、抗 STX16 抗体陽性の逆行性輸送小胞の蛍光強度の増加が見られた。さらに、Arf4KD 細胞では N-カドヘリンが、抗 STX16 抗体陽性の逆行性輸送小胞に貯留することから、Arf4 は N-カドヘリンなどの膜分子の逆行性輸送を介して神経細胞移動を制御する可能性が示唆された。

16 大脳皮質を作る細胞が発生期に適切に分布するしくみ

仲嶋一範
慶應義塾大学医学部解剖学教室

我々哺乳類の脳を構成する細胞は、分裂を終えた後にそれぞれ産生部位から移動してから組織構造を作っていくという特徴がある。近年の研究で、脳という組織作りをする上で細胞たちが活発な移動能を持っていることの意義が垣間見えてきた。細胞移動というプロセスを入れることで細胞間の関係をリセットし、適切な制御の下で新しい細胞間の関係を構築していくことを可能にするという点がその意義の一つと考えられる。また、細胞を移動させることで特殊な細胞外環境に曝露させ、コンテキスト依存的な分化成熟を可能にするという意義も想定できる。本発表では、特に大脳皮質のアストロサイトを例として、細胞が適切に脳内に分布し分化していくしくみとその意義について議論したい。

17

高濃度エストラジオール長期暴露が黄体形成ホルモンサージ状分泌機構へ与える影響

國村有弓¹⁾、岩田衣世¹⁾、小澤一史^{1,2)}、石井寛高¹⁾

- 1) 日本医科大学 大学院医学研究科 解剖学・神経生物学分野
2) 佛教大学 保健医療技術学部

排卵は、卵胞発育により分泌されたエストロゲン(E2)がエストロゲン受容体 α (*Esr1*)を発現する視床下部前腹側室周囲核の kisspeptin(*Kiss1*)ニューロンにフィードバックし、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)分泌を介して、下垂体から一過性に大量放出される黄体形成ホルモン(LH)サージによって誘起される。生理的濃度の E2 は LH サージを誘起する一方、血中 E2 が高濃度に維持されると LH サージは抑制されることが知られているがメカニズムは不明である。E2 は *Esr1* 発現に影響を与えることから、本研究では高濃度 E2 長期暴露が kisspeptin ニューロンの *Esr1* 発現を抑制することで LH サージが抑制されるという仮説を立て検証した。成熟した Wistar 系雌ラットを卵巣除去した後、高濃度 E2 含有チューブを皮下に留置し、コントロール群では 2 日後、長期暴露群では 14 日後に脳と血液の採取を行った。14 日間の E2 暴露により LH サージは有意に抑制された一方、*Kiss1* 発現細胞数、*Esr1* を発現する *Kiss1* 発現細胞の割合および *Fos* を発現する *Kiss1* 発現細胞の割合に影響はみられなかった。GnRH 免疫陽性細胞数および c-Fos を発現する GnRH 免疫陽性細胞数の割合も同じく 14 日間 E2 暴露による影響は見られなかった。さらに下流の下垂体への影響を逆転写-定量PCR法により解析したところ、14 日間 E2 を暴露した群で *Lhb* の発現が有意に低下していた。LH β の免疫陽性面積を比較したところ、14 日間 E2 暴露群で有意に低下していた。以上より高濃度 E2 長期暴露による LH サージ分泌の抑制は下垂体の LH の発現低下に起因することが示唆された。

18

特異的抗ヒト ESR2 モノクローナル抗体 (PPZ0506) を用いた齧歯類 ESR2 に対する免疫組織化学染色法の樹立と最適化

○石井寛高¹、服部裕次郎¹、肥後心平¹、小澤実那¹、大塚真衣¹、松本恵介¹、森下雅大¹、小澤一史^{1,2}

¹ 日本医科大学 大学院医学研究科 解剖学・神経生物学分野

² 佛教大学 保健医療技術学部

エストロゲン受容体の 1 つである ESR2 に対する特異的抗体が長らく存在せず、その発現局在に関して混乱が生じていたため、ESR2 研究の進展が著しく阻害されてきた。2017 年によりやく特異的抗ヒト ESR2 モノクローナル抗体 (PPZ0506) が発見され (Andersson et al., *Nat. Commun.*, 2017)、その抗体を用いて真の ESR2 の発現局在を解析する機運が高まった。我々は、PPZ0506 抗体がラット・マウス ESR2 に対して特異的交差反応性を持ち、ラット ESR2 に対する免疫組織化学染色法へ適用可能であることを明らかにした (Ishii et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2019)。そして、染色法にさらなる検討を加え、PPZ0506 抗体を用いたラット・マウス ESR2 に対する免疫組織化学染色法の最適化を行った (Hattori et al., *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2021; Ozawa et al., *Acta Histochem. Cytochem.*, *in press*)。本学術集会発表では、我々の PPZ0506 抗体を用いた一連の研究結果、齧歯類 ESR2 に対する特異的交差反応性の同定とラット・マウス ESR2 に対する免疫組織化学染色法の樹立・最適化を概説し、ラット・マウス ESR2 の限局した発現局在と種特異的発現プロファイルについて報告する。

19

腎糸球体における血液濾過へのO-結合型糖鎖の機能解明

布施裕清香、高橋智、工藤崇
筑波大学 医学医療系 解剖学・発生学研究室

巣状分節性糸球体硬化症 (Focal segmental glomerulosclerosis; FSGS) は一部の糸球体が分節状に硬化することで正常な血液濾過が行われず、尿中に大量のタンパク質が漏れ出ること低アルブミン血症や浮腫を引き起こす腎疾患である。FSGS は、糸球体上皮細胞 (ポドサイト) 障害により引き起こされると考えられている。ポドサイトには多くの O-結合型糖鎖修飾された糖タンパク質が発現し、その糖鎖が供与する重度の負電荷が血中アルブミンの尿中への漏れを防ぐと考えられてきた。本研究では、O-結合型糖鎖欠損マウスの糸球体における血液濾過機能を解析し、O-結合型糖鎖と FSGS などの疾患への関与を明らかにする事を目的とした。そのために、ポドサイト特異的に O-結合型糖鎖合成に関与する C1galT1-specific chaperone 1 (Cosmc) を欠損したマウス (iPod-Cos マウス) を作製し、用いた。

その結果、iPod-Cos マウスでは、早期に尿中に多量のアルブミンが検出され、組織学的解析では PAS 染色により強く染色される分節状および全体で硬化した糸球体が複数観察された。さらに透過型電子顕微鏡解析では、ポドサイトの構造変化が観察された。これらは FSGS で見られる特徴と類似していた。さらに、O-結合型糖鎖修飾不全により、糸球体血液濾過に関与する膜タンパク質が分解されることが示唆された。以上から、タンパク質への O-結合型糖鎖修飾が糸球体での血液濾過に必要であり、O-結合型糖鎖修飾不全によって FSGS 様表現型が引き起こされることを明らかにした。

20

マウス骨端板のseptoclastにおけるインテグリン α 2の局在と細胞外基質との関連

○坂東 康彦¹⁾、小野澤 豪¹⁾、長坂 新¹⁾、崎山 浩司²⁾、大和田 祐二³⁾、天野 修¹⁾

1) 明海大・歯・組織、2) 明海大・歯・解剖、3) 東北大・院医・器官解剖

Septoclast (セプトクラスト) は長管骨骨端板の骨軟骨境界部で非石灰化軟骨基質の横隔に突起を伸ばし、その吸収に関与する単核の食細胞である。我々はこれまでにseptoclastが表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP) を発現し、pericyte (周皮細胞) に由来することを報告してきた。

今回我々は、septoclast と骨端板軟骨に含まれる細胞外基質 (extracellular matrix, ECM) の関連を調べるために、マウス脛骨近位骨端板において、septoclast と骨端板の ECM である II, X 型コラーゲンの位置的関係と septoclast におけるこれらのコラーゲンの受容体である integrin α 2 の発現を、E-FABP を septoclast のマーカーとして用い、免疫組織化学的に調べた。その結果、septoclast に integrin α 2 が免疫局在していた。II 型、X 型 collagen は骨端板の横隔と縦隔ともに免疫陽性反応が見られた。septoclast の突起の先端が横隔に進入し、II 型、X 型 collagen と接していた。細胞体からは短い突起が伸び、縦隔に接しているのが観察された。一方で骨端板と接触せず、その吸収に関与しない pericyte には integrin α 2 は発現していなかった。

以上の結果から septoclast に発現する integrin α 2 と骨端板の ECM の接着が septoclast の軟骨吸収や移動の足場としての役割を果たすことが示唆された。

21

線維型エンテースシスの包括的な理解

山本将仁・東京歯科大学 解剖学講座

エンテースシスは、骨格筋の収縮力を、腱を介して骨組織へ伝達する重要な部位である。この接合部は線維軟骨型と線維型の 2 種類に分けられる。線維軟骨型は骨端部の腱-骨接合部に存在する。このタイプのエンテースシスは腱から骨にかけて、腱、非石灰化線維軟骨、石灰化線維軟骨、骨の 4 層により構成される。一方、線維型は骨幹部における腱-骨接合部に主に存在し、直接骨膜に腱が付着する。しかしながら、線維軟骨型と比べると線維型は臨床的にはさほど重要ではないために、これまでほとんどスポットライトが当たることにはなかった。そこで、線維型エンテースシスを包括的に理解するために線維型と線維軟骨型のエンテースシスの比較研究をおこなった。試料として 20 週齢の C57BL/6J マウスを用いた。線維型として広背筋の上腕骨への付着部を、線維軟骨型として肩甲下筋の上腕骨への付着部を対象部位とした。2 種のエンテースシスを比較する為に、組織学的解析、力学解析を行った。線維軟骨型と比較すると線維型エンテースシスを構成するコラーゲンファイバーの量は少なく、線維型には線維軟骨型に存在しない微細な血管が走行していた。また腱の骨への付着力を解析するために、甲虫(カツオブシムシ)の咬合力を応用した破断解析をおこなった。その結果、線維軟骨型と比較すると線維型の腱の骨への付着力は弱いことが明らかとなった。本研究により、線維型は線維軟骨型とは全く異なる構造をしていることが明らかとなった。線維型エンテースシスは付着強度が弱いにも関わらず臨床的なトラブルがほとんど報告されていないことから、線維型エンテースシスは再生能力が高いことが示唆された。

22

Dystonin-b アイソフォーム特異的な遺伝子変異マウスは、遅発性ミオパチーと心筋症を発症する

吉岡望¹、黒瀬雅之²、矢野真人¹、チャン ミン ダン¹、奥田修二郎³、森一落合由紀子¹、堀江正男⁴、永井俊弘⁵、西野一三⁶、芝田晋介^{5,7}、竹林浩秀¹ ¹ 新潟大学・脳機能形態学分野、² 岩手医科大学・病態生理学、³ 新潟大学・メディカル AI センター、⁴ 新潟県立看護大学、⁵ 慶應義塾大学・電子顕微鏡研究室、⁶ 国立精神・神経医療研究センター、⁷ 新潟大学・顕微解剖学分野

ジストニン(Dystonin ; DST)は、細胞構造や細胞接着の維持を担う細胞骨格連結タンパク質であり、1 つの DST 遺伝子からは、3 種類の組織選択的なアイソフォームとして神経型の DST-a、筋肉型の DST-b、皮膚型の DST-e が発現する。既存の *Dst* 変異マウスでは *Dst-a* と *Dst-b* の両方に変異があり、重篤な神経症状によって生後致死になるため、筋組織における *Dst-b* の機能は不明であった。本研究では、ゲノム編集技術によって *Dst-b* に特異的なエクソン部分に終止コドンを導入してナンセンス変異をもつ *Dst-b* 遺伝子変異マウス (*Dst-b*^{E2610Ter} マウス) を作製して、このマウスにおける骨格筋と心筋の病態を解析した。*Dst-b*^{E2610Ter} マウスの筋組織では通常よりも短い *Dst* 蛋白質が発現したが、神経組織では正常な大きさの *Dst* 蛋白質を発現した。遺伝子トラップマウスで *Dst-a* と *Dst-b* の両方が欠失する *Dst*^{fl} マウスは、感覚ニューロンの細胞死と運動異常を発症して生後 1 か月以内に致死となるが、*Dst-b*^{E2610Ter} マウスでは神経細胞死や運動異常は観察されず単位で生存した。一方、高齢の *Dst-b*^{E2610Ter} マウスの骨格筋と心筋では、タンパク質凝集体の形成を伴う筋変性、筋原線維構造の乱れ、心筋細胞での核膜陥入と核内構造体の形成、心臓の線維化や不整脈を発症した。これらの研究から、*Dst-b* が筋組織における長期的な恒常性維持に不可欠であることが初めて示された。

23 Delta-Notch シグナル経路を介したパターン形成機構
～肝内胆管形成から摂動による誘導現象を探る～

筑波大学・医・医

吉原雅大

Delta-Notch シグナル経路は古典的にごま塩状パターンを形成するとされてきたが、本経路が発生に関わる多くの臓器においてごま塩状パターンは稀である。たとえば肝内胆管形成では門脈周囲平滑筋細胞での Delta リガンド (JAG1) 発現が胆管上皮細胞分化に重要とされているが、その分化は門脈周囲に局限する。本発表では、門脈周囲に局限する胆管上皮細胞分化を実現する条件を数理モデル上で探索する。数理解析の結果、生体内条件 (Delta リガンドの発現が門脈周囲平滑筋細胞に限られること) では、Notch シグナルを受容する細胞は門脈周囲平滑筋細胞の周囲に局限することが示され、このことは生体での観察結果に一致する。この場合、ごま塩状パターン形成とは異なり、誘導が起こっていると考えられる。最後に、この数理解析結果を実証するために新たに樹立した遺伝子組換えマウスを紹介して今後の展望を述べる。

24 下気道における M 細胞の分化機構の解明

木村 俊介, 河合 真悟, 長谷耕二
慶應義塾大学薬学部生化学講座

腸管パイエル板の濾胞関連上皮に存在する M 細胞は、管腔内抗原取り込みを行うことで、粘膜免疫応答の開始に働く。近年の研究から腸管における M 細胞の分子生物学的解析が進み、腸管における IgA 産生、消化器感染病態における M 細胞の重要性が明らかになってきている。一方で、呼吸器における M 細胞の理解は不十分である。本研究では腸管 M 細胞の発現分子情報を用いて、免疫組織学的解析によりマウス下気道における M 細胞を同定した。TNF ファミリーのサイトカインである RANKL は腸管 M 細胞の強力な誘導因子であり、下気道においても同様に M 細胞の誘導を促進した。そして、インフルエンザ感染モデルによって、後天的に誘導される気管支関連リンパ組織 iBALT 近傍の気管上皮に M 細胞が出現することが明らかになった。RANKL の受容体である RANK はクラブ細胞が発現しており、下気道においてはクラブ細胞が M 細胞の前駆細胞となると考えられた。今研究により、下気道における M 細胞の存在が明らかになった。今後、呼吸器感染症における M 細胞の役割を明らかにしていきたい。

25 小腸パイエル板 M 細胞における OX40 の発現解析

森田諒
慶應義塾大学薬学部生化学講座

パイエル板上皮 M 細胞は管腔内の抗原をリンパ濾胞へ取り込み、粘膜免疫応答の開始に重要である。M 細胞は基底膜側でリンパ球と接触するが、意義は不明である。所属研究室では網羅的遺伝子発現解析から M 細胞の機能分子候補として TNFR ファミリーの OX40 を見出した。OX40 はリガンド OX40L と結合すると、共刺激作用により OX40 陽性 T 細胞の活性を高めると同時に、OX40L を発現する抗原提示細胞にも活性化シグナルを伝える。そこで、M 細胞とリンパ球は OX40-OX40L 結合により互いに活性化するという仮説を立て、M 細胞における OX40 の機能の解明を目的とした。パイエル板濾胞関連上皮における OX40 と M 細胞マーカー分子との多重免疫組織染色の結果、OX40 陽性細胞は複数の M 細胞マーカーを発現していたことから M 細胞であると結論づけた。イメージサイトメトリー法により各分子の蛍光強度を定量解析し、OX40 の発現が M 細胞分化の初期段階から促進されることを解明した。また、マウスへの RANKL 投与、及び腸管オルガノイドへの RANKL 刺激による M 細胞の分化誘導に伴い、OX40 の発現が増大した。腸上皮において OX40 は M 細胞の分化初期段階から発現を促進されると考えられる。今後、腸上皮特異的 OX40 欠損マウスを用いて、M 細胞の機能と粘膜免疫応答における OX40-OX40L 結合の寄与を明らかにしていく。

26 Notch1 シグナル可視化マウス系の樹立

三瓶直人・筑波大学医学群医学類

Delta-Notch シグナル経路は発生に重要であるが、Notch シグナル受容細胞が各臓器のどこに分布するのかわかっている点が多い。とくにシグナルがいつ受容されたかを峻別するのは困難であった。この問題に対し、我々は Notch1 受容体に注目し、Gal4/UAS 系と Cre/loxP 系を組み合わせることで、Notch1 シグナルの現況と履歴の両方を同時に可視化する遺伝子組換えマウス系を作製したので報告する。具体的には、リガンドとの結合により、Notch1 受容体から Gal4 が切り出されて遺伝子組換え酵素 Cre と近赤外蛍光タンパク miRFP670 が誘導され、蛍光タンパク dsRed が発現する。実際、14.5 日胚の網膜で Cre と miRFP670 の発現を認め、成獣の網膜では dsRed の発現を認めた。今後はさまざまな臓器で Notch シグナル受容細胞系譜を明らかにしたい。

27 成体腎における Notch1 シグナルの実態

杉浦 涼介, 吉原 雅大, 高橋 智
筑波大学 医

Delta-Notch シグナル経路は、腎発生への関与が指摘されており、腎原基における Notch1 欠損は 9.5 日胚で胎生致死となる。その反面、Notch1 シグナルの成獣腎組織でのたらしきは明らかでない。本研究では、Notch1 シグナルの現況と履歴について、我々が樹立したトランスジェニックマウスの成獣腎組織で検討した。具体的には、Notch1 受容体がリガンドと結合した場合に転写因子 Gal4VP16 が受容体から切り出されることで、遺伝子組換え酵素 Cre が誘導されて、蛍光タンパク dsRed が発現される系を構築した。dsRed は Notch1 シグナルの履歴を反映しており、先行研究と同様に、近位尿細管および足細胞で発現を認めた。すなわち、この系がレポーターとして機能すると考えられた。つぎに、Notch1 シグナルの現況を可視化するため、Cre に対する免疫組織化学を行った。ごく少数の近位尿細管上皮やボーマン嚢上皮に陽性細胞がみられたが、それらは腎全体では、まれであった。種々の腎病態で Notch1 シグナルが観察されているが、今回の結果から、それ自体が病的であると考えられる。

28 髄鞘機能不全に対する白質型ミクログリア反応の領域による違いについて

佐藤夢花、渡辺桜、卜部瑞月、小杉遥、目黒玲子
新潟大学大学院保健学研究科検査技術科学分野

我々は先天的に髄鞘機能不全を示すシバーマウス (Shi) で検討し、生後第3週から視索にて野生型 (WT) に比べて Shi ではミクログリア (MG) が異常増殖していることを報告した。本研究では高次脳の白質領域 (海馬系、内包、脳梁) での MG の生後の動態を明らかにし、神経路成熟への MG の関与について検討した。それぞれの物質に対する抗体で免疫組織的染色を行った。髄鞘成熟により見られるミエリン塩基性蛋白は Shi では発現していなかった。CNPase (成熟した髄鞘に発現する物質) は、海馬系、内包、脳梁において、WT・Shi 共に生後14日には発現していた。海馬系と内包において、CC1 (オリゴデンドロサイトの細胞体に発現する物質) 陽性細胞は WT、Shi 共に生後14日で差異は見られず高密度に存在していた。一方で Iba1 (MG に発現する物質) 陽性細胞は、海馬系では WT、Shi 共に生後14日では疎であったが、内包では生後14日で Shi でやや増加していた。Iba1 陽性細胞は、海馬系も内包も生後20日では WT では疎のままであったが、Shi では著しい増加が見られ、生後33日ではさらに増強していた。脳梁は、生後14日では Iba1 陽性細胞、CC1 陽性細胞共に WT と Shi のどちらも疎であったが、CC1 陽性細胞は生後22日で海馬系や内包と同程度の高密度となった。その時点で Shi の Iba1 陽性細胞の増強は確認されず、生後33日で確認された。Shi の大脳の白質領域において、MG 増加時期が海馬系では20日から、内包では14日から、脳梁では33日からと差異があることが確認された。MG の活性化はそれぞれの神経路活性化のタイミングと連動し、髄鞘機能不全に対応して一定の役割を演じていることが考えられる。

29 腎筋膜外側部の組織学的解析

光丸翔 1) 室生晁 1) 越智敦彦 2) 藤代瞳 3) 秋田恵一 1)

1) 東京医科歯科大学 臨床解剖学分野
2) 亀田総合病院 泌尿器科・腎移植科
3) 東京医科歯科大学 形態・生体情報解析学分野

【背景】腹膜後隙は腎臓を含む脂肪に満ちた空間であり、その中で腎臓は周囲を脂肪で覆われ、前方と後方を腎筋膜の前葉と後葉によって区画される。前葉と後葉は、外側で合して側腹壁の腹膜外筋膜へと繋がる。一般に、これらの筋膜は、それぞれ1枚の膜である考えられているが、筋膜の接合部の構造については未だ明らかでない。そこで本研究では、筋膜の接合部の解剖学的検索を行った。

【方法】本研究には、解剖実習体2体(1例目, 87歳男性; 2例目, 85歳男性)を用いた。腎臓を含む断面で10mm厚の凍結横断標本を作成した。横断標本から筋膜接合部を含む領域を採取し、パラフィン包埋して川本法により薄切を行い、Elastica van Gieson染色後に観察した。

【結果】1例目のマクロ横断標本では腹膜外筋膜と、腎筋膜の前葉と後葉ならびにその間にもう1つの膜を認め、区画された脂肪の領域が観察された。組織標本では前葉と後葉ならびに腹膜外筋膜を認め、それぞれの筋膜の内部には薄い脂肪層が存在し、接合部にて連続していた。2例目のマクロ横断標本において、肉眼では区画された脂肪の領域は観察されなかったが、組織標本の筋膜構造は1例目と同様であった。

【考察】腎筋膜前葉と後葉ならびに腹膜外筋膜は1枚の膜ではなく、内部に薄い脂肪層を含んだ層構造であることが分かった。また、その脂肪層は筋膜の接合部において連続していた。筋膜の接合部の脂肪の量に個人差があることで、接合部の膜の走行が異なるように見えると考えられる。

30 パーソンズカメレオン (*Calumma parsonii*) 前肢筋骨格の樹上適応形態

金子瑠菜¹、矢野航²

¹ 防衛医科大学校医学科、² 防衛医科大学校医学科・生物学

カメレオンはトカゲ類(有隣目)の中で最も樹上に適応した爬虫類である。樹上四足歩行では枝軸周りのモーメントを最小にして落下を防ぐ必要がある。このためカメレオン科の中で最大の種であるパーソンズカメレオン (*Calumma parsonii*) は、近縁種に比べて、体幹の幅を制限した特殊な体幹形態をもつ。本研究では肉眼解剖およびμCT撮影での観察により、パーソンズカメレオンおよび比較対象として地表性トカゲであるサバンナモニター (*Varanus exanthematicus*) の前肢筋骨格系の形態を比較分析した。その結果、パーソンズカメレオンでは左右の肩関節と肘関節が内外側方向に狭く、脊柱に対して相対的に下方に位置していた。肩甲骨自体が小さく前後方向に狭いうえ僧帽筋の発達が弱かった。前腕では橈骨と尺骨の近位および遠位骨端が互いに隣接している上、橈骨遠位部が強く内側に湾曲し、同位置に停止する円回内筋が発達していることから、パーソンズカメレオンがより強い回内・回外運動に適した形態を獲得していることが分かった。これらの結果は、他種でみられる樹上四足歩行時の肩関節の外転による遊脚に代わり、同種では肘関節の屈曲と前腕の回内による遊脚を実施していることを強く示唆していた。これにより前腕が枝からはみ出ることなく運動でき、体サイズに比して細い枝を滑落なく歩行できると考えられる。なお、樹上運動のために対向した指での把握運動が必要であるため、今後、手根骨、指骨およびこれらに付着する筋の比較を実施していく必要がある。

31 膝関節半月内側の栄養供給に関わるサブ要素

夏山 裕太郎、島田 和幸、張 明寿、楊 婷、易 勤
東京都立大学人間健康科学研究科

【背景】膝の関節半月は外側が血液、内側が滑液による栄養供給となっている。内側は関節半月表層の網目構造により骨の圧縮力が滑液の循環を促していると考えられている。しかし、整形外科疾患で免荷期間が設けられることも多く、その間の栄養供給については説明できない。それを説明するサブ要素が必要となる。

【仮説】膝関節半月栄養のためのサブ要素は関節腔の内圧変化である。

【材料と方法】胎児狒(n=10)、成獣狒(n=10)を材料とし肉眼解剖学的分析、組織学的分析を用いて調査した。

【結果】肉眼解剖学的には関節包が膝関節半月の上端と下端に付着することが明らかになり、組織学的にはそれが繊維性の連続性を有することが示された。これらの結果は胎児、成獣ともに共通であった

【考察】関節包が膝関節半月に付着することで、骨に付着する場合と比較して関節腔の内圧変化が生じる。関節運動により関節半月が外側に追い出されると付着している関節包にも変化が生じる。関節包が伸長されると関節腔が広がり関節内圧を陰圧にし、関節半月から滑液を引き出す。反対に関節半月が押し出しから戻ると、逆の流れを辿って関節半月に滑液を押し込む。この様にして関節包を介した関節腔の内圧変化が関節半月内側の栄養供給に関わるサブ要素である可能性が示唆される。

32 Cadaverを用いた生前膵臓の脂肪変性の病理学研究

Ting Yang
東京都立大学・人間健康科学研究科・FHS学域・機能形態解析科学分野

【背景と目的】近年、膵臓の脂肪変性(fatty degeneration)は糖尿病や膵管腺癌の発症・進展に関与していることが報告されてきた。臨床では膵臓脂肪を定量化するため、超音波や、CT、MRIなどの非侵襲的な画像診断法があるが、膵臓脂肪変性の全体像を正確に把握するには不十分である。本研究の目的はヒトの生前の膵臓内の脂肪変性の実態を客観的に病理組織学で検討することである。【対象と方法】本研究は膵臓疾患および腹部手術歴の記録がない53例のご遺体(年齢:58~104才、平均年齢86.6才)から膵臓標本を採集し、頭部、体部、尾部に分けてパラフィン包埋切片を作成し、HE染色とIHC染色を行い、組織病理学で分析した。【結果】全体的に脂肪変性の発生率は94%であった。小葉内散在的な脂肪変性(Fatty steatosis)、小葉間の脂肪浸潤(Fatty infiltration)および膵小葉の脂肪置換(Fatty replacement)の三つの形態に分類することができ、その発生率はそれぞれ77%、64%と62%であった。その中で、小葉内の脂肪変性は主に背側膵区域に発生することが分かった。【考察と結論】本研究では、全体的に脂肪変性の発生率はほかの研究より高いことが分かった。対象者のCadaverが高齢者(平均86.6才)である一方、臨床的な検査方法で検出できない症例も統計されたと考えられる。

33 第一肋骨短縮例における内側上腕皮神経・内側前腕皮神経構成成分

時田幸之輔¹⁾、影山幾男²⁾

1) 埼玉医科大学保健医療学部理学療法学科、
2) 日本歯科大学新潟生命歯学部解剖学講座

肉眼解剖学セミナー新潟にて、第一肋骨が短い(胸椎の頸椎化)例に遭遇し、頸・腕神経叢の形態について報告した(2007)。今回、この腕神経叢の下位分節から分枝する内側上腕皮神経、内側前腕皮神経、肋間上腕皮神経の構成分節について詳細な観察を行ったので報告する。第2肋間に出る肋間神経外側皮枝だけでなく、第3肋間に出る肋間神経外側皮枝も腕神経叢と交通を形成し肋間上腕皮神経を構築した。内側上腕皮神経の起始分節は、右側 Th1+Th2(Th2成分は肋間神経外側皮枝から参加)、左側 Th2+Th2であった。内側前腕皮神経の起始分節は、右側 Th1+Th2、左側 Th2+Th2であった。相山は標準例における内側上腕皮神経の起始分節をC8+Th1、内側前腕皮神経の起始分節をTh1+Th2と報告している。よって、本例のこれら皮神経の起始分節は尾側へずれていると言える。これは胸椎の頸椎化と関連した変異と考えたい。

34 二関節筋の3対6筋協調制御に着目したkumaモデルの教育利用

○浅野(星野)安信 加田 龍也
帝京大学 医療技術学部 スポーツ医療学科

生物の体型や移動様式は、環境から求められる機能に呼応して形成されていると言える。陸上に進出した四肢動物は、自重を支持した状態で姿勢制御し、しなやかな移動運動機能を持つ。しかしながら、それらの機構や動きの持つメカニズムには不明な点が多い。そこで我々は、移動運動や姿勢制御にとって重要な機構の一つとして、歩行ロボット開発から得られた制御工学知見と生体のもつ二関節筋の機能に着目して研究を進めている。今回は、それらの機能を体感的に可視化するために Kuma モデルを用いた教育実践と機器開発について検討を行った。その結果、二関節筋の総説や解説動画よりも実際に kuma モデルの模型を用いて体感的に理解して機能を可視化することが学生の理解を深めることができた。また、kuma モデルの改良により、パネを用いた力の計測やレゴブロックを用いた kuma モデルを作成することにより、機能性と汎用性の向上が可能となった。今後は、より二関節筋の理解を深めるシステムの構築を目指して研究を進めていく予定である。

35 腸骨片移植に伴う神経・筋損傷範囲に関する死後評価

川島友和¹⁾、清水一彦^{1) 2)}、佐藤二美¹⁾
¹⁾東邦大学医学部解剖学講座生体構造学分野
²⁾帝京大学医療技術学部

腸骨は自家骨移植の採取部位の1つとして多用される。その合併症には、骨盤変形・骨折、ヘルニア、深部感染症など多くの報告があるものの、筋や神経等の軟組織損傷は評価が容易でないために不十分であった。われわれは、腸骨欠損孔ヘルニアに付随した周囲軟組織の変化を観察したため、その死後評価として画像解剖学的、肉眼解剖学的、ならびに組織学的検証を行い、その障害範囲・程度の可視化を試みた。本症例は、腸骨翼自家骨移植後に腸骨欠損孔ヘルニアを合併していたことが、解剖前のCT画像撮影において確認されていた。解剖学的解析では、健常側と比較して、病側の腸腰筋は著しい変形、変性、萎縮を示した。また、腸骨欠損孔からヘルニア嚢とともに背部へ捕捉された腸骨鼠径神経上枝は完全に損傷していた。さらには、欠損孔から十分に離れていた腸骨下腹神経や腸骨鼠径神経下枝も脱髄や神経周・上膜の著しい肥厚や線維化を認めた。従来の臨床解剖学的解析では、介入部位からの対象神経の距離を計測し、神経損傷回避のための理論的基盤構築したものが散見されるが、本症例は直接的な損傷だけでなく、経時変化とともに二次的・間接的損傷が周囲に拡大されることを明示した。このような介入領域より拡大された損傷は十分に予測できることではあるが、これまで形態学的な死後検証は不十分であった。今後は、領域別、組織別、経年変化、力学的負荷の影響、などによる違いを検証していくことで術後合併症の程度や範囲をより正確に予測できるようになるであろう。(COI: なし)

36 腹腔神経叢と腓頭神経叢をつなぐ神経の走行形態の解析

杉山夕月¹⁾、室生暁¹⁾、伴大輔²⁾、秋田恵一¹⁾
¹⁾ 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 臨床解剖学分野
²⁾ 国立研究開発法人 国立がん研究センター 中央病院 肝胆脾外科

腓臓の鉤状突起の内側縁に入る神経束は腓頭神経叢と呼ばれ、腹腔神経叢の神経が直接放射状に広がると考えられてきた。しかし、腓頭部を後腹膜から剥離して内側方に翻転し挙上牽引しても、腹腔神経叢からの神経が障壁となることはない。そこで、腹腔神経叢と腓頭神経叢がどのようにつながっているかについて詳細な観察を行い、周囲の組織の配置との関係について解剖学的解析を行った。本研究には東京医科歯科大学解剖実習体5体(男性2体、女性3体、平均88.0歳)を用いた。3体で肉眼解剖学的解析を行い、2体では神経叢周囲の構造についての横断面の組織学的解析の後、SrfIIソフトウェアを用いて三次元立体構築像を作成した。腓頭部を内側方に翻転させると、途中で神経を切断することなく、腹腔動脈(CeT)と上腸間膜動脈(SMA)の根部付近まで容易に達することができた。腓頭部背面の膜性の結合組織(癒合筋膜)を除去すると、腹腔神経叢の神経はCeTとSMAの根部に一度収束した後、そこから放射状に広がって腓頭神経叢を形成しているのが観察された。神経が収束している領域の横断組織切片では、両神経叢の間に単層扁平上皮と膠原線維の層が観察され、SMAの根部にまで達していた。この層状の組織は神経の収束領域の尾側方の腓頭部背側で重なりを形成していた。神経の収束部と膜状構造の間隙の配置が一致することから、癒合筋膜によって腹腔神経叢と腓頭神経叢は分けられ、両者の間で収束することが明らかになった。また、左右の癒合筋膜の重なりは胎生時の中腸回転の影響によると考えられる。

37 上顎前歯欠損後の上唇に生じる形態変化と機能変化に関する考察

廣内 英智

東京歯科大学 解剖学講座

目的：上唇は、摂食・咀嚼機能において重要な役割を担っている。近年、高齢者の摂食・咀嚼機能低下の一因として、上唇形態やその機能の加齢変化があることが報告されている。しかし、上唇の形態や機能の加齢変化のメカニズムについては不明な点が残されている。さらに歯の喪失が上唇形態やその機能に与える影響についても十分な研究がなされていない。そこで本研究では、上顎前歯の喪失が上唇形態とその機能に及ぼす影響を明らかにする事を目的とした。材料と方法：東京歯科大学市川総合病院を受診した患者26名の磁気共鳴画像(MRI)および同大学解剖学講座所蔵の献体7体を用いて、上顎前歯の有無による上唇の形態学的な差異を検討した。続いて、15週齢C57BL/6Jマウス42匹を用いて抜歯により上顎門歯を喪失させ、非抜歯群と抜歯群の2群に分けて上唇を含めた周囲組織を採取し、組織学的形態計測、プロテオーム解析、免疫組織化学染色を施し、解析を行った。成績および結論：本研究結果により、歯の喪失によって上唇形態、特に上唇の舌側粘膜が肥厚した。また、マウスの粘膜上皮および粘膜下組織に炎症マーカーが認められたことから、これらの変化が上唇機能低下の原因であることが示唆された。

38 口蓋突起挙上過程に対するライブ観察法を用いた解析

長坂 新¹⁾、坂東康彦¹⁾、小野澤豪^{1,2)}、天野 修¹⁾

¹⁾明海大学歯学部 組織学分野
²⁾明海大学歯学部 口腔顎顔面外科学分野

二次口蓋は、舌をはさむように位置する左右の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に異常が生じると口蓋裂が発症することとなる。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自体がどのように変形するのか、他の口腔組織とどのように協調しているのかなどは不明な点が多い。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変形を伴う「口蓋突起の挙上」という現象に着目し、変形の過程を明らかにすることを目的とした。リアルタイムでの組織変形過程を観察するため、マウス胎仔の口蓋突起を用いたライブ観察法の構築を行い、H-E染色切片の結果と比較した。また、変形過程における細胞移動の軌跡を捉えた。口蓋突起の角度変化を1時間ごとに6時間調べたところ、口蓋突起は常に舌側方向へ変形を続け、ライブ観察では約10°、H-E染色像では約36°の変形が見られた。また、口蓋突起の舌側はより鋭角に変形しライブ観察では約18°、H-E染色像では約30°の変形が見られ、舌側はより鈍角に変形しライブ観察では約13°、H-E染色像では約30°の変形が見られた。さらに、舌側の細胞は一方方向への移動(変形点を中心に約40°方向)を示し、頬側の細胞は変形点を中心に放射状の移動を示した。以上の結果から、口蓋突起の変形には口蓋突起だけではなく、その周囲の組織の変化や変形なども影響していることが示唆され、部位特異的な細胞動態の違いが存在していることが明らかとなった。