日本解剖学会

第98回近畿支部学術集会

会期：令和4年11月26日（土）

会場：大阪医科薬科大学

A1 マウス乳癌転移モデルにおける転移前センチネルリンパ節の T 細胞活性化の抑制

柴田 雅朗、高橋 遼、白岡 千夏、近藤 洋一
大阪医科薬科大学医学部 生命科学講座 解剖学教室

【背景】癌細胞は免疫監視機構を回避することで増殖・転移する。そこで、担癌マウスの転移前センチネルリンパ節（SLN）と転移後の SLN について、T 細胞とその活性化抑制に関わる制御性 T 細胞の数的変化を解析した。【方法】Syngenic な系を用いて、転移性のマウス乳癌細胞（BJMC3879Luc2）を BALB/c 雌マウスに移植し、移植後の 3～7 週で経時的に屠殺し、SLN を採取した。それら SLN を転移の有無により転移前と転移後に分類し、T 細胞とその活性化抑制に関わる分子について免疫組織染色を施し、画像解析ソフト HALO を用いて、定量的に解析した。【結果】移植後 4 週前の転移前 SLN において、非移植群と比較して、CD8 陽性 T 細胞の有意な減少が観察され、CD4/CD8 比でも CD8 陽性 T 細胞の活性は抑制されていることが示された。更に、SLN の制御性 T 細胞（CD4⁺/FOXP3⁺）は、非移植群と比較して、転移前 4～5 週で有意な増加ないしはその傾向が示された。【結論】転移性のマウス乳癌モデルにおいて、転移前より SLN での T 細胞活性は既に負に制御されており、転移に好都合な微小環境を整えているものと推測された。（COI なし）

A2 EHBPI1, an apicobasal polarity regulator, is critical for nuclear polarization in mouse erythroblasts and skeletal muscle cells

WU J¹、森脇 健太²、原田 彰宏¹
¹大阪大学 医学系研究科 細胞生物学、²東邦大学 医学部医学科 生化学

Cell polarity, the asymmetric distribution of proteins and organelles, is permanently or transiently established and plays an important role in many physiological events. Nuclei are asymmetrically positioned in various cell types. For instance, they are positioned at the periphery of muscle fibers. The dynamic establishment of cell and nuclear polarity is observed during mammalian erythropoiesis. EH domain binding protein 1 like 1 (EHBPI1) is an adaptor protein that is localized at recycling endosomes and regulates apical-directed transport in polarized epithelial cells. However, the role of EHBPI1 in nonepithelial cells remains unknown. Here, we found that loss of EHBPI1 caused defects in nuclear polarization and subsequent enucleation during terminal erythropoiesis. We also found that EHBPI1 is required for the proper positioning of nuclei and mitochondria in skeletal muscle cells. This study highlights the importance of EHBPI1 in various types of cell and organelle polarity in both epithelial and nonepithelial cells.

A3 ラット腸管における免疫担当細胞の局在への日常的な細菌刺激の影響に関する予備的解析

島田 晨香、万谷 洋平、中西 怜稀、横山 俊史、星 信彦
¹神戸大院・農・形態機能

【目的と方法】当研究室では、ラット回腸において腸内細菌の定着に日内変動が存在し [Sakata et al., 2022]、非吸収性抗生物質を 1 日投与して（1day-Abx）消化管内への細菌の定着を阻害すると、マクロファージ（Mφ）および肥満細胞の遊走に関連するケモカインの発現が減少することを明らかにした。しかし、腸内細菌からの日常的な刺激が免疫系細胞の局在・動員に対して、どのような影響を与えるかは明らかでない。そこで本研究では、回腸および盲腸において 1day-Abx 群と対照群とを比較することで、日常的な細菌刺激が免疫担当細胞の局在に及ぼす影響について調べることが目的とし、主に Mφ および肥満細胞について解析した。

【結果】汎 Mφ マーカーである CD68 に対する免疫組織化学的解析の結果、いずれの部位でも集合リンパ小節では傍濾胞域に多数の CD68 陽性細胞が認められた。回腸の傍濾胞域における CD68 陽性面積は 1day-Abx 群で対照群より有意に小さくなり、その程度は漿膜側で顕著であった。一方、盲腸の集合リンパ小節、および両部位の一般粘膜における CD68 陽性面積に群間で差はみられなかった。

Naphthol AS-D chloroacetate esterase (ASD) 染色によって肥満細胞の局在を調べた結果、いずれの部位でも集合リンパ小節に ASD 染色陽性細胞は観察されなかった。一方、回腸および盲腸では、ともに一般粘膜内に ASD 染色陽性細胞が認められた。1day-Abx 群の回腸の腸絨毛では ASD 染色陽性細胞数は対照群より少なかった。

【結論】腸内細菌叢からの日常的な刺激は、とくに回腸における集合リンパ小節の Mφ、一般粘膜の肥満細胞の動員・局在を制御する可能性が示唆された。

A4 Serial block-face 走査型電子顕微鏡を用いたラット大腸粘膜におけるマクロファージの超微形態学的部位差に関する研究

村瀬 翔大¹、万谷 洋平¹、大野 伸彦^{2,3}、中西 怜稀¹、横山 俊史¹、星 信彦¹
¹神戸大院 農・形態機能、²自治医大・医・解剖、³生理研・超微形態

【目的と方法】当研究室では、免疫組織化学および serial block-face 走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）により、ラット小腸粘膜固有層内のマクロファージ（Mφ）には複数のサブセットが存在し、その一部は上皮内に細胞突起を伸長することを明らかにした [Mantani et al., 2021]。そこで本研究では、SBF-SEM を用いてラット大腸粘膜固有層内（LP）に存在する Mφ の超微形態学的特徴と部位差を調べることを目的とした。

【結果】盲腸、下行結腸の内腔側における Mφ 様細胞（MLC: Mantani et al., 2021 の定義に準拠）を調べた結果、両部位の断層データ内には MLC がほぼ同程度認められ、盲腸ではそれらの MLC の中に外形質が豊富で特徴的な MLC が少数含まれていた。MLC は細胞内に食胞を有しているが、下行結腸では食胞を豊富に含む MLC が多かった。MLC の一部は上皮内に細胞突起を伸長しており、多くは微絨毛柱上皮細胞と接触していたが、盲腸では上皮内リンパ球（IEL）とも接触していた。また、神経線維と接触する MLC が下行結腸より盲腸に高頻度で認められ、盲腸の MLC の一部は細胞突起で神経線維を取り囲んでいた。さらに、基底膜を超えて LP 内に細胞突起を伸長する上皮細胞が認められ、その細胞突起と MLC の接触が認められ、これは下行結腸でより高頻度であった。

【結論】Mφ による食食は、盲腸に比べて下行結腸で活発であることが示唆された。加えて、大腸 Mφ と神経線維、上皮細胞、IEL との間の相互作用関係には領域特異性が存在することが示唆された。

B1 C57BL/6N マウスの未分化性腺における Sry 上流因子の発現に関する定量組織学的検討

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

【背景と目的】性腺分化の臨界期における C57BL/6NcrSlc (B6N) マウスの未分化性腺には左性腺の性決定遺伝子 Sry 発現が先行するなど左右差が存在し、さらに、内外側差も存在することを以前に報告した [本会第 95 回]。しかしながら、既報の Sry 上流因子群にはこのような発現の不均一性に関する報告はなく、同因子群の発現にも不均一性が存在するの、それとも他の因子が関与するの、否かを含めて不明な点が多い。そこで、B6N マウスを用いて Sry 上流因子（Nr5a1, Wt1, Gata4）の発現を定量組織学的に解析した。

【材料と方法】胎齡 10.0～10.5 日付近 [1-12 ts (tail-somites)] の B6N マウス胎子から性腺を摘出し、横断連続切片を作製した。Nr5a1, Wt1, Gata4 を免疫組織学的に検出し、陽性細胞数を計測した。

【結果と考察】各因子の発現の左右差を検討すると、Nr5a1 は 34 個体中 28 個体で左性腺内の陽性細胞数が右性腺内より多かった。Wt1 は 1-8 ts では特定の傾向を示さなかったが、9 ts 以降では左性腺で優位に発現した。Gata4 は特定の傾向を示さなかった。各因子の発現の内外側差を検討すると、Nr5a1 は 1-7 ts では内側の陽性細胞数が多く、9 ts 以降では外側の陽性細胞数が多かった。Wt1 は左性腺では内側の陽性細胞数が多く、右性腺では特定の傾向を示さなかった。Gata4 は内側の陽性細胞数が多かった。これらの結果から、B6N マウスにおける Sry 発現の左右差の形成に、Nr5a1 が大きな役割を果たしている可能性が考えられた。

B2 性決定期の Sry 発現に対する C57BL/6 マウスの亜系統差の影響に関する定量組織学的解析

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

【背景と目的】性決定遺伝子 Sry は転写因子 Sox9 を発現上昇させ、未分化性腺内の支持細胞前駆細胞をセトリ細胞へと分化誘導する。我々は以前、C57BL/6NcrSlc (B6NcrSlc) マウスで左性腺優位な Sry 発現を認め、ICR 系統には認められないことから、B6 系統もしくは B6NcrSlc 亜系統に特有の現象であることを示唆した [本会 2019]。加えて、B6 系統の XYPOS マウスでは遺伝的背景の亜系統差により、Sry 発現時期と性腺表現型が異なる [Umamura et al., 2015] ことから、野生型の B6 亜系統間における Sry 発現の差異が想定された。B6 は B6J 亜系統と B6N 亜系統とに大別されることから、B6J と B6JmsSlc および B6NcrI における Sry 発現について定量組織学的に検討した。

【材料と方法】胎齡 11 日付近 (尾体節数 11~15) の B6J および B6JmsSlc, B6NcrI の XY マウス胎子から性腺を体壁ごと摘出し、連続横断切片を製作した。抗 Sry 抗体による免疫組織染色後に、陽性細胞数を計測した。

【結果と考察】B6J では総陽性細胞数の増加に伴い、わずかに左性腺優位な Sry 発現がみられたが、B6JmsSlc では左右差は認められなかった。B6NcrI では B6NcrSlc 同様に左性腺優位な傾向を示した。また、各発生段階における Sry 陽性細胞数についても亜系統間で異なったことから、Sry の発現開始時期や発現様式は B6 亜系統間で異なることが考えられた。B6 系統は性分化研究に汎用されているため、これらの Sry 発現の差異が各亜系統の分岐時期等と関連するか、もしくは特定の傾向を示さないかについては、さらなる検討が必要である。

B3 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上皮の形態学的研究

盛植 紘太郎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

肥満は生活習慣病の一つで、2 型糖尿病の主要な危険因子であり、日本人を含むアジア人では白人やヨーロッパ人より低い体格指数で高い体脂肪率を持った、糖尿病罹患率が高いと報告されている。しかし、肥満を伴った 2 型糖尿病が口腔粘膜上皮に及ぼす影響についての報告は我々の知る限りない。本研究では、肥満 2 型糖尿病モデルラットである Spontaneously Diabetic Torii (SDT) fatty ラットと正常ラットの上顎第一臼歯口蓋側歯肉の粘膜上皮の形態学的研究を行った。粘膜上皮の表面形態は、肥満 2 型糖尿病モデルラットでは大小様々な上皮細胞が見られたが、正常ラットでは均一な亀甲様を呈した上皮細胞が見られた。また、肥満 2 型糖尿病群の方が正常群よりも剥離しかけている上皮細胞が多く見られた。粘膜上皮の厚さは、正常ラットと比較して、肥満 2 型糖尿病モデルラットで約 1.4 倍有意に厚かった ($p < 0.01$)。特に、正常ラットと比較して、肥満 2 型糖尿病モデルラットで角質層、顆粒層、有棘層の厚さはそれぞれ約 1.9 倍、約 1.4 倍、約 1.5 倍有意に厚く、顆粒層と有棘層の細胞数はそれぞれ約 1.4 倍、約 1.4 倍有意に多かった ($p < 0.01$)。基底層では有意差は見られなかった。上皮乳頭の高さは、正常ラットと比較して、肥満 2 型糖尿病モデルラットは約 0.6 倍で、有意に低かった ($p < 0.01$)。以上から、肥満 2 型糖尿病モデルラットにおいては、肥満 2 型糖尿病に伴う高血糖が上顎第一臼歯口蓋側歯肉の粘膜上皮の肥厚を引き起こし、デスモソーム分子が減少し角質層の上皮細胞が剥離しやすくなった可能性が考えられ、結合組織乳頭の退行性変化により上皮乳頭が低くなることが考えられた。

B4 2 型糖尿病モデルラットの抜歯窩における老化細胞の挙動解析

羅 楚怡¹、仲川 雅人²、角 陽一³、松島 恭彦²、上村 守³、本田 義弘²、松本 尚之⁴

¹大阪歯科大学 大学院歯学研究科 歯科矯正学専攻、²口腔解剖学講座、³解剖学講座、⁴歯科矯正学講座

2 型糖尿病には加齢による老化細胞のみならず、様々なストレスにより誘導されるストレス誘導性老化細胞 (SIPS 細胞) が関与することが知られている。SIPS 細胞は炎症性サイトカイン等を含む細胞老化関連分泌形質 (SASP) の分泌を介して、生体機能を傷害する。しかし、糖尿病患者については、抜歯窩の治癒不全が認められるものの、その過程で SIPS 細胞が及ぼす影響はまだ明らかになっていない。本研究では、自然発症 2 型糖尿病モデルラット (Goto-Kakizaki ラット: GK ラット) に抜歯を行い、抜歯窩の創傷治癒過程における老化細胞の影響を解明することを目的とした。

6 週齢雄性 GK ラット (糖尿病群) と Wistar ラット (正常群) を使用した。全身麻酔および局所麻酔を施し、両側上顎第一臼歯を抜去した。術後 1 日、7 日、14 日に、上顎第一臼歯周囲の粘膜と骨を一塊として採取した。ヘマトキシリン-エオジン染色により新生骨の形成過程について解析したところ、正常群と比較して糖尿病群では抜歯窩底部でより強い炎症性細胞浸潤と骨化の遅延を認めた。また、マイクロ CT により新生骨の形成量を解析したところ、糖尿病群では正常群と比較しての新生骨量が約 40% 少なかった。また、老化マーカーである p21、p16 について免疫組織学的に解析したところ、正常群では p21、p16 陽性細胞をほとんど認めなかったのに対し、糖尿病群では 7 日、14 日で抜歯窩底部において p21、p16 陽性細胞の集積を認めた。本研究の結果、糖尿病モデルラットの抜歯後には、抜歯窩底部に老化細胞が存在することが明らかとなった。同細胞は SASP を介した強い炎症性細胞浸潤により抜歯窩での新生骨の形成を阻害する可能性が考えられた。

B5 血中トリグリセリド濃度による胃由来エストロゲン分泌への影響

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・第一解剖

脂質代謝調節に関わるホルモンはいくつか知られているが、血中トリグリセリド (TG) 濃度を監視する臓器や血中 TG 濃度に応じて血中濃度が変化するホルモンは知られていなかった。本研究では、胃の壁細胞が血中 TG 濃度に応じてエストロゲンを分泌することをオスラットを用いて明らかにした。

オスラットにオリブオイルを経口投与したところ、正常のラットでは血中 TG 濃度の上昇に合わせて血中エストロゲン濃度が上昇したが、胃を切除したラットでは血中 TG 濃度が上昇しても血中エストロゲン濃度は変化しなかった。さらに、ラットに TG エマルジョンを静脈注射して血中 TG 濃度を直接上昇させても血中エストロゲン濃度が上がることで、単離した胃粘膜にテストステロンと脂肪酸を加えるとエストロゲンが産生されることから、血中 TG 濃度の上昇が直接胃エストロゲン分泌を増やして血中エストロゲン濃度を上げることが示された。

これらのことから胃の壁細胞が血中 TG 濃度に応じてエストロゲン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 濃度を適切な範囲に維持していることが示唆された。

C1 深層学習の細胞磁場検出への応用と SQUID センサによる原理実証実験

山口 武志^{1,2}、足立 善昭³、谷田 任司³、岡 佳伸⁴、吉田 隆司⁵、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大阪公立大学 大学院獣医学研究科 獣医解剖学教室、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、⁵京都府立医科大学 附属北部医療センター 整形外科

iPS 細胞由来分化心筋細胞を用いた、薬理試験や移植材料としての品質評価において、電気生理学的特性の定量的な評価法が必要とされている。我々は、磁場測定が非侵襲・非破壊的に行えることに着目し、細胞集団中の電気活動伝播に伴って生じる自発磁場を計測することによって細胞の評価を試みてきた。しかし細胞の自発磁場は背景ノイズに対して非常に微小であり、また非同期現象であるため加算平均による SN 比向上にも期待できない。標準的な磁気シールド環境下で計測された磁場信号から、目視パターンマッチングなど従来の解析手法で分化心筋細胞の磁場検出を行うことは困難である。そこで本研究では深層学習が分化心筋細胞の磁場検出に有効であるか検証を行った。まず超伝導量子干渉計 (SQUID) を用いて測定した環境磁場のデータに、計算機シミュレーションによって推定したマウス iPS 分化心筋細胞の磁場波形を重ね合わせ、教師データを作成した。続いてこの教師データを使い、ピーク領域と非ピーク領域の波形セグメンテーションをニューラルネットワークに学習させた。手法の原理実証実験として、分化心筋細胞の磁場を模倣した磁場を人工的に発生させ、SQUID センサで測定を行い、得られた信号に対して学習済みネットワークによるピーク検出を試みた。その結果、深層学習を用いた手法によって分化心筋細胞から生じる微小な磁場ピークを検出可能であることが示唆された。また学習パラメーターや教師データの多様度が検出結果に及ぼす影響の検討や従来の解析手法との比較も行ったので、その結果についても報告する。

C2 シングルセル解析によって見えてきたオリゴデンドロサイト分化の系譜

井上 順治、近藤 洋一
大阪医科薬科大学医学部 生命科学講座 解剖学教室

オリゴデンドロサイトは中枢神経系の神経軸索に対して髄鞘を形成する細胞である。小児の神経難病である先天性大脳白質形成不全症では、遺伝子異常により髄鞘化が欠失、あるいは不十分であるため、患者は知的障害および運動障害に苦しむ。現時点では対症療法が行われるのみであり、細胞移植によって正常なオリゴデンドロサイトを提供することで、髄鞘を再生することが期待できる。治療効果の高い移植細胞を供給するためのアプローチとして、私たちはオリゴデンドロサイト分化の各段階を制御する内在性因子を解明するために、ヒト iPS 細胞由来グリア前駆細胞に対しシングルセル RNA 発現解析を行った。本会では、in silico 解析により明らかとなったオリゴデンドロサイトの分化系譜および、得られた知見を応用した移植細胞の新たな培養方法の確立への展望を紹介する。

C3 iPS細胞を利用したアレキサンダー病の病態解明研究

元野 誠、藤島 和人、平田 あずみ、田中 義久、近藤 洋一
大阪医科薬科大学医学部 生命科学講座 解剖学教室

神経難病に指定されているアレキサンダー病 (AxD) の原因の多くは脳内のアストロサイトが発現するグリア線維性酸性蛋白 (GFAP) に変異を認め、アストロサイトにローゼンタル線維 (RF) が蓄積することが知られている。しかし、アストロサイトの異常がなぜ脳内白質を傷害するのかなど、AxDの病態生理についてはほとんどが不明であり、その治療法は対症療法のみである。そこで、本研究では AxD 患者由来の iPS 細胞を利用し、アストロサイトを誘導して、AxDの病態モデルを作製することを試みた。また、ゲノム編集技術を用いて、GFAPの変異を正常にし、比較対象とした。その結果、AxD患者由来の iPS 細胞発現アストロサイトにおいて、RFを形成する割合が高く、細胞の形態に違いが観察された。今後、遺伝子発現の違いを調べることで、AxDの分子基盤を明らかにしていきたい。さらに、ヒトグリア細胞をもつキメラマウスを作製し、in vivoにおけるAxDの病態を再現し、解析していくことを考えている。これらの研究を通して得られた基礎的データから、AxDの病態を理解し、治療法の開発に繋げていきたい。

D1 マウス島皮質において新たに見出したフォークセル様ニューロンの形態学的観察

谷口 学¹、岡 雄一郎^{1,2}、Sheena Y. X. Tiong^{1,2}、佐藤 真^{1,2}
¹大阪大・院医・神経機能形態学、²大阪大・院連合小児

島皮質は内臓情報を含む体内外の情報を束ねる中枢であり、やる気や意志決定を遂行する脳領域の一つである。しかしながら、その細胞構築は種により大きく異なり、その神経回路機構は依然として不明な点が多い。加えて、ヒトを含む一部の進化した霊長類の島皮質第5層には形態学的に特徴的な細胞 (von Economo 細胞、Fork 細胞) が存在するとされ、自閉症や認知症などの疾患と関連が深く、機能的にも重要であるとされている。一方、私たちは大脳皮質の形成の観点から、マウスとより高次の動物の島皮質の間でも第5層神経細胞は共通性が高いのではないかと推測し、これらの細胞に特徴的な発現分子を手がかりとし von Economo 細胞、または Fork 細胞が、げっ歯類脳に存在するか否かを検討した。その結果、形態学的には、von Economo 細胞の特徴である紡錘型は取らないものの、von Economo 細胞に特徴的な発現分子群である、forebrain embryonic zinc finger 2 (FEZF2)、gastrin-releasing peptide (GRP)、および neuromedin B (NMB) がマウス島皮質で散在性に強く発現していることを見出した。さらに形態学的観点から Fezf2 陽性細胞の中に Fork cell 様の形態を持つ神経細胞が存在することを見出した。(COI: なし)

D2 小脳回路における軸索-樹状突起の直交性接続のメカニズム

藤島 和人^{1,2}、近藤 洋一¹、見学 美根子²
¹大阪医科薬科大学医学部 生命科学講座 解剖学教室、²京都大 物質-細胞統合システム拠点

小脳プルキンエ細胞の樹状突起は直交する約十数万本の平行線維(小脳顆粒細胞軸索)とシナプス結合する。その分岐は非常に複雑であるにも関わらず、単一平面上に投射する。5型脊髄小脳変性症は運動失調を伴う神経疾患であり、膜骨格分子の β III スペクトリンを原因遺伝子とする。この分子を欠失したマウス小脳プルキンエ細胞は樹状突起の発達異常を示し、特徴的な平面構造を失ってなくなる。これまでの研究でプルキンエ細胞樹状突起が接続相手である平行線維に対して直交して進展することで平面を形成する可能性が示唆され、 β III スペクトリンが軸索-樹状突起間の直交性に必要であることが明らかになった。しかし、樹状突起がどのようにして軸索束に対し直交方向に進展するのかそのメカニズムは明らかでなかった。本研究では、膜骨格である β III スペクトリンがアクチンにより圧縮される可能性と、アクチン阻害により軸索-樹状突起の直交性が妨げられることを示す。これらから、樹状突起膜骨格の張力より樹状突起が軸索間を最短距離で横切ることが軸索-樹状突起の直交性接続に必要である可能性が示唆された。

D3 大脳皮質ニューロンにおけるアポトーシス関連遺伝子発現制御

成木 彩乃、井原 大、寒出 祐紀恵、林 朋樹、中坊 豪克、金田 勇人、勝山 裕
滋賀医科大学 医学部 解剖学講座 神経形態学部門

成体脳ではニューロンの新生は限定的であり、大脳皮質のニューロンなどは胎児期から生長期間に渡り生存し続ける必要がある。よってニューロンではゲノムの不安定化やDNA損傷に対応する分子機構がより顕著に働いているのではないかと考えられる。大脳皮質ニューロン特異的 *Sbno1* 欠損 (cKO) マウスで個々の皮質ニューロンについて脳内での形態を観察すると、軸索の成長の遅延や樹状突起形成の低下が見られ、細胞体も正常に比べて小さくなっていった。一方で、我々は *Sbno1* の下流因子の網羅的探索のために、タモキシフェン誘導型 *Sbno1* 欠損マウスの胎児線維芽細胞 (MEF) を用いて、コントロール MEF と *Sbno1* 欠損 MEF の間で遺伝子発現をマイクロアレイ解析により比較した。その結果、*Sbno1* 欠損によってアポトーシスに関連する遺伝子群の発現に有意な増減があることが示された。cKO マウスの大脳皮質においてもマイクロアレイで見出された *Pmaip1*・*Tchp* といった遺伝子の発現亢進は qPCR によって確認された。*Sbno1* は核内因子であることから皮質ニューロンにおいてこれら分子の遺伝子発現を制御し、ゲノム維持などの分子機構に関与してニューロンの長期生存に働いている可能性がある。

D4 ミクログリア遊走時におけるマトリックスプロテアーゼの関与についての検討

小泉 崇、田口 勝敏、田中 雅樹
京都府立医科大学 生体構造科学部門

【目的】ミクログリアは突起を伸長・退縮させ周囲を監視しており脳内の恒常性維持に働く。異常を検知した際は目的の場所まで遊走するが、細胞間を移動するメカニズムについては詳細な報告が少ない。また脳小血管障害ではマトリックスメタロプロテアーゼである MMP-9 が一つの疾患マーカーと考えられており、高血圧モデル動物脳では脳小血管破綻の見られない血圧負荷早期から血管周囲にミクログリアが増加する。そこでミクログリアも MMP-9 を発現することで血管傍まで細胞間遊走すると仮説を立てた。【方法】高血圧モデルとして確立している DOCA-salt ラット脳を用いた。高血圧負荷に伴う脳血管およびミクログリアの動態の変化を組織学的に評価した。同時に MMP-9 の発現変化を評価した。【結果】高血圧処理 4 週目で血管の破綻がみられたが、破綻前から血管内皮における接着因子の発現増加と脳実質ミクログリアの形態的变化および MMP-9 発現がみられた。さらに遊走したと考えられる血管周囲ミクログリアでは MMP-9 発現を高率にともなっていた。【結論】血管機能変化を検知したミクログリアは MMP-9 を発現することで細胞間を移動し血管側へと移動する可能性がある。

E1 lncRNA MANCR はグリオーマ幹細胞において CD44 発現を制御する

佐藤 輝英、阪本 純加、柿崎 梨緒、大江 総一、北田 容章
関西医科大学 解剖学講座

グリオーマは発生頻度の高い原発性脳腫瘍であり、その原因として腫瘍形成能・自己複製能・多分化能を有するグリオーマがん幹細胞 (glioma stem cell: GSC) の存在が注目を集めている。GSC には、神経発生に関わる遺伝子群を発現する Proneural (PN) 型、腫瘍形成能が高く予後不良との相関が高いと報告されている Mesenchymal (MES) 型というサブタイプが存在する。われわれは MES 型 GSC 特異的な長鎖非コード RNA (lncRNA) の同定と機能解析をおこない新規治療標的として有用な分子を探索している。これまでに MANCR (mitotically-associated long non-coding RNA) が MES 型 GSC およびグリオプラストマ検体で顕著に高発現することを見出している。また MES 型 GSC での MANCR 発現抑制により細胞増殖能低下、浸潤能低下、細胞死亢進を生じるとともに MES 型マーカー遺伝子である CD44 の発現低下、PN 型マーカー遺伝子である OLIG2 の発現上昇低下を誘導することを明らかにしている。さらに MANCR が CD44 のプロモーター領域と相互作用し転写を亢進することを明らかにしている。これらの結果から MANCR は MES 型 GSC の表現型維持に重要であり新規治療標的となると考えている。

E2 脳梗塞後の Arcadin 発現パターンと樹状突起スパインへの影響

中澤 秀真、井上 耀介、井上 翔太、山口 菜摘、中谷 仁、澤野 俊憲、田中 秀和
立命館大学大学院 生命科学部 薬理学研究室

脳梗塞後には神経活動の上昇やシナプス構造の変化が起こることが知られている。シナプス構造の変化に関わる因子として知られている接着関連分子 Arcadin は神経活動依存的に発現上昇し、神経細胞の樹状突起スパイン密度を減少させることが知られている。すなわち脳梗塞後の樹状突起スパインの変化に Arcadin が関与すると考えているが、脳梗塞後における Arcadin の発現パターンとその役割については明らかになっていない。そこで本研究では、中大脳動脈閉鎖術を施すことで、高再現性脳梗塞モデルマウスを作製し、脳梗塞後の Arcadin 発現とそれに伴う樹状突起スパインの変化を解析した。まず脳梗塞後 4 時間での Arcadin 発現パターンを解析したところ、Arcadin mRNA が海馬歯状回、梨状皮質、扁桃体などの大脳辺縁系を中心に発現上昇していた。その領域の中でも顕著な Arcadin 発現上昇がみられた海馬歯状回における樹状突起スパインの変化を検討した。その結果、脳梗塞後には偽処置を行なったマウスよりも樹状突起スパイン密度が減少していることが明らかになった。以上の結果より、脳梗塞後において強く発現上昇した Arcadin が、樹状突起スパイン密度の減少に関与する可能性が示唆された。

E3 脳梗塞後の自発運動がアストロサイトに与える影響

山口 菜摘、澤野 俊憲、中谷 仁、田中 秀和
立命館大学大学院 生命科学部 薬理学研究室

脳梗塞後、傷害された領域が担っていた機能が失われるが、生き残った領域で起こる神経可塑性が機能回復機序の一端を担うとされている。我々は脳梗塞後 14 日間の自発運動によって梗塞巣周囲の樹状突起スパインの減少が抑制され、機能回復が促進されることを報告している。神経細胞周囲の環境変化は、神経細胞形態の変化に寄与すると考えられる。そこで、神経細胞周囲の環境形成に関与するグリア細胞が自発運動によって変化するのではないかと予想した。脳梗塞後の自発運動は、脳梗塞後 15 日目において、脳梗塞発症直後から 3 日目にかけて新生したアストロサイトの割合を増加させた。さらに、自発運動を行った脳梗塞マウス由来のアストロサイトでは、運動を行っていないマウス由来のアストロサイトと比較して Lipocalin 2 の遺伝子発現量が減少傾向にあった。Lipocalin 2 にはスパイン減少作用があることが知られており、脳梗塞後の自発運動はアストロサイトにおける Lipocalin 2 発現を減少させることで樹状突起スパイン数維持に貢献している可能性があることが示唆された。

E4 虚血による脳ペリサイトの幹細胞化現象には抗酸化因子 Nrf2 が関与する

佐久間 理香、湊 雄介、前田 誠司、八木 秀司
兵庫医科大学 医学部 解剖学細胞生物部門

近年、脳梗塞モデルマウスを用いた研究にて、虚血負荷が加わった血管周皮細胞（ペリサイト）(ischemic pericytes; iPCs) が幹細胞としての特性を獲得することが報告されている。しかしながら、その詳細なメカニズムについては不明である。本研究では、酸化ストレスとそれに伴う抗酸化応答系に着目して、その分子機構を明らかにすることを目的とした。まず、梗塞領域内にて、nestin と抗酸化因子である NF-E2 related factor2 (Nrf2) がペリサイトに共発現しており、非虚血領域ではほとんど認められないことが判明した。次に、正常脳ペリサイトを単離し iPC と比較したところ、iPC において、ROS が正常脳ペリサイトよりも産生されており、Nrf2 が核内に発現していたことから、抗酸化作用の関与が示唆された。そこで、正常脳ペリサイトに低酸素無糖-再酸素化負荷を加えたところ、nestin などの幹細胞マーカーの増加がみられた。また、正常脳ペリサイトに Nrf2 を過剰発現させた時に幹細胞マーカーの発現が増加した。さらに、Nrf2 過剰発現ペリサイトからスフェロイドを形成させ、神経誘導培地にて分化させると TuJ1 陽性神経細胞が分化した。以上の結果から、梗塞後のペリサイト幹細胞化現象に Nrf2 が関与することが示唆された。

E5 ジアミド系農薬がマウスの行動および神経活動に及ぼす影響について

木村 真子¹、正田 明日香¹、村田 碧¹、原 悠佳子¹、世ノ一 さくら¹、石田 祐也¹、平野 哲史²、万谷 洋平¹、横山 俊史¹、池中 良徳³、星 信彦¹
¹神戸大院 農・形態機能、²富山大研究推進機構 分子・構造解析、³北海道大院・獣医・毒性

【緒言】ジアミド系農薬はリアノジン受容体を標的とした新規作用剤である。近年、有用生物への影響が指摘されているネオニコチノイド系農薬の代替として使用が拡大している。しかし、ジアミド系農薬の一種クロラントラニリプロール (CAP) が哺乳類リアノジン受容体に結合し作用することが示唆され、哺乳類に対する毒性が懸念されるが、研究報告はほとんどない。そこで、マウスの神経系への影響が明らかになっているネオニコチノイド系農薬の一種クロチアニジン (CLO) と比較検証した。【材料と方法】C57BL/6N 雄マウスに、現行の無毒性量を参考に、CAP (160 mg/kg) または CLO (50 mg/kg) を単回経口投与した。各化合物の最高血中濃度到達時間に対応させてオープンフィールド試験および高架式十字迷路試験を実施し、自発運動量および不安様行動を評価した。高架式十字迷路試験終了後に脳・血液を採取し、神経活動マーカー (c-fos) を用いた免疫組織化学による海馬歯状回の神経細胞活性、LC-MS/MS による血中モノアミン系神経伝達物質・コルチコステロン (抗ストレスホルモン) の定量解析を行った。【結果と考察】CLO 曝露により自発運動量の低下、不安様行動の増加、異常啼鳴が認められた。CAP 曝露では自発運動量に変化はみられなかったが、不安様行動の増加が明らかとなった。コルチコステロン値は、CLO 投与群では対照群と比較して有意に高値をとったが、CAP 投与群では差が認められなかった。海馬歯状回における c-fos 陽性細胞は、各対照群と比較して CLO 投与群および CAP 投与群ともに増加した。以上より、マウスにおいて CAP 曝露により神経活動が亢進し不安様行動が惹起されることを初めて示すことができたが、CLO 曝露よりストレス負荷の小さいことが示唆された。

F1 拡散テンソル画像を用いたヒト胎児横隔膜の 3 次元解析

金橋 徹¹、今井 宏彦²、大谷 浩³、山田 重人^{1,4}、米山 明男⁵、高桑 徹也¹
¹京都大学大学院 医学研究科 人間健康科学系専攻、²京都大学大学院 情報学研究所 システム科学専攻、³島根大学 副学長 (研究推進、グローバル化担当)、⁴京都大学大学院医学研究科附属先天異常標本解析センター、⁵佐賀県立 九州シンクロナロン光研究センター

ヒト胎児横隔膜の形成過程を明らかにするため、京都大学大学院医学研究科附属先天異常標本解析センター保有の Carnegie stage (CS)16~23 のヒト胎児 37 例、島根大学医学部解剖学講座保有のヒト胎児 (頭殿長 34-88mm) 20 例から得られる T1 強調画像、位相コントラスト X 線 CT 画像、拡散テンソル画像を用いて、三次元再構成画像、Tractography を作成し形態観察を行った。椎体を基準とした横隔膜の相対的位置は、CS16 から CS19 にかけて急速に尾側へ移動し、それ以降、横隔膜頭側端は成長に関係なく第 4 胸椎と第 8 胸椎の間に位置していた。心腹膜管は CS20 に完全に閉鎖した。横隔膜の厚みは頭殿長 46mm まで均一であったが、その後は食道裂孔周囲が最初に厚くなり、続いて、腰椎部、肋骨部、胸骨部の厚みが増した。Tractography では CS19 から食道裂孔周囲の線維走行が確認され始め、CS20 以降、腰椎部、肋骨部、胸骨部の線維走行も確認できた。頭殿長 46mm 以降、腰椎部、肋骨部、胸骨部を明瞭に区別できたが、左右ドームは Fractional anisotropy 値が低下し、走行不明瞭であった。食道裂孔周囲における右脚、左脚からの線維走行は 3 種類に分類できた (左脚のみ左右に分岐、右脚のみ左右に分岐、両脚ともに左右に分岐)。本研究は 3 次元の厚み評価と Tractography を用いて、ヒト横隔膜の形態形成および線維構造の質的变化を明らかにした。この手法は他の線維、膜状構造の形成過程の解析にも有用であると考えられる。

F2 変形性膝関節症に対するパルス高周波法 (PRF) の抗炎症作用とそのメカニズム

弓場 智雄^{1,2}、小山 佳久^{2,3}、高橋 亜矢子¹、島田 昌一^{2,3}、藤野 裕士¹
¹大阪大学医学部附属病院麻酔集中治療学講座、²大阪大学大学院医学系研究科神経細胞生物学、³大阪府神経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

変形性膝関節症は関節軟骨の摩耗により慢性的な膝痛が発症する疾患である。患者数は非常に多く、日本国内だけで 2500 万人存在する。治療法は主に保存的加療が施されるが、変形が強い人には外科治療が選択される場合もある。主な保存的加療は NSAIDs を用いた対症療法だが、その副作用から高齢者では使用が難しい場合が多い。高齢社会を迎えた日本において、副作用が少ない変形性膝関節症治療法の開発は急務である。

我々は、神経ブロックの一種であるパルス高周波法 (PRF) を膝痛のある変形性膝関節症患者に積極的にを行い、その有効性を報告してきた。この治療法では合併症が少なく、数ヶ月以上の長い鎮痛効果が得られる。しかしながら、PRF の詳細な鎮痛メカニズムについては未だに不明である。我々は、変形性膝関節症に対する PRF 治療による鎮痛効果の作用機序を解析した。本日は、これまでの研究成果と今後の展望についてお話したい。

F3 自己免疫疾患におけるめまい症状の病理解析

小山 佳久^{1,2}、原田 祥太郎³、今井 貴夫³、猪原 秀典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耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

自己免疫性内耳疾患 (AIED) は、臓器特異的な自己免疫疾患であり、不可逆的で長期にわたる進行性の聴覚障害と平衡機能障害を特徴としている。特に 50% の患者がめまいを発症し、感音難聴、耳鳴りや耳閉感などの症状を伴う。AIED に伴うめまい症状はメニエール病と似ているため、両者の鑑別は困難である。免疫抑制剤やステロイドによる対症療法が行われているが、副作用の観点からめまいの発症機序の解明や治療薬の開発は急務である。報告によると、メニエール病患者の約半数で高値の II 型コラーゲン抗体が検出され、メニエール病患者では関節リウマチの有病率が増加する。それゆえ、II 型コラーゲン抗体の自己免疫疾患である関節リウマチが AIED やメニエール病に関与している可能性が考えられる。

我々は、II 型コラーゲン誘発関節リウマチモデルマウスを用いて自己免疫疾患におけるめまいの発症機序を解析した。AIED やメニエール病の発症機序の解明や新たな治療法の開発に役立てることが期待される。本学術集会では、これまでの成果と今後の展望について議論したい。