

日本解剖学会

第78回九州支部学術集会

会期：令和4年10月29日（土）
会場：福大メディカルホール

O-001 左副腎への分枝を伴う左過剰腎動脈の1例

栞形 祐登¹, 田平 陽子², 范 綾², 菊池 慶士郎², 嵯峨堅³, 岩永 譲^{2,4,5}, 渡部 功一²
¹久留米大学 大学院医学研究科博士課程, ²久留米大学 医学部解剖学講座, ³久留米大学 医学部看護学科, ⁴東京医科歯科大学 大学院歯学総合研究科口腔顎顔面解剖学分野, ⁵Tulane University School of Medicine Department of Neurosurgery
我々は2022年度久留米大学医学部系統解剖学実習において、左副腎への分枝を伴う左過剰腎動脈の1例に遭遇したため、その概要を報告する。症例は82歳女性で、死因は肺炎であった。左過剰腎動脈(φ2.10mm)は第3腰椎椎体下縁の高さで、下腸間膜動脈の左方3.25mmの部位にて腹大動脈の腹側寄りから分枝した後、左卵巣静脈の背側を通過し、第2腰椎椎体下縁の高さで2本の細枝に分岐した。そのうち1本(φ1.00mm)は左腎門下部へ入り、もう1本(φ1.60mm)は腎門に入らず左腎静脈の腹側でさらに2本の細枝に分岐した。この2本の細枝のうち、1本(φ0.85mm)は前下縁から副腎へ入り、残りの1本(φ0.75mm)は腹側より左腎の被膜へ入っていた。右側は正常であった。左右の腎動脈は、第2腰椎椎体中央の高さで腹大動脈外側からそれぞれ分岐し、左右腎門中央部に入っていた。本症例における腎動脈の過剰分枝は胎生期の発生過程で遺残した血管であると考えられた。過去の報告例を踏まえ、発生学的考察と共に発表する。

O-002 ダウン症候群モデルマウスにおける精子形成障害の研究

黒木 俊史^{1,2}, チョムプーシー ナッパン^{2,3}, 菅原 太一², 野口 和浩², 園田 佳世子², 若山 友彦²
¹熊本大学 医学部医学科, ²熊本大学 大学院生命科学研究部・生体微細構築学講座, ³熊本大学 大学院医学教育部
ダウン症候群は、約800出生あたり1人という最も頻度の高い染色体異常である。母親の年齢の上昇に伴い、発生頻度も増加する。ダウン症候群では、特徴的な顔貌、記憶学習障害や発達遅滞が生じ、先天性の心疾患や消化器疾患を合併する。しかし、精子形成障害を生じることがあまり知られていない。マウスは40本の染色体をもち、ヒトの21番染色体は、10、16、17番染色体に分配される。自然発生ミュータントであるTs65Dnマウスでは、ヒト21番染色体に相当する部分の16番染色体の一部が17番染色体に転座し、正常の2本の16番染色体と転座をもつ17番染色体のためにトリソミー状態になる。本研究では、Ts65Dnマウスを用いて、精巣におけるトリソミー状態にある遺伝子の発現と精子形成障害について検討した。Ts65Dnマウスでは、トリソミー状態にある染色体の領域に65個の遺伝子がある。定量的RT-PCRにより、精巣において遺伝子発現について10個の遺伝子のmRNAが有意に増加した。この10個の遺伝子について、抗体の作製を行った。可溶性のGST融合タンパク質が得られた6個の遺伝子の内、5つの遺伝子に対して抗体を作製できた。その内、Pigpは、先体と関連する膜構造(先体、核、細胞膜)に局在することが分かった。また、Chr3は、先体に局在することが分かった。しかし、PigpとChr3は、Ts65Dnマウスの精巣で過剰発現をしていなかった。

O-003 前距腓靭帯と踵腓靭帯の形態学的解析

梶原 花¹, 林 春樹², 安達 泰弘², 東 華岳²

¹産業医科大学 医学部 医学科, ²産業医科大学 医学部 第1解剖学講座

【背景と目的】足関節の捻挫は、スポーツ外傷や日常生活において高い割合でみられる。足関節捻挫の多くは内反による外側靭帯の損傷である。外側靭帯は前距腓靭帯(ATFL)、踵腓靭帯(CFL)、後距腓靭帯で構成される。最も損傷頻度が高いのはATFLであり、またATFLとCFLの複合損傷が多い。今回はATFLとCFLに焦点を当て、その解剖学的特徴を調べ考察した。

【対象と方法】令和4年度系統解剖学実習における14体(男性8体、69~95歳、女性6体、86~94歳)のATFLとCFLを剖出し、各靭帯の中央部で長さ×幅を測定した。靭帯の左右差・性差、体重・身長との相関関係について統計学的解析を行った。

【結果】ATFLとCFLが腓骨の付着部で靭帯の下部線維で結合し「靭帯複合体」を形成している割合は28足中13足であった。左右におけるATFLの幅、CFLの長さ×幅は共に中程度の相関が認められた。体重と右ATFLの長さは中程度の正の相関がみられたが、体重と右CFLの長さは中程度の負の相関が認められた。身長とATFL、CFLの長さ×幅の相関は見られなかった。女性の右CFLが男性より有意に長かった。

【考察】ATFLとCFLの線維結合が見られる場合は、ATFL損傷に伴ってCFL損傷の発生要因に関与している可能性が推察された。体重と右ATFLの長さに正の相関がみられ、右CFLに負の相関がみられ、利き足と軸足のような足機能の違いにより左右ATFLとCFLの構造が異なる可能性が考えられる。また、CFLの長さが靭帯損傷に与える影響をさらに検討する必要があると考えている。

O-004 新型コロナウイルス感染拡大状況下(第6波・第7波)で実施した解剖学実習の報告

福田 孝一¹, 江角 重行¹, 重松 直樹¹, 宮本 雄太¹, 熊谷 芳宏¹, 木庭 義和¹, 永芳 友², 古川 昇²

¹熊本大学大学院生命科学研究部形態構築学, ²熊本大学大学院生命科学研究部附属臨床医学教育センター

熊本大学医学部における2022年度の解剖学実習は、通常のスケジュールに従い4月5日から7月29日まで行われた。この期間は新型コロナウイルス感染の第6波と第7波に重なり、実習を行った2年生にもPCR陽性者が続出したが、同じ班の学生やその他の学生への感染は皆無であった。実習の中断や内容の縮小を行うことなく、例年通りの形で実習を最後まで実施できた。実習は週3回(火木金)の午後に行い、実習室内の滞在時間は4時間、各実習台には例年通り4名の学生を配置した。不織布マスクとフェイスシールド、手袋を着用させ、実習中の会話や相互の距離は制限せず、班員間のdiscussionと作業の協力を奨励した。全体を6グループに分け、更衣室への入室に5分ずつの時間差を設けた。軽微な症状でも実習は欠席することとし、欠席時にはメールでの状況報告を求めた。PCR陽性者および実習室外で濃厚接触者になった者(6名)は、保健所が指示する自宅待機期間を守らせた。PCR陽性者が発症前2日以内に実習を行っていた事例を具体的に報告する。新型コロナウイルスの感染経路は家族内、友人間、部活内に限られ、解剖学実習における感染拡大はなく、換気の維持と適切な対策により安全に実習を遂行できることがわかった。

O-005 長崎大学における解剖体のプリオンスクリーニング検査について

高村 敬子^{1,2}, 佐伯 和信¹, 遠藤 大輔^{1,2}, 村井 清人¹, 中垣 岳大³, 弦本 敏行^{1,2}
¹長崎大学大学院歯学総合研究科 肉眼解剖学分野, ²長崎大学医学部 カダバラーサージカルトレーニングセンター, ³長崎大学大学院歯学総合研究科 感染分子解析学分野

解剖学実習は医学・歯学教育において人体の構造に関する理解を深めると同時に生命の尊厳を実感する、欠かすことのできない貴重な教育の機会である。解剖体を用いた医師・歯科医師のための手術手技訓練(CST)も、卒後教育や手術手技・機器開発の観点から重要性が増している。孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)は日本においても報告され続けており、ひとたび発症すると根本的な治療法はなく致死的である。実習やCSTで用いられる解剖体はホルマリンを含む固定液で処理されることが多いが、プリオン病CJDの原因となる異常型プリオン蛋白はホルマリンでは不活性化できない。長崎大学では2020年度から解剖学実習およびCSTに供されるご遺体を対象としたプリオン病スクリーニング検査を開始した。対象となるご遺体の前頭葉から採取した少量の脳実質を感染分子解析学教室に提出し、RT-QuIC法で検査を行う。現時点では学生実習に供されるご遺体は既にホルマリン法で固定が施され脳は摘出されているため、摘出した脳から前頭葉を採取する。CSTに供されるご遺体の場合は、Thiel法で固定を行ったのちナジオンから約3cm頭頂で小開頭のうへ硬膜を開窓し、18G針をつけたシリンジで前頭葉を吸引採取する。プリオン病の無症候性キャリアについては殆ど報告されておらず、英国において65歳以上で5万人あたり1例プリオン病が存在するということが明らかになっていない。当スクリーニング事業で発見・報告した未診断のCJD症例も踏まえ、我々の検査手順・発見後の対応を発表する。

O-006 Characterization of cortical GABAergic neuron intermediate progenitors

江角 重行¹, 崎村 健司², 玉巻 伸章³, 福田 孝一¹

1 熊本大学大学院生命科学研究部 形態構築学講座, 2 新潟大学脳研究所, 3 熊本大学大学院生命科学研究部 脳回路構造学講座

大脳皮質の神経細胞は興奮性のグルタミン酸ニューロンと抑制性のGABAニューロンの二種類の細胞によって構成されている。大脳皮質のGABAニューロンは主に内側/尾側基底核原基に由来しており、産生されたGABAニューロンは、接線方向に移動して大脳皮質に加わる。私達はこれまでに新生仔期の脳皮質には分裂能を持ったGABAニューロン前駆細胞(GAD67+ Intermediate Progenitor)が存在することを報告した(Wu, Esumi et al., Development, 2011)。最近、私達は発生発達期におけるGAD67+ Intermediate Progenitorの割合や細胞系譜をGAD67-CrePR; Rosa26-floxed-TdTomatoマウスを用いて詳細に解析した結果、成体マウスの大脳皮質各層に分布することや、新生仔に比べ、胎生後期には約25倍も多く分裂していることを明らかにした。また、分裂した細胞は、Reln+ GAD67+ lineage cellsが多いことから、尾側基底核原基(CGE)由来であると考えられる(Esumi et al., Frontiers in Neuroscience, 2021)。これらの結果をまとめると大脳皮質内で多くのIntermediate Progenitorが分裂するグルタミン酸ニューロンと異なり、GABAニューロンは主に大脳皮質に侵入する前に分裂して、各層に分布すると考えることができる。

O-007 アデノ随伴ウイルスベクターを用いた、マウス三叉神経脊髄路核から視床に投射するニューロンの解析

倉本 恵梨子¹, 岩井 治樹¹, 山中 淳之¹, 後藤 哲哉¹

鹿児島大学医学総合研究科 歯科機能形態学分野

三叉神経脊髄路核 (SpV) は、頭頸部における侵害刺激情報を、結合脳核や視床などに伝達する。アデノ随伴ウイルスベクター (AAV) を用いて、視床へ投射するSpVニューロンの特異的標識を行い、軸索投射の形態学的解析と、光遺伝学を用いた機能解析を行った。順行性感染するAAV2/5-double floxed-fluorescent proteins をC57BL/6JマウスのSpVに、逆行性感染するAAVrg-Creを視床に注入し、視床に投射するSpVニューロンのみを蛍光タンパク質で標識した。SpVの中間核 (SpVi) と尾側核 (SpVe) 由来の軸索は、視床で重複して分布していたが、軸索分布の密度には差があった。中間核は主に視床の後核 (Pom)、後内側腹側核 (VPM)、内側核 (SM) に軸索投射し、尾側核は主に後核の最後部にある posterior triangular area (PoT)、東傍核 (Pf)、Pomに投射した。順行性にシナプスを越えて運ばれるAAV2/1-CreをSpVに、順行性感染するAAV2/5-double floxed-fluorescent proteinsを視床に注入して、SpVニューロンがシナプス結合する視床ニューロンを蛍光タンパク質で標識した。SpVの尾側核にAAV2/1-Creを注入した場合は主にPoTとPomの後方のニューロンが標識され、大脳皮質の体性感覚野の後に軸索が観察され、中間核にAAV2/1-Creを注入した場合は主にPomとVPMのニューロンが標識され、体性感覚野の前部に軸索が観察された。光活性化チャンネル (ChR2) を発現するAAVをSpVに注入し、473 nmの光を出すLEDを、マウスのSpVの直上に慢性的に埋め込んだ。ChR2陽性SpVニューロンの活性化で、口唇をぬぐう行動が有意に増加した。

O-008 条件付け場所嗜好性試験におけるマウスのコカイン欲求行動がケタミンによって抑制されるメカニズム

前田 祥一朗, 山田 純, 神野 尚三

九州大学医学研究院 神経解剖学

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。近年は、その即効性に優れ、かつ持続性を有する抗うつ作用に注目が集まり、新しいうつ病の治療薬候補として注目が集まっている。我々は最近、ケタミンの抗うつ効果には、成体海馬神経新生の促進作用が関わっていることを報告した。一方で、ケタミンは薬物依存症の治療薬としても有用であることを示す臨床研究があるが、その詳細は不明である。本研究で我々は、ケタミンが成体海馬神経新生を促進することで薬物依存症を改善する効果を発揮する可能性について検討を行った。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、ストレスによる場所嗜好性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モゾロミドを投与したマウスでは、ストレスによる場所嗜好性の再燃が認められた。さらに、コカインを投与したマウスではパルプアルブミン (PV) 陽性ニューロンの脱落と神経新生の減少が認められた。ケタミンを投与したマウスでは、それらの変化は抑制された。これらの結果は、ケタミンはPVニューロンの保護作用と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を示唆するものである。

O-009 海馬のパルプアルブミン陽性ニューロンの軸索に形成されるミエリンの異常が恐怖記憶の汎化に関与する

九州大学医学研究院 神経解剖学

山田 純, 前田 祥一朗, 神野 尚三

恐怖を伴う強いストレスに曝露した場合、無関係な状況下においても過剰な恐怖反応が生じることがあり、恐怖記憶の汎化と呼ばれる。恐怖記憶の汎化は、心的外傷後ストレス障害などの不安障害で認められるが、その神経基盤については不明な点が多い。本研究では、精神疾患やストレスへの関与が指摘されているオリゴデンドロサイトに焦点を当て、恐怖記憶の汎化におけるオリゴデンドロサイトの役割を解析した。実験では、恐怖条件づけボックスでマウスに電気ショック (1 mA, 1 sec, 10回) を与えて、強い恐怖に曝露し、条件付けボックスとは異なるボックスにおいても強いすくみ反応を示す恐怖記憶汎化モデルマウスを作出した。コントロールマウスとして、恐怖記憶の汎化が生じない弱い電気ショック (0.5 mA, 1 sec, 1回) を与えたマウスを使用した。RT-qPCRでは、コントロール群に比べて、恐怖記憶汎化モデルマウスにおいて、オリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現低下が見られた。免疫組織化学的解析では、恐怖記憶汎化モデルマウスにおいて、海馬におけるオリゴデンドロサイトの密度がコントロールマウスよりも減少していることが示された。さらに、恐怖記憶汎化モデルマウスにおいては、パルプアルブミン (PV) 陽性GABAニューロンの軸索のミエリン化が減少していた。最後に、化学遺伝学的手法を用いてPVニューロンを活性化することで、オリゴデンドロサイトの増加やミエリンの増加、恐怖記憶の汎化の軽減が認められた。以上の結果は、PVニューロンの軸索におけるミエリンの異常が恐怖記憶の汎化に関与する可能性を示唆するものである。

O-010 がん関連認知機能障害における海馬のオリゴデンドロサイトの役割

大島 佑人, 山田 純, 神野 尚

九州大学医学研究院 神経解剖学

抗がん剤やがん自体によって抑うつや不安、認知機能の低下が引き起こされること報告され、がん関連認知機能障害 (Cancer-Related Cognitive Impairment; CRCI) と呼ばれている。CRCIの頻度はがん患者の約75%と高く、集中力の低下や記憶障害、不安や抑うつなどによって患者のQOLは著しく損なわれ、日常生活に支障をきたす。がん自体の治療については一定の進展が見られる一方で、CRCIの研究はまだ十分とは言えず、その神経基盤については不明な点が多い。そこで本研究では、記憶・学習への関与が示唆されているオリゴデンドロサイトに焦点を当て、がんモデルマウスにおけるオリゴデンドロサイトの役割を解析した。実験では、C57BL/6Jマウスの皮下組織にメラノーマ細胞 (B16F10細胞株) を移植し、がんモデルマウスを作出した。行動学的解析では、がんモデルマウスにおいて、オペラント条件付け試験の遅延見本合わせ課題で学習成績が低下していたこと、高架十字迷路試験で不安様行動が増加していたことから、CRCIのモデルとして妥当性を有すると考えられた。一方で、がんモデルマウスとコントロールマウスから血清を回収し、サイトカインアレイを行ったところ、オリゴデンドロサイトの増殖因子 (血小板由来増殖因子) の減少やオリゴデンドロサイトの分化を制御するケモカインの増加が認められた。また、がんモデルマウスの海馬では、オリゴデンドロサイトの密度が減少していた。さらに、がんモデルマウスでは、オリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現レベルが低下していた。

O-011 腫瘍溶解性アデノウイルスにおける多能性幹細胞・再生医療の腫瘍化阻止技術

三井 薫^{1,2,3}, 小賤 健一郎^{1,2,3,4}

1 鹿児島大学医学総合研究科 遺伝子治療・再生医学分野, 2 鹿児島大学医学総合研究科 附属 南九州先端医療開発センター, 3 鹿児島大学医学総合研究科 革新治療開発研究センター, 4 鹿児島大学病院探索的医療開発センター

ヒト多能性幹細胞(hPSC)は、再生医療の基盤ツールとして期待されている。安全な再生医療応用には、残存する未分化細胞 (腫瘍化原因細胞: TC)の残存からの腫瘍化 (奇形腫、発癌)の完全阻止が最重要の克服課題である。我々は、TCの直接的腫瘍化阻止し、安全な再生医療を実現するため、これまでががん治療薬として独自開発した腫瘍溶解性ウイルス「多因子制御増殖型アデノウイルス (m-CRA)」を用いて、hPSC由来TCの特異的な殺傷・除去を効率的に行う方法を開発してきた。つまり、①がん細胞で特異的かつ高活性を有するサバイビンプロモーターおよびテロメラゼ逆転写酵素(TERT)プロモーターが、未分化hPSCでも活性が高い一方、分化した正常細胞ではほとんどプロモーター活性が無いこと、②サバイビン反応性 m-CRA (Surv.m-CRA) は、TERT反応性 m-CRA (Tert.m-CRA) よりも効率よく、共培養した分化正常細胞を殺さずに未分化 hPSC のみを死滅させることができること、③ Surv.m-CRA を予め感染させた hPSC は、マウス移植後の in vivo でのテラトーム形成を抑制すること、を報告してきた。よって Surv.m-CRA は、hPSC を用いた再生医療において安全な臨床応用の新技術となることが期待される。一方、我々は新規腫瘍治療薬として Surv.m-CRA の実用化を目指した第II相試験を進行中であり、免疫遺伝子搭載の次世代 Surv.m-CRA も開発中である。Surv.m-CRA の安全性や性能検証の実験系の確立という点からも、ヒト、様々な動物のPSC、腫瘍細胞、正常細胞で、m-CRA のウイルス増殖特性解析を現在進めており、その成果を報告する。

O-012 至適プロモーター制御下でサイトカイン遺伝子を発現する安全で効果的な腫瘍溶解性ウイルスの開発

西川路 侑那¹, 川上 広高^{1,2}, 小浜 祐行¹, 松田 恵理子¹, 三井 薫^{1,2,3}, 渡邊 真季¹, 小沢 健一郎^{1,2,3,4}
 1 鹿児島大学大学院医学総合研究科 遺伝子治療・再生医学, 2 鹿児島大学大学院医学総合研究科 付
 属南九州先端医療開発センター, 3 鹿児島大学大学院医学総合研究科 革新的治療開発研究センター, 4
 鹿児島大学病院探索的医療開発センター, 5 鹿児島大学大学院医学総合研究科 整形外科

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、第一弾医薬のサブイビン反応性 m-CRA (Surv.m-CRA) は、骨軟部腫瘍に対する第 I 相の医師主導治験において、治療遺伝子未搭載の腫瘍溶解性アデノウイルスとして最高性能である可能性を示した。本報告では、至適な強度のプロモーターによる OVI の免疫遺伝子の発現調節が、安全性と治療効果の両立のための重要な要素の 1 つであることを報告する。恒常的かつ強力なプロモーター下で、サイトカイン遺伝子を発現する従来の OVI を腫瘍内投与すると、複数の同種移植ハムスター腫瘍モデルにおいて全身的かつ致死的なサイトカイン循環を引き起こされ、全生存期間がむしろ短縮された。一方、同じサイトカイン遺伝子を、癌特異的なプロモーターで発現制御した新しい OVI は、致死的な副作用を無くしただけでなく、全生存期間の延長や全身性の抗腫瘍免疫の誘導など治療効果を最大限に高めることができた。この結果は、今後の臨床試験において、高い安全性と強力な抗腫瘍効果を同時に実現する OVI の開発には、最適プロモーターによる免疫遺伝子の発現制御が重要であることを示唆している。

O-013 1型糖尿病への革新的な HGF 遺伝子治療の開発

松田 恵理子¹, 小沢 健一郎^{1,2,3,4}
 1 鹿児島大学大学院医学総合研究科 遺伝子治療・再生医学分野, 2 鹿児島大学大学院医学総合研究科 附属南九州先端医療開発センター, 3 鹿児島大学大学院医学総合研究科 革新的治療開発研究センター, 4 鹿児島大学病院探索的医療開発センター
 1 型糖尿病 (T1D) は、β細胞に対する自己免疫反応が持続するため、膵島移植療法は、何度も繰り返し行う必要がある。一方、T1D の主な治療法であるインスリン注射は対症療法であり、重症低血糖発作や慢性合併症併発のリスクが高いため、全く新たな治療法の開発が切望されている。我々はこれまでに、高活性プロモーターで HGF (肝細胞増殖因子) 遺伝子発現制御するアデノウイルスベクター (Ad.CA-HGF) を用いたストレプトゾトシン (STZ) 誘発 T1D マウスへの有効性を検証し、「β細胞の保護・増殖誘導」という T1D への全く新たな HGF 遺伝子治療を開発している。本技術では、STZ 誘発 T1D マウスへ Ad.CA-HGF (3×10⁸ pfu) の尾静脈投与を行った群で、観察終了時 (投与 70 日後) まで高血糖を抑制し、さらに投与 14 日後と 60 日後の糖負荷試験で有意な高血糖抑制とインスリン分泌誘導がみられた。今回、治療作用を解明するため、投与 70 日目の Ad.CA-HGF 群の膵臓を用いた組織解析により、膵島の保護・増殖を確認している。これらの結果から、HGF は β細胞を保護・増殖する作用によって T1D マウスの耐糖能を改善することが示唆された。現在、実用化への応用開発研究として、「β細胞の保護・増殖誘導」をさらに増強する本技術の改良も進めている。

O-014 抗体-遺伝子結合ペプチドを用いた表皮細胞に選択的な遺伝子送達法

貴田 浩志, 山崎 裕太郎, Loreto B FERIL, 遠藤 日富美, 立花 克郎
 福岡大学医学部解剖学講座

【目的】遺伝子治療研究において、ウイルスベクターと比較して、非ウイルス性遺伝子キャリアには高い安全性、汎用性、生産や取扱いの容易さなどの利点がある一方で、多量の遺伝子の必要性や標的指向性付与の困難さという欠点がある。我々は IgG 抗体、遺伝子の両方に結合能を持つ 3 種類の抗体-遺伝子結合ペプチド (antibody-gene binding peptide: AGBP1-3) を開発した。AGBP は IgG 抗体、遺伝子と混合するだけで自己集合してナノ粒子 (peptide-antibody-gene complex: P.A.G complex) を形成する。修飾された IgG 抗体が結合親和性を有する組織に集積し、簡単に細胞選択的な遺伝子導入を実現できる。本研究では AGBP を用いた表皮への細胞選択的な遺伝子導入の確立を目指した。【方法】8 週齢オスの野生型 BALB/c マウス (N=3) を吸入麻酔下に用いた。遺伝子として、Luc2 を搭載した哺乳動物発現プラスミドベクターを用いた。抗体として、表皮および粘膜上皮に特異的に発現するデスマグレイン (Dsg3) に対する特異的抗体と、対照として正常ヒト IgG (hIgG) を用いた。遺伝子 500ng に対し、モル比で 8000 塩基の DNA あたり、AGBP1-3 をそれぞれ 500 分子、IgG 抗体を 200 分子となるように混合して P.A.G complex を形成させ、皮下注射した。48 時間、飼育した後、D-luciferin 300 μg を腹腔内注射し、経時的に IVIS で発光強度を測定し、遺伝子導入効率を評価した。【結果】AGBP1-3 で形成した修飾 P.A.G complex を用いた皮膚への遺伝子導入で、Dsg3 抗体修飾では RLU 1.1-4.5×10³ 程度の発光が得られたのに対し、hIgG 修飾では発光は全く認められなかった。

O-015 膵臓ランゲルハンス島における GABA 生合成酵素及び K⁺-Cl⁻共輸送体の局在と糖尿病モデルマウスでの発現変化

清水 千草¹, 岡田 滋喜¹, 岡本 士毅², 益崎 裕章², 高山 千利¹
 1 琉球大学大学院医学研究科 分子解剖学講座, 2 琉球大学大学院琉球大学内内分泌代謝血液膠原病内科

γ-アミノ酪酸 (GABA) は、成熟動物の中樞神経系における抑制性神経伝達物質であるが、発達期や神経損傷時には興奮性に作用する。GABA が抑制性に働くためには、細胞外に Cl⁻を排出する K⁺-Cl⁻共輸送体 (KCC2) が発現し、細胞内 Cl⁻濃度 ([Cl⁻]_i) が低く、糖代謝に関与していると考えられている。血糖値調節における GABA とその応答性の役割を明らかにすることを本研究の目的とした。GABA の生合成酵素であるグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) 及び KCC2 の免疫染色を行い、インスリンなどとの二重染色により GAD や KCC2 を発現する細胞種を同定した。加えて、ストレプトゾシン (STZ) を投与し、糖尿病モデルマウスを作製し、GAD や KCC2 の発現変化を調べた。その結果、GAD はインスリンと、KCC2 はグルカゴンと共存していた。よって、GABA は β細胞で生合成され、KCC2 は α細胞に発現していることが考えられた。また、STZ を投与することにより作製した糖尿病モデルマウスでは、インスリンとともに GAD は著しく減少したが、KCC2 の発現は変化しなかった。これらのことから、β細胞から分泌された GABA に対し、KCC2 が十分に発現している α細胞は抑制性に応答し、グルカゴンの分泌を抑制することが示唆された。一方、KCC2 の発現が認められなかった β細胞では、GABA は興奮性に働くと考えられた。糖尿病モデルマウスでは、GABA の放出が減少することにより、グルカゴンの放出を抑制できないために、血糖値の調節がさらに困難になることが示唆された。

O-016 マウス卵胞形成・成熟過程におけるクロマチン関連タンパク質 HMGB2 の生物学的役割について

白水 慎一郎^{1,2}, Narantsog Chojookhuu¹, 山隈 優^{1,2}, 山下 善弘², 菱川 善隆¹

1 宮崎大学医学部解剖学講座組織細胞化学分野, 2 宮崎大学医学部感覚運動医学講座顎顔面口腔外科学分野

【背景・目的】High-Mobility Group Box (HMGB) は HMGB1 と HMGB2 の 2 つのアイソフォームが存在する。HMGB1 は様々な細胞に豊富に存在し DNA 転写制御に重要な働きをすることが知られている。一方で HMGB2 は細胞増殖活性の高いがん細胞や精巣での細胞増殖に関与している。しかし卵巣での役割については不明な点が多い。このため HMGB2 ノックアウトマウス (HMGB2KO) の卵巣を用いて免疫組織化学的に検討した。【方法】生後 0 日、3 日、7 日、2 ヶ月齢および 6 ヶ月齢の C57BL/6 マウス雌 (WT, HMGB2KO) を使用した。卵巣重量は、2 ヶ月齢および 6 ヶ月齢のマウスで計測した。マウス卵巣は 4%PFA/PBS で固定しパラフィン切片を作製した。抗体は、HMGB1 (Ab18256, 1 μg/ml)、HMGB2 (Ab124670, 1 μg/ml)、生殖細胞マーカーとして DDX4/MVH (Ab13840, 5 μg/ml) を使用した。受精能獲得の評価は in vitro fertilization (IVF) 出生率を交配実験で検討した。【結果】①HMGB2KO の卵巣重量は、WT と比べて 2 ヶ月齢では 35.4±13.4%、6 ヶ月齢では 36.3±12.4% と減少した。②卵巣中の DDX4 陽性細胞数は WT と比較して HMGB2KO マウスでは出生時、成熟期共に有意に減少した。③ DDX4/MVH 陽性細胞は、WT は全週齢で HMGB2 と共発現したが HMGB2KO では 2 ヶ月齢まで HMGB1 の代償的な発現を認めた。④IVF 及び交配実験では、HMGB2KO の受精卵数と出生率は有意に減少していた。【結論】HMGB2 はマウス卵胞形成・成熟過程において重要な役割を担っていることが判明した。

O-017 POU 転写因子によるヒト うま味受容体 TAS1R1 遺伝子の転写調節機構の解析

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 遺伝子の転写調節機構の詳細は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 遺伝子のプロモーター領域の解析を行った。

これまでの解析により、TAS1R1 遺伝子プロモーター領域において転写活性化領域を同定している。本領域を対象として、動物種間での保存配列を検索し、さらに転写因子結合配列データベースで検索された保存配列を解析した。その結果、転写活性化領域中に 1 カ所の保存配列が認められ、その配列中には、POU 転写因子が結合する octamer motif が検索された。そこで、本 motif 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、変異の導入により、46% のレポーター活性の低下が認められた。次に、ヒト初代茸状乳頭味蕾細胞における POU 転写因子ファミリーの発現様式を RNA-seq 法を用いて解析し、さらに発現が認められたメンバーの結合配列を解析したところ、POU2F1, POU2F2, POU2F3 が転写活性化に関わる因子候補として検索された。そこで RNAi 法によりこれらの転写因子を発現阻害させ、リアルタイム-RT-PCR 法により TAS1R1 遺伝子発現量の変化を調べた。その結果、POU2F3 の発現阻害により TAS1R1 遺伝子発現量の減少が認められた。

以上の結果から、ヒト味蕾細胞において octamer motif および転写因子 POU2F3 が TAS1R1 遺伝子の転写活性化に関わっていることが推測された。

O-018 子宮内膜間質細胞による脱落膜化制御機構

田中 進

長崎県立大学シーボルト校栄養健康学科解剖生理学教室

子宮内膜の脱落膜化は、着床、胎盤の完全な発育、および妊娠の成立に必要なものである。子宮内膜は、月経周期ごとに増殖、脱落膜化(分化)、剥離(月経)のサイクルを繰り返す。子宮内膜は、間質細胞、上皮細胞、血管内皮細胞、免疫細胞を含み、プロゲステロンに反応して機能的、形態的に変化し、免疫細胞の数や種類に変化をもたらす。免疫細胞は、着床時および月経時の子宮内膜細胞総数の半分を占めている。驚くべきことに、子宮内膜の免疫細胞(子宮NK細胞が7割を占める)は、病原微生物などを排除して体を守る働きと、妊娠中の胚に寛容な免疫学的変化を促すという相反する二つの働きを持っている。この制御に関わる重要な分子の一つが、脱落膜化した子宮内膜間質細胞(Endometrial Stromal cells: EnSC)から分泌されるIL15であり、このIL15が脱落膜化によりEnSCで上昇する転写因子HAND2により直接制御されることを見出したので報告する。さらに、別の子宮NK細胞制御因子である免疫チェックポイント分子GAL9のEnSCでの発現制御機構を見出したのでそれも併せて報告する。

O-019 ヒト大腿骨皮質骨の管腔構造を可視化するための組織透明化法の開発

村井 清人¹, 佐伯 和信¹, 遠藤 大輔^{1,2}, 高村 敬子^{1,2}, 田口 紘平³, 弦本 敏行^{1,2}

1 長崎大学大学院歯薬学総合研究科内眼解剖学分野, 2 長崎大学医学部CSTセンター, 3 長崎大学医学部医学科

組織構造の解析は組織を薄くスライスした切片の観察が最も一般的である。一方で組織を透明化することで、組織内の血管や管腔の走行形態について三次元的な観察が可能となる。これまでに幾つかの組織透明化法が開発、改良されているが、ヒトの骨組織内の微細構造を観察するための透明化法に関しては開発が進んでいない。大腿骨皮質骨のオステオンの中心に、長軸方向に走るハバース管どうしを、フォルクマン管が繋ぐ。皮質骨中のこれらの管腔の構造の形態学的性質の詳細は未だ十分に解明されていない。そこでヒト大腿骨皮質骨中の管腔の走行を可視化することを目的として、その組織透明化法を開発し、形態学的特徴について検討した。ヒト大腿骨の骨幹部を脱灰後、骨軸に平行及び垂直な断面の組織片を約2mm厚で切り出した。この標本を1%ブルーデキストラン溶液に浸潤し、超音波処理にて管腔へ浸透、染色した。エタノール脱水後、サリチル酸メチルに浸潤させることで皮質骨組織の透明化を行った。光学顕微鏡を用いてこの透明化標本の管腔の走行を観察した結果、骨軸に平行な断面において、骨膜側の皮質骨では主にハバース管が長軸方向に規則的に並んで走行していたのに対し、骨髄側では、分岐がより多く複雑な走行をしていた。また、骨軸に垂直な断面において異なる部位での管腔の走行の違いを検討したところ、大腿骨の内側部にて骨髄側から放射状に長く伸びるフォルクマン管が多く観察された。サリチル酸メチルとブルーデキストランを用いた新たな方法によりヒト大腿骨皮質骨内の管腔構造の形態学的特徴を可視化することができた。

O-020 足関節前方引き出しテストの肢位条件に関する機能解剖学的研究: 慣性センサと伸縮性ひずみセンサを用いて

中尾 優太郎^{1,2}, 吉塚 久記^{2,3}, 浅見 豊子⁴, 倉岡 晃夫²

1 にかわ整形外科クリニックリハビリテーション部, 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 福岡国際医療福祉大学医療学部理学療法学科, 4 佐賀大学医学部附属病院リハビリテーション科

【目的】足関節捻挫に伴う前距腓靭帯(ATFL)損傷は最も一般的な外傷である。その診断には、足関節底屈位におけるAnterior drawer test (ADT)やAnterolateral drawer testが用いられている。一方、ATFLは足関節底屈だけでなく後足部内旋も制動することから、ADTの距骨前方移動量には後足部内旋も影響する可能性がある。伸縮性ひずみセンサ(STR)と慣性センサ(IMU)を用いた新しい手法により、後足部内旋がADTに及ぼす影響を明らかにする【方法】佐賀大学医学部に供された解剖体8体・11体(死亡時年齢88±6歳、男性4体、女性4体)を対象とした。膝関節で離断した標本のATFLを精密に剖出した後、足の長軸方向に沿ってSTR(C-STRETCH®: パンドー化学、東京)を脛骨前下縁と舟状骨に固定し、IMU(Wave Track, Cometa Str., Italia)を脛骨前と中足部に設置した。IMUにより足関節・足部の関節角度を3軸で精密にモニターしながら、STRによりADT施行時の静電容量値(pF)の変化を計測し、距骨前方移動量(mm)を算出した。計測条件は、底屈30度(BL)、底屈30度・後足部内旋10度(Int)、それらにATFL切断(BL-D、Int-D)を加えた4条件とした。【結果】各計測値は1.0±0.8mm(BL)、1.0±0.9mm(Int)、1.6±1.6mm(BL-D)、4.2±1.5mm(Int-D)であり、有意差はBLとBL-D(p<0.05)、IntとInt-D(p<0.001)、およびBL-DとInt-D(p<0.001)の間に認められた。【考察】足関節底屈・後足部内旋位ADTは、従来の足関節底屈位ADTよりもATFL損傷時の高感度な検査位として関節動揺性をより正確に評価できる可能性がある。

O-021 Plantaris muscle characterization by dissection in cadavers and by ultrasound imaging in living subjects

Feril Loreto¹, Hiroshi Kida¹, Koichi Ogawa¹, Yutaka Irie¹, Hitomi Endo¹, Yutaro Yamasaki¹, Yoshiro Chijiwa², Eiichi Goto³, Katsuro Tachibana¹

1 福岡大学医学部医学部解剖学講座, 2 福岡大学病院整形外科, 3 後藤麻酔科クリニック

The plantaris muscle is absent in 5-10% of people. Rupture of the muscle can mimic deep vein thrombosis. This study aims to characterize plantaris in cadavers and formulate a protocol for sonographic imaging of this muscle. Out of 234 cadavers examined during medical anatomy dissections, the plantaris muscle was found bilaterally in 78.2% and unilaterally in 13.7% of cases. The average length of the muscle was 69.0 mm, with a mid-diameter of 12.6 mm and a thickness of 3.9 mm. Most of the muscles originated within the lateral femoral epicondyle, while a few were located above or below it. The average length of the tendon was 288.1 mm, with an average angle of 16.1° parallel to the leg. Based on these cadaveric findings, an ultrasound imaging protocol was performed on 50 medical student volunteers. The ultrasound probe was positioned medial to the long head of the biceps femoris, with an angle of approximately 15° to the leg's parallel axis or 75 degrees medially when viewing the muscle's cross-section. The mid-section of the muscle was located at the lower border level of the epicondyle. In the student group, the plantaris muscle was found bilaterally in 82% and unilaterally in 16% of cases, with an average mid-diameter of 12.4 mm and mid-thickness of 4.7 mm. The sonographic data were consistent with the cadaveric data. Further studies are necessary to assess the reliability and clinical utility of this imaging protocol.

O-022 マウス軟骨原基への血管侵入に関わるメカノセンサーチャネル

西田 寛汰, 吉本 怜子, 澤田 孟志, 高 瑞琦, 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

骨の形成と成長には血管が重要な役割を果たす。特にEndomucinおよびCD31を高発現する骨特異的血管と呼ばれる血管が骨芽細胞と相互作用することから、骨形成に重要な血管である。軟骨内骨化過程では、軟骨原基に一次骨化中心が形成され血管網が形成されると同時に骨形成が活発になる。血管内皮細胞の軟骨原基へと侵入過程と、それを取り巻く微小環境や分子メカニズムは未だ解明されていない部分が多い。一次骨化中心形成に伴う骨特異的血管の侵入に着目し、組織形態と細胞成分との関連を調べることとした。さらに、細胞移動や進展に伴う力学的な環境変化を力の大きさに応じて活性化させる陽イオンチャネルであるメカノセンサーPiezo2の局在の超解像顕微鏡による解明を目指した。胎生14.5日齢のマウスの長管軟骨原基の中央部には、1型コラーゲンの局在を伴う傍軟骨膜(骨嚢)が出現しており、その直下にはendomucin陽性の血管が密に分布していた。傍軟骨膜の中には、1型コラーゲンの発現が弱い数ミクロンの部分があり、その部位にEndomucin陽性の血管内皮細胞が1型コラーゲンの層を貫いて軟骨原基へ向かって細胞突起を進展していた。さらに軟骨原基へ向かう血管内皮細胞の細胞突起には、線維状アクチンとともにPiezo2の局在を認めた。侵入前の1型コラーゲン近傍に存在するEndomucin陽性細胞血管の周囲にCalpain2が多く局在していた。血管侵入が進んだ1型コラーゲンの層が薄い部位にはCalpain2発現を認めなかった。メカノセンサーチャネルおよびPiezo2が骨発生期における血管の進入およびコラーゲン分解に関与する可能性が示唆された。

O-023 シェーグレン症候群を伴う関節リウマチによって両側弾撥膝を発生した1例

山崎 裕太郎¹, 前山 彰², 竹内 真衣³, 山本 卓明²

1 福岡大学医学部解剖学講座, 2 福岡大学医学部整形外科教室, 3 久留米大学医学部病理学講座(第二病理)

【背景】弾撥膝(snapping knee)とは、膝関節の曲げ伸ばしなど特定の活動時に膝関節の引っかかり感(snapping)や雑音(popping)を来す疾患である。原因としては、円板状半月板、半腱筋筋インピンジメント、関節内腫瘍などが挙げられる。また、関節リウマチに続発するsnappingも報告されている。しかし、我々の知る限り、関節リウマチ患者がリウマトイド結節や粘液腫様変性以外の原因でsnapping kneeを発生したという報告はない。今回、シェーグレン症候群を伴う関節リウマチによって両側のsnapping kneeを発生し、関節鏡手術により症状が改善した稀な症例を経験したので報告する。

【症例提示】43歳男性。両手指、両肩、両膝の痛みにて他院を受診し、関節リウマチと診断された。その後、両膝のsnappingを認め、当院を受診した。血液検査にてリウマトイド因子、抗Sm抗体、抗SS-A抗体が陽性であった。関節鏡検査にて両膝蓋-大腿関節外側に硬い瘢痕様組織を認め、鏡視下で切除した。病理組織学検査では炎症細胞浸潤と血管増生を伴う肉芽組織が観察されたが、滑膜の増生や腫瘍性病変は認めなかった。術後に両膝のsnappingおよび屈曲時痛は消失した。その後snappingの再発なく経過した。【考察】シェーグレン症候群を伴う関節リウマチによって全身性の炎症が起こり、両膝関節の関節包が変性・肥厚することで、膝関節屈曲時に膝蓋-大腿関節でインピンジが生じ、両膝でsnappingが起きたと考えられた。さらに、関節鏡手術により変性・肥厚した関節包を除去することで、膝関節屈曲時のインピンジを防ぎ、膝関節痛とsnappingの再発を防ぐことが出来たと考えられた。