

日本解剖学会

第68回東北・北海道連合支部学術集会

会 期：令和4年9月10日（土）、11日（日）

会 場：北海道大学とオンラインのハイブリッド方式

特別講演 大脳基底核の形態学的解析

○藤山 文乃
北海道大学大学院医学研究院 組織細胞学教室

大脳基底核には、独立かつ拮抗的に働く直接路・間接路という二つの経路が存在し、運動調節を行っているというスキームが広く受け入れられています。しかし、このスキームで説明できない症状が多く残されているのも現状です。

私は臨床医学から基礎医学に転向して以来、この矛盾を解明するために一貫して大脳基底核の形態学的研究に取り組んできました。近年、遺伝子工学の進展や電気生理を得意とする教室メンバーに助けられ、直接路から淡着球外節への神経投射があること、淡着球外節-線条体投射ニューロン(arkypallidal neuron)に関する新しい神経路、視床線条体投射などに関する新しい知見を得ることができました。さらに、大脳基底核の報酬系とも深い関係のある線条体のストリオソーム・マトリックスというコンパートメント構造と大脳基底核ネットワークとの関係も解明されつつあります。

本地方会ではこれらの所見を紹介するとともに、新たな神経回路図から考えるパーキンソン病の病態への推察なども述べさせていただきたいと考えています。(COI:No)

1 高脂肪食がアルツハイマー型認知症におけるミクログリア機能に及ぼす影響の検討

○宮崎啓史¹、Yang Shuhan¹、大和田祐二¹、東北大学 大学院医学研究科 器官解剖学分野¹

背景 肥満はアルツハイマー型認知症(AD)発症のリスクファクターであるが、そのメカニズムは不明である。ミクログリアはサイトカイン産生や食食機能により脳の恒常性維持に関与し、ADにおいてAβプラークの圧縮やAβペプチドの食食によりAD病態進行を抑制すると考えられている。本研究では、ADモデルマウス脳において、高脂肪食がミクログリア機能にどのような影響を及ぼすのかを検討した。

方法 *APP^{NL-G-F/NL-G-F}*-knock in(AD)マウスに高脂肪食を給餌し、脳のAβ沈着やミクログリア活性を検討した。またミクログリア細胞株MG6に対し、高脂肪食に多く含まれる長鎖脂肪酸種をそれぞれ添加し、MG6のAβ食食活性や関連受容体の発現を検討した。

結果 大脳皮質と海馬でのAβプラークとプラーク周囲の障害神経細胞を観察したところ、いずれにおいても、通常食を給餌したADマウスに比べて高脂肪食給餌ADマウス(HFD群)で増加していた。また、プラーク周囲のミクログリア集積がHFD群で減少していた。さらに、HFD群ではミクログリアによるAβの圧縮構造が減少し、AD症状を増悪させると考えられるdiffuse Aβ plaqueが増加していた。*In vitro*では、他の脂肪酸と比較して、オレイン酸処理はMG6のAβ取り込みを低下させた。また、オレイン酸は脂肪滴形成を誘導しやすく、細胞内の脂肪滴が多い細胞は特にAβの取り込みが低下していた。さらに、オレイン酸はAβの取り込みに重要な受容体Trem2及びLrp1の発現を有意に低下させた。

結論 高脂肪食による脳の脂質環境変化がミクログリアの活性化状態やAβの食食機能を低下させ、AD病態を増悪させる可能性が示唆された。(COI:No)

2 ミクログリアに着目した精神神経疾患研究

○扇谷昌宏¹、古部瑛莉子²、吉田成孝¹

我々の脳には、ニューロン以外にも数多くの細胞が存在している。その一種であるミクログリアは、脳内の微小な環境変化に迅速に反応し、食食やサイトカイン産生等を行うことで脳内免疫応答の中心として機能している。また、その機能不全や異常活性化が疼痛性疾患やアルツハイマー病、精神神経疾患に至るまで様々な病態に関与していることが示唆されている。うつ病や統合失調症に代表される精神神経疾患は器質的な疾患と異なり、人間(ヒト)に特有の疾患とも言える。このヒト特有の疾患を研究するためには、当然ながらヒトの細胞を用いて実験する必要がある。しかし、そのハードルは極めて高い。脳に存在するミクログリアは生検が困難であるため、細胞レベルでの詳細な解析はこれまで不可能であった。そのような中、我々は末梢血中の単球からミクログリア様細胞(induced microglia-like cells: iMG細胞)を作製する技術開発に成功した。iMG細胞は、単球にGM-CSF(顆粒球マクロファージコロニー刺激因子)とIL-34(インターロイキン34)の2種類のサイトカインを添加して2週間培養するだけで作製することが可能である。iPS細胞と異なり、遺伝子組み換えの操作を行わない化学誘導のみで作製が可能のため、簡便で安全性が高く、一般病院等の臨床施設においても作製が容易な点が特徴である。我々はこのiMG細胞を用いて一次性グリア病や精神疾患、慢性疼痛といった様々な疾患におけるミクログリア異常を報告してきた。本発表では、我々の開発したiMG細胞のトランスレーショナル研究ツールとしての有用性と可能性についてこれまでの結果を紹介すると共に、精神神経疾患におけるミクログリアの重要性について議論したい。(COI:No)

3 脳腫瘍における異常脂質代謝とフェロトーシス耐性獲得機構の関連性とその治療応用

○香川 慶輝、Umaru Banlanjo Abdulaziz、須田 朱音、大和田 祐二
東北大学 大学院医学系研究科 器官解剖学分野

【背景】フェロトーシスは細胞内脂質の過酸化反応により誘導される細胞死で、生体内で腫瘍抑制メカニズムとして機能することから、有望な腫瘍治療経路として着目されている。一方で、脂質代謝の変化がフェロトーシス耐性獲得を誘導することから、治療戦略において腫瘍の脂質代謝制御は重要な課題であるが、フェロトーシスと脂質代謝の関連メカニズムが未だ明確でないため、有効な治療法確立には至っていない。

近年我々は難治性グリオblastomaでIDH1遺伝子変異に伴う腫瘍内脂質代謝の変化を示唆する知見を得た。本研究ではこの脂質代謝の変化を利用し、フェロトーシス耐性機構獲得のメカニズムの解明を試みると共に、その治療応用の開発を目指す。

【方法・結果】IDH1(R142H)蛋白質を任意に発現させるTet-onシステムをレトロウイルスでグリオーマ細胞株U87に導入した。IDH1変異型ではIDH1野生型に比べ、脂質代謝に関連する遺伝子の発現増加が認められた他、Bodipy染色により脂肪滴形成が亢進していることが明らかになった。一方、細胞外フラックスアナライザーを用いた解析によりIDH1変異型ではミトコンドリア機能が顕著に低下することが明らかになった。通常培養環境下ではIDH1野生型、変異型間で細胞増殖能に差は認められないが、脂肪滴形成阻害剤を用いると、IDH1変異型では顕著な細胞増殖の遅延が認められ、この遅延はフェロトーシス阻害剤の併用によりキャンセルされた。

【考察】IDH1変異型グリオーマでは、脂肪滴の過形成により脂肪酸の過酸化反応が抑制され、フェロトーシス耐性機構を獲得している可能性が示唆される。(COI:No)

4 マウス尾側線条体におけるドーパミン受容体不等発現領域とその投射様式

荏部冬紀¹、緒方久実子²、角野風子¹、平井康治¹、藤山文乃¹
北海道大学大学院医学研究院組織細胞学教室¹、同志社大学脳科学研究科²

マウス尾側線条体にはドーパミン2型受容体(D2R)の発現が少ない領域があることが既に報告されていた。我々は、免疫染色を用いて、この領域に隣接してドーパミン1型受容体(D1R)の発現が少ない領域も存在することを見出した。これらの領域での神経細胞や中型有棘投射細胞の密度は他の領域と差はなかった。in situ ハイブリダイゼーションの結果、これらの領域では、D1RもしくはD2Rを発現する細胞の割合が減少していることが分かった。逆行性標識により直接路投射細胞を標識したところ、標識細胞の密度はD1R発現細胞の少ない領域で有意に少なく、D2R発現細胞の少ない領域では有意に多かった。さらにほぼ全ての標識細胞はD1R mRNAを発現していた。以上の結果から、直接路細胞がD1Rを発現するという法則は、これらの領域でも維持されていることが分かった。また、順行性標識によりこれらの領域から投射する軸索を可視化したところ、尾側淡着球外節と黒質側方部に密な投射があった。また、尾側淡着球外節は黒質側方部に投射していた。したがって、これらの領域からの直接路・間接路投射は黒質側方部で統合されていると考えられる。尾側線条体と黒質側方部は、嫌悪刺激に対する逃避行動に重要であることが示唆されており、今後、特異なドーパミン受容体発現様式を示すこの部位の機能的・神経回路的な意義について詳細に解析したい。

5 コルヒチン脳室内投与ラットの視床下部神経分泌細胞における グラニン蛋白発現部位の同定

○森永涼介¹、甲賀大輔¹、穂坂 正博²、渡部 剛¹
旭川医科大学解剖学講座顕微解剖学分野¹
秋田県立大学生物資源科学部応用生物科学科²

【背景・目的】内分泌細胞の分泌顆粒へのペプチドホルモン選別輸送・蓄積には、グラニン蛋白が関与している。我々はこれまでに、視床下部下垂体系の神経分泌細胞の神経終末に発現するグラニン蛋白を報告してきた。しかし、通常の免疫組織化学では、神経細胞体における一部のグラニン蛋白の発現を検出することが困難であった。そこで本研究では、軸索輸送を阻害するコルヒチンを脳室内投与し、細胞体に蓄積されたグラニン蛋白を検出し、神経分泌細胞における各グラニン蛋白の発現部位を同定した。【材料方法】コルヒチン脳室内投与後、1-2日経過したWistar系雄ラットの視床下部を免疫組織化学に供した。免疫染色には、グラニン蛋白であるCgA、CgB、Sg2、Sg3 および視床下部ホルモンに対する抗体を用いた。【結果】室傍核や視索上核に局在する後葉ホルモンのパソプレシン (VP) 陽性細胞体にはCgAおよびSg2の、オキシトシン (OXT) 陽性細胞体にはCgBおよびSg3の強い共存関係が認められた。室傍核およびその内側に局在するCRH神経にはSg2の、Somatostatin神経にはCgB、Sg2の、TRH神経にはSg2の共存が認められた。また弓状核のGHRH神経およびTH神経にはCgB、Sg3の、視索前野のGnRH神経にはCgAの共存が強く認められた。【考察】後葉ホルモンの選別輸送・蓄積にはNeurophysinが関与すると考えられてきたが、グラニン蛋白も発現することから、これら蛋白も選別輸送・蓄積に関与することが示唆された。ただし、VP神経およびOXT神経で主として共存するグラニン蛋白が異なり、VPおよびOXT前駆体と各グラニン蛋白の発現調節に何らかの相関性があることが示唆された。

6 マウス小脳プルキンエ細胞におけるカチオンチャネル TRPC3 の発現様式

○久井漱誠¹、山崎美和子¹、今野幸太郎¹、宮崎太輔²、渡辺雅彦¹

北海道大学大学院 医学研究院 解剖発生学教室¹、
北海道大学大学院 保健科学研究所 リハビリテーション科学分野²

TRP(Transient Receptor Potential)は4量体のカチオンチャネルを形成する。TRPC3は小脳プルキンエ細胞に特に豊富に発現しており、小脳機能に重要である。マウスを用いた電気生理学実験では、平行線維の頻回刺激で1型代謝型グルタミン酸受容体(mGluR1)が活性化すると、TRPC3の頻回刺激による遅い興奮性応答が生じる。登上線維シナプスではこの応答を誘発しづらいことから、平行線維シナプスで優先的に応答を生じさせる分子配置が存在する可能性がある。しかし、これまで特異的な抗体が存在しなかったためこの点は不明なままであった。本研究では特異的な抗体の開発を行いTRPC3の発現様式を検討した。野生型マウスのグリオキサル固定脳を用いた免疫染色では、プルキンエ細胞の樹状突起や棘突起が存在する分子層に明るい点状反応として認められ、これはTRPC3欠損マウスで消失した。陽性反応は棘突起周辺に強くmGluR1の反応パターンとよく一致していた。包埋前免疫電顕法による定量解析の結果、TRPC3とmGluR1の分布様式は良く似ており棘突起では細胞膜に多い傾向にあった。棘突起ではシナプス外側の細胞膜に局在しており、平行線維と登上線維シナプス周辺での密度に有意な差は認められなかった。以上の結果から、2つのシナプス周囲でのmGluR1とTRPC3の密度は同様であるにも関わらず、平行線維シナプス周囲のTRPC3を効率良く活性化する機構が存在する可能性が示唆された。今後はフリーゼレプリカを用いた免疫電顕法により、2つのシナプスでのmGluR1とTRPC3の相対的な位置関係を検討する予定である。(COI: No)

7 マウス小脳プルキンエ細胞における細胞内 Ca²⁺ストア制御分子 STIM1の局在様式

○野村左京¹、山崎美和子¹、今野幸太郎¹、宮崎太輔²、渡辺雅彦¹

北海道大学大学院 医学研究院 解剖発生学教室¹、
北海道大学大学院 保健科学研究所 リハビリテーション科学分野²

カルシウムイオン(Ca²⁺)は細胞内シグナル伝達の主要なセカンドメッセンジャーである。小脳プルキンエ細胞では平行線維活動による代謝型グルタミン酸受容体(mGluR1)の活性化により生じる細胞内ストアからのCa²⁺放出が小脳機能の重要な基盤となる。近年、1回膜貫通タンパク質であるstromal interaction molecule 1(STIM1)が、プルキンエ細胞でも細胞内Ca²⁺ストアの制御に必須であることが報告された。STIM1欠損マウスでは平行線維の頻回刺激に伴う細胞内ストアからのCa²⁺放出だけでなく、mGluR1依存の遅い興奮性応答も消失することから、STIM1が細胞内シグナル伝達のハブ分子として機能する可能性が示唆されているが、その詳細な細胞内分布は不明である。本研究ではプルキンエ細胞におけるSTIM1の局在様式を免疫組織化学的手法により検討した。野生型マウスのグリオキサル固定脳では陽性反応クラスターが細胞体内部や樹状突起の表面に沿って観察された。microRNAによるノックダウンでSTIM1の発現を抑制した細胞では、この反応は消失していた。多重染色で検討したところ、棘突起の細胞膜に分布するmGluR1とは重ならない一方、滑面小胞体中存在するイノシトール三リン酸受容体と部分的によく一致していた。包埋前免疫電顕法ではSTIM1は主に樹状突起の細胞膜直下の滑面小胞体膜に局在し、棘突起内部には検出されなかった。以上の結果から、STIM1はプルキンエ細胞内の小胞体ネットワークの一部に局限して分布することが明らかになった。今後は入力線維や関連分子との相対的な位置関係について検討を進める予定である。(COI: No)

8 発達期マウス小脳登上線維—プルキンエ細胞投射系の勝者・敗者 シナプスの分子解剖学的研究

○新田麻子¹、山崎美和子¹、今野幸太郎¹、宮崎太輔²、渡辺雅彦¹

北海道大学大学院 医学研究院 解剖発生学教室¹、
北海道大学大学院 保健科学研究所 リハビリテーション科学分野²

マウスの登上線維—小脳プルキンエ細胞投射系は神経回路の精緻化過程研究において優れたモデル系である。生直後のプルキンエ細胞は5本以上の登上線維により支配されるが、その後線維間に優劣が生じ1本の勝者のみが樹状突起に移動し、それ以外の敗者は細胞体に留まり除去される。この選別過程におけるシナプス後部の強度の寄与については電気生理学的研究が困難であり未だ不明な点が多い。本研究では勝者・敗者におけるシナプス後部の分子解剖学的特徴について、神経標識法と多重染色により野生型マウスを解析した。シナプス後部の強度の指標としてAMPA型グルタミン酸受容体の発現量に着目した。勝者の登上線維が樹状突起へ移動を開始した直後の生後10日頃とそれ以降の生後12日、15日において、樹状突起上の勝者シナプスと細胞体に留まる敗者シナプスを比較すると、生後10日では勝者シナプスでの発現量が敗者シナプスよりも高く、この傾向は生後12日と生後15日でさらに強まった。以上の結果から、勝者シナプス後部ではAMPA受容体の発現量が高く、敗者シナプスよりも機能的に強いことを示唆している。今後はシナプスや棘突起のサイズとAMPA受容体の発現量の相関についても検討を進めていく予定である。(COI:No)

9 マウス内側手綱核—脚間核経路におけるニコチン性アセチルコ リン受容体の発現

○都築明日香¹、山崎美和子¹、今野幸太郎¹、宮崎太輔²、渡辺雅彦¹

北海道大学大学院 医学研究院 解剖発生学教室¹、
北海道大学大学院 保健科学研究所 リハビリテーション科学分野²

神経系のニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)は8種のαサブユニットと3種のβサブユニットからなるカチオンチャネルである。内因性のアセチルコリンやタバコのニコチンがnAChRに結合すると、サブユニット構成や局在部位の違いにより多様な生理機能を発揮する。α3とβ4を含む受容体(α3β4*受容体)は神経調節系のセロトニンやドーパミン神経系の活動を制御する内側手綱核(MHb)—脚間核(IPN)経路に豊富に発現しニコチン依存形成に重要であるが、その分子解剖学的基盤には不明な点が多い。この組織学的研究ではマウス脳におけるα3β4*受容体の細胞発現と局在様式を明らかにした。蛍光*in situ* hybridizationではα3とβ4のmRNAは腹側MHbのコリン作動性細胞と共に強く発現していたが、投射先のIPNでは非常に弱いレベルであった。グリオキサル固定脳を用いた蛍光抗体法では、野生型の腹側MHbと投射先のIPNでα3とβ4が検出され、両者の反応はβ4欠損マウスで消失した。α3とβ4に対する陽性反応はよく一致し腹側MHbではコリン作動性細胞の細胞体の辺縁部や糸球体に、IPNではニューロビルに強い反応があった。免疫電顕ではα3が腹側MHbの細胞体の細胞質と糸球体を構成する樹状突起の細胞膜上に主に局在し、IPNでは主にシナプスを形成する入力神経終末の細胞膜に分布することが明らかになった。これらの結果は、β4の発現にはα3が必須であり、2つのサブユニットが同じ受容体に組み込まれることを示唆している。さらにα3β4*受容体がMHbとIPNでそれぞれ樹状突起と神経終末に局在し、異なる伝達調節機能を果たす可能性が示唆される。(COI: No)

10 ラット授乳期における胃のAromatase発現制御因子の探索

○小林 裕人¹、白澤 信行²、内藤 輝¹
山形大・医・解剖—¹
東北文化学園大・医療福祉・理学療法²

ラット胃壁細胞にはAromataseが存在し多量のエストロゲンを産生している。近年、胃のエストロゲンは血中脂質を調整する役割を担っている可能性が伊藤ら(2021)によって示され、長らく不明であったその存在意義が見出されつつある。一方、胃のAromataseは生後20日齢頃から発現し始めるが、その制御因子については知られていない。本研究では、成長因子の一つで胃酸分泌抑制因子βとしても知られる上皮成長因子(Epidermal Growth Factor; EGF)に着目し、授乳期における胃のAromatase発現に与える影響を検討した。その結果、胃粘膜上皮中のAromatase mRNA発現量は増加傾向を示したものの、有意差は認められず、Aromataseタンパク質量にも変化は認められなかった。続いて、EGFと高い相同性を持ち、同じEGF受容体に結合する形質転換成長因子(Transforming growth factor α; TGFα)に着目し、EGF群と同様の解析を行った。その結果、胃粘膜上皮中のAromatase mRNA発現量、Aromataseタンパク質量共に増加した(*p*<0.05)。以上の結果から、ラット授乳期における胃のAromatase発現にはEGF受容体に結合するTGFαを端緒とした制御機構が働いている可能性が示された。(COI: No)

11 微量アミン関連受容体 (TAAR) アゴニストである 3-iodothyronamine はラット脳細動脈において TAAR とは別の受容体にも働く可能性がある

坂野上和泰*, ○齋野朝幸**, 横山拓矢**, 平川正人**, 伊藤元*, 佐藤健一*

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座歯科麻酔学分野*, 岩手医科大学統合基礎講座解剖学講座細胞生物学分野**

【目的】脊椎動物の神経系に存在する微量アミン(TA)は、TA 関連受容体(TAAR)と結合し様々な効果を及ぼす。中でも TAAR1 は統合失調症等に関与することがわかってきた。TAAR が血管系に及ぼす影響を直接観察した研究はない。本研究は脳細動脈に着目し、TAAR1 アゴニストの反応性を細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) 変動を指標として検討した。【方法】雄性 Wistar 系ラットを殺処理後リソゲル液で全身灌流し、脳細動脈を分離し標本とした。 Ca^{2+} 感受性蛍光指示薬を負荷後、TAAR 関連試薬等を灌流させ、共焦点レーザー顕微鏡(NIKON RCM)で観察を行った。【結果】RT-PCR 法にて脳動脈で全ての TAAR mRNA の発現を認め、TAAR1 が強く発現していた。 $[Ca^{2+}]_i$ を検討したところ、大多数の TAAR1 アゴニストでは $[Ca^{2+}]_i$ 上昇はなく、3-iodothyronamine(3-TIAM)のみ $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を認めた。この上昇は細胞外からの Ca^{2+} 流入および細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出の双方が関与していた。情報伝達系では、カルモジュリンキナーゼ (CaMK) II、および cAMP によって活性化される Epac2 の阻害により、 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は強く抑制された。【考察】脳細動脈において、3-TIAM が今まで報告があるのとは別の細胞内情報伝達系に働いていることが明らかとなった。CaMK II は $[Ca^{2+}]_i$ 上昇によって活性化するのが通説だが、それとは異なる機構が存在する。Epac2、CaMKII が共同して作用し、3-TIAM 投与による血管収縮に一過性に関与する可能性があり、この機序を明らかにするために引き続き研究を継続していく。(COI:No)

12 ラット頬ひげ動き受容器周辺への星形シュワン様細胞の分布に果たすプリン作動性信号の役割について

岩永ひろみ・北海道大学大学院医学研究院組織細胞学教室

ATP 等のプリン体は細胞外信号物質として、グリアの形態変化・移動に関わるといわれる。演者らはこれまでに、ラット頬ひげ動き受容器槍型終末周辺に軸索と接触しないグリアマーカー陽性の星形シュワン様細胞が散在し、この細胞が ATP 受容体 P2Y₂ を発現することを報告した。そのプリン作動性信号と細胞移動の関連をしらべるため、グリアが緑色蛍光を発する遺伝子改変ラットの頬ひげ周辺皮下に P2Y₂ 遮断剤 AR-C 118925XX を生後 21 日令から 1 週間投与し、28 日令で 4%パラホルムアルデヒド経心灌流固定して頬ひげ毛根を毛包・周囲組織とともに取り出し、毛包頸部被膜を環状除去して槍型終末を露出した。この毛の丸ごと標本にニューロン特異蛋白 PGP9.5 の赤色蛍光免疫染色を間接法で施し、毛軸を少しずつ回転させながら毛包全周を共焦点顕微鏡観察した (複原と熊本, 2005)。同様に、媒体のみ皮下注射したラットから得た標本を対照とした。対照群・実験群ともに、毛包頸部全周に総数 70 ほどの星形シュワン様細胞がみられた。対照群では、毛隆起のある毛包尾側 1/4 周に全体の 37.1±1.7% (mean±SD; n=8) の星形シュワン様細胞が集まるのに対し、実験群で同領域に集まる星形シュワン様細胞は全体の 29.5±1.9% (n=8)にとどまり、対照群に比べ尾側への集積傾向が有意に減弱していた。従って、P2Y₂ 受容体活性化は星形シュワン様細胞の毛隆起周辺への集積を促すと推測される。(COI:No)

13 副甲状腺ホルモン製剤投与による皮質骨多孔化の微細構造学的解明

○阿部未来¹、山本知真也^{1,2}、本郷裕美¹、吉野弘菜¹、網塚憲生¹、長谷川智香¹
北海道大学大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室¹、陸上自衛隊真駒内駐屯地北部方面衛生隊²

【目的】骨粗鬆症治療薬として用いられている副甲状腺ホルモン(PTH)製剤は間歇投与により海綿骨量を増加させる一方、長期間の継続投与により皮質骨の多孔化を誘導することが報告されている。PTH 投与による皮質骨多孔化のメカニズム解明の一助として、PTH 間歇投与マウスの大腿骨の微細構造学的解析を行った。【材料と方法】生後 6 週齢 C57BL/6J マウスに 40 μ g/kg/day の hPTH[1-34]を 1 日 4 回腹腔内投与し、投与 1、3 日、1、2、3 週間後にパラホルムアルデヒド固定を行い、大腿骨をパラフィン・エポキシ樹脂に包埋した。これらを用いて、HE 染色、TRAP 染色、各種免疫組織化学 (ALP、endomucin)、組織形態計測、および、透過型電子顕微鏡観察を行った。【結果と考察】PTH 間歇投与マウスの大腿骨では、経時的に海綿骨の骨量が増加する一方、骨幹端部から骨幹部に向かって皮質骨が骨内膜側から多孔化する傾向が認められた。皮質骨の骨内膜側を観察すると、コントロールマウスでは、endomucin 陽性血管が、骨表面を覆う ALP 陽性骨芽細胞の骨髄側に局在しており、TRAP 陽性破骨細胞はほとんど認めなかった。ところが、PTH 間歇投与マウスでは、ALP 陽性骨芽細胞が扁平になり、TRAP 陽性破骨細胞と endomucin 陽性血管が骨表面近くに局在する傾向が認められた。また、一部の血管は破骨細胞とともに皮質骨内部に侵入していた。統計解析を行うと、コントロールマウスに比較して、PTH 間歇投与マウスで皮質骨表面に存在する破骨細胞数が有意に増加する一方、皮質骨表面と endomucin 陽性血管の距離は有意に低下していた。皮質骨内膜側の血管侵入部位を透過型電子顕微鏡観察すると、侵入血管周囲の骨芽細胞は扁平化し、血管が皮質骨骨表面に直接接している像が確認された。しかし、皮質骨内に侵入した血管の侵入端を観察すると、血管に先行して破骨細胞が存在していた。以上より、PTH 間歇投与による皮質骨多孔化部位では、骨髄側の血管が破骨細胞や血管周囲細胞と互いに連関しながら、皮質骨内部へと侵入する可能性が示唆された。(COI:No)

14 新規肥満 2 型糖尿病モデル SDT fatty ラットにおける骨組織の解析

本郷裕美¹⁾、姚 斉^{1,2)}、長谷川智香¹⁾、網塚憲生¹⁾
北海道大学歯学研究院¹⁾硬組織発生生物学²⁾口腔機能補綴学

糖尿病性骨粗鬆症の骨組織の解析は、未だ明らかになっていないところが多い。そこで我々は生後 42 週齢の SD ラット(control 群)および新規肥満 2 型糖尿病モデルである SDT fatty ラットを用いて解析した。TRAP 陽性破骨細胞および ALP 陽性骨芽細胞の局在を検索すると、両群共に明らかな違いは認められなかったが、 μ CT 観察すると SDT fatty ラットの骨幹端の骨梁が著しく減少していた。そこで、骨基質石灰を von Kossa 染色にて解析すると、SDT fatty ラットでは骨基質表面に活性型骨芽細胞が局在し、その直下に厚い末石灰化領域を形成し、その中には多数の細胞が埋め込まれていた。次に、骨細胞・骨細管系の走行を観察するために鍍銀染色を行うと、SDT fatty ラットにおいて一部、不連続性を示すものがあり、カルシウムイオンに結合する DMP-1、osteocalcin、chondroitin4 硫酸の免疫染色を行うと、control 群は骨小腔および骨細管に均一に局在するのにに対し、SDT fatty ラットでは均一に局在せず、骨小腔に蓄積してしまう傾向が認められた。また、SDT fatty ラットの骨髄には多数の血管が局在しており、骨特異的血管が骨芽細胞を活性化し、骨基質合成を促進させているのにも関わらず、骨細胞側からの石灰化調整が阻害されることで厚い末石灰化領域が残存する可能性が推察された。以上より、肥満 2 型糖尿病の新規モデルである SDT fatty ラットでは、糖尿病によって骨細胞・骨細管系の機能低下、血管の増加、および骨基質石灰化の抑制が示唆された。

15 アレンドロネート投与後における骨特異的血管の組織科学的变化

吉野弘菜、長谷川智香、網塚憲生

北海道大学歯学研究院 硬組織発生生物学教室

【目的】アレンドロネート (ALN) が骨特異的血管や骨芽細胞に与える影響を組織化学的に解析した。

【方法】生後 6 週齢 ICR マウスに、ALN (1mg/kg/day) を 10 日間連続皮下投与あるいは外頸静脈から単回投与した後、4 %パラホルムアルデヒド溶液を用いて灌流固定した。その後、通法に従い、大腿骨のパラフィン切片およびエポキシ樹脂切片を作製し、免疫組織化学ならびに透過型電子顕微鏡観察 (TEM) を施行した。また、RT-PCR にて遺伝子発現を解析した。

【結果】ALN 連日投与マウスでは、endomucin 陽性血管が狭小化するとともに、血管壁に小突起や小胞が形成されていた。一方、血管壁の管腔維持や血管新生抑制に関与する遺伝子発現が上昇していた。このことから、血管異常を修復するフィードバック機構が働いている可能性が示唆された。また、ALN 単回投与マウスでは、TRAP 陽性破骨細胞が認められたにも関わらず、骨梁表面の ALP 陽性骨芽細胞は減少しており、狭小化した endomucin 陽性血管が骨表面から離れて局在していた。また、狭小化した血管の周囲には骨芽細胞が認められなかった。以上の結果から、ALN は、破骨細胞のみならず骨特異的血管や骨芽細胞にも影響を及ぼすことが推測された。

16 青森県八戸市根城跡から出土した中近世人骨の形態学的特徴

○荻生怜奈¹、北村奨之¹、長岡朋人²
聖マリアンナ医科大学医学部生¹、青森公立大学経営経済学部²

青森県八戸市に所在する国史跡根城跡は、中世南部氏の北奥羽の支配の拠点であった。城跡は馬淵川の段丘上にあり、本丸、中館、岡前館、沢里館などの曲輪が配置されていた。1978 年以降、八戸市教育委員会による発掘調査が行われ、20 体を超える中近世の人骨が発掘された。本研究の目的は、根城跡から出土した人骨の形態学的調査を行い、人骨の個体数の算出、性別・年齢の推定、骨・歯科疾患の鑑定、形態計測学的な調査を通して、根城の人々の姿かたちや病気の復元を行うことである。本研究の結果、(1) 出土人骨の総数は 28 体で、未成人骨 13 体、成人骨 15 体 (男性 6 体、女性 6 体、性別不明 3 体) であった。(2) 永久歯の齲歯率は 3.8% (9/238) であり、他地域の中近世日本人の齲歯率に比べて低頻度であった。(3) エナメル質減形成は上顎中切歯で 83.0% (10/12)、下顎犬歯で 89.0% (8/9) であり、他地域の中近世日本人よりも高頻度であった。(4) 根城の人々の歯冠サイズは弥生時代以降の日本人の中でもっとも小さく、その形態は縄文人に類似していた。本研究は、中近世における東北北部の人々の姿かたちや生活にアプローチした重要な研究である。(COI:No)

17

DGKε欠損褐色脂肪における熱産生低下のメカニズム

○中野知之、後藤 薫
山形大学医学部解剖学第二講座

脂質とグルコースは細胞活動のエネルギー源であり、その代謝は厳密に制御される。我々は、ジアシルグリセロール (DG) のリン酸化酵素 DG キナーゼ (DGK) の機能解析を行っている。本研究では DGKε に注目し、体温産生場である褐色脂肪組織における解析を行った。DGKε-KO マウスを寒冷環境で飼育すると、血糖値および直腸温の有意な低下と、褐色脂肪領域の体表温度の低下が認められた。この時、血中インスリンレベルは有意に上昇した。褐色脂肪組織において、交感神経マーカーであるチロシン水酸化酵素や GLUT1 のタンパク発現が亢進した。寒冷への応答は、交感神経により伝達され、褐色脂肪細胞の形質膜に局在する β3 アドレナリン受容体 (β3AR) で受容される。免疫染色の結果、寒冷環境における KO マウスでは β3AR が細胞質に内在化していた。次に、単離した褐色脂肪細胞を用いた実験を行った。グルコース取込み実験において、DGKε欠損細胞では細胞内グルコースレベルが高値を示した。この結果、無刺激条件でも DGKε欠損により、細胞レベルでグルコース取込みが亢進することが明らかとなった。β3AR 免疫反応は、DGKε欠損細胞においては、大部分が形質膜に観察された。本研究の結果、DGKε欠損により褐色脂肪細胞ではグルコース取込みが亢進し、KO マウスでも寒冷下でインスリン分泌の亢進およびグルコース取込みが亢進することが明らかとなった。インスリンはグルコース取込みの他、β3AR の内在化をもたらしことから、DGKε-KO マウスの褐色脂肪組織では交感神経シグナルが障害され、寒冷に対する熱産生が妨げられる可能性が示唆された。(COI:No)

18

核内脂肪滴形成を制御する新たな分子機序

○大崎雄樹¹、和田亘弘¹、立松寛人²、程晶磊²
札幌医科大学医学部解剖学第一講座¹、名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学²

細胞質脂肪滴は中性脂質をリン脂質一重膜が覆う構造であり、小胞体から形成され、多様な生理機能と疾患に関与する。一方脂肪滴は、核内にも形成される(1)。我々はこれまでに、肝細胞では小胞体内腔で合成された VLDL 前駆体顆粒が、内核膜延長構造を通して核内に逆流して形成される一方、非肝細胞では内核膜に脂質合成酵素群が局在し、内核膜から直接脂肪滴が形成されることを明らかにした (2, 3)。また核内脂肪滴は特に肝由来細胞で小胞体ストレスに応じたリン脂質合成に関与することを見出した(2)。

核内脂肪滴形成に関与する新たな分子を探索したところ、核内ウイルス粒子の細胞質への移行に関与することが既知の分子群 T ファミリーの一つをヒト肝癌由来細胞 Huh7 において発現抑制すると、内核膜延長構造および核内脂肪滴が増加した。一方分子群 T の別のファミリー分子を発現抑制すると核内脂肪滴は減少し、過剰発現させると核内脂肪滴は増加した。これらの結果から分子群 T が核膜形態に影響を及ぼすことにより、核内脂肪滴形成を制御する可能性が示唆された。(COI:No)

(1) Ohsaki et al., J Cell Biol 212:29-38, 2016 (2) Soltsysik et al., Nat Commun 10:473, 2019 (3) Soltsysik et al., J Cell Biol 220:e202005026, 2021

19

LPS 誘発全身炎症中の中枢神経系のオリゴデンドロサイトにおける Kik6 のパラノードへの細胞内局在変化

○古部瑛莉子¹、扇谷昌宏¹、吉田成孝¹、
旭川医科大学解剖学講座機能形態学分野¹

ランヴィエ絞輪(ノード)に隣接したパラノードは、ミエリン鞘の各層が軸索にしっかりと接着する重要な領域である。多発性硬化症などの脱髄性疾患では、脱髄および軸索損傷が生じ、軸索からのミエリンの剥離がミエリンの分解に先行することが分かっている。炎症中のノードおよびパラノード構造の破壊は、多発性硬化症のみならず様々な神経学的障害の重要な病態である。しかし、これらの構造が破壊される病理学的過程は完全には理解されていない。カリクレイン 6(Kik6)は、オリゴデンドロサイトによって産生されるセリンプロテアーゼであり、脱髄疾患に関与することが知られている。本研究では、LPS 誘発性全身炎症を起こした脊髄および、脊髄損傷の急性期における Kik6 の細胞内局在の変化を検討した。LPS 誘発性全身炎症の間、脊髄白質中の Kik6 タンパク質は増加しなかったが、Kik6 の細胞内局在は細胞体からパラノードへと変化した。一方で、この Kik6 の細胞内局在変化は上位層の多くの白質では観察されなかったことから、領域特異的な応答であることが示唆される。LPS 誘発性全身炎症による Kik6 の局在変化はミクログリア活性化抑制作用があるミノサイクリンの処理によって抑制された。このことから、炎症によるミクログリアの活性化が Kik6 の細胞内局在変化の要因の一つである可能性がある。また、LPS 誘発性全身炎症を引き起こした野生型マウスではノード長が延長されたが、Kik6-KO マウスでは変化が見られず、Kik6 がノード長の変化にも関与することが示唆された。この研究における一連の実験は、脱髄への過程における Kik6 の潜在的な関与を示している。

20

ラット切歯乳頭における味蕾の細胞構成および P2X3 陽性神経終末の分布

○横山拓矢¹、山本欣郎²、平川正人¹、齋野朝幸¹
¹岩手医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野、²岩手大学 農学部 共同獣医学科 獣医解剖学研究室

【背景と目的】ラット切歯乳頭の味蕾の細胞構成を、舌味蕾細胞の免疫組織化学マーカーを用いて解析した。また、舌味蕾には P2X3 陽性感覚神経終末が分布しているが、切歯乳頭の味蕾における感覚神経支配は不明である。そこで、切歯乳頭の味蕾における P2X3 陽性神経終末の分布を調べ、逆行性標識法により起始神経節を検索した。【材料と方法】ラット切歯乳頭のホールマウント標本と凍結切片を作製後、ENTPD2 (舌味蕾Ⅰ型細胞を標識)、GNAT3・PLCβ2・IP3R3 (Ⅱ型細胞を標識)、Syt1・SNAP25 (Ⅲ型細胞を標識)、P2X3 に対する抗体を用いて多重免疫染色を施した。逆行性標識法では、乳頭に Fast blue (FB) を注入後、顔面神経膝神経節の切片における FB と P2X3 の共存性を調べた。【結果】GNAT3 陽性細胞を含む味蕾は、切歯管開口部を形成する切歯乳頭上皮内に限局していた。GNAT3 陽性細胞は紡錘状の形態を示し、細胞質突起の頂端部は口腔表面に集まっていた。味蕾内には ENTDP2陽性細胞 (66.1%)、GNAT3 陽性細胞 (28.1%)、Syt1 陽性細胞 (5.8%) が認められた。このうち、GNAT3 陽性細胞は、舌味蕾Ⅱ型細胞の味覚情報伝達分子である PLCβ2 と IP3R3 を発現していた。P2X3 陽性神経終末は味蕾内に侵入し、つた状・杯状の末端部を形成して GNAT3 陽性細胞と SNAP25 陽性細胞に接していた。逆行性標識法では、膝神経節において FB 標識細胞が認められ、このうち、88.2%に P2X3 陽性反応が認められた。【考察】切歯乳頭の味蕾は舌味蕾と類似する化学受容器であり、検出した化学情報は P2X3 陽性神経終末を介して顔面神経膝神経節へ伝達されている可能性がある。(COI : No)

21

Immunohistochemical analysis for VGLUTs and serotonin in the chemosensory cell clusters of the pharynx and larynx in rat

○Sayed Sharif Abdali, Takuya Yokoyama, Nobuaki Nakamuta and Yoshio Yamamoto

【緒言】In lingual taste buds, glutamate and serotonin (5-HT) are considered to modulate the activity of taste cells. Chemosensory cell clusters are found in the epithelia lining the pharynx and larynx and are thought to detect chemical irritants. In the present study, we aimed to clarify the role of glutamate and 5-HT in pharyngo-laryngeal chemosensory cell clusters.

【材料と方法】Immunohistochemical analysis for vesicular glutamate transporter type 1 and 2 (VGLUT1 and VGLUT2), 5-HT and 5-HT synthesis enzyme, dopa decarboxylase (DDC), were performed in cryostat sections and whole-mount preparations of rat pharynx and larynx.

【結果】The immunoreactivity for VGLUT1 and VGLUT2 were found in P2X3 nerve fibers of pharyngo-laryngeal cell clusters. These fibers were closely attached to GNAT3-cells. Moreover, the immunoreactive products for VGLUT1 and VGLUT2 were found in P2X3-fibers wrapping around SNAP25 / Syt1-cells. On the other hand, the Immunoreactivity for 5-HT and DDC were found in SNAP25-postive cells.

【考察】The findings of the present study suggest that afferent nerve fiber release glutamate by exocytosis to both GNAT3 and SNAP25 positive cells of chemosensory clusters. Glutamate may induce the release of 5-HT from SNAP25-postive cells that modulate the neurotransmission from chemosensory cell clusters to P2X3-positive nerve endings.

22

ラット頸動脈小体における Extracellular signal-Regulated Kinases (ERK1, ERK2)の分布

○斎藤優気、中牟田信明、山本欣郎
岩手大学農学部獣医解剖学研究室

【緒言】頸動脈小体には低酸素感受性の化学受容細胞と、舌咽神経遠位神経節に由来する感覚神経終末が存在している。さらに、支持細胞は化学受容細胞から感覚神経終末への伝達を増幅する。ERK1/2 は、転写調節、小胞分泌、受容体輸送の調節を担うことで知られるが、これを阻害することによって、頸動脈小体の低酸素への反応性が低下することが報告されている。しかし、頸動脈小体における分布の詳細は知られていない。そのため、ラット頸動脈小体と、舌咽神経遠位神経節における ERK1/2 の分布を免疫組織化学により検索した。

【材料と方法】Wistar ラットの頸動脈小体、舌咽神経遠位神経節を採材した。凍結切片を作製し、二重蛍光抗体法により染色、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。一次抗体は ERK1/2、リン酸化状態の ERK1/2 (pERK1/2)、VNUT (化学受容細胞標識用)、P2X₂ (感覚神経終末標識用)、S100B (支持細胞標識用) に対する抗体を使用した。

【結果】頸動脈小体では ERK1/2 の陽性反応は、化学受容細胞、感覚神経終末、支持細胞に同程度の強度の陽性反応が観察された。pERK1/2 の陽性反応は感覚神経終末と、支持細胞の一部領域で強く、化学受容細胞の核内にも陽性反応が認められるものが存在した。舌咽神経遠位神経節では、神経節細胞の細胞質に ERK1/2 の陽性反応が観察され、pERK1/2 の陽性反応は核に強く認められた。

【考察】ERK1/2 が、化学受容細胞、感覚神経終末、支持細胞で、小胞分泌や受容体輸送の働きを介して、情報伝達効率の調節に関与している可能性がある。

23 表皮型脂肪酸結合タンパク質の phosphatidylserine(PS) 受容体を介した食食充進機構

○鈴木良地¹、大和田裕二²、板東良雄¹、
秋田大学大学院医学系研究科 形態解析学・器官構造学講座¹、
東北大学大学院医学系研究科 器官解剖学分野²

脂肪酸結合タンパク質(Fatty acid binding protein: FABP)は疎水性の脂肪酸と複合体を形成し、親水性を与える。この結果、複合体の細胞内コンパートメント間の移動を促進すると考えられている。

我々は FABP のうち表皮型脂肪酸結合タンパク質 (Epidermal fatty acid binding protein: EFABP) が C57BL/6 マウスバイエル板のM細胞、樹状細胞、胚中心マクロファージに発現する (R.Suzuki, et.al. 2009) ことを示し、その機能解析を行ってきた。マクロファージでの EFABP 発現は特に強く、周囲の細胞の食食への関与が示唆された。

実際、胚中心マクロファージは周辺の細胞に EFABP 陽性の突起を伸ばしており、これらの細胞は eat-me-signal である phosphatidylserine (PS) を露出している。PS 特異的受容体の Gas6-Axl 複合体の胚中心マクロファージでの発現を確認した。また、マクロファージ系の RAW264.7 細胞に EFABP 強制発現すると、Axl が発現増強し、PS コートしたポリスチレンビーズの細胞への取り込みも増加する。EFABP-Axl それぞれを GFPDsRed で標識し、LSM980 共焦点レーザー顕微鏡による取り込み部位の超解像度観察を行った。取り込み部位で GFP 蛍光シグナルは排斥されるが、EFABP-GFP 発現では網状の蛍光シグナルがビーズを取り囲み、またこれに一致して Axl シグナルが観察された。EFABP により、Axl が取り込み部位へ誘導されることで PS ビーズ取り込みが充進することが示唆された。(COI:No)

24 走査電子顕微鏡(SEM)による下垂体前葉細胞 Golgi 装置の3D 構造解析

甲賀 大輔¹、久住 聡²、渡部 剛¹、
旭川医科大学 解剖学講座 顕微解剖学分野¹、鹿児島大学大学院 医学総合研究科 形態科学分野²

Golgi 装置は分泌経路の中間地点に位置し、粗面小胞体から新規合成されたタンパク質を受け取り、糖鎖修飾などの加工を施した後、適切な配送先に選別する重要な役割を演じている。また、Golgi 装置はシス槽・中間槽・トランス槽・トランスゴルジ網(TGN)が積み重なった「Golgi 層板」を基本的な形態単位とした「極性」をもったオルガネラである。さらに、Golgi 層板の細胞内の分布様式は生物種によって多様であり、植物や酵母、ショウジョウバエでは、細胞質中に分散しているのに対し、哺乳動物では、層板同士が繋がった「リボン状構造」を示すことが知られている。私たちはこれまで、オスミウム浸漬法(細胞内のオルガネラを走査電子顕微鏡[SEM]でダイレクトに観察する唯一の手法)を用いて、哺乳動物の Golgi 装置を SEM で観察し、その 3D 微細構造解析を行ってきた。しかしこの手法は、細胞の断面による観察であるため、巨大なオルガネラである Golgi 装置の全体像をイメージすることは困難であった。そこで私たちは、「連続切片 SEM・3D 再構築法(樹脂包埋組織の連続切片を SEM で観察・撮影後、その断層像を再構築する新たなイメージング技法)」を独自に開発し、空間的に複雑な形状を呈する Golgi 装置の 3D 全体構築を解明してきた。本発表では、連続切片法により明らかになった下垂体前葉各ホルモン産生細胞 Golgi 装置の 3D 構築モデルを提示し、その形態的多様性や共通性について言及する。また、最新の SEM 機器による連続切片の解析法について、さらに連続切片 SEM 法の新たな可能性についても紹介する。(COI:No)

25 脳定位固定装置を用いた脳内微量注入を改善する、3D プリントで作製した LED 照明付きガラスキャピラリーホルダー

橋本光広、八木沼洋行
福島県立医科大学 神経解剖・発生学講座

脳の神経回路を解析する場合、ガラスキャピラリーに神経回路トレーサー(BDA・CT-B・PHA-L など)を充填し、加圧またはイオントフォoresisによって神経回路トレーサーを脳の局所領域に微量注入し、その領域における入出力神経回路を可視化することが行われる。最近では、アデノ随伴ウイルスベクターを脳の局所領域に微量注入することによって、神経回路を可視化すること、また、特定の神経回路の活性を光遺伝学を用い人為的に制御することが行われている。このように、ガラスキャピラリーによる脳への微量注入は、神経科学において必須の技術となっている。しかし、ガラスキャピラリーは、透明であるため、ガラスキャピラリーの先端が視認しにくく、破損しやすいという欠点がある。そこで、LED 照明付きガラスキャピラリーホルダーを開発し、ガラスキャピラリーの先端を発光させることによって、ガラスキャピラリーの先端を視認できるようにし、これによって、ガラスキャピラリーによる微量注入を容易にした。開発したガラスキャピラリーホルダーは、加圧ポートと電極ポートを有しているため、加圧注入・イオントフォoresis・電気生理が可能である。さらに、LED を光ファイバーに置き換える事によって、生体内において、チャンネルロドプシン2を発現した神経細胞の活動を、細胞外記録(シングルユニットレコーディング)しながら、ガラスキャピラリーによる光刺激で制御することができる。

26 マウス胚における頸部運動神経細胞群の早期プログラム細胞死は特定の運動神経サブグループに起こるか

赤間沙彩、佐久間千恵、向笠勝貴、八木沼洋行
福島県立医科大学医学部神経解剖発生学講座

発生早期のニワトリ胚頸髄において、転写因子 Foxp1 陽性の外側運動神経核(LMC)様に分化する運動神経サブグループが、プログラム細胞死(PCD)によって除去されることが報告されている。本研究では、同様の PCD が哺乳類でも起こるのかを明らかにするため、マウス胚頸髄における PCD の時期と分布を TUNEL 法で明らかにした。さらに PCD の初期段階にある TUNEL 陽性細胞における運動神経サブグループ特異的転写因子(Is1/2、Lhx3、Mnx1、Foxp1、Pou3f1)の発現を調べた。頸髄上部(C2-3)では、TUNEL 陽性細胞数のピークは E11 であったのに対し、頸膨大部(C5)では、E13 がピークだった。TUNEL 陽性細胞における転写因子の発現から、Lhx3 陽性の内側運動神経核内側群と副神経脊髄根運動神経細胞群には PCD は起こっていないことが明らかとなった。これは先行研究のニワトリの結果と同じであった。また、ニワトリの結果とは異なり、Foxp1 陽性の LMC 様細胞群に加えて、Pou3f1 陽性の内側運動神経核外側群でも PCD が起きている可能性が示唆された。

27 クラスリンアダプターAP-1 複合体は EGFR 発現を調節する

植村武文¹、和栗聡¹
福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座¹

上皮成長因子受容体(EGFR: epidermal growth factor receptor)は受容体型チロシンキナーゼ(RTK: receptor tyrosine kinase)である。その発現量や活性の充進は様々な癌病態に関連する。一般に、EGF の結合により活性化した EGFR は細胞内に取り込まれ、エンドソームを経てリソソームで分解される。この際に一部の EGFR はエンドソームから細胞膜にリサイクルされることも分かっており、細胞膜の EGFR 量を維持するが、その調節機構はよくわかっていない。

一方、クラスリンアダプターである単量体型の GGA (Golgi-localized, γ -adaptin ear containing, ARF binding protein) や複合体型の AP 複合体(adaptor protein complex)はポストゴルジオルガネラ間輸送において、マンノース 6 リン酸受容体など特定の膜貫通蛋白質をクラスリン小胞に積み込むことが知られている。我々は、GGA が EGFR に結合しその寿命を調節することをこれまで発表してきた。最近、AP-1 も EGFR 寿命を調節する因子であることを見出し、解析してきた。本発表ではその解析結果を紹介する。

28 長年パールに包まれた未知の PCP 制御機構に関する研究

鮎川友紀¹、八月朔日泰和¹、○山崎正和^{1,2}

秋田大学大学院医学系研究科細胞生物学講座¹、JST さきがけ²

体表面や管腔内面を覆う体毛や繊毛は、特定の方向に配向し、精巧なパターンを形成する。この現象は、平面内細胞極性(planar cell polarity: PCP)と呼ばれ、組織機能の発現において重要な役割を果たす。約 30 年前、体毛の配向性異常を呈するショウジョウバエ変異体から PCP を司る遺伝子が初めて同定されたのを嚆矢とし、現在までに、ヒトやマウスを含む様々な動物において多くの PCP 制御分子が見出されている。その中でも、7 回膜貫通型タンパク質 Frizzled や 7 回膜貫通型カドヘリン Flamingo 等から構成されるコアグループ分子群は、PCP 形成において中心的な役割を果たすと考えられており、コアグループの機能に主眼が置かれた PCP 研究が多くなされてきた。これまでに我々は、組織特異的ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより新規 PCP 遺伝子を多数同定し、この成果に基づく数理との融合研究によりコアグループの非対称性の向きを規定する機構を明らかにしてきた。

その一方で、組織によっては、コアグループに依存しない PCP 制御機構の存在が以前より示唆されている。例えば、ショウジョウバエ背板では、今から 20-30 年前の PCP 研究の黎明期にその可能性が提示されていたが、現在においてもその分子機構は全く不明である。最近、我々は、ショウジョウバエ背板のライブイメージング等を駆使して、この問題に取り組んでいる。本会では、長年謎に包まれている、コアグループ非依存的 PCP の制御機構について報告する。(COI:No)

29 Inhibitory spinal reflex arc from the anterior to the posterior part of the deltoid in humans

Takuya Yoshimoto¹, Mitsuhiro Nito¹, Wataru Hashizume¹, Kazuto Shimada^{1,2}, Tomomi Sato^{1,2}, Akira Naito¹

¹Dept. Anat. Struct. Sci., Yamagata Univ. Sch. Med.,

²Yamagata Col. Med. Arts,

Effects of low threshold afferents from the anterior part of the deltoid (DA) to the excitability of the posterior part of the deltoid (DP) motoneurons were studied in nine healthy human subjects using a post-stimulus time-histogram (PSTH) method. As conditioning stimulation, electrical rectangular pulses (1.0 ms duration) with the intensity below the motor threshold were delivered to the axillary nerve branch innervating DA. DP motor unit firings provoked by weak contraction (5 % of maximal voluntary power) were recorded with a pair of needle electrodes. The stimulation induced an early and significant trough (inhibition) in PSTH in 27 out of 50 DA motor units ($p < 0.001$ for 9, $p < 0.01$ for 9, $p < 0.05$ for 9). The remaining 23 motor units received no effects. In 11 of the 27 motor units, the central synaptic delay of the inhibition was 1.4 ± 0.6 ms longer than that of the homonymous DP facilitation. These findings suggest that inhibition from DA to DP motoneurons exists in humans. Group I afferents should mediate the inhibition though an oligo(di or tri)-synaptic path in the spinal cord. The inhibition would function during repetitive movements of shoulder flexion and extension such as walking or running.