

日本解剖学会

第78回中国・四国支部学術集会

会 期：令和 6 年10月19日（土）、20日（日）
会 場：山口大学吉田キャンパス

1 Rab10 陽性管状エンドサイトーシスと小胞体の関連

○川合克久, 江上洋平, 荒木伸一

香川大・医・組織細胞生物学

Rab10 陽性管状エンドサイトーシス(Rab10+TE)は、マクロファージ等の細胞で見られるマクロピノソーム前駆体カップ構造から派生するエンドサイトーシスである。Rab10+TE は通常のマクロピノサイトーシスとは異なりリソソーム分解系には入らず、Rab10 陽性のカップ構造から Rab10 陽性のチューブ構造を出芽し、核近傍に伸長することでカップ構造自体は消失する。Rab10 陽性カップは周囲に存在する小胞体のメッシュ構造を押し広げながら拡大すること、また Rab10 陽性チューブは小胞体のメッシュ構造を掻きわけるように伸長することから Rab10+TE は小胞体の再構築を伴うことが予想される。さらに Rab10 は小胞体に局在し小胞体の分岐を制御することが報告されている。本研究では RAW264 細胞を用い Rab10+TE における Rab10 の小胞体標的化の役割について解析を行った。はじめに我々は、Rab10 の小胞体標的化を担う領域が Rab10C 末端側(約 3 0 アミノ酸)にあることを特定した。次にこの小胞体標的化領域の点変異体およびこの領域を別の Rab タンパク質と入れ替えたキメラ変異体を作製した。これらの変異体はカップおよびチューブに局在するが小胞体に局在しない。これらの小胞体標的化を欠失した Rab10 変異体の過剰発現は Rab10+TE を抑制した。以上の結果は Rab10 の小胞体標的化が Rab10+TE に必要であることを示唆している。(COI:なし)

2 Myosin 1E は ACTN4 依存性 ruffle-edge lamellipodia の運動と構造形成に関わる

○森下陽香¹, 野田彩花¹, 川合克久¹, 江上洋平¹, 荒木伸一¹

1) 香川大・医・組織細胞生物学

最近、我々は α -actinin 4 (ACTN4)依存性の層状膜ヒダを先端に持つ特殊な葉状仮足 (ruffle-edge lamellipodia) の存在をライブセルと光一電子相関顕微鏡法により明らかにした (Morishita et al. *Exp. Cell Res.* 2024)。このラメリポディアは、先端が平坦な普通のラメリポディアより運動性が高く、ACTN4 局在および ruffle-edge 構造は PI3K 阻害によって消失する。この新規タイプのラメリポディアは、ヒト肺がん A549 細胞などの特に浸潤能が高いがん細胞株でよく見られる。非筋 I 型ミオシンの一種である myosin 1E (Myo1E) は PI3K 産物である PIP3 との結合ドメインを持つアクチンモータータンパク質であり、アクチンフィラメントと細胞膜の結合にも関与する。本研究では、ACTN4 依存性 ruffle-edge lamellipodia における Myo1E の役割をライブセル、免疫染色、SEM 観察などで解析した。A549 細胞において、Myo1E は ACTN4 が豊富なラメリポディア先端に局在することが内在性 Myo1E の免疫染色と蛍光タンパク質融合強制発現系で確認された。Wound healing assay による細胞移動能の定量では、Myo1E siRNA ノックダウンが細胞移動を有意に抑制させることが示された。また、Myo1E ノックダウン A549 細胞では、ラメリメディア先端の層状ヒダが著しく減少することから、Myo1E は ruffle-edge の構造形成に不可欠であることが示唆された。これらの結果は、Myo1E がラメリメディアの運動のみならず、ACTN4 依存性 ruffle-edge 構造形成において重要な役割を果たし、がん細胞の浸潤、転移に関与する可能性を示唆している。(COI:なし)

3 Rit1- TBC1D10B シグナリングによるファゴゾーム調節メカニズム

○江上 洋平, 川合 克久, 荒木 伸一

香川大・医・組織細胞生物学

Rit1 は Ras ファミリーに属する低分子量 GTPase であり、ストレス応答、細胞増殖、ガン浸潤等多彩な機能を持つことが報告されている。しかし、マクロファージの食食(ファゴサイトーシス)経路における役割についてはこれまで不明であった。当研究室におけるこれまでの機能解析から、Rit1 は RAW264 マクロファージの Fc γ レセプター介在性食食過程において、オプソニン化ターゲットを取り込む際に伸びるカップ状の偽足(ファゴサイティックカップ)に集積し、食食を制御することが明らかとなっていた。Rit1 による食食制御シグナリング経路を明らかにする目的で、Rab、Ras に対する GAP 活性を持つ TBC1D10 ファミリーメンバーA、B、C の局在と機能について解析を進めたところ、特に TBC1D10B がファゴサイティックカップへの強い集積と食食抑制効果を示し、また、GAP 活性に依存しない機構でもファゴゾーム形成を抑制していることがわかった。更に、Rit1 のノックアウト細胞ではファゴサイティックカップからの TBC1D10B の脱離と食食が抑制される一方で、活性化型 Rit1 を発現させると、ファゴサイティックカップから TBC1D10B が脱離し、TBC1D10B による食食抑制から回復させることが明らかとなった。以上の結果は、Rit1 が TBC1D10B の局在を制御することにより、ファゴゾーム形成を制御していることを示唆している。

COI:なし

4 多機能ナノ粒子によるマクロファージのミトコンドリア活性と細胞表面構造のタイムラプス CLEM 統合観察の試み

山下 緑*, 中村純奈, 中村教泰
山口大・医・器官解剖学 *医学科 5 年

マクロファージは感染など免疫応答に重要であると共に病態にも関与している。マクロファージの取込みはその機能発現の起点の一つであり、その解明による免疫応答や病態の制御が期待できる。蛍光有機シリカナノ粒子(直径 150 nm)とそれらをポリエチレンイミン(PEI)で表面修飾した粒子をマウス・マクロファージ株株化細胞 J774A.1 に添加し、粒子の取込みおよび表面構造が、ミトコンドリア活性と細胞表面構造に与える影響を検討した。粒子の取込みおよびミトコンドリア活性の経時変化を観察し、その相関を解析したところ、ミトコンドリア活性の変化は細胞ごとに異なっていた。ミトコンドリア活性の変化とマクロファージの形態学的特徴を検討するため、ミトコンドリア活性の上昇がみられたマクロファージのタイムラプス CLEM (Correlative light and electron microscopy) 観察を行った。続いて細胞内部構造を観察できる高解像蛍光顕微鏡と細胞表面の詳細構造を確認できる SEM の像を比較観察する CLEM を 1 細胞に対して行った。細胞内のナノ粒子やミトコンドリアの分布、および細胞表面構造との相関を解析した。タイムラプス CLEM 観察の結果、修飾のないナノ粒子を取り込んだマクロファージにおいて、糸状仮足の消失と表面の平滑化が認められた。ポリエチレンイミン (PEI) で修飾したナノ粒子を添加したマクロファージにおいては、糸状仮足の消失がみられ、表面に球状の隆起が確認された。また、この隆起について、ナノ粒子とミトコンドリアの共局在を示唆する所見も見られた。ナノ粒子がミトコンドリア活性や細胞の表面と内部構造に与える変化のタイムラプス CLEM 統合観察を行うことができた。

5 マクロファージの選択的取込とエンドソーマル・ソーティングの免疫臓器蛍光ナノイメージング

中村教泰, 中村純奈, 塩浜康雄
山口大・医・器官解剖学

マクロファージは生体の恒常性維持、感染など免疫反応に重要であると共に病態にも関与している。マクロファージの取込は免疫反応発現の起点の一つであり、その解明による免疫反応や病態の制御が期待できる。我々はナノ医学の観点から独自に開発した有機シリカ粒子を用いてマクロファージの取込機構の解明と制御を目指し、研究を進めている。様々な大きさや表面構造の蛍光有機シリカ粒子を作製し、培養細胞を用いてマクロファージ-粒子相互作用の解析を行った。マクロファージの取込は粒子の表面に結合したポリエチレングリコールやポリエチレンイミンなどのポリマーの種類や長さの違いにより異なり、その程度や様式が細胞毎に異なることが明らかになった。さらに表面構造の異なる 2 種類の粒子を同時に取込ませたマクロファージの細胞内ではエンドソーム毎に含有される粒子の違いがあり、小胞内での仕分け(エンドソーマル・ソーティング)を示す所見が得られた。これらはマクロファージが粒子の大きさや表面構造の違いを認識し、細胞毎の取込、さらにエンドソーム毎の含有に選択性があることが示された。さらにマウスに種々の大きさの粒子を投与し、脾臓などの免疫臓器内のマクロファージを観察したところ、その取込の選択性と小胞内での仕分けが観察できた。免疫反応においてマクロファージの取込の選択性の機序と意義の解明が重要と考えられる。

6 細胞外液浸透圧上昇による細胞質微小管と一次繊毛軸糸微小管の変化

大谷拓史¹、中里亮太¹、小池香苗²、太田啓介³、池上浩司¹
1. 広島大学大学院医系科学研究科 解剖学及び発生生物学
2. 広島大学自然科学研究支援開発センター 機器共用・分析部門
3. 久留米大学医学部 先端イメージング研究センター
われわれは昨年度までに、腎臓髄質集合管上皮細胞 (mIMCD-3 細胞) を体液の 2 倍程度の高浸透圧条件にさらすと細胞頂端面に生えている一次繊毛が短縮し最終的にほとんど消失することを報告してきた。本年度の支部会では、光学顕微鏡と電子顕微鏡を用いて観察した高浸透圧条件による細胞質微小管と一次繊毛軸糸微小管の変化を報告する。
高浸透圧条件によって細胞質微小管は高度に束化した。電子顕微鏡を用いて観察すると細胞質中に太さ 100~300 nm 程度の束化線維構造が見られた。一部の細胞ではその一端が中心体に位置することから、それらは高度に束化した微小管束であると判断された。一方、一次繊毛軸糸微小管は高浸透圧条件による不安定化を示唆する変化を示した。PFA 固定した細胞では高浸透圧条件により一次繊毛軸糸微小管の染色性が失われ、軸糸骨格を欠いた一次繊毛の蛍光顕微鏡像が得られた。固定時に微量のグルタルアルデヒドを添加することで、高浸透圧条件による軸糸微小管の染色性消失は抑制された。電子顕微鏡観察の結果、高浸透圧条件により軸糸微小管の配置が乱れて軸糸構造が不明瞭になること、根元近くでダブルレット構造が崩れてシングルレット微小管になる像が観察された。以上の結果より、高浸透圧条件によって細胞質微小管が高度束化する一方で、一次繊毛軸糸微小管は不安定化することが示唆された。今後、蛍光標識微小管のタイムラプス観察などを行い、高浸透圧条件による細胞内微小管の時空間ダイナミクスを解析したい。

7 がん細胞のスタチン感受性に対する細胞内コレステロール量および局在の影響

田代二朗¹、割田友子²、杉浦曜大¹、溝口佳奈³、石川拓郎¹、割田克彦¹
¹鳥取大学 共同獣医学研究科 獣医解剖学研究室 ²関西学院大学 生命環境学部 ³関西学院大学大学院 理工学研究科

【背景】がん細胞にはスタチンが効きやすい感受性株と効きにくい耐性株が存在するが、メカニズムについては不明な点が多い。近年、スタチンの標的分子である HMG-CoA 還元酵素 (HMGCR) の発現量とスタチン感受性との相関が報告された。そこで本研究では、HMGCR の主要な発現調節因子であるコレステロールに着目し、細胞内含有量および局在の変化がスタチン感受性に及ぼす影響を解析した。
【方法】スタチン感受性の異なる 2 種類のヒト肺がん細胞株 (NCI-H322M: 耐性株、HOP-92: 感受性株) を用いた。コレステロール除去剤 メチル-β-シクロデキストリン (MβCD)、コレステロール、細胞内コレステロール輸送阻害剤 U18666A の存在下でスタチンを処置し、細胞生存率を測定することでスタチン感受性の評価を行った。
【結果】MβCD 処置による細胞内コレステロール量の低下は、NCI-H322M、HOP-92 の両細胞株において、スタチンの増殖抑制効果を減弱させた。一方、外因性にコレステロールを処置すると、HOP-92 におけるスタチンの増殖抑制効果は容量依存的に増強された。また、コレステロールの誘導体である 25-水酸化コレステロールは、両細胞株においてスタチンの増殖抑制効果を顕著に増強した。さらに、U18666A によりコレステロールの細胞内輸送を阻害すると、両細胞株においてスタチンの増殖抑制効果が減弱した。【考察】以上の結果から、がん細胞のスタチン感受性は細胞内のコレステロール量と局在に依存して変動することが明らかとなり、コレステロールがスタチン感受性を決定する重要因子である可能性が示唆された。

8 POU5F1 と偽遺伝子 POU5F1B の翻訳産物の構造的・機能的差異

入江恭平^{1,2}、小阪美津子¹、水野伸彦¹、中谷仁政³、川口綾乃¹
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 人体構成分学¹、産科・婦人科学²
岡山大学医学部医学科³

【背景】幹細胞因子 POU5F1 (OCT4A) を起源とするレトロ偽遺伝子 POU5F1B (PG1) は、ヒトにおいて OCT4A と極めて高いアミノ酸相同性をもつタンパク質をコードすると想定されており、癌における mRNA の高発現が予後不良と関連する例が報告されている。しかし、PG1 の細胞内局在や機能の有無については明確でない。本研究では、PG1 タンパク質の性状解析を行い、その機能について検証した。
【方法】タグを付加した PG1 と OCT4A 配列を強制発現させた細胞を用いて、翻訳産物の局在や安定性および腫瘍化活性、転写調節活性を比較調査した。また、PG1 の OCT4A との相互作用の有無、OCT4A の作用に及ぼす PG1 の効果を調査した。
【結果】PG1 タンパク質は OCT4A と同様に核に局在するが、僅かなアミノ酸の違いによって、その安定性や種々の活性が OCT4A とは大きく異なることを確認した。さらに、PG1 は OCT4A とダイマー形成することで安定化し、転写調節活性を増強させることが判明した。
【結論】PG1 は、単体では分解されやすく OCT4A のような機能をもたないが、親遺伝子 OCT4A と共存すると協調して働くことが示唆された。(COI なし)

9 脳発生における神経上皮からの幹細胞離脱のメカニズムとその意味

下向敦範 岡山大学 学術研究院医歯薬学域 人体構成分学野

哺乳類の脳発生において、脳の原基は神経上皮と呼ばれる上皮組織である。胎生期において、神経上皮を構成する神経幹細胞は、分化細胞を生み出すだけでなく、脳の組織構造を支える役割を持っている。特に、細胞分裂時、神経幹細胞は脳室表面の上皮面で分裂を行い、その際の分裂の向きによって、一定の割合で上皮構造を失う。この現象は、受け継ぐ「もの」の非対称性を生み出し、非対称分裂のモデルとして提唱された。しかしながら、その後の一連の研究により、神経幹細胞の上皮からの離脱は、ヒト脳のように巨大化し、皺を持つ哺乳類の脳発生に見られる、組織内部に移動する神経幹細胞のサブタイプの産生という、別の側面の機能を持つことが明らかになってきた。本発表では、神経幹細胞の上皮構造からの離脱の制御を、細胞と実行分子の視点から解析し、特にライブイメージングによって捉えた、発生の進行に伴う脳組織のダイナミックな変化について紹介したい。

10 乳幼児期ストレスが内側前頭前皮質に炎症を惹起する

桑井 大輝¹、太田 健一¹、鈴木 辰吾¹、大給 日香里¹、三木 崇範¹

1) 香川大学 医学部 形態・機能医学講座 神経機能形態学

乳幼児期の育児放棄によるストレスは、児の社会性に影響を与えることがよく知られている。我々も育児放棄を模した母子分離モデルにて成熟後の社会性低下から内側前頭前皮質 (mPFC) の異常を確認したが、その機序についてはいまだ不明点が多い。そこで、本研究ではストレスと炎症の係りに着目し、母子分離ストレスが発達期に脳内炎症を誘発し mPFC の異常を引き起こしたと仮説を立て研究を行った。
SD ラットを用いて生後 2-20 日まで仔を母獣から個別に分離 (3 時間×2 回/日) した (母子分離群: MS 群)。対照群は母獣とともに養育した。これらの群の mPFC を生後 7-35 日齢で採取し real-time PCR による解析を行った。結果、生後 14 日において炎症性サイトカイン (TNF-α、IL-1β、IL-6) の遺伝子発現量が増加していた。同様にこれら炎症性サイトカインを放出する M1 型ミクログリアのマーカー: CD86 の発現量も増加していた。さらに、western blot による解析でも炎症性シグナル (ERK や p38MAPK、NF-κβ のリン酸化タンパク質) のタンパク質発現量も増加していることが確認された。次いでミクログリアの組織解析を行った結果、細胞数に変化はなかったが、ミクログリアの活性化を示唆する形態的特徴 (突起の分岐数および突起長が減少) が見出された。
本研究では、母子分離によって脳内炎症が一過的に惹起されることを確認した。この mPFC における一過性炎症は、発達期の神経回路形成に不可逆的な影響を与え、成熟後に社会性の低下を呈している可能性を示唆している。(COI : なし)

11 BDNF が発達期の神経細胞の遺伝子発現に与える影響

鈴木辰吾^{1,2}、川合杏奈^{1,3}、秋川咲希¹、山本晴香¹、大給日香里¹、太田健一¹、三木崇範¹

1. 香川大学医学部神経機能形態学 2. 東北大学医学部 3. 産業技術総合研究所四国センター

BDNF はさまざまな成熟段階にある神経細胞の発達とシナプス形成を制御するが、これらの制御を達成するために BDNF が神経細胞のトランスクリプトームにどのような影響を及ぼすのか、また各成熟段階でどの遺伝子クラスターが最も変化するのかについては十分理解されていない。そこで本研究では、発達程度の異なる培養大脳皮質神経細胞を準備し、BDNF によるトランスクリプトームの時間的変化を解析した。その結果、BDNF によって一過的に発現誘導される遺伝子群が、神経細胞の成熟によって増加することが確認された。加えて、BDNF は、未熟なニューロンに対してのみ成熟誘導効果を示すことが明らかとなった。これらは、BDNF が誘導する遺伝子群と BDNF による神経細胞への影響が神経細胞の成熟レベルによって異なることを示している。また、より詳細な解析により、BDNF によって MMP3 が非常に強く発現誘導されることを初めて見出した。面白いことに、MMP3 は Lhx6 陽性抑制性ニューロンで特異的に誘導されることが snRNA-seq による解析により明らかとなった。更に、BDNF は細胞タイプ特異的および非特異的な遺伝子発現誘導の組み合わせを通じて、さまざまなリガンドおよび受容体の遺伝子発現を制御することが確認された。これらの結果から、BDNF は発達過程における大脳皮質神経細胞に対して、細胞種特異的および非特異的な遺伝子発現を誘導し、神経細胞間でなされる液性因子によるシグナル伝達や細胞外マトリックスの修飾を促していると考えられた。

12 攻撃性における扁桃体中心核の役割

太田健一、鈴木辰吾、大給日香里、桑井大輝、三木崇範
香川大学 医学部 形態・機能医学講座 神経機能形態学

扁桃体と攻撃性との関係性は古くから研究され、多くの知見が蓄積されている。この中で中心核 (CeA) は "Predatory aggression (略奪的攻撃性)" と呼ばれる他種 (獲物) を捕食する際の攻撃行動に関与する事が知られている。一方で、同種に対して異常な攻撃性を見せる動物モデルでも CeA 活性が高いことが指摘されているが、これらの直接的な関係は明らかではない。そこで本研究では CeA を直接活性化させる事で同種に対してどのような攻撃性が誘発されるのかを光遺伝学的手法を用いて評価した。

動物は 8 週齢 SD ラットの雄を用い、脳定位手術にて CeA に Channelrhodopsin-2 を組み込んだアデノ随伴ウイルス (AAV) を注入し、LED カニューラを同部位の直上に留置した。2 週間の回復期間のあと、Resident-intruder paradigm test を行い自身のホームケージ内に侵入した雄の SD ラットに対する攻撃行動の変化を評価した。LED 非点灯時は殆ど攻撃行動が認められなかったが、LED 点灯による CeA の活性化に伴って侵入者ラットに対する激しい攻撃行動が誘発された。更に両側 CeA の活性化ではより激しい攻撃行動が誘発され、無抵抗になった侵入者ラットに対しても攻撃行動が認められた。

本研究結果は CeA の活性化が同種に対する過剰な攻撃性に直接関与することをしており、その攻撃性は自分のテリトリーを守ることを逸脱した異常なものであることを示唆するものである (COI : なし)。

13 脳発達期における神経回路形成の分子メカニズム

藤田 幸
島根大学 医学部医学科 解剖学講座 (発生生物学)

脳内の免疫担当細胞であるミクログリアは、周囲の環境を反映し、その性質が変化する。例えば、ミクログリアは、疾患などで傷ついた神経軸索の周りに集積し、炎症による二次的な神経障害を引き起こす。一方でミクログリアは、生理的な脳機能にも重要な役割を有する。私たちはこれまでに、脳発達期にはミクログリアが栄養因子を分泌し、神経細胞の生存や軸索維持に働くことを見出してきた。生後間もなく、神経軸索の集まる白質部分に栄養因子を分泌するようなミクログリアの集団が集積し、運動を司る皮質脊髄路の神経回路形成をサポートすることがわかった。しかし、このような神経保護的な作用を有するミクログリアが脳内に集積するのは、盛んに神経回路が形成される脳発達期に限定的で、成長とともに消失する。この集会では、ミクログリアがいかなるメカニズムでの脳発生・発達期の神経回路形成過程を制御するのか、発表する。さらに、ミクログリアの性質の変容が、発生や病態の進行にどのように影響するのか、議論させていただきたい。

14 うつ病様行動を引き起こす手綱核神経細胞-グリア相互作用の病理

相澤 孝紀、松股 美徳、Laura Ayaka Noguera Oishi、西村 史絵、Deepa Kamath Kasaragod、Xintong Yao、Wanqin Tan、相田 知海、田中 光一 (広島大学・医・神経生物学)

手綱核は、脳幹部のドーパミンやセロトニン産生細胞の活動を制御する上位中枢として知られ、その神経細胞の過剰活性化がうつ病様行動異常を引き起こすことから、うつ病の責任病巣の 1 つとして注目されている。このような機能的重要性にも関わらず、神経細胞がどのようにして病的な活性化状態に至る機構は不明である。

グリア細胞の 1 つであるアストロサイトは、神経細胞やシナプス周囲に分布し、神経活動のエネルギー代謝や興奮性の制御などに中心的役割を果たしている。アストロサイトが手綱核神経細胞の活動に与える影響を調べるため、手綱核アストロサイトを特異的に標識する遺伝学的ツールを開発した。この方法では、生後に分化するアストロサイトに時期特異的遺伝子組換えにより蛍光タンパク質や光遺伝学プロンプを発現させることで、その解剖生理学的解析を可能にする。

光遺伝学プロンプ ChR2 を発現する手綱核アストロサイトに光刺激を行うと、一過性の神経細胞発火および c-Fos 陽性細胞数の増加を観察した。興味深いことに、手綱核アストロサイトの光刺激は、細胞外カリウムイオンの上昇を引き起こしており、このイオン環境変化が神経細胞に作用し、神経活動の上昇を引き起こした可能性が高い。テトロドトキシンで神経細胞の活動を阻害しても光誘導性カリウムイオン上昇は観察されるため、このような細胞外カリウムイオンの上昇は概ね光刺激されたアストロサイトから放出されたものと考えられた。また、手綱核アストロサイトの光操作はオープンフィールドでの移動量減少や尾懸垂試験での絶望行動を引き起こした。

これらの結果は、手綱核における神経細胞-グリア細胞間の相互作用の異常がうつ病様行動の背景に存在する可能性を示唆している。

15 左右大脳皮質運動野の半球間抑制回路に与えるアセチルコリンの修飾作用

半田 高史、張 晴、相澤 秀紀 (広島大学・医・神経生物学)

大脳皮質運動野における半球間抑制は、左右の半球間を結ぶ交連神経細胞が反対側の抑制性介在細胞を介した神経回路を形成し実現される。半球間抑制は運動時に活動する運動野が反対側の運動野の活動を抑制することで不要な運動を抑える役割を担う。一方、その抑制機能が神経修飾物質によってどのような影響を受けるのかわかっていない。アセチルコリン (ACh) は、運動学習や脳卒中後の運動機能障害からの回復に重要な役割を果たす神経修飾物質であり、広域大脳皮質領域に放出される。我々は、ACh が大脳皮質運動野の半球間抑制に与える作用を明らかにするため、左右の大脳皮質運動野から神経活動を電気生理学的に記録・解析した。左右の運動野間の同期的発火活動は ACh の薬理的操作 (増幅・阻害) によって減衰・促進する現象を観察した。この変化が介在性細胞への ACh の作用による可能性を考え、どのような ACh 受容体が運動野の神経細胞に発現するかをシングルセル mRNA seq データの再解析により分析した。ムスカリン性 ACh 受容体 2 型 (M2R) は運動野においてパルブアルブミンやソマトスタチン陽性介在細胞に多く発現することが示唆された。免疫組織染色により検証すると、M2R は運動野の 5/6 層に多く発現し、M2R 陽性細胞の約 17% がパルブアルブミン陽性であった。この結果は 5/6 層のパルブアルブミン陽性介在細胞は M2R を介して ACh によって抑制され、結果的に脱抑制に作用することを示唆する。そこで、片半球の運動野の交連神経細胞から入力を受ける反対側の運動野の神経活動が ACh によってどのような影響を受けるか光遺伝学を用いた電気生理学実験で検証した。反対側からの交連線維入力に対する神経活動の応答は ACh 受容体の作動薬・阻害薬によって、5/6 層でそれぞれ興奮・抑制に修飾されることがわかった。これらの結果は、ACh が半球間抑制神経回路に対して脱抑制に働くことを示唆し、組織学的証拠の考察と一致した。

16 Combination strategy employing BACE1 inhibitor and memantine to boost cognitive benefits in Alzheimer's disease therapy

Tarif AMM^{1,2}, Ohno M¹, Fujitani M²
¹ Center for Dementia Research, Nathan Kline Institute, Orangeburg, NY, USA
² Dept. of Anatomy and Neuroscience, Faculty of Medicine, Shimane University

The β -secretase BACE1 initiates amyloid- β (A β) generation and represents a long-standing prime therapeutic target for the treatment of Alzheimer's disease (AD). However, BACE1 inhibitors tested to date in clinical trials have yielded no beneficial outcomes. We tested whether a combination strategy with the selective BACE1 inhibitor GRL-8234 and the FDA-approved symptomatic drug memantine may provide synergistic cognitive benefits within their safe dose range. Chronic combination treatment with 33.4-mg/kg GRL-8234 and 10-mg/kg memantine, but not either drug alone, rescued cognitive deficits in 5XFAD mice at 12 months of age (the endpoint after 60-day drug treatment), as assessed by the contextual fear conditioning, spontaneous alternation Y-maze and nest building tasks. Intact baseline performances of wild type control mice on three cognitive paradigms demonstrated that combination treatment did not augment potential cognitive side effects of individual drugs. Biochemical and immunohistochemical examination showed that combination treatment did not synergistically reduce the β -amyloidogenic processing of amyloid precursor protein or A β levels in 5XFAD mouse brains. A combination strategy with BACE1 inhibitors and memantine may be able to increase the effectiveness of individual drugs within their safe dose range in AD therapy.

17 口腔顔面筋運動ニューロンに投射するコリン作動性神経の生後発達

駒本和之¹、○松井利康¹、江藤真澄²、九郎丸正道¹

¹ 岡山理大・獣医・解剖

² 岡山理大・獣医・生化学

運動ニューロンはコリン作動性神経の投射を受ける。この神経入力は運動ニューロンの発火頻度を調節し、脊髄では歩行運動の発達に伴って神経伝達も成熟する。口腔顔面筋は、生後期に吸嚙から咀嚼へと運動特性が変わるが、各筋支配の運動ニューロン群 (亜核) におけるコリン作動性神経の分布は不明である。運動ニューロンに対するコリン作動性入力はパターン運動の調節に関与する可能性が報告されており、本研究では口腔顔面筋のパターン運動が変化する生後期に注目し、コリン作動性神経の分布とその機能分子の発現を解析した。胎齢 17 日～生後 26 日齢 (E17～P26) のマウス脳幹において、コリン作動性神経マーカー VAcHT により神経終末の分布を観察した。運動ニューロンに接する VAcHT 標識終末は、E17 で少数が口腔顔面筋運動核の一部の亜核に存在し、その後、咀嚼への移行期 (P16) にかけて終末数と終末径が全ての亜核で増加した。舌骨上筋を支配する亜核では、運動ニューロンに接する終末数が全ての日齢で有意に多い傾向を示した。シナプス後部の機能分子である電位依存性カリウムチャネル Kv2.1 およびムスカリン M2 受容体は、生後早期に運動ニューロン細胞膜で発現し、日齢が進むと神経終末の後部に集積した。以上から、口腔顔面筋運動核に投射するコリン作動性神経は、その神経伝達が吸嚙期で経時的に発達し、咀嚼期への移行前に完成することが明らかになった。(COI : なし)

18 Neurochemical phenotypes of huntingtin-associated protein 1 in the habenula of adult mice brain

Mirza Mienur Meher¹, Md Nabiul Islam², Akie Yanai¹, Marya Afrin², Mir Rubayet Jahan³, Koh-hei Masumoto², and Koh Shinoda⁴
(¹Dept. of Basic Lab Sci,²Div. of Neuroanatomy,³Dept. of Clinical Neurology, Yamaguchi Uni Grad School of Med, ⁴School of Human Care Studies, Nagoya Uni. of Arts and Sciences)

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is a core component of the stigmoid body (STB) and is known as a neuroprotective interactor with causal agents for several neurodegenerative diseases. The mammalian brain's habenula consists of medial and lateral subdivisions, each with distinct neural connectivity to both motor and non-motor symptoms related to neurodegenerative diseases. Although our recent study showed the expression of STB/HAP1 in mouse habenula, the detailed distribution of HAP1 and its neurochemical characterization in habenula are still unknown. In the current study, we examined the detailed distribution of STB/HAP1 and characterized its neurochemical phenotypes throughout the habenula of adult male mice using light and fluorescence microscopy. HAP1 immunoreactivity was mainly scattered in the lateral habenula. Most of the molecular markers expressed in lateral habenula, such as calretinin, calbindin, CCK, and CGRP, showed HAP1 immunoreactivity. Whereas a few nNOS neurons had HAP1 immunoreaction, and PV neurons never contained HAP1 immunoreactivity in lateral habenula. The molecular markers expressed in the medial habenula, such as ChAT, TH, and SP- immunoreactive (ir) neurons, were devoid of HAP1 immunoreactivity. However, VIP, somatostatin, and histamine-ir cells were absent in the habenula. These results suggest that, due to a little/lack of putative STB/HAP1 protectivity, the nNOS, PV, ChAT, TH, and SP neurons might be more vulnerable to neurodegeneration than HAP1-expressing calretinin, calbindin, CCK, and CGRP neurons in the lateral habenula. STB/HAP1 might protect the functions of the lateral habenula, sometimes referred to as the brain's 'antireward center,' and may contribute to the pathophysiology of several psychiatric disorders, especially major depression.

19 STB/HAP1 deficiency in serotonergic neurons leads to disrupted fiber-arborization in mice brain

Marya Afrin¹, Md Nabiul Islam¹, Mirza Mienur Meher², Mir Rubayet Jahan³, Koh-hei Masumoto¹, Akie Yanai², and Koh Shinoda⁴

¹Div. of Neuroanatomy, ²Dept. of Basic Lab Sci, ³Dept. of Clinical Neurology, Yamaguchi Uni Grad School of Med, ⁴School of Human Care Studies, Nagoya Uni. of Arts and Sciences

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is an essential component of the stigmoid body (STB) and is known as a possible neuroprotective interactor with causative proteins for several neurodegenerative diseases. Brain regions rich in STB/HAP1 immunoreactivity are usually spared from cell death, whereas those with negligible STB/HAP1 immunoreactivity are the primary neurodegenerative targets. Recently, we have shown that STB/HAP1 is abundantly expressed in serotonin (5-HT) neurons in the adult mice raphe nuclei, indicating that STB/HAP1 might be crucial for modulating or protecting the functions of serotonin in the brain. To clarify this, we genetically engineered the HAP1-KO mice using CRISPR-Cas9 mediated genome editing. Unfortunately, the HAP1-KO mice died with unknown etiology within 24 h of birth. Hence, in the current study, we re-assessed the morphological relationships of HAP1 with 5-HT in the P0 mice brain. Our current double immunofluorescence staining for HAP1 and 5-HT implicated that 90-97% of 5-HT-immunoreactive (ir) neurons contained STB/HAP1 immunoreactivity in rostral and caudal clusters of raphe nuclei in P0 wild mice. Although there were no substantial changes in the number of 5-HT-ir perikarya, fiber-arborization of 5-HT neurons was disrupted in the raphe nuclei, cortex, hippocampus, hypothalamus, and amygdala in HAP1-KO mice. These results suggest that deficiency in putative STB/HAP1-protectivity in HAP1-KO mice may disrupt serotonergic neurotransmission, rendering them more vulnerable to neurodegenerative stresses. Our present findings may also provide a clue for further research aimed at elucidating the pathophysiological role of STB/HAP1 in sudden infant death syndrome (SIDS), as SIDS is associated with abnormalities in the 5-HT pathway.

20 網膜における SALL1 の発現分布

○新美健太、古山達雄

香川保医大・保健医療・解剖

【目的】SALL1 はショウジョウバエのホメオ遺伝子 *Spalt* の哺乳類ホモログであり、胎生期の腎臓形成や ES 細胞の未分化性の維持に必要な転写因子として知られる。脳では SALL1 は発生期・成体の両方においてミクログリアに特異的に発現し、ミクログリア特異的な遺伝子発現プロファイルを確立するために必要であるとされ、近年ではミクログリアマーカーとしてよく使用される。しかしながら同じく神経組織である網膜の、特に発生発達期における SALL1 の発現パターンを詳細に示した報告はないため、マウス網膜における SALL1 の発現パターンを明らかにすることを目的とした。

【方法】網膜における SALL1 の発現を解析するために、抗 SALL1 抗体による免疫組織化学および *Sall1* レポーターマウスを使用した。

【結果】免疫組織化学および *Sall1* レポーターマウスにより SALL1 の局在を可視化したところ脳と同じようにミクログリアに SALL1 の発現を認めた。しかしそれだけではなく脳と異なり大部分のアストロサイトも SALL1 を弱く発現することを見出した。またアストロサイトの成熟による SALL1 の発現変動の有無や、様々な発達および老化ステージの網膜における SALL1 の発現パターンについても同様に検討したため報告する。今後は網膜のアストロサイトにおける SALL1 の機能について検討を行う。(COI: なし)

21 グリオキサルを主成分とする新規眼球用迅速固定液の開発

兵頭 宗敏¹、今井 啓之¹、西田 照²、藤野 郁²、青柳 亮慈¹、加納 聖²、日下部 健¹

¹山口大・共同獣医・獣医解剖、²山口大・共同獣医・発生・実験動物

眼球の固定には、10%中性緩衝ホルマリン液 (10%NBF) や、これを主成分とする Davidson 液などが使用されてきた。しかし網膜の眼底からの剥離や、薄切に伴う水晶体の破碎を防ぐことができず、眼球全体の構造を十分に反映した組織像を得ることが困難であった。本研究ではグリオキサルへの置換による、脳神経細胞の免疫染色性向上の報告に着想を得て、浸漬固定のみにて内部構造を保持し、かつ免疫染色性の向上を可能とする新規の眼球用迅速固定液の開発を目的とした。

Davidson 液に含まれる 10%NBF をグリオキサルに変更した組成を基準とし、これに 1-ブタノール、2-メルカプトエタノール、メタノールを添加してマウス眼球を一晩浸漬固定した。6μm 厚の切片を作成し、H-E 染色と、桿体双極細胞を標的とした免疫蛍光染色 (IF) を施し、各部位の形態と染色性を評価した。

グリオキサルは従来固定法と遜色ない H-E 染色性を示した。1-ブタノールの添加は色素上皮・視細胞間の剥離を防ぎ、2-メルカプトエタノールとメタノールの添加は水晶体を軟化させた。各配合成分の濃度を調整すると、眼球内部構造をよく反映した H-E 像が得られた。また IF では従来法よりもバックグラウンドが低下したことに加え、細胞体、樹状突起、軸索についてより明瞭な陽性シグナルが得られた。

本研究で開発した固定液は、従来法の問題点であった眼球の不完全な形態維持の改善と、免疫染色性の向上との両立を可能にした。(COI 無し)

22 うま味受容体欠損マウスを用いた味覚唾液反射経路の検討

望月晴、堀江謙吾、美藤純弘、吉田竜介

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科口腔生理学分野

味刺激により反射的に唾液分泌が促されるが (味覚唾液反射)、その神経メカニズムの詳細は不明である。先行研究では、ヒト耳下腺において、基本 5 味 (甘味、塩味、酸味、苦味、うま味) の中でうま味刺激が最も多くの唾液を分泌することが明らかになっており、ドライマウス治療への応用も期待されている。本研究では、うま味によって誘発される味覚唾液反射の経路を明らかにすることを目的とした。野生型、およびうま味受容体を欠損した *Tas1r3*-KO マウスを用い、L-グルタミン酸カリウムを自由摂取させた後、孤束核と上唾液核における神経細胞の活性化を調べた。活性化細胞の検出は c-Fos 免疫組織染色により行い、陽性細胞数をカウントした。結果、孤束核、上唾液核の両方において、野生型マウスと比較して *Tas1r3*-KO マウスで陽性細胞数の有意な減少が認められた ($p<0.05$)。また、野生型、および *Tas1r3*-KO マウスの孤束核と上唾液核における陽性細胞数の相関を調べたところ、両マウスにおいて正の相関がみられた ($p<0.05$, $p<0.001$)。これらのことから、うま味によって誘発される味覚唾液反射の経路には *Tas1r3* が関与しており、孤束核に伝達された味覚情報の一部が上唾液核に伝達される可能性が示唆された。

23 嗅入力経路の発生におけるプロトカドヘリン 19 の局在と機能

○花本 舞弓¹、清藤 恵美²、樋田 一徳³、林 周一³

¹川崎医療福祉大学 医療技術学研究科 医療技術学専攻 臨床検査学研究コース

²川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床検査学科

³川崎医科大学 解剖学

PCDH19 関連症候群は、生後 6 か月～18 か月の女兒にてんかん発作を発症する指定難病であり、X 染色体にコードされる細胞間接着因子プロトカドヘリン 19 (PCDH19) 遺伝子の変異が原因である。本疾患の発症機序として、PCDH19 発現細胞と PCDH19 変異/欠損細胞がモザイク状に分布することによって細胞間相互作用が阻害される細胞干渉説が有力であるが、詳細な分子メカニズムや根本的な治療法は確立されていない。本研究では、PCDH19 の機能喪失が脳の発生に及ぼす影響を明らかにするために、Pcdh19 欠損マウスで発見した嗅球の表現型を解析した。まず、Pcdh19 遺伝子の 3' 末端に HA-3×FLAG タグをノックインしたマウスを用いて、野生型のマウスの嗅入力経路における Pcdh19 タンパク質の局在を調べた。胎生 14.5 日齢では、Pcdh19 は嗅上皮から嗅球の糸球体に投射する嗅神経に局在した。生後 0 日齢では、嗅球の吻側近傍の嗅神経束において、Pcdh19 の一部は軸索誘導因子 neuropilin 1 陽性の軸索に局在した。嗅球では、Pcdh19 陽性の軸索は Pcdh19 陰性の軸索とは異なる糸球体に収束し、各糸球体の中で Pcdh19 は均一に分布した。次に、Pcdh19 欠損マウスの嗅球を解析した。ヘテロ接合型雌マウスでは、Pcdh19 陽性糸球体の数が減少し、さらに一部の糸球体では、Pcdh19 陽性軸索と Pcdh19 欠損軸索が分離してモザイク状になった。従って、Pcdh19 は発生段階で嗅神経の軸索間相互作用に働き、Pcdh19 の機能喪失により糸球体への嗅神経の誘導と収束に異常が起きることが示唆される。

24

Fgf10 遺伝子片アレル欠損マウスのハーダー腺の解析

池田 志織^{1,2}, 佐藤 恵太¹, 藤田 洋史¹, 皆木 瞳¹, 宮石 智³, 濃野 勉¹, 大内 淑代¹
(¹ 岡山大・医歯薬・細胞組織学, ² 岡山大・総合技術部・医学系技術課, ³ 岡山大・医歯薬・法医学)

ハーダー腺 (Harderian gland: HG) とは、マウス眼球後部を覆う分泌腺で、第三の眼瞼である瞬膜の基部に開口し、角膜表面をその分泌物で覆い眼の感染防御を担っている。マウスは生後約 2 週間で瞼が開くが、眼球後部の HG 原基が発達して眼球を押し出すようにして開眼する。そのため、HG 形成が妨げられると眼球陥凹 slit-eye をきたす。*Fgf10* 遺伝子片アレル欠損 (*Fgf10*^{+/Δ}) マウスは、HG 萎縮による slit-eye を呈する (Puk et al. 2009)。しかし、*Fgf10*^{+/Δ} マウスの HG がいつものように変性、萎縮するかその詳細について明らかにされていない。そこで本研究では、胎児期 (E13.5~E19) および出生後 (P0.5~P18) 雄の *Fgf10*^{+/Δ} マウスの HG を形態学的に観察した。その結果、半数以上の *Fgf10*^{+/Δ} マウスにおいてしばしば片側性に HG が欠損していた。生後約 2 週間の *Fgf10*^{+/Δ} 変性 HG は小さく黒い外観を呈し、腺構造が失われ結合組織に置き換わっていた。*Fgf10*^{+/Δ} 胚においても、組織構造と pancytokeratin の発現消失から、同様の割合で HG の発達が遅延または阻害されていることがわかった。以上の結果より、*Fgf10*^{+/Δ} マウスでは発生後期から新生仔期にかけて、片側性に HG の発生遅延または形成不全をきたすことが明らかとなった。(COI:なし)

25

Streptomyces hemagglutinin (SHA) binds normal pancreatic acinar cells and pancreatic adenocarcinoma (PDAC) cells

Honoka Natsuyama¹*, Janine C. Quijano¹, Alonso Tapia^{2,3}, Karine Bagramyan³, Jose A. Ortiz^{1,2}, Markus Kalkum^{3*}, Yoko Fujita-Yamaguchi⁴, Hsuan Teresa Ku^{1,2*}
¹ Dept. of Translational Research and Cellular Therapeutics, ² The Irell and Manella Graduate School of Biological Sciences, ³ Dept. of Immunology and Therapeutics, City of Hope, ⁴ Dept. of Diabetes Complications and Metabolism, City of Hope *山口大・医・医学科 5 年 *These senior authors contributed equally. (国際交流支援: 山口大・医・器官解剖学)

Lectins are proteins that specifically bind to glycans, which are complex carbohydrate molecules often attached to proteins and lipids on the cell membrane. Glycans have been known to play important roles in the pathogenesis of PDAC. SHA is a lectin secreted by *Streptomyces lavendulae*. SHA can agglutinate human blood type B erythrocytes; however, SHA's activity with other mammalian cell types is unknown. To study the binding ability of SHA to pancreatic cells, we performed immunofluorescence staining using SHA-mCherry fusion protein. We found that SHA-mCherry, but not the control mCherry protein, binds to acinar cells but not ducts and endocrine cells in the pancreases of adult mice and humans, as well as embryonic day 18 murine pancreases. Interestingly, for the adult humans, SHA-mCherry shows high binding activity to human blood type B but not type O donor pancreases. We also determined the binding of SHA-mCherry in one case of human PDAC sample; SHA-mCherry showed a high binding signal in the cancerous region, compared to the non-cancerous region. Together, these results demonstrate that the SHA lectin specifically binds to the normal acinar cells of mouse and human pancreas, and high binding of SHA correlates with the cancerous region of PDAC. Our results suggest that SHA could serve as a biomarker for normal pancreatic acinar cells and pancreatic cancer cells.

26

献体登録者からの問い合わせへの対応事例: 高知大学の一例

中根裕信、大迫洋治、坂野政之¹、高橋弘、田中健二郎、日高千晴、Vadim Zinchuk、瀬尾宏美²
高知大学医学部 解剖学講座、設備サポート戦略室¹、総合診療部²

医師をはじめとする医療従事者養成においてご遺体を用いた解剖学教育の重要性は、篤志献体制度の確立・普及に伴い、社会に認知されています。さらに近年、高度医療人材育成・医療安全の観点から、ご遺体を用いた臨床医に対する外科手術手技研修(サージカルトレーニング)への解剖学教室の協力・協働の要請があります。一方で、献体の不適切事例およびその裁判の報道に接し、不安を覚えた献体登録者からの問い合わせがあります。今回、高知大学で問い合わせに対応した一例を紹介します。本年、本学の篤志献体団体「爽風会」の事務局に、会員から「兵衛医大での不適切事例の裁判の記事を読んで不安に思い、本学の献体事業は大丈夫か確認したい」との電話がありました。早速、本学の献体後の火葬・ご遺骨の扱い(ご遺族へのご連絡の時期等)についての説明と関係者への不適切事例の周知についてお答えしました。この問い合わせを機に、他の多くの会員も同様の不安があると考え、会員の懸念を払拭する方法を検討しました。本学は昨年、医学教育分野別評価を受審し、その際の実地調査で、評価委員に「安全な学修環境」の中の「解剖用献体の適切な保管(解剖体に関する記録ならびに保管)」について確認してもらい、「適切に管理されている」との評価をいただきました。そこで、この外部評価の結果を、機関誌「爽風」に掲載し、本学の献体事業は適正に行われていることを、会員の皆様にお知らせしました。地道ですが、社会や会員の方々に「献体事業の適正な実施」をお伝えし、安心してご献体いただける環境を提供することも大切かと思われます。各大学での対応の状況などをご教示いただき、情報共有の場としてより良い方法を考えていく機会にしたいと思います。

27

筋ジストロフィー末期における筋変性の網羅的検討: 献体を用いた肉眼および顕微解剖の 1 例

江口優大¹、浅原真弓¹、岡野真子¹、高田将睦¹、椋田崇生²、濱崎佐和子²、小山友香²、海藤俊行²
¹ 鳥取大・医・医学科 5 年、² 鳥取大・医・解剖学

筋ジストロフィー(MD)は骨格筋の変性・壊死と再生を主病変とする遺伝性筋疾患で、原因遺伝子の発見や分類が進んでいるが、死亡時の筋変性の程度や分布を全身で網羅的に検討した例はほとんどない。我々は、2022 年度解剖学実習で MD を死因とする女性 (78 歳、成人後に筋力低下が発症) の剖検の機会を得たため、全身の骨格筋、心筋、平滑筋および神経系の肉眼および顕微解剖を行った。骨格筋の脂肪化は全身の筋群に及び、特に下肢筋、上肢近位筋、体幹筋で顕著だった。一方、右前腕伸筋、肘関節および横隔膜、嚥下関連筋、表情筋、鎖骨下筋の一部では筋組織が残存していた。脂肪化の程度に関わらず、各筋群の運動ニューロンには変性や脱落は認められなかった。消化管では平滑筋に変性は見られなかったが、咽頭や食道上部の横紋筋には脂肪化や線維化が見られた。膀胱では平滑筋に一部線維化が見られた。気管支、胆嚢、子宮では平滑筋に変性は見られなかった。心臓では心室筋の線維化は軽度であり、心筋症は軽度と考えられた。MD では認知機能障害を生じる場合があるが、脳の海馬ではニューロンの変性や脱落は見られなかった。MD は病型により平均寿命は様々だが、比較的寿命の長い病型でも 55 歳程度とされており、本症例はこれを大幅に上回る長寿だった。本症例は、下肢筋と上肢近位筋の変性が顕著であること、呼吸筋、嚥下関連筋、心筋の変性は軽度であること、成人発症で進行が緩徐であることから、肢帯型筋ジストロフィー 2B 型と推測される。今後、遺伝子解析で病型を確定し、解剖結果との整合性を検討する予定である。

28

青パパイヤ抽出物の小型げっ歯類の口腔組織への影響

木村綾佑、杉山尚平、泉本真志 (山口大学医学部医学科)
伊東雅也 (山口大学医学部保健学科検査技術科学専攻)
原田耕志 (広島都市学園大学健康科学部)

パパイヤ (Carica papaya) は西インド諸島原産の常緑小高木である。主に赤道直下の国々で生産されているが、地理的特性を活かして山口県内でも生産されている。今回はその青パパイヤ抽出物をマウスやハムスターなどの小型げっ歯類の口腔組織に投与し、組織に与える効果について評価した。
ハムスターの頬嚢炎モデルは頬嚢を金属ブラシで擦過することで疑似的に口内炎を作り出し、炎症や治癒の程度を観察する手法である。10 週齢のメスのゴールデンシリアンハムスターを用いて頬嚢炎モデルを作成し、屠殺後頬嚢を切除し観察したところ、フルオロウラルシル群では顕著な頬嚢炎が認められたがフルオロウラルシル+青パパイヤ群では頬嚢炎が顕著に改善した。ただし生食塩水群と比較するとフルオロウラルシル+青パパイヤ群において軽度な頬嚢炎の残存が認められた。
またマウスの舌炎モデルではマウスの下に酢酸を塗布することで疑似的に舌炎を作り出し、炎症や治癒の程度を観察する手法である。10 週齢雄の ICR マウス 6 匹を用いて屠殺後舌を切除し、観察したところ酢酸+フルオロウラルシル群は顕著に舌舌部に炎症が認められたが、酢酸+フルオロウラルシル+青パパイヤ群では炎症の改善が認められた。
この結果から青パパイヤ抽出物は小型げっ歯類の口腔組織の炎症の改善に効果があることが明らかとなった。

29

骨芽細胞移動を制御するアクチンフィラメント形成におけるダイナミンの役割

守谷拓巳^{1,3}、A. SURONG²、山田浩司²、竹居孝二²、上岡寛³、岡村裕彦¹、池亀美華¹

1) 岡山大学学術研究院医歯薬学域 口腔形態学分野
2) 岡山大学学術研究院医歯薬学域 生化学分野
3) 岡山大学学術研究院医歯薬学域 歯科矯正学分野

骨芽細胞の移動は骨形成に重要な因子であり、その過程にはアクチン細胞骨格の調節が必要である。GTPase の一つであるダイナミンは、アクチンフィラメントと相互作用し、細胞の形状変化などに関与するが、骨芽細胞の移動におけるダイナミンとアクチンフィラメントの相互作用やそれらの局在についての詳細は不明である。そこで、前骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を用いて創傷治癒アッセイを行い、細胞移動へのダイナミン阻害剤の効果を検討した。さらに、ダイナミンとアクチンフィラメントの細胞内局在を、免疫細胞化学と蛍光標識ファロイジンによりそれぞれ検出した。その結果、ダイナミン阻害剤による骨芽細胞の移動抑制を確認した。また、創傷部最前線の細胞において、細胞移動に伴い形成される細胞質突起内にはアクチンフィラメントが平行に走行しており、ダイナミンはそれらに沿って局在するとともに、細胞質突起の先端部分にも認められた。ダイナミン阻害剤を作用させると、細胞質突起の発達が悪くなり、突起内のアクチンフィラメントならびに先端部分におけるダイナミンの減少が認められた。以上の結果から、ダイナミンは、細胞移動に必要な細胞質突起における、アクチンフィラメント形成の調節に関与することで、骨芽細胞の移動に重要な役割を果たしていることが示唆された。

30

イヌがん細胞株におけるスタチン感受性と上皮-間葉系形質との関連

石川 拓郎¹、杉浦 曜大¹、田代 二朗¹、割田 友子²、割田 克彦¹ (1. 鳥取大 農・獣医解剖、2. 関西学院大 生命環境)

上皮間葉転換 (EMT) は上皮系の細胞が間葉系へと形質を変化させる現象であり、がんの悪性化に関与する。ヒトがん細胞株を用いた研究から、脂質異常症治療薬であるスタチンは間葉系がん細胞に対して顕著な制がん効果を示すことが報告されている。しかし、イヌがん細胞株におけるスタチン感受性と上皮-間葉系形質との関連は不明である。そこで、本研究では種々のイヌがん細胞株に対するスタチンの制がん効果を解析し、上皮-間葉系形質とスタチン感受性との関連を明らかにすることを試みた。イヌがん細胞株 11 種 (乳がん 2 種、肺がん 3 種、扁平上皮がん 3 種、メラノーマ 3 種) にアトルバスタチン 0~100 μM を 48 時間曝露したときの細胞生存率を測定し、50%阻害濃度 (IC_{50}) を算出した。また、上皮系マーカー E-cadherin と間葉系マーカー Vimentin の遺伝子・蛋白発現量および細胞内局在を解析した。さらに、EMT 誘導因子の発現量を解析し、スタチン感受性との相関を検討した。各細胞株におけるアトルバスタチンの IC_{50} は 5.92~71.45 μM であり、 IC_{50} の低い細胞株では E-cadherin が発現しておらず、Vimentin が強く発現していた。また、E-cadherin 陽性細胞と Vimentin 陽性細胞とが混在する細胞株において、アトルバスタチンは Vimentin 陽性細胞に対して優先的に細胞死を誘導した。さらに、EMT 誘導因子である ZEB の高発現とスタチン高感受性との相関が認められたことから、ZEB がスタチン感受性を特徴づける因子の一つであることが明らかとなった。イヌおよびヒトの様々な腫瘍において、ZEB の過剰発現と予後不良との関連が報告されており、スタチンは悪性度の高いがんに対する有効な治療法となりうることを示唆された。

31

長州黒かしわの肉質に関する組織学的解析

堤 悠之助¹、村田翔平²、伊藤直弥⁴、今井啓之²、日下部 健²

¹山口大・共同獣医・6 年生、²山口大・獣医解剖、³山口県農林総合技術センター、

⁴山口県畜産振興課

【背景】長州黒かしわ (CK) は山口・島根地方の日本鶏である黒柏鶏に、シャモ等の 3 品種を交配してつくられたブランド地鶏である。ブロイラーの肉より適度な歯ごたえを持ち、ジューシーな味わいが特徴である。本研究では、長州黒かしわの肉の堅さを決める遺伝的背景と組織学的な要因について検討した。【方法】CK とその親品種の一つであるロードアイランドレッド (RR)、親品種にさらにホホワイトブリマスロックを交配させた WY の 3 品種から浅胸筋と腓腹筋内側部を採取し、それぞれ胸肉、腿肉とした。両部位は短冊状にトリミングし、70 度で 1 時間湯煎またはホルマリン固定を行った。前者は剪断力価による硬度測定を行い、後者からはパラフィン切片を作製した。【結果】剪断力価は胸肉では RR が 2.92 ± 0.78 、腿肉では WY が $3.40 \pm 1.23 \text{ kg/cm}^2$ で最も高かった。H-E 染色で筋線維の短径を測定したが 3 品種間で明確な差は認められず、剪断力価と筋線維短径との相関は RR の胸肉においてのみ著明であった (相関係数 $r=0.82$)。RR の胸肉は、筋線維の密度についても相関を示した ($r=0.90$)。マッソントリクローム染色により膠原線維を定量評価し、剪断力価との相関を見ると、WY の胸肉において $r=0.94$ であった。一方で、CK の胸肉での相関係数は筋線維短径で -0.22、筋線維密度で 0.47、膠原線維量で 0.41 であった。【考察】CK の肉の堅さを決める要因を組織学的評価から検出することは出来なかった。しかし親品種では筋線維と膠原線維が関係し、特に胸肉で著明であった。CK では肉の堅さを決める要因は他にも存在し、複合的に関与している可能性がある。