

日本解剖学会

第112回関東支部学術集会

会 期：令和6年12月1日（日）
会 場：日本大学医学部 記念講堂

1-1 後上腕回旋動脈と浅尺骨動脈（仮称）が特徴的な走行を示していた一例

○柳澤 孝太¹、竹腰 亮汰¹、竹下 葉子¹、本多 光太¹、上田 容子²、永堀 健太²、清島 大資²、山本 将仁²、岡崎 隆³、林 省吾²
¹東海大・医・医、²東海大・医・生体構造、³東海大・医・画像診断学

腋窩動脈は最上胸動脈、胸肩峰動脈、外側胸動脈、肩甲下動脈、前上腕回旋動脈、後上腕回旋動脈の分枝を持ち、大円筋下縁において上腕動脈になる。後上腕回旋動脈は、上腕骨外科頸の後ろで外側後方を走り上腕骨、上腕二頭筋長頭、大円筋、小円筋の間にできる外側腋窩隙を通り三角筋、肩関節に分布する。
上腕動脈の分枝の1つに上腕深動脈がある。上腕深動脈は橈骨神経と併走することが知られている。上腕動脈は橈骨動脈と尺骨動脈に分岐し、これらは手掌において吻合する。
2024年度の東海大学解剖学実習中73歳男性で左の上腕の解剖を行っていたところ、動脈系の変異を確認した。腋窩動脈からは、尺側浅層を走行し手掌にいたる浅尺骨動脈（仮称）が分岐していた。上腕動脈からは橈骨動脈と尺骨動脈が分岐していたが、尺骨動脈は長母指屈筋に入り、手掌に至らなかった。前述した外側腋窩隙を通る動脈は確認できなかった一方で、上腕骨、上腕三頭筋長頭、大円筋下縁にできる上腕三頭筋裂孔において、橈骨神経と併走する上腕深動脈に加えて、さらに橈骨神経に併走しない動脈が見られた。この動脈は腋窩動脈から分岐し、大円筋背側を走行した後三角筋に分布しており、後上腕回旋動脈と考えられた。本症例は浅尺骨動脈が残存していた事から発生学的な様々な考察が可能であり興味深い症例である。

1-2 腸間膜動脈間神経叢内に形成される大動脈前神経節の位置変化に関する局所解剖学的解析

○矢口 未輝、川島 友和
東邦大・医・解剖・生体構造

【背景・目的】
上腹部内臓を支配する腹腔神経叢や骨盤内臓を支配する骨盤神経叢は、人体の主要自律神経叢としての機能的重要性から精力的に解析が行われてきた。一方で、両者を接続する神経叢として、特に上・下腸間膜動脈間を接続する腸間膜動脈間神経叢は、単なる個体差に富む自律神経路と見なされ、不明点が多い。そのため、腸間膜動脈間神経叢のような大動脈前神経叢は、腹大動脈周囲に形成される複雑な網目状の自律神経ネットワークとして曖昧に記載されてきた。さらには、そこに包含される大動脈前神経節も、神経分岐部に不規則に出現するように描写されてきた。この領域は、下部消化管や泌尿生殖器の自律神経伝導路という点で意義を有している。そこで、腸間膜動脈間神経叢とその神経節の形態学的特徴を理解するために解剖学的検討を行った。
【方法】
東邦大学医学部局所解剖体13体の腹部の自律神経叢をマクロ解剖学的に解析した。神経節の同定として、マッソン・トリクローム染色にて組織学的に確認した。
【結果・考察】
腸間膜動脈間神経叢は、腹大動脈前面に一樣に広がる網目状の構造ではなく、主幹として左右の神経束を形成することが確認された。特に発達した大動脈前神経節は、動脈分岐部近傍に位置しており、分岐動脈伴行枝や周囲の臓側枝を多数分岐していた。つまり、神経叢内に無秩序に広がるというよりは、動脈分岐に依存し、末梢自律神経線維路のターミナルとしての目的な配置を示していた。

1-3 凍結機械的ストレスによる細胞膜損傷と修復

○ヴァー ジェップ カム¹、三宅 克也²
¹ 国福大・医学部・医学科、² 国福大・成田基礎医

【背景】細胞は凍結すると細胞内に氷晶ができ細胞膜が破壊され死ぬと考えられている。一方、自然界では植物細胞は凍結による機械的ストレスを受けても細胞膜修復がされることが報告されている。実験室では凍結保存剤（CPA）を用い細胞の凍結保存が日常的に行われているが、凍結による細胞膜の損傷修復については報告がされていない。
【方法】本研究では、膜透過型 CPA（DMSO、グリセリン）、非膜透過型 CPA（スクロース、アルブミン、トレハロース、ラフィノース、デキストラン）、ならびに市販非透過型 CPA を用い、凍結・解凍中の培養細胞 C2C12 に蛍光標識デキストラン（FDx, 10kD）またはプラスミドを導入し、フローサイトメトリーと共焦点顕微鏡により観察を行った。
【結果・考察】膜透過型 CPA（DMSO、グリセリン）によって凍結されたほとんどの細胞に蛍光をもつ細胞は観察されなかった。一方、興味深いことにアルブミン、トレハロースおよび市販の非膜透過型 CPA は、細胞内に侵入した FDx の強い蛍光が確認され、多くの細胞に膜損傷修復が確認された。また、凍結融解時に非膜透過型 CPA を加えるだけでも膜修復した細胞が多く観察された。さらに、mCherry-Mito-7 を混ぜた非膜透過型 CPA によって凍結保存された細胞を解凍培養したところ、僅かな細胞に蛍光を発現したミトコンドリアが観察された。
【結論】透過型 CPA は氷晶を成長させない方法により細胞膜損傷を防ぐことがわかった。一方、非透過型 CPA は氷晶成長による細胞膜損傷時に細胞内に侵入し、細胞融解時に細胞膜修復を活性化する可能性を示唆している。このことは、長い地球環境の変化の過程で、この膜修復機構を利用し、厳しい自然界により凍結された動物細胞に何らかの外部遺伝子が導入され進化してきた可能性も考えられた。

1-4 母体の ROR γ t 過剰は poly(I:C)誘導性の胎仔流産を増強する

○樋口 浩輝^{1,2}、久保 明澄^{1,3}、神谷 沙羅^{1,4}、中村 賢祐^{1,2}、森川 桃¹、岩田 卓¹、佐々木 哲也^{1,4}、武井 陽介^{1,4}
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 医学群 医学類、³ 筑波大学 生命環境学群 生物学類、⁴ 筑波大学院人間総合 フロンティア医学科学学位プログラム
母体免疫活性化（MIA）は流産のリスク因子として知られている。MIA は細菌・ウイルス感染によって母体免疫が一過性に活性化される現象である。その過程において、ヘルパーT細胞17（Th17細胞）とそれにより産生されるIL-17A が重要な役割を果たす可能性が示唆されているが、詳しいメカニズムは未だ明らかにされていない。本研究では、Th17細胞への分化を誘導するROR γ tを過剰発現させたマウス（ROR γ tTg マウス）を用いて、MIA による流産メカニズムにおけるTh17細胞の役割を検討した。ROR γ tTg マウスは定常状態で血清IL-17A濃度の上昇と胎盤組織のE-カドヘリン発現低下を示した。ウイルスRNAを模したポリイノシン酸-ポリシジール酸[poly(I:C)]投与によるMIA誘導実験では、ROR γ tTg マウスは野生型と比較して有意に高い流産率を示した。しかし、予想に反してROR γ tTg マウスではpoly(I:C)投与後のIL-17A濃度上昇が観察されなかった。これらの結果は、ROR γ tの過剰発現がIL-17A以外の経路を介して流産リスクを高める可能性を示唆している。考えられるメカニズムとして、(1) IL-17A以外の炎症性メディエーターの関与、(2) Th17/Treg バランスの変化による免疫寛容状態の破綻、(3) 胎盤のE-カドヘリン発現低下による構造的・機能的変化などが挙げられる。今後の課題として、ROR γ t過剰発現がIL-17A以外の炎症性因子に与える影響、ROR γ tTg マウスにおけるTh17/Tregバランスの詳細な解析、胎盤のE-カドヘリン発現低下が胎盤機能に与える影響の解明、およびヒト習慣性流産患者におけるROR γ tとIL-17Aの発現パターンの解析が重要である。本研究は、MIAによる流産メカニズムにおけるROR γ tとTh17細胞の複雑な役割を明らかにし、新たな研究課題を提起した。これらの知見は、習慣性流産や他の妊娠合併症の予防・治療法開発に向けた重要な基礎的情報を提供するものである。

1-5 遺伝子組換え技術を用いたシグナル伝達解析の数理的評価

○渡部 嘉徳^{1,2}、高橋 智²、吉原 雅大^{2,3}
¹ 筑波大・医・医、² 筑波大・医・解剖学発生学、³ 筑波大・医・地域医療教育学

遺伝子組換え技術の発展により、リガンドー受容体を介した細胞間シグナル伝達の解析が進められてきている。例えば、リガンドー受容体シグナル伝達系のひとつであるNotchシグナル系では、Notch受容体の一部を人工タンパクに組み換えたキメラ受容体を、内在性プロモーター下に発現させることでシグナル伝達の様相を可視化することが行われている。このように、遺伝子組換え技術は特定のタンパクを特定の細胞系譜で発現させることができる。他方で、リガンドー受容体を介した細胞間シグナル伝達は、リガンドと受容体の相互作用の結果として起こるため、その解析には律速段階の同定が必須である。したがって、キメラ受容体を全身性または内在性に発現させることができるこの技術は、潜在的に、生体内におけるシグナル伝達の律速段階の同定に寄与し得る。しかし、その定量的解析方法は未確立である。そこで我々は、情報エントロピーの概念を、仮想上の細胞空間に適用し、全身性または内在性にキメラ受容体を発現させた場合のレポーター発現から、その上流にある律速段階の同定法の開発を試みた。その結果、内在性にキメラ受容体を発現させたときの評価は、全身性にキメラ受容体を発現させたときのエントロピーに依存的であることが数理的に予測された。このことは、①従来広く行われてきた内在性シグナル伝達の可視化と並んで、全身性にキメラ受容体を発現させてリガンド利用性を推定することの重要性を明らかにしたと共に、②将来、遺伝子組換え動物を用いて全身性または内在性に発現させたキメラ受容体の下流レポーター発現から、その上流の律速段階を推定する方法を示唆するものである。

1-6 ヘキサン酸は制御性 T 細胞への作用を介して抗腫瘍免疫応答を増強する

○瀬田 大智¹、加藤 侑希^{1,2}、平井 宗一¹

¹ 日大・医・生体構造、² 慶應・医・産婦

抗 PD-1 抗体療法などのがん免疫療法は、がん治療にパラダイムシフトをもたらしたが、単剤での効果は限定的で、治療効果を高める併用療法の開発が課題である。我々は、この課題を克服するための探索的研究により、主に食事由来の脂肪酸であるヘキサン酸が抗腫瘍免疫応答を増強し、抗 PD-1 抗体の治療効果を改善することを発見した。しかし、その機序は未だ解明されていない。そこで本研究では、ヘキサン酸が抗腫瘍免疫応答を増強するメカニズムの解明を行った。

まず、抗腫瘍免疫応答において中心的な役割を担う CD8⁺T 細胞に対するヘキサン酸の直接作用を *in vitro* で評価した。その結果、ヘキサン酸は CD8⁺T 細胞の増殖や IFN- γ 産生には影響を与えなかった。この結果から、ヘキサン酸は CD8⁺T 細胞以外の免疫細胞に作用し、抗腫瘍免疫応答を制御している可能性が示唆された。次に、CD8⁺T 細胞の抗腫瘍活性に影響を与える制御性 T 細胞 (Treg) への作用を調査したところ、ヘキサン酸処理により、ナイーブ CD4⁺T 細胞 (CD3⁺CD4⁺CD62L⁺CD44^{low}) から Treg への分化が抑制されることが明らかになった。さらに、*ex vivo* 実験では、ヘキサン酸処理を受けた Treg は、未処理の Treg と比較して、CD8⁺T 細胞の増殖や細胞傷害活性を抑制しないことが確認された。すなわち、ヘキサン酸は Treg の CD8⁺T 細胞に対する免疫抑制活性を低下させることが示された。最後に、大腸がん細胞株 (CT26) を移植した担癌マウスモデルにおいて Treg の腫瘍内浸潤を評価したところ、ヘキサン酸投与群では Treg の浸潤が著しく抑制され、*in vitro* および *ex vivo* 実験の結果が支持された。

以上の結果から、ヘキサン酸は Treg の免疫抑制活性を複合的に抑制することで腫瘍微小環境の免疫抑制状態を改善し、抗腫瘍免疫応答を増強することが示唆された。

2-1 日本人男性に見られた右側筋皮神経の走行・分岐様式の異常と同側烏口腕筋の過剰腱

○宮崎 海都¹、葉山 瑞貴¹、稲垣 太一¹、高野 日菜子¹、夏山 裕太郎²、河田 晋一²、李 忠連²、伊藤 正裕²

¹ 東京医大・医・学生部、² 東京医大・医・人体構造学

通常、筋皮神経は腕神経叢の外側神経束から分岐し、上腕の屈筋群である烏口腕筋、上腕二頭筋、上腕筋に筋枝を出した後、外側前腕皮神経として分枝する。本症例では、本学解剖実習中に、直腸がんで死亡した日本人男性 (79 歳) において、右側筋皮神経の走行・分岐様式異常が認められ、加えて同側烏口腕筋の過剰腱が観察されたので報告する。

1. 筋皮神経の分岐と走行: 外側神経束から烏口腕筋へ到達する直径約 1 mm の細い筋枝が観察されたが、その筋枝は烏口腕筋を貫通しなかった。内・外側神経束は正中神経ノブを形成した後、正中神経とは異なる直径約 5 mm の枝を分岐した。同枝は、上腕二頭筋および上腕筋に筋枝を出した後、外側前腕皮神経として両筋間を走行し、前腕に至った。本症例は、上腕屈筋群への運動枝および前腕への感覚枝が外側神経束に加えて正中神経との共通幹から分岐したものであり、非常にまれな所見であると考えられる。

2. 正中神経との交通枝の有無: 上腕屈筋群への筋枝が、正中神経ワナより遠位側で観察される場合、約 20% の頻度でその筋枝と正中神経との間に交通枝が出現するとの報告があるが、本症例では認められなかった。

3. 烏口腕筋の過剰腱: 烏口突起から起始する腱に加えて、上腕骨前面から起こる過剰腱が確認された。

筋皮神経をはじめ、腕神経叢に関連した破格例は多数の報告があるが、本症例は、上腕屈筋群のうち烏口腕筋への筋枝のみが外側神経束より起こり、上腕二頭筋および上腕筋への筋枝および外側前腕皮神経が正中神経との共通幹から分岐する、これまでの報告にない所見である。外科手術時に損傷を受けやすい筋皮神経の走行・分岐様式およびその周囲器官における希少な所見として報告する。

2-2 灰白質と白質のアストロサイトの分化・運命決定を制御する候補遺伝子の同定

○稲井 優太^{1,2}、高野 俊¹、宮島 倫生^{1,3}、中嶋 一範¹

¹ 慶應義塾大学医学部解剖学教室、² 慶應義塾高等学校 3 年、³ JST さきがけ

ヒトの脳は神経細胞やグリア細胞など多様な細胞で構成されている。アストロサイトはグリア細胞の一種で神経細胞間の情報伝達の制御などを担う重要な細胞であり、灰白質と白質の両方に分布している。灰白質と白質のアストロサイトは、前者は大きな細胞体と無数の枝を特徴とする一方、後者は細長い形態で分枝が少ないことが特徴である。このように両者は細胞形態や遺伝子発現などに違いがあるが、それぞれのタイプが分化する仕組みは未だに不明な点が多く残されている。このような背景から、本研究では灰白質と白質のアストロサイトの分化・運命決定を制御する候補遺伝子の同定を試みた。既報の発生期大脳皮質の単一細胞 RNA-seq 解析結果 (Di Bella et al. Nature, 2021) を基に R モジュールの Seurat や ggplot2 を利用して二次解析を行った。具体的にはアストロサイト系列の細胞をクラスターに分類して、灰白質アストロサイト系列と白質アストロサイト系列の間で発現量が異なる遺伝子を抽出するとともに、分化経路を予測した。さらに、発現量の異なる遺伝子情報から分子経路予測が可能となる解析手法である Ingenuity Pathway Analysis (IPA) を用いることにより、2 種類のアストロサイト系列の分化・運命決定に関与する可能性のある候補遺伝子を選定した。本発表では同定された候補遺伝子の機能欠失実験の進捗状況についても報告する。具体的には *in utero* エレクトロポレーションによりアストロサイト前駆細胞における候補遺伝子の優性阻害型タンパク質を過剰発現させ、2 種類のアストロサイト系列の細胞数を免疫組織化学染色 (IHC) やフローサイトメトリー (FCM) により解析した結果を報告したい。

2-3 発生期大脳皮質 IL-17RA mRNA の分布と ASD モデル動物におけるその変化

○久保 明澄^{1,2}、神谷 沙羅^{1,3}、中村 賢祐^{1,4}、樋口 浩輝^{1,4}、岸 恭子¹、武井 陽介¹、佐々木 哲也^{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 筑波大学院人間総合 フロンティア医科学学位プログラム、⁴ 筑波大学 医学群 医学類

精神疾患の病態に免疫系の変調が関与する可能性が示唆されており、特にヘルパー T 細胞 17 (Th17 細胞) による免疫反応は、自閉スペクトラム症、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臨床研究から示唆されている。しかし、免疫反応が神経系に器質的变化を引き起こす過程は不明な点が多く、Th17 細胞の寄与については理解が十分に進んでいない。私たちは、Th17 細胞が産生するインターロイキン 17A (IL-17A) の受容体に着目し、マウスの発達段階ごとに IL-17A 受容体サブユニット (*Il17ra* と *Il17rc*) の mRNA 発現を *in situ* hybridization で解析した。免疫組織化学染色との二重染色により、受容体を発現する細胞種を同定し、また母体免疫活性化 (MIA) による自閉症モデルマウスを用いて病態における発現変化を検討した。*Il17ra* は主に大脳皮質 V-VI 層に強く発現しており、生後 14 日目で最も強いシグナルを示した一方、*Il17rc* は II-VI 層に広く分布し、新生仔期で高い発現を示した。*Il17ra* は NeuN 陽性の第 VI 層ニューロンの約 60% に発現していることが分かった。MIA 自閉症モデルマウスでは、*Il17rc* の発現に大きな変化は見られなかったが、*Il17ra* は生後 14 日目 (乳児期) で顕著な発現低下が観察された。本研究により、IL-17A 受容体がニューロンに優先的に発現していることが示された。また *Il17ra* が生後の神経回路再編成が盛んな時期に強く発現し、自閉症モデルで乳児期に発現低下が見られたことは、自閉症の病態形成への関与を示唆する。これらの結果は、中枢神経系における IL-17A とその受容体の機能を理解する重要な手がかりを与え、精神疾患の新たな治療戦略の開発につながると考えられる。

2-4 ASD リスク遺伝子産物 Myosin Id の細胞内局在解析

○中村 賢祐^{1,2}、久保 明澄^{1,2}、神谷 沙羅^{1,3}、樋口 浩輝^{1,4}、森川 桃¹、岩田 卓¹、佐々木 哲也^{1,3}、武井 陽介¹

¹ 筑波大・医・解剖学・神経科学、² 筑波大・医学類、³ 筑波大・生物学類、⁴ 筑波大・院人間総合・フロンティア医科学

樹状突起スパインは興奮性シナプスの後シナプス部位であり、その形態と大きさを変化させることでシナプス伝達を調節する能力を持つ。アクチン細胞骨格と様々なアクチン結合タンパク質が樹状突起スパインのダイナミクスに重要な役割を果たす。クラス I ミオシンは、ATP 加水分解のエネルギーを利用してアクチンフィラメントに沿って移動する単量体モータータンパク質である。これらのクラス I ミオシンのうち、ショウジョウバエ Myo31DF の哺乳類ホモログであるミオシン Id はニューロンで発現することが報告されているが、ニューロン内での細胞内局在は不明であった。*Myosin Id* (Myoid) 遺伝子は、自閉スペクトラム症 (ASD) のリスク遺伝子候補である。本研究では、ミオシン Id の細胞内局在を検討し、それに必要なドメインを選定した。ミオシン Id が HEK293T 細胞の F-アクチンに富む足と初代培養海馬ニューロンの樹状突起スパインに濃縮されることを見出した。尾部相同性 1 (TH1) ドメインの欠失と置換は、F-アクチンとの共局在を顕著に減少させた。さらに、TH1 ドメインを欠く変異体は、完全長と比較して樹状突起スパインへの分布が少なかった。これらの結果から、ミオシン Id が TH1 ドメインを介して樹状突起スパインに局在することが明らかになった。本研究は、ミオシン Id の神経細胞内での局在を初めて示し、その局在メカニズムを解明した。これらの知見は、シナプス可塑性や ASD などの神経発達障害の理解に貢献する。

2-5 海馬回旋における分子メカニズムの解明

○山田 拓実¹、Sara Wilson²、難波 隆志³、高橋 宗春¹、権田 裕子¹

¹ 東京医大・組織神経解剖、² Dept Integrative Medical Biology, Umeå Univ, Umeå, Sweden、³ Neuroscience Center, HiLIFE - Helsinki Institute of Life Science, Univ of Helsinki, Helsinki, Finland

近年、海馬回旋の遅滞や停止が、一部のてんかんや発達障害のある小児で報告され、精神疾患との関連性が示唆されている。胎生期の海馬では、歯状回切痕から生じた神経前駆細胞が軟膜に沿って移動し、さらに回旋によって形成された海馬溝に沿って脳実質内へ移動することで、記憶や学習に重要な歯状回の顆粒細胞層が形成される。この海馬溝の形成メカニズムを解明することは、精神疾患の病態解明や治療法開発につながる可能性があるが、現在もその詳細は不明な点が多い。本研究では、胎生期の海馬組織を経時的に観察し、初期段階で内側皮質に Cajal-Retzius 細胞が集積し、続いて海馬溝が形成されることを見出した。さらに、胎生期の海馬歯状回のシングルセル RNA シーケンシング解析を行い、Cajal-Retzius 細胞に特異的に発現する新規分子として軸索ガイダンス分子 Robo2 を同定した。Robo2 ノックアウトマウスを用いた解析では、Robo2 欠損により Cajal-Retzius 細胞の分布が拡散し、歯状回を形成する顆粒細胞前駆細胞の移動に障害が生じることが明らかとなった。さらに、血管が可視化されるマウスを用いた解析では、海馬溝において、Cajal-Retzius 細胞の集積部位に血管が形成されることが示唆された。これらの結果は、Robo2 が Cajal-Retzius 細胞の適切な局在化に重要であり、その分布異常が海馬形成および高次脳機能に影響を及ぼす可能性を示唆している。本研究は、海馬回旋の分子メカニズムの一端を解明し、関連する精神・神経発達障害の理解に新たな視点を提供するものである。

2-6 Zeb1, Scratch2, Nkx6-2 はマウス海馬歯状回顆粒ニューロンの分化ステージに特異的な発現パターンを示す

○高山 夏海、篠原 広志、小川 莉奈、大村 捷一郎、林田 美緒、高橋 春奈、大山 恭司
東京医大・医・組織・神経解剖学分野

海馬歯状回 (DG) における顆粒ニューロンの新生は、胎生期から成体に至るまで持続することが知られている。また新生した顆粒ニューロンは、記憶の獲得、統合、再統合に寄与すると考えられている。これまでに、細胞内在性に発現する転写因子が細胞分化を制御することが示されてきた。したがって、記憶に関わるさまざまな過程を理解するためには、顆粒ニューロン前駆細胞 (GNP) に発現する転写因子をよりよく理解することが重要である。マウス DG の発生において、GNP は歯状回切痕 (DN) に由来し、グリア線維酸性タンパク質 (GFAP) を発現する。私たちは、ニューロン新生が上皮間葉転換 (EMT) に類似していることに着目し、発生発達期の DG における EMT 関連転写因子 (EMT-TFs) の発現を免疫染色にて検討した。その結果、EMT-TF である Zeb1 と Scratch2 (Scr2) が、胎生期から生後にかけて GNP で順次発現することを見出した。Zeb1 は主に神経幹細胞 NSC (gfap-GFP+Sox2+) で発現し、一部の GNP (Tbr2+/Prox1+/NeuroD+) にも発現していた。Scr2 は主に GNP に発現し、一部の NSC にその発現が認められた。生後 14 日目においても同様に、Zeb1 と Scr2 が順次発現する様子が観察された。これらのデータは、Zeb1 と Scr2 が胎生期～発達期を通じて NSC、GNP に順次発現することを示している。それとは対照的に、ニューロン分化に関与する neuronal EMT-TF に分類される Nkx6-2 は、生後の GNP でのみ発現することが明らかとなった。これらのデータは、胎生期および生後 GNP の TFs 発現プロファイルにこれまで認識されていなかった違いがあることを示している。本研究結果を基盤として、将来、生後および成体の顆粒ニューロン新生を制御するシグナルの同定につなげたい。

3-1 様々な研究者達による知見の積み重ねが発見を導くー学生時代に会った 1 枚の写真ー

伊藤 正裕

東京医科大学 人体構造学分野

医学・生物学は、研究者による数々の失敗、偶然、幸運などを織り交ぜながら、着実に進歩してきた。そこにはジャングルの奥深くを彷徨いながら秘宝を探し求める、または、地下深く眠る金鉱を掘り当てるとする多くの研究者達が連なる世界が展開されている。

肉眼解剖学教育を担当している、開胸・開腹後に「胸腺」、「脾臓」、「副腎」を内臓脂肪と区別できずに剖出中に無意識にピンセットでむしってしまう医学生がときどきいるが、これら3つの内臓の同定、それら形態および機能の解明にはかなりの長い年月を要してきた歴史がある。本講演では、これら内臓のうち、本学術集大会長の平井宗一教授とともに 2007 年に訪ねたカナダ国トロント大学の Banting and Best Institute に由来する「脾臓」の話をさせていただきたい。ちなみに、演者の専門は「生殖免疫学」という免疫系と生殖系の連関を探索する学問であり、「免疫学的男性不妊症モデル研究」をライフワークとしてきたが、その特異的領域の紹介をするよりも、もっと一般的で世界的影響のあった話の方が若い解剖学者たちにインパクトがあると考えた。

歴史的に「脾臓」の解剖学的認識は、西洋に比べ東洋では大幅に遅れ、西洋でも「脾臓」と「糖尿病」が永年にわたって繋がらなかった。「内分泌」という現象および「脾臓」の働きが明らかになるまでに数百年にわたる数多くの研究者の知見の蓄積を要し、その知の土台の上に立つて Banting と Best が「インスリン」を発見することとなる。その意味で、大発見に直接的に関わらなくとも、その一助、一歩、ヒントとなり得るかもしれない研究を論文または書籍として「かたち」に残すことが、やがて年月を超えて、医学・生物学の進歩に役立つものであるということを本講演で改めて感じていただければと思う。

4-1 TH-GFP iPS 細胞由来の中脳オルガノイドを用いたドパミン神経細胞軸索のミトコンドリアの評価

○西島 曉彦¹、横田 睦美¹、角田 宗一郎²、山口 昂大³、赤松 和土³、小池 正人¹
¹ 順大・医・神経機能構造学、² 順大・形態解析、³ 順大・ゲノム再生

【背景と目的】ミトコンドリアの機能異常がパーキンソン病 (PD) の発症に関連することが報告されている。しかし、PD の主病態であるドパミン神経細胞 (DAn) の選択的脆弱性との関連性は不明な点が多い。本研究室では、Tyrosine hydroxylase (TH) 遺伝子に GFP 配列を挿入した TH-GFP iPS 細胞株を樹立し、DAn の神経細胞体において非 DAn よりもミトコンドリアの膜電位が低下しサイズが小型化していることを明らかにした (Yokota et al., 2021)。神経細胞におけるミトコンドリアの機能は細胞体と軸索で異なることも報告されている。そこで本研究では、DAn の選択的脆弱性の解明を目指し、中脳オルガノイドを用いた DAn の軸索におけるミトコンドリアの機能や形態の解析を行った。

【方法】TH-GFP iPS 細胞から中脳オルガノイドを作製し、軸索マーカーの Tau 及び樹状突起マーカーの MAP2 抗体を用いた免疫染色により細胞極性を評価した。また、TMRM を用いて軸索におけるミトコンドリアの膜電位を評価した。さらに、光顕電顕相關観察法により軸索におけるミトコンドリアの超微形態を観察した。

【結果と考察】二次元培養法 (27 日間培養) では神経突起に Tau 及び MAP2 が共局在し、軸索と樹状突起の区別が不可能であった。一方、47 日間培養した中脳オルガノイドの辺縁の領域では Tau 陽性かつ MAP2 陰性の神経突起が大部分で、軸索を区別できることが示された。また、TMRM を用いたライブイメージングの結果、DAn の軸索におけるミトコンドリアの膜電位は非 DAn のそれより低下していた。さらに光顕電顕相關観察の結果、DAn のミトコンドリアは非 DAn と比較してその長径が短い傾向が認められた。これらの結果から、DAn では細胞体のみならず軸索においてもミトコンドリアが小型での膜電位が低いことが示唆された。

4-2 Dysregulated differentiation and morphogenesis of newly generated oligodendrocytes in aged mice

○Sasikam Looprasertkul¹、Reiji Yamazaki¹、Yasuyuki Osanai¹、Megumi Yatabe¹、Nobuhiko Ohno^{1,2}

¹ Division of Histology and Cell Biology, Department of Anatomy, Jichi Medical University, ² Division of Ultrastructural Research, National Institute of Physiological Sciences

Oligodendrocytes (OLs) are responsible for producing myelin, which facilitates faster conduction velocity. Throughout life, myelin turnover occurs by the activity of OL progenitor cells (OPCs) and mature OLs. However, OLs in the aging brain exhibit a reduced capacity for formation, maintenance, and regeneration of myelin. The impaired OL functions may be attributable to the morphological changes of individual OLs and their myelin in aging, which remain elusive due to technical challenges. To elucidate the number and structural changes of newly generated OLs of aged mice (78-wk-old), *Pdgfra-CreER²²;Tau-mGFP* transgenic mice were used for selective labeling of newly generated OLs after tamoxifen injections. The immunostaining followed by tissue clearing allowed us to explore the individual OL and their myelin. The results revealed that the percentage of OLs that were newly generated and differentiated into myelinating mature OLs was significantly lower and the differentiation was slower in aged mice compared to young mice (8-wk-old). In aged mice, newly generated OLs exhibit significantly larger territory areas compared to those in young mice. Additionally, myelin internodes in aged mice were significantly shorter and their number was significantly lower than those in young mice. These findings showed impaired differentiation efficiency of aged OPCs and age-related morphological changes of OLs. These data suggest that the distinct morphological differences in newly generated OLs in aged mice may be responsible for impaired remyelination and disruption of myelin maintenance.

4-3 Notch1 シグナルレポータマウスの心臓の解剖学的解析

○吉原 雅大^{1,2}、高橋 智²

¹ 筑波大・医・地域医療教育学、² 筑波大・医・解剖学発生学

Notch シグナル経路は、DSL リガンドと Notch 受容体の相互作用により、Notch 受容体の細胞内ドメインが細胞膜から切り離されて転写を調節する系である。哺乳動物において四種類ある Notch 受容体のうち、Notch1 シグナル経路は血管系を含む様々な臓器の形成に関与している。Notch1 シグナルの異常 (血管内皮細胞での Dll4 リガンドの欠損や心筋細胞での Notch1 受容体の欠損) は心発生において左室緻密化障害を引き起こすことが報告されている。しかし、作業心筋や特殊心筋、血管内皮細胞など、多種類の細胞が織りなす心発生において、いつ、どの細胞において、Notch1 シグナルが活性化されているのかについては不明な点が多い。

我々は、Notch1 受容体の細胞内ドメインを人工転写因子 Gal4VP16 に置換したキメラ受容体を発現する遺伝子組換えマウス (Notch1-Gal4VP16 マウス) を入手している。これに加えて、Gal4VP16 依存的に遺伝子組換え酵素 Cre および近赤外光蛍光蛋白 mRFP670 を発現する遺伝子組換えマウス (UAS-Cre-T2A-miRFP670 マウス) や Cre 依存的に tandem dsRed を発現するレポーターマウス (R26GRR マウス) を用いることで、Notch1 シグナルの履歴 (tandem dsRed の発現) と現況 (Cre または miRFP670 の発現) を可視化するのに成功した。

成獣の Notch1Gal4VP16; UAS-Cre-T2A-miRFP670; R26GRR マウスでは、左心室の内皮細胞に tandem dsRed の発現 (Notch1 シグナルの履歴) が認められたが、作業心筋には tandem dsRed の発現が認められなかった。本結果は心臓の断面標本から得られており、観察断面以外に tandem dsRed 発現細胞 (Notch1 シグナルの履歴のある細胞) の存在する可能性がある。今後は生化学的解析や解析断面的追加などを通じて、心発生における Notch1 シグナルの全貌の可視化に迫りたい。

4-4 感覚代償は髄鞘形成により制御される

○長内 康幸¹、大野 伸彦^{1,2}

¹ 自治医大・医・組織学、² 生理研・超微形態

感覚代償は視覚などの感覚が失われた際に、触覚や聴覚など他の感覚が鋭敏になり失われた感覚を代償する現象である。視覚障害後の感覚代償では、本来視覚の情報処理に関与する大脳皮質視覚野や中脳の丘が触覚の情報処理を行うようになる。また、成人以前に盲目になった場合に感覚代償が起こりやすいことが知られている。しかしどの様なメカニズムで感覚代償が起こるのかは大部分が不明である。我々は幼弱期 (生後 19 日から 33 日目まで) に暗所飼育したマウスにおいて成獣期 (生後 56 日以降) 以降も感覚代償が続いており、正常に飼育したマウスと比べて視覚機能の低下と触覚機能の向上が見られることを明らかにした。この暗所飼育マウスの上丘の神経活動は視覚依存行動中に低く、触覚依存行動中に高いことが c-fos の発現量解析から明らかになった。感覚代償は若年成獣期 (生後 42 日から生後 56 日) に暗所飼育したマウスでは見られなかった。感覚代償のメカニズムを明らかにするため我々は髄鞘形成に注目した。髄鞘形成は神経活動を制御する事が示唆されている。髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイトの数を調べた所、正常飼育マウスと比べて暗所飼育マウスでは視覚野で数が少なく、体性感覚野 (パレル野) で数が多い傾向が見られた。また、オリゴデンドロサイトの分化を遺伝的に抑制したマウスでは幼少期に暗所飼育しても触覚依存的行動の中脳上丘における c-fos 発現量の増加が見られなかった。以上の結果から感覚代償を起こすためには経験依存的な髄鞘形成が必要であることが明らかになった。

4-5 白質病変領域に沈着するI型コラーゲンの解析

○山崎 礼二¹、東 森生²、長内 康幸¹、大野 伸彦¹

¹ 自治医大・医・解剖組織、² 自治医大・医・分子薬理

代表的な脱髄性疾患である多発性硬化症や脳梗塞に伴う脳虚血では白質障害が引き起こされる。障害された白質は通常、オリゴデンドロサイトによる再ミエリン化によって自然に再生されるが、再生されずに残存する白質障害領域が機能回復を妨げる。しかし、白質再生の阻害機構は明らかにされていない。本研究では、これまでに白質障害領域特異的にI型コラーゲンが沈着することを見出ししてきた。そこで、今回我々はI型コラーゲンの産生細胞の同定と白質障害領域におけるI型コラーゲンの役割について検討を行なった。まず、白質障害モデルを作製するために、強力な血管収縮剤であるエンドセリン1 (ET1) をマウスの内包白質に注入した。ET1 を注入した21日後に組織解析を行なった結果、白質障害領域ではI型コラーゲンが産生され、電顕観察からコラーゲン線維が病変領域に分泌されていることが明らかになった。次に、I型コラーゲンの産生細胞を同定するために、*in situ* hybridization 法と免疫組織染色法を組み合わせて解析したところ、血液脳関門が破綻することによって末梢から流入した単球由来マクロファージがI型コラーゲンを分泌していることが明らかになった。最後に、I型コラーゲンが白質再生の阻害因子であるかを調べるために、脱髄誘導剤であるリプレシチンにI型コラーゲンを混合して内包白質に注入したところ、再ミエリン化が阻害された。以上の結果から、白質障害領域に分泌されるI型コラーゲンが白質再生の阻害因子であることが示された。

5-1 右鎖骨下動脈起始異常の一例

○藤井 陽介、内藤 美智子、松川 陸、島田 和幸、平井 宗一
日大・医・生体構造

日本大学医学部に供されたご遺体にて、右鎖骨下動脈起始異常(79歳男性、死因：心不全)の例を認めた。右鎖骨下動脈起始異常とは、右鎖骨下動脈が左鎖骨下動脈よりも遠位から大動脈弓の第4枝として分岐する分岐異常であり、足立による分岐形式ではg型(出現頻度0.2%)に相当する。本例は、右鎖骨下動脈が左鎖骨下動脈分岐部の下方後面から分枝しており、その起始部は、前面からでは確認できず、大動脈弓を翻すと確認可能であった。分枝後は、頭側右上方に向かって走行し、第2胸椎椎体と食道の間を通り、椎体右側面で右椎骨動脈を分枝した。食道後面を通過する部位の右鎖骨下動脈の形状は、食道や気管の圧迫により扁平で圧痕が見られた。右鎖骨下動脈起始異常に伴い確認されることが多い Kommerell 嚕室や左右総頸動脈の共通幹は見られなかったが、頸部周囲の筋、静脈、神経に破格が認められた。右顔面静脈は、右内頸静脈ではなく、右外頸静脈と合流した。反回神経は通常、迷走神経が胸腔内に入ってから出る枝で、右側は鎖骨下動脈を、左側は大動脈弓を下から後方に回る。本症例の右反回神経は、右迷走神経から胸腔内で分かれる枝の存在は無く、頸部の中央で下咽頭収縮筋への枝を分枝していた。その他には甲状腺腺筋が右側にのみ観察された。

5-2 ラット筋損傷モデルにおける筋修復過程の免疫組織化学的解析

○渡邊 杏夢¹、小野 真理恵¹、坪島 功幸¹、清水 一彦^{1,2}

¹ 帝京大・医技・柔道整備

² 和洋女子大・家政・健康栄養

【背景】骨格筋は、打撲、外科的侵襲、運動などにより損傷すると、数週間で回復する。しかしその回復期間においては様々な動作が制限されるため、生活の質が低下する。筋損傷修復期間を短縮させるためには損傷後の修復過程を解明していくことが重要であり、現在までに多くの研究が報告されている。我々の研究グループは以前より舌切傷モデルを用いた創傷治癒過程を観察してきたが、その際、創傷部の舌筋周囲において、リンパ管マーカーの一つである podoplanin の発現が上昇することを見出した。しかし骨格筋の修復過程において podoplanin の発現が関与しているという報告はほとんどない。そこで本研究では、骨格筋の修復に podoplanin がどのように関与しているのかを明らかにすることを目的とした。

【方法】オスSDラットの左後肢の前脛骨筋(TA)にカルディオトキシン(CTX)を投与することで筋損傷を起こした(筋損傷群)。また、対照群として右後肢のTAに生理食塩水を投与した。CTX投与後3、5、7、14日後にTAを摘出し、筋湿重量および筋中央部の横径を計測し、筋損傷群とコントロール群とで比較した。その後TAの凍結組織切片を作成し、HE染色および免疫染色を行った。免疫染色には podoplanin の他に MyoD、リン酸化 MyoD に対する抗体を用いた。免疫染色を行った切片は共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

【結果・考察】免疫染色の結果、CTX投与3日後では筋損傷部でリン酸化 MyoD の発現はほとんど見られなかったのに対し、7日後で骨格筋周囲の筋衛星細胞と思われる細胞で発現が認められた。さらにこれらの細胞は podoplanin を発現していた。これらの結果から、podoplanin の発現が骨格筋の修復に直接または間接的に働いている可能性が考えられた。

5-3 Retrospective histopathological study of pancreatic neuroendocrine tumors in cadaver specimens

○Ting Yang¹, Haozhe Wu¹, Yuhao Zen¹, Yutaro Natsuyama¹, Taku Toriumi², Ikuo Kageyama², Shuang-Qin Yi¹

¹ 東京都立大学・人間健康科学研究科・フロンティアヘルスサイエンス学域・機能形態解析学分野、² 日本歯科大学新潟生命歯学部解剖学第1講座

BACKGROUND & AIMS: Pancreatic neuroendocrine neoplasms (panNENs) are rare tumors that originate from precursor cells in the pancreatic ductal epithelium with neuroendocrine differentiation with an annual incidence of 1.01 per 100,000 in Japan. PanNENs comprises about 1% to 2% of all clinically detected pancreatic tumors, but autopsy studies report an incidence ranging from 0.5% to 10%, suggesting the potential for asymptomatic panNENs in people.

METHODS: 75 cadaveric (median age 87.5 years, range 58-106 years) pancreatic specimens without any known pancreatic diseases or abdominal surgery were employed for this study. Pancreatic tissue samples were obtained from cadavers used for anatomical research and teaching at the Department of Life Dentistry at Nippon Dental University, Tokyo and Niigata, between 2014 and 2023. Then the head, body, and tail of the pancreas were made into paraffin sections for histological and immunohistochemical investigation and analysis. This study protocol was approved by the Institutional Review Board and was performed in accordance with institutional guidelines.

RESULTS and CONCLUSIONS: In this study, the incidence of panNENs in the pancreas was 4% (3/75), and the lesions expressed strong chromogranin A positivity. Our histological examination results showed that the overall incidence of panNENs was significantly higher than the clinical examination methods, consistent with the incidence reported in autopsy studies.

5-4 Inflammatory cell infiltration of the pancreas: a retrospective histopathological study in elderly cadaver specimens

○Haozhe Wu¹, Ting Yang¹, Taku Toriumi², Ikuo Kageyama², Yuhao Zen¹,

Yutaro Natsuyama¹, Shuang-Qin Yi¹

¹ 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

² 日本歯科大学新潟生命歯学部解剖学第1講座

BACKGROUND & AIMS: Chronic pancreatitis is usually accompanied by a variety of inflammatory cells infiltration (ICI). Generally, immune cell infiltration, as a defense mechanism, is beneficial for disease recovery. However, in some cases, the immune cells related inflammatory response will persist and amplify, which may further aggravate pancreatic damage and contribute to systemic inflammation. In our recent histopathological study of the pancreas of a series of “healthy human subjects”, we found that although there was no clear diagnosis of pancreatic pathology, there was a large amount of pancreatic ICI. The purpose of this study was to conduct a systematic and inductive study on the phenomenon of ICI of different natures in the pancreas in healthy elderly subjects.

METHODS: Seventy-five cadaveric (median age 87.5 years, range 58-106 years) pancreatic specimens without any known pancreatic diseases or abdominal surgery were employed for this study. Pancreatic tissue samples were obtained from cadavers used for anatomical research and teaching at the Department of Life Dentistry at Nippon Dental University, Tokyo and Niigata, between 2014 and 2023. The pancreas were prepared into paraffin sections for histological and immunohistochemical investigation and analysis. This study protocol was approved by the Institutional Review Board and was performed in accordance with Institutional Guidelines.

RESULTS: The incidence of ICI in the pancreas was 42.7% (32/75). These ICI were accompanied by different pancreatic lesions, including 28.0% fibrosis (21/75), 34.7% pancreatic steatosis (26/75), 2.7% pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN, 2/75), and 16.0% acinar to ductal metaplasia (ADM, 12/75), and other pancreatic lesions coexisted. In addition, there were also focal ICI without the above lesions.

5-5 骨格筋線維膜損傷後の dynamin の動態

○袴田 大輝¹、三宅 克也²

¹ 国福大学院・保医・理学療法

² 国福大・成田基礎医

我々の身体を構成する細胞および骨格筋線維膜は、機械的ストレスによって損傷と修復を繰り返しており、これら膜修復の欠陥がいくつかの疾患を引き起こすとされている。細胞膜損傷部からのカルシウムイオンの流入によって、細胞内小胞が融合しながら損傷部に融合して膜修復する。しかしながら、細胞内小胞がどこから損傷部へ集まり、どのタンパク質が介在しているかは未だ明らかになっていない。そこで我々は、膜の切断および膜小胞輸送を行うタンパク質である dynamin の骨格筋線維膜損傷修復時の動態を明らかにすることを目的とし研究を行った。Dynamin2、そのドミナントネガティブ型(K44A)、および amphiphysin2 (BIN1) の GFP ベクターを、エレクトロポレーション法によりマウスに遺伝子導入した。導入数日後、コラゲナーゼ処理を行って骨格筋線維を単離し、2光子レーザー820nmで膜損傷後Liveイメージングを行った。その結果、dynamin2およびBin1はともに損傷部への集積が観察された。特にdynamin2はBIN1よりも急速に集積する様子が観察された。損傷後のdynamin2のより詳細な動態を観察するため、Airyscanを用いて観察したところ、損傷部の内側に向かって凝集していくdynamin2が観察された。その一方で、筋線維内のdynamin2が小胞化し損傷部に集まる様子は観察されなかった。また、dynamin2のGTP加水分解不活性変異体であるK44Aにて同様に実験を行った結果、損傷部へのK44Aの凝集は観察されなかったが筋線維膜の修復は生じた。さらに分化誘導を行ったマウス筋芽細胞とdynamin阻害剤を用い、シリンドロディン膜損傷を用いてアデノシン三リン酸(ATP)を指標にした細胞膜修復アッセイを行った。その結果、阻害剤使用群では有意なATPの漏出しが認められ、dynaminが膜修復過程のどこかのステップに関係していることが示唆された。本研究の結果から、dynaminは膜修復時に不可欠な要素ではないが、膜修復への関係があると示唆された。

6-1 筋損傷モデルを用いた炎症部位の免疫組織化学的解析

○小野 真理恵¹、渡邊 杏夢¹、坪島 功幸¹、清水一彦^{1,2}

1 帝京大・医技・柔道整備

2 和洋女子大・家政・健康栄養

【背景・目的】骨格筋の損傷に関しては多数の報告がなされている。再生・修復過程でリンパ管マーカーの一つである podoplanin の発現が上昇し、治癒すると消失するという現象がマウス舌切傷モデルで報告されている。podoplanin の発現はケモカインの発現と相関関係にあり、炎症部位に免疫系細胞を遊走させる可能性も示唆されているが、舌という特殊な環境下にある骨格筋の特徴なのか骨格筋の炎症において普遍的に起こるのかはまだ明らかになっていない。そこで本研究はラット骨格筋損傷モデルを用い、局所炎症部位を免疫組織化学的に観察することで podoplanin と炎症との相関関係を調査することを目的とした。

【材料・方法】雄性 SD ラットを用い、インフルラン吸入麻酔下で左後肢前脛骨筋 (TA) に Cardiotoxin (CTX) を筋注し骨格筋損傷モデルを作成した。また対照群として右後肢 TA に生理食塩水を筋注した。CTX を筋注した 3、5、7、14 日後に左右 TA をサンプリング、凍結切片を作成し H-E 染色及び多重蛍光免疫染色を行った。免疫染色には podoplanin、ケモカインの一種である CCL2、マクロファージなどのマーカーとして知られる CD68 に対する抗体等を用いた。染色後、共焦点レーザー顕微鏡を用い、これらのマーカーの経時的变化を観察した。

【結果・考察】共焦点レーザー顕微鏡観察の結果、炎症部位における podoplanin の発現を観察することができ、舌切傷モデルと同様の現象が起こる可能性が考えられた。他のマーカーとの相関関係などに関しては現在解析中であり、その経過を報告する。

6-2 免疫組織化学法に用いる抗 ESR1 抗体の検討と ESR1・ESR2 の共染色

○相馬 ミカ、森下 雅大、肥後 心平、石井寛高

日本医大・院・解剖

【目的】女性ホルモンであるエストロゲンは生殖をはじめ、多くの生理現象に関与する。エストロゲン受容体には ESR1、ESR2 の 2 つのアイソフォームがあり、それら受容体の発現局在解析には特異的な抗体が必須である。齧歯類 ESR1 の免疫組織化学法 (IHC) で使用実績のある抗 ESR1 抗体 MC-20 が終売となり、新たな特異的抗体の選択と染色条件の最適化が必要となっている。そこで本研究では 5 種類の市販の抗 ESR1 抗体 (06-935、E115、F-10、H4624、SP1) を対象に、ESR1 の局在を特異的に検出できる抗体を選択し、最適な染色条件の検討を行った。また、選択した抗 ESR1 抗体と抗 ESR2 抗体 PPZ0506 を用いて ESR1 と ESR2 の共染色を行った。

【方法】5 種類の抗 ESR1 抗体を対象にラット・マウス ESR1 への特異的反応性を検討するため、ヒト・ラット・マウスの ESR1 を発現させた培養細胞を用いてウェスタンブロット (WB) と免疫細胞化学法 (ICC) を行った。さらに、WB・ICC で特異性が確認された抗体について、ラット・マウスの子宮・卵巣切片を用いて IHC を行い、染色条件の最適化を行った。選択した抗 ESR1 抗体と抗 ESR2 抗体 PPZ0506 を用いて、ラット・マウスの卵巣切片で ESR1 と ESR2 の蛍光二重染色を行った。

【結果・考察】WB・ICC の結果、06-935、E115、H4624 でラット・マウス ESR1 への特異的反応性を確認した。これら 3 種の抗体について、IHC 条件を最適化することで子宮・卵巣切片で MC-20 と同様の染色像を取得することができ、MC-20 に代わる抗体での ESR1 検出手法を確立した。また、06-935 と E115 について、PPZ0506 とともに用いることで、ESR1 と ESR2 の蛍光二重染色の手法を確立した。

6-3 スキルス性胃癌における糖代謝制御と抗腫瘍免疫への影響

○丸山 貴司¹、大和田 祐二²、柴田 浩行³

1 千葉大・薬・免疫微生物

2 東北大・医・器官解剖

3 秋田大・医・臨床腫瘍

スキルス性胃癌は、初期症状が乏しく、糖代謝能が低いことから、PET を用いた初期診断も難しく、生命予後が悪い事が知られている。グルタミンアナログ GO-Y022 は、カレー加熱調理中に派生する食品由来成分であり、胃癌の発生を抑える作用が明らかとなってきた。そこで、スキルス性胃癌においても、食品由来成分を用いた抗腫瘍活性を検証する事とした。

【目的】スキルス性胃癌の生命予後を改善すべく、GO-Y022 を用いた抗腫瘍活性について、糖代謝を軸とした腫瘍細胞および免疫細胞への影響を解明する。

【方法】① GO-Y022 投与に対するヒトスキルス性胃癌株 (SH-10-TC, GC1Y) の糖代謝能の変化について、Flux Analyzer を用いた解析を行った (in vitro 実験)。

② GO-Y022 投与に対する胃癌発生マウスへの影響について、免疫組織化学染色による単位面積当たりの Treg および CD8 の変動について、解析を行った (in vivo 実験)。

③ ヒトスキルス性胃癌株とヒト末梢血単核球 (PBMC) 由来の T 細胞を共培養し、GO-Y022 投与による影響を観察した (in vitro 実験)。また、グルコースアナログ 2DG (糖代謝阻害剤：抗腫瘍効果が報告される) の同時投与も行った。

【結果と考察】① GO-Y022 投与は、ヒトスキルス性胃癌株の糖代謝能を一過的に亢進させた。② GO-Y022 投与は、胃癌発生マウスの腫瘍サイズを小さくさせるものの、Treg および CD8 の割合について、違いは認められなかった。③ GO-Y022 投与は、ヒトスキルス性胃癌株とヒト PBMC の共培養の実験系において、Treg の分化誘導を促進した。なお、当該培養系において、GO-Y022 と共に 2DG を加えると、Treg の割合は顕著に減少した。

GO-Y022 は、ヒトスキルス性胃癌の糖代謝を一過的に上昇させる事が明らかとなった。そのため、糖代謝能が亢進したヒトスキルス性胃癌株に対し、(糖分を与える) 周辺環境が追い付かず、ヒトスキルス性胃癌の死滅が促進したと推察される。また、2DG と併用する事で、抗腫瘍効果も抗腫瘍免疫が増強する事も示唆された。

以上より、GO-Y022 は、スキルス性胃癌に対し、抗腫瘍活性を有する食品由来成分であると云える。

6-4 接触性皮膚炎モデルマウスにおける podoplanin の発現と NFκB リン酸化への関与

○清水 一彦^{1,2}、菊田 幸子³、北原 秀治⁴

1 和洋女子大・家政・健康栄養、2 帝京大・医技・柔整

3 女子医大・医・顕微解剖、4 女子医大・先端研・先端工学

【背景】Podoplanin (PDPN) はリンパ管内皮細胞マーカーとして汎用されているが、I 型肺胞上皮細胞やリンパ組織の細網細胞など多くの組織でも発現が認められている。我々の研究グループは、創傷治癒の場において PDPN の発現が増加することを報告してきた。また、腫瘍などの場においても PDPN の発現の上昇が報告されている。PDPN の機能については、胎生期でのリンパ管の発生、CLEC-2 との相互作用などが知られているが、その機能や意義については不明な点も多い。特に炎症の場では上昇する PDPN の機能だけでなく発現細胞の正体すら不明な点が多い。そこで本研究では DNFB 誘導接触性皮膚炎モデルにおける PDPN の発現とその機能解析を試みた。

【材料と方法】BALB/c マウスの左耳背面部に 0.3% DNFB を塗布した。同マウスの右耳には DNFB を溶解した溶媒のみを塗布してコントロールとした。DNFB 塗布後、PDPN のモノクローナル抗体である PMab-1 を尾静脈より注入することで、PDPN の機能阻害を試みた。塗布 1 日後に凍結切片を作製し、PDPN を含む種々のマーカーを用いた多重免疫染色を行った。さらに、一部の実験群から totalRNA を抽出し、real-timePCR を行った。

【結果と考察】DNFB 塗布後 1 日目に左耳は厚みを増していた。免疫染色の結果、PDPN 陽性細胞が多数出現しており、これらの細胞が線維芽細胞の一種であることが示唆された。また、PMab-1 の投与は線維芽細胞の数には影響を与えなかったが、PDPN の発現は減少していた。さらに、一部の PDPN 陽性細胞はリン酸化 NFκB を発現しており、PMab-1 を投与するとリン酸化 NFκB の発現が見られなくなり、PDPN が NFκB のリン酸化に関与している可能性が考えられた。

6-5 胎生期から成体期に至るまで継続する POMC ニューロン新生とその制御メカニズム

○大山 恭司¹、小川 文暉¹、新井 優樹¹、小川 莉菜¹、大村 捷一郎¹、林田 美緒¹、

高橋 宗春¹、前田 秀将²

1 東京医大・組織・神経解剖学分野

2 大阪大・法医学

Hypothalamus is a centre for endocrine and autonomic function and plays a key role in maintaining homeostasis. Pro-opiomelanocortin (POMC) neurons plays a key role in feeding behavior and energy expenditure, thereby maintaining homeostasis.

Growing evidence showed that neurogenesis takes place in hypothalamus from embryonic to postnatal period. However, it remains elusive as to how POMC neurogenesis is regulated through lifetime. To address this question, we first performed scRNAseq analysis of chick embryonic hypothalamus to elucidate the mechanism by which POMC neurogenesis is regulated in embryo. In combination with immunohistochemistry, hybridization chain reaction, and ex vivo explant culture, our data show that Shh and Notch signalling converges to regulate POMC neurogenesis through the regulation of Sox9, and that Notch inhibition leads to the increase of Prox1+ progenitors, promoting POMC neurogenesis.

We further show that, in mice, Prox1 is expressed in POMC neurons from embryo to adult, and that Prox1 is expressed in newly generated POMC neurons. Consistent with that a hypoxia inducible factor regulates Prox1 expression, intrauterine intermittent hypoxia (IH) increased the number of newly generated POMC neurons in vivo. Collectively, our data suggest that Prox1 is a key mediator for POMC neurogenesis through lifetime. We are currently investigating whether hypoxia could also affect POMC neurogenesis in adult mouse hypothalamus.

7-1 クラミドモナス鞭毛中心対微小管における鞭毛関連蛋白質 FAP47 の機能・構造解析

○谷 侑磨¹、柳澤 春明¹、八木 俊樹^{1,2}、吉川 雅英¹

1 東大・医・生体構造

2 県立広島大・生物資源科学・分子機械

真核生物における運動性鞭毛・繊毛は、9+2 構造と呼ばれる、種をまたいで保存された構造を有しており、ヒトの身体においても気道上皮、脳室上位細胞、卵管上皮、精子などに存在し、様々な運動形式で液体の流れや推進力を生み出している。運動性鞭毛の構成蛋白質が先天的に欠損すると、これらの運動性繊毛の運動性の低下により呼吸器疾患、水頭症、不妊などを引き起こすことが知られている。中心対微小管は、周辺微小管から中心に向かって伸びるラジアルスポークを介して周辺微小管を物理的に制御し、周辺微小管上のダイニン腕の活性を制御していると考えられている。近年、繊毛を構成する蛋白質や繊毛の微細構造については解明が進んでいるが、個々の構成蛋白質の機能や構造への寄与はまだ解明されていない部分も多い。

我々は 2 本の鞭毛で遊泳する緑藻類単細胞生物のクラミドモナスを用いて、中心対微小管構成蛋白質である FAP47 の機能、構造への寄与を検証した。FAP47 欠損株の遊泳速度および鞭毛打頻度は野生型と同程度であったが、CPC1 や HYDIN といった他の中心対微小管構成蛋白質との二重欠損株においては、それぞれの単独欠損株と比較して遊泳速度、鞭毛打頻度ともに大いに低下した。他にも FAP47 欠損株では走光性が欠損しており、2 本の鞭毛の活性のバランスが野生株と異なる可能性が考えられた。脱膜遊泳モデルを用いて遊泳の直進性を検証したところ、野生株と比較して FAP47 欠損株では直進性が上昇していた。運動性の変化の原因となる鞭毛軸糸構造の変化を検証するため、クライオ電子線トモグラフィーにて中心対微小管の構造の差異を検討したところ、FAP47 欠損株では 2 本の微小管の間に存在する C1-C2 ブリッジの一部が欠損していた。この構造変化により、ラジアルスポークを経由して周辺微小管に付属するダイニン腕の活性を制御するという中心対微小管の機能が修飾され、上述のような鞭毛運動性の変化につながったと考えられる。

7-2 左腎静脈と性腺動脈が複雑に交差する変異の一例

○一戸 櫻子¹、我妻 亜衣音¹、市石 晃誠¹、岩村 浩寿郎¹、上野 豪治¹、山本 将仁²、永堀 健太²、清島 大資²、上田 容子²、岡崎 隆³、林 省吾²

1 東海大・医・医、2 東海大・医・生体構造学、3 東海大・医・画像診断学

腎静脈は腎臓から出た後に、下大静脈に合流する。左右は異なる走行経路を示し、左側は腹部大動脈と上腸間膜動脈の間を通り下大静脈に注ぎ、右側は十二指腸の背側を通過し下大静脈に注ぐ。一方、性腺動脈は両側ともに腹部大動脈から分岐し、腹部を下行する。これまで、腎静脈と性腺動脈の走行経路が近接し、両者が交差するとの報告は散見されるが、双方が交差する中での変異を論じた報告は少ない。2024年度の東海大学解剖学実習にて、81歳男性の左性腺動脈が、①左腎静脈と②左腎静脈から分岐し背面に向かう無名の枝との間を走行する変異を認めたので報告する。

左腎静脈は腎臓から流出後、①下大静脈に合流する本幹と、②腰椎と腸腰筋の間を通過し背面に向かう無名の枝に分かれた。一方左性腺動脈は、腹部大動脈から分岐した後頭側に向けて上行し、①と②の静脈間を通過した。つづいて走行方向を変えて①の前面を下行し、左性腺静脈と併走しながら腹部を通過した。腎臓がんの小さい腫瘍に対する腎部分切除術の際、腎静脈を一時的に鉗子で挟み腎臓への血液の流れを遮断するが、本例のような変異は性腺動脈を誤って損傷しないように十分注意しなければならない。

7-3 死後CT画像のデノイズ効果についての検討

○川島 友和、酒井 真、須藤 則広、佐藤 二美
東邦大・医・解剖・生体構造

【背景】卒前教育での画像読影の必要性が年々高まっている。解剖学教育においても正常画像解剖として医療画像素材の早期導入が一般的となった。本学では、8年前より学生解剖学実習に供されるご遺体を事前に単純CT撮影を行い、実習中に画像を閲覧しながら進行する画像解剖併用型の解剖学実習を実施してきた。その際の大きな課題の1つが、ホルマリン固定後の死後CT画像（PMCT）の画質を生体画像へ近づけることであった。

【方法】本学の解剖実習体CT・MRI画像データベースの中から、同一の撮影機器・撮影条件である13データセットを無作為に選択した。複雑な操作・手法を伴わない3手法（Fused CT法、iNoir法、SafeCT法）を使用して、ホルマリン固定後のPMCT画像の二次的鮮明化ならびにノイズ除去効果を比較検討した。

【結果】Fused CT法はいくつかの利点がある一方で、データ加算によってPMCTデータ特有のノイズも増大することから効果的ではなかった。一方で、iNoir法やSafeCT法では、金属アーティファクトを除いた他のアーティファクトやノイズ除去に関して著しい視覚的改善を認めた。さらには、ノイズ関心領域における統計学的改善も認め、これまで報告されている生体での同法のデノイズ効果と比較しても、ホルマリン固定PMCTでは効果が大きいことが示された。

【結論】IR法やAI機能などを搭載した最新のCT撮影機器を使用することが難しい解剖学教育・研究のためのPMCTでは、二次的なデノイズソフトウェアによる画質向上が有用である。

7-4 足立文太郎博士の業績

○島田 和幸^{1,2}、内藤 美智子¹、松川 睦¹

1 日大・医・生体構造

2 鹿大・名誉教授

足立文太郎博士の業績については、現在、国内外を問わず多くの研究者により報告がされている。これまでの報告の主たる内容は、軟部組織に関する人種差、いわゆる足立が提唱した『軟部人類学』の考えから研究調査された『日本人の動脈』、『日本人の静脈』や『日本人のリンパ系』といった出版書籍についての報告である。

以前、これらの先人の報告をふまえ、島田自身が京都大学に保存所蔵されている足立の資料を調査し、足立の代表的業績である『日本人の動脈』と言う出版書籍が世界中の研究者および解剖学教科書の中で、現在でも引用され続けていることや足立の人物像について報告している(2022)。

今回は、その調査の一環として足立の師である小金井良精の日記と照合しながら、昭和4年に足立が『日本人の動脈』系の研究に対して学士院奨賞を受賞したことや、小金井の推薦により学士院会員に推挙されたこと、日独協会からのゲーテ賞受賞、アルゼンチン解剖学会からの名誉会員選出など、脈管系の研究に対して足立が受けた多くの名誉称号に関する資料を中心に報告する。