

## 日本解剖学会

## 第80回九州支部学術集会

会 期：令和6年11月16日（土）  
会 場：宮崎市民プラザ

## 特別講演

西果てで取り組む Cadaver Surgical Training

○高村 敬子

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科肉眼解剖学分野

2023年10月に長崎大学大学院医歯薬学総合研究科肉眼解剖学分野教授を、2024年4月より医学部カダバサージカルトレーニング（CST）センター長を拝命した。

献体遺体を用いた手術手技研修すなわち CST は、卒業後の医師・歯科医師を対象とした生涯臨床教育として、医療安全や技術革新の向上に寄与すると考えられている。2012年に厚生労働省の主導のもとで日本外科学会と日本解剖学会とが共同で公表した「臨床医学の教育及び研究における死体解剖のガイドライン」により、臨床解剖の実施条件が定められた。これにより「死体解剖保存法」、「献体法」、さらにガイドラインに適切に基づいて行う正当な業務であれば、違法性を問われることなく CST を実施できることとなった。

当教室はガイドライン公開を受け、2013年から献体団体の皆様に対して CST の意義について説明を重ねるとともに、CST 同意書の追加取得を開始した。2016年に学内に CST 専門委員会が設置され、2017年に医歯薬学総合研究科（医学系）倫理委員会で許可を得、翌2018年2月に第一回 CST を開催した。2019年に医学部の組織として CST センターが設置され、センター長は肉眼解剖学分野教授が務め、さらに専任助教1名のポストが新設された。2024年9月現在、長崎大学での CST は開始から7年目となり、これまでに実施したプログラム数は95、参加者数は延べ1060名となった。CST 導入から運営継続までの経験を中心として、我々が行っている CST の実態を報告する。

## ミニレクチャー

肉眼解剖学実習において剖出と詳しい観察を容易にする具体的な工夫の紹介

○福田 孝一

熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）形態構築学講座

コロナ禍以降、肉眼解剖学のデジタル教材の利用が促進され、伝統の実習に置き換える意見も散見される。しかしデジタル教材の明解な画像に対して、実際の人体内部はむしろ明解ではないことこそ、将来患者さんの体内の複雑さに対峙する学生が得るべき知である。デジタル教材は、知識を問うテストで良い点を取るには最高のコストパフォーマンスであろう。しかし人体内部は、臓器・血管・筋・神経その他が、隙間を埋め尽くす結合組織によりギッシリと詰め込まれている。たとえば頸部の鎖骨下動静脈の多数の枝、神経叢・迷走神経・交感神経とその枝、斜角筋等が狭い空間で錯綜する様子を剖出により実感し、重症患者の内頸静脈を穿刺する際にはその意外な「浅さ」と、針の向きを誤てばそこに肺尖があることを、胸膜腔内を上方に差し入れた指で確認できる。伝統的実習はたとえ時間と労力を要しても、学生の中に染み渡るような知識、つまり暗黙知としての理解を与え、日々の診療を支えるのである。さらに実習室のすべての遺体は、変異というよりもむしろ正常なあり方として細部が異なっていること、患者さんも当然そうであることを学生は悟る。現在、医・歯学生に不可欠な解剖実習が種々の止むを得ない状況から困難になりつつある。発表者が30年間に先達からの教えと自らの若干の工夫により得た、剖出を容易にしつつ正しい観察に至る具体的な方法を紹介する。ご参考になれば幸いである。COI 無

## S1-1

歯冠の発生メカニズムに基づく歯種間の形態の共通点と相違点

○山中 淳之<sup>1</sup>、Yasin Haider<sup>1</sup>、森田 航<sup>2</sup>、後藤 哲哉<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿児島大学医歯学総合研究科 歯科機能形態学、<sup>2</sup>国立科学博物館 人類研究部

哺乳類の歯列は、切歯、犬歯、小臼歯、大臼歯の4つの歯種に分化しており、異形歯性歯列（heterodonty）と呼ばれる。哺乳類はこれらの歯種を使い分けて、食物を口腔内で咀嚼することで効率的に消化し、基礎代謝が高い内温性の体の生理を可能にしている。歯種の分化は、哺乳類の体の特徴づける重要な形態形質であるにも関わらず、歯種のかたちの違いとは何なのか、よく分かっていない。そこで、本研究では歯の発生過程における歯冠の咬頭の形成に着目して、歯種間の共通点と相違点（serial homology）を発生学的に検討した。

材料には有胎盤類トガリネズミ科の実験動物スunks（*Suncus murinus*）の胚仔を使用して、上顎の大歯 C、第4小臼歯 P<sup>4</sup>、第1大臼歯 M<sup>1</sup>の形態形成を追跡した。歯胚中にエナメル結節（EK）というシグナリングセンターが出現し、その場所に咬頭が形成されることが分かっているため、unksの各歯種の歯胚において EK の出現位置と順序を追跡し、歯種間の咬頭の相同性を同定した。EK の検出には *Shh*, *Fgf4* などのマーカー遺伝子の発現を用いた。その結果、小臼歯は大歯の主咬頭の近心に小咬頭が付加されることにより形成され、また、大臼歯は小臼歯の形態形成を遠心側に複製することにより形成されることが明らかになった。

## S1-2

間葉系細胞から味蕾細胞への分化メカニズムについて

○高久並紀<sup>1,2</sup>、松山佳永<sup>1</sup>、片岡真司<sup>1</sup>、豊野 孝<sup>3</sup>、川元龍夫<sup>2</sup>、瀬田祐司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州歯科大学解剖学分野、<sup>2</sup>九州歯科大学顎口腔機能矯正学分野、<sup>3</sup>九州歯科大学ラ－ニングデザイン教育推進学分野

味蕾細胞は、これまで周囲の舌上皮より分化すると考えられてきた。しかし近年、間葉に由来する細胞が味蕾内に存在することが報告されているが、詳細は明らかでない。本研究では、遺伝子改変マウスおよび organoid 培養法を用いて味蕾における間葉系細胞の系譜の追跡を行った。

実験動物は、間葉系細胞が蛍光標識される *Twist2-Cre: CAG-tdTomato* マウス（以下、*Twist2-tdT* マウス）を使用した。成体 *Twist2-tdT* マウスの有郭乳頭から凍結切片を作製した。免疫染色を行い、陽性細胞の計数を行った結果、tdTomato を発現する味蕾細胞のうち 42.9% が Car4 (III 型味蕾細胞マーカー) 陽性であり、7.0% が *gustducin* 陽性 (II 型味蕾細胞マーカー) であった。次に、成体 *Twist2-tdT* マウスの有郭乳頭から味蕾 organoid を作製した。免疫染色を行った結果、tdTomato 発現細胞を含む organoid のうち 88.3% が Car4 陽性細胞を含み、59.5% が *gustducin* 陽性細胞を含んでいた。さらに成体 *Twist2-tdT* マウスに EdU を腹腔内投与し、有郭乳頭味蕾での標識の残存日数を調べた。投与後 12 時間では有郭乳頭上皮の基底層に EdU 陽性細胞を多く認めた。投与後 2 日では EdU 陽性 tdTomato 発現細胞を味蕾内の基底部に、投与後 4 日では味蕾の中央部に認めた。投与後 6 日、10 日では味蕾内に少数の EdU 陽性 tdTomato 発現細胞を認めた。以上より、間葉に由来する細胞が主に III 型味蕾細胞に分化し、これらの細胞は比較的短い寿命をもつ可能性が示唆された。

## S1-3

CLEM法によるマウス大腿骨骨芽細胞における Piezo タンパクの局在の解明

○福田 孝一<sup>1</sup>、高 瑋琦<sup>2</sup>、澤田 孟志<sup>2</sup>、曹 愛琳<sup>2</sup>、吉本 怜子<sup>2</sup>、城戸 瑞穂<sup>2</sup>

<sup>1</sup>熊本大学大学院生命科学研究部形態構築学講座、<sup>2</sup>佐賀大学医学部生体構造機能学講座・組織神経解剖

Piezo は物理的な力を電流に変換する膜タンパクで、Piezo1 (PZ1) と Piezo2 (PZ2) のサブタイプが存在する。骨のリモデリングにおいて、力線の方向に骨小柱が形成されることはよく知られているが、その機序は不明な点が多い。マウスの大腿骨頭と骨幹部において、PZ1 と PZ2 それぞれに特異的な抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) と電子顕微鏡により観察した。PZ2 では CLSM における蛍光シグナルを DAB 発色に変換し、同一構造の電顕観察も行った。PZ1 と PZ2 のいずれの染色性も骨表面の成熟した骨芽細胞に顕著であったが、前骨芽細胞、骨細胞では弱かった。PZ2 は CLSM では核に隣接する円形領域、および細胞膜に沿った微細顆粒状の染色が認められ、特に骨頭海綿質・一次海綿質の類骨側細胞膜に沿った染色が顕著であった。そのすぐ下に F-actin がバンド状に存在していた。電子顕微鏡により PZ2 はゴルジ領域に局在し、さらに類骨側の細胞膜、およびそこから伸びて細胞表面に沿って横に走る微絨毛様突起の細胞膜にも局在していた。付近には並走するコラーゲン線維が、膜直下にはアクチンフィラメントが存在した。一方 PZ1 の細胞内局在は、電子顕微鏡では粗面小胞体領域に一致していた。PZ1、PZ2 は骨芽細胞の細胞膜表面および細胞内でそれぞれ異なる機能を果たす可能性が示唆された。COI 無し

## S2-1 恐怖記憶の汎化における海馬ペリニューロナルネットの減少とミクログリアの関与

○中村 朱里<sup>1,2</sup>, 山田 純<sup>2</sup>, 飯沼 今日子<sup>2</sup>, 神野 尚三<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九州大学 医学部生命科学科 4年, <sup>2</sup>九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

恐怖を伴う強いストレスに晒された場合、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る。この症状は恐怖記憶の汎化とされており、心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の病態基盤の一つであるが、そのメカニズムについてはほとんどわかっていない。本研究では、精神疾患への関与が指摘されている海馬のペリニューロナルネット (PNN) に焦点を当て、恐怖記憶の汎化における PNN の役割を検討した。実験には C57BL/6J 系統オスマウスを使用し、条件づけチャンパーの中で、非常に強い電気ショック (1 mA, 1 sec, 10 回) を与え、恐怖条件づけを行った。5 日後に、床材と壁の形が異なるチャンパーにマウスを入れ、恐怖記憶の汎化としてのすくみ反応が生じることを確認し、PTSD モデルマウスとした。PNN を標識する WFA レクチンを用いた組織化学的解析では、PTSD モデルマウスの海馬で PNN の蛍光強度が減少することを見出した。また、PTSD モデルマウスでは、PNN の分解に関わるプロテアーゼ関連遺伝子の発現上昇や、ミクログリアと PNN のコンタクトの増加が認められた。そこで、クロドロン酸内包リポソームを海馬に局所投与し、ミクログリアの薬理学的な除去を行ったところ、恐怖記憶の汎化が軽減すること、PNN の分解に関わるプロテアーゼ関連遺伝子の発現レベルが低下すること、などが明らかになった。本研究の結果は、ミクログリアによる海馬の PNN の機能不全が、PTSD の病態基盤としての恐怖記憶の汎化に関わる可能性を示唆するものである。

## S2-2 統合失調症の新規病態基盤としての海馬細胞外マトリックスの異常

○山田 純, 東條 美織, 前田 祥一郎, 飯沼 今日子, 神野 尚三

九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

統合失調症は、幻覚や妄想、思考障害などを特徴とする精神疾患である。近年の研究では、海馬のバルブアルブミン陽性 GABA ニューロン (PV ニューロン) と、その周囲を取り囲む細胞外マトリックスの減少が統合失調症の病態基盤である可能性が報告されているが、不明な点が多い。そこで本研究では、海馬の PV ニューロン以外の GABA ニューロンや、細胞外マトリックスが統合失調症の病態に関わる可能性を検討した。C57BL/6J 系統オスマウスに NMDA 受容体阻害剤 (MK-801) を投与することで、プレパルス抑制試験の障害と、オープンフィールド試験における自発運動量の増加を特徴とする、統合失調症様の行動を示すモデルマウスの作出に成功した。MK-801 投与マウスの海馬では、細胞外マトリックスの分解に関わるプロテアーゼ群の発現上昇と、一酸化窒素合成酵素 (NOS) 陽性ニューロン (NOS ニューロン) 周囲のペリニューロナルネット様細胞外マトリックス (パーシカン) の発現低下、NOS 関連分子の発現上昇が認められた。そこで、RNA 干渉を用いたパーシカンのノックダウン実験を行ったところ、プレパルス抑制試験の障害が認められた。また、MK-801 投与マウスに、NOS 阻害剤である L-NAME を投与すると、統合失調症様の行動が抑制された。本研究の結果から、海馬の NOS ニューロンとパーシカンの異常が統合失調症の新規病態基盤である可能性が示唆される。

## S2-3 超微細気泡と低周波数超音波による血液脳関門オープンング

○貴田浩志<sup>1</sup>, 古賀隆之<sup>1,2</sup>, 山崎裕太郎<sup>1</sup>, Loreto B. FERIL<sup>1</sup>, 遠藤日富美<sup>1</sup>, 立花克郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福岡大学医学部解剖学講座, <sup>2</sup>福岡大学医学部脳神経外科学講座

【背景】脳内への遺伝子・薬物送達には、血管内皮細胞の密着結合である血液脳関門 (Blood Brain Barrier) によって制限されている。近年、超音波照射によってバブル製剤の非慣性キャビテーション (バブルの周期的かつ持続的な収縮・膨張) を生じさせ、血管内皮細胞の一時的開裂とエンドサイトーシスを促進を介して、脳内に薬物を送達させる BBB オープニングの技術が開発されている。我々はこれまでの研究で、直径 1  $\mu$ m 未満の超微細気泡 (Ultra Fine Bubble, UFB) が 100kHz 以下の低周波数超音波に応答する現象を明らかにしている。UFB と低周波数超音波との組み合わせによる、BBB オープニングの確立を目指して、本研究を実施した。

【方法】8 週齢オスの BALB/c マウスを用いた。100  $\mu$ L のヒト血清アルブミン殻 UFB と 3mg/100  $\mu$ L の FITC-Dextran を尾静脈投与し、3 分後にブレグマから頭蓋内に向けて、周波数 57.5 kHz、強度 392.5 mW/cm<sup>2</sup>、1 秒間×10 回 (照射間隔 2 秒) の連続波の超音波照射を行った。4 時間後飼育した後に屠殺し、冠状断の脳スライスを作成し、IVIS にて蛍光強度を測定した。

【結果】脳スライスの広範な部位で FITC-Dextran の蛍光が検出された。UFB 投与と超音波照射を組み合わせた個体の蛍光は 9.4×10<sup>3</sup>/Photon/sec で、UFB 投与せず超音波照射を行った個体の 4.32×10<sup>3</sup> Photon/sec の 2.18 倍に増強された。

【考察】UFB と低周波数超音波の組み合わせによる、BBB オープニングが達成された。既知の超音波による気泡の共鳴現象に基づく、100 kHz 以下の低周波数超音波は直径 1  $\mu$ m 未満の UFB の非慣性キャビテーションを生じさせることは困難である。異なる原理による、脳組織内への薬物送達の促進が生じている可能性がある。この技術を発展させ、新たな脳内への薬物・遺伝子送達法の確立につながることを期待される。

## S3-1 脛骨神経損傷マウスを用いた硫化水素ガス吸入による疼痛改善効果とそのメカニズム

○花城 範行<sup>1,3</sup>, 垣花 学<sup>2</sup>, 高山 千利<sup>1</sup>

<sup>1</sup>琉球大学大学院医学研究科分子解剖学講座, <sup>2</sup>琉球大学大学院医学研究科麻酔科学講座, <sup>3</sup>宜野湾記念病院

神経障害性疼痛は、神経の損傷に伴って引き起こされる持続性の痛みである。近年、原因の 1 つとして、γ-アミノ酪酸 (GABA) の機能異常が注目されている。

これまでの我々の研究から、神経損傷後の疼痛は、ミクログリアの活性化に引き続いて起こる KCC2 の発現減少により、GABA の抑制性が減弱することが原因の 1 つと考えている。本研究では、疼痛抑制効果が期待される温泉成分の 1 つであり、第 3 の生理活性ガスと考えられている硫化水素に着目した。神経障害性疼痛モデルマウスに硫化水素ガスを吸入させ、疼痛改善効果およびそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

C57BL/6J 雄マウスを用いて、小坂らの方法でモデルマウスを作製した。疼痛行動評価は von Frey 法を用いた。硫化水素濃度を 40ppm に固定し、術直後から 1 日 4 時間、連続 5 日間吸入させた。

コントロール群では、術後 7 日目から疼痛閾値が低下し、21 日目で最も低値を示し、術後 90 日まで継続した。硫化水素吸入群では、術後 14 日目からコントロール群と比較して有意に疼痛閾値が改善していた。加えて、吸入群ではミクログリアが減少しており、ミクログリア活性化の抑制が効果の 1 つと考えた。すなわち、硫化水素吸入により、神経損傷に伴うミクログリアの活性化を抑制し、GABA の抑制性伝達物質としての機能を回復し、神経障害性疼痛を制御できるのではないかと考えた。

## S3-2 抗がん剤投与による情動行動の変容と海馬オリゴデンドロサイトの機能不全

○越智 亮介, 飯沼 今日子, 山田 純, 神野 尚三

九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

近年、がんや抗がん剤の投与によって生じる認知機能障害が注目されている。ケモブレインと呼ばれる、化学療法中に起こる認知機能障害には、脳梁や大脳皮質のグリア細胞の機能不全が関与している可能性が示唆されている一方で、その病態の詳細は不明である。本研究では、認知と情動の中枢の一つである海馬のオリゴデンドロサイトに着目し、抗がん剤投与による行動変容との関連を解析した。実験では、代表的な化学療法剤であるメトトレキサート (100 mg/kg、週 3 回、計 9 回) を C57BL/6J 系統オスマウスに投与し、ケモブレインモデルマウスを作出した。ケモブレインモデルマウスでは、オープンフィールド試験における中心領域滞在時間の短縮と、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム滞在時間の延長が認められ、不安関連行動が増加していた。免疫組織化学的解析では、海馬のオリゴデンドロサイト前駆細胞と成熟オリゴデンドロサイトの分布密度が減少していた。また、海馬におけるミエリン関連分子の遺伝子発現レベルが低下していた。次に、オリゴデンドロサイトの分化を促進することが報告されているクレマスチンフマル酸 (10 mg/kg、週 5 日、計 16 回) をケモブレインモデルマウスに投与したところ、不安関連行動が減少し、海馬のオリゴデンドロサイトとミエリン関連分子の遺伝子発現レベルが上昇した。これらの結果は、ケモブレインには海馬のオリゴデンドロサイトの機能不全が関与しており、オリゴデンドロサイトの刺激によって改善する可能性があることを示唆している。

## S3-3 アトピー性皮膚炎にともなう不安・抑うつ症状に対するゲニステインの緩和効果

○牟田口 莉子, 岡村 歩美, 山田 純, 神野 尚三

九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

アトピー性皮膚炎は、強いかゆみを伴う湿疹の慢性的な寛解と増悪が特徴であり、その発症には、皮膚のバリア機能の低下や精神的なストレスなどが関わっている。複数の臨床研究によって、アトピー性皮膚炎の成人患者は、不安や抑うつなどのストレス症状を抱えていることが多いこと、女性の割合が多いことが報告されている。本研究で我々は、エストロゲンにはストレス緩和作用があることが示唆されているが、そのメカニズムの詳細が分かっていないことに着目した。実験では、C57BL/6J 系統オスマウスにオキシゾロンを塗布し、接触性皮膚炎モデルマウスを作出し、植物由来エストロゲン類似体であるエストロゲンのストレス緩和作用の検討に取り組んだ。最初に、軽度の拘束ストレス (1 回 6 時間、週 2-3 回、計 9 回) を負荷したマウスでは、うつ様行動や不安様行動などが認められないことを確認した。次に、同様のストレスを皮膚炎モデルマウスに負荷したところ、うつ様行動と不安様行動の増加が認められたことから、皮膚炎によるストレス脆弱性モデルとした。ストレスを負荷した皮膚炎モデルマウスに、ゲニステインを一日一回腹腔投与したところ、これらのストレス関連行動が減少した。海馬の細胞外マトリックス分解酵素関連遺伝子の発現レベルは、皮膚炎モデルマウスで上昇していたが、ゲニステインの投与によって低下した。本研究の結果は、アトピー性皮膚炎に伴うストレス脆弱性が、ゲニステインによって軽減される可能性を示したものである。

## S4-1 肝細胞癌での NSD2 発現とジメチル化ヒストン H3 リジン 36 の相関

○柴田 恭明<sup>1</sup>、Myo Win Htun<sup>2</sup>、赤澤 祐子<sup>1</sup>、小路 武彦<sup>3</sup>

<sup>1</sup>長崎大・医歯薬・組織細胞生物、<sup>2</sup>Dept. Med. Res. Min. Hlth, Myanmar、<sup>3</sup>長崎大・研究開発推進機構

腫瘍の発症や増悪へのエピゲノムの関与が示唆されている。Nuclear receptor binding SET domain protein 2 (NSD2) は種々の腫瘍での異常発現が報告されている DNA メチル基転移酵素であり、DNA 損傷部位のヒストン H3 リジン 36 及び PTEN をそれぞれジメチル化及びメチル化することで DNA 損傷応答のイニシエーターとして機能する。また、Twist プロモーター部位のヒストン H3K36 のジメチル化 (H3K36me2) はその発現を誘導し、上皮間葉転換を促進することが報告されている。本研究では、肝細胞癌での NSD2 発現及びヒストン H3K36 のジメチル化を免疫組織化学的に検討した。方法として、ミャンマー人肝細胞癌症例の正常部位 5 症例、高分化型 15 症例、中等度分化型 15 症例、低分化型 15 症例のパラフィン標本を試料とし、一次抗体として抗ヒト NSD2 抗体、抗ヒトヒストン H3K36me2 抗体、二次抗体として HRP 標識抗体を用いた。その結果、両シグナルは正常部位に比して肝細胞癌で有意に上昇し、特にヒストン H3K36me2 は肝細胞癌分化型の低下に伴って有意に上昇すると共に、両シグナル強度が有意に相関することが明らかになった。以上の結果は、NSD2 発現上昇に伴うヒストン H3K36 のジメチル化亢進が肝細胞癌の悪性化に関与することを示唆した。

## S4-2 Association of intratumor fibrosis in advanced colon cancer and tumor aggressiveness

○Nazigul Zhumagazhiyeva<sup>1</sup>, Maiko Tabuchi<sup>1</sup>, Ayako Mine<sup>2</sup>, Yasuhiko Nakao<sup>2</sup>, Yasuaki Shibata<sup>1</sup>, Yuko Akazawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Histology and Cell Biology Nagasaki University Graduate School of

**Background:** Fibrosis is a key histopathological feature in advanced colon adenocarcinoma, yet its role in prognosis is not well understood. This study used an AI-based fibrosis analysis to assess its potential in predicting lymph node metastasis (LN) and recurrence after chemotherapy. **Methods:** Thirty-nine patients with advanced-stage T3 colon adenocarcinoma who underwent surgery were included after propensity score matching. The FibroNest system quantified collagen content in Azan-Mallory-stained tumor tissues. **Results:** LN-positive (LN+) patients had significantly higher total collagen (p = 0.0456), assembled collagen (p = 0.0476), and fine collagen (p = 0.0432) compared to LN-negative (LN-) patients. Collagen content (p = 0.0457) and assembled fibers (p = 0.0352) were also significantly higher in patients with recurrence, though fine collagen showed no significant difference. With a cutoff score of 6.43 of the assembled collagen, the model had 100% specificity and 71.4% sensitivity for distinguishing recurrence (AUC = 0.84). **Conclusions:** Automated fibrosis analysis could be a useful tool for predicting metastasis and recurrence in colon cancer patients.

## S4-3 胃腸腹腔播種を安全かつ効果的に治療できる 3 因子制御型・腫瘍溶解性アデノウイルスの開発

○伊集院 広壮<sup>1</sup>、西川 佑耶<sup>1</sup>、永野 聡<sup>2,3,5,6</sup>、神岡 純一<sup>1,2</sup>、堀川 良治<sup>1,2</sup>、三井 薫<sup>1,3,4</sup>、松田 恵理子<sup>1</sup>、小朥 健一郎<sup>1,3,4,6</sup>

<sup>1</sup> 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 遺伝子治療・再生医学、<sup>2</sup> 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 整形外科、<sup>3</sup> 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 革新的治療開発研究センター、<sup>4</sup> 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 附属・南九州先端医療開発センター、<sup>5</sup> 鹿児島大学医学部保健学科、<sup>6</sup> 鹿児島大学病院 探索的医療開発センター

胃腸腹腔播種は効果的な治療法がないため予後不良である。癌細胞特異的にウイルス増殖・殺傷する腫瘍溶解性ウイルス (OV) は画期的な癌治療法と期待されるも、胃腸腹腔播種への応用は進んでいない。我々は多因子増殖制御型アデノウイルス (m-CRA) 作製技術を独自開発し、サバイビン反応性 m-CRA (Surv.m-CRA) を創出し、現在は悪性胃腸癌への早期承認を目指した多施設共同・第 II 相医師主導治験を実施中である。今回、サバイビンプロモーターで E1A を発現制御し、変異 E1B (E1B Δ55K) を CMV プロモーターで発現制御する 2 因子癌特異性化 Surv.m-CRA(CMVpr) と、さらに E1B Δ55K を CEA プロモーターで発現制御する 3 因子癌特異性化 Surv.m-CRA (CEApr) を作製し、比較検証した。In vitro 実験では、Surv.m-CRA-1(CEApr) は CEA 陽性胃腸細胞には Surv.m-CRA (CMVpr) と同等の癌治療効果を示す一方で、一部の正常細胞への Surv.m-CRA (CMVpr) の軽度障害も著明に抑制した。胃腸腹腔マウスモデルでの治療実験では、両 Surv.m-CRA と同等の治療効果 (生存期間延長) を示した。OV の全身循環が予想される癌種への臨床応用においては、3 因子制御型 Surv.m-CRA-1 が画期的な治療薬になると期待される。

## S4-4 Hepatic lipid overload accelerates hepatocyte proliferation via the SphK1/S1PR2 pathway in MCD-diet mouse partial hepatectomy

○Baljinnayam Lkham-Erdene<sup>1</sup>, Toshiki Kubota<sup>1,2</sup>, Takumi Ishizuka<sup>1</sup>, Kengo Kai<sup>1,3</sup>, Kazuhiro Higuchi<sup>1,3</sup>, Kham Mo Aung<sup>1</sup>, Jargal-Erdene Batmunkh<sup>1</sup>, Yoshitaka Hishikawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Anatomy, Histochemistry and Cell Biology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Japan <sup>2</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Japan <sup>3</sup>Department of Surgery, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Japan

Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) is formerly known as non-alcoholic fatty liver disease, and is becoming a major health problem worldwide. Liver regeneration is regulated by extraordinary complex process, involving numerous factors under both physiologic and pathologic conditions. Sphingosine-1-phosphate (S1P), a bioactive pro-survival product of sphingolipids synthesized by sphingosine kinase 1 (SphK1), plays an important role in liver function through S1P receptors (S1PRs)-expressing cells. In this study, we investigated the effect of lipid overload on hepatocyte proliferation in a mouse hepatic steatosis model induced by feeding a methionine- and choline-deficient (MCD) diet. After 50% partial hepatectomy (PHx), liver tissues were sampled at various timepoints and then analyzed by immunohistochemistry, oil Red-O staining, quantitative-polymerase chain reaction (qPCR), and flow cytometry. In mice fed the MCD-diet, significantly exacerbated hepatic steatosis and accelerated liver regeneration were observed. After PHx, hepatocyte proliferation peaked at 48 and 36 hr in the liver of chow- and MCD-diet fed mice, respectively. The levels of fatty acids, cholesterol and triglycerides were significantly elevated in both liver and serum of MCD-diet fed mice at all timepoints. Expression of *SphK1* mRNA was upregulated in the liver of MCD-diet fed mice compared with chow-diet fed mice, particularly significant differences observed at 12, 24, 36 and 72 hr. By contrast, increased expression of S1PR2 was observed in hepatic neutrophils and macrophages of MCD-diet fed mice. Flow cytometry and qPCR experiments demonstrated that levels of HGF and FGF2 released by neutrophils and macrophages were significantly higher in MCD-diet fed mice at 0, 6, and 12 hr after PHx. In conclusion, hepatic lipid overload recruits Kupffer cells and neutrophils that release HGF and FGF2 via SphK1/S1PR2 activation to accelerate hepatocyte proliferation.

## P-1 機能性食品エルゴチオネインによる胚着床メカニズム

○吉田 南海香<sup>1</sup>、村田 紘未<sup>2</sup>、岡田 英孝<sup>2</sup>、田中 進<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>長崎県大院・人間健康・栄養、<sup>2</sup>関西医大・医・産婦人科、<sup>3</sup>長崎県大・看護栄養・栄養健康

ヒトの胚着床に子宮内膜に含まれる Endometrial Stromal Cells (EnSC) の分化 (脱着膜化) が必須である。我々は、EnSC の脱着膜化における機能性食品 ergothioneine (EGT) の役割を見出し、本年度は、EnSC と Extra-Villous Trophoblast (EVT) との共培養により、胚着床への EGT の効果を検討した。

胚着床に伴う EVT の EnSC への浸潤に伴う細胞からの ATP の放出がマクロファージを活性化させ、炎症反応惹起による胚拒絶が起こることによって着床不全の原因の一つとなる。細胞外 ATP は ENTPD1 により AMP へ、さらに NT5E によりアデノシンへと代謝されることから、共培養系にてこれらの発現を検討したところ、EnSC での ENTPD1 の定常発現と EGT による EVT での NT5E の有意な発現上昇を見出した。一方、EVT 特異的な HLA-G は NK 細胞やマクロファージとの相互作用により、らせん動脈のリモデリングと免疫寛容を制御しており、脱着膜化 EnSC との共培養により EVT での有意な上昇と EGT によるさらなる上昇を見出した。これらの結果により、胚着床時に EGT が存在することで EnSC ならびに EVT の機能が正常化し、より着床に適した子宮内膜微小環境が整備されていることが考えられた。

## P-2 Analysis of G-quadruplex DNA structures during mouse spermatogenesis

○Kham Mo Aung<sup>1</sup>, Takumi Ishizuka<sup>1</sup>, Baljinnayam Lkham-Erdene<sup>1</sup>, Toshiki Kubota<sup>1,2</sup>, Kengo Kai<sup>1,3</sup>, Yoshitaka Hishikawa<sup>1</sup> <sup>1</sup>Department of Anatomy, Histochemistry and Cell Biology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Japan <sup>2</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Japan <sup>3</sup>Department of Surgery, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Japan

The genetic information within a cell is mainly carried in the form of DNA, which can form various conformations including G-quadruplexes (G4). G4 DNA plays a crucial role in several biological processes such as replication, transcription, and epigenetic regulation, and also associated with cancer development, making it as a potential target for therapeutic interventions. However, their biological functions remain largely unexplored. This study investigated G4 expression during spermatogenesis. Testes from 8-week-old male C57BL/6J mice were extracted and analyzed by using immunohistochemistry with a G4 specific antibody. We assessed the colocalization of G4 with epigenetic markers through double immunofluorescence staining. In vivo experiment, pyridostatin (PDS), a G4 stabilizer was administered via osmotic pump at doses of 0.05, 0.1, and 0.5 mg/day for 6 weeks. Testicular samples were collected and examined by histologically and TUNEL. G4 expression was observed at stage XI of spermatogenesis. We observed the colocalization of G4 with H3K79me2, H3K79me3, H4ac and BRDT (bromodomain testis-specific protein), but not with transitional protein (TNP) and protamine (PRM). Histological examination revealed abnormal sperm cells in some seminiferous tubules, along with a significant increase in TUNEL-positive cells in mice receiving pyridostatin. We conclude that G4 plays an important role in chromatin remodeling prior to interaction with TNP and, pyridostatin interrupts spermiogenesis during step 9-11 by stabilizing G4.

### P-3 DSS 腸炎モデルマウス回腸陰窩における H3K27 のトリメチル化について

○馬場 良子, 國分 啓司, 森本 景之  
産業医科大学 医学部 第2解剖学

炎症性腸疾患等において、未熟、または異常なパネート細胞の出現が報告されている。私達はこれまでに生後の発達過程にあるマウス回腸において、パネート細胞の成熟に伴い、ヒストン H3 リジン 27 のトリメチル化 (H3K27me3) が生じることを報告した。H3K27 は Enhancer of zeste homolog 2 (Ezh2) によってトリメチル化され、転写抑制に働くことが知られている。私達はデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘導性腸炎モデルマウスにおいて、炎症期の回腸に通常と異なるパネート細胞の出現を確認した。そこで、H3K27me3 および Ezh2 の局在について、免疫組織化学的に検索を行った。

正常な回腸の陰窩内において、核が H3K27me3 強陽性を示す細胞が見られた。炎症期では陰窩内の上皮細胞の反応は減弱し、回復期において強陽性を示す細胞が出現した。一方、Ezh2 は正常な回腸において、陰窩内に存在する H3K27me3 強陽性細胞より上部の領域の細胞集団が陽性を示した。炎症期の陰窩では、正常よりも低い位置に陽性細胞が散在し、回復期では正常と同様の局在を示した。DSS 腸炎モデルの回腸に顕著な障害は見られないものの、炎症期においてパネート細胞の形態とメチル化状態、陰窩内における Ezh2 の局在が変化し、細胞の増殖、分化に影響が生じている可能性が示唆された。

### P-4 リソソーム内低 pH 活性化リンボルフィリン光増感剤のがん細胞株に対する光線力学活性

○島廻 光希<sup>1</sup>, 森 竜馬<sup>1</sup>, 松本 仁<sup>1</sup>, 甲斐 健吾<sup>2</sup>, 菱川 善隆<sup>2</sup>, 七島 篤志<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>宮崎大学工学部, <sup>2</sup>宮崎大学医学部解剖学講座, <sup>2</sup>宮崎大学医学部外科学講座

水溶性ボルフィリン錯体は、可視光照射によって一重項酸素を生成し、細胞死を引き起こすため、がんに対する光線力学療法 (PDT) 用の光増感剤 (PS) として注目されている。酸性オルガネラであるリソソーム内の pH は、正常細胞よりもがん細胞の方がさらに低 pH であるため、がん細胞内低 pH で活性化する PS によるがん選択性の向上が期待されている。

本研究では、P-テトラフェニルボルフィリン錯体の軸配位子に、リソソームへの指向性を示すアミノ基を導入した P-錯体 (**1**) を合成した。まず、様々な pH の緩衝溶液中において、**1** の蛍光特性および一重項酸素 (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) の生成量子収率 (Φ<sub>Δ</sub>) に対する pH 依存性を解析した。蛍光の pH 依存性から求めた pK<sub>a</sub> は、8.6-9.5 の値となり、Φ<sub>Δ</sub> の pH 依存性と良い相関を示した。次に、**1** のヒト胆管癌細胞 (NOZ) に対する PDT 活性を調べるため、光毒性試験を行った。NOZ の生存率は、**1** の濃度に依存して減少し、0.1 μM 以上で 50% 以下まで減少した。次に、**1** の細胞内への局在性を調べるため、**1** を集積させた NOZ を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて蛍光観察した。NOZ はガラスボトムディッシュ上に培養し、**1** およびリソソーム指向性を有する蛍光色素 (LyG) によって二重染色した。その結果、**1** からの蛍光が観察され、LyG と共局在することが観察された。このように、**1** は NOZ 内のリソソームへ局在化し、**1** のアミノ基のプロトン化によって活性化されたことで、光細胞毒性を示すことが分かった。