

日本解剖学会

第70回東北・北海道連合支部学術集会

会 期：令和6年9月7日（土）、8日（日）
会 場：秋田大学

1 上皮細胞集団の移動が司る新たな平面内細胞極性制御機構

○鮎川友紀¹，八月朔日泰和¹，山崎正和²
秋田大・院医・細胞生物¹，秋田大・院理工・生命科学²

平面内細胞極性（planar cell polarity：PCP）は、組織平面において体毛や線毛の向きが特定の方向に揃う現象であり、組織の機能発現に重要な役割を果たす。例えば内耳有毛細胞は、特定の方向に揃って配向することによって音を効率的に感知している。

PCP 制御分子の大部分は、ショウジョウバエを用いた遺伝学的研究で同定された。その後、PCP 制御分子はヒトを含む哺乳動物でも保存されていることが明らかとなった。膜貫通型タンパク質 Frizzled や非典型的のカドヘリン Flamingo 等から構成されるコアグループ分子群は、多くの組織において PCP 形成の中核を担い、その制御機構の理解は進展している。一方、組織によってはコアグループを介さない PCP 制御機構が存在することが、マウスやショウジョウバエの系で報告されている。しかしながらその分子機構は全く不明である。

我々はコアグループを介さない PCP 制御機構の解明にショウジョウバエを用いて取り組み、Tissue flow と呼ばれる上皮細胞集団の移動が PCP 形成に重要であることを突き止めた。ライブイメージング等を駆使して PCP の形成過程を詳細に解析したところ、PCP は Tissue flow の向きの逆方向に形成されることが明らかとなった。（COI:No）

2 BNIP3とNIXはファゴフォア膜のミトコンドリア表面への密着と伸張に必須である

和栗 聡¹，荒井 律子^{1,2}，山下 俊一³，神吉 智丈³
福島医大・医・解剖組織¹，名古屋大・院医・保健学・生体機能²，九州大・院医・細胞生理³

マイトファジーはミトコンドリアを選択的に分解するオートファジー経路であり、ミトコンドリアの品質管理に関わる。これまで、ユビキチン依存性マイトファジーは良く研究されてきたが、受容体依存性マイトファジーの形態学的基盤および受容体分子である BNIP3 と NIX の作動機序は不明である。そこで本研究では、まず電子顕微鏡による微細形態解析を行った。HeLa 細胞を鉄キレート剤であるデフェリプロンで処理すると同マイトファジーが誘導されるが、その観察頻度は低い。そのため CLEM により解析したところ、ミトコンドリアの一部にファゴフォア（隔離膜）が密着して存在していた。さらに、膜構造のコントラストを上げるためにアルデヒド-オースミウム混合固定液で固定し、電子線トモグラフィ法で解析したところ、ファゴフォア膜の縁と小胞体を繋ぐ細管および線状の構造が認められた。次に、BNIP3/NIX の二重欠損細胞を観察したところ、オートファジー初期因子、LC3、ファゴフォア前駆体はミトコンドリア膜にリクルートされたが、ミトコンドリア表面に沿ったファゴフォア膜の伸長はみられなかった。以上の結果は、ミトコンドリアに密着しながら進行するファゴフォアの伸張過程に BNIP3/NIX が必要であること、小胞体からファゴフォア膜の縁を介して脂質が供給されることを示唆する。（COI:No）

3 DGKe-KO マウスで生じる適応熱産生不全とインスリン分泌制御

中野 知之、後藤 薫・山形大学医学部解剖学第二講座

褐色脂肪では、交感神経刺激により uncoupling protein 1 (UCP1) を介した熱産生が生じる。我々は、ジアシルグリセロールのリン酸化酵素 (DGK) のうち、ε型のノックアウトマウスを用いた脂肪組織の解析を行ってきた。DGKe-KO マウスを高脂肪食で飼育すると、野生型マウスに比べて早期に肥満やインスリン抵抗性を呈する。この時、褐色脂肪では単胞性の脂肪滴を有する細胞が増加を示すことから、DGKe-KO マウスの褐色脂肪では機能不全が生じやすい可能性を見出した。本研究では、DGKe-KO マウス褐色脂肪を解析するために、寒冷暴露実験を行った。その結果、DGKe-KO マウスでは直腸温および褐色脂肪領域の体表温度が低下し、血糖値も低下を示した。褐色脂肪のウェスタンブロット解析では、交感神経マーカーの発現は増加したが、UCP1 発現に変化は認められなかった。交感神経シグナルを受容するβ3 受容体の細胞内局在を検討したところ、DGKe-KO マウスでは、細胞質に局在が認められた。加えて、DGKe-KO マウスでは、寒冷に応じてインスリン分泌が促進していた。インスリンはβ3 受容体を内在化することから、次にインスリン分泌の促進因子として、Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) に注目した。GLP-1 抗体を用いた免疫組織化学を行うと、野生型と DGKe-KO マウス結腸の間に、GLP-1 陽性細胞数の差は認められなかった。しかし血清 GLP-1 レベルを定量した結果、DGKe-KO マウスでは亢進することが明らかとなった。本研究の結果、DGKe-KO マウスでは、GLP-1 によりインスリン分泌が促進し、交感神経シグナルが妨げられる結果、体温産生が妨げられる可能性が示唆された。

4 高感度サイズ別セルフリーDNA 定量法による泌尿器癌検出法の開発

○明石英雄¹，沼倉一幸²，成田伸太郎²，岡野邦宏³，羽瀨友則²，鈴木良地¹，板東良雄¹
秋田大・院医・器官構造¹，秋田大・院医・腎泌尿器²，秋田県大・生物資源³

ヒトゲノム定量は、人類学や医学等を含む生命科学研究の、様々な場面で必要とされる、非常に基本的な測定である。我々は、ヒトの短鎖反復配列 (SINE) の一種である Alu 配列を標的として、従来技術では分析できない他動物ゲノム混合サンプルや、小さな DNA 断片も定量可能である高感度ヒトゲノム検出法 (Alu-qPCR 法) を開発した。本発表では、Alu-qPCR 法を用いた泌尿器癌 (腎細胞癌、前立腺癌) 患者セルフリーDNA (cfDNA) 定量による、泌尿器癌検出への応用可能性について報告する。

健康者と癌患者由来 cfDNA を次世代シーケンズ解析したところ、健康者と癌患者で cfDNA のサイズ分布の違いが示唆された。そこで、様々なサイズの cfDNA を検出可能な定量 PCR 用プライマー・プローブを新たに設計し、それぞれ 10fg から 1ng のヒトゲノム DNA 定量において、相関係数 0.99 以上の極めて直線性が高い検量線を得た (サイズ毎 Alu-qPCR 法)。さらに、このサイズ毎 Alu-qPCR 法を用いて健康者・癌患者由来 cfDNA を定量したところ、健康者と癌患者を区別可能な閾値を設定することができた。このサイズ毎 Alu-qPCR 法による癌患者と健康者の識別は、新規治療効果判定法の開発などに繋がる可能性が期待される。

以上のことから、高感度サイズ別 cfDNA 定量法による、泌尿器癌検出への応用可能性が示された。（COI:No）

5 カルシウムセンサーSTIM1 はマウス小脳プルキンエ細胞の特定の細胞体ドメインに集積している

○山崎美和子¹，野村左京¹，宮崎太輔²，今野幸太郎²，渡辺雅彦¹
北海道大・院医・解剖発生¹，北海道大・医保・リハ科学²

滑面小胞体は最大の細胞内カルシウムストアであり、カルシウムの吸収源であると同時に、刺激に応じたカルシウム放出源として細胞内カルシウム動態を制御している。滑面小胞体に存在するカルシウムセンサーである stromal interaction molecule 1 (STIM1) は細胞内カルシウムストアの再充填において中心的な役割を果たしている。STIM1 は小脳プルキンエ細胞で特に豊富に発現し、運動学習などの小脳機能に重要であることがわかっている。しかしながら STIM1 の詳細な細胞内分布は不明であり、包括的な理解には至っていない。本研究では免疫組織学解析を行い、これまで不明であったマウス小脳プルキンエ細胞における STIM1 の局在様式を明らかにした。マイクロ RNA を用いた遺伝子ノックダウンを行ったプルキンエ細胞では STIM1 の陽性反応が消失し、特異的な反応検出が確認された。蛍光多重免疫染色では、STIM1 の陽性反応は細胞体と樹状突起に検出されたが、棘突起では検出感度以下であった。近位や遠位の樹状突起では、細胞膜直下に点在する斑状の強い陽性反応として観察された。この斑状では細胞質内部にほぼ一様に分布する、やや弱い反応のみが観察された。この斑状の陽性反応は、細胞内ストアからのカルシウム放出を担う 2 種類のチャネルのうち、1 型イノシトール 3 リン酸 (IP3) 受容体の陽性構造と一致していたが、1 型 IP3 受容体とは非離していた。免疫電顕では樹状突起幹の細胞膜直下で重積する小胞体構造に検出された。またこの小胞体構造は棘突起の基部に相当する部位に形成されていた。こうした分子配置からは、IP3 受容体が豊富だが STIM1 を欠く棘突起は興奮性入力によるカルシウム放出に特化した領域であり、STIM1 が集中する樹状突起幹はカルシウムストアへの再充填に特化した領域であると考えられる。さらに、棘突起基部はその近接性から、カルシウム放出によって枯渇した部位への迅速なカルシウム供給に適した位置であるといえる。この分子配置は個々のストアドメインの制御や、カルシウムストアの相反する二つの機能の両立を可能にし、記憶や学習などのシナプス可塑性や細胞内カルシウムの恒常性維持の分子解剖学的な基盤となっている可能性が示唆される。（COI:No）

6 ラット線条体におけるマトリックス・ストリオソーム領域への不均等な抑制性・興奮性入力への解析

盧 林森・苅部 冬紀・藤山 文乃 (北海道大学)

近年、歯齒類の淡蒼球外節では、線条体のみに投射する細胞群が存在することが明らかになった。先の地方会で報告した淡蒼球外節―線条体投射について、形態学的・電気生理学的にさらに解析を行った。逆行性標識および順行性経シナプス標識を利用して、線条体―淡蒼球外節間の相互投射を観察したところ、淡蒼球外節―線条体投射はマトリックス領域へ強く限局するのにに対し、線条体―淡蒼球外節投射の起源細胞はマトリックス・ストリオソームの双方にほぼ同じ頻度で分布していた。また、線条体に投射する淡蒼球外節細胞は自発発火頻度が低いため、その活性化には他の脳領域からの興奮性入力が必要であると考えられる。逆行性標識により、淡蒼球外節へ投射する脳領域を可視化したところ、興奮性の脳領域として、大脳皮質運動野や視床腹側核群、視床縦板内核群、視床下核が標識された。これらの脳領域を順行性標識したところ、標識軸索が淡蒼球外節で観察された。大脳皮質運動野および視床腹側核群は、既に知られている通り線条体へも強く投射していた。さらに、大脳皮質一次運動野および視床腹側核群から線条体への投射は、マトリックス領域に有意に偏っていた。以上の結果から、淡蒼球外節―線条体マトリックスへの投射は、大脳皮質および視床からの興奮性入力に対してフィードフォワード抑制を掛けると考えられる。(COI:No)

7 炭酸脱水酵素関連タンパク Car8 はシナプス接着関連分子 GluD2-cbln1 の結合を可逆的に制御し、小脳興奮性神経回路を維持している

宮崎 太輔
北海道大学 保健科学研究所 リハビリテーション科学分野

Car8 は、触媒サブユニットを欠く炭酸脱水酵素関連タンパクで、小脳プルキンエ細胞 (PC) に強く発現している。自然発生変異マウスを用いた研究では協調運動と小脳興奮性回路形成が障害されることが報告されているが、Car8 がどのように神経回路形成に関与しているか未だ充分に解明されていない。本研究では Car8 欠損マウス小脳の解剖学的解析を行った。Car8 欠損小脳では平行線維 (PF) 終末との結合を失ったフリースパインが高頻繁に観察され、もう一方の興奮性入力である登上線維 (CF) の支配領域は分子層遠位に拡大している様子が観察された。免疫電子顕微鏡法を行ったところ、フリースパインシナプス後肥厚膜 (PSD) では AMPA 受容体や PSD93 などの興奮性シナプス分子の中程度の発現が観察された。一方シナプス接着関連分子の検討では、PF-PC シナプス後部に発現する GluD2 は強く発現していたものの、GluD2 と結合してシナプス形成を制御する cbln1 の発現は著しく減少していた。アデノ随伴ウィルスを用いた Car8 発現回復実験を行ったところ、PF-PC シナプス形成が劇的に回復し、さらにその回復過程ではフリースパイン PSD で GluD2-cbln1 の共局在が観察された。Car8 発現回復は PC 樹状突起形態、分子層の厚さを正常化し、最終的に登上線維支配領域が近位回復している様子が観察された。以上の結果から、Car8 は GluD2-cbln1 結合を可逆的に制御することで小脳の興奮性シナプス回路維持に関わっていることが強く示唆された。(COI:No)

8 カリクレイン (KLK) のグリア細胞での発現とその機能的意義

扇谷昌宏, 田中佑典, 古部瑛莉子, 吉田成孝
旭川医科大・医・機能形態

カリクレイン (KLK) は全身組織で発現するプロテアーゼの 1 種であり、特に KLK8 と KLK6 は中枢神経系に発現することが知られている。これまでに我々は、傷害時にオリゴデンドロサイト (OD) が発現する KLK8 と KLK6 が脱髄を誘発することを報告してきた。しかし、OD 以外のグリア細胞での KLK8 と KLK6 の発現や機能に関しては不明なままであった。

本研究では、KLK8 WT/KO マウスそれぞれの脳と脊髄から OD、ミクログリア (MG)、アストロサイト (AS) の 3 種のグリア細胞をそれぞれ分離し、その遺伝子発現を解析した。その結果、KLK8 は OD と MG で発現が確認された。また、KLK6 は OD と AS で発現が認められた。また興味深いことに、KLK8KO マウスにおいて、髄鞘を構成する OD のミエリン塩基性タンパク (MBP) の発現量が、WT マウスと異なっていた。

これまでの KLK 研究では OD を中心に解析が行われ、他のグリア細胞での知見は乏しかった。しかし今回の解析で、OD 以外のグリア細胞にも KLK が発現し、機能している可能性が示唆された。特に中枢神経系の高次機能に直接影響を及ぼす可能性のある分子が動いており、興味深い。本発表では、我々のこれまでの知見に加え、今後の KLK 研究の可能性についても議論したい。(COI:No)

Hoatzin 欠損型マウスに見られるミクログリア活性化

成田啓之¹, 小巻翔平², 清水厚志², 齋野朝幸¹

¹岩手医科大・医・解剖細胞生物, ²岩手医科大・歯歯薬総合研・生体情報解析

【目的】運動線毛に関連する遺伝子の変異はしばしば水頭症を招く。その機序としては、脳室壁を裏打ちする上衣細胞の運動線毛の異常が脳脊髄液の流れを阻害し非交通性水頭症を引き起こすというのが定説である。最近我々は運動線毛関連遺伝子として *Hoatzin* を同定し、その変異マウスが脳室拡大・水頭症を呈することを報告したが、海馬萎縮が原因とみられる個体もあり、その機序は不明である。今回、その解明を目的としてトランスクリプトーム解析を試みた。【材料と方法】初代培養上衣細胞は新生児マウスの脳室壁組織を分散して播種し、接着性の弱い細胞を除去することで作成した。total RNA 抽出と RNA-seq、免疫染色は定法に基づき行った。【結果】初代培養系の RNA-seq 解析により、系に共存するミクログリアが *Hoatzin* 変異型で活性化していることを見出した。この培養系をミクログリアのマーカーである Iba1 に対する抗体を用いて免疫染色したところ、変異型では活性化ミクログリアに特徴的な細胞形態を認めた。マウス海馬組織由来の total RNA を用いた RNA-seq 解析においても同様の遺伝子発現変化を認めた。【結論】*Hoatzin* 変異型上衣細胞は自身が有する運動線毛に異常を呈するのみならず、周囲の細胞にも影響を及ぼし、ミクログリア活性化を招くことが示された。これにより *Hoatzin* 変異マウスの脳室拡大・水頭症は上記の定説とされる機序だけでなく、慢性炎症による神経変性と組織萎縮も背景にある可能性が示唆された。(COI:No)

浸漬固定法を用いたグリオキサル固定液の条件検討と有効性

○今野幸太郎、山崎美和子、渡辺雅彦
北海道大・院医・解剖発生

免疫組織化学法を行う前にはタンパク質の漏出や変性を防ぐ目的で、必ず組織や細胞を化学的に固定する必要がある。アルデヒド系固定液であるホルムアルデヒド (ホルマリン) はスタンダードな固定液として世界中で用いられているが、強力に架橋し組織を収縮させる性質を持つため、固定組織への抗体の浸透やアクセスを制限し、十分な染色性が得られないことが多々生じることが問題であった。特に、神経情報伝達の場合であるシナプスには情報を伝達するための受容体や輸送体、これらを特定の部位に集積させるための足場タンパク質などが高密度に密集しているため、ホルマリン固定組織では分子検出が困難となることが多く、その適切な検出には抗原露出のための特殊な操作や工夫が必要であった。そこで、我々はホルマリンに代わるグリオキサル固定液を調整し、その有効性を昨年報告した (Konno et al., Sci Adv, 2023)。昨年の報告では、灌流固定によって組織の固定を行い検討したが、今回は浸漬固定法を用いてグリオキサル固定液の染色性に対する条件および有効性を検討したので紹介する。(COI:No)

新規 3D 電顕技法によるゴルジ装置の形態基盤構築

○甲賀大輔¹, 久住聡², 森永涼介¹, 渡部剛¹
旭川医大・医・顕微解剖¹ 鹿児島大・医・形態科学²

ゴルジ装置は、シス槽、中間槽、トランス槽、トランスゴルジネットワークが積み重なった層板構造を基本構築としている。また、ゴルジ層板の形状は、細胞種によって大きく異なっており、ショウジョウバエや植物では、層板は細胞質内にバラバラに存在するが、哺乳動物では一つの連続した構造体を呈している。私たちはこれまで、哺乳動物ゴルジ装置の全体像を解明するため、連続切片走査電子顕微鏡 (SEM)・3D 再構築法 (樹脂包埋組織の連続切片を基板上に載せ、興味ある領域を SEM で撮影し、目的構造を 3D 再構築する手法) を独自に開発し、様々な生体内細胞におけるこのオルガネラの形態的特徴を解明してきた。近年は、連続超薄切片を約 50nm の厚さに切削することにも成功しており、より詳細なゴルジ 3D モデルを作製できるようになった。ところが、連続切片 SEM 法による形態解析では、ゴルジ装置の全体像や、各ゴルジ槽の 3D 微細構築を明らかにすることができたが、「形」による観察だけでは、シス、中間、トランスの各区画を明確に区別することはできないという難題に直面した。そこでこの問題を解決するため、現在、「3D-免疫電顕法 (連続切片 SEM 法に免疫電顕法を組み合わせた手法)」や「3D-CLEM 法 (連続切片法に蛍光解析法を組み合わせた手法)」の独自技術開発に着手している。本口演では、最新の 3D 電顕解析技術を紹介すると共に、これらの技法によって得られた新たなゴルジ 3D 形態区画について紹介する。(COI:No)

12 ラット頸動脈小体におけるセロトニントランスポーター陽性化学受容細胞の形態

○横山拓矢、中牟田信明、山本欣郎
岩手大学 農学部 共同獣医学科 獣医解剖学研究室

頸動脈小体の化学受容細胞が感知した血中酸素分圧低下は延髄へ伝えられ、この情報伝達はセロトニン (5-HT) により興奮性に調節されている。我々は、5-HT 合成酵素および細胞膜 5-HT トランスポーター (SERT) は化学受容細胞に存在する一方、5-HT は少数の細胞に存在することを示した。本研究では、ラット頸動脈小体における SERT の局在を再検討したところ、特徴的な形態を有する SERT 陽性化学受容細胞を見出したので報告する。

Synaptophysin 陽性反応を示す化学受容細胞のうち、2.8% が SERT 陽性反応を示した。SERT 陽性細胞の大部分は細胞集団を形成し、一部は単一細胞として認められた。SERT 陽性細胞は、類円形の細胞体と複数の細長い細胞質突起によって構成されていた。細胞質突起は SERT 陰性化学受容細胞の周囲に認められ、末端部は糸状あるいは球形に膨隆していた。SERT 強陽性反応は細胞辺縁部に局在していた。5-HT 陽性反応は、75.9% の SERT 陽性細胞に認められ、細胞質突起よりも核周囲細胞質に集積していた。Bassoon 陽性反応は SERT 陽性細胞の細胞質突起よりも核周囲細胞質に局在していた。一方で、Bassoon 陽性反応は SERT 陽性細胞の周囲に集積していた。本研究により、頸動脈小体において複数の細胞質突起を有する SERT 陽性化学受容細胞が存在することを明らかにした。SERT 陽性細胞は、広範囲の細胞外 5-HT を取り込むために細胞質突起を伸長している可能性がある。(COI:No)

13 走査電子顕微鏡の反射電子像を利用した下垂体後葉の広範囲微細構造解析

○森永涼介¹、甲賀大輔¹、渡部 剛¹
旭川医科大学解剖学講座顕微解剖学分野¹

【背景・目的】下垂体後葉では、神経分泌細胞の軸索から後葉ホルモンが放出される。下垂体後葉の構造は、神経分泌細胞の神経終末などの神経性成分と後葉細胞や周皮細胞、ミクログリアなどの非神経性成分から構成される。近年の走査電子顕微鏡装置の発達により反射電子 (BSE) 像を利用した広範囲で欠損のない超薄像の観察が可能となった。本研究では、BSE 像を利用して広範囲の下垂体後葉の微細構造解析を行った。【材料方法】Wistar 系雄ラットの下垂体後葉の超薄切片の BSE 像を観察した。また、凍結準超薄切片を利用した免疫組織化学とその切片を再包埋し作成した超薄切片の TEM 像観察を組み合わせた CLEM 法を行った。【結果】下垂体後葉の神経終末間には S100 β 陽性の後葉細胞が分布しており、細胞突起を伸長し神経終末を包んでいる像が認められた。S100 β +Vimentin 共陽性の後葉細胞には脂肪滴が豊富に含まれたが、S100 β +GFAP 共陽性細胞には脂肪滴がほとんど含まれなかった。Iba1 陽性のミクログリア様細胞は、毛細血管周囲腔に局在し、一部細胞は神経終末を貪食している像が観察された。毛細血管周囲腔には、Iba1、S100 に陽性反応を示さない細胞もあり、球状のミトコンドリアや内腔が拡張した粗面小胞を持つことから線維芽細胞であると考えられる。毛細血管の周囲には内皮細胞と連続した基底膜に包まれる細胞が存在し、周皮細胞であると考えられる。【考察】下垂体後葉を構成する細胞の分布や微細構造を明らかにすることができた。特に毛細血管周囲腔に存在する非神経性成分の細胞が後葉ホルモンを分泌する場所の形成に重要であると考えられる。

14 核内受容体 PPAR α に着目した統合失調症新規治療薬の開発

生田美徳¹、吉町文子¹、木村佳里奈¹、坂井舞²、俞志前³、富田博秋³、前川素子¹、大和田祐二¹
東北大・医・器官解剖学¹、東北大・医・精神看護学²、東北大・医・精神神経学³

【背景】統合失調症は、幻覚や妄想、意欲や自発性の低下、認知機能障害などの症状を示す代表的な精神疾患の一つである。我々はこれまでに、ヒトとマウスの解析を実施し、核内受容体 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) の機能低下が統合失調症の病態生理に関わる可能性を見出した。本研究では、統合失調症の治療標的として PPAR α に着目し、新規治療薬の開発を行うことにした。

【方法】統合失調症の N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体機能低下仮説に基づいて統合失調症モデルマウスを作製した。このマウスに対して、PPAR α の選択的アゴニストである pemafibrate を投与し、組織面では、大脳皮質前頭前野の Golgi 染色を行い、樹状突起スパイン密度を調べた。行動面では、新奇物体認識試験を実施してマウスの認知機能を調べた。また、妊娠 18.5 日目のマウス胎児を用いた初代培養神経細胞を作製し、神経細胞シナプス形成に対する pemafibrate の影響を調べた。

【結果】統合失調症モデルマウスに PPAR α アゴニストを投与したところ、統合失調症モデルで見られる樹状突起スパイン密度低下と認知機能低下が改善した。また、初代培養神経細胞を用いた解析では、pemafibrate 添加群において、神経細胞のシナプス前部と後部の近接構造が増加することを見出した。

【考察】本研究により、PPAR α アゴニストは、神経細胞樹状突起シナプス形成を促進する効果、認知機能低下を改善する効果、を有することが示された。今後は、シナプス形成に対する PPAR α の作用機序について更なる解析を行う予定である。(COI:No)

15 Fatty acid binding protein 7 regulates melanoma metastasis by suppressing phenotypic shift toward the invasive state

Tunyanat Wannakul^{1,2}, Hirofumi Miyazaki¹, Motoko Maekawa¹, Yoshiteru Kagawa¹, Yui Yamamoto¹, Yuji Owada¹
東北大・院医・器官解剖¹、Thailand・Khon Kaen Univ・Medicine²

Melanoma possesses the characteristic phenotypic plasticity, enhancing its metastatic formation and drug resistance. Lipid and fatty acid metabolism are usually altered to support melanoma progression and can be targeted for therapeutic development. Fatty acid binding protein 7 (FABP7) is highly expressed in melanomas and is shown to support its proliferation, migration, and invasion, but the mechanisms remain unclear. Our study aimed to link FABP7 to lipid metabolism and phenotypic shift in melanomas. We established FABP7 loss of function experiments, using *Fabp7*-knockout B16F10 melanoma cells and RNA interference knockdown. Loss of FABP7 led to increased trans-well invaded cell numbers with no effect on proliferation. *In vivo* models showed slower primary tumor growth in KO group but more metastatic foci in lungs were observed. We also discovered an overall increase in saturated fatty acid components in overall lipids, phosphatidylcholines, and storage lipids. We found evidence of transcriptional shift toward the invasive MITF^{low}/AXL^{high} phenotype, with upregulation of TGF- β receptors and epithelial-to-mesenchymal markers. In conclusion, loss of FABP7 may enhance tumor invasiveness and metastatic formation but lower its proliferation. (COI:No)

16 カリクレイン型セリンプロテアーゼ 6 は脳梗塞巣の拡大に寄与する

古部瑛莉子¹、扇谷昌宏¹、田中佑典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

脳梗塞は、世界中で身体障害や死亡の原因となっている主要な疾患の1つである。虚血病巣には血流が再開しても細胞死を起こすコア領域と機能回復を期待できるペナンプラ領域が生じる。このペナンプラ領域をいかに温存するかが、血流再開後の障害の重症度を決める要素となっている。カリクレイン型セリンプロテアーゼ 6 (KLK6) は、オリゴデンドロサイトによって産生されるプロテアーゼであり、これまでに脱髄疾患に関与することが知られている。最近我々は、KLK6 がマウス中大脳動脈閉塞再灌流モデル (tMCAO) のペナンプラ領域で発現が上昇することを見出した。この KLK6 の働きを明らかにするため、マウス tMCAO モデルにおける KLK6 の虚血脳損傷に及ぼす影響を検討した。tMCAO モデルは、12-16 週齢マウスの外頸動脈からシリコンコードナイロン糸を中大脳動脈分岐部に挿入し閉塞させ、60 分後に抜糸し作製した。その結果、KLK6 陽性細胞は tMCAO 手術後 24 時間後から 5 日にかけて一過的に増加することが判明した。KLK6 発現細胞の多くは APC 陽性成熟オリゴデンドロサイトであった。また、KLK6-WT と KLK6-KO マウス間で tMCAO 手術後 7 日目に TTC 染色により脳梗塞体積を比較すると、7 日目では KLK6-KO マウスで有意に梗塞体積が減少していることが判明した。さらに、再灌流後 24 時間から 15 日目にかけて運動機能評価を行ったところ、KLK6-KO マウスは再灌流 3 日目以降 KLK6-WT と比較して良好な結果を示した。この研究における一連の結果は、マウス tMCAO モデルでの虚血再灌流障害に対する KLK6 の潜在的な関与を示している。(COI:No)

17 両生類アカハライモリ *Cynops pyrrhogaster* におけるリンパ経路の系統発生的解析

○齊藤 絵里奈¹、宮崎 理沙¹、古川 結花¹、磯貝 純夫²、下田 浩^{1,3}
弘前大・院医・神経解剖・細胞組織学¹、岩手医大・医歯薬総合研・生命科学支援セ²、弘前大・院医・生体構造医科学³

我々はこれまで系統発生的観点からリンパ管系についての研究を重ねてきた。脊椎動物の進化を考える上で陸生適応は最大のイベントであり、それに伴って体液の恒常性維持に関わるリンパ管系にも大きな変化が起きたことが予想される。そこで本研究では、水棲から陸棲への変化が起こり始める両生類に着目し、アカハライモリ *Cynops pyrrhogaster* を用いてリンパ経路の解析を試みた。

リンパ管を描出するため、アカハライモリの腹腔および四肢の足底皮下にそれぞれ朱墨および緑墨を注入し、実体顕微鏡下および組織切片を用いて光学顕微鏡下で観察を行った。注入した色素は腎臓、腹膜、肝臓、脾臓、皮下、筋肉結合組織に取り込まれており、指においては管径の不規則な脈管網様構造が描出された。組織学的解析により、腹膜下・皮下・筋肉間の結合組織、血管外膜、および小リンパ管様構造に色素の取り込みが認められ、さらに組織間隙に流入した色素の流れには末梢から中枢への方向性が見られた。その一方で、胸管などの主要な集合リンパ管は描出されなかった。その原因を探る過程で、我々はイモリの腹腔に注入した朱墨が注入後速やかに総排泄口から排泄されていることに着目した。連続切片を用いて腹腔上皮を詳細に観察したところ、腹腔上皮細胞の一部が背側で立方状に肥厚し線毛を伴い、さらに中腎管へと連続していることが明らかになった。このことから、腹腔内の余剰な体液は本経路を通じて速やかに体外へ排出されており、本構造がイモリの漿膜系リンパ排導路として機能していると考えられる。(COI:No)

18 Immunohistochemical localization of cyclooxygenase 1 and 2 in the rat larynx and trachea

○Sayed Sharif Abdali¹, Takuya Yokoyama², Yoshio Yamamoto², Keishi Narita¹, Masato

Hirakawa¹ and Tomoyuki Saino¹.

Cyclooxygenases (Cox) are rate-limiting enzymes in the biosynthesis of prostaglandins (PGs), which play critical roles in regulatory processes, such as mucociliary clearance in the respiratory system. Of the two Cox isoforms, Cox1 is constitutively expressed in various tissues, while Cox2 is inducible and primarily linked to inflammatory responses. Double immunofluorescence analysis of Cox isoforms with cell-specific markers revealed that Cox1 immunoreactivity is localized in the perinuclear cytoplasm of different cell types, including brush cells, neuroendocrine cells, both epithelial and connective tissue mast cells, and solitary chemosensory cells in the laryngeal and tracheal mucosa. In contrast, Cox2 immunoreactivity was confined to ciliated cells. These results suggest that PGs are released from various cell types in the rat larynx and trachea. The broad distribution of Cox1 across different cell types suggests that Cox1-dependent PGs may regulate airway defense mechanisms, whereas Cox2-dependent PGs may play a modulatory role in diseased airways. (COI:No)

19 ラット頸動脈洞に存在する P2X3 陽性神経終末の圧受容反射へ

山本 翼

岩手大学 共同獣医学科 解剖学研究室

【背景・目的】頸動脈洞には P2X3 陽性神経終末が存在し、形態学的に同神経終末は圧受容器として働くことが示唆されている。本研究では、頸動脈洞壁への P2X 作動薬の注入による血圧の変化を調べ、その作用と圧受容との関連を検討した。

【方法】ラット(Wistar、オス、8～10 週)をウレタン(5 mL/kg)麻酔下で使用し、血圧、心拍数の測定をした。濃度別に ATP(1 μ M～1 mM)を、マイクロインジェクターを使用して頸動脈分岐部から内頸動脈外膜に注入した。同様に P2X 作動薬である α , β -methylene ATP(50 μ M)を注入した。

【結果】ATP 注入群において、注入前平均血圧に対する投与後平均血圧の変化が 1 μ M、10 μ M では、有意な差は見られなかったが、100 μ M 及び 1 mM では、投与前後で血圧は有意に低下した。 α , β -methylene ATP 注入群においても、血圧の有意な低下が確認された。対照群として、生理食塩水を注入した場合や内頸動脈以外の部位に注入した場合には血圧の変化は見られなかった。

【考察】P2X3 陽性神経終末は血圧低下に関与することが示唆され、圧受容反射における感覚受容器である可能性がある。(COI: No)