日 本 解 剖 学 会

第113回関東支部学術集会

会　期：令和７年８月30日（土）
会　場：自治医科大学　地域医療情報研修センター

1-1 レチノイン酸を可視化する遺伝子組換えマウスの作製

○渡部嘉徳 1、2、吉原雅大 2、3、高橋智 2
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

リガンドと受容体を介したシグナル伝達は、発生の様々な場面において細胞の分化運命を規定するため、その制御機構を解明することは重要である。代表的なシグナル伝達の１つであるレチノイン酸シグナルでは、ビタミン A (レチノール) から二段階の酵素反応を経て合成されるレチノイン酸（リガンド）が核内のヘテロ二量体受容体に結合し、レチノイン酸応答エレメント（RARE）下の種々の遺伝子の発現が調節される。これまで、レチノイン酸シグナル（リガンドと受容体の共局在）を可視化する遺伝子組換えマウス（RARE-lacZ マウス）[Rossant et al. Genes Dev. 1991] を用いた研究により、器官形成期の胚 におけるレチノイン酸シグナルの分布が明らかにされてきた。一方、リガンドであるレチノイン酸のマウス体内分布は明らかにされていないため、発生の各場面の各細胞においてシグナルの有無がリガンドと受容体のどちらによって制御されているかは不明である。そこで我々は、レポーター受容体を全身性に発現する遺伝子組換えマウスを作製し、レチノイン酸のマウス体内分布の可視化を試みた。これにより、シグナル制御におけるリガンド分布（外在要因）や未分化細胞自身の準備状況（内在要因）の寄与を明らかにすることを目標としている。

1-2 海馬におけるＡｒｆ活性化因子ＧＢＦ１(Golgi brefeldin A-resistant guanine nucleotide exchange factor 1）の発現局在と神経突起形成における役割

○鈴木成 1、原芳伸 1、阪上洋行 1
北里大・医・解剖学

神経細胞は、軸索や樹状突起にタンパク質や脂質を極性輸送し、適切に配置することにより情報伝達機能を発揮する。なかでもゴルジ装置やトランスゴルジ網(TGN)は、分泌経路を介した機能分子の極性輸送によって、神経分化や回路形成などの神経機能に関与することが知られているが、その調節機構に関して不明な点が多い。GBF1 は、ADP リボシル化因子(Arf)ファミリーの活性化因子として、非神経系の培養細胞を用いた解析から主に分泌経路の小胞輸送制御に関わることが示唆されているが、中枢神経系における局在や機能は不明である。本研究では、中枢神経系、特にマウスの海馬に着目し発現機能解析を行った。免疫組織染色の結果、GBF1 の発現は神経細胞とともにグリア細胞で検出された。海馬 CA1 錐体細胞において、GBF1 陽性反応は細胞体の核周囲部と頂端樹状突起の近位部に観察された。細胞小器官マーカーとの二重染色の結果、GBF1 は主にシスゴルジに局在することが判明した。また、ウエスタンブロット解析から海馬発達過程における GBF1 の発現は胎生期から出生後１週間で高く、その後発達とともに減少することが明らかになった。海馬初代培養神経細胞を用いた機能解析の結果、GBF1 をノックダウンした神経細胞では MAP2 陽性の樹状突起の伸長と複雑性の低下が認められた。以上より、GBF1 は海馬神経細胞においてゴルジ装置の小胞輸送を介して樹状突起の形成に関与することが示唆された。

1-3 マウス海馬歯状回顆粒ニューロン新生における EMT 制御因子の発現

○高山夏海 1、篠原広志 1、小川莉奈 1、大村捷一郎 1、宇都宮碧 1、林田美緒 1、高橋宗春 1、大山恭司 1
1 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。私たちは、ニューロン分化が上皮間葉転換(EMT)に類似していることに注目し、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、Zeb1 は主に神経幹細胞 NSC (gfapGFP+/Sox2+)に、Scratch2（Scrt2）は主に顆粒ニューロン前駆細胞(GNPs)に発現することがわかった。生後 14 日目においても Zeb1 と Scrt2 が順次発現する様子が観察された。それとは対照的に、ニューロン分化に関与する neuronal EMT-TF である Nkx6-2 は、生後の GNPs にのみ発現することが明らかとなった。最近、私たちは電気けいれん刺激(ECS)により海馬顆粒ニューロン新生が亢進し、GABA トランスポーター3 (GAT3)の発現が上昇することを見出した。GAT3 が GABA シグナルを抑制する一方、GABA は EMT を阻害する（Wang et al., Int J Biol Sci, 2021）。EMT-TFs が GNPs に順次発現することから、ECS が GAT3 を介して EMT-TFs の発現を制御することで、ニューロン新生を亢進する可能性が考えられる。今後、より詳細な検討を行う予定である。

1-4 植物由来レクチンを用いた脳血管系の可視化

○黒田えいみ 1、増井暁 1、宇都宮碧 1、髙橋宗春 1、大山恭司 1
1 東京医科大学 組織・神経解剖学分野

IsolectinB4 (IsolB4)と Tomato lectin (TLec)は、両者ともに血管の可視化に用いられる植物由来のレクチンである。今回私たちは、マウス視床下部の発生・発達期、そして成体に至るまで、上記２種のレクチン染色により血管を可視化した。その結果、視床下部において、IsolB4 は発生・発達期の血管を認識するが、成体では TLec の方が血管をよりよく可視化することがわかった。さらに TLec は血管のみならずタニサイトという視床下部神経幹細胞を認識することが明らかとなった。また TLec 染色により２D のみならず３D 画像データを得ることができることもわかった。さらに血管の低酸素への応答を in vivo、ex vivo で可視化することに成功し、血管新生、ミクログリア増生が起きることを示唆するデータを得た。また成体マウス視床下部を HIF 活性化剤 DMOG および TLec 存在下で培養後、血管の３D 画像解析を行ったところ、TLec 陽性の血管密度が高くなることがわかった。このように TLec で血管を生染色することで、血管新生を検出することに成功した。海馬、小脳、その他の臓器についても同様の実験結果を得ている。これらの結果から、TLec による生染色は脳の血管新生を解析するのに簡便かつ有効な方法であると考えられる。現在、ライブイメージングによる脳血管新生の４D 観察を目指している。

1-5 加齢に伴う視床特異的アミロイド陽性封入体の形態と形成機構の解明

○村上友貴矢[1]，髙橋日向[1]，大羽俊太[1]，内田隆史[2]，小野賢二郎[3]，柿田明美[4]，大滝博和[1]
１．東京薬科大・薬・機能形態　２．東京家政大　３．金沢大・医・神経内科
４．新潟大・脳研・病理

本邦は超高齢社会が進み，加齢に伴う神経変性疾患が深刻な社会問題となっている．神経変性疾患の多くでは，中枢神経系への異常なタンパク質の凝集が認められているが，その発生機構や病態との関連は依然として不明な点が多い．近年，我々は，老齢マウスの視床の神経細胞内に Aβ 陽性凝集体を認めた．さらに，ヒト剖検脳を用いて検討したところ，その凝集体は筋硬直性ジストロフィー患者に認められるエオシン陽性封入体と類似した組織学的特徴を有することが明らかとなった．加えて，野生型マウスを用いて視床に出現するアミロイド抗体陽性凝集体の加齢による変化を解析したところ，これらの凝集体は加齢に従い増加することが明らかとなった．電子顕微鏡による観察では，それらは規則性アミロイド様線維を有し，核に付随して膜構造を持たない凝集体であることが確認された．また，これら凝集体の周囲には，高電子密度のリポフスチン様の凝集体を伴うことを見出した．さらに，アミロイド前駆タンパク質（APP）および Aβ を認識する抗体と mRNA 結合タンパク質であり相分離と関連が知られる hnRNPA1 に対する抗体と共染を行った．その結果，APP と hnRNPA1 は核外で共存することが確認された．一方，Aβ と hnRNPA1 は共存しないが，hnRNPA1 陽性反応は Aβ 陽性凝集体を取り囲むように認められた．これらの所見は，Aβ 陽性凝集体の形成に hnRNPA1 を介した相分離が関与している可能性を示した．

2 老化研究の新しい視点：人類の老化を加速する意外な因子とは？

黒尾 誠[1]
1 自治医科大学 分子病態治療研究センター ミネラル代謝研究部

これまでの老化研究には二つの大きな流れがある。種を超えて保存されている長寿のメカニズムの追求と、細胞老化のメカニズムの追求である。しかし、老化の進み方は各々の種に固有の生物学的特徴や生存環境によって大きく変わる。これからの老化研究は「種特異的な老化メカニズムの追求」という新しい視点が必要である。今から 30 年ほど前、我々は早老症を呈する突然変異マウスを発見した。生後 4 週齢頃から動脈硬化、心肥大、サルコペニア、骨量減少、難聴、認知症などを呈し、早死にしてしまう。この突然変異マウスでは、リン恒常性を維持する内分泌系に必須の蛋白をコードする遺伝子（Klotho 遺伝子）が欠損しており、リン恒常性の破綻（リン貯留）が認められた。さらに、Klotho 欠損マウスの早老症は、低リン食を与えてリン貯留を防げば治療できることがわかった。これらの事実から我々は「リンが老化を加速する」という概念に至った。Klotho 遺伝子はリン酸カルシウムの骨をもつ脊椎動物にしか存在しない遺伝子であり、リンは脊椎動物に特有な老化加速因子と考えられる。リンが老化を加速するメカニズムを追求する過程で我々は、リンそのものが原因ではなく、リンがカルシウムと結びついてリン酸カルシウムのコロイド粒子を形成すると、老化を加速する「病原体」に変貌することを見出した。このコロイド粒子は Calciprotein particle（CPP）と呼ばれている。本講演では、CPP を治療標的とした新しい抗加齢医学の可能性について議論する。

3-1 マウスとヒトの性的二型核と第 2 指・第 4 指比（2D:4D 比）の性差に関する種間保存的関係

○森下雅大 1、相羽育人 1、石井寛高 1
1 日本医科大学 大学院医学研究科 解剖学・神経生物学分野

性差に関する研究知見の橋渡しを目指して、性差がある神経核（性的二型核）と胎児期アンドロゲン曝露のマーカーである 2D:4D 比の関係をヒト・マウス間で比較した。ヒトでは、複数のマーカー（calbindin、VIP、SST 等）に対する免疫染色法により性的二型核を探索し、前視床下部間質核 3/4（INAH3/4）において calbindin 細胞がマウス内側視索前核（MPN）と同様の局在および男性優位な性差を示した。2D:4D 比と INAH3/4 の calbindin 陽性領域の面積・細胞数を測定した結果、有意な負の相関を認めた。マウスにおいても 2D:4D 比と MPN の calbindin 細胞が強く相関し、両種とも雄/男性で 2D:4D 比が小さく、MPN/INAH3/4 が大きいという一致したパターンを示した。先行研究でヒト INAH3-4 は性的指向への関与が示唆されているため、マウスでも異性への選好性を測定したところ、2D:4D 比および MPN との強い相関が確認された。これらの結果から、2D:4D 比と性的二型核の関係が哺乳類間で高度に保存されており、胎児期アンドロゲンによる共通の発達メカニズムが存在することが示唆された。さらに、非侵襲的な測定が可能な 2D:4D 比が種を超えた脳の性分化の指標として有用であることが明らかとなった。

3-2 異なる光学顕微鏡モダリティ間での同一部位同定を可能にする光変換マーキング技術の開発

○髙橋慧 1, 2, 小池正人 3, 日置寛之 2,3,4
1 順天堂大・院医・ゲノム再生, 2 順天堂大・院医・脳回路形態学, 3 順天堂大・院医・神経機能構造学, 4 順天 堂大・院医・マルチスケール脳構造イメージング

近年の光学顕微鏡技術の発展により、複数のモダリティを組み合わせた画像取得が可能となった。たとえば、共焦点レーザー顕微鏡で広範囲を撮影した後に、超解像顕微鏡を用いて高い空間解像度で観察する手法などがある。しかし、異なる顕微鏡間で同一の関心領域を繰り返し観察するには、任意の位置にランドマークを設定する技術が求められる。そこで本研究では、紫外光照射により励起・発光波長が長波長側へシフトするフォトコンバージョン現象を利用し、固定脳組織標本で観察部位を記録する手法を検討した。青色発光核染色試薬である DAPI、Hoechst 33258、NeuroTrace Blue（NTB）について、各種浸透液中でのフォトコンバージョン効率を比較した。その結果、90%グリセロール溶液中において NTB 染色脳切片を 405 nm レーザーで励起すると強い光変換が誘導され、青色レーザー励起時に明るい緑色蛍光を発することを見出した。応用例として、共焦点レーザー顕微鏡で神経細胞の樹状突起を三次元撮影した後に、NTB のフォトコンバージョンによって観察位置をマーキングし、構造化照明顕微鏡において同一樹状突起を同定した。そして、スパイン内にて後シナプス部位マーカーの免疫活性の局在を複数個確認した。今後は光電子相関顕微鏡法への応用を含め、本技術の汎用性や利便性についての検討を進めていく。

3-3 筋内腱・骨膜連関の解明へ向けた基礎研究

○廣内英智 1、関谷紗世 1、森田一真 1、関谷 凌 1、石束 叡 1、松永 智 1、山本将仁 2、阿部伸一 1
1 東歯大・解剖、2 東海大・医・解剖

目的：咀嚼筋腱・腱膜過形成症(MMTAH)の病因を解明するためには筋内腱(骨格筋内の腱；ITMs)の発生機序を明らかにする必要がある。しかし，腱研究の主流はアキレス腱などの筋外腱(骨格筋外の腱；ETMs)であり，ITMs の発生機序は明らかにされていない。そこで今回，ITMs の発生におけるその特徴と起源を明らかにすることとした。材料と方法：胎生(E)14.5，E16.5，E18.5 の C57BL6J，Wnt1Cre;Sox9flox/+, Sox9CreERT2;R26tdTomato, Runx2+/-, Wnt1Cre;R26RConfetti マウスを用いた。それぞれのステージの各種マウスの筋内腱を組織学的に観察し，筋内腱の発生を解析した。マウスに関する実験はすべて，東京歯科大学の実験動物委員会によって承認された（承認番号 230104）。結果および考察：筋内腱は E14.5 に初めて下顎骨近傍の筋内に出現し、その後 E16.5，E18.5 にかけて筋内腱は急激に伸長した。また筋内腱の発生初期(E14.5)に，骨膜から連続する筋内腱を構成する細胞に Sox9, Runx2 の発現を認めたが，その後それぞれの転写因子の発現は減少した。Sox9 と Runx2 の筋内腱発生における役割を明らかにするために、それぞれのノックアウトマウス(Wnt1Cre;Sox9flox/+, Runx2+/-)を作出した。その結果、それぞれのマウスで筋内腱の低形成が認められた。Sox9CreERT2;R26tdTomato を用いて E13.5 にタモキシフェンを投与し Sox9 陽性細胞を標識後に E18.5 の筋内腱にて，それらの細胞の系譜解析をおこなった。その結果、筋内腱には tdTomato 陽性細胞が散在的に認められた。すなわちこれらのマウスの結果から，筋内腱の発生には骨由来の細胞が関与することが示唆された。

3-4 In vivo 神経生理学的記録の記録部位を標準アトラスに位置合わせするための脳透明化、画像取得及び画像処理法

○青木亮 1、神垣朱里 2、吉井葵 3、大工桃子 1、杉本翔哉 1、田中康裕 1
1 玉川大・脳科学研究所、2Choate Rosemary Hall、3 三田国際科学高校高等学校

脳領域の機能を詳細に理解するために、神経生理学的記録、組織学的解析、及び行動観察で得られた知見を統合的に理解することはシステム神経科学において重要である。近年の大規模神経生理学データ取得技術や機械学習を用いたデータ駆動型行動解析の進展により、記録された神経細胞の正確な解剖学的位置情報の特定がこれまで以上に求められている。本研究では、二光子イメージング、細胞外電気生理記録、及び広視野顕微鏡の大規模神経活動記録手法で活動が記録された神経細胞や画像領域を標準化された解剖学的座標系にマッピングする手法の確立を試みた。本手法は、1. Fast 3D Clear 法によるマウス脳組織の透明化手法、2.ライトシート蛍光顕微鏡 descSPIM を用いた全脳 3 次元イメージング手法、3.画像データをマウス標準脳へ位置合わせするための画像解析法から構成される。我々は本手法を用いて、遺伝的カルシウムプローブ GCaMP を用いた二光子顕微鏡撮像、脂溶性蛍光色素で標識した Neuropixels 電極の挿入部位、及び広視野顕微鏡で観察された背側皮質の広範囲脳画像の、標準脳における正確な位置情報を得ることに成功した。本手法は拡張性が高く安価かつ容易に導入可能である。様々な研究者のニーズや他の動物種への応用など、今後の展開と課題についても併せて議論したい。

3-5 小脳顆粒細胞の移動および突起形成における Oxysterol-binding protein (OSBP)-related protein (ORP)6 の機能解析

○望月 信弥 1, 西村 渉 1,髙橋 将文 1, 周 如贇 1, 三木 玄方 1, 野田 泰子 1
1 自治医大・医・解剖学

脂質は生体膜の形成だけでなくシグナル伝達を介した神経細胞の分化や移動に重要である。Oxysterol binding protein (OSBP)-related protein (ORP) ファミリーは、異なる膜小器官の間で脂質輸送に働くタンパクである。我々はこれまでに、ORP6 が、小脳顆粒細胞内の小胞体と細胞膜との間でホスファチジルイノシトール-4-リン酸とフォスファチジルセリンの対向輸送を担うことを報告した。しかしながら、生体内における ORP6 の機能は不明である。そこで我々は、ORP6 の生体機能解明を目的に、発達期マウスの小脳における ORP6 の発現動態を解析した。小脳顆粒細胞の分化や移動の時期に ORP6 の発現量が一過性に増大した。次に、未成熟マウスおよび初代培養小脳顆粒細胞を用いて、ORP6 が神経細胞の移動や突起形成に及ぼす影響を調べた。ORP6 阻害下では顆粒細胞の突起の数と長さが異常に増大し、移動が阻害された。さらに、ORP6 発現抑制下の初代培養小脳顆粒細胞を用いてプロテオーム解析を行い、PTEN の発現低下と βIII チューブリンの増加を認めた。以上より、ORP6 は PTEN を介して小脳顆粒細胞の移動、神経突起の数および長さの制御に関与する可能性が示唆された。

4-1 高脂肪食飼育マウスの糞移植によるスンクス腸内細菌叢の変化

○Yuhao Zeng、Ting Yang、易 勤
東京都立大学 人間健康科学健康科学研究科 フロンティアヘルスサイエンス学域

スンクス（Suncus murinus）は天然の抗肥満実験動物として知られ、発酵腔室や盲腸を欠く単純化された消化管構造を有する。その腸内細菌叢は Bacillota 門が優勢で Bacteroidetes 門がほとんど含まず、腸内細菌叢移植（FMT）後のスンクス腸内環境の変化およびその機序は不明である。本研究では、高脂肪食（HFD）で飼育した C57BL/6 マウス（n=6）の糞をスンクス（n=6）に移植し、スンクスの体重、血糖などの変化を 8 週間観察し、16S rRNA 遺伝子解析によって腸内細菌叢（移植前、移植後 4 週、移植後 8 週）を分析した。結果として、2 群とも体重および糖耐量に明らかな変化が認められなかったが、腸内細菌叢の PCoA 解析により、HFD 群には移植前後で明確な分離が認められた。Shannon 指数（多様性は、HFD 群では移植後安定して上昇したが、対照群では一旦低下後に上昇する二相性パターンを示した。ASV richness（豊かさ）でも対照群に比べ、HFD 群は明らかな上昇の変化が観察された。移植前の状態と比較して、門レベルでは、HFD 群では Bacillota 門が段階的に増加し、短鎖脂肪酸産生環境が維持された一方、炎症誘導菌 Pseudomonadota 門が減少した。一方、対照群では Bacillota 門が減少し Pseudomonadota 門が増加した。属レベルでは、HFD 群で Paraclostridium 属が減少し Romboutsia 属が増加、対照群では逆の傾向を示した。また、両群において Turicibacter 属の一過性増加が確認され、種間 FMT による初期適応応答を示唆した。HFD 飼育マウスの糞移植はスンクス固有の高 Bacillota 菌叢構造を変化させず、スンクスの腸管は肥満型マウスの腸内細菌叢に対して特異的な抵抗性を示した。

4-2 膜修復後に誘導されるマクロパイノサイトーシス

○小西真衣 1、江上洋平 2、川合克久 2、荒木伸一 2、三宅克也 3
1 国福大院・医、2 香川大・医・組織細胞、2 国福大・成田基医セ

細胞膜は傷つくと数秒で膜修復するが、高濃度の細胞外 Ca2+により破壊された細胞質を再生する過程は明らかではない。本研究では膜修復後の細胞質再生について検討を行った. BS-C-1 に FITC-Lys Dextran,10kD (Fdx)を加え膜損傷を与えると，Fdx が細胞内に流入して細胞質内に広がった．流入した Fdx は数時間～数日かけて細胞内小胞に濃縮された。Fdx を HRP に置き換え膜損傷を与え，透過型電子顕微鏡で観察すると、膜修復３０分後からマクロパイノサイトーシス様の細胞膜の激しい取り込み像が観察された。マクロパイノサイトーシス阻害剤（EIPA）を 10uM の濃度で添加した培養細胞に膜損傷を与え観察したところ、コントロール群と比較して Fdx 細胞内小胞の数が減少した。30uM の EIPA を添加すると数日後には細胞は生存しなかった。LIVE イメージングにより，マクロパイノサイトーシス関連タンパク rab35-GFP および FM4-64 を用いて膜修復後の膜取り込み現象を観察した．損傷後に細胞膜により形成された小胞が細胞内部に向かって凝集されていく様子が明らかであり，膜損傷後にマクロパイノサイトーシスが引き起こされたと考えられた。

4-3 細胞膜修復時の PLAAT ホスホリパーゼによるオルガネラ分解とブレブ誘導

○髙橋まい 1、川合克久 2、宇山徹 3、佐々木すみれ 3、上田夏生 3、荒木伸一 2、三宅克也 4
1 国福大・成田保健医・医検査、2 香川大・医・組織細胞、3 同・生化学、4 国福大・成田基礎医セ

Phospholipase A and acyltransferase(PLAAT)ファミリーはユニークな生物学的機能を持つ新規脂質代謝酵素である．PLAAT は Pex19p と結合しペルオキシソーム膜タンパク質と相互作用する能力を抑制する．また，PLAAT ホスホリパーゼによるオルガネラ分解は，水晶体の最適な透明度と屈折機能を達成するために不可欠の酵素群であると報告されている．このメカニズムはマクロオートファジーとはことなるメカニズムである. 本研究は, 培養細胞またはマウス骨格筋に Lgp120, LC3, SKL，PLAAT1 および PLAAT3 を発現させ，細胞膜損傷時の動態を多光子レーザー顕微鏡により GFP-LIVE イメージングで観察した．膜修復時，リソソーム，オートファゴゾーム，ペルオキシソームは膜損傷部に融合しなかった．細胞膜損傷後に PLAAT1&3 が細胞膜下に集まり，細胞膜損傷部が膨張し大きなブレブを形成した．また，遺伝子導入したマウス分離骨格線維を２光子レーザーで損傷したところ，PLAAT1&3 が損傷後すぐに膜損傷部に集合し，その GFP 蛍光局在を継続した．この結果から，細胞膜損傷により PLAAT family が活性化され，膜損傷直下の細胞小器官および集まった小胞に融合して分解し，細胞膜緊張が緩み大きなブレブを形成したと思われた.

4-4 高速かつ広視野イメージングのためのライトシート顕微鏡の開発と Danionella cerebrum への応用

○原口結衣 1、加藤孝信 2、岡田康志 1,2
1 東大・院理・物理、2 東大・院医・細胞生物

Danionella cerebrum は、2021 年に同定された体長 10-15mm の小型魚類である。さらに、成魚においても全身が透明で、ゼブラフィッシュで確立された遺伝学的手法が適用できることから、光学イメージングに適した新たなモデル魚として有望である。一方で本種の観察に適した顕微鏡法は確立途上であり、技術的発展が望まれる。そこで本研究では、本種の観察に適したライトシート顕微鏡法の検討を目的とし、シートを形成するビームの方式が異なる 3 種類のライトシート顕微鏡法(Digital scanning, Axially swept, and Bessel beam light-sheet microscopy)について比較を行った。ライトシート顕微鏡は、光のシートで試料を一断面ずつ照らして撮影することで広視野かつ高速で三次元蛍光観察が可能な顕微鏡法である。まず、生体内でのビーム評価に適した蛍光染色条件探索として 4 種類の色素を比較したところ、Acridine Orange による均一な標識を確認した。続いて、各ビームについて、色素溶液中および生体内での輝度分布および半値全幅を比較した。その結果、生体内深部での半値全幅が Axially swept Gaussian beam で最も狭く、z 軸方向に高い分解能が得られることが示唆された。今回の結果を基に構築した axially swept light sheet microscope では、視野が 4.7 mm ×2.4 mm、z 軸分解能は最良で約 5 um、撮影速度は 15 フレーム/秒での撮影が可能である。

5-1 腎不全がもたらす副甲状腺細胞変化

○辰巳徳史 1、岡部正隆 1
1 慈恵医大・解剖

副甲状腺は血中カルシウム濃度を適切に調節する重要な器官である。一方、慢性腎不全（CKD）に起因する二次性副甲状腺機能亢進症（secondary hyperparathyroidism: SHPT）は高カルシウム血症を引き起こし、種々の合併症の原因となるため、その発症機構の解明が求められている。しかしながら、副甲状腺細胞の詳細な解析は進んでおらず、特にヒトにおける研究では、切除された病的副甲状腺を用いた解析が中心であり、正常な副甲状腺が腎不全によりどのように病的状態へと変化するかは明らかでない。そこで本研究では、副甲状腺を可視化可能なマウスを用いて、正常および慢性腎不全モデルにおける副甲状腺細胞の single-cell transcriptome 解析を行い、両群の比較を通じて細胞の変化を検討した。その結果、慢性腎不全は副甲状腺細胞の遺伝子発現プロファイルに顕著な変化をもたらすことが明らかとなった。今回の発表では、得られた知見を紹介し、副甲状腺の病態進展に関する理解を深めたい。

5-2 脊椎動物の咽頭や体表に由来する細胞や器官における Glial Cells Missing 遺伝子の進化的役割

○庄野孝範 1、辰巳徳史 1、ミヤケツトム 1、岡部正隆 1
1 慈恵医大・解剖

四肢動物の陸上生活や魚類の水生生活は、環境の変化に応じて細胞や器官が進化してきた結果である。この過程において、転写因子をコードする gcm（glial cells missing）遺伝子は重要な役割を担っている。脊椎動物には gcm1 と gcm2 の 2 つの gcm 遺伝子が存在し、我々はこれまでに、魚類の鰓に由来する gcm2 が、四肢動物における副甲状腺の進化的獲得に寄与したことを報告してきた。現在、我々はもう一方の gcm 遺伝子である gcm1 の進化的役割の解明を進めている。哺乳類においては、gcm1 は胎盤絨毛、胸腺、腎臓で発現することが知られるが、他の脊椎動物における発現様式は未だ明らかにされていない。そこで我々は、軟骨魚類、原始的条鰭類および両生類を対象に gcm1 発現の比較解析を行った。これらの種の胚を用いた RNA in situ ハイブリダイゼーション解析の結果、gcm1 は魚類や両生類の鰓の上皮で進化的に保存された発現を示すことが明らかとなった。一方、原始条鰭類であるポリプテルスの胚では、gcm1 は鰓に加え、卵黄嚢の体表に散在する細胞でも発現していた。これらの細胞は液胞様構造を有し、他の魚類では確認されていない興味深い特徴を示していた。今回の観察結果を踏まえ、gcm1 発現細胞の形態に見られる種間差に着目し、咽頭由来器官の進化および哺乳類の胎盤を含む体表細胞における gcm1 発現の意義について考察する。

5-3 先天性横隔膜ヘルニアを含む多発奇形を呈した胎児豚の症例

○易 勤 1)、Ting Yang1)、渡部莉奈 1)、坂本雅貴 1)、Yizhen Zhang1)、夏山裕太郎 2)、時田幸之輔 3)
1) 東京都立大・人間健康科学・FHS 学域 2) 東京医大・人体構造学 3) 埼玉医大・保健医療・理 学療法

先天性横隔膜ヘルニアの発生率は 1〜4/10,000 人であり、日本国内では年間約 200〜300 人の新生児が発症し、約 10%の症例では子宮内死亡が認められる。多くは単独で発症するが、Fryns 症候群などの遺伝性症候群に伴って発症することもある。我々は解剖学実習用胎仔ブタ標本において、Bochdalek 孔ヘルニアを含め多発奇形を呈した症例に遭遇した。対象は頭殿長 35 cm の雄胎仔である。横隔膜左後外側部に後縁 20 mm、最大径 39 mm の欠損が認められ、胃・脾臓・盲腸・小腸の近位側 4/5 がヘルニア孔を通じて胸腔内に逸脱し、心臓および食道の後方に偏位していた。両肺は著明に低形成を示し、通常の 1/10 程度の大きさであった。さらに、胸大動脈は胸椎の右側を走行していた。腹腔内には十二指腸・膵臓・盲腸を除く大腸と小腸の遠位側 1/5 が横隔膜ヘルニア孔の腹側に位置していた。S 状結腸は骨盤部の腫大した馬蹄腎の腹側かつ膀胱の背側で直腸に続いた。馬蹄腎では共通の腎門から 1 本の拡張した尿管が膀胱の左側に連続していた。また、腎門部の腎静脈は左右の内腸骨静脈に合流していた。さらに、右側の精巣・精索が欠損していた。本症例は両肺の形成不全を伴うことから、出生後の生存可能性は極めて低いと考えられる。1040 体に及ぶ胎仔ブタ解剖経験の中で、本症例は初めてのものであり、極めて稀な所見だと考える。ヒトの臨床報告にはこのような同時多発奇形の症例報告は少なく、ヒトの Fryns 症候群に相当するか更なる解析を進めたい。

5-4 神経細胞の極性形成における Rab6 およびそのエフェクター分子によるシナプス小胞蛋白質の極性輸送の解析

○國井政孝 1, 2、原田彰宏 2
1 群医福大・医療技術・解剖学、2 大阪大・医・細胞生物学

神経細胞における軸索と樹状突起という極性は、脳の組織形成や神経伝達に必須である。細胞極性の形成・維持に重要なメカニズムの一つに、極性輸送と呼ばれる、細胞内での方向性を持った蛋白質輸送がある。本研究では細胞内輸送制御分子の一つである Rab6 に注目した。Rab6 は、ゴルジ体から細胞膜へ向かう蛋白質の順行性輸送や、細胞膜からゴルジ体への逆行性輸送の制御に関与すると言われているが、組織・個体レベルでの機能はほとんど解明されていない。そこで我々は Rab6a/b の二重欠損（Rab6 DKO）マウスを作製した。その結果、Rab6 DKO マウスでは大脳皮質や小脳の形成不全が生じ、胎生後期の Rab6 DKO の大脳皮質では中間帯の形成不全が認められた。Rab6 DKO ニューロンでは軸索伸長が障害され、極性形成に異常が認められた。また、シナプス小胞蛋白質であるシナプトフィジンやシナプトタグミン 1 がゴルジ体近傍へ蓄積していた。これらの結果から、Rab6 はシナプス小胞前駆体の軸索への輸送を介して神経細胞の極性形成に機能していることが示唆された。さらに最近では Rab6 の下流で機能するエフェクター分子の一つがシナプトタグミン 1 と結合することを見出した。本会では Rab6 とそのエフェクター分子によるシナプス小胞蛋白質の軸索への極性輸送機構について、最近の成果を報告したい。

5-5 Revealing the functional consequence of Purkinje cell selective myelination

○Batpurev Battulga1, Yasuyuki Osanai1, Reiji Yamazaki1, Hirotaka Nagai1, Nobuhiko Ohno1,2
1Division of Histology and Cell Biology, Jichi Medical University
2Division of Ultrastructural Research, National Institute for Physiological Sciences

Oligodendrocytes myelinate neuronal axons in the central nervous system, enhancing conduction velocity and improving the efficiency of neuronal signal transmission. In the cerebellar white matter, oligodendrocytes preferentially myelinate Purkinje cell axons, particularly during the early postnatal developmental period. However, the functional significance of this selective myelination in the early developmental period remains largely unknown. Purkinje cell axons are the primary output fibers from the cerebellar cortex and play an important role in cerebellar functions, including motor coordination and cognitive processing. Therefore, disruption of selective myelination in Purkinje cell axons in the early developmental period could lead to cerebellar dysfunction, including motor discoordination and cognitive deficits. To test this hypothesis, we used a transgenic PLP-CreERT: Myrf-flox mouse model, which allows for the selective impairment of oligodendrocytes differentiated during the early postnatal period. We found that disruption of myelination during the early postnatal period induces intention tremor between postnatal days 11 and 16 and leads to significant motor deficits in adulthood. These phenotypes were assessed using the beam walk test, which evaluates motor coordination and balance. Next, we performed serial immunoelectron microscopy analysis using serial block-face scanning electron microscopy (SBF-SEM) to analyze axonal myelination on calbindin positive Purkinje cell axons and non-calbindin axons. We found that disruption of myelination in early postnatal period selectively increased G-ratios in Purkinje cell axons, indicating persistent, cell type-specific myelination deficits. The findings suggest that oligodendrocyte disruption during critical developmental windows can lead to long-term structural and behavioral abnormalities, highlighting the important role of timely myelination in maintaining normal motor behavior later in life.