

# 講演要旨

[セッション1] 学生セッション

## S1-1 両側胸壁内面に外側肋骨動脈を認めた一例

○濱崎 恵<sup>1</sup>, 渡部 功一<sup>2</sup>, 嵯峨 堅<sup>2</sup>, 田平 陽子<sup>2</sup>, 岩永 譲<sup>2</sup>, 吉田 大地<sup>3</sup>, 能間 国光<sup>3</sup>, 山木 宏一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>久留米大学医学部医学科第3学年, <sup>2</sup>久留米大学医学部医学科解剖学講座 (肉眼・臨床解剖部門),

<sup>3</sup>久留米大学大学院医学研究科修士課程

我々は、平成29年度久留米大学医学部系統解剖実習において、発達した両側の外側肋骨動脈を認める症例を経験したので報告する。症例は、66歳男性で、死因は敗血症であった。

左内胸動脈は、左甲状腺動脈との共通幹として左鎖骨下静脈から分枝していた。胸腔内では、通常通り胸骨外縁付近の胸壁内面を下降していたが、第2肋骨付近で生前の手術によるものと思われる瘢痕に覆われて断絶していた。左外側肋骨動脈は、第1肋骨内側縁で内胸動脈から分枝して、前腋窩線付近の胸壁内面を第4肋骨下縁まで下降していた。左外側肋骨動脈が分枝した直後の左内胸動脈と左外側肋骨動脈の径は、それぞれ3.1mmと2.0mmであった。右内胸動脈は、腕頭動脈から分岐した直後の右鎖骨下動脈から分枝していた。胸腔内では、通常通り胸骨外縁付近の胸壁を下降して前胸壁下縁で右上腹壁動脈となっていた。右外側肋骨動脈は、左側同様、第一肋骨内側縁の高さで右内胸動脈から分枝して、前腋窩線付近の胸壁の内面を第3肋骨下縁まで下降していた。右外側肋骨動脈が分枝した直後の右内胸動脈と右外側肋骨動脈の径は、それぞれ2.8mmと1.5mmであった。過去の報告によると、外側肋骨動脈は8～30%に存在するとされている。Adachi (1928) は、86体172側を調査し、16体19側(11%)にこれを認め、3体は両側性、4例は右側、9例は左側であったと報告している。しかし、我々の経験では本症例の様な発達した外側肋骨動脈は、非常に稀であると考えられる。発生学的には、五十嵐ら(1990)が報告しているように、背側大動脈の節間動脈が体幹の外側部に縦吻合を形成したものであると考えられた。

【開示すべきCOIなし】

## S1-2 マウス線条体尾側部に新たに見出した三層構造領域と interneuron の分布様式

○永吉 一生, 宮本 雄太, 福田 孝一

熊本大学 大学院生命科学研究部 形態構築学分野

マウス線条体にはストリオソーム・マトリックス構造という形態構築学的に特徴的な構造がある。マウス線条体の尾側領域はこのストリオソーム・マトリックス構造が存在しない領域であり、これまで詳しい解析はなされていなかった。本研究ではマウス線条体の尾側領域には Substance P (SP), Enkephalin (ENK) で染め分けられる三層構造領域が存在することを新たに見出した。この三層構造領域は SP 強陽性、ENK 陰性である Medial area、SP 陰性、ENK 強陽性である Lateral area、SP 陰性、ENK 弱陽性である Intermediate area からなる。三層構造領域の吻尾軸における範囲を同定した結果、前交連最大部から尾側に 1280 ~ 1720  $\mu$ m の間に位置し、前後 440  $\mu$ m の領域に存在することがわかった。さらに、線条体に存在する4種類の interneuron である、Parvalbumin (PV), Nitric oxide synthase (NOS), Calretinin (CR), Choline acetyltransferase (ChAT) がそれぞれ陽性となるニューロンの細胞密度を、ダイセクター法を用いて三層構造領域で調べた。NOS(+) ニューロンは三層構造領域に様に分布していることがわかった。PV(+), CR(+), ChAT(+) ニューロンはそれぞれ、三層構造の各領域において細胞密度が異なる傾向がみられたので、現在多重比較により検討中である。一方、各領域における interneuron の細胞密度の比較も行っている。

これらの結果により、線条体尾側領域には SP, ENK を用いて染め分けられる三層構造領域が新たに存在し、その領域における interneuron にはそれぞれ特徴的な局在があることが示唆された。

### S1-3 マウス線条体内の新しい領域区分における parvalbumin 陽性 GABA ニューロンの分布様式

○片山 佐知子, 宮本 雄太, 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

線条体には以前より striosome と呼ばれる特有の patch 状の構造が知られている。当研究室では、染色性によって striosome を 5 種類に分類できること、さらには striosome-rich part の背側および外側に striosome のない striosome free space が存在することを最近明らかにした (Miyamoto et al., Brain Structure and Function, in press)。さらに、free space は大脳的一次運動野・感覚野からの入力を受け、striosome-rich part は連合野からの入力を受けることを見出し、機能との対応が示唆される。

Parvalbumin(以下 PV)陽性 GABA ニューロンは線条体の主要な介在ニューロンの一つである。PV ニューロンは線条体内に広く分布し、投射ニューロンである Medium spiny neuron の細胞体近傍でシナプス結合を形成し、投射ニューロンの活動を制御することが知られている。このニューロンの線条体内の分布は一様ではない。そこで、線条体を striosome-rich part においては背外側 (DL)、背内側 (DM)、腹内側 (VM)、の各領域に分け、さらに striosome-free space(Free) を加えた 4 領域で PV ニューロンの細胞体数を単位体積あたりの密度として比較した。さらに、樹状突起のトレースを行った。細胞密度は DL が最も高く、最も低いのは VM であった。DM と Free は二者の中間で同程度であった。これは見た目の染色性と大きく異なっている。最も染色の強い Free では樹状突起が他領域よりも発達していることが示唆され、樹状突起についての解析を現在行なっている。

以上より、PV ニューロンによる投射ニューロンの働きの制御は、線条体内部の領域によって異なる可能性が示唆される。

### S1-4 マウス骨組織におけるメカノセンサーイオンチャネルの発現と炎症

○高 瑋琦, 曹 愛琳, 西山 めぐみ, 吉本 怜子, 本田 裕子, 内野 加穂, 西田 寛汰, 田原 愛理, 村田 祐造, 城戸 瑞穂  
佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学

**【目的】** 骨は、常に重力や筋収縮負荷などの機械的負荷の影響を受け、機械的負荷に応じてその微細構造を柔軟に変化させることが知られている。骨形成への適刺激は力学的な負荷であることはよく知られているが、その機構は未だ明らかとは言えない。力学的な負荷を生物学的シグナルに変換する分子実態は長く不明であったが、近年、細胞膜への力学負荷の大きさに応答するメカノセンサーイオンチャネルが報告された。そこで、マウスを対象として発現を調べた。

**【方法】** 6 週齢の雄 C57BL/6N マウスを 4%パラホルムアルデヒド含有リン酸緩衝液にて灌流固定後、大腿骨を採取、凍結切片を作製し免疫染色を施した。さらに、炎症モデルとして卵白アルブミン (OVA) および水酸化アルミニウム (Alum) を腹腔投与後、OVA 溶液を吸入させ、喘息モデルとした。対照群は、Alum のみ、あるいは PBS を投与した。

**【結果】** 大腿骨骨端の前骨芽細胞、骨芽細胞、骨細胞、破骨細胞にメカノセンサーイオンチャネル Piezo2 が強く発現していた。また骨基質合成中と思われる骨芽細胞の細胞突起に反応が多く認められた。喘息群では、骨における I 型コラーゲンおよび Piezo2 の発現は減少していた。

**【考察】** 骨形成へのメカノセンサーイオンチャネルの関与が示唆された。さらに、喘息モデルに見られる骨減少にメカノセンサーチャネルが関与することも考えられた。

**【開示すべき COI なし】**

## S2-1 マウス口蓋形成におけるメカノセンサーチャネル発現

○本田 裕子, 曹 愛琳, 吉本 怜子, 西山 めぐみ, 高 瑋琦, 内野 加穂, 西田 寛汰, 田原 愛理,  
村田 祐造, 城戸 瑞穂  
佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学

口蓋裂は、出生児に認められる頻度の高い先天異常である。口蓋裂を呈する児は呼吸・哺乳・構音・咀嚼・嚥下などの生命維持に関わる機能に障害を伴うことから、その機構の解明は重要な課題である。口蓋形成は、口蓋突起がダイナミックに移動・癒合する力学的事象であるが、力学的観点からの理解は進んでいない。近年、メカノセンサーとして新たにイオンチャネル群が同定され注目されている。私たちは、メカノセンサーイオンチャネルに遺伝子変異を伴うヒトでは口蓋裂の発生頻度が高いと報告されたことに着目し、マウス口蓋癒合前後におけるこれらメカノセンサーの発現動態を知ることで、口蓋形成過程への関与を明らかにすることを目的とした。

胎生 13.5、14.5、15.0、15.5 日齢の C57BL/6 マウスを浸漬固定後、in situ hybridization 法および免疫組織染色を行い、マウス口蓋形成過程におけるメカノセンサーチャネルの発現を観察した。

口蓋癒合前後の口蓋、舌の上皮および間葉組織に異なるメカノセンサーが、時期および部位を変化させながら発現していたことから、メカノセンサーチャネルが口蓋突起癒合に伴うメカノセンシングを担い、癒合に影響している可能性が示唆された。

【開示すべき COI なし】

## S2-2 非筋ミオシン II による上皮細胞内張力は歯胚上皮の陥入、形態形成に必要である

○山中 淳之, 岩井 治樹, 倉本 恵梨子, Ashis Dhar, 後藤 哲哉  
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科機能形態学分野

【目的】 ミオシン II は、軽鎖がリン酸化されると重合し双極性のフィラメントを形成して、アクチン細胞骨格を収縮させる。非筋細胞においても、ミオシン II は局所的に重合し、細胞内張力を生じさせる。歯胚上皮の形態がダイナミックに変化する歯の初期発生過程では、歯胚上皮内の張力が正常な形態形成にとって重要な働きをもっていると考えられるが、その詳細は不明である。本研究の目的は、歯胚上皮の形態形成初期における非筋ミオシン II の役割を明らかにすることである。

【方法】 胎生 12.5 日齢 (E12.5) のマウスの下顎を切り出し、マトリゲル上で器官培養を行った。培地にミオシン II の阻害剤 Blebbistatin を添加し、歯胚の形態形成の変化を観察した。また、上皮特異的なミオシン II の働きを調べるために、Keratin14 発現細胞でミオシン II 重鎖をコードする遺伝子 Myh9 と Myh10 を欠損させたコンディショナルノックアウト (KO) マウスを使って、歯胚の形態形成の異常を観察した。

【結果と考察】 野生型マウスの切歯歯胚は E12.5 で帽状期初期の状態にあり、その後さらに歯胚上皮が間葉中へ増殖しながら陥入していく。ミオシン II 阻害剤を添加した培養歯胚においては、上皮の間葉中への陥入が進行せず内外側径が増大した。基底層と基底上層との区別が不明瞭になり、基底層に集中していた増殖活性が、上皮内に一様に分布するようになった。上皮特異的な Myh9 KO マウスでは、歯胚上皮の陥入が野生型より浅くなった。さらに、Myh9; Myh10 ダブル KO マウスでは、陥入が進行せず、阻害剤添加の培養歯胚と同様に、歯胚上皮の形態形成が阻害された。以上のことから、上皮細胞における非筋ミオシン II の働きが、歯胚上皮の間葉中への陥入、その後の形態形成にとって必須であることが明らかになった。

## S2-3 口唇裂発症モデルマウスにおける遺伝-環境相互作用の解析

○中富 満城, 片岡 真司, 豊野 孝, 瀬田 祐司  
九州歯科大学歯学部 健康増進学講座 解剖学分野

**【背景】** 口唇裂は顎顔面領域で最も発症頻度の高い先天異常の1つであるが、その発症の分子機構については不明な点が多い。先天異常の成因として遺伝-環境多因子閾値モデルが提唱されているものの、両者を複合した研究モデルは充分得られていない。そこで本研究においては遺伝要因としてヒトの口唇裂の原因遺伝子として知られている *Msx1* 変異マウスを用い、環境要因として種々の先天異常を惹起する事が知られている低酸素負荷を組み合わせる事により、遺伝-環境相互作用研究モデルを構築して解析を行った。

**【方法】** *Msx1*<sup>+/-</sup> マウスの雌雄を交配し、胎齢 10 日目および 11 日目の妊娠母獣に低酸素負荷を与え、胎仔を摘出して組織学的に解析した。低酸素負荷の方法として不整脈を誘発して母体と胎仔に低酸素状態を惹起する事が知られている抗てんかん治療薬のフェニトイン (PHT) の腹腔内投与と、酸素濃度可変飼育装置による低酸素濃度下での飼育を用いた。

**【結果】** 通常酸素濃度下の *Msx1*<sup>-/-</sup> 胎仔の内側鼻突起において *Bmp4* 発現の低下および *Bmp* シグナルを構成する *pSmad1/5* 発現の有意な低下が観察され、走査電顕による解析で内側鼻突起の伸長方向の変異が認められた。低酸素負荷群では野生型と比較して *Msx1*<sup>-/-</sup> 胎仔において有意に高確率に口唇裂を発症した。

**【考察】** *Msx1* 変異という遺伝要因により内側鼻突起の形態変化が生じ、低酸素負荷という環境要因を加える事で口唇裂が誘導された事から、ヒトにおいても多因子の相加効果により口唇裂が発症する可能性が示唆された。

**【開示すべき COI なし】**

## S2-4 骨転移性乳癌細胞由来細胞外小胞を介した破骨細胞制御

○上原 範久<sup>1</sup>, 久本 由香里<sup>1</sup>, 久木田 明子<sup>2</sup>, 山座 孝義<sup>1</sup>, 久木田 敏夫<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>九州大・院歯・分子口腔解剖学, <sup>2</sup>佐賀大・医・微生物学

癌骨転移の成立・進展において、癌細胞由来分泌因子による破骨細胞の活性化とそれに伴う骨破壊が、癌細胞への栄養供給と増殖環境の提供に大きく寄与している。近年、癌細胞より分泌される細胞外小胞 (Extracellular Vesicles:EV) が、周辺細胞への伝搬を介して癌の悪性化に寄与することが報告された。しかしながら、癌細胞由来 EV を介した破骨細胞との細胞間相互作用の実態は未だ解明されていない。本研究では、骨転移性のマウス乳癌細胞 (4T1) と非転移性乳癌細胞 (67NR) より分泌された EV を単離し、破骨細胞分化・機能に及ぼす影響を検討した。マウス骨髄細胞を用いた RANKL 刺激 *in vitro* 破骨細胞分化誘導実験の結果、非転移性乳癌細胞 (67NR) 由来 EV (67NR-EV) 処理による TRAP 陽性破骨細胞形成は、EV 未処理と同等であったが、4T1-EV 処理により TRAP 陽性破骨細胞数の顕著な増加が観察された。EV の骨吸収能に対する影響は、象牙切片上にて破骨細胞の培養を行い、吸収面積の計測により検討した。その結果、67NR-EV と比較して 4T1-EV 添加により象牙切片上の吸収面積の顕著な増大が確認された。さらに、EV の破骨細胞生存シグナルへの影響を検討した結果、67NR-EV と比較して 4T1-EV 処理では破骨細胞のアポトーシスの顕著な抑制が観察された。4T1-EV による破骨細胞アポトーシス抑制において、アポトーシス抑制タンパクである Bcl-2、Bcl-X<sub>L</sub> の発現に変化はみられなかったが、アポトーシス促進タンパクである Bim および活性型 Caspase-3 の顕著な発現低下が確認された。以上の結果より、骨転移性乳癌細胞由来 EV は破骨細胞の分化・骨吸収能および生存促進効果を有する新規細胞間コミュニケーションツールとして機能することが示唆された。

## S2-5 歯根膜線維束の3次元組織形態計測

○平嶋 伸悟<sup>1,3)</sup>, 金澤 知之進<sup>1)</sup>, 都合 亜記暢<sup>2)</sup>, 岡山 聡子<sup>1,2)</sup>, 宮園 佳宏<sup>3)</sup>, 太田 啓介<sup>2)</sup>, 楠川 仁悟<sup>3)</sup>, 中村 桂一郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 久留米大学医学部解剖学講座 顕微解剖・生体形成部門, <sup>2)</sup> 久留米大学 先端イメージング研究センター,

<sup>3)</sup> 久留米大学医学部 歯科口腔医療センター

**【背景】** 歯根膜はコラーゲン線維を主体とし、咬合や咀嚼等の歯の機能にとって必須の組織である。これまでに歯根膜細胞の特性や、歯根膜線維の組成などの分子生物学的な解析は行われてきたものの、歯根膜の主体である歯根膜線維束の形態学的特徴は、技術的な問題点から未だ不明な点が多い。そこで、我々はメゾスケールでの構造解析を可能とする FIB / SEM を用いて、歯根膜線維束の解析を行った。

**【方法】** C57BL/6 マウスを用い、歯根膜を含む下顎骨を固定・脱灰・*en bloc* 染色し、EPON812 樹脂に包埋した。その後、FIB/SEM (Quanta 3D FEG, FEI) を用い、歯根膜線維束について水平線維群・斜走線維群・根尖線維群の3群に分け、定量的に3次元構造解析した。

**【結果】** 歯根膜線維束は周囲を薄い細胞質によって包まれており、線維束内部に細胞の突起が存在した。また、その形態は単純なロープ状ではなく、複数の枝分かれした形態をしていた。水平線維群の線維束断面の長軸、短軸、面積は他の領域よりも大きく、有意な差があった。

**【考察】** 歯根膜線維は一断面の観察では特定の方向性をもって、配列していることが観察される。その形態はロープ状であることが推測されるが、今回の我々の解析で、歯根膜線維束は分岐を複数持ち、一様な太さで分布しているのではないことがわかった。また、歯牙は水平線維群によって強固に骨に固定され、“slingshot-like” 構造をとっていることが想定される。我々は歯根膜細胞の3次元形態も解析し、細胞間ネットワークを形成していることを示してきた。今後細胞間ネットワークと歯根膜線維形成との関連性の解析を検討している。

## S2-6 マウスアミノ酸受容体 T1R1 遺伝子の転写調節における KLF5 の機能解析

○豊野 孝, 片岡 真司, 中富 満城, 瀬田 祐司  
九州歯科大学歯学部 健康増進学講座 解剖学分野

生体内においてアミノ酸(うま味)受容体 T1R1 は、消化器系、筋組織および各種の臓器においてその発現が認められている。しかしながら、その転写調節機構の詳細は明らかになっていない。そこで、本研究では筋芽細胞株 C2C12 を用いて、マウス T1R1 遺伝子プロモーター領域中に存在する転写活性化配列に結合する転写因子の機能解析を行った。

マウス T1R1 遺伝子プロモーター領域中の転写活性化配列中(開始コドン上流 -148bp ~ -91bp)には、SP/KLF ファミリーが結合する GT-box が存在していた。さらに、ヒト、イヌおよびブタの T1R1 遺伝子の同じ領域においても GT-box が認められた。そこで、SP/ KLF ファミリー (Sp1, Sp3, Sp4, KLF2, KLF4, KLF5) の過剰発現を行い、リアルタイム PCR 法を用いて T1R1 遺伝子の発現量を定量したところ、KLF2, KLF5, Sp3 において発現量の増加が認められた。次に RNAi 法を用いて KLF2, KLF5, Sp3 の発現阻害を行ったところ、KLF5 において T1R1 遺伝子の発現量の低下が認められた。さらに ENCODE データベースの Chip-seq データーを検索したところ、C2C12 細胞において KLF5 の GT-box への結合が認められた。

以上の結果より、マウス T1R1 遺伝子のプロモーター領域中の GT-box に KLF5 が結合し、転写の活性化に関与していることが明らかになった。

**【開示すべき COI なし】**

# 特別講演 1

## SL-1 江戸時代の解剖と佐賀

○青木 歳幸

佐賀大学 地域学歴史文化研究センター 特命教授



江戸時代前期から、佐賀藩は長崎警備をしており、西洋と最も近い藩としてありつづけた。そのため、オランダ通詞・外科医の榎林鎮山流外科術も佐賀藩外科医の代々学ぶべき医流となった。

宝暦4（1754）に、京都の医師山脇東洋による解剖実施以後、京都のみならず全国各地で解剖が行われるようになった。最初の頭部解剖は唐津生まれの古河藩医河口信任により行われた。安永3年（1774）の『解体新書』の刊行によって、蘭学が興隆しはじめた。文政6年（1823）にオランダ商館医シーボルトが来日し、日本人医師らは初めて西洋式の外科手術を実地で学ぶことになった。

紀州の外科医華岡青洲は、文化元年（1804）に全身麻酔による乳ガン摘出手術を行ったため、全国から門人が参集した。佐賀藩領内からの門人のうち、井上友庵は、青洲式外科道具を入手して、帰郷した。文政7年（1824）に、麻沸湯を投与して全身麻酔による頭部腫瘍除去手術に成功している。

佐賀藩領内で薬種商を営んでいた野中家には多量の医薬書が所蔵され、『解体新書』や『施薬院解男体臓図』など基本的な解剖書も所蔵されており、解剖に関する関心は佐賀に届いていた。

佐賀藩では天保5年（1834）に、医師養成のための医学寮を創設し、西洋医学を導入した。さらに、安政5年（1858）に西洋医学学校好生館を新たに創設し、西洋医の養成をめざした。ポンペヤボードインらに学んだ好生館教師らにより、理化学・解剖学・内科・外科などの医学7科による西洋式医学教育が実施された。好生館に学んだ伊万里出身峯源次郎の『日曆』から、新たに好生館での解剖実習などの実態が明らかになった。本講演では以上の外科学及び佐賀での解剖の実態を報告する。

### 〔御略歴〕

- 昭和47年（1972）3月 信州大学人文学部卒業
- 昭和47年4月～ 長野県下高校教員、長野県教育委員会指導主事、長野県立歴史館専門主事等および仏教大学・愛知大学・信州大学・筑波大学非常勤講師を歴任
- 平成18年（2006）4月～ 佐賀大学地域学歴史文化研究センター教授
- 平成20年（2008）4月～ 佐賀大学医学部研究科教授（併任）
- 平成24年（2012）4月～ 佐賀大学地域学歴史文化研究センター・センター長
- 平成26年（2014）4月～現在 佐賀大学地域学歴史文化研究センター特命教授

学会：洋学史学会（会長2012年～2016年）、日本医史学会理事（2012年～現在）、幕末佐賀研究会会長、佐賀医学史研究会事務局長等を歴任。学位：博士（歴史学）

専門分野は、日本医学史、地域蘭学の研究。単著『江戸時代の医学』（吉川弘文館、2012年）、単著『伊東玄朴』（佐賀城本丸歴史館、2014年）、編著『佐賀医人伝』（佐賀新聞社、2017年）、編著『天然痘との闘い—九州の種痘—』（岩田書院、2018年）ほか多数。

## 特別講演 2

### SL-2 顎骨の生体力学的研究と鹿大歯学部の人眼解剖学教育

#### －研究の歩みと教育の現状－

○田松 裕一

鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 解剖法歯学分野



平成 11 年 4 月に鹿児島大学に赴任し 17 年を経て、一昨年 3 月に鹿児島大学歯学部の人眼解剖学および災害・法歯学の教育担当教授に就任しました。本日は、岡山大学歯学部を卒業してから今日に至るまでの研究の歩みと現在鹿児島大学歯学部で行っている解剖学教育の現状について周辺の話も含めながらお話しさせていただきます。

研究については、これまでに①顎骨の生体力学に関する事、②加齢に伴う顔面皮膚の形態変化について、③いわゆる肉眼形態学的研究の 3 つのテーマに関わってきました。②と③について簡単に触れたのち、①の主に東京歯科大学在籍時に行った「顎骨の生体力学」研究について詳しくお話しします。歯科では時として強すぎる咬合力が顎骨に破壊的な影響を及ぼすことがあり、荷重が顎骨にどのような応力を発生させるのかを知ることが重要です。顎骨に力を加えた時の歪みの測定によって応力を予測した時代から縦弾性係数（Young 率）の測定を経て有限要素法による解析まで研究の経緯をお話しします。

教育については、学部学生から臨床医までの解剖学実習の意義や実際の教育方法について私が実践していることや考えていることをお話しします。また、災害・法歯学の教育に携わる上で、私自身が参加して勉強している研修の様子などを紹介させていただきます。

絶滅危惧種とも揶揄される肉眼解剖学研究者の一人がおこなってきた仕事について、軽い気持ちで耳を傾けていただければ幸いです。

#### [御略歴]

- |        |                                   |
|--------|-----------------------------------|
| 平成元年   | 岡山大学歯学部卒業                         |
| 平成 6 年 | 東京歯科大学大学院修了・博士（歯学）                |
| 同年     | 東京歯科大学解剖学教室 助手                    |
| 平成 9 年 | 東京歯科大学解剖学教室 講師                    |
| 平成11年  | 鹿児島大学歯学部口腔解剖学講座Ⅱ 講師               |
| 平成13年  | ルイジアナ州立大学ヘルスサイエンスセンター 客員研究員（1年間）  |
| 平成17年  | 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 助教授（平成19年度より准教授） |
| 平成28年  | 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授               |

### S3-1 グリオキサール系ホルマリン代替固定液・アルテフィックス<sup>®</sup>の短期および長期使用に関する評価

○豊嶋 (青山) 典世, 高橋 伸育, 澤口 朗  
宮崎大学 医学部 解剖学講座 超微形態科学分野

ホルムアルデヒド (FA) は、カルボニル基がアミノ基と反応してメチレン架橋を形成する化学物質であり、一般的に 4%FA 水溶液 (10% ホルマリン) が固定剤として長年用いられている。教育・研究・診療等で多岐にわたり使用されている一方、ヒトに対して発がん性のある劇物という側面から、その取り扱いおよび管理・排出において各種法律・条例の規制対象となっている。

グリオキサール (シュウ酸ジアルデヒド) は化学構造式が  $\text{OHCCCHO}$  であり、アルデヒド基を持つことから、ホルマリン (HCHO) と同様にタンパク質の架橋重合反応を起こすことで固定作用を示す。催涙性および刺激臭がなく、使用中の安全性が高い。

我々はホルマリン代替固定方法としてのグリオキサール系固定剤の有用性に関する検討を行った。グリオキサールを含む市販組織固定液 ALTFix<sup>®</sup> (ファルマ社) を用いて成獣ラットを灌流固定後、浸漬固定を施した。肝・腎などの臓器をサンプリングし、引き続いてアルコール置換・キシレン透徹・パラフィン包埋を施した各試料を薄切し、同様に処置した 4%FA 固定試料と比較検討した。各種染色による組織学的評価では、短期使用だけでなく長期使用 (全身固定後 1 年経過したラット) においても肉眼解剖に耐える組織形態が保たれていた。

今後、グリオキサール系固定剤使用におけるメリット・デメリットを詳細に検証し、カダバー固定へ応用することを視野にさらなる改良を加え、ホルマリン代替固定剤使用の普及に寄与していこうと考える。

【COI: なし】

### S3-2 ヒト大腿骨の骨体上部横断面における皮質骨形態の解析 －大腿骨非定型骨折発生の背景を探る－

○弦本 敏行, 高村 敬子, 今村 剛, 岡本 圭史, 佐伯 和信  
長崎大学 生命医科学域肉眼解剖学分野

高齢者の大腿骨骨折は、頸部から大・小転子にかけての領域に好発する。ところが、骨粗鬆症治療薬としてビスフォスフォネート (BP) 製剤の使用頻度が増加すると、これまではまれとされてきた大腿骨の骨体上部における非定型骨折 (atypical fracture) の発生報告例が増加した。そのため、これらの薬剤と本骨折の関連性が指摘されている。本研究では、骨体上部領域の横断面における皮質骨形態を解析し、骨折発生の背景を探ることを目的とした。

BP 製剤服用歴のない個体 90 体 (男性 46 体、女性 44 体) の右大腿骨標本を対象とした。各大腿骨全長を臨床用 CT を用いて撮影。大腿骨骨体を等分して 10 の横断面を設定し、そのうち上から 2 番目の断面を検討対象とした。得られた DICOM データより各ピクセルの CT 値を表す  $512 \times 512$  の 2 次元行列を抽出。個体ごとに最適閾値を設定して、皮質骨の輪郭を決定した。各横断面における皮質骨形態を把握する目的で、以下の項目について検討した；①横断面における皮質骨の面積占拠率、②横断面領域および皮質領域の各重心点の 2 次元座標、③内側および外側の最大皮質厚、④前方および後方部分の最小皮質厚。年齢と皮質骨占拠率との間には、女性においてのみ有意な負の相関性を認めた。男女ともに、加齢にともなって、皮質骨の前方および後方部分の厚さが相対的に減少する傾向があった。また、皮質骨の面積占拠率が小さいほど、男性では皮質骨重心点の相対位置が内側に位置する傾向にあり、一方、女性ではこれが前方に位置する傾向があった。

加齢に伴う大腿骨皮質厚の減少は、全周的に一樣に進行するわけではなく、さらに男女間でも異なる様相を示すことが明らかになった。

【開示すべき COI なし】



### S3-3 冠状動脈開口部における石灰化所見の特徴について～ Ai-CT を用いた予備的検討

○柴田 健太郎<sup>1)</sup>, 尾形 学<sup>2)</sup>, 田北 諭<sup>2)</sup>, 西原 恵美<sup>2)</sup>, 北村 茂利<sup>2)</sup>, 内田 雄基<sup>1)</sup>, 城戸 瑞穂<sup>3)</sup>, 倉岡 晃夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 佐賀大学医学部 生体構造機能学講座 解剖学・人類学分野

<sup>2)</sup> 佐賀大学医学部 附属病院 放射線部

<sup>3)</sup> 佐賀大学医学部 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学分野

**【背景と目的】**心臓カテーテル検査や経カテーテル大動脈弁留置術 (TAVI) を安全に実施する上で、冠状動脈開口部 (OS) 周辺の病的変化は重要なファクターであり、精密な調査解析を実施する臨床的意義は大きい。今回は、全心臓標本における総石灰化量と、OS 周辺部の石灰化状態との関連等を明らかにする目的で、CT による定量的画像解析を試みた。

**【対象と方法】**2017 年度の佐賀大学医学部解剖実習体 21 体 (男性 16 体、女性 5 体、平均年齢  $87 \pm 10$  歳) より摘出した心臓を対象とした。Ai-CT (SOMATOM scope、SIEMENS 社) にて、管電圧 130kVp、スライス厚 0.75mm の条件で撮像した後、AZE Virtual Place Raijin (AZE 社) を用いて画像の 3 次元再構築処理を行い、心臓全体ならびに OS 周辺の石灰化体積を計測した。なお、sino-tubular junction から 2 cm 上方の上行大動脈部までを、全心臓標本における計測対象としている。

**【結果と考察】**石灰化の平均体積は、心臓全体で  $1.300 \pm 1.525$  ml、OS 周辺では  $0.152 \pm 0.174$  ml となり、いずれも大きくばらついていたが、これらの計測値間には強い正の相関が認められた ( $r=0.833$ )。また、OS 周辺の石灰化平均体積に、左右差は認められなかった。これらの結果より、石灰化は部位に関わらず進行することが示唆されるが、各検体を詳細に観察すると、石灰化が OS 周辺にとどまる例や、OS から冠状動脈内へ連続する例など、いくつかのバリエーションも認められた。今後、これらのパターン分類を含め、さらなる検討が必要である。

**【開示すべき COI なし】**

### S3-4 心臓周囲脂肪組織における脂肪細胞のミトコンドリアの微視的特性について

○董 曉敏<sup>1)</sup>, 千葉 政一<sup>1)</sup>, 立川 修二<sup>1)</sup>, 島田 達生<sup>2)</sup>, 藤倉 義久<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 大分大学医学部分子解剖学講座, <sup>2)</sup> 大分大学名誉教授

**【背景と目的】**褐色脂肪組織はミトコンドリア内に uncoupling protein 1 (UCP1) を持つ褐色脂肪細胞から構成され、有胎盤哺乳類の動脈周囲に分布し、体温恒常性維持および過酸化反応制御を担っている。近年、心臓の房室間溝および室間溝の脂肪組織 Epicardial Adipose Tissue (EAT) が UCP1 蛋白質を発現させること、EAT の UCP1 発現低下が心房細動や冠状動脈疾患の増悪因子となり得ることが報告された。一方で、心臓周囲の脂肪組織における脂肪細胞のミトコンドリアの UCP1 蛋白質分布はほとんど知られていない。本研究で、心臓周囲脂肪組織の脂肪細胞におけるミトコンドリアの微視的特性を電子顕微鏡を用いて検討した。

**【方法】**通常食で 10 週間飼育した C57BL/6 雄性マウスを用いた。心臓周囲脂肪組織を採取し、UCP1 蛋白質の発現について免疫組織化学的に電子顕微鏡を用いて解析した。

**【結果】**マウス心臓周囲脂肪組織では傍大動脈周囲の Aortic Perivascular Adipose Tissue (PAT) に UCP1 蛋白が密に発現していた。UCP1 は、褐色脂肪細胞のミトコンドリアのクリスタの内側に、有意に多く発現していた。解析は Fisher's exact test を用いた。

## S4-1 タンパク質保持膨張顕微鏡法 (protein retention Expansion Microscopy:proExM) の紹介

○吉田 史章<sup>1,2</sup>, Edward S Boyden<sup>3</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院医学研究院脳神経外科, <sup>2</sup>国立研究開発法人科学技術振興機構 さきがけ,

<sup>3</sup>Massachusetts Institute of Technology, McGovern Institute for Brain Research

紙おむつの吸収体の材料であるアクリル酸塩を使って組織を膨張させることにより、超解像顕微鏡ではなくとも、一般的な光学顕微鏡でも高い解像度を得ることができる“膨張顕微鏡法 (ExM)”が Boyden らによって開発された<sup>1)</sup>。この手法を用いれば、回折限界にせまるナノメートルスケールの精度での標本の可視化が可能となる。ExM では、蛍光プローブをアクリル酸塩膨潤性ゲルへの固定した後に、物理的に引き離し観察する。初期の ExM では、ゲル中に生体内の元々のタンパク質は保持されない上に、手に入りにくい特注の試薬が必要である難点があった。その変法の新規に開発されたタンパク質保持膨張顕微鏡法 (ProExM)<sup>2)</sup>では、タンパク質が膨潤性ゲルへ固定されることで、従来の蛍光標識された抗体およびストレプトアビジン、ならびに蛍光タンパク質の使用が可能となった。proExM の有用性を光学顕微鏡による組織の画像化を行い検証した。この ProExM を ExM の原理と合わせて紹介する。

<sup>1)</sup> Optical imaging. Expansion microscopy. Chen et al. Science. 2015

<sup>2)</sup> Protein-retention expansion microscopy of cells and tissues labeled using standard fluorescent proteins and antibodies. Tillberg et al. Nat Biotechnol. 2016

## S4-2 ケタミンの単回投与は腹側海馬における神経新生を促進する

○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

うつ病は抑うつ気分、不眠などを主症状とする気分障害の一種である。その治療には、選択的セロトニン再取り込み阻害薬が一般的に用いられているが、その効果発現には数週間を要し、薬物療法だけでは十分な効果が得られないケースも少なくない。近年、ケタミンが、投与後数時間で抗うつ効果を示し、またその効果が二週間以上続くことが報告され、有用性に注目が集まっているが、作用機序の詳細については不明な点が多い。そこで本研究では、うつ病の治療機点の一つと考えられている成体海馬神経新生現象に着目し、ケタミン単回投与の抗うつ作用について検討を行った。実験では、成体オスマウスにケタミン (30mg/kg) を腹腔内に一回投与し、2週間後におけるケタミンの効果を行動薬理学的、免疫組織化学的に評価した。強制水泳試験を行って無動時間を比較したところ、対照群よりもケタミン投与群の方が有意に減少していたことから、ケタミンの単回投与には持続性の抗うつ作用があることが確認された。次に、成体海馬新生関連細胞の分布様式に対するケタミンの作用を検討したところ、神経幹細胞や新生顆粒細胞の密度が増加することが明らかになった。さらに、新生顆粒細胞の3次元再構築を行い、ケタミンによって樹状突起が有意に伸長することを見出した。興味深いことに、ケタミンによる成体海馬神経新生の促進作用は、記憶や認知に関わる背側領域よりも、気分や情動に関わる腹側領域の方が顕著であった。これらの予備的な結果は、ケタミンの抗うつ作用の理解に新たな知見を与えるものであり、学術集会ではその分子メカニズムも含めて議論したい。

【開示すべき COI なし】

### S4-3 統合失調症モデルマウス海馬における Cat-315 陽性ペリニューロナルネットとシナプス再編成

○藤川 理沙子, 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

統合失調症は、情報処理能力や認知機能の低下などを呈し、およそ 100 人に 1 人の割合で発症する高頻度の精神疾患である。これまでの統合失調症患者の死後脳や動物モデルを用いた研究から、大脳皮質や海馬におけるパルブアルブミン (PV) 陽性 GABA ニューロンの脱落と、細胞外マトリックスの特殊化した構造物であるペリニューロナルネット (PNN) の形成不全が統合失調症の病態に関わっている可能性が示されているが、その詳細については不明な点が多い。本研究で我々は、ケタミン誘発統合失調症モデルマウスを作出し、海馬における PV ニューロン周囲の PNN とシナプスに再編成が生じている可能性について、行動薬理的・免疫組織化学的手法を用いて検討した。プレパルス抑制 (PPI) 試験では、対照群と比較してケタミン投与群で PPI が有意に低下した。オープンフィールド試験では、ケタミン投与によって自発運動量が一過性に増加した。また、海馬の PV ニューロンの密度と染色強度はケタミン投与により有意に低下していた。アグリカン上のヒトナチュラルキラー 1 (HNK-1) 抗原を認識するモノクローナル抗体 (Cat-315) を用いて Cat-315 陽性 PNN を解析したところ、密度の減少と染色強度の低下が認められたが、それらは必ずしも PV ニューロンの変化とは一致しなかった。現在は、ケタミンによる Cat-315 陽性 PNN 形成不全とシナプス再編成の関連について、微細形態学的な検討を進めている。本学術集会では、ケタミンによる Cat-315 合成酵素 (e.g. GlucAT-P, GlucAT-S) の遺伝子発現変動や、抗精神病薬による PV ニューロン周囲のシナプス環境の変化との関連などから、統合失調症の新規病態基盤としての Cat-315 陽性 PNN の可能性について議論したい。

【開示すべき COI なし】

### S4-4 リポ多糖によるミクログリアのプライミングは側頭葉てんかんの病態形成を抑制する可能性がある

○大籠 友博, 神野 尚三  
九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野

ミクログリアは中枢神経に存在する免疫細胞であり、神経保護、異物や変性細胞の貪食、シナプス刈り込みなどに関与している。我々はこれまでに、抗ケラタン硫酸抗体 5D4 で標識される活性化ミクログリアの発現誘導と分布様式を複数の動物モデルで報告してきた。さらに近年、側頭葉てんかんモデルマウスの海馬でも一部のミクログリアが 5D4 を発現しており、それらはシナプスに対する高い貪食能を有する可能性があることを見出している。一方で最近、バクテリア細胞膜に由来するリポ多糖 (LPS) を投与してミクログリアを予め活性化させておくと、ミクログリアの反応性が増大し (プライミング)、側頭葉てんかんやアルツハイマー病の病態形成を軽減できるという新たな仮説に注目が集まっている。このため我々は、側頭葉てんかんモデルであるピロカルピン塩酸塩 (PILO) 投与マウスを用いて、LPS 投与によるプライミングが海馬に与える影響の検討を行った。実験では、前日に LPS の投与を行ったマウスに PILO で痙攣を誘発し、PILO 投与 5 日後の海馬を解析した。CA1 領域の錐体細胞の核のサイズは、LPS 投与群より対照群の方が有意に縮小していた。また、CA1 領域上昇層では、対照群よりも LPS 投与群の方が 5D4 陽性ミクログリアの分布密度が高かった。一方で、5D4 陰性を含めたミクログリア全体の分布密度は LPS 投与群と対照群で差が認められなかった。これらの予備的な結果は、LPS によるプライミングは、高いシナプス貪食能を有する 5D4 陽性ミクログリアの発現増強を介し、側頭葉てんかんの病態形成を抑制する可能性が示唆するものである。学術集会では、LPS によるプライミングを行った PILO 投与マウス海馬における遺伝子発現変動も含めて議論する予定である。

【開示すべき COI なし】

## S4-5 淡蒼球外節 GABA ニューロンは聴覚システムを多重階層的に制御している

○富岡 良平<sup>1</sup>, 周 博<sup>2</sup>, 崎村 建司<sup>4</sup>, 柳川 右千夫<sup>5</sup>, 玉巻 伸章<sup>1</sup>, 宋 文杰<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>熊本大学大学院・生命科学研究部・脳回路構造学分野, <sup>2</sup>熊本大学大学院・生命科学研究部・知覚生理学分野,

<sup>3</sup>熊本大学・HIGO program, <sup>4</sup>新潟大学 脳研究所 細胞神経生物学分野,

<sup>5</sup>群馬大学大学院医学研究科・遺伝発達行動学

近年まで、大脳基底核は主に運動機能に関わっていると考えられてきた。神経解剖学的所見では、大脳基底核はほぼ全ての大脳皮質から入力を受けて、視床経路で前頭野へと出力していると考えられてきた。しかしながら、最近の研究において、大脳基底核は音の弁別学習など運動以外の機能にも関わっている事が示唆されている。そこで、私達は大脳基底核が聴覚伝導路に投射する神経回路の探索を試みた。

GAD67-GFP マウスを用いて、逆行性トレーサー実験を行ったところ、淡蒼球外節 GABA ニューロンが大脳皮質聴覚野と内側膝状体に入力している事が分かった。次に、GAD67-Cre マウスを用いて、投射先依存的な順行性トレーサー実験を行った。具体的には、逆行性ウイルスである単純ヘルペスウイルス (HSV-EF1a-loxP-stop-loxP-Flp) を内側膝状体に注入し、淡蒼球外節 GABA ニューロンに組換え酵素 Flp を発現させた。さらに Flp 依存的に GFP を発現するアデノ随伴ウイルスを淡蒼球外節に注入した。その結果、内側膝状体に投射する淡蒼球外節 GABA ニューロンは、大脳皮質聴覚野・下丘に投射している事が分かった。即ち、淡蒼球外節 GABA ニューロンは、聴覚システム (下丘→内側膝状体→大脳皮質聴覚野) を多重階層的に支配している事が分かった。以上の神経解剖学的所見から、大脳基底核の神経回路が聴覚システムを制御しているという事を初めて明らかにした。大脳基底核は大脳皮質聴覚野からも入力を受けている事から、この淡蒼球外節 GABA ニューロンは聴覚システムにフィードバック的な情報を伝達しているのかもしれない。

## S4-6 神経発生と形態維持における GABA の新機能を探る

○江角 重行<sup>1</sup>, 大籠 友博<sup>2</sup>, 諸岡 研人<sup>1</sup>, 那須 誠<sup>1</sup>, 神野 尚三<sup>2</sup>, 石 龍徳<sup>3</sup>, 柳川 右千夫<sup>4</sup>, 崎村 健司<sup>5</sup>, 玉巻 伸章<sup>1</sup>, 福田 孝一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>熊本大学 大学院生命科学研究部, <sup>2</sup>九州大学 医学研究院,

<sup>3</sup>東京医科大学, <sup>4</sup>群馬大学 大学院医学系研究科, <sup>5</sup>新潟大学 脳研究所

GABA ( $\gamma$ -アミノ酪酸) は抑制性神経伝達物質であり、神経細胞を興奮させるグルタミン酸とともに神経活動を調節している。最近の報告で、GABA が神経伝達物質としての機能だけでなく、中枢神経系の発生発達 (Kayakabe et al., 2014, Front. Cel. Neurosci.) や、形態維持 (Esumi et al., 2018, 日本解剖学会)、口蓋形成や腹壁の閉鎖に重要な役割 (Saito et al., 2010, Molecular Brain) を果たすことが明らかになってきたが、そのメカニズムは不明であった。

本研究では、GABA の発生発達や神経細胞の形態維持に果たす機能やメカニズムを探るため、抑制性神経細胞で GABA を放出するために必須である vesicular GABA transporter (VGAT) を欠損させた遺伝子改変マウスを用いて解析を行った。これまでに Nkx2-1-Cre; floxed-VGAT 欠損マウスを用いて、解析を行ったところ、口蓋裂や膈帯ヘルニアを起こさないにも関わらず、生後5日以内に全てのマウスが死亡することがわかった。この結果から、中枢神経系における GABA 分泌不全は致死性の発生異常を起こすと考えられることができる。そこでその原因を詳細に探るため、生後0日の大脳皮質 GABA ニューロンの層構造や細胞死の解析を行ったが、これまでに差異は認められていない。

一方で、成熟した抑制性神経細胞における形態維持における GABA の機能を探るため、GAD67-CrePR; floxed-VGAT; Rosa26- floxed- mRFP マウスを用い解析を行った。このマウスは時期特異的に大脳皮質抑制神経細胞の一部を mRFP (赤色蛍光色素) でラベルし、さらに VGAT を欠損させることができる。生後3ヶ月齢のマウスを解析したところ、ラベルされた細胞の約70%が大脳皮質上層に分布していた。このマウスを用いた予備的な結果では、VGAT 欠損後6ヶ月に抑制性神経細胞の一部で形態の異常が認められた。これは、成熟した抑制性神経細胞においても、GABA が神経細胞の形態維持に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。今後は、この形態異常について定量的な解析を行う予定である。