

平成 30 年度
日本解剖学会 第 78 回中部支部学術集会

The 1st congress for talking about the future of anatomical research
/The 78th Chubu Branch Academic Assembly of the Japanese Anatomical Society

プログラム・予稿集

会期：2018 年 10 月 13 日（土）・14 日（日）

富山県民会館 （富山市）

富山大学大学院
医学薬学研究部再生医学
医学薬学研究部解剖学

平成 30 年度
日本解剖学会 第 78 回中部支部学術集会
The 1st congress for talking about the future of anatomical research
/The 78th Chubu Branch Academic Assembly of the Japanese Anatomical Society

プログラム・予稿集



会期：2018 年 10 月 13 日（土）・14 日（日）

会場：富山県民会館 304 号室

〒930-0006 富山県富山市総曲輪 4-18

TEL:076-432-3111 FAX:076-432-0853

会 長：吉田 淑子

副会長：一條 裕之

日本解剖学会第 78 回中部支部学術集会事務局

〒930-0194 富山市杉谷 2630 富山大学杉谷キャンパス

医薬イノベーションセンター4F

富山大学大学院医学薬学研究部 再生医学

TEL:076-434-7212 FAX:076-434-5011

E-mail: saisei@med.u-toyama.ac.jp

ご挨拶

この度は、長い歴史を持つ第78回日本解剖学会中部支部学術集会を開催させていただきますことを大変光栄に存じます。富山での支部会は平成14年（2002年）に高屋健一教授が開催されて以来16年ぶりであり、富山大学、高岡短大、富山医科薬科大学の3大学が統合された新生「富山大学」となってから初めての開催です。本来であれば、新たな「富山大学」を見ていただく大変良い機会なのですが、富山県民念願の新幹線がH27年に開通したこともあり刻々と進化する富山市内を味わって頂きたいと思い、思い切って大学を離れ、富山の中心での開催とさせていただきました。

解剖学は、肉眼解剖をはじめ、組織学（顕微解剖学）、比較解剖学、発生学、神経解剖学など裾野の広い学問で医学の基礎として重要であると認識されているのに、どういうわけかおたくの学問として敬遠されがちです。が、本来は何でも来いという懐の深い学問であることは皆様ご存じの通りです。

支部会は、会場が一部屋だけというこじんまりとした会ですが、その分、耳慣れないジャンルのお話を聞くことができ、自分の研究に、新たな刺激を受ける貴重な場として、私自身毎回ドキドキしながら参加しております。若手研究者の育成に力をいれ、発表はすべて口演で行われるなど学会としての形態がかたくなに守られていることも魅力の一つです。

今回は、日本での留学経験を生かし、母国で活躍中の若手研究者を交え、日本での研究やこれからの抱負などについて討論する会 The 1st congress for talking about the future of anatomical research をジョインし、僭越ながら解剖学教室が海外に果たしている役割などについても展望したいと考えました。

季節は初秋、そぞろ歩きには最高の季節です。富山の自然と幸を堪能していただきながら、ジャンルや国境を越えた活発な討論ができますことを心から願っております。皆様のご参加をスタッフ一同お待ちしております。

最後に、この会の開催にご協力いただきました多くの関係者、関係機関、施設、企業の方々に感謝いたします。

H30年 10月

会 長 吉田 淑子
副会長 一條 裕之

参加者へのご案内

- ・受付：富山県民会館 3階

受付時間： 10月13日（土）11：00～
10月14日（日） 8：30～

※ 事前登録された方：受付で名札ホルダー（名札・参加証と領収書入り）およびプログラム・予稿集の冊子体をお受け取りください。

※ 当日参加の方：参加費は4,000円、懇親会に参加される場合は懇親会費5,000円をお支払いの上、名札に氏名と所属をご記入下さい。

なお、学部学生、大学院生、留学生、技術職員の方は参加費無料、懇親会費3,000円となっております。

※ クロークはございませんので、お荷物は各自お持ち下さい。

・代議員会

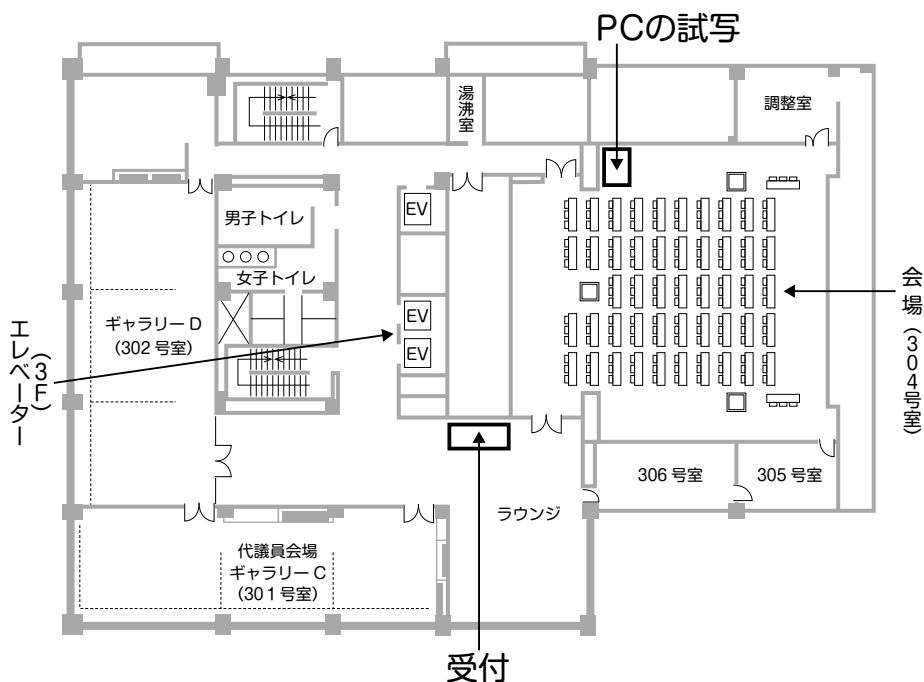
10月13日（土） 12：00 ～ 12：45 に富山県民会館 3階 ギャラリーC（301号室）において行います。先に受付にお立ち寄り下さい。

昼食は12：00からご用意しております。

・座長の皆様へ

担当セッションの10分前までに次座長席にお着きください。セッションの進行は座長に一任します。

会場3F 見取り図



・ 演者の皆様へ

* 1 演題につき、口演時間 8 分、討論時間 2 分の計 10 分とします。時間厳守でお願いします。

* パーソナルコンピューター (PC) は各自ご持参ください。

* プロジェクターへの接続コネクタは D-sub15(ミニ) です。 Mac をご使用の方は、変換コネクタおよび電源をご持参ください。(万が一に備えて、USB メモリーのバックアップをお持ち下さい。)

* PC の試写は会場の後方で行います。係員がお手伝いいたします。セッション中に試写が集中すると混乱が予想されますので、なるべく開始前や休憩時間をお願い致します。2 日目に発表される方は、1 日目のセッション終了後、懇親会までの時間を是非ご利用ください。

* PC をご持参できない場合 : USB メモリーをご持参下さい。会場にも PC を準備いたします (windows, Power Point2016)。進行を円滑に実施するために、発表ファイルをあらかじめ PC にコピーして使用します。早めに受付にお知らせください。動画ファイルと Power Point ファイルは標準タイプ (4 : 3) で作成してください (ワイドは不可)。必ずバックアップデーターをお持ちください。

* 次演者は発表 10 分前までに次演者席に着き、待機している係員に PC をお渡しください。あらかじめ接続致します。Mac 等の場合は、次次演者席をもうけますので、早めに接続してください。接続できる PC は演者の 1 台を含め 3 台までです。

解剖学雑誌掲載用抄録原稿 (事後抄録) の提出

解剖学雑誌への事後抄録掲載につきましては、既に発表予定者にお送りしてあるテンプレートか、日本解剖学会ホームページ (<http://www.anatomy.or.jp/>) の画面左側「解剖学雑誌」→「支部会事後抄録」→「支部抄録用テンプレート」からダウンロードしたテンプレートに記入の上、集会終了後なるべく速やかに、第 78 回日本解剖学会中部支部学術集会事務局 (saisei@med.u-toyama.ac.jp) までメールにてご送付ください。

2018 年 11 月 12 日 (月曜日) を閉め切りとさせていただきます。

・懇親会

10月13日（土）18:30 より、講演会場の上 8階のレストラン 富山電気ビル
レストラン県民会館店「レストラン清風」にて行います。

当日申し込みも可能です。懇親会場へは講演終了後に係員がご案内いたします
ので、お荷物を持って移動してください。

レストランにはクロークがありますので、大きなお荷物はお預けください。ま
た、会場内にもお荷物を置く場所を設定しますので、ご利用ください。

会場へのアクセス

※電車をご利用の場合：

JR 富山駅（南口）、あいの風とやま鉄道富山駅（南口）、

・富山地方鉄道富山駅から徒歩 10 分

・富山地方鉄道バス

富山駅南口バス乗り場②ー⑧乗り場から発車のバス

富山市役所前下車

・タクシー 富山駅南口から

10 分弱 720 円位

※飛行機をご利用の場合：

・富山きときと空港から直通空港バス 25 分 富山市役所前下車

※車をご利用の場合：

・北陸自動車道 富山インターチェンジ（富山 I.C）下車

国道 4 1 号線 富山 I.C より所要時間 15 分

県民会館指定の駐車場（下記の 3 つ）をご利用ください。

会場受付で駐車券をお渡ししますので、ご利用日毎にお知らせください。

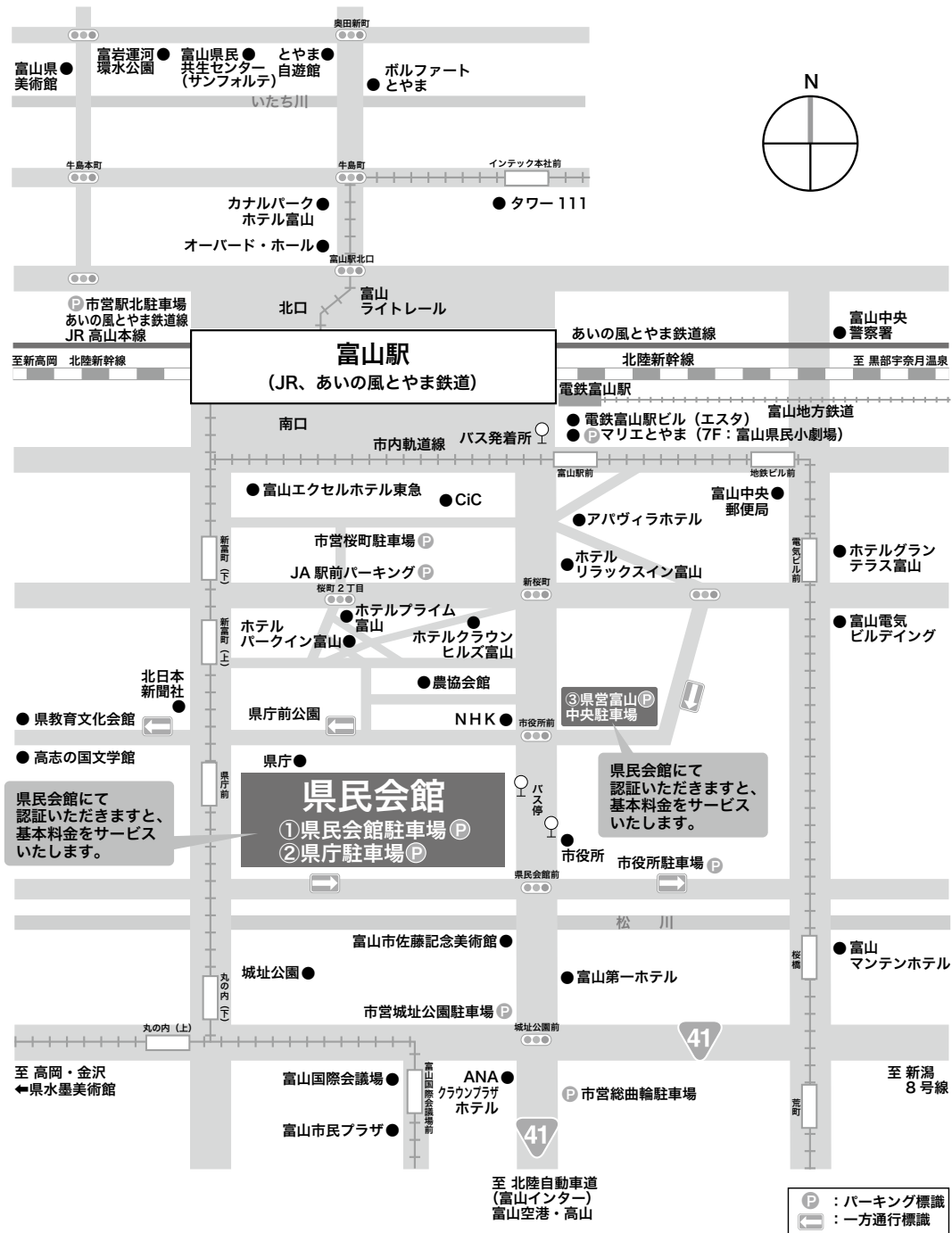
駐車場（富山県民会館周辺図 参照）

①県民会館駐車場

②県庁駐車場

③県営富山中央駐車場

富山県民会館周辺図



● 交通のご案内

- ・ 富山駅(南口)から徒歩10分
- ・ 地鉄バス主要路線 市役所前下車
- ・ 北陸自動車道、富山インターから15分
- ・ 富山きときと空港から富山駅直通バス25分

● 周辺駐車場のご案内

- ・ 県 庁 P 土・日・祝のみ (この場合は、8:00~22:30)
- ・ 市役所 P 平日 8:00~22:00 (冬間~19:00)
- 土・日・祝日 9:00~22:00 (冬間~19:00)
- ・ その他 P 年中無休 24時間

富山県民会館

〒930-0006
富山市新総曲輪4番18号
TEL 076(432)3111
FAX 076(432)0853
URL <http://www.bunka-toyama.jp/kenminkaikan/>

プログラム

10月13日

13:00 開会 会長挨拶 吉田淑子 (富山大学)

特別セッション1 The 1st congress for talking about the future of anatomical research

座長 吉田淑子 (富山大学)

- 101 13:10 Benefits and acquired experiences from studying in Japan
Moustafa Fathy (Minia University)
- 102 13:25 Isolation of stem-like cancer cells from primary endometrial cancer using cell surface markers CD133 and CXCR4
Yi Sun (The Affiliated Hospital of Inner Mongolia medical university)
- 103 13:40 Yesterday and Today
Fang Wang
- 104 13:55 Education and Research at EPFL
Hans Joerg Mathieu (Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne)

—14:10-14:30 休憩—

セッション1 座長 藤本豊士 (名古屋大学)

- 105 14:30 汎用性および特異性の高い新規 APC 抗体の作製
○山田名美, オントルマ, 松田修二, 千田隆夫 (岐阜大学大学院医学系研究科病態制御学講座解剖学分野)
- 106 14:40 新規標識法による PI4P の分布解析
○折井みなみ, 辻琢磨, 小笠原裕太, 立松律弥子, 程晶磊, 藤本豊士 (名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞学分野)
- 107 14:50 細胞多核化が眼球レンズおよび間質組織に及ぼす形態変化—細胞多核化と個体老化の連関—
○後藤英仁, 溝口明 (三重大学大学院医学系研究科神経再生医学細胞情報学)
- 108 15:00 高速度ビデオカメラを用いた凍結現象の解析
○加藤凖彩, 黒岡武俊, 岩永進太郎, 渡邊玲旺, 中村真人 (富山大学大学院理工学教育部生命工学専攻生体システム医工学研究室)

セッション2 座長 一條裕之 (富山大学)

- 109 15:10 成体脳神経新生における酸感受性イオンチャネル ASIC1a の役割
○熊本奈都子, 柴田泰宏, 植田高史, 鶴川眞也 (名古屋市立大学大学院医学研究科機能組織学)
- 110 15:20 Na/K-ATPase の神経細胞膜上発現分布の定量的局在解析
○石川達也^{1,2}, 村田航志², 黒田一樹², 尾崎紀之¹, 深澤有吾² (¹金沢大学医

薬保健学研究域医学系機能解剖学² 福井大学医学部脳形態機能学領域)

- 111 15:30 鳥類の聴覚受容器における小胞性グルタミン酸トランスポーターの発現性について
○齋藤正一郎, 阿閉泰郎 (岐阜大学応用生物科学部共同獣医学科獣医解剖学分野)
- 112 15:40 Synapse-specific plasticity governs the identity of overlapping memory traces
○Kareem Abdou (富山大学医学部生化学講座)

セッション3 座長 成田正明 (三重大大学)

- 113 15:50 自閉症モデルラットにおける嗅覚過敏関連部位の異常について
○江藤みちる, 松井勇人, 下高原優樹, 次山ルシラ絵美子, 大河原剛, 成田正明 (三重大大学大学院医学系研究科発生再生医学)
- 114 16:00 視神経傷害後の網膜神経節細胞生存における小胞体ストレス応答 ATF6 経路の役割
○宝田美佳¹, 沖谷なほ子¹, 郡山恵樹², 服部剛志¹, 石井宏史¹, 堀修¹ (¹金沢大学医薬保健研究域医学系神経解剖学² 鈴鹿医療科学大学薬学部神経薬理学)
- 115 16:10 Auditory hypersensitivity in thalidomide exposed autistic animal model –自閉症モデルラットにおける音刺激での c-Fos 発現
○次山ルシラ絵美子^{1,2}, 江藤みちる², 大河原剛², 成田正明² (¹三重大大学大学院医学研究科生命医科学専攻² 発生再生医学)

—16:20-16:40 休憩—

セッション4 座長 寺田信生 (信州大学)

- 116 16:40 終脳の腹側部において左右非対称に前後軸で異なった活動を示す細胞集団
○兼本宗則, 中村友也, 川口将史, 一條裕之 (富山大学大学院医学薬学研究部(医学)解剖学講座)
- 117 16:50 膜骨格蛋白 Membrane protein palmitoylated-6 (MPP6) 欠損マウス末梢神経系の検討
○寺田信生¹, 斎藤百合花^{1,2}, 上條明生¹ (¹信州大学大学院総合医理工学研究科医学系専攻保健学分野医療生命科学ユニット² 帝京科学大学医学教育センター)
- 118 17:00 アブラコウモリ下丘を直接制御する終脳3領域
○伊藤哲史¹, 山本亮², 古山貴文³, 長谷一磨³, 小林耕太³, 飛龍志津子³ (¹金沢医科大学解剖学Ⅱ² 金沢医科大学生理学Ⅰ³ 同志社大学生命医科学部)

セッション5 座長 中村真人 (富山大学)

- 119 17:10 ウガンダ・カリンズ森林に同所的に生息する霊長類5種とヒトの口腔細菌叢比較
○矢野航¹, 清水大輔², 早川卓志^{3,4}, 橋本千絵⁴, 上村竜也¹, 佐藤和彦¹, 藺村貴弘¹, 江尻貞一¹ (1朝日大学歯学部²中部学院大リハビリテーション学部³京都大学霊長研究所⁴日本モンキーセンター)
- 120 17:20 骨格観察における除毛処理の有効性に関する研究
○狩山信生¹, 坂田ひろみ¹, 塚田剛史¹, 島田ひろき^{1,2}, 八田稔久¹ (1金沢医科大学医学部解剖学I²看護学部医科学)
- 121 17:30 迅速骨染色法(RAP-B法)の開発とその応用
○坂田ひろみ¹, 内芝舞実², 島田ひろき^{1,3}, 塚田剛史¹, 狩山信生¹, 増田なつみ¹, 有川智博⁴, 東海林博樹⁴, 八田稔久¹ (1金沢医科大学医学部解剖学I²国保日高総合病院³金沢医科大学看護学部医科学⁴金沢医科大学一般教育機構生物学)
- 122 17:40 スカイフルーツが羊膜間葉系幹細胞に及ぼす効果
○吉田一晴^{1,2}, 吉田淑子³, 岡部素典³, 卞勝人⁴ (1富山大学医学薬学研究部(医学)²東京理化学テクニカルセンター株式会社³富山大学医学薬学研究部再生医学⁴医療法人社団芦屋ベッククリニック院長)

セッション6 座長 佐々木克典 (信州大学)

- 123 17:50 横断解剖実習の実際：胸部横断-信州大学での試みと経験-
○佐々木克典, 岳鳳鳴, 友常大八郎 (信州大学学術研究院医学系組織発生学教室)
- 124 18:00 夫をドナーとした生体肝移植後18年目に発症した肝細胞癌の1例
○高原照美¹, 井村穰二² (1富山大学医学部第三内科²病理診断)
- 125 18:10 バイオ3Dプリンタを用いて作製した心筋組織体の薬理応答の検討
○荒井健一, 村田大紀, 中山功一 (佐賀大学医学部臓器再生医工学研究室)

18:30-20:00 懇親会 会場 8階 「レストラン清風」

10月14日

セッション7 座長 中谷壽男 (金沢大学)

- 201 9:00 マウス単経リンパ節郭清後に出現する迂回路は交通リンパ管の可能性はある
○中谷壽男¹, 中島由加里², 浅野きみ², 向井加奈恵¹ (1金沢大学医薬保健研究域保健学系看護科学領域²金沢大学大学院医薬保健学総合研究科保健学専攻)

- 202 9:10 肝細胞 Golgi 装置の立体構造解析
 白田信光¹, ○深澤元晶¹, 大野伸彦², 村田和義³, 野田亨^{1,4} (¹藤田保健衛生大学
 医学部解剖学Ⅱ ²自治医科大学医学部解剖学講座 ³生理学研究所形態情報解析
 室 ⁴藍野大学)
- 203 9:20 OPZ 食食に伴うヒト多形核白血球の分泌果粒に関する分析電顕による解析
 ○盛口敬一, 本田雅規 (愛知学院大学歯学部口腔解剖学講座)

セッション 8 座長 植木孝俊 (名古屋市立大学)

- 204 9:30 ハゼ目魚類ヨシノボリの終脳に見出された特徴的な構造
 ○川口将史¹, 萩尾華子², 山本直之², 松本浩司³, 仲山慶⁴, 赤染康久⁵, 和泉
 宏謙⁶, 恒岡洋右⁷, 須藤文和⁸, 村上安則⁹, 一條裕之¹ (¹富山大学解剖学講座
²名古屋大学水圏動物学研究室 ³愛媛大学附属高校 ⁴愛媛大学沿岸環境科学研究
 センター ⁵聖マリアンナ医科大学解剖学講座 ⁶富山大学生命科学先端研究
 センター ⁷東邦大学解剖学講座 ⁸神経研究所 ⁹愛媛大学進化形態学研究室)
- 205 9:40 TRPM7 を介する神経傷害
 ○井上浩一^{1,2}, 植木孝俊¹, Zhigang Xiong² (¹名古屋市立大学医学研究科統合
 解剖学分野 ²Department of Neurobiology, Morehouse School of Medicine)
- 206 9:50 乳幼児突然死症候群 (SIDS) モデルラットの作製と解析
 ○大河原剛, 江藤みちる, 成田正明 (三重大学大学院医学系研究科発生再生医
 学)

セッション 9 座長 木山博資 (名古屋大学)

- 207 10:00 ミクログリア除去時に現れるアストロサイトの食食能
 ○小西博之¹, 佐藤克明², 木山博資¹ (¹名古屋大学大学院医学系研究科機能組
 織学 ²宮崎大学医学部医学科感染症学講座免疫学分野)
- 208 10:10 脳損傷後の神経回路再編における分子および運動介入の効果
 ○田中貴士^{1,2}, 宮田信吾² (¹金沢医科大学解剖学Ⅱ ²近畿大学東洋医学研究所)
- 209 10:20 アストロサイト CD38 による神経発達制御機構
 ○服部剛志, 堀修 (金沢大学医薬保健研究域医学系神経解剖学)

—10:30-10:50 休憩—

セッション 10 座長 深澤元晶 (藤田保健衛生大学)

- 210 10:50 β 2-microglobulin 欠失マウスの網羅的行動解析
 ○深澤元晶¹, 高井聡子², 宮川剛², 石嶺久子¹, 白田信光¹ (¹藤田保健衛生大
 学医学部解剖学Ⅱ ²総合医科学研究所システム医科学)
- 211 11:00 Peripheral leukocyte accumulation in the brain is critical pathology of cerebral
 vasospasm/neuronal dysfunction after subdural arachnoid hemorrhage.
 ○石井宏史¹, 会田泰裕², 大熊康祐¹, Roboon Jureepon¹, 服部剛志¹, 寶田美佳¹,

中田光俊², 山本靖彦³, 堀修¹ (金沢大学医薬保健研究域医学系 ¹神経解剖学 ²脳神経外科学 ³血管分子生物学)

- 212 11:10 SGLT inhibitor and Impaired Phospholipid Metabolism of Proximal Tubular Epithelium in Diet-Induced Obesity (DIO) Mouse Kidney
○齊藤成¹, 高木孝士², 志茂聡³, 大野伸彦^{4,5} (¹藤田保健衛生大学医学部解剖 II ²昭和大学電子顕微鏡室 ³健康科学大学健康科学部作業療法学科 ⁴自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門 ⁵自然科学研究機構生理学研究所分子神経生理研究部門)

セッション11 座長 谷井一郎 (富山大学)

- 213 11:20 卵丘細胞が分泌するサイトカインおよび神経ペプチドによる受精の促進
○谷井一郎, 荒舘忠 (富山大学教養教育院)
- 214 11:30 Reelin 欠損による小脳低形成を Sonic hedgehog シグナルを利用し、治療できるか
○松岡未紗, 宮田卓樹 (名古屋大学大学院医学系研究科細胞生物学分野)
- 215 11:40 EGFP-Tol2 細胞標識システムとウズラ-ニワトリキメラ胚を用いた冠状血管内皮細胞の起源探索
○上村竜也¹, 山岸敏之², 江尻貞一¹, 中島裕司² (¹朝日大学歯学部口腔解剖学分野解剖学 ²大阪市立大学大学院医学研究科器官構築形態学)

セッション12 (特別セッション2) 座長 堀修 (金沢大学)

- 216 11:50 Leukemia inhibitory factor induces corticotropin releasing hormone in the mouse placenta
○He Wang¹, Tsuyoshi Tsukada¹, Hiromi Sakata-Haga¹, Hiroki Shimada^{1,2}, Tomohiro Arikawa³, Hiroki Shoji³, Toshihisa Hatta¹ (Departments of ¹Anatomy ²Medical Science ³Biology, Kanazawa Medical University)
- 217 12:00 Role of CD38 in Cuprizone-induced Demyelination
○Roboon Jureepon, 服部剛志, 堀修 (金沢大学医薬保健研究域医学系神経解剖学)
- 218 12:10 Differential Response of Immortalized Human Amnion Mesenchymal and Epithelial Cells against Oxidative Stress.
○LuGuang Han¹, QingLi Zhao², Toshiko Yoshida¹, Motonori Okabe¹, Chika Soko¹, Mati Ur Rehman³, Takashi Kondo², Toshio Nikaido¹ (¹Department of Regenerative Medicine ²Department of Radiological Sciences, University of Toyama ³Hebei Medical University)

12:20 次期会長挨拶 金銅英二 (松本歯科大学)

閉会

This image shows a full page of a handwriting practice worksheet. It consists of multiple sets of three horizontal dashed lines, providing a guide for letter height and placement. The lines are evenly spaced across the entire page, leaving ample room for writing practice. There is no text or other markings on the page.

予稿集

Benefits and acquired experiences from studying in Japan

Moustafa Fathy

Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Minia University, 61519 Minia, Egypt
Department of Regenerative Medicine, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences,
University of Toyama, Toyama, Japan

Studying abroad always draws new experiences and enriches the social life. Furthermore, there are many academic, cultural, and career benefits achieved by the person who goes abroad to study. Actually, in my home country, Egypt, the number of graduates looking for a chance to study advanced degrees overseas has been on the rise. It is not easy to get a scholarship to study abroad, it is a challenge. To do that, you have to pass many competitions to be thoroughly selected. During these procedures, you acquire a good experience in doing interviews, writing proposals and presenting yourself.

About my experience in studying my PhD in Japan, actually I was lucky to choose Japan and Toyama city. My studying was not a vacation, it was a hard work, exams, dissertations, assignments, networking events, but I spent my free time, when I had, in exploring my new city, Toyama. This is essential for open-minded appreciation and understanding of a culture different than mine. Adapting to my new environment honed my problem-solving skills, communication skills, self-confidence and independence. Like other students who studied abroad, I displayed diversity and I became not afraid to seek out new challenges.

Attending seminars and discussions in a well experienced department, Department of Regenerative Medicine, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, greatly helped me in introducing new techniques to my department in Egypt and positively influenced my way of thinking and plan for experimental design. This helped me to get an advanced position among my colleagues.

During my studying in Japan, I learned that the process for making something is more important than what the final product is. Before, I never thought about how others would perceive what I said or did. After coming to Japan, I learned to first consider how my actions would be viewed by others. I can now understand better how others see the world. I learned self-control. Also, through interacting with Japanese, I learned to place value on the feelings and thoughts of others and not merely focus on getting my point across. Really, all these things show how I not only received basic technical instruction, but also influenced by such things as Japanese notions of harmony, courtesy, trust, respect, and beauty. These spiritually enriching experiences served to add value to my studies and personality as well.

Whatever your field, study abroad experience is great for graduate employability. From earning a specialized qualification to adaptability, communication and cross-cultural understanding, your time abroad is an excellent opportunity to build your resume. International experience will certainly help you to stand out in today's highly competitive global job.

Isolation of stem-like cancer cells from primary endometrial cancer using cell surface markers CD133 and CXCR4

Sun Yi

Intensive Care Unit, The Affiliated Hospital of Inner Mongolia medical university, China

Endometrial cancer is the most familiar gynecologic malignant tumor of the female reproductive system in developed countries, besides, incidence rates of EC is increasing per year. Although surgery, radiation, and chemotherapy were established for the remedy, the novel therapies are urgently necessary, especially for recurrent diseases that have acquired radio- or chemo-resistance as a big challenge for us. In this experiment, the identification of CSCs in the EC was focused on the cell surface marker and stem cell marker. The tissues were got from human endometrial cancer which had obtained from endometrial patients during surgical procedures. The tissues were separated to three parts. One was for cell culture, one was transfected to nude mouse and the other one was investigated with histopathology. By using RT-PCR methods, we found that the cultured cells strongly expressed stemness related genes, such as c-myc, octA, sox2, nanog, abcg-2, nestin and bmi-1. The surface markers such as CD24, CD133, and chemokine marker such as CXCR4 were expressed by Flow Cytometry examination. CD133+CXCR4+ cells existed 7.2% and 9.3% in EC cells. After cell sorting, we found that CD133+CXCR4+ primary endometrial cancer cells grew faster, expressed highly mRNA of stemness related genes, made more spheres, and had higher clonogenic ability than other subpopulations. The CD133+CXCR4+ cells are also more resistant to anti-cancer drugs than other subpopulations. Besides, the CD133+CXCR4+ cells have cancer-initiating ability. The data indicate CD133+CXCR4+ cells may have some characteristics of CSCs in primary endometrial cancer. This CD133+CXCR4+ cells are useful for making the drug of cancer molecular target for CSCs in primary endometrial cancer.

Yesterday and Today

Wang Fang

1. In Toyama university what I did.

I have investigated about the identification of cancer stem cell in gynecologic neoplasm. While I was in Japan, I have learned many knowledge and able to acquire the basic technology to continue a study and put it into effect.

The title is “CD24+SSEA4+ cells in Ovarian Carcinoma Cells Demonstrated the Characteristics as Cancer Stem Cells”

【Object】 Cancer stem cells (CSCs) have recently started attracting attention as targets cancer treatment. Despite many studies, markers of effective CSCs of heterogeneous ovarian carcinoma (OC) that can be directly used for medical treatment have not yet been reported. The aim of this research was to identify a new combination of surface markers for human ovarian CSCs.

【Methods】 Primary serous adenocarcinomas were obtained from patients with OC. FACS were used to decide cell surface marker to characterize and isolate cancer stem cells from primary human cancer tissues. RT-PCR methods were used for estimating the expression levels of mRNA, and immunohistochemistry confirmed the produce of the stemness relative protein after cell sorting. Xenograft model was used for the ability of tumorigenesis.

【Results】 We found that the cultured cells strongly expressed stemness genes such as *c-myc*, *oct3/4*, *sox2*, *nanog*, *abcg-2*, and *bmi-1*. They also expressed surface markers such as CD24, SSEA4, CD133, and CD47. The sub-population of CD24+ SSEA4+ double positive cells showed strong expression of Oct-4, and was able to form spheres much more than CD24-SSEA4+ cells, CD24+SSEA4-cells or CD24- SSEA4-double negative cells. Only 5 CD24+SSEA4+ cells formed spheres within 3 weeks. This sub-population formed the highest number of colonies in the soft agar colony assay. The CD24+SSEA4+ cells showed better growth in the presence of cisplatin than the other sub-populations. CD24+SSEA4+ cells were tumorigenic in all scid mice (4/4) within 2 months, with an injection of 100 cells/mouse.

【Conclusion】 These results suggested that CD24+SSEA4+double positive cells have characteristics similar to that of human ovarian tumor CSCs. It might be possible to develop effective new clinical therapies for human ovarian cancer (OC) using these cells as targets.

2. After returning to China, I went to the hospital to be an anesthesiologist.

3. And now, I am now working as a Medical Consultant in Philips.

The way has been a little different from a pure study for the way I'm advancing. But the thing learned in Japan, I'd like to challenge all possibilities as a basis.

Education and Research at EPFL

Hans Joerg MATHIEU Prof.
em. Materials Science

1015 Lausanne
Switzerland

The review presents the Federal Institute of Technology in Lausanne – Ecole Fédérale de Lausanne (EPFL) –, its Institute of Materials (IMX) and highlights biomaterial research in my laboratory. EPFL has three missions: Education, Research and Technology Transfer to industry and society [1]. Today the EPFL campus has close to 11'000 students including PhD students, faculty and staff. It has 13 study programs and 350 research laboratories. The origin of students (Bachelor, Master and PhD) is 45 % from Switzerland, 41 % from Europe, 7.3 % from Asia, 4.0 % from Africa and 2.9 % from the Americas. EPFL is well placed: no. 12 among 1000 universities for the QS ranking. Shanghai, THE and Leiden ranking is also discussed. There are more than 110 Start-ups at the Innovation Park of EPFL. In 1969 the technical disciplines left the University of Lausanne EPUL and EPFL was created with an outstanding campus right at the Lake of Geneva. The Institute of Materials (IMX) is part of the School of Engineering, no. 11 in 2017 within the QS ranking, probing the inner structure of matter and combining physics, chemistry and biomaterials as well as the more traditional disciplines like mechanics and chemical engineering. Strong links with industry are well established. I shall present an overview of the research of IMX including biomaterials at the atomic level. My own research concentrated on the chemical analysis of surfaces from the sub nm-level to micrometers. Surface analytical equipment (Auger Electron Spectroscopy (AES), X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) and Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS) will be shown presenting three examples of results: on (1) Endotracheal Tubes studying *Pseudomonas aeruginosa* bacteria by D.J. Balazs et al [2], (2) nm – brushes (anionic monomers) on Poly (3-Sulfopropylmethacrylate) – polySPM - by M. Ramstedt et al [3], and (3) on Insulin deficiency, monitoring the hormones in islets of Langerhans by M. Okabe et al [4].

[1] <https://www.epfl.ch>

[2] D.J. Balazs, K. Triandafillu, E. Sardella, G. Iacoviello, P. Favia, R. d'Agostino, and H.J. Mathieu, "PE-CVD Modification of PVC Intubation Tubes to Control Bacterial Adhesion: Ag/PEO-like Coatings", 16th Intern. Symposium on Plasma Chemistry, Taormina/I, June 22-27 (2003), Abstracts and Full Papers CD, edited by R. d'Agostino, P. Favia, F. Fracassi, and F. Palumbo (2003), 698 - <http://www.ispc16.org>

[3] M. Ramstedt, R. Houriet, D. Mossialos, D. Haas, and H.J. Mathieu, "Wet silver treatment of endotracheal tubes in order to produce antibacterial surfaces", J Biomed Mater Res, Part B: Appl. Biomater **83B**: (2007) 169-18

[4] M. Okabe, T. Yoahida, K. Takaya, A. Toda, T. Nikaidou, and H.J. Mathieu, "Comparison of static and dynamic SIMS measurements of the islet of Langerhans", Sapporo IMC (2006)

汎用性および特異性の高い新規 APC 抗体の作製

岐阜大学大学院医学系研究科病態制御学講座解剖学分野

○山田名美、オントルマ、松田修二、千田隆夫

【緒言】

がん抑制遺伝子 APC (Adenomatous Polyposis Coli) は β -catenin に結合することで Wnt シグナルを抑制する。APC は 312kDa の巨大分子で、 β -catenin 以外にも多くの分子と結合するドメインを有し、その結合を介した多彩な機能を有する。その全容を明らかにするためには、質の良い APC 抗体が必要である。しかし、市販の抗体は用途が限定されているものが多く、研究者は必要な抗体を独自に作製し使用してきた経緯がある。結果、異なる APC 抗体を使用した研究間でデータの一貫性が認められないという問題が生じている。本研究では新規 APC 抗体を作製し、その特異性と汎用性を検証した。

【方法と結果】

(1) 抗体の作製

ヒト APC 蛋白質 C 末端の合成ペプチドを用いて、ウサギ由来の APC-C 抗体を作成した。

(2) 抗体の検証

- 1) Western blotting (WB) : 全長 APC を発現する細胞株 (HCT116、253J-BV) では、市販の APC の N 末端認識抗体 (APC-N 抗体) と APC-C 抗体が APC を検出した。C 末端欠失 APC を発現する細胞株 (DLD-1) では、APC-N 抗体のみが APC を検出した。
- 2) Immunoprecipitation (IP) : 全長 APC を APC-C 抗体で IP し、APC-N 抗体による WB で検出した。
- 3) Immunocytochemistry : APC をノックダウンした細胞株において、APC-C 抗体による免疫染色を行った。HCT116、253J-BV ではコントロールと比較して蛍光の減弱が認められた。両細胞において APC は細胞質と核、および細胞伸長部の微小管遠位端に局在を認めた。
- 4) Immunohistochemistry : マウス空腸における APC の局在を、APC-C 抗体で描出した。APC の発現は絨毛頂部が最も高く、絨毛基部及び陰窩に下るにつれて発現が低下した。C 末端欠失 APC のみ発現する APC^{1638T/1638T} マウス空腸では APC は検出されなかった。

【結語】

我々が作製した APC-C 抗体は特異性および汎用性が高いことが証明された。

新規標識法による PI4P の分布解析

名古屋大学 大学院医学系研究科 分子細胞学分野

○折井みなみ、辻琢磨、小笠原裕太、立松律弥子、程晶磊、藤本豊士

イノシトールリン脂質は細胞内シグナリングや小胞輸送などにおいて重要な役割を担う膜脂質である。PI4P は最も含量が多いイノシトールリン脂質の 1 つであり、細胞膜やゴルジ体、液胞に存在し、細胞の生存に必須であることが知られている。これまでに PI4P がオートファジーやウイルスの複製などの細胞現象に関連することがわかっているが、その全容は未だつかめていない。その一因は PI4P の解析方法が限られており、細胞内分布を詳しく捉えるのが困難なことにある。電子顕微鏡による方法も報告されているが、標識プローブとして IgM 抗体を用いているため、感度が十分とは言えない。

我々は急速凍結・凍結切断レプリカ標識法 (QF-FRL 法) で PI4P を特異的かつ高感度に標識する方法を新たに開発し、PI4P の分布、動態を解析することを目的として実験を行った。QF-FRL 法は急速凍結によって膜分子の運動を瞬時に停止させ、レプリカ膜で物理的に膜分子を固定したのち、プローブによる標識、電子顕微鏡観察を行う方法である。今回の方法では PI4P 結合プローブとして GST と肺炎球菌由来ペプチド SidM の融合リコンビナントタンパク質を用い、抗 GST 抗体、金コロイド標識プロテイン A を反応させて可視化した。標識の特異性はリポソームレプリカおよび PI4P 結合能を欠く変異 SidM を用いた実験で確認した。出芽酵母を用いて PI4P の分布と種々の条件下での変化を解析した結果について報告する。

細胞多核化が眼球レンズおよび間質組織に及ぼす形態変化

ー細胞多核化と個体老化の連関ー

三重大学大学院医学系研究科 神経再生医学・細胞情報学

○後藤英仁、溝口明

【目的】哺乳類の組織では、骨髄の巨核球などの一部の細胞において、最終分化過程で細胞が多核（四倍体）化することが知られている。また、肝臓においては、加齢とともに、四倍体化細胞の割合が増加することが報告されている。しかし、多くの組織において、細胞核は二倍体の状態を維持している。本研究では、通常、核が二倍体の状態である眼球レンズおよび間質組織において、細胞の多核化を引き起こした場合の形態変化を観察した。

【材料と方法】我々の研究グループは、これまでに、眼球レンズおよび間質組織に高発現する中間径フィラメント構成タンパク質ビメンチンの分裂期リン酸化部位をリン酸化されないアミノ酸に置換すると、細胞質分裂が障害され、細胞が多核（四倍体）化することを報告してきた。今回、この変異型ビメンチンのみを発現するノックインマウス（リン酸化不全マウス）を作製し、細胞多核化が引き起こす表現型を観察した。

【結果】リン酸化不全マウスを詳細に解析したところ、ビメンチンが高発現している眼球レンズおよび間質組織において、培養細胞系と同様に、細胞の多核化が誘導されていることを見出した。このような多核化は、眼球レンズにおいては白内障を、間質組織においては皮下脂肪層の早期消失を認めた。また、皮膚に損傷を加えた際においても、リン酸化不全マウスでは治癒過程の遅延が認められた。これらの表現型は、早老症モデルマウスの表現型と極めて類似していた。

【結論】発達過程における予定外の細胞の多核化は、組織の老化現象を促進する可能性があることが判明した。

【参考文献】

- 1) Yamaguchi T., *et al. J. Cell Biol.* 171: 431-436, 2005
- 2) Matsuyama M., *et al. J. Biol. Chem.* 288: 35626-35635, 2013
- 3) Goto H. & Inagaki M. *IUBMB Life* 66: 195-200, 2014
- 4) Tanaka H., *et al. J. Biol. Chem.* 290: 12984-12998, 2015

高速度ビデオカメラを用いた凍結現象の解析

富山大学大学院理工学教育部生命工学専攻生体システム医工学研究室

○加藤風彩、黒岡武俊、岩永進太郎、渡邊玲旺、中村真人

【目的】

現在、再生医療の進歩により、細胞や幹細胞、培養した組織が研究や臨床での治療に積極的に使われる時代になった。しかし、作製した培養組織を長期間保存する方法が確立されておらず、培養組織の実用化の面での重要課題の一つとなっている[1]。そこで我々は、培養組織の凍結保存技術に着目し、凍結傷害を克服することを目的に高速度ビデオカメラを用いた凍結過程の可視化の研究を行ってきた。本研究では、凍結現象の新たな評価法を確立することを目的とし、動画解析を用いることによって凍結現象を定量評価する方法を検討した。

【方法】

高速度ビデオカメラ、温度制御可能な冷却ステージおよび倒立顕微鏡を用いた自作の凍結可視化装置を使用した。細胞の凍結保護作用のあるジメチルスルホキシド(DMSO)0, 5, 10, 15, 20%、および DMSO10%でウシ胎児血清(FBS)の濃度を 0, 10, 20%に調整した培地(DMEM)を急速凍結(-50℃/min)し、3000 frames/sec で凍結過程の可視化を行った。さらに、撮影した動画の解析を行うことで各溶液の凍結速度を計測し、さらに凍結界面の線形性に着目して、非線形性指数を算出した。

【結果】

凍結可視化装置を用いて、DMSO および FBS の濃度を変化させた溶液の凍結過程を可視化することができた(Fig.1)。DMSO 濃度の違いにより氷晶のサイズ・成長具合等、凍結過程に明らかな違いがみられた。しかし、FBS 濃度の違いによる大きな変化は確認できなかった。動画解析では、凍結速度と非線形性指数ともに DMSO 濃度が高くなるほど速度は低下し、非線形性指数は減少した。一方、FBS 濃度の違いによる有意差は見られなかった。

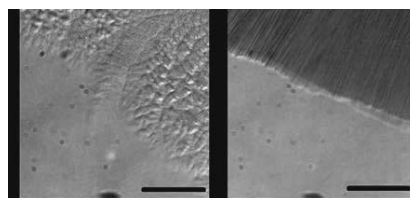


Fig.1 凍結過程の可視化の様子(スケール:50 μm 、左:DMSO 0%、右:20%)

【結論】

本研究では自作の凍結可視化装置を用いて凍結過程を可視化し、動画解析によって凍結速度や氷晶形成の状態の定量的評価を行った。本手法で凍結保護液の性能評価や、細胞や組織の凍結現象の定量評価に応用が可能であると考えられる。

【参考文献】

[1] J. O. M. Karlsson, M. Toner, Biomaterials, 17, pp.243-256 (1996)

成体脳神経新生における酸感受性イオンチャネル ASIC1a の役割

名古屋市立大学大学院医学研究科機能組織学

○熊本奈都子、柴田泰宏、植田高史、鵜川眞也

【目的】成体脳の新生ニューロンを取り巻く細胞外液は、活発な細胞分裂に伴う乳酸の蓄積により、酸性に傾いていると考えられる。また、神経新生は、脳卒中などの脳虚血に伴う局所的アシドーシスにより亢進することが示唆されている。我々は、中枢神経系で水素イオンセンサーとしてはたらく酸感受性イオンチャネル ASIC1a が神経新生のメディエーターとして働くことを想定した。そして、*in situ hybridization* 法を使って、幼若な海馬新生ニューロンに ASIC1a mRNA が発現していることを見出した。今回、我々は、海馬歯状回顆粒細胞層下帯において、ASIC1a が神経幹細胞・神経前駆細胞の増殖に与える影響について調べた。さらに、海馬新生ニューロンにおける ASIC1a タンパク質の発現時期を調べた。

【材料と方法】

- 1) BrdU アッセイを使って、ASIC1a ノックアウトマウスにおける海馬神経幹細胞・神経前駆細胞の増殖を調べ、野生型マウスと比較した。
- 2) 赤色蛍光蛋白質 tagRFP と融合した ASIC1a を発現するノックインマウスを作出し、脳組織切片を作製した。さらに、抗 tagRFP 抗体、および神経新生マーカーを使って免疫染色を行い、ASIC1a の発現時期を調べた。

【結果】

- 1) ASIC1a ノックアウトマウスに BrdU を腹腔内投与し、2 時間後に脳を摘出し、海馬歯状回での BrdU 陽性細胞の数を調べたところ、野生型マウスと比較して有意に増加していた。このことより、ノックアウトマウスでは神経幹細胞・神経前駆細胞の増殖が亢進していると考えられた。
- 2) ASIC1a タンパク質は DCX 陽性新生ニューロン（＝幼若新生ニューロン）の一部に発現することがわかった。また、Parvalbumin 陽性インターニューロンの一部にも強く発現していた。

【結論】ASIC1a が、海馬新生ニューロンの増殖に関与する可能性が示唆された。新生ニューロンの内因性 ASIC1a が増殖に直接関与するのか、Parvalbumin 陽性インターニューロンに発現する ASIC1a が間接的に関与するのか、さらに検討が必要である。

Na/K-ATPase の神経細胞膜上発現分布の定量的局在解析

1. 金沢大学 医薬保健学研究域 医学系機能解剖学

2. 福井大学 医学部 脳形態機能学領域

○石川達也^{1,2}, 村田航志², 黒田一樹², 尾崎紀之¹, 深澤有吾²

【目的】Na/K-ATPase (NAK) は、Na⁺イオンと K⁺イオンの細胞内外の非対称性分布形成を担うイオンポンプであり、膜電位の形成や各種細胞内シグナル伝達系の動作環境の形成を担う重要な分子である。近年、アルツハイマー病やジストニアの発症に NAK の機能阻害や異常が関与するとの報告が相次いでおり、イオンの流入を頻繁に行う神経細胞での NAK の役割を理解する重要性はますます高まっている。しかし、NAK の基本サブユニット (α サブユニット) のうち 1 と 3 (NAK α 1、 α 3) のアイソフォームが中枢の神経細胞に発現しているとの報告があるものの、神経細胞種毎の NAK の細胞膜上発現レベルの違いや、シナプスや樹状突起、細胞体などの神経細胞における機能ドメイン毎の発現レベルの違いについては不明である。そこで本研究では、SDS 処理凍結切断レプリカ免疫標識法を用いて、NAK α の発現分布を脳内の複数の神経細胞種を対象に機能ドメイン単位で解析し、その細胞膜上の発現様式を明らかにすることで、神経細胞における NAK の役割の一端にせまることを目的とした。

【材料と方法】生後 8 週令の雄マウス (C57BL/6) を灌流固定し、海馬と歯状回領域を含む脳スライスを高圧凍結法にて凍結した。

凍結スライスより凍結切断レプリカを作製し、SDS 処理後に、4 つの NAK α アイソフォームを認識する一次抗体 (panNAK) と免疫金粒子標識 2 次抗体を用いて免疫標識を行った。標識分布の解析は、歯

標識密度 (particle/ μm^2)	歯状回顆粒細胞 (n)	海馬 CA1 錐体細胞 (n)	苔状細胞 (n)
細胞体	172.8 \pm 7.1 (28)	173.3 \pm 6.7 (27)	130.9 \pm 15.0 (73)
樹状突起	187.8 \pm 9.0 (39)	257.6 \pm 13.8 (33)	156.5 \pm 17.0 (31)
樹状突起スパイン	178.3 \pm 23.9 (9)	205.1 \pm 34.2 (9)	89.6 \pm 18.0 (27)
軸索	—	207.5 \pm 17.7 (30)	108.2 \pm 11.7 (26)
軸索終末	—	219.8 \pm 23.4 (22)	138.3 \pm 35.4 (19)

表 1: 各神経細胞における機能ドメイン毎の panNAK α の標識密度

状回顆粒細胞、海馬錐体細胞および苔状細胞の細胞体、樹状突起、樹状突起スパイン、軸索、軸索終末を対象に撮影し、機能ドメイン毎の NAK α 標識の分布様式の評価と密度を計測した。

【結果】歯状回顆粒細胞、海馬錐体細胞および苔状細胞の機能ドメイン毎における NAK α の標識密度は表 1 に示す通りとなった。歯状回顆粒細胞、海馬錐体細胞および苔状細胞の各機能ドメイン間で NAK α の標識密度に有意な差は認められなかった。また、海馬錐体細胞の樹状突起上の NAK α 標識密度は歯状回顆粒細胞や苔状細胞のそれに比べ有意に高かった。更に、顆粒および錐体細胞のスパイン上の NAK α 標識密度は苔状細胞のそれに比優位に高かった。軸索および終末の NAK α 標識についても、苔状細胞に比べ錐体細胞の方が有意に高かった。

【結論】本研究結果より、NAK α の神経細胞膜上発現が細胞種依存的に調節されており、特に苔状細胞は細胞体を除く各機能ドメイン上の NAK α の発現密度が錐体及び顆粒細胞に比べ低く調節されていることが明らかとなった。

鳥類の聴覚受容器における小胞性グルタミン酸トランスポーターの発現性について

岐阜大学応用生物科学部共同獣医学科獣医解剖学分野

○齋藤正一郎、阿閉泰郎

【目的】系統発生的に内耳の半規管ならびに平衡斑の形態は良く保存されている一方、哺乳類のコルチ器に相当する基底乳頭は両生類において球形囊近傍の小囊として現れる壺囊において初めて認められる。爬虫類・鳥類において壺囊は棒状の突出物として発達し、哺乳類においてらせん状の回転構造を示す蝸牛となる。鳥類以下では壺囊に基底乳頭に加え、哺乳類には認められない第三の平衡斑である壺囊斑が存在する。本研究では鳥類における基底乳頭並びに壺囊斑における小胞性グルタミン酸トランスポーター (VGLUT) II ならびに III mRNA の発現性について解析し、哺乳類との相同性について検討した。

【材料と方法】ハト成体ならびにニワトリ 0 日齢を用いた。ハト成体から壺囊を採材し cDNA を採材し、VGLUT II ならびに III mRNA の発現性について RT-PCR で解析するとともに、PCR 産物からジゴキシゲニン標識 RNA プロブを作製した。ハト成体ならびにニワトリ 0 日齢を 4%パラホルムアルデヒドで灌流固定後、壺囊を採材して定法に従いパラフィン切片を作製し、in situ hybridization により VGLUT II ならびに III mRNA の組織局在を検討した。

【結果】ハト成体では、RT-PCR により VGLUT II および III mRNA の両方の発現性が認められ、VGLUT II mRNA の方が VGLUT III mRNA により発現量が多かった。In situ hybridization により、VGLUT II mRNA は、らせん神経節細胞が発現している事が明らかとなった。VGLUT III mRNA の組織発現性に関してはニワトリ 0 日齢の壺囊を in situ hybridization により検索し、基底乳頭の固有毛細胞領域に偏在することが明らかとなった。壺囊斑においても有毛細胞において VGLUT III mRNA の発現性が認められた。

【結論】哺乳類では、音波はコルチ器の固有毛細胞で受容され、らせん神経節細胞を経由して蝸牛神経核へ伝達される。らせん神経節細胞はグルタミン作動性であり、VGLUT I がグルタミン酸放出を担っている。本研究では鳥類のらせん神経節細胞にて VGLUT II の局在が観察され、鳥類は VGLUT I を欠くという学説を支持する結果である。哺乳類のコルチ器の固有毛細胞もグルタミン作動性であり、VGLUT III がグルタミン酸放出を担っている。本研究は、鳥類の固有毛細胞が哺乳類の固有毛細胞に相当することを示している。また、基底乳頭ならびに壺囊斑の有毛細胞における VGLUT III の局在は、有毛細胞の様なパニューロンにおいては、中枢の神経細胞とは異なり、VGLUT III が主要な役割を果たし、それは系統発生的に維持されてきたことが推察された。

Synapse-specific plasticity governs the identity of overlapping memory traces

○Kareem Abdou

富山大学 医学部 生化学講座

Abstract:

Memories are formed through long-term changes in synaptic efficacy, a process known as synaptic plasticity, and are stored in the brain in specific neuronal ensembles called engram cells, which are activated during corresponding events. When two memories are associated, cell ensembles corresponding to each memory overlap. However, each memory has its own identity. How the brain stores and defines a specific memory identity when two memories interact and are encoded in the shared ensemble have remained elusive. Here, we show that synapse-specific plasticity represents specific memory entities, and that synaptic plasticity between specific engram assemblies is both sufficient and crucial for information storage. Using auditory fear conditioning and c-fos-TetTag system, optogenetic stimulation of the activated ensemble terminals of auditory cortex (AC) and medial geniculate nucleus (MGm) in lateral amygdala (LA) after complete retrograde amnesia -accomplished by autophagy induction with protein synthesis inhibition- failed to induce memory recall at recent and remote time points, indicating that the memory engram no longer existed in that circuit. This result was correlated with the resetting of plasticity and functional connectivity between the engram assemblies. Complete retrograde amnesia of a given fear memory did not affect the linked fear memory encoded in the shared ensemble. Furthermore, potentiation or depotentiation of the plasticity at synapses specific to one memory affected the recall of only that memory without influencing the linked memory. Thus, sharing of engram cells underlies the linkage between memories, while synapse-specific plasticity guarantees the identity and storage of individual memories. Our study gives insight into therapeutic approaches to treating post-traumatic stress disorder (PTSD).

Reference:

Abdou K, Shehata M, Choko K, Nishizono H, Matsuo M, Muramatsu S, Inokuchi K. Synapse-specific representation of the identity of overlapping memory engrams. **Science**, 15 June 2018, Vol. 360, Issue 6394, pp. 1227-1231. DOI: 10.1126/science.aat3810

自閉症モデルラットにおける嗅覚過敏関連部位の異常について

三重大学大学院 医学系研究科 発生再生医学

○江藤みちる、松井勇人、下高原優樹、次山ルシラ絵美子、大河原剛、成田正明

【目的】自閉症では感覚過敏をしばしば合併する。感覚過敏には聴覚の過敏や嗅覚の過敏などがある。私たちは最近、胎生期にサリドマイドを投与して得られる自閉症モデルラットを用いて、脳幹の抑制性ニューロンで構成される台形体核の形態学的異常を見出し、聴覚過敏のメカニズムを明らかにした (Ida-Eto M et al., 2017)。梨状皮質は嗅覚の求心性回路において嗅球から入力を受けて扁桃体など他の領域に出力する重要な部位の一つである。そこで今回、私たちは自閉症モデルラットの嗅覚異常の有無を調べるため、梨状皮質と扁桃体について形態学的解析を行った。

【材料と方法】Wistar ラットの妊娠 9、10 日目にサリドマイド 500 mg/kg を経口投与し、生まれた仔を自閉症モデルラットとした。生後 50 日に 4%PFA で灌流固定後、脳を摘出し、50 μ m の厚さで冠状断の浮遊切片を作製した。抑制性ニューロンのマーカーとして抗パルブアルブミン抗体を用い、免疫組織化学を行った。

【結果】自閉症モデルラットにおいて、後梨状皮質と扁桃体のパルブアルブミン陽性ニューロンの形態異常が認められた。前梨状皮質での変化は見られなかった。

【考察】後梨状皮質は扁桃体基底外側核からの強い入力を受ける部位である。扁桃体は情動の中核であり、ヒト自閉症で扁桃体の体積異常が指摘されている。嗅覚過敏を引き起こす臭い物質は多岐にわたるが、その理由やメカニズムは不明である。個人の不快感と強く結びついていると考ええると、嗅覚過敏を始めとする感覚過敏と、情動を司る扁桃体との強い関連が示唆される。

【参考文献】Ida-Eto M et al., Mechanism of auditory hypersensitivity in human autism using autism model rats. *Pediatrics International*, 59:404-407, 2017

視神経傷害後の網膜神経節細胞生存における小胞体ストレス応答 ATF6 経路の役割

○宝田美佳¹、沖谷なほ子¹、郡山恵樹²、服部剛志¹、石井宏史¹、堀修¹¹金沢大学医薬保健研究域医学系神経解剖学²鈴鹿医療科学大学薬学部神経薬理学

【目的】タンパク質合成・成熟の場である小胞体では、環境変化からのストレスを受けると異常タンパク質が蓄積する。これにより惹起される小胞体ストレス応答（UPR）は、神経変性疾患や糖尿病を始め、様々な疾患の病態形成・制御に重要であることが報告されている。これまで中枢神経系においては、UPR は神経細胞内のストレス応答として注目されることがほとんどであった。一方、我々は、UPR の基幹転写制御因子の一つ、ATF6 α の欠損マウスを用いた解析から、パーキンソン病や脳梗塞の病態下において、活性化グリア細胞が神経保護作用を発揮する際に UPR が重要な役割を果たす可能性を報告してきた。本研究では、神経変性とグリア細胞応答に及ぼす UPR ATF6 α 経路の影響をさらに明らかにするため、単純な神経回路を持ち神経変性の検出が容易なモデル、緑内障様の網膜神経節細胞（RGC）変性を起こす視神経挫滅モデルを用いて解析を行った。

【材料と方法】マウス眼球後方の視神経をピンセットで 10 秒間挫滅することにより視神経傷害モデルを作製した。視神経傷害後のマウスを灌流固定した後、 β III-tubulin について網膜 flat mount の免疫染色を行い、RGC の生存率を解析した。また、視神経傷害後の網膜を用いて、ウェスタンブロット法により神経細胞マーカーとグリア細胞マーカー、神経栄養因子の発現について解析した。

また、網膜グリア細胞を培養し、小胞体ストレスを負荷した後のグリア細胞マーカーおよび神経栄養因子の発現を qPCR 法により解析した

【結果】視神経傷害後の野生型マウス網膜において、顕著な小胞体シャペロンの発現誘導が認められた。また、ATF6 α 欠損マウスでは、視神経傷害後 10 日目における β III-tubulin 陽性の RGC 生存率が、野生型マウスと比べ有意に減少していた。また、ATF6 α 欠損マウスでは、視神経傷害後に誘導される活性化グリア細胞マーカーの発現、および一部の神経栄養因子の発現が野生型マウスと比較して有意に減少していた。また、培養網膜グリア細胞において、小胞体ストレスの負荷によりグリア細胞マーカーおよび一部の神経栄養因子の遺伝子発現が有意に減少した。

【結論】以上の結果より、小胞体ストレス応答 ATF6 α 経路は、視神経傷害後の網膜グリア細胞の活性化に促進的に働き、RGC 生存に保護的な役割を果たす可能性が示唆された。

Auditory hypersensitivity in thalidomide exposed autistic animal model

-自閉症モデルラットにおける音刺激での c-Fos 発現

三重大学大学院 医学研究科 生命医科学専攻 (博士課程) ¹、発生再生医学²

○次山ルシラ絵美子 ^{1,2}, 江藤みちる ², 大河原剛², 成田正明²

[Introduction] Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition, characterized by difficulties in social interaction, communication, restricted and repetitive behaviors; and sensory abnormalities. Also, ASD is considered to be influenced by environmental factors, such as exposure to teratogenic drugs on early embryonic days. However, the pathogenesis and mechanisms regarding ASD and auditory hypersensitivity is poorly understood. In our autistic animal model, pregnant rats exposed to Thalidomide (Thal) on embryonic days E9 and E10 presented increased serum and hippocampal serotonin concentrations; and morphological abnormalities in the raphe and in the auditory brainstem were observed (Narita, 2002; Ida-Eto, 2017), which are consistent to findings on human autism (Kulesza, 2011). In the auditory pathway, the superior olivary complex (SOC) is a group of auditory brainstem nuclei and is the first major site of binaural convergence. Impairments in the inhibitory processing of the medial nucleus of trapezoid body (MNTB) in the auditory brainstem might be related to auditory hypersensitivity (Ida-Eto, et al., 2017). Based on these evidences, we investigated whether abnormal auditory functional organization is present in rats prenatally exposed to Thal, using c-Fos expression as a marker of neuronal activity.

[Material and Methods] All animal experiments were approved by the animal research committee at Mie University. On E9 and E10, pregnant Wistar rats were exposed orally to Thal 500 mg/kg dissolved in 5% arabic gum in distilled water, or vehicle control group. Juvenile male rats (P49-51) were placed in a sound-attenuated box for 30 minutes without any auditory stimulation, followed by a 16-kHz (around 62 dB) for 1 hour (S+). Immediately after, the animals were anesthetized and were perfused transcardinally with saline followed by 4% paraformaldehyde. Then, the whole brain was dissected out and the brainstem was sectioned at a thickness of 50 µm and immunohistochemistry was performed using c-Fos antibody.

[Results] The sound stimulated (S+) vehicle animal group showed c-Fos positive expression consistent to 16 kHz tonotopic band in the MNTB. However, c-Fos expression in the S+ Thal group was widespread and the tonotopic band could not be recognized.

[Conclusion] This suggests that auditory stimuli processing impairments might be, in part, related to prenatal Thal exposure, mainly in the MNTB, contributing to auditory hypersensitivity.

[References] 1) Narita, N. et al., Increased Monoamine Concentration in the Brain and Blood of Fetal Thalidomide- and Valproic Acid-Exposed Rat: Putative Animal Models for Autism. *Pediatr Res*, 52(4):576-579, 2002. 2) Ida-Eto, M. et al., Mechanism of auditory hypersensitivity in human autism using autism model rats. *Pediatr Int*, 59: 404-407, 2017. 3) Kulesza, R.J. et al., Malformation of the human superior olive in autistic spectrum disorders. *Brain Res*, 1367:360-371, 2011.

終脳の腹側部において左右非対称に前後軸で異なった活動を示す細胞集団

¹富山大学大学院 医学薬学研究部（医学） 解剖学講座○兼本宗則¹, 中村友也¹, 川口将史¹, 一條裕之¹

終脳の腹側部 (basal forebrain) には無名質 (substantia innominata) とよばれる領域があり、情動の様々な側面に関わる領域を含む扁桃体延長部 (extended amygdala) の一部として考えられている。しかし、その機能と構造の詳細はいまだ不明な点が多い。終脳の腹側部の機能を明らかにするために、C57BL/6J マウスで最初期遺伝子 ZIF268/EGR1陽性細胞の発現を観察した。その結果、私達は終脳の腹側部の中に ZIF268/EGR1の発現で見分けられる細胞集団を発見した。これは ZIF268/EGR1を発現する30~50個の神経細胞が、直径およそ100 μ m の領域に細胞集団をつくるもので、機能的なクラスターと考えられる。さらにこのクラスターは左右非対称に前後軸上で異なって分布しており個体差も認められた。クラスターの細胞の組成を明らかにするために、細胞マーカーを利用して細胞種の同定を行った。クラスター内の細胞の中で、NeuN は100%、GAD67は45.3%、preproenkephalin は81.1%の細胞で発現していた。したがって、このクラスターは神経細胞の集団で GABA 作動性神経を含み、情動ストレスに関わる神経細胞であることを示唆している。また、終脳の腹側部はストレス応答に関与することが知られていることから、拘束ストレス負荷をかけてクラスターの細胞数を計測した。その結果、クラスターに含まれる細胞が安静時と比べて有意に多かった。安静時とストレス負荷時のいずれの条件でも、クラスターの前後軸上の位置は左右で異っており、さらにクラスターの分布は個体ごとに異なっていた。これらの結果は、終脳の腹側部において機能的な神経細胞集団が左右非対称に前後軸上で異なった位置で活動しており、ストレスに反応する神経回路の一部として機能していることを示唆している。

膜骨格蛋白 Membrane protein palmitoylated-6 (MPP6) 欠損マウス

末梢神経系の検討

1. 信州大学大学院 総合医理工学研究科 医学系専攻保健学分野

医療生命科学ユニット

2. 帝京科学大学 医学教育センター

○寺田信生¹、齊藤百合花^{1, 2}、上條明生¹

【目的】我々はマウス末梢神経のシュワン細胞が髄鞘内に構築するシュミット・ランターマン切痕 (SLI) において、赤血球膜骨格蛋白 4.1R ファミリーである 4.1G が接着分子 Cell adhesion molecule (CADM) 4、シグナル蛋白 Membrane protein palmitoylated (MPP) 6 と Lin7 (Veli) の蛋白複合体形成を主導し、4.1G 欠損によって末梢神経の髄鞘形成不全を起こして末梢神経伝導速度や運動能力が障害を来すことを報告してきた。今回、MPP6 欠損マウスを新たに作製し、MPP6 によるこれら蛋白複合体への相互関係や末梢神経の髄鞘形成への役割を検討した。

【材料と方法】MPP6 欠損マウスの作製はゲノム編集を用いた。月齢 3 か月のマウス坐骨神経を用い、MPP6 蛋白欠損および複合体蛋白の発現と局在は、坐骨神経の免疫染色および Western blot で検討した。髄鞘形成に関しては透過型電子顕微鏡で超微形態観察を行った。運動機能は、簡易的に 5 分間の懸垂試験で検討した。

【結果】ゲノム編集による MPP6 遺伝子変異部位の違いにより、MPP6 の N 末端にある L27 ドメインの欠損と MPP6 全体の欠損 (MPP6-KO) をもつ 2 種類のマウスが得られた。末梢神経線維について MPP6-KO を野生型マウスと比較すると、免疫染色では CADM4 および 4.1G は同パターンで SLI に局在し、Western blot でも蛋白量の変化はなかった。Lin7 は、MPP6-KO で SLI から消失し蛋白量が激減した。超微形態で輪間部の軸索と髄鞘の比を検討すると、MPP6-KO は野生型に比べて髄鞘が有意に肥厚していたが、4.1G-KO で認めた髄鞘の二重輪や局所突出は著明ではなかった。月齢 3 か月における MPP6-KO 欠損マウスの懸垂試験では、野生型マウスと比較して後肢の保持が不安定になる傾向はあったが、5 分間での有意差はなかった。

【結論】末梢神経においては、4.1G-CADM4 complex⇒MPP6⇒Lin7 の結合様式によって 4.1G が複合体輸送を主導することが明らかとなった。また MPP6-Lin7 複合体欠損のみでも髄鞘が過形成となるが、4.1G 欠損による CADM4 も含めた複合体の消失状態によって形態異常や実際の運動機能不全は増悪することが示唆された。

アブラコウモリ下丘を直接制御する終脳 3 領域

金沢医科大学 解剖学 II 講座

○伊藤哲史

金沢医科大学 生理学 I 講座

山本亮

同志社大学 生命医科学部

古山貴文、長谷一磨、小林耕太、飛龍志津子

【目的】コウモリはナビゲーション行動時に、こだま定位で用いるソナー音を変化させる。こだまはソナー音放射後数ミリ秒後に戻ってくるので、こだま分析を行う中脳聴覚中枢である下丘は個々のソナー音へ速やかに対応する必要がある。本研究では、終脳から下丘への下行性投射に、こだま定位に関連した特殊化が見られるか逆行性神経路標識法にて検討した。

【材料と方法】アブラコウモリ 4 匹を用いた。コウモリを麻酔し、下丘に 3% fluorogold(FG)を注入、翌日 4% 緩衝パラホルムアルデヒドで灌流固定した。終脳の水平断凍結切片を作成し、抗 FG 抗体を用いて免疫染色を行った。他の切片に Nissl 染色または GAD67 に対する免疫染色を施し、細胞構築から脳領域を同定した。

【結果】辺縁下皮質、扁桃体基底核大細胞部、聴覚皮質という 3 つの終脳領域が下丘に直接両側性の下行性投射を行うことが明らかになった。動物間で逆行性標識細胞の分布を比較したところ、聴覚皮質からの投射はトノトピー構築があることが示唆された一方、他の終脳領域からの投射には明確なトノトピー構築が見られなかった。

【結論】過去の研究の知見と合わせて鑑みると、終脳と下丘の間には 3 つのループ構造があることが明らかになった。辺縁下皮質、扁桃体基底核大細胞部、聴覚皮質はそれぞれナビゲーション、情動価、そして空間地図に関係があることから、この 3 つのループはナビゲーション行動時に速やかに能動感覚を最適化させる働きがあると推測される。

ウガンダ・カリンズ森林に同所的に生息する霊長類 5 種とヒトの口腔細菌叢比較

○矢野航¹⁾、清水大輔²⁾、早川卓志³⁾⁴⁾、橋本千絵⁴⁾、上村竜也¹⁾、佐藤和彦¹⁾、

菌村貴弘¹⁾、江尻貞一¹⁾

¹⁾朝日大学歯学部、²⁾中部学院大リハビリテーション学部、³⁾京都大学霊長研究所、⁴⁾日本モンキーセンター

[目的]口腔細菌叢は 1 つの生態系を構成している。細菌にはそれぞれ生存に適した温度、酸素濃度、pH があり、宿主の口腔における歯牙や舌を中心とする解剖学形態や消化機能を含めた唾液の性状とその時間的変動がこれらの細菌の生存条件を規定している。アフリカ東部のウガンダ・カリンズ森林には多種の霊長類が同所的に生息し、果実を中心に食性の重複が見られる。一方で、骨格標本の比較からチンパンジーにのみ特徴的に歯周疾患とみられる痕跡が見られた。う蝕や歯周炎の個体に病原菌となる口腔細菌の存在割合が高くなる。カリンズ森林に同所的に生息する宿主霊長類間の口腔細菌叢に違いがあるかどうかを見るために、我々は食べ残しの食片表面に付着した唾液から野生霊長類の口腔細菌叢を間接的に再構成し、比較する手法を開発した。これらの食物残渣に付着した唾液に含まれる細菌叢から DNA を抽出し、メタバーコーディング解析により種レベルでの同定を行いその細菌叢を比較した。

[材料と方法]ウガンダ共和国カリンズ森林保護区に同所的に生息する 5 種の霊長類(*Cercopithecus ascanius* (n=3), *Cercopithecus mitis* (n=7), *Cercopithecus l'oeesti* (n=8), *Colobus guereza* (n=2), *Pan troglodytes* (n=62)) 計 82 頭が吐き出した食物残渣を滅菌綿棒でスワビングし Lysis buffer 液で保存後、細菌叢 DNA を抽出・精製した。16S rRNA の V1-V2 領域のプライマーで PCR 増幅後、シークエンスライブラリを作成し、京都大学霊長類研究所所蔵の次世代シーケンサー(MiSeq, Illumina)を用いて細菌叢を同定した。

[結果]本研究ではフィールドで採取した食物残渣付着の少量の唾液から DNA 抽出に成功し、その細菌叢を比較した。細菌叢全体ではチンパンジーが多種と大きく異なるパターンを示し、残りの 4 種も類縁だがそれぞれ異なるパターンを示した。属レベルの解析では口腔疾患に関係する *Streptococcus* と *Bacteroides* 門に含まれる口腔細菌群のパターンを比較した結果、*Streptococcus* 属においては 5 種の宿主内口腔細菌叢が放射状の分化を示す一方、偏性嫌気性菌群である *Bacteroides* の細菌はチンパンジーにおける特異性を示した。

[考察]本研究の結果はヒトを含めた現在の霊長類の口腔細菌叢が宿主の口腔構造、食性、行動に応じて共進化してきた可能性を示唆する。

骨格観察における除毛処理の有効性に関する研究

金沢医科大学¹⁾医学部解剖学Ⅰ、²⁾看護学部医科学○狩山 信生¹⁾、坂田 ひろみ¹⁾、塚田 剛史¹⁾、島田 ひろき^{1),2)}、八田 稔久¹⁾

成獣マウスやラット等の有毛動物の骨染色では、前処置として除毛処理が重要である。しかし、除毛は組織の破壊を招くことや、手間がかかる点等が問題となる。今回我々は、組織を破壊することなく、且つ簡便に除毛する方法を検討し、骨染色への応用を試みた。

成獣 ICR マウスを深麻酔下で 4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液 (PFA) にて灌流固定した後、背部の皮膚を採取した。除毛溶液としてはメルカプト酢酸カルシウム/KOH 水溶液を用いた。種々のメルカプト酢酸カルシウム濃度および KOH 濃度の除毛液を調整して皮膚片を浸漬し、除毛に有効なメルカプト酢酸カルシウム濃度、KOH 濃度、処理温度、および処理時間を検討した。その結果、皮膚片を 2%メルカプト酢酸カルシウム/1%KOH 中で 42℃、72 時間浸漬すると容易に除毛できることが明らかになった。

次に、4%PFA または透明化固定液 (5%中性緩衝ホルマリン/5%Triton X-100 /1%KOH) で灌流固定した成獣 ICR マウスの手および足を 2%メルカプト酢酸カルシウム/1%KOH で 42℃、72 時間インキュベートして除毛した。除毛後の手・足を用い、近年我々が開発した迅速骨染色法 (RAP-B 法) で透明骨格標本作製したところ、皮膚の除去をせずに骨格の観察が可能な標本作製できた。

成獣マウスやラットの手・足の骨染色標本作製する際、従来法では除毛や皮膚除去等の細かい作業と、軟部組織透明化のための長時間処理を必要としたが、本研究で開発した除毛液と RAP-B 法による骨染色法を組み合わせることにより、簡便な操作、且つ短期間での骨染色標本作製が可能となった。手・足の骨格異常を観察する際、従来法で作製した標本では、皮膚除去作業によるアーチファクトが問題となるが、皮膚の除去が不要な本法ではその懸念がない。よって本法は、関節炎等の骨格異常の観察に有用であると考えられる。

本研究は、金沢医科大学動物実験委員会の承認を得て行われた。本研究は JSPS (科研費: JP26461634, 18K11659, ひらめきときめきサイエンス: HT24111, HT25131, HT26161, HT27181, HT28189) の助成を受け実施され、また、本研究の一部は和光純薬工業からの研究助成により実施された。

(利益相反: 無し)

迅速骨染色法(RAP-B法)の開発とその応用

¹⁾金沢医科大学 医学部 解剖学I、²⁾国保日高総合病院、

³⁾金沢医科大学 看護学部 医科学、⁴⁾金沢医科大学 一般教育機構 生物学

○坂田 ひろみ¹⁾、内芝 舞実²⁾、島田 ひろき^{1), 3)}、塚田 剛史¹⁾、狩山 信生¹⁾、
増田 なつみ¹⁾、有川 智博⁴⁾、東海林 博樹⁴⁾、八田 稔久¹⁾

実験動物を用いた変異体スクリーニング試験や毒性試験の際には骨染色標本での骨格観察が行われる。しかし、従来の骨染色法では組織の透明化に時間がかかることや、皮膚や内臓等の除去作業によるアーティファクトが問題となる。今回、骨格の原位置を保ちつつ、迅速に骨染色標本が作製できる手法(RAP-B法)の開発を行った。

哺乳類実験動物の代替として頻繁に使用されている小型魚類の迅速骨染色法を検討した。メダカおよびゼブラフィッシュを氷冷麻酔した後、ホルマリン、界面活性剤、及びKOHを含む透明化固定液に約16~72時間浸漬した。次にAlizarin red Sを含む染色液に15-30分浸漬した後、界面活性剤を含む洗浄液で余剰な染色を除去した。骨染色標本をグリセロールに浸漬して透明骨格標本作製した。成魚の場合3日以内に全身骨格標本の作製が可能であった。本法で作製した標本は、内臓、皮膚、筋肉を除去しないので、鰭や筋内骨等も原位置で観察できた。また、軟部組織がほぼ完全に透明化しており、厚い軟部組織に覆われた骨(椎骨など)であっても高倍像を明瞭に描出することが可能であった。続いてマウスとラットで迅速骨染色を試みた。ICRマウスおよびWistarラット胎児を透明化固定液に浸漬(E18胎児では42℃, 24h)し、さらにエチレングリコール、界面活性剤、およびKOHを含む透明化促進液に浸漬(E18胎児では42℃, 48h)した。透明化後、上述と同様の手法で透明骨格標本作製した。透明化促進液の使用により軟部組織の透明度がさらに高くなるため、標本サイズの大きいマウスおよびラット胎児では透明化促進液の使用が効果的であった。さらに本法を深部観察および多重染色へ応用するための検討を行った。Alizarin red Sの蛍光を発する性質を利用して、蛍光ズーム顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡による深部撮影を行い、取得画像を統合し骨の三次元像描出を試みた。さらにHoechst33342による蛍光核染色を行い、Alizarin red Sとの蛍光多重観察を行った。また、骨染色後のゼブラフィッシュのパラフィン切片を作製し組織構築の保持について検証したところ、核との二重染色のみならず組織学的解析への利用が可能であることが示された。

本法は、最初のステップで透明化固定液による標本の脱色・透明化を行うことで、従来法よりも短時間且つ簡便な工程で、透明度が高く標本の損傷がほとんどない骨格標本作製することが可能である。今後、毒性試験等で多個体をスクリーニング解析する際に有用な骨染色の自動化の開発につながることを期待される。また、深部観察や多重染色が可能であることから、骨以外の構造的物質の局在解析にも応用できる技術であることが示された。

本研究は、金沢医科大学動物実験委員会の承認を得て行われた。本研究は JSPS (科研費: JP26461634, 18K11659, ひらめきときめきサイエンス: HT24111, HT25131, HT26161, HT27181, HT28189) の助成を受け実施され、また、本研究の一部は和光純薬工業からの研究助成により実施された。(利益相反: 無し)

スカイフルーツが羊膜間葉系幹細胞に及ぼす効果

富山大学医学薬学研究部（医学）¹、東京理化学テクニカルセンター株式会社²、

富山大学医学薬学研究部再生医学³、医療法人社団芦屋ベンクリニック院長⁴

○吉田一晴^{1,2}、吉田淑子³、岡部素典³、卞 勝人⁴

スカイフルーツ（以下 SF：学名 *Swietenia macrophylla* King）は、和名オオバマホガニーの果実であり、東南アジアでは循環器系特に高血糖や高血圧に有効な伝統生薬であり、強壮剤としても知られている。また、センダン科であることから同科の高麗人参と効能が近いといわれているものの詳細な報告はほとんどなされていない。

【目的】過酸化水素水 H_2O_2 で酸化ストレスを加えた細胞に対する SF の抗酸化作用を明らかにする。

【方法】SF 粉末 10g を 50%エタノール 100ml で抽出、濃縮した。SF の抽出液を培養液濃度が最終的に 0.005、0.05、0.5、5.0 mg/ml になるように調整した。

ヒト線維芽細胞（HSF）およびヒト羊膜間葉系幹細胞（HAM α 細胞） 5.0×10^3 個を 96 well で 72 時間培養後、 H_2O_2 880 μ M を含む培地で 24 時間培養、その後上記濃度の SF 添加培地に交換し、24 時間後に細胞数を計測した。同条件で培養した細胞を回収し、mRNA の発現を PCR 法にて測定した。

【結果】 H_2O_2 で処理した細胞に SF を添加すると濃度依存的に細胞増殖が認められた。抗酸化酵素 Mn-SOD (manganese dependent superoxide dismutase) 及び catalase の mRNA の発現が、HAM α 細胞では、SF の濃度依存性に増加したが、HSF では無処置群とほとんど差が認められなかった。

【結論】幹細胞に対し特異的に抗酸化酵素の発現を増強した。

横断解剖実習の実際：胸部横断

- 信州大学での試みと経験 -

信州大学学術研究院医学系 組織発生学教室

○佐々木克典、岳鳳鳴、友常大八郎

解剖学実習に横断解剖を組み込んだのは30年ほど前である。解剖実習は一見、人体の三次元的な理解を促すように見えるが、実際は二次元的な解剖を繰り返していると考えた方がよい。つまり、浅層の解剖が終わり、深層の解剖に入る時、通常は浅層の構造は取り除かれ、存在しないことが多い。したがって、浅層の構造と深層の構造を同時に把握するのは難しい。この傾向は特に胸部内臓、腹部内臓についてあてはまる。この問題を解決するために、横断解剖を実習に取り込んだ。横断面は表層と深層を同時に把握できるために、人体の三次元的な把握に使えると考えたのである。

方法は、まず、ご遺体から、胸部内臓、腹部内臓を一塊として取り出し、脳刀で特定のレベルで横断する。例えば胸部の場合は、①大動脈弓上縁より上1-2cm及び下1-2cm、②大動脈弓下縁直下、あるいは下1-2cm、③右心室動脈円錐、④右心室中央で横断する。次に実習と平行して学生に横断面をスケッチさせる。ある程度でき上がったところに試問という形をとり、双方的にCT写真と実際の横断面を照合させる作業を行う。ここで行ったディスカッションをもとにして最後にスケッチを完成させる。プロローグとして、横断面とCT面の読み方をあらかじめ実習講義で触れておく。エピローグとして、実習試験では横断面の問題を30%前後含めるようにし、学生の知識の確実化を促す。

この実習を始めてから、二つのことに気づいた。一つは、横断面を学生に与えると一時的に思考の麻痺を起こすことである。通常の解剖実習ですでに、例えば胸部で同定したはずの構造が、胸部横断面を見せられた時に、ほとんど同定できないという現実に向き合わされ、プライドも含めてパニックを起こしてしまう。2-3回やると、逆にクイズを解くように同定ができるようになり、突然、興味をしめし始める。二つ目は、これは、学生の話であるが、ポリクリなどで臨床の現場に立った時に、少なくとも正常構造については、指導者も驚くほど反応できるという。

私の場合、横断解剖は人体の三次元構造を深く理解させるために導入したのであるが、画像診断の発達是否応なく解剖学教育に、学生がCT、MRI、超音波などの画面に親しむ機会を与えることを要求するようになっている。この要求にも今回のやり方は十分耐えると考えている。

夫をドナーとした生体肝移植後 18 年目に発症した肝細胞癌の 1 例

1) 富山大学医学部第三内科 2) 同 病理診断

○高原照美¹⁾、井村穰二²⁾

B型肝炎を背景に生体肝移植を受け 18 年目に肝細胞癌を発症した症例を経験した。腫瘍細胞がドナー、レシピエントいずれからの由来であるか、考察を含めて報告する。

【症例】現在 65 歳女性、1992 年から B型肝炎で当科通院していた。徐々に肝硬変へ進行し、

肝機能の低下をみとめ腹水、黄疸も出現し末期肝不全と診断された。1999 年 8 月に夫をドナーとする生体肝移植を信州大学で受けた。手術は夫の肝左葉グラフトを用いた。摘出されたドナーの肝臓は 710g で高度の肝硬変であった。術後は胆管狭窄、胆管炎や胆管結石で採石歴はあるがおおむね経過は良好であった。合併症として術後から 2 型糖尿病を発症しインスリン注射が導入された。免疫抑制剤は、タクロリムスを、また B型肝炎に対しては術前(1999 年 5 月)から核酸アナログ薬であるラミブジン(2015 年からエンテカビル)を内服し移植術前には HBV-DNA は 3.8 logIU/ml(TMA)であった。また 2000 年 11 月からは HBsAg は陰性化し、HBV-DNA も陰性を保った。術後は HBIG を 6 週ごとに投与を継続した。

年 1 回の肝画像検査を継続していたが、2017 年 8 月の肝ダイナミック CT, MRI で肝 S4 の肝表に 10mm 大の多血性腫瘍を認め、画像検査から肝細胞癌と診断した。2018 年 2 月に当院外科で肝部分切除術を施行した。肝腫瘍は画像検査どおり肝表に見られた。病理組織は被膜形成を持つ中分化型肝細胞癌で、背景肝は広い範囲で F1 の軽度の線維化が見られたが、肝表面は狭い範囲で F3 相当の線維化がみられた。術後経過は良好でその後の肝細胞癌の再発は認めていない。

病理学的に、腫瘍がドナー由来であるかレシピエント由来であるか検討するために Y 染色体の検出を、また HBV の影響があるか HBV-DNA integration を現在解析中である。

【考察】肝細胞癌は慢性肝疾患を背景に生じることが知られている。B型肝炎では HBV-DNA が肝細胞に integration することにより発癌するとされている。本症例ではドナー肝は術前から抗ウイルス治療を行うことにより長期に HBsAg が陰性であり HBV の関与は低いと考えられ、その発がん機序ははっきりしていない。骨髄移植患者では肝細胞の一部がドナー由来であることが知られており、ドナー骨髄細胞が肝細胞へと分化することが確認されている。本症例は移植後であることから癌部肝組織はドナー由来によるものであるが、万が一肝がん細胞がレシピエント由来であるとすれば、どこから、どのような経路で到達したか興味を持たれる。

バイオ 3D プリンタを用いて作製した心筋組織体の薬理応答の検討

佐賀大学医学部臓器再生医工学研究室
○荒井健一、村田大紀、中山功一

【背景及び目的】

我々は、今まで細胞のみを材料として立体構造体を作製する技術を開発しており、血管、肝臓、軟骨、心臓と様々な組織様構造体の作製に成功している。本研究ではヒト iPS 由来心筋細胞を用いて心筋組織体を作製し、薬理応答を検討した

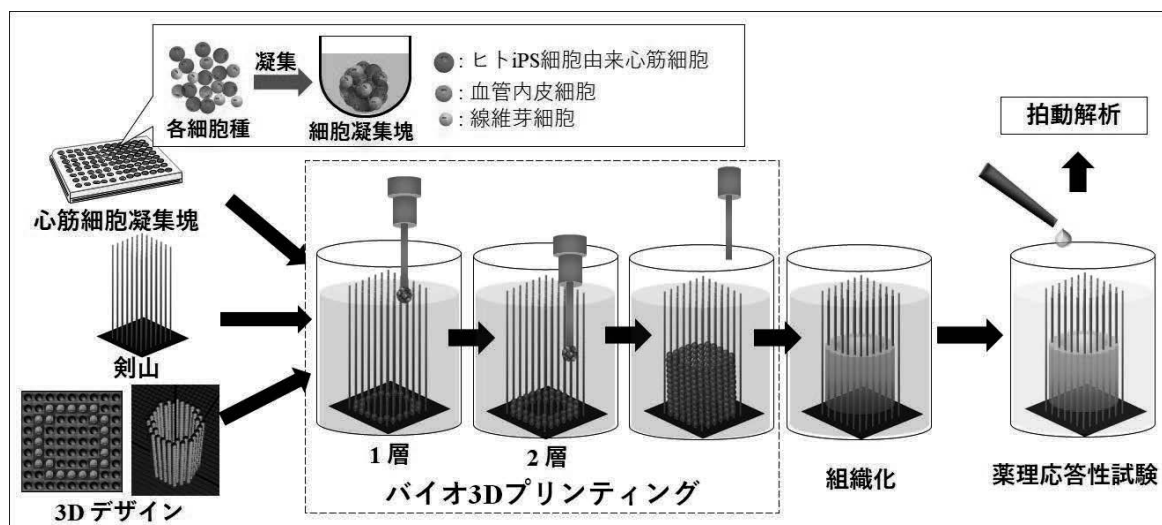
【実験方法】

iPS 由来心筋細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞を規定の濃度で混合し、細胞が低接着性の U 字型 96well-plate 内に播種することで、心筋細胞凝集塊を作製した。作製した心筋細胞凝集塊はバイオ 3D プリンタ(Regenova:サイフューズ社製)を用いて、剣山上にチューブ構造体に積層した(図参照)。積層した細胞凝集塊間を融合させる為に 1 週間、剣山上で培養した。培養後、剣山上で、拍動数、収縮力を増大させる薬剤であるイソプロテレノールを添加することで、心筋組織体の拍動数、収縮を顕微鏡で観察した。

【結果及び考察】

剣山上に作製した心筋組織体は、バイオリアクター内で 1 週間培養することで、細胞凝集塊同士が融合し、剣山上で同期していた。剣山上で心筋組織体が拍動する度に剣山の針が撓むことが確認された。本組織体にイソプロテレノールを添加した直後、心筋組織体の拍動数が増大し、針の撓む移動量も増大した。30 分後、薬剤を除去した後、組織体は添加前の拍動数、収縮力に戻っていた。以上のことから、バイオ 3D プリンタを用いて作製した心筋組織体は、剣山上で自己組織化され、薬剤応答性があることが示唆された。

本技術は、臓器移植代替法だけでなく、新薬開発に向けた動物実験代替法としても期待される。



マウス単径リンパ節郭清後に出現する迂回路は交通リンパ管の可能性がある

- 1) 金沢大学医薬保健研究域保健学系看護科学領域
 2) 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科保健学専攻
 ○中谷 壽男¹⁾, 中島 由加里²⁾, 浅野 きみ²⁾, 向井 加奈恵¹⁾

【目的】 マウスの下肢にリンパ浮腫を作製することは、困難であることが知られている（文献1）。腸骨・単径・膝窩リンパ節を郭清し、下肢リンパ浮腫作製実験で、下肢に注入したICGで、迂回路が描出された。この迂回路は元のリンパ管かより内側のリンパ管に繋がっていた。これらのことから、リンパ管やリンパ節の郭清後に、迂回路が形成され、その迂回路をリンパが通り、下肢のリンパ浮腫が軽減されると考えられた（文献2）。さらに、皮膚のリンパ管系は、真皮の毛細リンパ管、皮下組織の交通リンパ管、皮下組織にあり筋外膜に近い集合リンパ管からなる。それゆえ、この迂回路がどのようなリンパ管なのかを透過型電子顕微鏡で検討した。今回は準備実験である。

【材料と方法】 10週令 Balb/c オスマウスを使用、右単径リンパ節を郭清、30日後にICGを両下肢の皮下に注入、集合リンパ管と迂回路を描出、その部位の組織を採取、樹脂切片を作製し観察した。左側はコントロールとした。この実験は金沢大学動物実験委員会の承認を得て行った（AP-153596）。

【結果】 単径リンパ節郭清後30日で、ICG注入後にリンパ管を観察すると、腹側の正中よりを上行する集合リンパ管に注ぐ迂回路が観察された。コントロールではこのような迂回路は観察されなかった。コントロールでは、真皮の毛細リンパ管、皮下組織の集合リンパ管はよく観察されたが、これらのリンパ管を結ぶ交通リンパ管は稀にしか観察されなかった。迂回路のある組織では、真皮の毛細リンパ管と集合リンパ管はコントロールと同じような大きさを皮下組織に観察された。一方、交通リンパ管はコントロールより太い像が観察された。コントロールの電顕像では、毛細リンパ管の内皮細胞の反管腔面には細コラーゲンが無数に付着していた。交通リンパ管の壁には1～2層の平滑筋が見られた。集合リンパ管の壁は数層の平滑筋とコラーゲン束から形成されていた。迂回路の電顕像は、交通リンパ管のように壁に1～2層の平滑筋がみられた。

【結論】 迂回路の位置が皮下組織であること、その電顕像はコントロールでの交通リンパ管と類似していたことから、迂回路は、拡張した交通リンパ管であることが示された。さらに、平滑筋が見られることから、迂回路は積極的にリンパを流し、リンパ浮腫に対処していると考えられた。

【参考文献】 1) Komatsu E, Nakajima Y, et al., *Lymphat Res Biol.* 2017 Mar;15(1):32-38. doi: 10.1089/lrb.2016.0026. Epub 2017 Feb 2. 2) Nakajima Y, et al., *Sci Rep.* 2018 May 4;8(1):7078. doi: 10.1038/s41598-018-25383-y.

肝細胞 Golgi 装置の立体構造解析

¹ 藤田保健衛生大学医学部解剖学Ⅱ講座、² 自治医科大学医学部解剖学講座、³ 生理学研究所形態情報解析室、⁴ 藍野大学客員研究員臼田信光¹、○深澤元晶¹、大野伸彦²、村田和義³、野田亨^{1,4}

【目的】哺乳類細胞における Golgi 装置全体像の直接的立体観察は、超高压電顕 HVEM トモグラフィ、Volume-SEM (Array-SEM、FIB-SEM、SBF-SEM) の方法により、可能となった。Osmium impregnation の一方法である ZIO 法により染色した肝細胞の Golgi 装置の分布と形態を、SBF-SEM により観察し、他の哺乳類細胞との相違を考察した。

【材料と方法】ラット肝臓組織をグルタルアルデヒド固定後、ZIO染色液(Zn、I、Os混合液)で染色(1, 2)、樹脂包埋したブロックをSBF-SEM (3View2-Marlin、加速電圧1.2kV)で切削、表面から反射電子像を取得、連続断層像(70nm間隔)から立体構築ソフトで三次元構造を再構築し(3, 4)、肝細胞全体におけるGolgi装置の分布を可視化した。

【結果】Golgi 装置の lamella 全層が極めて高い電子密度で染色される。二次元像観察で、Golgi 装置は、細胞質内の複雑な断片的構造として観察される。Saccules は2~5枚程度の lamellae からなる。*Cis*側から *trans*側の lamellae と vesicles、vacuoles が反応陽性である。立体像では、各 Golgi 装置は様々の大きさの共通した特徴のある構造として観察される。全体は曲がりくねったりボン状の構造で、*cis-trans*軸の向きは複数であり、*cis*面は有窓性の板状構造、*trans*面は小管状構造として観察される。Golgi 装置は核近傍と毛細胆管に沿う2ヶ所に集中して局在し、Disse 腔側には存在しない。各細胞に20個程度存在し、細胞質に対する比体積は約1%で、一核・二核の細胞で構造の差はない。

【考察】哺乳類細胞の多くで、1個の Golgi 装置が核近傍に分布することが HVEM トモグラフィ・Volume-SEM 観察により報告されている(8-14)。肝細胞では、複数の Golgi 装置が核近傍と毛細胆管に沿って局在するという例外的な分布が示された。毛細胆管に沿う分布(5, 6)は、光顕・電顕で古くから観察されてきたが、SBF-SEM による立体視により確認された。毛細胆管に沿った分布は、合成された胆汁成分の輸送蛋白の毛細胆管膜への移送に Golgi 装置が関与する(7)ことの反映と考えた。

【参考文献】アンダーラインは発表者	【参考文献：哺乳類細胞 Golgi 装置の HVEM トモグラフィ・Volume-SEM 観察】
1. <u>Noda T</u> , Ogawa K. Acta Histochem Cytochem 17:435-51, 1984.	8. Tamaki H, et al. Acta Histochem Cytochem; 30: 643-651, 1997.
2. Atsuzawa K, <u>Usuda N</u> , et al. J Electron Microscopy 58:35-45, 2009.	9. Noske AB, et al. J Struct Biol. 161:298-313, 2008.
3. Nakao A, <u>Usuda N</u> , et al. Mol Brain 10:60, 2017.	10. Eckly A, et al. Blood. 123:921-30. 2014.
4. <u>Ohno N</u> , et al. Proc Natl Acad Sci USA 111:9953-8, 2014.	11. Koga D, et al. Microscopy (Oxford). 65:145-57, 2016.
5. Cramer W, et al. J Physiol. 62:74-80, 1926.	12. Taverna E, et al. Sci Rep 6:21206, 2016.
6. Fawcett DW. J Natl Cancer Inst 15:1475-503, 1955.	13. Koga D, et al. Biomed Res 38:285-296, 2017.
7. Kipp H, et al. Annu Rev Physiol 64:595-608, 2002.	14. Chung GH, et al. J Lipid Res 59:1402-13, 2018.

OPZ 貪食に伴うヒト多形核白血球の分泌果粒に関する分析電顕による解析

愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座

○盛口敬一、本田雅規

【目的】ヒト好中球の分泌果粒はアズール顆粒；AG (MPO, ACPase)、特殊顆粒；SG (lactoferrin)、gelatinase 顆粒；GG (gelatinase)の他に secretory vesicles；SV (ALPase)が細胞分画法および免疫細胞学的に同定されている。大きさについてはAGが最も大きく、SG、GG、の順にSVがもっとも小型(0.09~0.15 μ m)であると報告されている。またAGを除くSG、GG、SVの膜成分にNADPH oxidase 必須のCytochrome-b 558(Cyt-b)の局在が報告されている¹⁾。好中球が貪食等により刺激されるとCyt-bと他の細胞質因子が会合し活性型NADPH oxidaseとなり、 O_2^- が生成される。 O_2^- は急速に H_2O_2 に不均化される。そこでセリウムイオン(Ce 塩法)と反応させると沈殿を形成する。我々はこの反応を利用してSVに H_2O_2 -Ceを確認しAGとは異なる結果を得ている²⁾。今回、同様の貪食多形核白血球(PMN)においてCe 塩法に続いてALPase 活性を検出した後、分析電子顕微鏡にて関連元素について解析を行うことを目的とした。

【材料と方法】健常成人の末梢血よりPMNを分離し、スピッツ管にオプソニン化ザイモザン(OPZ)とPMNを加え37℃、10分間加温した。ここで2%グルタルアルデヒド(カコジル酸緩衝液)による7分間の前固定を行なった。短時間固定の後NADPHを加えたCe 反応液に細胞を移し37℃、10分間加温した。続いてくえん酸鉛(Pb)法によるALPase 活性検出を37℃、10分間行なった。反応後1%オスミウム(カコジル酸緩衝液)による後固定、脱水を経て、Quetol 653 樹脂包埋の後、超薄切片を作製し分析電子顕微鏡(JEOL 1400 Plus)にて元素分析を行なった。

【結果と考察】その結果、OPZ 貪食 PMN の食胞膜に Ce、Pb 両元素が検出された顆粒が観察された。さらにこの顆粒の大きさは0.13 μ mであり、大きさにおいてもSVであることが明らかとなった。以上のように通常電顕では観察できない細胞構成元素の存在を確認することができ、分析電顕の有用性が確認された。

(COI : なし)

- 1) N. Borregaard and J. Cowland: Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. Blood. 89: 3503-3521 (1997).
- 2) K. Moriguchi: Independent trafficking of flavocytochrome b558 and myeloperoxidase to phagosomes during phagocytosis visualised by energy-filtering and energy-dispersive spectroscopy-scanning transmission electron microscopy. J of Microsc 269: 338-345 (2018).

ハゼ目魚類ヨシノボリの終脳に見出された特徴的な構造

¹富山大学 解剖学講座, ²名古屋大学 水圏動物学研究室, ³愛媛大学附属高校,

⁴愛媛大学 沿岸環境科学研究センター, ⁵聖マリアンナ医科大学 解剖学講座, ⁶富山大学 生命科学先端研究センター, ⁷東邦大学 解剖学講座, ⁸神経研究所, ⁹愛媛大学 進化形態学研究室

○川口 将史¹, 萩尾 華子², 山本 直之², 松本 浩司³, 仲山 慶⁴, 赤染 康久⁵, 和泉 宏謙⁶,

恒岡 洋右⁷, 須藤 文和⁸, 村上 安則⁹, 一條 裕之¹

終脳は、哺乳類では大脳皮質や海馬、扁桃体といった領域からなり、記憶や情動、意志決定などの高次機能に深く関わる。魚類でも、終脳が記憶や情動、個体識別に関わることが報告されており、相同な構造や神経回路の存在が示唆される。しかし魚類の終脳の諸構造は、発生の過程で生じる外翻のため他の脊椎動物との比較が難しく、また魚類の種間でも極めて多様化している。このため、魚類の終脳に関する一般化された理解は、まだ得られていない。近年の系統樹解析の結果、ハゼ目はスズキ形類の基幹に位置する魚種であり、他のスズキ形類の外群として、また棘鰭上目の祖先的な系統として、重要な系統的位置を占めることがわかった。そこで本研究では、ハゼ目魚類の一種であるヨシノボリに注目し、その終脳の構造について、Nissl 染色による形態的構造の観察と、神経マーカーおよび神経伝達関連因子の分布パターンに関する解析を行った。また、これらの結果に基づいてハゼ目の終脳の構造を他の魚種と比較し、その特殊性と共通性を検証した。

ヨシノボリの終脳では、以下の二点が顕著な特徴として観察された。1) 魚類の視覚中枢として知られる終脳背側野側部 (DI) が、神経マーカーなどの分布パターンによって7つもの区画に分けられた。特に DI4-7 は、HuC/HuD 陽性の神経細胞が列をなす板状の構造によって仕切られ、神経ペプチド Substance-P を含む神経線維の終末は、DI5 にはほとんど分布しないのに対し、DI6 には豊富に分布した。2) 魚類の終脳腹側野背側部 (Vd) は、他の脊椎動物の基底核に相当する。ヨシノボリでは、Vd を構成する細胞集団が、終脳の広範囲に分布していた。特に終脳腹側野中心部 (Vc) は、他の魚種でも Vd の細胞集団の一部が外側に分布域を広げたものと考えられているが、ヨシノボリの Vc は非常に大きく発達しており、終脳背側野中心部 (Dc) に深く侵入していた。この細胞集団は *gad65*, *substance-p*, *enkephalin* 陽性の細胞を含み、哺乳類の線条体に類似の細胞組成を示した。ただし、ヨシノボリの Vc にはドーパミン作動性神経線維 (Tyrosine hydroxylase 免疫陽性) の入力はないため、細胞組成以外の側面でも線条体に相当するかは明らかになっていない。

ヨシノボリの終脳では、Substance-P や Calretinin の免疫陽性線維が Dc を円周していた。このような線維の走行はカサゴやモルミルスでも観察されており、魚類に共通な線維路の存在が示唆された。一方、興奮性神経細胞のマーカーである *vglut1* や *vglut2* の陽性細胞は、シクリッドではすべての DI 区画に多く分布しているのに対し、ヨシノボリの DI には、これらの陽性細胞を含む区画と含まない区画があった。これまでにも、魚類の DI の形態は顕著に多様化していることが知られていたが、今回の解析により、DI は細胞組成の点でも種ごとに特殊化しており、機能的にも多様化していることが示唆された。特に、ヨシノボリの DI4-7 に見られた神経細胞の仕切り構造は、他の脊椎動物の背側終脳には見られない特徴であり、その機能的意義の解明は今後の重要な課題である。

TRPM7 を介する神経傷害

○井上浩一^{1,2}, 植木孝俊¹, Zhigang Xiong²¹名古屋市立大学医学研究科統合解剖学分野²Department of Neurobiology, Morehouse School of Medicine

非特異的陽イオンチャネルである TRPM7 は Mg^{2+} ホメオスタシスや Ca^{2+} 依存性の神経細胞傷害に関与することが知られているが、亜鉛透過性のある数少ないチャネルのひとつでもある。脳虚血などの傷害時に神経細胞への過剰の亜鉛流入が傷害性に作用することが知られており、動物モデルでの脳虚血において亜鉛除去剤を投与すると傷害が軽減する。生体内での亜鉛の局在・移行は主に亜鉛トランスポーターや亜鉛透過チャネルによって行われるが、脳内では亜鉛透過チャネルの関与がより大きいと考えられる。我々は、以前、神経細胞における亜鉛毒性に TRPM7 が関与する可能性を報告しているが、最近、糖尿病モデルの脳で TRPM7 の発現レベルが上昇することを見出した。糖尿病などの基礎疾患がある場合、脳梗塞発症時の症状が増悪することが知られており、TRPM7 の発現上昇がその一因になっている可能性がある。

乳幼児突然死症候群（SIDS）モデルラットの作製と解析

三重大学大学院 医学系研究科 発生再生医学

○大河原剛、江藤みちる、成田正明

【背景】乳幼児突然死症候群（SIDS）は、何の予兆や既往歴もないまま乳幼児が死に至る病気、日本の乳児死因の第3位を占めており、平成28年度には109名の乳児がSIDSで亡くなっている。SIDSの発症機序は不明であるが、睡眠中に無呼吸に陥った際に覚醒できずに亡くなると考えられている。無呼吸からの覚醒には脳幹のセロトニン神経が重要な働きをしており、さらにSIDSで亡くなった児の脳幹においてセロトニン神経の異常が見られたことから、SIDSの発症には脳幹のセロトニン神経系の異常が関与していると考えられている。最近、我々はウイルス感染モデルラットを用いて、妊娠中のウイルス感染が胎仔および産まれた仔のセロトニン神経系に異常を起こすことを明らかにした（Ohkawara et al., Brain & Dev 2015; Ohkawara et al., J Japan SIDS Res Society 2016）。このことから我々は、妊娠中のウイルス感染が胎児脳のセロトニン神経に異常を引き起こした結果、SIDSが起こる可能性を考えている。この仮説を確かめるために我々は、SIDSモデルラットの作製を試みた。

【方法】①SIDSを発症した児の8割以上に細菌感染が見られることから、細菌感染がSIDS発症の引き金になっている可能性がある。その為、妊娠10日目のWistarラットにウイルス感染モデルとしてよく用いられるpolyriboinosinic : polyribocytidylic acid (poly I:C)を投与し、出産後、その仔ラット（生後12日）に細菌感染モデルとして研究に用いられるlipopolysaccharide (LPS)を投与し、24時間後の死亡率を調べた。②妊娠10日目にpoly I:Cを投与し生後12日目にLPSを投与したラットをSIDSモデルとして、LPS投与2時間後の血液の生化学検査を行った。③SIDSでは高二酸化炭素ガスに対する反応の異常が疑われていることから、妊娠中のウイルス感染が産まれてきた仔の呼吸能に異常を起こす可能性を考え、妊娠10日目のラットにpoly I:Cを投与し、産まれてきた仔の呼吸能を呼吸肺機能評価システムを用いて調べた。

【結果】①LPS投与後の死亡率を調べた結果、コントロール群では24.0%（25匹中6匹死亡）であったのに対し、poly I:C群では76.9%（26匹中20匹死亡）と死亡率の有意な増加がみられた。②血液生化学検査の結果、SIDSモデルラットにおいて、いくつかの因子に有意差が見られることを明らかにした。③幼若ラットの呼吸能を調べた結果、poly I:Cを投与された親から産まれた仔ラットは、高二酸化炭素ガスにさらされた際、生後12～14日で総換気量が増加する傾向が見られた。

【考察】妊娠中のウイルス感染が胎仔の呼吸中枢に何らかの異常を引き起こし、さらに生後の細菌感染が引き金となりSIDSが起こる可能性がある。（COI：なし）

ミクログリア除去時に現れるアストロサイトの食食能

¹名古屋大学 大学院医学系研究科 機能組織学²宮崎大学 医学部医学科 感染症学講座免疫学分野○小西博之¹、佐藤克明²、木山博資¹

ミクログリアは脳内で食食能を担うグリア細胞である。最近我々はミクログリア特異的にジフテリア毒素受容体を発現するマウスを用い、脳内からミクログリアを除去する実験系を確立した。この実験系では、ミクログリアの食食作用は機能していないにもかかわらず、ミクログリアの残骸は速やかに脳内から消える。そのため、ミクログリア以外の細胞がミクログリア残骸を食食したと考えられた。まず、ミクログリア除去後の脳において各種細胞マーカー分子の発現をリアルタイム PCR で調べたところ、アストロサイトマーカーである GFAP が顕著に発現上昇することが分かった。そこで、免疫組織化学と走査型電子顕微鏡によりアストロサイトを観察した結果、アストロサイトは太く変化した突起を用いミクログリア残骸を食食することが明らかとなった。このアストロサイトによるミクログリア残骸の食食は、アストロサイトとアポトーシスを誘導したミクログリアの共培養でも再現された。さらに、共培養系における siRNA を用いたノックダウン実験から、アストロサイトに発現する TAM ファミリー分子がミクログリア残骸を認識する食食受容体として働くことが判明した。以上の結果から、ミクログリアの食食能が機能しない時に代償的にアストロサイトが食食を行う可能性が示唆された。

脳損傷後の神経回路再編における分子および運動介入の効果

¹金沢医科大学 解剖学Ⅱ、²近畿大学 東洋医学研究所

○田中 貴士^{1,2}、宮田 信吾²

【目的】

成体の中枢神経は神経自体の再生能力不足や再生阻害因子の存在により著しく再生能が乏しいため、脳や脊髄損傷に対する根本的な治療法は未だ確立されていない。しかし近年、中枢神経の損傷後に残存した神経回路が限定的ながら再編を起こし、機能回復に寄与することが分かってきた。本研究では、代表的な神経再生シグナル（BDNF/TrkB）の抑制因子であるチロシン脱リン酸化酵素（SHP-1）を抑制することで脳損傷後の神経軸索の伸長・分岐（発芽）を促すとともに、自発的な運動によって神経回路の再編を強化・増大させることで、脳損傷後の機能回復が効果的に得られるか否かを検証した。

【方法】

運動群のマウスは、夜間の12時間自由に走行できる環境にて飼育した。脳損傷モデルの作製後、順行性・逆行性トレーサーによって脳損傷後の皮質脊髄路の発芽や神経回路の再編の程度を免疫組織化学的に解析し、野生型およびSHP-1ノックアウト（KO）マウスにおける非運動群、運動群において比較した。また、各群において脳損傷後の運動機能の回復過程や栄養因子の発現変化についても経時的に評価した。

【結果】

平均して約10 km/日走行している運動群のなかでも、特にSHP-1 KOマウスにおいて皮質脊髄路の発芽が顕著に増加しており、運動機能の回復も良好であった。また、脳損傷の直後から脳におけるBDNF、TrkBの発現が顕著に減少すること、運動によってそれらの減少が有意に抑えられることが明らかになった。

【結論】

BDNF/TrkBの抑制因子であるSHP-1の抑制下において自発的な走行運動を行うことで、損傷後の神経軸索の発芽や神経回路の再編がさらに増大することが明らかになった。脳損傷後の効果的な神経回路の再編には、神経再生の抑制因子をターゲットとした分子的介入と、神経活動に依存的な神経回路を強化・精緻化する運動を融合させることが有効であることが示された。

【参考文献】

Fujita Y, et al. EMBO J. 1389-401, 2011.

Tanaka T, et al. Cell Death Dis. e567, 2013.

Ueno M, et al. Brain. 1253-67, 2012.

アストロサイト CD38 による神経発達制御機構

金沢大学医薬保健研究域医学系 神経解剖学

○服部 剛志、堀 修

(目的)

自閉症のモデル動物である CD38 ノックアウトマウスではオキシトシンの分泌量が低下するため、子育て行動の異常、社会性の低下がおきる。一方、自閉症患者脳においてオリゴデンドロサイトやアストロサイトなどのグリア細胞の発達異常があることが知られている。本研究では、アストロサイトが脳の発達に与える影響を明らかにするため、アストロサイト特異的 CD38 ノックアウトマウスを用いて神経発達異常を解析した。

(材料と方法)

アストロサイト特異的 CD38 ノックアウトマウスを作成し、成体脳サンプルを採取し、ウェスタンブロット、免疫染色にて神経発達異常を解析した。また、行動に与える影響を検討するために、高架式十字迷路、tail suspension test, open field test, 3 chamber (social interaction)を行った。

(結果)

前シナプスのマーカーである VGLUT1 及び VLUGT2 のうち、特に VGLUT2 の発現量が顕著に減少していた。また、後シナプスのマーカーである PSD95 の発現量も減少していた。両マーカーの局在が一致するシナプス部位の数もアストロサイト特異的 CD38 ノックアウトマウスで減少していた。行動においては、3 chamber test において一部の行動試験に異常がみられた。

(結論)

アストロサイトの CD38 が非細胞自律的メカニズムにより神経発達に影響を与える可能性を見出した。また、アストロサイトは社会性の形成にも関与する可能性を見出した。

β 2-microglobulin 欠失マウスの網羅的行動解析

¹藤田保健衛生大学 医学部解剖学 II、²総合医科学研究所システム医科学
○深澤元晶¹、高井聡子²、宮川剛²、石嶺久子¹、臼田信光¹

【目的】網羅的行動バッテリーにより β 2-microglobulin (β 2M) 欠失の脳高次機能に与える影響を調べた。 β 2M は house keeping gene で、臨床的には腎臓長期透析におけるアミロイドーシスの前肢沈着が問題になる(1)。低分子性血清蛋白質として、カドミウム腎障害の尿バイオマーカーである(2)。生理機能は、免疫機能を有する分子 MHC class I 重鎖と結合し安定化する。脳を含む全身の細胞に発現し、神経細胞の形態・機能との関係が近年注目される(3,4)。特に、動物実験では β 2M と認知機能の関係が注目されている(5)。

【材料と方法】動物：購入した β 2M(-/-)と C57BL/6J とのヘテロ個体 β 2M(+/-)を交配し、同腹個体の β 2M(-/-)と β 2M(+/+)を得た。両群20匹を各2匹ずつ共飼育、行動実験を行った。行動実験：一般検査および21種類の計測を行った(6)。

【結果】活動量、不安様行動、うつ様行動に変化はなく、社会的行動と記憶・学習に変化が見られた。社会的行動では、新奇探索行動 (Crawley) の軽度亢進、社会性 (Novel environment) の軽度低下が示された。記憶・学習においては、作業記憶 (T-maze) 低下が最も著明で、運動学習 (Rotarod) の低下も観察されたが、空間・参照記憶 (Barnes maze)、文脈記憶 (Fear conditioning) に変化はなかった。

【結論】 β 2M 欠失が認知機能低下をもたらすことが示された。MHC-I に関連する TAP1 や Schunurri-2 の欠失において、認知機能低下が報告されている(7,8,9)。この脳機能の変化はいずれの分子においてもシナプスの異常によると推定される(10)。MHC-I 重鎖とその関連分子である β 2M、TAP1 の欠失動物における脳機能の変化は多くの報告がされ、精神神経疾患の解明への貢献が期待される (11-19)。

本研究は文部科学省 共同利用・共同研究拠点「脳関連遺伝子機能の網羅的解析拠点」の支援を受けた。

<p>【参考文献】アンダーラインは発表者</p> <ol style="list-style-type: none"> Gorevic PD et al. J Clin Invest 76:2425-9, 1985. Usuda N et al. Jap J Clin Electron Microsc 18:389-400, 1985. Boulanger LM Shatz CJ. Nat Rev Neurosci 5:521-531, 2004. Corriveau RA et al. Neuron 21:505-520, 1998. Smith LK et al. Nat Med 21:932-7, 2015. Maeta K, Hattori S, Miyakawa T, et al. Mol Brain 11:27, 2018. Nelson PA et al. Learn Mem 20:505-517, 2013. Takao K, Usuda N, Miyakawa T et al. Neuropsychopharmacology 138:1409-25, 2013. Nakao, Usuda N, Miyakawa T et al. Mol Brain 10(1) 60, 2017. Oliveira ALR et al. Proc Natl Acad Sci 101:17843-8, 2004. 	<p>【参考文献：MHC-I 欠失動物の脳機能】 左記 7, 8, 9 に加え</p> <ol style="list-style-type: none"> Huh GS et al. Science 290:2155-9, 2000. Datwani A et al. Neuron 64:463-470, 2009. Glynn MW et al. Nat Neurosci 14:442-451, 2011. Nelson PA et al. Learn Mem 20:505-517, 2013. Lee H et al. Nature 509:195-200, 2014. Edamura M et al. PLoS One 9:e107099, 2014. Smith LK et al. Nat Med 21:932-7, 2015. Murakami G et al. Sci Adv 4:eaap7388, 2018.
---	--

Peripheral leukocyte accumulation in the brain is critical pathology of cerebral vasospasm/neuronal dysfunction after subdural arachnoid hemorrhage.

○Hiroshi Ishii*, Yasuhiro Aida[#], Yasuyuki Ohkuma*, Roboon Jureepon*, Tsuyoshi Takeda*, Mika Takarada*, Mitsutoshi Nakada[#], Yasuhiko Yamamoto^{\$}, Osamu Hori*

*Dept. of Neuroanat., [#]Dept. of Neurosug., and ^{\$}Dept. of Vasc. Mol. Biol., Kanazawa Univ.

Purpose: Subarachnoid hemorrhage (SAH) suddenly develops predominantly by ruptured cerebral aneurysm. The severity of SAH is higher than other types of stroke such as cerebral ischemia and intracranial hemorrhage. It is critical to prevent disability following cerebral vasospasm (CVS) after SAH. Our research purpose is to elucidate mechanism underlying CVS and find novel target of brain injury after SAH.

Method: In BL6/J background mice, Micro-filament, of which tip is cut at right angle, is inserted from left external carotid artery stump to internal carotid artery, and ruptured at the bifurcation of anterior cerebral artery and middle cerebral artery.

Results: In a damage-associated molecular patterns (DAMPs) receptor-deficient mice, neurological score and cerebral vasospasm was markedly improved compared with control mice. The DAMPs receptor was expressed in endothelial cells of internal carotid artery after SAH. However, vascular specific DAMPs receptor-deficient mice did not show improvement of CVS after SAH. In stead, bone marrow transplantation of wild type mice into DAMPs receptor-deficient mice did not show improvement these phenotypes compared with control one into wild mice. Therefore, DAMPs receptor in immune cells may contribute to CVS after SAH. Indeed, neutrophils accumulated around cerebral artery after SAH in DAMPs receptor-dependent manner.

Conclusion: We newly identified a DAMPs receptor as an inducer molecule of CVS/brain injury after SAH. The DAMPs receptor in leukocytes is attributed to accumulation around cerebral vessels, which contributes to critical pathology of CVS after SAH.

SGLT inhibitor and Impaired Phospholipid Metabolism of Proximal Tubular Epithelium in Diet-Induced Obesity (DIO) Mouse Kidney

○Sei Saitoh¹, Takashi Takaki², Satoshi Shimo³, Nobuhiko Ohno^{4,5}

1. Department of Anatomy II and Cell Biology, Fujita Health University School of Medicine, Aichi, Japan.
2. Division of Electron microscopy, Showa University School of Medicine, Tokyo, Japan.
3. Department of Occupational Therapy, Health Science University, Yamanashi, Japan.
4. Division of Histology and Cell Biology, Jichi Medical University, School of Medicine, Tochigi, Japan.
5. Division of Neurobiology and Bioinformatics, National Institute for Physiological Sciences, Aichi, Japan.

Abstract

Obesity is a major cause of type 2 diabetes mellitus resulting in pathological changes in nephron system. In this study, we examined if diet-induced obesity (DIO) impairs metabolism and induces damages in the epithelium of proximal renal tubules. Adult C57BL-6J male mice were fed with a high-fat diet (HFD) or standard diet (STD) from 4 weeks of age for 16 weeks. The 20 week mice were administrated with phlorhizin, an inhibitor of SGLT for Na⁺ and glucose reabsorption into cytoplasm, or vehicle. SBF-SEM was used to identify three-dimensional architectures of the epithelial organelles in proximal convoluted tubules in kidneys. STEM-EDX and Raman microscopy were used for component-analysis of the pathological lesion of the tubular epithelium after HFD. SBF-SEM revealed mitochondrial fragmentation and accumulation of autophagosomes in proximal convoluted tubules in HFD mice, and SGLT inhibitor administration partially ameliorated the pathological changes. STEM-EDX mapping analysis evidenced accumulation of element phosphorus in the autophagosomes, and Raman microscopy detected same peak as sphingomyelin and its metabolite in the autolysosomes. These results suggest that SGLT inhibitor's administration ameliorates damage of the proximal tubules with abnormal mitochondrial dynamics and phospholipid metabolism caused by HFD.

卵丘細胞が分泌するサイトカインおよび神経ペプチドによる受精の促進

富山大学・教養教育院

○谷井一郎，荒舘忠

【目的】

哺乳類の卵丘細胞は、卵周囲で形態的・機能的に異常のある精子を選別する障壁となっていると考えられてきたが、近年、受精を促進している証拠が挙げられてきている。しかし、その詳細については未解明である。下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（PACAP）は卵胞液中に存在し、また、精子先体にも存在する。PACAP 受容体 PAC1R は卵丘細胞で発現している。そこで本研究は、PACAP を介した卵丘細胞による受精促進について調べた。

【方法と結果】

卵丘細胞－卵複合体（cumulus-oocyte complex: COC）に PACAP を作用させると体外受精率は上昇した。COC の PACAP 処理液には先体反応を促進し、精子の運動性を高め、精子の透明帯通過を促進する因子が含まれていた。この受精を促進する因子を同定するために、DNA マイクロアレイにより PACAP の作用に伴う卵丘細胞の遺伝子発現変動を調べたところ、多くの遺伝子発現が上昇することが示された。我々はこれらの遺伝子産物の中で比較的解析しやすいサイトカインと神経ペプチドに絞り込んで、それらの分子の精子への作用を調べた。その結果、CCL2 と Neurokinin A（NKA）の作用に関して研究成果を得た。ウェスタンブロットで精子細胞膜分画中に CCL2 受容体 CCR2 および NKA 受容体 NK2R が存在することを確認した。間接蛍光抗体法で、CCR2 は前精子部および鞭毛全体に、NK2R は精子先体を被う前精子部に局在を認めた。CCL2 は排卵後の卵管膨大部液中に検出された。ボイデンチャンバーによる走化性実験により、CCL2 が精子を誘引することが示された。精子を NKA 処理すると先体反応が促進され、精子の透明帯通過率が上昇した。NK2R アンタゴニストは体外受精を抑制した。これらの結果は、NKA が COC 中に含まれ、受精を促進していることを示唆している。以上の結果は、PACAP は卵丘細胞に作用して、精子を誘引する CCL2 と精子の透明帯通過率を高める NKA を分泌させることによって受精を促進することを強く示唆する。

Reelin 欠損による小脳低形成を Sonic hedgehog シグナルを利用し、治療できるか

名古屋大学大学院医学系研究科細胞生物学分野

○松岡未紗, 宮田卓樹

〔目的〕 小脳は、分子層、プルキンエ細胞層、顆粒細胞層の三層構造から成り立っている。顆粒細胞は、脳全体の三分の二を占めると言われ、最も数の多い細胞であり、運動機能に不可欠であると広く知られている。顆粒細胞が生後に増加することによって、小脳表面積と体積は増加する。プルキンエ細胞から分泌される Sonic hedgehog (Shh) により外顆粒層 (EGL) の顆粒細胞前駆細胞 (GCP) において Smoothed (Smo) が活性化することでその分裂が促進され、顆粒細胞は増加する。

Reeler マウスにはよろめくという運動失調がみられ、これは小脳低形成によるものであること、遺伝子 *reelin* の欠損により、プルキンエ細胞が整列しなくなることが知られている。この小脳低形成は、プルキンエ細胞が整列しなくなったことにより、EGL の GCP に Shh の供給が阻害され、顆粒細胞の生成量が減少したのではないかと考えた。そのため、今回の研究は、ステロイドホルモンの副作用による小脳低形成を Smoothed agonist (SAG) の使用により改善が見られたという報告¹⁾に基づいて、同様に SAG が Reeler マウスの治療に用いることができるのではないかと考え、調べた。

〔材料と方法〕 Reeler マウス (ホモ, *rl/rl*) を使用し、出生 1 日齢から 3 日齢まで薬剤を皮下投与した。SAG 群では SAG 20 μ g/BW1g を、DMSO 群では 2% DMSO 溶液を投与した。3 日齢時に BrdU を投与し、30 分後に periodate-lysine-paraformaldehyde (PLP) で灌流固定を行い、小脳を取り出した。その後、凍結切片を作成し、免疫染色を行い、BrdU 陽性細胞 (S 期細胞) 数、Pax6 陽性細胞 (顆粒細胞) 数、小脳の外周長と面積などを測定した。

〔結果と考察〕 SAG 群と DMSO 群で比較すると、SAG 群の方が Pax6 陽性細胞、BrdU 陽性細胞が優位に増加していること、SAG 群の方が小脳における EGL の占める割合が大きいことが分かった。この結果から、SAG は外顆粒細胞を増加させる効果があることが分かった。そして、プルキンエ細胞が整列しないことにより、GCP へ Shh の供給が阻害され、Reeler マウスの小脳低形成が生じていることが示唆された。また、SAG を Reeler マウスの小脳低形成に対する治療に使える可能性を見いだせた。

〔参考文献〕

1) Vivi M. Hein et al.: Sci Transl Med. 2011 Oct 19;3(105):105ra104

EGFP-To12 細胞標識システムとウズラ-ニワトリキメラ胚を

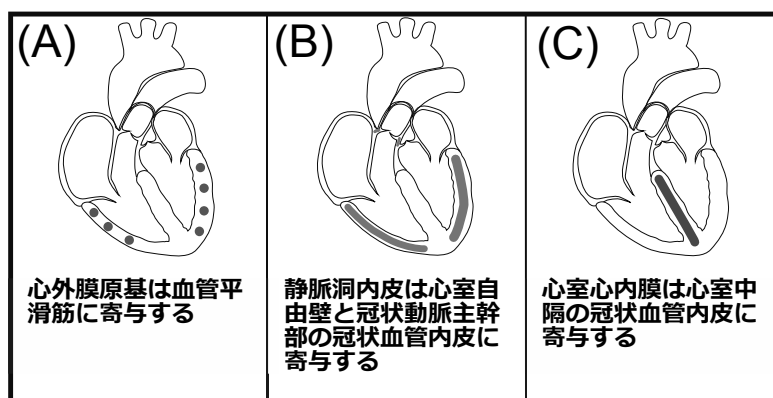
用いた冠状血管内皮細胞の起源探索

1) 朝日大学歯学部口腔解剖学分野解剖学

2) 大阪市立大学大学院医学研究科器官構築形態学

○上村竜也¹⁾、山岸敏之²⁾、江尻貞一¹⁾、中島裕司²⁾

冠状血管内皮細胞の起源について、鳥類では以前の研究により、心外膜の前駆体である心外膜原基が冠状血管内皮細胞の起源とされていた。一方で近年、マウスにおいて冠状血管内皮細胞の主な供給源は、静脈洞内皮または心室心内膜であるという報告がなされた。よって、本研究では細胞標識法により冠状血管内皮細胞の起源を直接的に明らかにすることを目的とした。メダカゲノムから発見された DNA 型トランスポゾンである To12 因子を用いたシステムにより EGFP (enhanced green fluorescent protein) をそれぞれ心外膜原基、静脈洞内皮、心室心内膜の 3 種類の標的細胞のゲノムに組み込む細胞標識法を、ウズラ-ニワトリキメラに適用することで 3 種類のキメラ胚を作製した。それらのキメラ胚にウズラ内皮細胞を特異的に認識する抗 QH1 抗体を用いた免疫組織化学を併用することで、鳥類における冠状血管内皮細胞の起源の詳細な解析を試みた。EGFP-To12 キメラ実験から、心外膜原基は一部が冠状血管内皮細胞に分化したが、主として血管平滑筋細胞に分化した (図 A)。冠状動脈主幹部、心室自由壁、および背側心室中隔の冠状血管内皮細胞は主に静脈洞内皮に由来し (図 B)、中間および腹側心室中隔の冠状血管内皮細胞の大部分は心室心内膜に由来することが分かった (図 C)。よって鳥類では、静脈洞内皮および心室心内膜が冠状血管内皮細胞の主要な供給源であり、それらは異なる領域の冠状血管内皮細胞に分化する。鳥類心臓における冠状血管内皮細胞の起源は、マウスモデルで観察された結果と基本的に同じであったが、冠状動脈主幹部についての報告は初めてであり、冠状血管内皮細胞が領域特異的な起源を持つことが示された。



Kamimura T, et al. Avian coronary endothelium is a mosaic of sinus venosus- and ventricle-derived endothelial cells in a region-specific manner. *Development Growth and Differentiation*. 2018 Feb;60(2):97-111. doi: 10.1111/dgd.12422. Epub 2018 Feb 2.

Leukemia inhibitory factor induces corticotropin releasing hormone in the mouse placenta

Departments of ¹Anatomy, ²Medical Science, and ³Biology, Kanazawa Medical University

○He Wang¹, Tsuyoshi Tsukada¹, Hiromi Sakata-Haga¹, Hiroki Shimada^{1,2}, Tomohiro Arikawa³, Hiroki Shoji³,
Toshihisa Hatta¹

In rodents, maternal leukemia inhibitory factor (LIF), as shown in previous studies, induces adrenocorticotrophic hormone (ACTH) secretion from the placenta, which in turn stimulates fetal nucleated red blood cells to secrete LIF (maternal–fetal LIF-ACTH signal relay pathway proposed by Simamura et al., 2010). Here we examined the effects of LIF on the expression and secretion of corticotropin releasing hormone (CRH) in mouse trophoblasts *in vitro*. The mouse trophoblast stem cells (mTSCs) used in this study are capable of differentiating to various types of trophoblasts, including giant trophoblasts, spongiotrophoblasts, and syncytiotrophoblasts. We examined the expression of *Crh* in mTSCs and of CRH levels in the culture media containing LIF (10 ng/ml of recombinant mouse LIF) at several time points by quantitative RT-PCR or Sandwich ELISA, respectively. At 3 and 5 days after LIF supplementation, the expression of *Crh* was increased significantly in mTSCs with LIF treatment compared with those in the control. The concentration of CRH in the culture media was also increased. We then examined the effect of LIF on the induction of CRH in the placenta *in vivo*. We injected the pregnant mice (C57BL/6J) with LIF (5 µg/kg BW and 25 µg/kg BW) at gestational day 13.5, and collected the placenta 3 hours after the injection. The expression of *Crh* in the placenta was significantly increased by LIF treatment in a dose- dependent manner. These findings suggest that LIF induces CRH in trophoblasts, contributing to the induction of ACTH secretion from the placenta.

We performed all procedures involving experimental animals in accordance with the guidelines for animal experiments provided by the Ethics Committee of Kanazawa Medical University. This work was supported by KAKENHI (16H05364 and 15K15405).

COI: None

Role of CD38 in Cuprizone-induced Demyelination

金沢大学医薬保健研究域医学系 神経解剖学

○Roboon Jureepon、服部 剛志、堀 修

(目的)

CD38 is an ADP-ribosyl cyclase that is involved in a variety of cellular processes. We recently reported that CD38 played important roles such as myelination in the development of glial cells. However, functional role of CD38 in glial cells in pathological condition was unclear. In this study we investigated role of CD38 for demyelination.

(材料と方法)

To investigate its role in demyelination, we employed cuprizone (CPZ)-induced demyelination model. We made CPZ model by using wild type, CD38 knockout (KO) mouse, astrocyte-specific conditional CD38 KO mouse and microglia-specific conditional CD38 KO mouse. We examined demyelination and glial activation of these mice by immunohistochemistry, western blotting and qRT-PCR.

(結果)

We found that strongly elevated expression level of CD38 in the glial cells during demyelination. CD38 KO mice exhibited significantly attenuated demyelination and glial activation. Furthermore, only astrocyte-specific conditional KO mice also showed milder demyelination and glial activation.

(結論)

These results suggest that astrocytic CD38 play a critical role for CPZ-induced demyelination and glial activation.

Differential Response of Immortalized Human Amnion Mesenchymal and Epithelial Cells against Oxidative Stress.

○LuGuang Han, QingLi Zhao, Toshiko Yoshida, Motonori Okabe, Chika Soko, Mati Ur Rehman, Takashi Kondo, Toshio Nikaido

1. Department of Regenerative Medicine, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Japan.
2. Department of Radiological Sciences, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Japan.
3. Department of CT, The fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei Province, China.

Objective

There are a number of antioxidant defenses in cells to antagonize insults from reactive oxygen species (ROS); as a result, the antioxidant capacity has characterized by a variety of cellular responses during the pathophysiological processes. Amniotic cells have been extensively applied in clinical practice for burn treatment, corneal repair, and tissue regeneration. However, the antioxidative properties of amniotic cells have not yet been fully understood. Therefore, the current study aimed to observe the response of amniotic cells against ROS stimuli, and to investigate the underlying molecular mechanisms.

Materials and Methods

The immortalized human amniotic mesenchymal cells (iHAMs) and immortalized human amniotic epithelial cells (iHAEs) were used. Meanwhile, the human skin fibroblast (HSF) was used as a standard cell line. Intracellular ROS generation, cell viability, and cellular morphology were investigated to reveal the response of amniotic cells to oxidative stresses induced by X-rays and hydrogen peroxide. In addition, the apoptosis-related proteins and response to antioxidative stress were also examined.

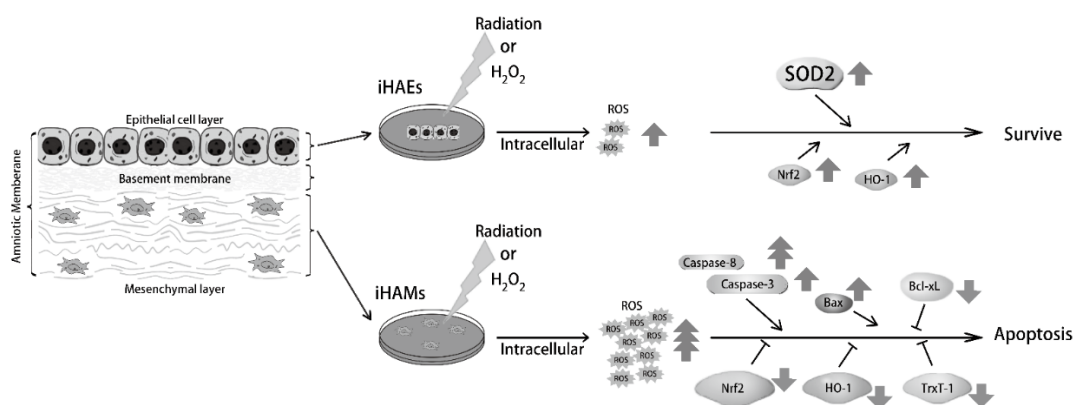
Results

The intracellular ROS level in iHAMs was remarkably increased after treatment with X-rays (10 Gy) or H_2O_2 (50 μ M). Meanwhile, cell viability was also markedly decreased in both iHAMs and HSFs, but not in iHAEs. In addition, the radiation-induced apoptosis was detected by Annexin V-FITC and PI staining, which was found to be notably higher in iHAMs than that in iHAEs.

Typically, iHAMs were characterized by the high expression of caspase-3, nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2), and thioredoxin reductase-1 (TrxR-1), as well as apparent up-regulation of caspase-8 and BAX after X-ray exposure. In addition, down-regulation of Bcl-xL, Nrf2, HO-1 and TrxR-1 was also observed. Strikingly, potent SOD2 expression was only observed in iHAEs, which were further characteristic of the relatively up-regulation of Hem oxygenase-1 (HO-1), Nrf2 and Bcl-xL after X-irradiation exposure.

Conclusions

iHAEs show relatively high resistance to ROS stimulation, which can be attributed to the high SOD2 expression and up-regulation of Nrf2 and HO-1 after X-irradiation exposure. On the other hand, iHAMs display relatively high sensitivity to oxidative damage, which can be ascribed to the high caspase-3 expression and up-regulation of caspase-8 and BAX, whereas down-regulation of Bcl-xL, Nrf2, HO-1 and TrxR-1. In conclusion, findings have highlighted the characterization of response of amniotic derived epithelial and mesenchymal cells to oxidative stress. In physiological processes, iHAMs may play an important role to maintain the homeostasis of the pregnancy environment. Under oxidative stimulations, iHAEs play a role of defender to against oxidative damage in amnion tissue.



This image shows a full page of a handwriting practice worksheet. It consists of multiple sets of three horizontal dashed lines, providing a guide for letter height and placement. The lines are evenly spaced across the entire page, leaving ample room for writing practice. There is no text or other markings on the page.

助成および協賛団体ご芳名 一覧（敬称略）

後援

公益財団法人 富山県ひとつくり財団
富山市
公益財団法人 田村科学技術振興財団

協賛および広告

株式会社 グロービック	株式会社 加藤萬製作所
株式会社 サンテクノ	日本海計測 株式会社
SD バイオシステム 株式会社	日本フリーザー 株式会
株式会社 ハイメック	公益社団法人 富山市医師会
日東メディック 株式会社	サカキ産業 株式会社
株式会社 カネカ	株式会社 菅原製作所
PHC 株式会社	ワケンビーテック 株式会社
平野純薬 株式会社	株式会社 ファーレン富山

このたびの学術集会開催にあたり、多くの方々から、御寄付、御広告のご協力をいただきました。厚く御礼申し上げます。

第78回日本解剖学会中部支部学術集会

会 長： 吉田 淑子

副会長： 一條 裕之

GROWBIC 施設環境エンジニアリング

GROWBICは、専門的な「技術」と「知識」と「経験」を結集した

施設環境管理サービスを提供いたします。

お客様のあらゆるニーズにお応えすべく努力いたします。

私達にお任せください。

クリーンルーム関連サービス

高い技術と知識・豊富な経験をもった技術者が作業を行います。バリデーションに対応します。

- ◆施設・設備のクリーン化
除塵、消毒、清掃作業
低濃度過酸化水素除染、過酢酸除染等
- ◆HEPAフィルタ関連（交換・リーク試験）
- ◆環境検査（塵埃・風速・差圧等）
- ◆クリーン機器性能検査
- ◆微生物学的環境検査（落下菌・浮遊菌・付着菌）



過酸化水素ガス殺菌例



薬剤噴霧例

コンサルティング

- ◆移転コンサルティング
- ◆GMP（治験）コンサルティング、
再生医療、バイオベンチャー等々
- ◆GMP準拠体制構築のサポート
- ◆危害管理コンサルティング
- ◆防虫コンサルティング
- ◆各種運用ソフトの作り込み
- ◆従業員教育コーチング等々



ラボラトリーエンジニアリング

- ◆研究所・工場の移転（ラボバック）
- ◆移転コンサルティング
- ◆機器、機材の販売・保守点検、バリデーション
- ◆移転に伴う各種工事
給水・排水、特殊ガス配管、電気配線、ダクト、
空調設備、環境試験室工事、クリーンルーム、
パーティション施工・販売、バリデーション



衛生資材販売

クリーン環境維持に必要な衛生資材も取り扱っております。

一例として・・・

- ・クリーンブース
- ・セフティーキャビネット
- ・各種フィルター類
- ・防虫関連商品
- ・クリーン清掃用品



エンジニアリング＝快適環境の創出に貢献いたします。



研究環境の整備に貢献する

株式会社 クロービック

URL: <http://www.growbic.co.jp>

本 社	: 〒332-0011 埼玉県川口市元郷 5- 6- 9	TEL 048-224-4848	FAX 048-224-4858
東京事業所	: 〒111-0041 東京都台東区元浅草 1-8-6	TEL 03-5246-4148	FAX 03-5246-4149
神奈川サービスセンター	: 〒243-0807 神奈川県厚木市金田 184番 18	TEL 046-296-3380	FAX 046-296-3381
関西営業所	: 〒660-0874 兵庫県尼崎市西本町 3-84	TEL 06-6417-4858	FAX 06-6417-4857
福岡営業所	: 〒812-0876 福岡県福岡市博多区竹丘町 2-1-15-101	TEL 092-576-9100	FAX 092-576-9101

資本金：1,000万円 従業員数：約50名
担当者：岡崎、阿部、山崎
電話：03-5246-4148（東京事業所）



FA環境対策局所排気実習用解剖台



ANATOMY EQUIPMENTS

お蔭様で78周年
解剖学機器の老舗専門トップメーカー



KATOMAN SEISAKUSHO CO.,LTD
創業 1940年



遺体保存ロッカー



FA環境対策局所排気装置付注入台



急速遺体防腐処理装置



遺体貯蔵庫



解剖器具・鋼製小物類



インジェクター(注入器)



ホルマリン固定液作成装置

PIONEER バイオニア® はカトマンの政府登録商標です。



株式会社 加藤萬製作所

詳細はカタログ御請求下さい



当社は本社、埼玉工場、サービスセンター
全社で国際品質保証規格 ISO 9001 の
認証を取得しております。

本 社 〒113-0033 東京都文京区本郷3-41-10 TEL.03-3811-7353 (代)
FAX.03-3815-6751
埼玉工場 〒332-0003 埼玉県川口市東領家2-37-3 TEL.048-223-4515
URL : <http://www.katoman.co.jp> E-mail : katoman@katoman.co.jp

よりよい商品の創造と よりよいサービスの実践

医療機器・基礎医学機器・臨床検査機器
科学分析機器・理化学機器・計測機器



SUN TECHNO CO., LTD

株式会社 サンテクノ

本社 〒930-0835 富山市上富居 2 丁目 19 番 23 号

TEL(076)451-6470 FAX(076)451-5481

E-mail info@suntecno.co.jp URL http://www.suntecno.co.jp

オリンパスFV3000は、低倍から高倍までの生体イメージングを実現します。



ご相談・お求めは、日本海計測特機株式会社（新潟市西区流通センター1-3-1）

TEL: 025-260-3111 FAX: 025-260-2710

最新の過酢酸サイクル除染法

微生物の確実な除染と安全性を両立した最新の除染方法をご提案！

※特許取得技術



用途

インキュベーターなどの実験機器の内部空間の除染
クリーンルーム、動物飼育室などの室内空間の除染



特長

局方準拠で 6log 以上の芽胞菌の減少を確認できます
人や動物に対し安全で残留毒性なし
設備・機器へのダメージがなく、養生不要
アイソレーター等の高気密性空間でも除染できます

SD バイオシステム株式会社
〒160-0022 東京都新宿区新宿 2-15-1 秋場ビル 302
☎ 03-5361-8119 ✉ info@sd-biosystem.co.jp

除染のことなら、まずはご相談ください

SD biosystem

<https://sd-biosystem.co.jp>

新技術により冷却性能、環境性、保守性がトータルに向上



**-85℃
-90℃**

フリーズ超低温槽 (CLN シリーズ)

- ・独自に開発した、冷凍機 1 台によるワンコンプレッサーシステムを採用。従来の冷凍機 2 台による 2 元冷却システムと比較し、システム構造が大幅に単純化され、故障発生率が著しく低減。
- ・上記システムを 2 組利用したダブル冷却システムもラインナップ。貴重なサンプルを安全・安心保存。

◆ワンコンプレッサーシステム

・CLN-32U(縦型 327L)	標準価格 ¥1,180,000
・CLN-42U(縦型 434L)	標準価格 ¥1,580,000
・CLN-52U(縦型 552L)	標準価格 ¥1,650,000
・CLN-35C(横型 354L)	標準価格 ¥1,080,000
・CLN-50C(縦型 507L)	標準価格 ¥1,550,000
・CLN-70C(縦型 710L)	標準価格 ¥2,100,000

◆ダブル冷却システム

・CLN-32UW(縦型 327L)	標準価格 ¥1,580,000
・CLN-52UW(縦型 552L)	標準価格 ¥1,990,000
・CLN-72UW(縦型 792L)	標準価格 ¥2,380,000
・CLN-35CW(横型 354L)	標準価格 ¥1,550,000
・CLN-50CW(縦型 507L)	標準価格 ¥1,890,000
・CLN-70CW(縦型 710L)	標準価格 ¥2,450,000

その他地理扱い製品

その他に-150℃から+10℃まで、温度帯域別、内容量別に用途に適したフリーザーや冷蔵庫を各種取り揃えております。他に防爆冷蔵庫や有機溶媒専用庫なども取扱っておりますのでお気軽にお問合せください。

製造販売元



日本フリーザー株式会社

URL: www.nihon-freezer.co.jp

本社	〒113-0034	東京都文京区湯島3丁目19番4号	TEL.(03)3831-7643	FAX.(03)3832-0633
大阪営業所	〒564-0062	大阪府吹田市垂水町3丁目15番31号	TEL.(06)6337-0600	FAX.(06)6369-2166
京成営業所	〒305-0032	茨城県つくば市竹園2丁目18番4号	TEL.(029)855-1181	FAX.(029)855-0888
名古屋営業所	〒465-0065	愛知県名古屋市中区西山本通2丁目2番地	TEL.(052)788-7770	FAX.(052)788-7771
神奈川営業所	〒251-0021	神奈川県横浜市神奈川区神奈2丁目1-2神明ビル3階	TEL.(0466)29-0701	FAX.(0466)29-0702
埼玉工場	〒340-0002	埼玉県草加市青柳4丁目29番6号	TEL.(048)933-2755	FAX.(048)936-2228

より確かな医療のために
安心と信頼をお届けします

株式会社 ハイメック

〒930-0955富山市天正寺384-2

TEL : 076-424-3880

FAX : 076-492-3271

E-mail : himec@tam.ne.jp

准看護師 ♥ 看護師を
一緒に目指しませんか？

昼間定時制（午後方式）働きながら学べる学校です！

2019 年度
学生募集



公益社団法人 富山市医師会

富山市医師会看護専門学校

〒930-0083

富山市総曲輪4-4-10

TEL 076-425-4110

<http://www.tomii-kango.ac.jp/>



日東メディック株式会社

新製品

ご案内

薬価基準収載



眼圧下降剤
処方箋医薬品（注意・医師等の処方箋により使用すること）

ブリンゾラミド
懸濁性点眼液1%「ニットー」

Brinzolamide
Ophthalmic Suspension 1% NITTO

貯 法：室温保存、気密容器
使用期限：3年
包 装：5mL×5本
5mL×10本

先発品名：エイゾプト懸濁性点眼液1%



炭酸脱水酵素阻害剤／β-遮断剤配合剤
緑内障・高眼圧症治療剤
処方箋医薬品（注意・医師等の処方箋により使用すること）

ドルモロール®
配合点眼液「ニットー」

Dormolol®
Combination Ophthalmic Solution「NITTO」

貯 法：遮光、室温保存、気密容器
使用期限：3年
包 装：5mL×5本
5mL×10本
先発品名：コンプト配合点眼液



プロスタグランジンF_{2α}誘導体
緑内障・高眼圧症治療剤
処方箋医薬品（注意・医師等の処方箋により使用すること）

トラボプロスト
点眼液0.004%「ニットー」

Travoprost
Ophthalmic Solution 0.004%「NITTO」
貯 法：室温保存、気密容器
使用期限：1年6か月
包 装：2.5mL×5本
先発品名：トラバタンズ点眼液0.004%

※効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意など
詳細は添付文書をご参照ください。

nitto medic

資料請求先

日東メディック株式会社 おくすり相談窓口
〒104-0033 東京都中央区新川1-17-24 ⑥登録商標
2018年7月作成

- ◇ 各種高圧ガス・設備工事
- ◇ 産業機械・メンテナンス
- ◇ 医療ガス・介護用品
- ◇ LPガス・住設機器・リフォーム
- ◇ 燃料電池・太陽光発電
- ◇ 宅配水

地域と共に歩む総合ガスエネルギーのスペシャリスト

サカキ産業株式会社

代表取締役社長 酒井 智俊

本社 富山県富山市桜橋通り5番6号 TEL(076)432-9101

支店・営業所 富山総合ガスセンター・高岡・上越

滑川・福岡・石川・三条・新潟・糸魚川・四国

クリクラ桜橋配送センター

kaneka

カガクでネガイをカナエル会社



たとえば、医療用製品も、カネカ。

再生・細胞医療における研究開発や心臓や脳の治療用カテーテルなどの製品で、
医療現場を支えています。

株式会社 カネカ
www.kaneka.co.jp

ANATOMICA スガワラ

ものづくりの喜びで基礎医学に貢献

《製品のご案内》

解剖実習器具セット（医学部用・歯学部用・獣医学部用・生物学用）

ピンセット ハサミ メス ノミ

解剖用品（マスク・サンダル・アームカバー・手袋・解剖衣・前掛け）

脊椎双鋸 ナイロンハンマー 解剖道具

解剖器具の修理・研磨・目立て

解剖台 ライヘファスナー



使いやすく耐久性に優れた製品を提供します

 株式会社 菅原製作所

《資料請求・商品問い合わせ先》

〒131-0044 東京都墨田区文花3-20-18

TEL.03-3611-7610

FAX.03-3611-7612

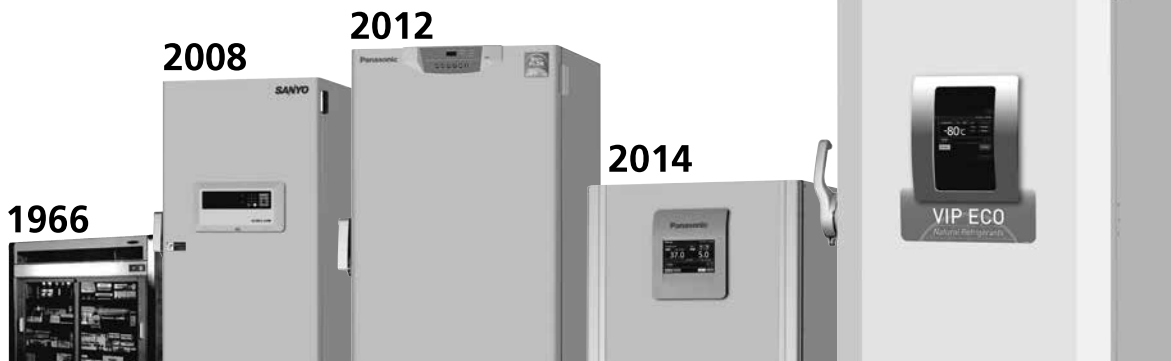
anatomy@sugawara-ss.co.jp

PHCbi は PHC株式会社 バイオメディカ事業の新しいブランドです

PHCbi

Life Science Innovator Since 1966

2018 新商品



パナソニック ヘルスケア株式会社 は 2018年4月よりPHC株式会社 に社名変更しました
PHC株式会社 バイオメディカ事業部

旧パナソニック ヘルスケア株式会社 バイオメディカ事業部

HERAcellとフォーマシリーズの技術の粋を注ぎ込んだ
フラグシップモデル

フォーマ ステリサイクルCO₂インキュベーター MODEL i160

Thermo
SCIENTIFIC

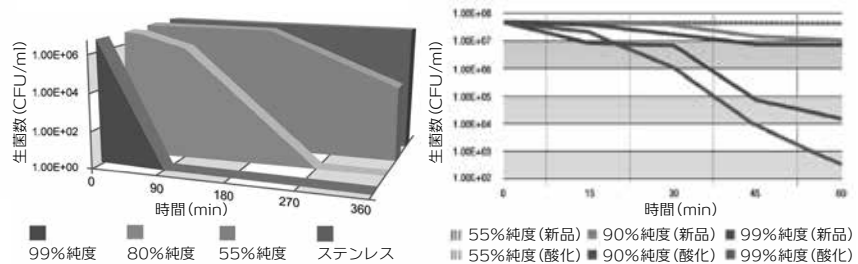


■ 万全のコンタミネーション対策 ■

- HEPAフィルターを搭載し、ISO5の清浄度環境を実現
- 180℃乾熱滅菌技術「Steri-Run」を搭載

■ さらに100%純銅チャンバーでは・・・ ■

- 100%純銅の効果的な抗菌力（下図左参照）
- 時間経過とともにその効果は向上します（下図右参照）



WAKEN ワケンビーテック株式会社
WAKEN B TECH CO., LTD.

西日本営業部 〒525-0029 滋賀県草津市下笠町945番地1
TEL (077) 568-2911 / FAX (077) 568-2944
東日本営業部 〒132-0025 東京都江戸川区松江2丁目10番22号
TEL (03) 5661-3220 / FAX (03) 5661-3230

人と人とのふれあいを、大切にする企業であり続けたい。



平野純薬株式会社
Creative Power & Technical Innovation

〔福井本社〕 福井市下馬2丁目1420番地
〔金沢支店〕 金沢市割出町15番3
〔富山支店〕 富山市石坂1117番1

TEL.0776-37-4890 FAX.0776-50-1707
TEL.076-239-0758 FAX.076-239-0753
TEL.076-442-4890 FAX.076-442-1707

平野純薬



<http://www.hirano-j.co.jp/>

編集者

吉田淑子、岡部素典、相古千加、古市恵津子

富山大学大学院医学薬学研究部再生医学

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/saiseiigaku/index.html>

〒930-0194 富山市杉谷 2630 医学薬学イノベーションセンター4F

TEL 076-434-7212 FAX 076-434-5011

E-mail : saisei@med.u-toyama.ac.jp