

IV. 著 書

- 1) 荒川廣志, 河合良訓. 各論1: 嚥下機能内視鏡検査
1. 経鼻内視鏡検査に必要な解剖・生理. 鈴木博昭,
加藤孝邦, 椿原彰夫 (川崎医療福祉大), 藤島一郎 (浜
松市リハビリテーション病院), 東口高志 (藤田保健
衛生大), 上野文昭 (大船中央病院), 櫻井 薫 (東京
歯科大) 監修. 嚥下機能評価研修会テキスト. 東京:
NPO 法人PEG ドクターズネットワーク, 2014. p.33-7.

解剖学講座
組織・発生

教授: 岡部 正隆	解剖学・発生学
教授: 橋本 尚詞	形態学・細胞生物学
講師: 鈴木 英明	先天異常
講師: 重谷 安代	神経発生学・進化発生学

教育・研究概要

I. 先天性運動失調マウスの解析

昨年度, 運動失調マウスの発症の原因として Inc-RNA である Gm13912 の第2イントロンにおける 7048bps の欠損が浮上してきたが, C57BL/6N に7回戻し交配を行った交雑系で phenotype と genotype の関係を調べたところ, Gm13912 における欠損が homo であるのに phenotype が正常な個体が見いだされた。この phenotype が正常で Gm13912 欠損 homo 個体は, これまで用いていた rs13476698 の SNP も発症型の homo であり, これらの遺伝子座が発症の原因ではないことが明らかになった。そこで, 遺伝子配列の解析結果を詳細に見直したところ, 発症個体に共通して遺伝子の insertion が起きている部位が2カ所見つかった。現在, これらの挿入部位を跨ぐ PCR の primer を設計し, 解析を進めている。

II. Wilms 腫瘍を合併する日本人型染色体不安定症候群の遺伝子解析

Mosaic Variegated Aneuploidy 症候群 (以下 MVA) はまれな劣性遺伝性疾患で, 体細胞の染色体数が不安定になり小頭症や成長障害等の症状を示す。日本人症例の表現型は特徴的で海外症例とは異なる。これまで海外症例で *BUB1B*, *CEP57* が責任遺伝子として同定されているが, 日本人症例では全例, 片アレルに *BUB1B* のコード領域に変異を認め, もう一方のアレルの変異は *BUB1B* 転写開始点から 44kb 上流にある非コード領域の SNV による hypomorphic 変異が報告されている。しかし, *BUB1B* hypomorphic 変異や *BUB1B* と協調して働く *BUB3* の hypomorphic 変異のマウス疾患モデルでは日本人症例に特徴的な Wilms 腫瘍, 非常に強い大脳皮質低形成, Danady-Walker 奇形などの症状が現れていない。

我々は上述した理由から日本人型 MVA の発症には別の遺伝子変異または多型が関与している (二遺伝子遺伝性の可能性) と考え, 自験例について両親

よりインフォームドコンセントを得たうえで全エクソソンのトリオ解析を行った。得られたバリエーションデータのアノテーションづけを行い、中心体、線毛、細胞極性に関する非同義多型を選別した結果、3つの疾患関連変異候補が得られた。このうちの1つは15番染色体長腕のBUB1B近傍にある日本人特異的SNV（アレル頻度2.8%）であった。

現在この日本人特異的非同義多型の機能解析を行っている。

Ⅲ. 原始的魚の特徴を示すポリプテルスの側線形成

Polypterus ポリプテルスは分子系統学上、最も根幹に属する現存の条鰭類（魚）であり、体表にエナメル質を含むガノイン鱗を持つ。これは絶滅した原始的条鰭類あるいは硬骨魚の*Psarolepis*や*Lophosteus*などを彷彿とさせ、これらの化石記録からは、鱗の表面には明らかな側線感丘のための孔は認められない。一方、現存の硬骨魚において側線は様々な形態を取ることが知られている。側線感丘とは、頭部神経の一部が顔面や体側へ伸びた感覚受容器である。また陸上へ進出した四肢動物のカエルにも側線は存在するが、退化しておりかつゲノム倍加していること、またほぼ全ての条鰭類もゲノム倍加していることから、原始的魚の特徴を示すポリプテルスを用いて側線の形態形成について調べた。

最初の側線感丘細胞は、神経胚期にプラコード原基と神経堤細胞として現れることが特異的分子マーカー発現によって確認されており、孵化後まもなく表皮下層に明瞭なロゼット状構造となって認められた。その後、幼生期において側線感丘は、表皮上の孔から有毛細胞の毛を外へ突き出し、また表皮下ではその軸索を近傍の側線へ向かって伸ばした。幼魚における表皮下の側線鱗の石灰化は体軸の後方から前方へ向かって起こることが分かった。興味深いことに、各側線鱗の後端には石灰化の起こらない箇所が一過性に出現し、それはまるで感丘由来の神経の形成がカルシウム沈着を避けているかのように見えた。幼魚表面のSEM像を見てみると、1つの側線鱗につき数個の孔があり、それらは粘液性物質で塞がれ、かつ表皮細胞によって同心円状に取り巻かれていた。そして成体体側にある感丘には色素細胞が多く集っており、そこから伸びる軸索束は側線鱗内の血管腔を縫うように内側へ向かい、最終的には貫通して側線神経へ向かう様子が観察された。

以上のように、体側の側線感丘は神経胚期から成体に至るまで表層に存在し、石灰化後も明らかな管腔構造を形成しないことから、ポリプテルスの側線

感丘は表層型ピット器官であると結論づけた。なおこの側線感丘には色素細胞が入り込んでおり、肉眼的に色素の多い箇所感丘が存在すると考えられた。

Ⅳ. 横隔膜発生に関連した *Wt1* 陽性細胞の局在

横隔膜はその形成領域周囲の細胞群が集まって形成される組織であり、そのため横隔膜を構成する細胞系譜を理解する研究は発生を知るだけでなく、横隔膜の先天奇形などを理解する上で重要である。我々はマウス発生において横隔膜欠損を引き起こす遺伝子である*Wilms' tumor 1 (Wt1)*に注目し、その遺伝子が発現する細胞の分布を明らかにする解析を行ってきた。昨年、マウス成体において*Wt1*陽性細胞が横隔膜の左後方に分布が多いことを発見したが、さらに発生を観察した結果、*Wt1*陽性細胞は初期発生よりその分布領域が左右で異なっており、左側に多いことが明らかとなった。先天性横隔膜ヘルニアは左後方部欠損(Bochdalek hernias)が最も多いことから、この*Wt1*陽性細胞の分布とBochdalek hernias発症の間に何らかの関連性があることが強く示唆される結果を得た。今後はさらに詳細に解析して、*Wt1*が左側に分布するメカニズムを明らかにしたい。

Ⅴ. 脊椎動物における付属肢（四肢・鰭）の骨形成メカニズム

四足動物の四肢（自由肢）は軟骨内化骨によって構成された骨格パターンをもつ一方で、魚類の胸鰭は少数の軟骨内化骨を起点とした放射状の膜内化骨によって構成されている。種類の異なる骨の形成メカニズムを明らかにするため、本年度我々はモデル生物であるゼブラフィッシュを用いて、CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated proteins) システムの導入による標的遺伝子・ゲノムの編集実験系を構築した。現在までにgRNA（標的のゲノム配列に結合する塩基）の配列の軽微な違いによって予想した表現型が現れる・現れないの大きな違いが生じることが分かった。今後はgRNAのバリエーションを様々作成しながらF1やF2といった子孫世代まで系統維持・飼育を続け、表現型の解析を行う。

また本年度はゼブラフィッシュ胸鰭において膜内化骨形成領域を欠失する*boxer*自然突然変異体を用いた解析を行った。この系統は胚性致死であるために成魚において膜内化骨が無いかどうかを検討することができない。そこで*boxer*胚の予定胸鰭形成細

胞を野生型胚の予定胸鰭形成領域に細胞移植する実験系を構築した。油圧式三次元マニピュレーターを用いて精度高く移植された細胞は血管や体幹の骨格筋、尾部など様々な中胚葉性組織に分化したものの、胸鰭や心臓を形成する側板中胚葉に移植した細胞が分布する例は非常に低い頻度でしか現れてこなかった。今後は実験精度を高めながら、変異体の表現型を有した野生型成魚を飼育し骨格の検討を行う。

「点検・評価」

1. 教育について

解剖学講座(組織・発生)の教員は、医学科のコース基礎医科学Ⅰユニット細胞から個体への講義および実習、コース基礎医科学Ⅱの各ユニットの講義、形態系実習(解剖学実習および組織学実習)、コース臨床基礎医科学Ⅰのユニット「症候学演習」およびユニット「研究室配属」、さらに看護学科においては解剖生理学Ⅰの講義と見学解剖実習を担当した。また慈恵看護専門学校においても人体の構造の講義と見学解剖実習の講義を担当した。

2. 研究について

解剖学(組織・発生)の教員は、各自独自の研究テーマを持ち研究を実施している。毎週開催される研究報告会にて研究の進捗状況を報告し、研究内容の客観的評価を受け、これを参考にして研究を進めていく。今年度は、教室員は例年と変わらず研究に従事していたが、残念ながら学内外の研究者との共同研究により2つの英文原著論文を発表するに留まった。原著論文発表数は外部競争的研究資金の獲得に少なからず影響するため、次年度以降活発に原著論文が発表できるように教室員一丸となって望まねばならない。今年度は、社会人大学院生1名、腎臓内科学より再派遣大学院生1名、計2名の大学院生を受け入れた。今後も、原著論文および国内外の学会で研究成果を発表し、学内外から当教室における研究に参加する研究者・大学院生を募り、研究を活性化していきたい。

3. その他

4年前より年1回本学においてTokyo Vertebrate Morphology Meetingを開催している。この研究会は本学の学外共同研究費の助成を受けて毎年開催しており、脊椎動物の解剖学、発生学、進化学、ゲノム科学、古生物学の各分野の研究者間における研究交流を図るものである。毎年50名前後の若手研究者が集い丸一日のシンポジウムと交流会を行うものである。今年度は7月12日(土)に南講堂で開催し、たいへん盛会であった。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Izuhara L, Tatsumi N, Miyagawa S (Osaka Univ), Iwai S (Kitasato Univ), Watanabe M¹⁾, Yamanaka S, Katsuoka Y, Nagashima H¹⁾ (¹Meiji Univ), Okano HJ, Yokoo T. Generation of a felinized swine endothelial cell line by expression of feline decay-accelerating factor. *PLoS One* 2015; 10(2): e0117682.
- 2) Takeuchi-Igarashi H, Kubota S¹⁾, Tachibana T, Murakashi E²⁾, Takigawa M¹⁾ (¹Okayama Univ), Okabe M, Numabe Y²⁾ (²Nippon Dental Univ). Matrix remodeling response of human periodontal tissue cells toward fibrosis upon nicotine exposure. *Odontology* 2014 Oct 15. [Epub ahead of print].

III. 学会発表

- 1) Tatsumi N, Okabe M. Analysis of distribution of Wt1 expression cell in diaphragm development. 47th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists. Nagoya, May.
- 2) Tatsumi N, Okabe M. Analysis of Wt1 positive cells in diaphragm development. 第37回日本分子生物学会年会. 横浜, 11月.
- 3) 岡部正隆. (特別講演2) 副甲状腺の起源. 第33回腎と骨代謝研究会学術集会. 東京, 10月.
- 4) Shigetani Y, Yano T, Okabe M. Morphogenesis of the lateral line scales in the primitive fish *Polypterus*. 第37回日本分子生物学会年会. 横浜, 11月.
- 5) Shigetani Y, Yano T, Okabe M. Morphogenesis of the lateral line neuromast in the primitive fish *Polypterus*. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会/第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月.
- 6) 藤本 啓, 春山雄史, 佐々木敬, 中村明日香, 鈴木英明, 森 豊, 根本昌実, 横山淳一, 岡部正隆, 宇都宮一典. FBP1 遺伝子変異は FBP1 タンパク分解亢進と多量体形成不全を誘導し糖新生を障害する. 第57回日本糖尿病学会年次学術集会. 大阪, 5月.
- 7) 矢野十織, 岡部正隆, 田村宏治(東北大). ゼブラフィッシュ尾ビレの形態再生に必要な位置価値シグナルの解析. 日本動物学会第85回仙台大会2014. 仙台, 9月.

IV. 著 書

- 1) Yano T, Matsubara H¹⁾, Egawa S¹⁾, Onodera K¹⁾²⁾ (²Kyoto Univ), Tamura K¹⁾ (¹Tohoku Univ). Chapter 22: Fins and limbs: Emergence of morphological differences. In: Kondoh H (Osaka Univ), Kuroiwa A (Nagoya Univ), eds. *New Principles in Developmental Processes*. Tokyo: Springer, 2014. p.291-302.