

解剖学講座 組織・発生

講座担当教授：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：重谷 安代 神経発生学，進化発生学

教育・研究概要

I. マウス遠位結腸粘膜内の血管系

潰瘍性大腸炎の代表的モデルマウスであるデキストラン硫酸ナトリウム (Dextran Sulfate Sodium: DSS) の経口投与による DSS 大腸炎について、その発症過程や病理変化を詳細に解析したところ、初期変化として血漿タンパク質の漏出、粘膜固有層への出血が観察され、発症機序として粘膜内の血行動態が深く関与することが示唆された。

ところで、DSS 大腸炎が生じる遠位結腸には、上腸間膜動脈の枝と下腸間膜動脈の枝が分布し、粘膜下組織内で動脈叢を形成することは各種動物で報告されているが、粘膜内の血管系については、細動脈が粘膜固有層に入ると、陰窩の間を上行して粘膜上皮直下で陰窩開口部を取り囲む毛細血管網を形成し、そこから出た細静脈が陰窩の間を下行し、粘膜下の静脈叢に注ぐとあるのみである。そこで、蛍光標識ゼラチンを血管内に満たしたマウス結腸の全載標本を共焦点レーザー顕微鏡で観察し、三次元再構築ソフトのイマリスを用いて立体再構築し、結腸の血管系を詳細に観察した。

その結果、間膜附着部に沿って縦走する太い動静脈から一定間隔ごとに輪走する枝が分枝し、粘膜下組織内で隣り合う枝の間で吻合が起こり、動脈叢や静脈叢を形成するのは既報の通りであった。この動脈叢から分枝した細動脈は粘膜筋板を貫いて粘膜固有層に入ると、陰窩底周辺で分枝と吻合を繰り返して動脈叢を形成し、そこから出た枝が陰窩の間を粘膜上皮直下にまで上行していた。そして、粘膜上皮直下では陰窩の開口部を取り囲む六角形の繰り返し構造の毛細血管網を形成し、そこから細静脈が陰窩の間を下行し、陰窩底周辺で周囲からの細静脈が合流しつつ少しだけ横走し、粘膜筋板を貫いて粘膜下の静脈叢に注いでいた。すなわち、結腸の粘膜固有層では、陰窩底周囲と粘膜上皮直下の2ヶ所で血管叢を形成していることが明らかとなった。

DSS 大腸炎の初期変化として粘膜固有層への出血があるが、これは粘膜固有層深部で起こっており、

細動脈あるいは細静脈からの出血と考えられる。粘膜上皮側から入ってきた DSS によって、なぜ固有層深部で出血が起こるのか、この部位の血管には何か構造的問題があるのか、を明らかにできれば、炎症性腸疾患の発症・再発の予防や治療の一助となることが期待される。

II. 原始的硬骨魚ポリプテルスの側線後方移動時における表皮基底膜の変化

分岐系統樹上で条鰭類の最も根幹から分岐したポリプテルス属は、体表にエナメル質の鱗を持つ原始的な魚の特徴を示す。その原始的硬骨魚であるポリプテルスにおいて感丘の形成過程を調べることは側線の多様性の原点を知る上で有意義である。我々はポリプテルスの体躯側線の後方移動時に表皮基底膜が再編成されることを明らかにした。

側線感丘を構成する最初の細胞はプラコードとして神経胚頭部外胚葉に現れ、これら細胞集団は幼生期に水平中隔に接する表皮下層を後方へ移動する。この細胞集団は、表皮下層に一つ分の感丘を構成する細胞群を残しロゼット様構造を形成しつつ後方へ移動し、これを何度か繰り返しながら尾端まで達する。このとき感丘直下には PAM 染色陽性かつ SEM 電子顕微鏡で認められるような基底膜は存在せず、そして抗神経細糸関連タンパク質抗体や抗 GFAP 抗体陽性な神経束から伸びる神経突起が感丘内部の細胞に接する様子が観察された。また感丘から離れたところではその神経束は基底膜の下側に位置しており、かつ頭部神経節に接する様子が観察されたことから、側線神経束であることが確実となった。従って側線後方移動時には、頭部神経から伸びる側線神経束は基底膜よりも外側で感丘細胞へと接し、感丘直下以外では神経束の外側において基底膜を再編成することが示唆された。

III. 腎臓におけるマウス *Glial cell missing 1 (Gcm1)* 遺伝子の機能解析

GCM 遺伝子は無脊椎動物から脊椎動物まで保存されている転写因子で、哺乳類では胎盤の形成に重要であることが知られている。マウスにおいて *Gcm1* の欠損は胎盤形成不全を引き起こし、胎齢 10 日で致死となる。生体において *Gcm1* は腎臓に発現があることが報告されているが、胎生致死であることからその機能は明らかでなかった。我々は *Gcm1* の DNA 結合配列を loxp で挟んだ Flox マウスを作製し、腎臓特異的に発現する *WT1-Cre* マウスと掛け合わせるにより、腎臓特異的に *Gcm1*

を欠損したマウスの解析を行った。解析の結果 *Gcm1* を欠損しても腎発生には影響を与えずまた、成熟後においても腎臓の大きさや機能に差がないことが明らかとなった。しかしながら、腎動脈を結紮し虚血障害を行うと、*Gcm1* 欠損腎では線維化が正常腎に比べ著しく減少することを明らかにした。また、*Gcm1* 欠損腎では線維化に関わっていると報告されている *Tgf- β* の発現が減少していることを突き止め、*Gcm1* が直接または間接的に *Tgf- β* の発現をコントロールしていることを明らかにした。また、*Gcm1* 欠損腎では細胞増殖が低下することも明らかにした。培養細胞を用いた実験により、*Gcm1* は *Tgf- β* の発現を上昇させそれにより、細胞増殖が促進される可能性を示した。これらの実験から、*Gcm1* が腎臓の虚血障害時の細胞増殖と線維化に関わることを明らかにした。この結果は慢性腎不全などで問題になる線維化に対して、*Gcm1* を制御することで、線維化を食い止める可能性が示唆され、今後の腎疾患の治療に応用可能な大変重要な成果に結びついた。

IV. DSS 腸炎誘発時における Tenascin C (TNC) の動態と機能解析

潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis: UC) は、大腸のびまん性非特異性炎症で、腸管粘膜バリア機能の異常が病態に関与していると考えられている。粘膜上皮細胞は、間質細胞や細胞外マトリックスとの相互作用によって恒常性を維持している。我々は、粘膜上皮細胞と間質細胞を裏打ちし支持する細胞外マトリックスの解析が、腸管粘膜バリア機構の解明に必須であると考えた。そこで細胞外マトリックスの TNC に注目し、腸炎誘発時における粘膜上皮障害との関連性を解析し、腸管粘膜バリア機構への関与を検証している。今回、UC のモデルマウスとして頻用される DSS 誘発腸炎マウスを用いて、腸炎誘発時における TNC の発現を免疫組織化学染色で観察した。その結果、正常大腸粘膜において、TNC は粘膜上皮直下の粘膜固有層の微小血管周囲に発現しており、炎症の進行に伴い、粘膜固有層の浅層から深層へと発現分布が変化していった。このことは TNC が炎症に抑制的に機能していると考えられる。現在、ヒトの UC の検体において、TNC の発現分布を免疫組織化学染色で検証している。これらのデータをもとに、上皮細胞、間質組織、および細胞外マトリックスの関係性を明確にすることで、大腸粘膜の恒常性維持機構を解明する。

V. ゼブラフィッシュの器官サイズを規定する分子機構

個体成長と個々の器官サイズ成長との関係性は、アイソメトリック成長 (器官と個体がサイズ比を維持して成長) と、アロメトリック成長 (器官と個体とのサイズ比が変化する成長) との2つに大別される。小型魚類であるゼブラフィッシュの尾鰭は、稚魚期において扇型の形態をとるが、幼魚期に双葉型へと変形成長を遂げ、成魚となる過程では形態を変形させずに成長を続ける。尾鰭という1つの器官が成長期特異的な形態変化をおこす分子機構を明らかにするために、我々は形態計測による成長期の区分化を行った。

尾鰭の骨長と体長の計測結果から、標準体長 (吻部から椎骨尾部まで) が 6.92mm に達するまでの幼魚期においてポジティブアロメトリック成長 (体長よりも鰭サイズが大きく成長) を示す一方で、成魚に至るまではアイソメトリック成長を示す傾向がみられた。成長変化点前後で変動する因子を探索するために、リアルタイム PCR 法による遺伝子発現量比較を行い、候補と予想される RNA (*msxb*, *mps1* 遺伝子) および4種の microRNA について発現量変動を見いだした。今後は作製中のゲノム編集個体について形態・成長様式の計測を行う予定である。

VI. ポリプテルスにおける絨毛膜特異的転写因子 GCM1 の解析

転写因子 GCM1 は哺乳類において胎盤絨毛や栄養膜合体層の発生に必須である。我々は、この GCM1 の役割を明らかにし、哺乳類が胎盤を獲得したプロセスを進化発生的に考察する試みを行っている。最近我々は、*Gcm1* 遺伝子が原始的条鰭類魚類であるポリプテルスのゲノム中に保持されていることを見出した。そこで、講座所有のポリプテルスゲノムから *Gcm1* 遺伝子をクローニングし、ホールマウント in situ hybridization 法によってポリプテルス胚での遺伝子発現を解析した。その結果、外鰓表面と卵黄囊の表皮下に点在する細胞において発現が観察された。これらの細胞は体液のミネラルバランスのホメオスタシスを維持している塩類細胞である可能性が示唆された。また、電子顕微鏡による観察により、これら細胞は細胞内に大きな液胞状の構造を有していることも明らかにした。現在、ポリプテルスの *Gcm1* 発現細胞におけるホメオスタシスの維持に関わるタンパク質の免疫染色や液胞状の構造物の質量分析など、組織学的・生理学的な解析を進めている。

「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のユニット「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、ユニット「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」およびコース研究室配属、コース外国語Ⅲのユニット「医学英語専門論文抄読Ⅰ」を担当した。さらに看護学科においては、看護専門基礎科目・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。コース研究室配属においては医学科3年生7名を受け入れて実習を行った。コース医学総論のユニット「医学研究」を履修する学生は、医学科3年生1名、5年生3名、6年生2名であったが、このうち、3年生の大嶋理香、5年生の佐野 瞳が国内の学会にて筆頭で発表を行った。

2. 研究について

解剖学講座(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。今年度は英文原著論文3報を発表した。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

今年も Tokyo Vertebrate Morphology Meeting が2019年7月20日に2号館講堂で終日開催された。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、今年で9回目となる。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、今年は78名の研究者が参加し、丸一日のシンポジウムとポスター発表、交流会を行った。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Hirasaki Y, Seino Y, Okabe M. The “handmade” heart model as a learning tool to facilitate understanding of the three-dimensional cardiac anatomy. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2019; 33(5): 1483-5.
- 2) Kamejima S, Tatsumi N, Anraku A, Suzuki H, Ohkido I, Yokoo T, Okabe M. Gcm1 is involved in cell

proliferation and fibrosis during kidney regeneration after ischemia-reperfusion injury. *Sci Rep* 2019; 9(1): 7883.

- 3) Shono T, Thiery AP, Cooper RL, Kurokawa D, Britz R, Okabe M, Fraser GJ. Evolution and developmental diversity of skin spines in pufferfishes. *iScience* 2019; 19: 1248-59.

III. 学会発表

- 1) Shono T, Thiery AP, Cooper RL, Kurokawa D, Britz R, Okabe M, Fraser GJ. (Poster) Evolution and development of dermal spines in pufferfishes. 52nd Annual Meeting of the Japan Society for Developmental Biology. Osaka, May.
- 2) 庄野孝範. フグの硬組織をモデルにした進化発生学. 第5回ユニーク会. 京都, 8月.
- 3) 大嶋理香, 辰巳徳史, 姫岩翔子, 長澤竜樹, 矢野十織, 岡部正隆. (ポスター) 鰾は条鰭類が獲得した新規器官なのか? 第136回成医会総会. 東京, 10月.
- 4) 古賀夢乃, 矢野十織, 岡部正隆. ゼブラフィッシュの形態形成において尾鰭のプロポーションを規定する因子の探索. 第42回日本分子生物学会年会. 福岡, 12月.
- 5) 庄野孝範, 矢野十織, 三宅 力, 岡部正隆. (口頭) 原始的条鰭類魚類ポリプレテスの Gcm1 発現細胞から考察する哺乳類の胎盤の起源. 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会. 宇部, 3月. (誌上開催)
- 6) 大嶋理香, 辰巳徳史, 姫岩翔子, 長澤竜樹, 矢野十織, 岡部正隆. (ポスター) ゼブラフィッシュの内胚葉発現遺伝子地図から観る肺と鰾の相同性の検証. 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会. 宇部, 3月. (誌上開催)
- 7) 佐野 瞳, 矢野十織, 川上浩一, 岡部正隆. (ポスター) ゼブラフィッシュ膜内化骨における even-skipped homeobox 1 遺伝子発現の骨折応答性惹起. 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会. 宇部, 3月. (誌上開催)
- 8) 辰巳徳史, 庄野孝範, 隅山健太, 姫岩翔子, 長澤竜樹, 矢野十織, 岡部正隆. (ポスター) 条鰭類に残存する Tbx4 肺エンハンサーの意義. 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会. 宇部, 3月. (誌上開催)

IV. 著 書

- 1) 矢野十織. 第1部: 脊椎動物4億年の進化の中での魚 第3章: 硬骨魚類の多様な生存戦略がもたらす進化. 神田真司編著. 遺伝子から解き明かす魚の不思議な世界: 水面下で起きた4億年の進化物語. 東京: 一色出版, 2019. p.66-89.