

## 4-②-6.

**CBCT analysis and immunohistochemical observation for Schneiderian membrane in human maxillary sinus**

(社会人大学院博士課程 3 年人体構造学分野)

○松田 博之、表原 拓也、河田 晋一  
永堀 健太、佐藤 巖、伊藤 正裕

The maxillary sinus is the largest of the paranasal sinuses, and it communicate with the nasal meatus through the ostiomeatal complex of the nasal cavity. Internal side of the maxillary sinus is mucosa membrane called Schneiderian membrane, which is covered with pseudostratified ciliated columnar epithelial cells. This membrane sometimes presents thickening without subjective symptom when patients take a CT-scan for some reasons. More information is therefore needed for phenomena of the membrane thickening. On the other hand, calcitonin gene-related peptide (CGRP) is associated with vasodilation of the trigeminovascular system. The present study is evaluated by the following radiological and immunohistochemical analysis using 129 site of maxilla from Japanese donor cadavers (26 males and 38 Females; age  $77.3 \pm 8.9$  and  $86.8 \pm 8.8$ , respectively): morphological analysis of maxilla and maxillary sinus; histological observation of Schneiderian membrane; and distribution of CGRP, in maxilla and trigeminal ganglion. As a result, maxillary sinus was a square shape cavity (height:  $31.4 \pm 7.4$  mm and width:  $30.4 \pm 5.6$  mm). The thickening Schneiderian membrane was frequent in the middle region of sinus floor (44.2%) on Cone-beam CT. Histologically, increasing basal cells and gland cells on pseudostratified ciliated columnar epithelium was found on thickening mucosa membrane. Immunohistochemically, the CGRP was also partly expressed on the basal cell and gland cell on normal mucosa membrane, and CGRP-positive reactions was found around the nucleus or in the cytoplasm of ganglion cells in the trigeminal ganglion. This implies that CGRP may play some roles for the production of mucosal tissues, leading to thickening of the epithelium.

## 4-②-7.

**Foot morphological changes under weight bearing condition affect the hip and knee joint moments during gait**

(社会人大学院博士課程 3 年人体構造学分野)

○佐藤 俊彦

(人体構造学分野)

河田 晋一、永堀 健太、表原 拓也  
宮宗 秀伸、李 忠連、伊藤 正裕**Purpose**

This study was aimed to clarify the relationships between the foot morphological changes under weight bearing condition and the cumulative moments of hip and knee joints during gait.

**Materials and Methods**

The research subjects were twenty-six healthy adults (14 males and 12 females). A three-dimensional foot digitizer was used to measure the foot morphological parameters in sitting [without weight bearing] or standing positions [weight bearing]. The kinematic values for feet were expressed as the navicular height, medial malleolus height, lateral malleolus height, and calcaneus valgus angle. The height value was normalized by the size of the foot. The adduction cumulative moments for hip and knee during the stance phase were measured and analyzed by a three-dimensional motion analysis system and force platforms. The stance phase of loading response, mid stance, terminal stance, or preswing was defined based on the ground reaction force. Correlation analyses were performed to disclose the relationship between kinematic and kinetic parameters during each gait phase.

**Results**

Navicular height showed a negative correlation with adduction cumulative moments for hip and knee in the terminal stance phase. Calcaneus valgus angle also had a positive correlation with adduction cumulative moments for hip and knee in the terminal stance phase.

**Discussions**

The foot with a varus calcaneus and navicular drop was suggested to have decreased adduction cumulative moments in the hip and knee during the terminal stance

phase.

### 5-①-1.

#### 分子標的薬 Gefitinib の副次的標的分子 GAK によるオートファジーフラックスの制御機構

(大学院修士課程2年生化学分野)

○宮崎 誠也

(生化学分野)

平本 正樹、風間 宏美、高野 直治

宮澤 啓介

目的：分子標的薬 Gefitinib は、EGFR を標的分子とするチロシンキナーゼ阻害薬であるが、GAK など副次的な標的分子も報告されている。我々は以前に、EGFR 非発現細胞でも Gefitinib 添加によってオートファジーフラックス (AF) が変動すること、また GAK 遺伝子のノックアウトによっても AF の変動が生じることを報告した。GAK はクラスリン小胞の脱被覆などに関与することが報告されているが、オートファジーとの関連は不明である。そこで今回、GAK による AF の制御機構について解析した。

方法：肺癌細胞株 A549 において、CRISPR/Cas9 システムにより GAK をノックアウトした細胞株 (GAK-KO 細胞) を樹立した。オートファジーについては、イムノブロットイング (IB 法) で評価するとともに、AF 評価用プロープ GFP-LC3-mCherry-LC3ΔG (ΔG 法) の安定導入株を樹立し、解析を行った。また、オートファゴソーム・オートリソソーム形成を可視化するため、mCherry-GFP-LC3 (Tandem 法) の安定導入株も樹立した。リソソームについては飢餓条件下などにおいて蛍光免疫染色 (IF 法) で評価した。

結果・考察：GAK-KO 細胞では、A549 細胞との比較で以下のことが示された。1) オートファジーの指標となる LC3B-II の発現量が多い (IB 法)。2) オートファジー阻害剤 Bafilomycin A1 による AF 阻害効果が弱く、栄養飢餓による AF 誘導作用が遅い (ΔG 法)。3) 飢餓誘導後に蓄積するオートリソソームの数が多い (Tandem 法)。4) LAMP2 陽性のリソソーム (オートリソソーム) のサイズが大きく、細胞全体に散在する (IF 法)。5) リソソーム膜透過性亢進剤 LLOMe 添加により、細胞内膜損傷の指標となる Galectin-3 と LAMP2 との共局在が増加す

る (IF 法)。以上より GAK-KO 細胞では、刺激に対するオートファジー関連変化が鈍いことから、AF が遅滞していることが示唆され、またリソソームの膨化、脆弱性などから、リソソームの機能あるいは再生過程の障害がその原因として考えられた。

### 5-①-2.

#### プロスタグランジン E 受容体 EP4 の発達段階における発現の検討

(大学院修士課程1年細胞生理学分野)

○岡 沙由稀

(横浜市立大学附属病院：小児科、大学：細胞生理学分野)

黒田 浩行

(細胞生理学分野)

横山 詩子

【背景】 動脈管は出生後、肺呼吸の開始により新生児循環に移行すると速やかに閉鎖する。動脈管の閉存に主要な役割を果たすプロスタグランジン E2 は EP4 受容体を介して作用する。胎生満期のラット動脈管では EP4 mRNA が大動脈よりも多く発現し、出生後減少することが報告されている。しかしながら、EP4 を検出する特異性の高い抗体が存在しない為、発達段階における詳細な EP4 の発現分布は未だ明らかになっていない。そこで本研究では EP4 レポーターマウスを用いて動脈管における EP4 の発現変化を検討した。

【方法】 EP4 レポーターマウスはマウス EP4 に IRES-nLacZ (核移行シグナル付き LacZ) 配列を組み込み、EP4 の機能に影響を与えずに β-galactosidase が発現するように設計した。このマウスは EP4 を発現している細胞では核内に集積した β-galactosidase が X-gal 染色によって青色に呈色する。胎生満期～生後14日の EP4 レポーターマウスから胸部臓器を取り出し実験に使用した。臓器全体を X-gal 染色したのちにパラフィン切片を作製して観察した。また、各臓器から作成した凍結切片を用いた X-gal 染色を行なった。

【結果】 パラフィンおよび凍結切片による検討から、胎生満期から生後7日の動脈管は X-gal 染色により青色に染色された。核染色をした動脈管の切片では、X-gal 染色による青色が核に存在する様子が