

## 第60回中部日本生理学会

会 期：25年10月25日（金）、26日（土）

会 場：岐阜大学医学部記念会館ホール

当番幹事：岐阜大学応用生物科学部獣医生理学研究室 志水泰武

岐阜大学大学院医学系研究科生理学分野 森田啓之

岐阜大学大学院医学系研究科分子生理学分野 恵良聖一

演 題 数：48 題

参加人数：100 名

日本生理学会中部地方会は、第60回中部日本生理学会として、上記日程で開催されました。口演28題、ポスター20題の計48演題が発表されました。100名の先生方にご参加いただき、活発な質疑応答が行われました。総会では各種委員会の報告とともに、新たに着任された教授の方々をご紹介し、自己紹介をしていただきました。また、1日目総会終了後には懇親会を開催し、多数の方々の参加をいただき、盛会裏に本学会を終了いたしました。参加者の皆様に厚くお礼申し上げます。次回の当番幹事は、名古屋市立大学の予定です。

### S1-1. 血液交叉灌流実験系を用いたラット摘出心臓の高温条件下におけるメカノエナジェティクス解析

○小畑孝二<sup>1</sup>、安部 力<sup>1</sup>、森田啓之<sup>1</sup>、高木 都<sup>2</sup>（<sup>1</sup>岐阜大学大学院医学系研究科生理学分野、<sup>2</sup>奈良県立医科大学医学部医学科分子病理学）

本研究は血液交叉灌流ラット摘出心臓を用いて、灌流血液温度の上昇による心臓の力学的エネルギー学的性質の変化を調べることで、体温の上昇が心臓の生理機能に与える影響とそのメカニズムについて検討した。灌流血液温度の正常群（37℃）と高温群（42℃）で左心室収縮期末圧-容積関係（ESPVR）、左心室圧-容積面積（一心拍毎の総機械的エネルギー：PVA）と一心拍毎の心筋酸素消費量（VO<sub>2</sub>）を測定した。VO<sub>2</sub>-PVA直線関係から基礎代謝および興奮収縮連関における酸素消費を求めた。さらに、カプサイシン投与によりTRPV1を刺激することで、高温条件との違いを比較した。高温群では正常群に比べ、ESPVRは下方移動し、VO<sub>2</sub>-PVA直線関係の傾きとY軸切片は変化しなかった。Y軸切片を構成する基礎代謝と興奮収縮連関におけるカルシウムハンドリングに要する酸素消費は、それぞれ増加および減少したが、弛緩機能は亢進した。さらに、高温条件下の心臓とカプサイシン投与によるTRPV1を刺激した心臓を比較したところ、カプサイシン投与では用量依存性に収縮性は低下したが、弛緩機能には変化がなかった。VO<sub>2</sub>-PVA直線関係の傾きは変化しないで収縮性が低下することでは一致していた。弛緩機能に対する影響に違いが

みられたことから、カプサイシンの興奮収縮連関におけるカルシウムハンドリングへの影響についても今後検討する。利益相反なし。

### S1-2. 培養DRGニューロンのストレッチ応答へのTRPV2の関与

○片野坂公明<sup>1</sup>、高津理美<sup>2</sup>、成瀬恵治<sup>2</sup>、片野坂友紀<sup>2</sup>（<sup>1</sup>名古屋大学環境医学研究所神経系分野<sup>2</sup>、<sup>2</sup>岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学）

一次知覚神経には、触覚や痛覚あるいは固有感覚などに関わる多様な機械感受性ニューロンが存在する。一次知覚神経のメカノトランスダクションについては、幾つかの分子の関与が示唆されているが、詳細は不明である。今回、培養後根神経節（DRG）細胞へのストレッチ刺激によるカルシウム応答を調べ、機械感受性イオンチャネルの1つであるTRPV2（transient receptor potential V2）の関与について検討した。単離したマウスDRG細胞を、lamininでコートしたシリコン製ストレッチチャンパー上で短時間培養して接着させ、チャンパーの一軸性の伸展により細胞を刺激した際のカルシウム応答を、Fura2 Ca<sup>2+</sup>-imagingにより観察した。本法により、約17%のDRG細胞で、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇が観察された。このストレッチ応答は、刺激終了後の細胞内Ca<sup>2+</sup>レベルの回復の時間経過から、回復の速い応答（fast-decay type）と遅い応答（slow-decay type）に分類できた。fast-decay typeのストレッチ応答は、slow-decay typeに比べて高閾値であり、TRP阻害剤のRuthe-

nium red (RuR)に感受性であった。また、小型から中型の細胞に多く観察された。一方、slow-decay type の応答は低閾値かつ RuR 非感受性であり、大型の細胞で見られた。さらに、fast-decay type の応答の大部分が、TRPV2 アゴニストの Probenecid に感受性であり、DRG 特異的 TRPV2 欠損マウスから単離した DRG 細胞では、fast-decay type の応答を示す細胞が顕著に減少していた。以上の結果から、TRPV2 は一部の DRG 細胞のストレッチ応答に関与していることが示唆され、一次知覚神経の機械応答や生体の機械感覚にも寄与している可能性が考えられた。利益相反なし。

### S1-3. Nerve growth factor (NGF) and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) have a synergetic effect on muscular mechanical hyperalgesia

○S. Murase<sup>1</sup>, T. Taguchi<sup>2</sup>, F. Queme<sup>3</sup>, K. Mizumura<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Department of Physical Therapy, College of Life and Health Sciences, Chubu University, <sup>2</sup>Department of Neuroscience II, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, <sup>3</sup>Graduate School of Medicine, School of Health Sciences, Nagoya University)

NGF and GDNF are upregulated in muscle fibers after exercise at almost same timing and responsible for mechanical hyperalgesia in delayed onset muscle soreness. However, blockade of either NGF or GDNF by administration of anti-NGF antibody or inhibitors of COX-2, which lead to upregulation of GDNF, prevents from the appearance of delayed onset muscle soreness, suggesting a collaboration of these two trophic factors.

In this study, we examined effects of the mixture of a small amount of NGF and GDNF on muscular mechanical withdrawal threshold. NGF (0.1μM), GDNF (0.008μM), PBS and the mixture of NGF and GDNF were injected into the rat gastrocnemius muscle. Any change in the withdrawal threshold was observed in neither NGF, GDNF nor PBS group, however the mixture of NGF and GDNF did decrease the withdrawal threshold 1 hour-2 days after injection. The number of pERK immunoreactive cells in L4-6 dorsal root ganglia 1 day after the mixture injection was larger than PBS injected group. These results indicate a possibility that NGF and GDNF have a synergetic effect in muscular mechanical hyperalgesia. COI none.

### S1-4. 聴覚同時検出器細胞における周波数依存的な樹状突起機能の解明

○山田 玲, 久場博司 (名古屋大学医学系研究科細胞生理学)

聴覚情報は蝸牛器官において周波数分解された後、それぞれの周波数成分ごとに平行処理される。そのため聴覚系神経細胞においては、その担当する周波数成分に応じた様々な最適化が行われている。トリ層状核 (NL) 神経細胞は両耳からのシナプス入力と同時に検出器として働く事で両耳間時差検出を行い、音源定位に関わる神経核である。NL では周波数領域ごとに細胞形態が異なり、特に低周波数領域の細胞 (LF 細胞) は他の領域の細胞に比べて 20 倍長い樹状突起を持つことが知られているが、それがどのような機能的意義を持つのかについては不明であった。本研究では、ニワトリ NL の LF 細胞に焦点を当て、樹状突起におけるシナプス入力の統合様式を詳細に解析する事で、入力周波数に応じて樹状突起の長さが異なる事の意味を明らかにすることを目的とする。我々はまず 2 光子レーザー顕微鏡と caged グルタミン酸を用いた局所刺激によって、樹状突起におけるグルタミン酸受容体の密度分布を調べた。その結果、LF 細胞においては樹状突起の遠位にグルタミン酸受容体が集中している事が分かった。このことは興奮性シナプスが主に樹状突起の遠位側に入力していることを示唆する。今後は樹状突起上でのシナプス入力の分布およびその大きさを明らかにするとともに、そのような樹状突起遠位へのシナプス入力細胞体どのように伝わり、どのように統合されるのかを解析する予定である。利益相反なし。

### S2-1. TRPV4 と TMEM16A の機能的相互作用を介したクロライド流出による細胞内からの水流出の促進

○高山靖規<sup>1</sup>, 柴崎貢志<sup>2</sup>, 鈴木喜郎<sup>1</sup>, 山中章弘<sup>3</sup>, 富永真琴<sup>1</sup> (<sup>1</sup>岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理, <sup>2</sup>群馬大学分子細胞生物学分野, <sup>3</sup>名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II)

脳室内には脳脊髄液 (CSF) 分泌を行う脈絡叢が存在する。この組織において、カルシウム透過性の高い非選択的カチオンチャネルである TRPV4 が脈絡叢上皮細胞 (CPEC) の先端側 (脳室側) に局在している。これに加えて我々は、カルシウム活性化クロライドチャネルである TMEM16A の発現を新たに発見した。そこで、TRPV4 活性化に伴うカルシウム流入により TMEM16A が活性化するという仮説に基づき本研究を行った。HEK293T 細胞においてクロライド電流を測定した結果、TRPV4 活性化によって TMEM16A が極めて強度に活性化することを観察した。この応答は CPEC においても示唆された。これにより、TRPV4 と TMEM16A が機能的に相互作用することが示された。次に、TMEM16A 活性が水輸送に与える影響に

ついて HEK293T 細胞を用いて検討した。ホールセルパッチクランプ法による電流記録を行っている状態では TMEM16A 活性化に伴う細胞容積変化を測定した結果、静止膜電位において TMEM16A 活性化により細胞容積は著減した。これは、細胞内からの水流出を示唆する結果である。以上のことから、CPEC における TRPV4 の生理的意義は TMEM16A 活性化に伴う水流出の促進、すなわち脳脊髄液分泌の促進であると考えられる。利益相反なし。

## S2-2. グリーンアノールトカゲ TRPA1 の温度・化学物質に対するチャネル特性

○エルキンクルガノフ<sup>1,2,3</sup>、周一鳴<sup>1,3</sup>、齋藤 茂<sup>1,3</sup>、富永真琴<sup>1,2,3</sup> (1生理研・細胞生理、2総研大・生理、3岡崎統合バイオ)

Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) is a member of the large TRP super family of ion channels, and functions as a Ca<sup>2+</sup>-permeable non-selective cation channel that is activated by various noxious stimuli. TRPA1 was initially identified as a potential mediator of noxious cold stimuli in mammalian nociceptive sensory neurons while TRPA1s from non-mammalian vertebrates (snakes, green anole lizards and frogs) were recently reported to be activated by heat, but not cold stimulus. In this study, we examined properties for TRPA1 channel of green anole (gaTRPA1) relating to thermal and chemical stimulation in whole-cell and single-channel recordings. Heat activates gaTRPA1 with a temperature threshold for activation of 35.8°C, while heat together with allyl isothiocyanate (AITC), a chemical agonist, had synergistic effects on gaTRPA1 channel activation in that either the temperature threshold or activating AITC concentration was reduced in the presence of the other stimulus. gaTRPA1 channels were also activated by heat and AITC in excised membrane patches with an inside-out configuration. By comparing the kinetics of heat- and AITC-evoked single-channel currents, we defined similarities and differences of gaTRPA1 channel responses to heat and AITC. We observed similar current-voltage relationship and unitary amplitudes for heat- and AITC-evoked currents while we found that heat-activated currents showed shorter durations of both open- and closed-times. Our results suggest that the gaTRPA1 channel is directly activated by heat and chemical stimuli. COI none.

## S2-3. 温度上昇による TRPP3 チャネルのゲーティン

## グ解析

○樋口大河<sup>1</sup>、清水貴浩<sup>1</sup>、藤井拓人<sup>1</sup>、N. Bernd<sup>2</sup>、酒井秀紀<sup>1</sup> (1富山大学大学院薬物生理学、2ルーベンカトリック大学医学部)

我々はこれまでに TRPP3 が電位依存性チャネルとして機能することを明らかにしている。電位依存性 TRP チャネルの中に温度感受性を示す分子 (TRPV1 や M8, A1 等) が報告されていることから、本研究では TRPP3 チャネルの温度感受性を解析することを目的とし、以下の結果を得た。パッチクランプ法を用いて TRPP3 ホールセル電流を測定したところ、チャネル電流は温度上昇により増大し (Q10=1.35)、36°C より高温では減少した。この Q10 値は、これまでに報告されている温度感受性 TRP チャネルの Q10 値 (>10) と比較して低かったが、電流変化が二相性であったことから、温度により TRPP3 のゲーティングが調節される可能性が示された。そこでシングルチャネル電流を観測したところ、-60mV において、温度上昇に伴いシングルチャネルコンダクタンスは増大し、開確率は減少した。ゲーティング機構を解析するために閉閉持続時間解析を行ったところ、イオン透過および不透過状態への移行経路がそれぞれ 2 成分ずつで構成されることを見出した。興味深いことに高温から急速に温度を下降させると、シングルチャネルおよびホールセルレベルで著しい TRPP3 チャネルの活性化が観測された。これらの結果から、TRPP3 チャネルは温度によりチャネルゲーティングが制御されており、高温時には不活性化状態へ移行することが示唆された。利益相反なし。

## S2-4. TRPC3/6 チャネルによる心臓リモデリング制御

○西田基宏<sup>1</sup>、北島直幸<sup>1,2</sup>、外山喬士<sup>1</sup>、富田拓郎<sup>1,2</sup> (1岡崎統合バイオサイエンスセンター生理学研究所心循環シグナル研究部門、2九州大学大学院薬学研究院創薬産業学官連携分野)

慢性的な圧負荷が心臓にかかる時、心臓は代償的に肥大するだけでなく、間質の線維化、血管数の減少といった形態構造変化を伴って心不全へと移行する。これを心臓リモデリングと呼ぶ。我々は、ジアシルグリセロール (DAG) により直接活性化される transient receptor potential (TRP) チャネル (TRPC3 と TRPC6) が心筋の代償的肥大を仲介する分子であることを報告してきた。本研究では、心臓の不応 (リモデリング) に TRPC3 チャネルが関与するかどうか検討した。マウスの横行大動脈結紮により圧負荷を施し、圧負荷後の心臓の形態変化および心機能を評価した。TRPC3 チャネル機能は、TRPC3 欠損マウスまたは TRPC3 選択的阻害薬 Pyrazole-3 を投与することで阻害した。

TRPC3 阻害は、結紮部位前後の大動脈圧格差の程度に比例して生じる心重量の増大（心肥大）と心機能の低下を著しく改善した。心肥大および線維化と関連する遺伝子の発現変化を Real time PCR 法を用いて調べた結果、TRPC3 阻害は圧負荷により生じる心肥大関連遺伝子の発現増加の抑制のみならず線維化促進遺伝子の発現増加も強く抑制していた。実際に、TRPC3 阻害は圧負荷で生じる間質コラーゲンの蓄積を強く抑制していた。さらに、TRPC3 阻害は機械的伸展刺激により誘発される心筋細胞からの線維化促進因子の発現増加を有意に抑制した。以上の結果は、TRPC3 チャネルが心臓リモデリングを制御する遅い mechano-chemo transduction 経路の仲介分子となる可能性を示している。利益相反なし。

### S3-1. Neuronal responses in the superior colliculus during an attention disengagement task in rats

○N.H. Ngan, J. Matsumoto, Y. Takamura, E. Hori, T. Ono, H. Nishijo (System Emotional Science, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama)

Deficits in attention disengagement are reported as a unique feature of autism. Neurophysiology imaging, behavioral and neuropsychological studies suggest that the superior colliculus (SC) plays an important role in attention, and closely involved in autism. However, few studies investigated neuronal responses in the SC during attention disengagement. In the present study, we recorded activity of SC neurons in rats during performance of a conditioned licking task. The task trials consisted of 5 sessions; each session has 12 reward trials and 24 nonreward trials that appeared randomly. In each trial, a conditioned stimulus (flash or sound, elemental or configural) appeared for 1 sec, followed by spout protrusion close to the mouth for 2 sec. In the reward but not nonreward trials, rats could obtain an intracranial self-stimulation (ICSS) reward if the rats licked the spout. Of the 356 SC neurons recorded, 101 neurons showed excitatory responses to the conditioned stimuli, among which, 80 neurons showed excitatory responses to the conditioned stimuli associated with rewards (CS<sup>+</sup>), but not or less to the conditioned stimuli without rewards (CS<sup>+</sup>-related neurons). Furthermore, of 80 CS<sup>+</sup>-related neurons, activity of 32 neurons to the CS<sup>+</sup> was stronger and response latencies of these responses were shorter in the sessions that required attention disengagement. These attention disengagement-related neurons were more fre-

quently observed in the deeper layers of the SC. These results suggest that the SC, especially the deeper layers of the SC, might play an important role in attention disengagement, and be involved in pathology of autism. COI none.

### S3-2. アストロサイト由来エリスロポエチンによるオリゴデンドロサイト前駆細胞への細胞障害抑制効果

○青山峰芳<sup>1</sup>, 加藤 晋<sup>1,2</sup>, 垣田博樹<sup>1,2</sup>, 飛田秀樹<sup>3</sup>, 浅井清文<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋市立大学医学研究科分子神経生物学, <sup>2</sup>同 新生児・小児医学, <sup>3</sup>同 脳神経生理学)

エリスロポエチン (EPO) は主に造血作用を有するホルモンと考えられてきた。近年、中枢神経系の細胞にも EPO 受容体 (EPOR) が発現し、EPO による神経保護作用が明らかになった。我々は、中枢神経系において EPO の主たる産生細胞であるアストロサイト (Ast) から産生された EPO がオリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) に与える作用について解析を行った。

日齢 1 の ICR マウスの大脳皮質より混合グリア培養を作成し、フラスコ震盪により得た浮遊 OPC を、血小板由来成長因子 (PDGF) および線維芽細胞増殖因子 2 (FGF2) 存在下で培養した。同時に高接着性の Ast を回収し培養した。低酸素刺激後に定量的 RT-PCR および細胞免疫染色を実施し、EPO および EPOR siRNA を用いた RNA 干渉 (RNAi) により EPO-EPOR シグナルの機能解析を行った。

その結果、OPC における EPOR の発現と低酸素下における Ast からの EPO 分泌を観察した。また低酸素/再酸素化刺激による OPC 細胞傷害に対して低酸素下 Ast 条件培養液による保護効果を確認した。この保護効果は siRNA により減弱することを示した。

本実験から、低酸素下において Ast が EPO-EPOR シグナルを介して OPC の細胞障害を抑制することが明らかになった。この反応メカニズムの解明は、OPC 傷害が関与する中枢神経疾患の新たな治療法に繋がる可能性を示唆している。利益相反なし。

### S3-3. オレキシン神経による摂食行動・代謝の統合的機能調節

○犬東 歩<sup>1</sup>, M. Lazarus<sup>2</sup>, 富田江一<sup>3</sup>, 平林真澄<sup>4</sup>, 今吉 格<sup>5</sup>, 影山龍一郎<sup>5</sup>, 山中章弘<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学環境医学研究所, <sup>2</sup>筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構, <sup>3</sup>高知大学医学部, <sup>4</sup>自然科学研究機構生理学研究所, <sup>5</sup>京都大学ウイルス研究所)

視床下部に発現している神経ペプチドであるオレキシンは、睡眠・覚醒や摂食行動、代謝など多様な行動・生理応

答を調節している。オレキシンを産生するオレキシン神経は、視床下部の外側野に局在している一方で、青斑核や弓状核を含む脳のほぼ全領域にわたってその軸索を投射している。また、オレキシン神経を選択的に脱落させたマウスでは睡眠・覚醒の分断化、摂食量の低下や体重増加などの変化が観察される。オレキシン神経はオレキシンだけでなくグルタミン酸やダイノルフィン等の神経伝達物質も含んでおり、オレキシンの局所投与といった手法ではオレキシン神経の生理的機能を十分に明らかにしているとは言えない。

我々は薬理遺伝学的手法を用いてオレキシン神経を特異的に活動操作することによって、オレキシン神経が摂食行動および代謝に果たす役割を解析した。代謝量測定ケージによる統合的な解析を行ったところ、オレキシン神経の活性化による行動量の増加、摂食量の増加、飲水量の増加、呼吸交換率の上昇が観察された。また、絶食条件下でもオレキシン神経の活性化は血糖値の上昇を引き起こした。呼吸交換率および血糖値の変化は行動量増加が収まった後も持続していることから、行動量の増加に伴う二次的影響ではないと考えられる。こうした結果はオレキシン神経による摂食行動と代謝との統合的な調節機構の一端を示している。利益相反なし。

#### S3-4. 胎生期バルプロ酸曝露による発達期小脳皮質での伝達物質放出変化

○勝股大樹<sup>1</sup>、村本英樹<sup>1</sup>、田野崎真<sup>1</sup>、笹田由紀子<sup>2</sup>、関野祐子<sup>3</sup>、吉田祥子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>豊橋技術科学大学環境生命工学系、<sup>2</sup>産業医科大学、<sup>3</sup>国立医薬品食品衛生研究所)

$\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)は、脳における主要な神経伝達物質であり、成熟した神経回路においては抑制性神経伝達物質として働くが、神経細胞の未成熟期には細胞増殖因子として、また興奮性伝達物質として働くことが知られる。本研究では、酵素を固定化したガラス基板を用いた酵素光学デバイスを開発して発達期ラット小脳皮質からの伝達物質放出を観察してきた。これにより発達期小脳では、グリア性のGABA放出が観察され、これが顆粒細胞の増殖や分化に重要な役割を果たすことが示された。

本研究では、胎生期被曝によって自閉症などの行動異常が報告されている抗てんかん薬バルプロ酸ナトリウム(VPA)によって、発達期小脳皮質での伝達物質放出の変化を観察した。VPAはGABAトランスアミナーゼを阻害することにより抑制性シナプスにおけるGABA量を増加させ、興奮性の神経活動を抑制すると考えられている。近年は神経分化にも大きな影響をもつことが知られる。

妊娠16日(E16)のラットに600mg/kgのVPAを経口投

与し、酵素光学デバイスを用いて生後5日(P5)からP10のラット小脳皮質におけるGABAおよびグルタミン酸(Glu)放出を観察したところ、GABA放出が発生初期から著しく上昇していることが観察された。Glu放出量の変化、およびGABA性の興奮を引き起こした場合のGlu放出への影響について、今後検討を進める。利益相反なし。

#### S4-1. Kv4.2の不活性化からの回復速度はKChIP4の結合数に依存して変化する

○北沢和寛<sup>1,2</sup>、中條浩一<sup>1,2</sup>、久保義弘<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所神経機能素子研究部門、<sup>2</sup>総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻)

電位依存性K<sup>+</sup>チャネルの一つ、Kv4.2は、心筋細胞、神経細胞の樹状突起に発現し、細胞の興奮性を調節している。Kv4.2には修飾サブユニットが存在し、K<sup>+</sup>Channel Interacting Protein 4 (KChIP4)はKv4.2の電流量を増加し、不活性化を遅くし、不活性化からの回復を速くする事が知られている。しかし、その調節機構は未だ完全には解明されていない。我々は、Kv4.2/KChIP4複合体の量体数比(ストイキオメトリー)がKv4.2の性質に影響を与える可能性を検討した。まず、Kv4.2とKChIP4のRNA量比を変化させて*Xenopus*卵母細胞に打ち込み、Kv4.2に対するKChIP4の発現量を変化させた。Kv4.2の性質を電気生理学的に評価した結果、不活性化からの回復が、KChIP4の発現量に依存して速くなることが分かった。次に、Kv4.2とKChIP4のストイキオメトリーを4:4 (Kv4.2:KChIP4)及び4:2に固定するタンデムコンストラクトを作成し、両コンストラクトの性質を電気生理学的に解析した結果、4:4チャネルは4:2チャネルよりも速い不活性化からの回復を示すことが明らかとなった。さらに、KChIP4-mEGFP(monomeric enhanced GFP)をKv4.2と共発現させ、一分子蛍光イメージング法を用いて、Kv4.2/KChIP4-mEGFP複合体のストイキオメトリーを推定した。Kv4.2とKChIP4-mEGFPの相対発現量を変化させたところ、KChIP4-mEGFPの発現量が増すにつれて、Kv4.2との結合数が増加した。これらの結果は、Kv4.2/KChIP4複合体のストイキオメトリーが固定されたものでないこと、また、KChIP4の結合数が増加することで、Kv4.2の不活性化からの回復が速くなるということを示している。利益相反なし。

#### S4-2. hERGチャネルの環状ヌクレオチド結合相同ドメインによる脱活性化過程の制御

○糸 慎一郎<sup>1,2</sup>、中條浩一<sup>1,2</sup>、久保義弘<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻、<sup>2</sup>生理学研究所神経機能素子研究部門)

hERG チャンネルは、電位作動性 K<sup>+</sup> チャンネル (Kv) のサブファミリー H (KCNH) に属し、心臓や脳などの多様な組織に発現している。このチャンネルは他の Kv と比べて脱活性化が遅く、その機構には細胞内ドメインの関与が示唆されている。その一つが環状ヌクレオチド結合相同ドメイン (CNBHD) である。最近の報告で、ゼブラフィッシュの KCNHD である zELK チャンネルの CNBHD の結晶構造が解かれ、同ドメイン内のチロシン側鎖が環状ヌクレオチド結合ポケットに入り込み、リガンドのように機能することが明らかになった。

本研究では、まず、hERG チャンネルと zELK の CNBHD についてホモロジーモデリングを行った結果、hERG チャンネルの CNBHD 内のフェニルアラニン (Phe860) が同ドメインのポケットに入り込んでいることが分かった。次に、*Xenopus* oocyte を使用した二本刺し膜電位固定実験により、Phe860 を他のアミノ酸へ置換した際の影響を調べた。その結果、アラニンとアルギニンへの置換は脱活性化を速くしたが、チロシンとイソロイシンへの置換では顕著な変化が見られなかった。よって、Phe860 は hERG チャンネルの遅い脱活性化機構で機能しており、性質が大きく異なるアミノ酸側鎖ではその機能を補えないことが示された。Phe860 が内因性リガンドとして CNBHD のポケットに入り込んで機能する可能性が示唆された。利益相反なし。

#### S4-3. 腎尿細管における細胞間接着分子 claudin-4 発現に対する高浸透圧の影響

○五十里 彰<sup>1,2</sup>、跡見康輔<sup>1</sup>、山崎泰広<sup>1</sup>、林 久由<sup>3</sup>、酒井秀紀<sup>4</sup>、山口賢彦<sup>1</sup>、菅谷純子<sup>1</sup> (1静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学、<sup>2</sup>岐阜薬科大学薬学部生化学、<sup>3</sup>静岡県立大学食品栄養科学部生理学、<sup>4</sup>富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学) 薬物生理学)

上皮細胞はタイトジャンクションを形成し、電解質や薬剤の細胞間透過性を制御する。タイトジャンクションは膜貫通型蛋白質の claudin や足場蛋白質の ZO-1 などによって構成される。細胞間接着能を増強する claudin-4 は、腎臓の集合管に局限して発現する。我々は集合管に選択的な claudin-4 発現の調節機構を解明するため、高浸透圧の影響を検討した。

イヌ尿細管由来の MDCK 細胞を高浸透圧処理すると、時間依存的に claudin-4 発現が増加した。NADPH oxidase 阻害剤と抗酸化剤は、高浸透圧の効果を阻害した。同様の結果が、ラット腎スライスで観察された。Claudin-4 のプロモーターアッセイにより、-595/-334 の領域に高浸透圧感受性の部位が存在すると示唆された。この部位には、Sp1 と c-Jun の推定上の結合部位がそれぞれ 2 カ所存在する。近

位側の Sp1 結合部位に変異を導入したところ、高浸透圧の効果は阻害された。同様に、Sp1 と c-Jun siRNA は、高浸透圧による効果を阻害した。また、クロマチン免疫沈降アッセイにおいて、プロモーター領域への Sp1 と c-Jun の結合が確認された。

以上の結果から、腎臓の集合管では尿浸透圧の上昇により、NADPH oxidase の活性化、活性酸素種の産生、Sp1/c-Jun の活性化を介して、claudin-4 発現が増加すると示唆された。利益相反なし。

#### S4-4. 血液透析患者において水素含有透析液がアルブミン酸化還元比に及ぼす影響

○寺脇博之<sup>1</sup>、朱 万君<sup>1</sup>、寺田知新<sup>2</sup>、松山幸枝<sup>2</sup>、高橋康人<sup>1</sup>、櫻井 薫<sup>1</sup>、樺山 茂<sup>3</sup>、宮崎真理子<sup>3</sup>、伊丹儀友<sup>3</sup>、中澤了一<sup>3</sup>、中山昌明<sup>1</sup>、恵良聖一<sup>2</sup> (1福島県立医科大学腎臓・高血圧内科、<sup>2</sup>岐阜大学大学院医学系研究科分子生理学分野、<sup>3</sup>電解透析研究会)

【背景】腹膜透析患者に対して分子状水素を含有させた腹膜透析液を使用することにより、腹腔排液中のアルブミン酸化還元比 (HSA-redox) は有意に還元となる事が確認されている (Terawaki et al: *Med Gas Res* 2013)。一方、水素含有透析液を用いた血液透析の HSA-redox への影響は不明である。

【目的】水素含有透析液を用いた血液透析における HSA-redox の挙動を確認し、通常透析における挙動と比較する。

【方法】対象は 8 名の維持血液透析患者。通常透析液を用いた血液透析 (S-HD) と水素含有透析液を用いた血液透析 (H<sub>2</sub>-HD) をそれぞれ施行。透析開始時および終了時に人工透析膜の入口部・出口部から血液を採取し、HSA-redox、還元型および総グルタチオン濃度、過酸化水素濃度を測定した。

【結果】S-HD と H<sub>2</sub>-HD の両者において、透析膜前後での還元型および総グルタチオン濃度の減少、過酸化水素濃度の上昇が確認された。HSA-redox に関しては、S-HD では透析膜前後での差が確認されなかった一方、H<sub>2</sub>-HD では出口部の方が有意に還元となっていた。

【結語】水素含有透析液を用いた血液透析では、透析膜内におけるアルブミンの還元が確認された。利益相反なし。

#### S5-1. ラット胃粘膜下細静脈の自動能

○三井 烈、橋谷 光 (名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学分野)

【背景】胃壁内の細静脈は、膀胱や結腸と同様に伸展されても血液をうっ滞させないための機構を持つと考えられる。本研究では、胃粘膜下細静脈の自発収縮について検討

した。【方法】ラット胃粘膜下層標本を作製し、細静脈径及び平滑筋の細胞内  $Ca^{2+}$  の変化をそれぞれビデオイメージングと細胞内  $Ca^{2+}$  イメージングにて検討した。【結果】細静脈平滑筋で同期して周期的な  $Ca^{2+}$  transient がみられ、これに伴う細静脈の周期的な自発収縮が認められた。 $Ca^{2+}$ -ATPase (10 $\mu$ M CPA),  $IP_3$  受容体 (100 $\mu$ M 2-APB),  $Ca^{2+}$  依存性  $Cl^-$  チャネル (CLCA) (100 $\mu$ M niflumic acid), L 型  $Ca^{2+}$  チャネル (1 $\mu$ M nifedipine) 及びストア誘発性チャネル (10 $\mu$ M SKF96365) 阻害により、 $Ca^{2+}$  transient の消失またはその同期性の消失がみられ、周期的自発収縮は停止した。自発収縮は、神経機能阻害 (1 $\mu$ M TTX) の影響を受けず、NO 合成阻害剤 (100 $\mu$ M L-NA) により頻度が増加したため、内皮由来の NO が自発収縮の抑制因子であると推察された。【考察】小胞体からの自発的な  $Ca^{2+}$  遊離に伴う CLCA の開口とそれに続く L 型  $Ca^{2+}$  チャネルを介した細胞外からの  $Ca^{2+}$  流入がラット胃粘膜下細静脈の平滑筋において同期して起こり、筋原性の細静脈自発収縮が発生すると考えられた。利益相反なし。

#### S5-2. Interstitial cells in the prostate gland

M. Lam, R. Mitsui, H. Hashitani (Department of Physiology, Nagoya City University)

The prostate exhibits myogenic contractions driven by the generation of spontaneous electrical activity that is speculated to be triggered by pacemaking cells similar to the interstitial cells of Cajal (ICC). The generation of spontaneous contractions in the prostate is likely to contribute to an enhanced smooth muscle tone commonly resulting in lower urinary tract symptoms (LUTS) as experienced by elderly men with benign prostatic hyperplasia (BPH).

The modulation of spontaneous activity in the guinea pig prostate has been previously explored but the origin of spontaneous activity in the prostate has yet to be fully established. Prior reports observe that the established ICC marker, c-Kit, can be positively stained in both human and guinea-pig prostate preparations; however our experiments exploring the role of Kit in the guinea-pig prostate imply Kit positive cells are not present and that pacemaking cells similar to ICCs may not exist in all prostate models. Instead, spontaneous activity is likely to arise from non-Kit positive cells. COI none.

#### S5-3. PAI-1 阻害薬 TM5275 の血管内皮細胞上における線溶活性増強効果のリアルタイムイメージング解析

○安井秀樹<sup>1,2</sup>, 鈴木優子<sup>1</sup>, B. Tomasz<sup>1</sup>, 佐野秀人<sup>1</sup>, 須

田隆文<sup>2</sup>, 段 孝<sup>3</sup>, 宮田敏男<sup>3</sup>, 浦野哲盟<sup>1</sup> (浜松医科大学医生理学,<sup>2</sup>浜松医科大学内科学第二,<sup>3</sup>東北大学医学系研究科附属創生応用医学研究センター分子病態治療学分野)

【目的】血栓溶解に関わる線維素溶解(線溶)系は、tissue plasminogen activator (tPA) が plasminogen を plasmin に活性化する事により始まる。我々はこれまでに、tPA が血管内皮細胞から分泌後に細胞表面に滞留し、同現象が血管内皮上での線溶活性維持に重要なこと、一方 tPA の阻害物質である plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は滞留 tPA を tPA-PAI-1 複合体形成により、血管内皮上からひきはがし、線溶活性を低下させることを証明した。今回 PAI-1 阻害薬 TM5275 の血管内皮上での tPA 滞留時間と線溶活性に与える効果を検討した。

【方法】GFP 標識 tPA (tPA-GFP) 発現血管内皮細胞を用いて TM5275 の効果を下記を指標として評価した。(1) 全反射顕微鏡を用いた血管内皮上での tPA-GFP の分泌動態観察 (2) 共焦点顕微鏡を用いた tPA-GFP 発現細胞周囲への Alexa Fluor 568 標識 plasminogen (plg-568) 集積と内皮上に作成したフィブリン網の溶解。

【成績】TM5275 は 20 $\mu$ M, 100 $\mu$ M ともに tPA-PAI-1 複合体形成を抑制し、血管内皮上での tPA 滞留時間を有意に延長した。また経時的に進行する tPA-GFP 発現細胞周囲への plg-568 集積とフィブリン血栓溶解を有意に促進した。

【結論】tPA, PAI-1 量が動的に変動する系において、TM5275 は PAI-1 活性を抑制し、その結果 tPA-GFP の血管内皮上での滞留時間を有意に延長し、血管内皮上での線溶活性の増強をもたらすことを初めて証明した。利益相反なし。

#### S5-4. ラット腸管粘膜上皮におけるニコチン酸誘発性経上皮アニオン分泌

○唐木晋一郎, 桑原厚和 (静岡県立大学大学院薬食生命科学総合学府環境生理学研究室)

ニコチン酸は、ニコチン酸アミドとともにナイアシンあるいはビタミン B3 と呼ばれている。ナイアシンの欠乏は、皮膚炎、下痢、神経障害を症状とするペラグラを発症させるが、生体内では主に肝臓でトリプトファンから生合成され、消化管では腸内細菌によっても産生されることが知られている。さらにニコチン酸は、ニコチン酸アミドには無い種々の生理作用を有し、これは、ヒドロキシカルボン酸受容体 2 (HCA<sub>2</sub>) (GPR109A, NIACR1, PUMA-G or HM 74a) を介すると知られている。本研究では、Ussing chamber に装着したラット腸管粘膜-粘膜下組織標本を用い、ニコチン酸が HCA<sub>2</sub> 受容体刺激を介する一過性の経上皮アニ

オン分泌を惹起することを発見した。また、この作用はテトロドトキシン非感受性であり、COX 抑制剤ピロキシカムや、COX2 選択的抑制剤 NS-398 によってほぼ完全に消失した。さらに、HCA<sub>2</sub>受容体は主に大腸の粘膜に発現していることが qRT-PCR 法によって示され、免疫組織化学的手法により、上皮に散在する細胞に局在していることが示された。大腸粘膜は、腸内細菌の産生するニコチン酸を HCA<sub>2</sub>受容体によって感受し、一過性の腸液分泌を惹起することによって腸内フローラに影響を与え、腸管粘膜と腸内フローラの恒常性維持に寄与している可能性が示唆された。利益相反なし。

### S6-1. 長期高脂肪食摂取ラットにおける圧受容器反射の開ループ解析

○安部 力, 森田啓之 (岐阜大学大学院医学系研究科神経統御学講座生理学分野)

肥満による高血圧発症のメカニズムの一つとして、圧受容器反射のゲイン低下が考えられている。肥満と圧受容器反射に関するこれまでの研究は主に閉ループでの解析が行われてきたが、いまだ不明な点が多い。今回我々は、肥満ラットの圧受容器反射特性を開ループで解析した。3週齢から13週齢までの10週間、高脂肪食(HFD)または普通食(NFD)で飼育したSDラットを用いた。頸動脈圧受容器を生体から分離し、頸動脈洞圧(CSP)を1分ごとに60, 100, 120, 140, 160, 180mmHgに上げた時の腎交感神経活動(RSNA)と動脈血圧(AP)を測定した。この時、CSPとAPの関係を中樞弓、RSNAとAPの関係を末梢弓とした。末梢弓は両群で差は見られなかった。一方、HFDラットの中樞弓は右方にシフトしており、その結果、動作点が有意に上昇していた(NFD:  $98 \pm 1$ mmHg, HFD:  $108 \pm 2$ mmHg)。また、圧受容器反射のゲインに有意な差は見られなかった。自由行動下におけるHFDラットの平均動脈血圧はNFDラットに比べ有意に高いことから(NFD:  $88 \pm 3$ mmHg, HFD:  $96 \pm 2$ mmHg)、圧受容器反射の中樞弓右方シフトがHFDラットの高血圧に関与している可能性が示唆された。利益相反なし。

### S6-2. 出汁摂取時における消化管由来情報のマウス情動行動に及ぼす影響

○J. Undarmaa<sup>1</sup>, 堀 悦郎<sup>1</sup>, 松本淳平<sup>1</sup>, 近藤高史<sup>2</sup>, 小野武年<sup>1</sup>, 西条寿夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>富山大学大学院医学薬学研究所(医学)システム情動科学, <sup>2</sup>味の素株式会社)

研究目的: 消化管と脳は、迷走神経や液性因子により相互に影響を及ぼしている。また近年、うま味物質や様々な栄養素が情動行動の中樞である大脳辺縁系などの脳機能を

変化させることが報告され、食物の向精神作用が注目されている。本研究では、かつおだしを摂取したマウスの情動行動について調べた。

実験方法: マウス(C57BL/6系, 4週齢, 雄)を用い、一部のマウスでは横隔膜直下で迷走神経を切断した。全ての個体を個別飼育し、試験期間中の溶液摂取量を測定した。4週間後に、C57BL/6系マウスの飼育ケージ内に異系統マウス(C3H/Hej系, 4週齢, 雄)を入れ、10分間の攻撃行動をビデオで記録し、攻撃行動を解析した。その後、強制水泳試験を行うため、マウスをアクリル円筒筒内に入れて遊泳の持続時間を計測した。

結果: かつおだし摂取により、攻撃行動試験では、攻撃行動を開始するまでの潜時が有意に遅くなり、攻撃行動の持続時間も有意に短縮した。また、攻撃行動の発現回数について減少傾向が認められた。一方、強制水泳試験では、遊泳持続時間が有意に延長した。迷走神経を切断したマウスでは、かつおだしによるこれらの効果は観察されなかった。

以上から、かつおだしは、他者への攻撃性の低下およびうつ状態の改善効果を有し、その効果の一部は迷走神経系を介したものであることが明らかとなった。利益相反なし。

### S6-3. メラトニン投与による脳内出血後の運動機能改善メカニズム

○上田佳朋, 石田章真, 増田 匡, 清水由布子, 三角吉代, 鄭 且均, 飛田秀樹 (名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経生理学)

脳内出血後の細胞障害は、血腫圧迫の影響や血液代謝産物により生じるフリーラジカルが原因となる。これまでに鉄イオンキレーターを経口投与により、脳内出血後の運動機能が改善されることを報告した。一方、ラジカスカベンジャーとしてメラトニンが知られている。本研究は、脳内出血に対するメラトニン(Mel)の効果、さらにその作用メカニズムについて解析を行った。

内包出血モデルラットを作成するため、内包部ヘコラゲナーゼ(15U/ml, 1.4 $\mu$ l)を微小注入した。Mel(15mg/kg)の7日間経口投与による効果を、運動機能評価(MDS)、残存する皮質-脊髄投射ニューロンの数、皮質内微小電気刺激(ICMS)に対するニューロン応答性、細胞培養により検討した。

内包出血モデルにおいては、MDSスコアの有意な減少、逆行性トレーサーFluoro-Gold(FG)により同定される皮質-脊髄投射ニューロン数の減少、同領域のICMS刺激による筋収縮閾値の増加すなわち刺激応答性の減少が認められた。Mel投与により、障害7日後に有意にMDSが改善した。また障害部近傍の8-OHdG陽性の細胞数は減少して

いた。さらに FG 陽性の皮質-脊髄投射ニューロン数は有意に増加していた。培養実験では、アストロサイトおよびオリゴデンドロサイトに対する H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 毒性を Mel が有意に抑制することが示された。

以上の結果から、Mel は出血部近傍(ペヌンプラ)のグリア細胞の細胞障害を抑制し、皮質運動野のニューロン死を抑制することによって脳出血後の運動機能の改善をもたらすことが示唆された。利益相反なし。

#### S6-4. 発達期の経口うま味刺激における迷走神経を介した社会性亢進

横山善弘<sup>1,2</sup>、清水由布子<sup>1</sup>、上田佳朋<sup>1</sup>、三角吉代<sup>1</sup>、石田章真<sup>1</sup>、鄭 且均<sup>1</sup>、横井基夫<sup>2</sup>、飛田秀樹<sup>1</sup> (1名古屋市立大学医学研究科脳神経生理学、<sup>2</sup>同 歯科口腔外科学)

自然発症高血圧ラット (SHR) は、不注意、衝動性、多動性を特徴とする注意欠陥多動性障害 (ADHD) モデルラットとして知られる。SHR において発育期のグルタミン酸 Na (MSG: 0.6%) の経口投与が、成熟後に社会性を亢進させることをこれまでに報告した。うま味物質 MSG が、その受容体を刺激し液性因子を動員するの、また迷走神経を介して腸-脳相関による作用を誘発するの等の疑問が残っている。本研究は、発育期のうま味物質 MSG の投与が情動行動の発現変化をもたらすメカニズムについて検討した。

離乳直後の SHR (P25) から P60 までの 5 週間一匹飼育を行った。迷走神経を切除 (vagotomy) し MSG を投与した群 (n=10) および非 vagotomy の MSG 投与群 (n=9) に分け、情動行動として open-field test (OT) および social test (ST) を評価した。

その結果、vagotomy の有無によらず MSG 投与後に多動性の指標となる OT の総移動距離に違いは認められなかった。しかし、不安様行動の指標となる OT の中心部進入回数は vagotomy により有意に減少した。また ST では、vagotomy 群において MSG 投与による社会性の亢進 (新規動物に対する臭嗅ぎ行動や馬乗り行動の減少) は、MSG 非投与群と同じレベルにまで低下した。

以上の結果から、SHR の発育期に迷走神経を切除することにより、MSG の社会性亢進作用が減弱することが明らかになった。また、MSG による社会性亢進は、消化管受容体から迷走神経を介した脳内変化であることが示唆された。利益相反なし。

#### S7-1. モルモット肝静脈の神経性収縮機構の検討

○高野博充、橋谷 光 (名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学分野)

肝臓は血液の貯蔵部位としてはたらくも持つ一方で、その血管抵抗の増加によって静脈還流量の減少を引き起こす可能性が指摘されている。そこで肝臓から単離したモルモット肝静脈の神経性収縮を検討した。標本に経壁神経刺激をすると、一過性の張力増大反応を観察した。この反応は Tetrodotoxin (3μM) 存在下では見られなくなった。この収縮は、Phentolamine (3μM) 存在下では大きさが抑制され、Propranolol (3μM) を追加投与すると増加した。Atropine (3μM) 存在下では収縮の持続時間が短くなり、Guanethidine (10μM) を追加投与すると見られなくなった。Phenylephrine (1-10μM) は濃度依存的に収縮を起こし、Isoproterenol (3μM) を追加投与すると収縮抑制を起こした。Noradrenaline (1-3μM) は濃度依存的に収縮を起こしたが、10μM では逆に収縮が抑制された。Acetylcholine (1μM) は収縮を起こしたが、Phenylephrine (10μM) 収縮中、Acetylcholine (3μM) はさらに収縮を増大した。以上よりモルモット肝静脈はアドレナリン作動性およびコリン作動性の興奮性神経支配を受けていることが示唆された。利益相反なし。

#### S7-2. 大脳皮質-筋間の人工神経接続による麻痺手の随意制御の再建

○加藤健治<sup>1,2,3</sup>、澤田真寛<sup>1,4</sup>、西村幸男<sup>1,2,5</sup> (1生理学研究所認知行動発達機構研究部門、<sup>2</sup>総合研究大学院大学生命科学、<sup>3</sup>日本学術振興会、<sup>4</sup>京都大学大学院脳神経外科、<sup>5</sup>科学技術振興機構さきがけ)

脳と脊髄を繋ぐ神経経路が障害されることにより、運動麻痺を呈する。本研究では、三頭のサルの前核線状体動脈或いは前脈絡叢動脈を結紮することにより脳梗塞モデルサルを作成し、大脳皮質の神経活動に依存した電気刺激を麻痺筋へ与えることによって大脳皮質⇒筋間の人工神経接続を施し、失った麻痺筋の随意運動機能を再建できるか検討した。

大脳皮質⇒筋間の人工神経接続は、大脳皮質へ慢性留置した ECoG 電極より任意に 1 極を選択し、記録された振動性脳活動から high-γ 帯域 (80-120Hz) の特徴的な波形を検出し、その検出頻度に依存した電気刺激の強度と周波数を変調させることにより達成した。電気刺激は麻痺している前腕の筋肉に対して行った。

人工神経接続なしでは麻痺手の随意制御ができなかったが、人工神経接続中には自らの脳活動を変化させ、随意的に麻痺手の運動を制御できた。人工神経接続を施した 25 分間で、手首力制御タスクのパフォーマンスは時間に伴って有意に向上した。また、一次運動野だけでなく運動前野、一次体性感覚野の脳活動を使っても、麻痺筋の随意制御は

可能で、時間に伴ってパフォーマンスが向上した。

本研究では、脳梗塞サルであっても、新規な大脳皮質⇒筋間の人工神経接続を自ら脳活動を変化させて自己適応することで、失った手の随意制御を再建できることを示した。この結果は脳梗塞や脊髄損傷患者に対しても大脳皮質⇒筋間の人工神経接続が有効であること示唆している。利益相反なし。

### S7-3. 意識に上らない視覚刺激による連合学習

○高桑徳宏<sup>1,2</sup>、加藤利佳子<sup>1</sup>、P.Redgrave<sup>3</sup>、伊佐正<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所認知行動発達機構研究部門、<sup>2</sup>総合研究大学院大学、<sup>3</sup>シェフィールド大学)

連合学習は動物が自然環境の中で生き残るために使用する基本的な能力のひとつである。報酬や罰の経験を通じて、それらを予測させる刺激に直面したとき、連合学習によって動物は学習された適切な行動を選択する。また、人間がとる行動の中には無意識のうちに行われているものが多数含まれている。一部の連合学習もまた、無意識下で行っている可能性がある。しかし、無意識下での連合学習については未だほとんど調べられていない。一方、片側第一次視覚野 (V1) を損傷すると反対側視野に提示された対象を「見える」という視覚的意識がなくなるが、一部の患者ではその対象に手を伸ばしたり目を向けたりできるということが知られている。この現象は盲視と呼ばれている。そこで、我々は片側 V1 を損傷した個体を用いれば意識に上らない視覚情報による連合学習について検証することが可能ではないかと考えた。

本研究では、片側 V1 を損傷したサルの障害視野内に報酬を予告する視覚刺激 (CS) を提示することで、意識に上らない視覚刺激とその刺激と組み合わせさせた報酬の関連を学習させた。そして、この CS をもとに、それに適した行動 (licking: 報酬の出るチューブを舐め始める行動) を予測的に行うようになるかを検証した。その結果、片側 V1 の障害視野内に提示される視覚刺激は、連合学習において報酬を予測させる条件刺激として機能し得ることが明らかになった。利益相反なし。

### S7-4. 骨格筋 AMPK 活性の抑制はストレプトゾトシン誘導性インスリン依存性糖尿病の代謝異常を改善する

○横田繁史、岡本土毅、箕越靖彦 (自然科学研究機構生理学研究所発達生理学系系生殖・内分泌系発達機構研究部門)

1 型糖尿病は、膵臓からのインスリン分泌不全により、高血糖、高脂肪酸血症、高ケトン体血症を引き起こし、骨格筋、脂肪組織重量が減少して死に至る。今回、我々は、ス

トレプトゾトシン (STZ) を投与したインスリン欠乏型糖尿病の骨格筋において、細胞エネルギーセンサーである AMPK (AMP-activated protein kinase) とその下流シグナルが活性化することを見出した。驚いたことに、骨格筋選択的 dominant negative-AMPK 発現マウス (DN-AMPK) では、AMPK の下流シグナルが抑制されるとともに、高血糖、高脂肪酸血症、高ケトン体血症、体重減少、筋肉および脂肪組織の萎縮、致死率が改善した。骨格筋から分泌され、脂肪組織に対して脂肪分解または脂肪の利用を促進する IL-6 と irisin の発現が糖尿病マウスの骨格筋で増加し、血中濃度も増加していた。しかし、DN-AMPK マウスでは正常レベルまで改善した。また、糖尿病マウスでは血中レプチン濃度が著しく低下したが、DN-AMPK マウスでは正常化した。さらに、浸透圧ポンプを用いて IL-6 中和抗体あるいはレプチンを STZ 誘導性糖尿病マウスに慢性的に投与したところ、血糖値および血中遊離脂肪酸濃度が有意に低下した。さらに、浸透圧ポンプを用いて AMPK 阻害剤である Compound C を慢性的に投与すると、DN-AMPK 発現マウスと同様、血糖値および血中遊離脂肪酸濃度が有意に低下した。以上から、インスリン欠乏型糖尿病における代謝異常の発現に骨格筋 AMPK が関与することが明らかとなった。また、その代謝異常には、インスリンのみならず、それによって引き起こされる臓器間ネットワークの異常が関与すると考えられる。利益相反なし。

### P-1. 麻酔開胸下の BALB/c マウスの生理活性物質に対する肺動脈の収縮反応

○芝本利重、山本悠貴、王 墨飛、孫 玲玲、谷田守、倉田康孝 (金沢医科大学医学部生理学第二講座)

マウスの肺動脈と気道の生理活性物質に対する反応は摘出灌流肺での報告はあるが *in vivo* で左心房圧を測定し、肺血管抵抗 (Pulmonary vascular resistance, PVR) の動態の報告はない。今回、麻酔下開胸下 BALB/c マウスで気道内圧、右室圧 (収縮期圧を肺動脈収縮期圧とした)、左心房圧、大動脈血流量の連続的測定から PVR を算出し、大動脈圧と中心静脈圧から総末梢血管抵抗 (Total peripheral resistance, TPR) を算出できる標本を確立した。本標本を用いて angiotensin II などの体循環の血管収縮物質と serotonin などのアナフィラキシーショックの化学伝達物質に対する気道内圧と PVR, TPR の反応を検討した。血管収縮物質は高投与量では大動脈圧上昇による左室後負荷増大により左心房圧が上昇して、右室収縮期圧を増加させるも PVR は増加しなかった。一方、多くのアナフィラキシー反応の化学伝達物質は TPR を低下させるとともに PVR を増加させた。しかし、ヒスタミンとプロスタグランジン D2 は PVR

に対して有意な作用は無かった。利益相反なし。

## P-2. ラットアナフィラキシー低血圧における Angiotensin II と Vasopressin の役割

○王 墨飛, 芝本利重, 山本祐貴, 谷田 守, 孫 玲玲, 倉田康孝 (金沢医科大学医学部第二生理学)

【目的】出血などの循環ショック時には交感神経系および Angiotensin II (Ang) や Vasopressin (Vaso) などの血管収縮物質放出による代償機構が作動する。しかしながら、アナフィラキシーショック時の Ang と Vaso の役割については不明である。今回、ラットアナフィラキシー低血圧においてそれぞれの阻害剤を前処置して検討した。

【方法】雄性 SD ラットを卵白アルブミンの皮下投与で感作し、2 週間後に麻酔開腹下に体血圧、中心静脈圧、門脈圧、門脈血流量を測定した。Losartan (Ang 受容体阻害剤)、Captopril (Ang 変換酵素阻害剤)、Vaso V1a 受容体阻害剤の静脈内投与による前処置、10 分後に抗原を静脈内投与してアナフィラキシーを惹起した。

【結果】無処置対照ラットでは Psa は抗原投与後 15 分に 33mmHg に低下したが 120 分には 95mmHg に回復し、7 匹全例が生存した。一方、阻害剤前処置ラットでは Psa は抗原投与 15 分には同様に 25mmHg まで低下するも、120 分には Ang 阻害剤ではともに 55mmHg に、V1a 阻害剤では 35mmHg までしか回復しなかった。120 分後の生存率は V1a 阻害剤で 72%、Ang 阻害剤ではともに 58% であった。

【結論】ラットアナフィラキシー低血圧では Angiotensin II と Vasopressin は代償的に作用していることが示唆された。利益相反なし。

## P-3. アナフィラキシーショックにおけるラット腎臓交感神経活動の反応と麻酔薬の影響

○孫 玲玲, 谷田 守, 王 墨飛, 山本悠貴, 倉田康孝, 芝本利重 (金沢医科大学生理学 II)

【目的】自律神経系は循環ショックにおける重要な防御機構である。一方、ラット交感神経活動は麻酔薬の影響をうけることが報告されている (J Auton Nerv Sys 72 1998: 46-54)。今回、ラットアナフィラキシー低血圧時の交感神経反応に対する麻酔薬の影響を検討した。

【方法】ovalbumin で感作した Sprague-Dawley ラットの動脈圧 (SAP) と遠心性腎臓交感神経活動 (RSNA) を麻酔下で測定し、静脈内より抗原を投与してアナフィラキシー低血圧を惹起した。麻酔薬はウレタン、ペントバルビタール、ケタミンの 3 種類を用いた。

【結果】抗原投与によりいずれの麻酔下でも SAP は同様

に低下した。一方、抗原投与前の sodium nitroprusside の血圧低下に対する RSNA 増加反応はいずれの麻酔下でも同様であった。しかしながら、アナフィラキシー低血圧時の RSNA はペントバルビタール又はウレタン麻酔下で増加したが、ケタミン麻酔下では有意な増加反応はみられなかった。

【結論】ラットアナフィラキシー低血圧時に遠心性腎臓交感神経活動はペントバルビタール又はウレタン麻酔下で増加したが、ケタミン麻酔下では増加せず、麻酔薬による影響が示された。利益相反なし。

## P-4. TRPM6 チャネルの母子間 Ca<sup>2+</sup> 輸送への関与

○鈴木喜郎<sup>1,2</sup>, 富永真琴<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理研究部門, <sup>2</sup>総合研究大学院大学生理学専攻)

新生仔にとって出生時までに骨格を形成することは、出生後の生存に極めて重要であり、妊娠末期の胎盤における母親から胎仔への Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, P<sub>i</sub> の能動輸送がこの時期の急速な骨の石灰化に必須であると考えられている。これまでの研究によって、Ca<sup>2+</sup> 選択性の TRPV6 チャネルをノックアウトすると母子間 Ca<sup>2+</sup> 輸送が 40% 減少したことから、TRPV6 の母子間 Ca<sup>2+</sup> 輸送への関与が示唆された。しかしながら残りの 60% を担う輸送路の分子実体は不明である。私達は報告されている母子間 Ca<sup>2+</sup> 輸送路の薬理学的特性から TRP チャネルファミリーに着目しスクリーニングを行った結果、TRPM6 を見出した。In situ hybridization において TRPM6 は母子間 Ca<sup>2+</sup> 輸送に重要とされる胎盤内卵黄嚢に多く存在することが確認された。また Quantitative PCR によって胎仔の骨の石灰化が起こる妊娠末期に有意に TRPM6 の発現が増加することがわかった。さらにマウス胎盤一次培養系において TRPM6 様活性が認められた。以上のことから Ca<sup>2+</sup> を通し得る非選択性陽イオンチャネルである TRPM6 が、TRPV6 と共に胎仔の骨石灰化のための母子間 Ca<sup>2+</sup> 輸送に関与することが示唆された。利益相反なし。

## P-5. DanShen-induced salivary fluid secretion in the perfused submandibular gland of rat

F. Wei<sup>1,2</sup>, M. Murakami<sup>1</sup> (<sup>1</sup>National Institute for Physiological Sciences, NINS, <sup>2</sup>Department of Physiological Sciences, School of Life Science, The Graduate University for Advanced Studies)

Salivary hypofunction and dry mouth reduced the quality of life. Current medication is accompanied with systemic side-effects. Previous study screened twenty Chi-

nese herbs that used to relieve dry mouth. Danshen (DS, *Salvia miltiorrhiza* Bunge) showed increasing salivary fluid secretion of isolated rat submandibular gland (SMG). To understand the potential underlying mechanisms of DS to promote salivary fluid secretion, the rat submandibular glands were isolated and arterially perfused and their fluid secretion was measured by an electronic balance.

Delayed salivary fluid secretory reaction to DS stimulation was observed. The maximum salivary fluid secretion was in a dose-dependent manner in the range of 1-50g/L DS. DS was noticed to stimulate a salivary fluid secretion even during application of atropine and phentolamine. It suggested muscarinic and alpha-adrenergic receptors that common salivary secretagogues activated may not be the principal receptors for DS stimulation. Extracellular calcium was proved essential. Because DS hardly promoted the salivary fluid secretion of glands when calcium was removed in the perfusion. An attempt to measure the intracellular calcium level was not yet succeeded. The role of calcium was under study. COI none.

#### P-6. 酪酸誘導性細胞死における容積感受性 Cl<sup>-</sup>チャネルの役割

○清水貴浩<sup>1</sup>, 大竹宏尚<sup>1</sup>, 藤井拓人<sup>1</sup>, 田淵圭章<sup>2</sup>, 酒井秀紀<sup>1</sup> (<sup>1</sup>富山大学大学院薬物生理学, <sup>2</sup>富山大学生命科学先端研究センター)

酪酸は、結腸の恒常性維持に重要な役割を果たしているが、過量になると結腸上皮細胞において細胞死を誘導し、潰瘍性大腸炎を発症することが示唆されている。しかしながら、酪酸が細胞死を誘導するメカニズムは不明である。本研究では、マウス結腸上皮 MCE301 細胞における酪酸誘導性細胞死に容積感受性外向き整流性 Cl<sup>-</sup>チャネル (VSOR) が寄与する可能性について検討した。MCE301 細胞にパッチクランプ法ホールセル記録法を適用し、浸透圧性細胞膨張により活性化するホールセル Cl<sup>-</sup>電流を観測した。この電流は脱分極側で不活性化を示すとともに、VSOR 阻害剤である DCPIB (2.5μM) および NPPB (10μM) により有意に抑制された。また電流のアニオン選択性は I<sup>-</sup> > Br<sup>-</sup> > Cl<sup>-</sup> > F<sup>-</sup> > gluconate<sup>-</sup>であった。これらの結果から、MCE301 細胞に VSOR が機能的に発現していることが明らかとなった。他方、MCE301 細胞において高濃度 (8 mM) の酪酸を長時間 (48h) 処理すると、細胞容積縮小、ホスファチジルセリンの露出、カスパーゼ 3/7 の活性化といったアポトーシス指標が陽性となった。この酪酸誘導性アポトーシスは、DCPIB (2.5μM) および NPPB (10μM) に

より有意に抑制された。これらの結果から、MCE301 細胞における酪酸誘導性アポトーシスに VSOR 活性が重要な役割を果たしていることが示唆された。利益相反なし。

#### P-7. ATBF1 KO マウスにおける血管平滑筋細胞の形成不全

○鄭 且均<sup>1</sup>, 川口 誠<sup>2</sup>, 三浦 裕<sup>3</sup>, 飛田秀樹<sup>1</sup>, 道川 誠<sup>4</sup> (<sup>1</sup>名市大・医・脳神経生理学, <sup>2</sup>新潟労災病院病理診断科, <sup>3</sup>名市大・医・分子神経生物学, <sup>4</sup>名市大・医・病態生化学)

ホモオティック因子 ATBF1 (AT-motif binding factor 1, 404-kDa の核タンパク質) が、神経細胞分化と細胞周期に関わる転写調節因子であることをこれまでに報告した。一方、前立腺癌や胃癌において ATBF1 遺伝子の変異や欠損が報告され、ATBF1 が癌抑制因子であることも明らかになった。我々は ATBF1 の生理的機能について解析を進めることを目的に、本研究では ATBF1 knockout (KO) マウスを作成し、その解析を進めた。

ATBF1 KO マウスは生直後に死亡してしまうため、胎生 14 日及び 18 日目の胎児の形態を解析した。KO マウスは、wild type (WT) マウスに比べ、サイズが小さく、またいくつかの臓器形成異常が認められた。特に肺胞腔形成が不十分であった。肺胞上皮細胞などの肺実質組織の異常は認められなかったが、肺動脈直径が小さくうっ血傾向が認められた。血管壁の組織構築の解析では、血管内皮細胞に異常は認められなかったが、血管平滑筋細胞の形成不全による血管壁の非薄化が観察された。さらに肺で観察された血管形成異常は、肝臓等の全身臓器でも同様に観察された。

以上の結果から、ATBF1 KO マウスにおける肺胞腔形成不全は肺動脈機能の不完全さによるうっ血が原因と考えられること、また ATBF1 が発生期の血管平滑筋の形成に重要な働きを持つことが明らかになった。利益相反なし。

#### P-8. 遅発性筋痛は伸張性収縮の伸張関節範囲と角速度に依存して生じる

○林 功栄<sup>1</sup>, 阿部真博<sup>2</sup>, 水村和枝<sup>3</sup>, 山中章弘<sup>1</sup>, 田口徹<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, <sup>2</sup>ビタカイン製薬株式会社学術部, <sup>3</sup>中部大学生命健康科学部理学療法学科)

遅発性筋痛 (DOMS) は伸張性収縮負荷により生じやすいが、DOMS を惹起する伸張性収縮の筋伸張パラメータは不明である。本研究では、伸張性収縮の伸張関節範囲 (ROM) と伸張角速度 (VEL) が DOMS 発症に影響するパラメータであるかを調べた。イソフルラン吸入麻酔下で、ラットの総腓骨神経に電気刺激 (<300μA) を与え、下腿伸

筋群を収縮させた(10秒毎に50回)。この際、定量的運動負荷装置を用い、収縮に同期させて足関節を底屈させ伸張性収縮を負荷した。伸張性収縮は、1) VELを200°/sに固定し、ROMを30, 60, 90, 120°に可変、または、2)ROMを90°に固定し、VELを50, 100, 200, 400°/sに可変する条件で行った。DOMSの強度と時間経過は伸張性収縮後の筋機械逃避閾値の測定により定量した。1)の条件ではROM: 60, 90, 120°において伸張関節範囲依存的に、2)の条件ではVEL: 100, 200, 400°/sにおいて伸張角速度依存的にDOMSの強度が増大した。さらに、最大ROM(120°)でVELを遅くする、逆に、最速VEL(400°/s)でROMを狭める条件で伸張性収縮を負荷するとDOMSの発症が減弱した。以上より、伸張性収縮の伸張関節範囲と角速度はDOMS発症の程度に影響を及ぼすパラメータであることが明らかになった。利益相反なし。

#### P-9. 翳風穴置鍼による起立時血圧への影響

○松山幸枝<sup>1</sup>、田中邦彦<sup>2</sup>(<sup>1</sup>岐阜大学大学院医学系研究科分子生理学分野、<sup>2</sup>岐阜医療科学大学保健科学部放射線技術学科)

【目的】起立直後の血圧維持には内耳前庭系が重要な役割を果たしていると考えられている。これは強い経皮的内耳電気刺激によって入力をマスクすると、起立時の血圧調節が低下することから推測される。この電気刺激部位は経穴という翳風穴の辺りであることから、両側の翳風穴に置鍼をすると起立時の血圧変動にどのような影響を及ぼすのかを調べた。

【方法】健康成人10名(19~22才)を被験者とした。経穴は翳風穴、対照部位として肩髃穴に15mm・16号のステンレス鍼を約15mm斜刺したままで仰臥位から60°頭高位に姿勢変化させた。そのときの平均動脈血圧を右示指で連続血圧モニターを用いて測定した。尚、コントロールとして無刺激の状態と同様に血圧測定を行った。

【結果】姿勢変化時に無刺激や肩髃穴置鍼中では大きな血圧変化は認められなかったが、翳風穴置鍼中は起立直後に有意な血圧の低下が認められた。

【考察】翳風穴は耳鳴、難聴などの耳疾患に対して用いられることが多いため内耳前庭系に影響を及ぼしている可能性は推測されるが、その作用機序は明らかになっていない。しかし今回の結果から翳風穴の鍼刺激は内耳前庭系への入力を攪乱しているのではないかと推測される。

【結語】翳風穴の置鍼は、姿勢変化時における血圧調節を減弱させる。利益相反なし。

#### P-10. ラット食道横紋筋運動の制御における硫化水素

#### の役割

○椎名貴彦<sup>1,2</sup>、内藤清惟<sup>2</sup>、中森裕之<sup>1</sup>、志水泰武<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>岐阜大・応用生物・獣医生理、<sup>2</sup>岐阜大院・連合獣医・生理)

【背景と目的】硫化水素は、生体内で産生されるガス状情報伝達物質のひとつである。消化管運動における硫化水素の役割については、回腸と結腸の平滑筋運動を抑制する作用が報告されている。しかしながら、食道横紋筋に関しては未解明である。そこで本研究では、横紋筋のみの筋層を持つラット食道を用いて、食道横紋筋運動に対する硫化水素の効果を明らかにすることを目的とした。【方法】ラット胸部食道を分離して、オルガンバスにて食道筋の収縮反応を記録した。【結果】迷走神経を電気刺激したところ、食道横紋筋の収縮反応が誘発された。この収縮反応は、硫化水素ドナーであるNaHSをオルガンバスに適用することによって、抑制された。迷走神経を介さずに直接的に食道横紋筋を電気刺激によって収縮させた場合には、NaHSの抑制効果は発揮されなかった。また、RT-PCR法により、ラット食道組織では、硫化水素合成酵素であるCBSおよびCSE遺伝子が発現していることが明らかとなった。【考察】以上の結果より、硫化水素は食道組織内で産生され、食道横紋筋運動を抑制的に制御することが示唆された。また、硫化水素による抑制性調節は、食道横紋筋細胞に対する直接的な作用によって行われるのではなく、迷走神経あるいは神経筋接合部への作用を介して行われると考えられる。利益相反なし。

#### P-11. 光遺伝学を用いたレム睡眠調節に関わる神経回路の操作

○櫻本 新<sup>1</sup>、常松友美<sup>1</sup>、田淵紗和子<sup>1</sup>、犬東 歩<sup>1</sup>、田中謙二<sup>2</sup>、山中章弘<sup>1</sup>(<sup>1</sup>名古屋大学環境医学研究所、<sup>2</sup>慶応義塾大学精神神経学)

睡眠はノンレム睡眠とレム睡眠に分けることができる。レム睡眠はノンレム睡眠の後に出現する。このとき、大脳皮質の活動レベルは上昇し、記憶の固定などが行われていると考えられている。このレム睡眠がどのように調節されているのかについてはほとんど分かっていなかった。我々は、メラニン凝集ホルモン(MCH)産生神経に着目し、機能操作することを試みた。

MCH神経特異的に遺伝子発現制御可能なMCH-*tTA* BACトランスジェニック(MCH-*tTA*)マウスを作製し、このマウスをKENG-tetマウス(*TetO ChR2* (ET/TC)マウス)と交配させて、MCH神経特異的にChR2(ET/TC)を発現させた。一方、神経活動の抑制のために、*TetO ArchT*マウスと交配させた。免疫組織化学的解析によって、MCH

神経細胞特異的に ChR2 (ET/TC) もしくは, ArchT が発現していることを確認した. 視床下部に光ファイバーを刺入し, 自由行動するマウスにおいて MCH 神経活動を光で操作した. その結果, 覚醒時に MCH 神経を活性化しても変化が見られなかったのに対し, ノンレム睡眠時に MCH 神経を活性化すると, ノンレム睡眠からレム睡眠に移行することを見いだした. 一方, MCH 神経を持続的に抑制すると, レム睡眠の出現頻度が減少した. これらの結果から, MCH 神経細胞がレム睡眠発生に重要な役割を担っていることが明らかになった. 利益相反なし.

#### P-12. 光遺伝学を用いたオレキシン神経活動の長期抑制と睡眠覚醒状態変化

○乾 あずさ<sup>1</sup>, 常松友美<sup>1</sup>, 田中謙二<sup>2</sup>, 山中章弘<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>名古屋大学環境医学研究所, <sup>2</sup>慶応義塾大学精神神経学)

光遺伝学を用いると, 意識下に自由行動する動物の脳内において, 特定の神経の活動を光で制御することが可能となる. 本研究では, 睡眠覚醒調節に重要な役割を担っていると考えられる, 視床下部のオレキシン産生神経 (オレキシン神経) を対象に光遺伝学を適用し, 長時間その活動を抑制したときに生じる睡眠覚醒状態変化について解析し, 睡眠と覚醒を調節する神経回路の動作原理について明らかにすることを目的としている.

オレキシン神経特異的に tTA を発現する *orexin-tTA* マウスと, *TetO ArchT* マウスを交配させて, オレキシン神経特異的に ArchT を発現するマウスを作製した. 組織化学的解析から, 全オレキシン神経の約 80% において ArchT が発現することを確認した. ArchT は緑色光によって活性化されるプロトンポンプであり, 長時間神経活動を抑制することが出来る分子である. スライスパッチクランプを用いた解析によって, 約 1 時間の持続的な抑制が可能であることが確認できたため, インビボにおいて神経活動を持続的に抑制した. 夜間の活動期にオレキシン神経活動を持続的に抑制すると, 覚醒時間が減少し, ノンレム睡眠が増加した. 一方, 明期の抑制では顕著な睡眠覚醒状態の変化は観察されなかった. これらのことから, オレキシン神経活動は夜間の活動期において覚醒状態維持に重要な役割を担っていることが明らかになった. 利益相反なし.

#### P-13. 聴覚神経回路における軸索起始部の発達制御

○久場博司, 安達良太 (名古屋大学大学院医学研究科細胞生理学)

神経細胞の軸索起始部 (AIS) は活動電位の発生源であり, 神経活動決定の要である. 近年, AIS の空間分布 (長

さと位置) は細胞毎に異なり, 神経回路機能の発現に重要なことが分かってきた. しかしながら, この AIS 分布の多様性が形成されるしくみは明らかでない. トリ層状核 (NL) は左右の耳からの入力を統合することで音源定位に関わる神経核である. NL では AIS の分布が細胞の担当する音の周波数に応じて異なることが知られており, 高い音に应答する細胞ほど AIS は短く, 細胞体から離れている. 今回我々は, NL における AIS 分布の発達過程を調べることで, 上記問題を検討した. 聴覚入力開始前には, AIS は細胞体近くに長く分布し, その分布に周波数による違いはみられなかった. 聴覚入力開始後から, この AIS 分布には周波数に応じた変化がみられた. すなわち, AIS の長さは短縮し, 細胞体からの距離は延長し, その程度は高い音に应答する細胞ほど大きかった. さらに, 発生初期に聴覚原基を除去することで聴覚入力を遮断したところ, AIS の短縮は抑制されるのに対して, 距離の延長に変化はみられなかった. 以上のことから, NL での周波数に応じた AIS 分布の違いは, 聴覚入力開始後に形成され, この過程には入力依存のなしくみと非依存のなしくみの両者が関わることを示唆された. 利益相反なし.

#### P-14. マウス ESC 由来視床下部細胞のラット脳移植

○長崎 弘<sup>1</sup>, 小谷 佑<sup>1</sup>, 金子葉子<sup>1</sup>, 中島 昭<sup>1</sup>, 須賀英隆<sup>2</sup>, 太田 明<sup>1</sup> (<sup>1</sup>藤田保健衛生大学生理学 I, <sup>2</sup>名古屋大学大学院医学部糖尿病内分泌学)

「背景と目的」近年, マウス胚性幹細胞 (mESC) から種々の中枢神経組織を分化誘導する手法が開発され, 新たな *in vitro* 実験系として, また再生医療への応用が期待されている. mESC から神経組織を誘導する場合, まず無血清培地での浮遊凝集培養が行なわれるが, このときインスリンを含む全ての成長因子を培地から取り除くと, 視床下部前駆細胞群への自発的分化が起こる. 前回の発表では, この前駆細胞群をラット脳に移植すると 6 週までは生存することを確かめているが, 今回, 移植に対する mESC 分化度や, 移植時 VEGF 添加等, 諸条件の評価を行なった. 「方法」mESC (EB5 株) を血清及び成長因子不含の化学合成培地中で浮遊培養することにより視床下部前駆細胞を誘導した後, 13 日目から細胞凝集塊をメンブレン上で半気相培養を行なった. 分化誘導後 11 日目から 27 日目までの細胞塊をそれぞれ分散し, ラット大脳皮質に 5 万個/匹で移植した. 移植後 60 日で還流固定後抜脳し, パゾプレシン細胞他の免疫組織学的検討を行なった. 「結果及び考察」VEGF 添加により移植細胞の生存数が増加した. 誘導後 11 日の細胞でも移植後のパゾプレシン発現が見られたが, 誘導 27 日が, 大細胞を初めとする分化度の高いパゾプレシン細胞の生着が

見られた。未分化マーカーである SSEA 陽性細胞は移植後の経過と共に減少した。今回の知見は mESC 由来視床下部細胞の異種移植が、再生医療および視床下部ニューロンの実験系への実現において有用であると考えられる。利益相反なし。

#### P-15. 高速 MRI によるグルタミン酸の協調的消化管運動作用の数値的評価

寺本英巳<sup>1</sup>、○中山晋介<sup>2</sup> (<sup>1</sup> 紘仁病院内科, <sup>2</sup> 名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学)

グルタミン酸は、うまみの主要成分であるが、生体各所でいろいろな役割を果たすことが分かってきた。胃においてタンパク質は、単一のアミノ酸レベルまでには分解されない。したがって、口腔と胃粘膜では、等量のグルタミン酸が作用することになる。この事実は、口腔と胃におけるグルタミン酸の特別なアミノ酸としての役割を示唆する。これまでに <sup>13</sup>C トレーサーを用いて、グルタミン酸の胃排出亢進作用が報告されている。しかしながら、どのような消化管運動の変化がその根底に生じるかは示されていない。

そこで本研究では、高速 MRI を応用して非侵襲的に消化管運動を記録し、グルタミン酸の作用を検討した。健常者ボランティアが、200ml (200kcal) の流動食を摂取したのち、腹部消化管画像を FIESTA シーケンスを用いて約 660ms 間隔で撮像した。この撮像スキャン中に被検者は自由に呼吸をしたが、画像解析ソフトウェアにおいてエネルギー閾値を最小化させることにより、関心領域の呼吸揺れを補正した。被検者 10 名中 8 名で、60 分後の胃排出が増加した。そのうち 4 名で十二指腸部位が観察できたので、十二指腸部の面積、重心、および壁面の運動速度によって、運動特性の数値化を行ったところ、どのパラメータも十二指腸運動の亢進を示唆し、cine MRI での印象と一致した。これらの結果は、正の作用を示す被検者においては、胃でのグルタミン酸受容体刺激は十二指腸の協調的運動を伴い胃排出を亢進することを示唆した。利益相反なし。

#### P-16. 多発性嚢胞腎に発現する G 蛋白活性調節因子の探索

○佐喜真未帆、鈴木洋子、清水祐樹、佐藤麻紀、西村直記、犬飼洋子、岩瀬 敏、佐藤元彦 (愛知医科大学医学部生理学講座)

三量体 G 蛋白を介する情報伝達系は、細胞の主要な情報伝達経路のひとつであり 7 回膜貫通型の受容体、三量体 G 蛋白、および効果器という 3 つのコンポーネントから構成される。近年、受容体とは別に G 蛋白を直接活性する G

蛋白活性調節因子という蛋白の存在が明らかとなり、その病態生理学的意義が注目されている。我々は酵母を用いた機能的スクリーニングにより、これまで複数の G 蛋白活性調節因子を同定してきた。すなわち、ラット虚血心モデルから同定した Activator of G-protein Signaling 8 (AGS8) は、Gβγ サブユニットと相互作用を有し、細胞膜のコネクシン 43 透過性を制御することにより低酸素誘導心筋アポトーシスに関与した。また、肥大大心より同定した AGS11 は Gα16 サブユニットを細胞核内に移行させ細胞接合部蛋白の転写調節に関与していた。これら G 蛋白活性調節因子の同定から、通常受容体経路とは異なる、新たな調節機構が明らかになってきた。さらに我々は、G 蛋白活性調節因子の探索を多発性嚢胞腎モデルに広げ、新たな調節機構の解明を目指している。多発性嚢胞腎は、腎臓に嚢胞が多発し腎不全に至る疾患であるが、G 蛋白シグナルの異常も指摘されている。ヒト病態に近いラットモデルより cDNA ライブラリーを作製し G 蛋白活性調節因子の機能的スクリーニングを開始している。その研究経過について報告する。利益相反なし。

#### P-17. ガム咀嚼によるバスケット フリースローの成績向上効果について

○榊原吉一、丸口洋平 (金沢工業大学情報学部心理情報学科)

本研究は、緊張状態で行うフリースロー (投球) 成績に対し、ガム咀嚼が向上効果を持つかどうかを実験的に調べることを目的とした。被験者は 20 歳代前後の男子学生 40 名で、当時大学および民間のバスケット部所属の者は無く、中高時代の同部経験者も数人に留まり殆どは初心者であった。

使用したコート、リング、ボールは通常の大学生用のものであったが、投球ラインは各被験者がシュート率 5~7 割が達成しうる位置とした。被験者に現場さながらの緊張感をもってもらうために、5~8 名単位で実験を行い、投球者以外の者にはフリースローライン側線上に並んで投球を見守らせ、且つ、投球者の緊張度をアンケートにより評価させた。更に、一人二投とし、実験者から渡される一つのボールは 5 秒の集中時間を置いて投げる、バックボードにあてずリングに直接入れること、等を指示した。ガム咀嚼ありの場合は投球 5 分前から投球が終わるまでガム咀嚼を続けた。半数がガム有りの投球、そして 30 分休息を置いてガムなし投球を行い、残りの半数はその逆順で行った。

ガム咀嚼群 (G) とガムなし群 (N) のシュート率平均値は  $0.95 \pm 0.70$  と  $0.68 \pm 0.61$  で、統計的な有意差があった ( $p=0.03$ )。投球直後の状態不安尺度は各群 39 点と 42 点で

有意にGにおいて減少した ( $p=0.003$ ).

以上, ガム咀嚼が不安度低下と, シュート率向上の両効果を持つことを確認した. 利益相反なし.

#### P-18. 2型糖尿病発症モデルラットZFDMに対するGABA経口投与の抗糖尿病効果

○阿部 巧<sup>1</sup>, 古川和樹<sup>1</sup>, 塩木康紀<sup>1</sup>, 野村真悟<sup>1</sup>, 永井裕次郎<sup>2</sup>, 岩谷和輝<sup>2</sup>, 佐津川 満<sup>2</sup>, 河本哲宏<sup>2</sup>, 吉田祥子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>豊橋技術科学大学環境生命工学系, <sup>2</sup>東海漬物漬物機能研究所)

$\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)は中枢神経系の主要な神経伝達物質であり, また膵ランゲルハンス島(膵島) $\beta$ 細胞でインスリン分泌に関与していることが知られている. GABAの機能は多様で,  $\alpha$ 細胞の興奮抑制や $\beta$ 細胞の増殖刺激などが報告されている. 糖尿病は,  $\beta$ 細胞からのインスリンの分泌が障害されて糖代謝の異常が進み, 全身に重篤な問題を引き起こす疾病である. 特に生活習慣によりもたらされる2型糖尿病は近年大きな社会問題となっている.

本研究では, 2型糖尿病モデルラットであるZFDMラットを用い, GABAの長期投与による糖尿病発症への影響を観察した. 8週から20週のZFDMラットに, 麒麟協和発酵製GABA水溶液, 麒麟協和発酵製GABA培地溶液, 東海漬物由来乳酸菌生成GABA溶液を毎日それぞれ1000mg/kg経口投与した. また, 対照動物には, 同量の水を投与した. 動物の膵島からのGABAの放出変化, 血糖値, インスリン分泌量変化, トリグリセライド(TG)分泌量変化, HDL-コレステロール(HDL-Cho)分泌量変化およびTotal-コレステロール(T-Cho)分泌量変化の測定を行った.

この結果, GABA投与動物では対照動物に比べ血糖値の上昇が有為に抑制された. またインスリン放出量の抑制も見られ, インスリン抵抗性が小さいことが示唆された. TG, HDL-Cho, T-Choにおいても一定の効果が見られた. 利益相反なし.

#### P-19. 神経伝達物質測定のための酵素光学デバイスの開発

○渡邊一徳<sup>1</sup>, 原田太一<sup>1</sup>, L. Chinwooi<sup>1</sup>, 穂積直裕<sup>2</sup>, 吉田祥子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>豊橋技術科学大学環境生命工学系, <sup>2</sup>豊橋技術科学大学電気電子情報工学系)

本研究室では主要な脳内神経伝達物質であるグルタミン酸(Glu)および $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)の神経細胞からの放出分布を可視化・測定する技術を開発している. これらの放出分布を画像化するために, 伝達物質を分解する酸化還元酵素としてそれぞれグルタミン酸デヒドロゲナーゼおよびGABA分解酵素を用い, 反応と同時に生成する還元型

補酵素ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(リン酸)NAD(P)Hを蛍光測定している. 酵素は光導波路であるガラス基板上にシラン化剤を用いて固定化する. これにより, 脳スライスからのGABA, Gluの放出を時空間的分布で観察することが可能になった.

一方, 最適な酵素反応を引き起こすには, 基質が酵素に結合する空間の確保や, 酵素が安定にデバイスに結合している必要がある. 本研究では, 各種のシラン化剤や酵素の架橋剤によって酵素固定化を行い, 最適な光学デバイスの開発をめざしている. 各種のシラン化剤による酵素反応の差はあまり見られなかった. グルタルアルデヒド(GA)と1,3-Phenylene diisocyanate(1,3-DIC)及び1,4-DICを比較し, 酵素のガラスへの固定化様式が光反応に及ぼす影響を確認した. さらに光導波路を用いた励起法の改良, 酵素表面の保護などにより, 安定で簡便な神経伝達物質測定デバイスを開発, 改良している. 利益相反なし.

#### P-20. ドパミンによる脊髄排便中枢を介したラット大腸運動の制御

○志水泰武<sup>1,2</sup>, 池田あずさ<sup>1</sup>, 中森裕之<sup>1</sup>, 内藤清惟<sup>2</sup>, 椎名貴彦<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>岐阜大・応用生物・獣医生理, <sup>2</sup>岐阜大院・連合獣医・生理)

【背景と目的】排便時の大腸運動は, 消化管内在神経系および中枢神経系の両者によって厳密に制御されている. ドパミン作動性神経が障害されるパーキンソン病では, 高確率で便秘が起こることから, 大腸運動制御へのドパミンの関与が示唆されている. そこで, 本研究では, 中枢神経, 特に脊髄排便中枢に着目し, 脊髄を介した大腸運動に対するドパミンの作用を明らかにすることを目的とした.

【材料と方法】麻酔下のラットの遠位結腸と肛門にカニューレを設置した. カニューレを介して, 大腸内腔圧の変化と, 蠕動運動によって肛門側へ推送される液量を測定することで, in vivoにおける大腸運動を評価した.

【結果と考察】排便中枢が存在する腰仙部脊髄腔内にドパミンを投与すると, 大腸内腔圧変化の頻度及び振幅が増加し, 大腸内腔液が肛門側へ送り出された. このようなドパミンの大腸運動の亢進作用は, D2様受容体アンタゴニストを前処置することにより消失した. また, D2様受容体アゴニストの投与により, 大腸運動の亢進が再現された. これらの結果から, ドパミンは, D2様受容体を介して脊髄排便中枢に作用し, 大腸運動を制御している可能性があるということが示唆された.

【結論】本研究によって, ドパミンがD2様受容体を介して脊髄排便中枢に作用し, 大腸運動の制御機構に関与していることが明らかとなった. 利益相反なし.