

O-01. ラット腹膜由来肥満細胞のエクソサイトーシスに対するオロパタジンの効果

○馬場あすか¹, 風間逸郎² (¹東北大・医, ²東北大院・医・細胞生理)

【目的】抗アレルギー薬であるオロパタジンは、組織のヒスタミン (H1) 受容体に拮抗して薬理作用を発揮する。一方で、肥満細胞からのヒスタミンの放出を直接的に抑制することも知られるが、その開口分泌過程 (エクソサイトーシス) に対する作用機序の詳細は明らかでない。

【方法】ラット腹腔洗浄液より肥満細胞を単離した後、オロパタジンの存在下でエクソサイトーシスを誘発し、ホールセル・パッチクランプ法を用いて電気的細胞膜容量の変化を測定した。また、細胞膜表面への水溶性蛍光色素の取り込みを観察することにより、オロパタジンが細胞膜形状に与える変化についても調べた。

【結果】GTP- γ S の細胞内注入により惹起されたエクソサイトーシスに伴い、細胞膜容量は増加した。低濃度のオロパタジンは、この膜容量変化に影響を与えなかったが、比較的高濃度のオロパタジンは、膜容量の増加を有意に抑制した。また、オロパタジン投与により、細胞膜表面への水溶性蛍光色素の取り込みが有意に抑えられた。

【考察】オロパタジンは用量依存性に、ラット腹膜由来肥満細胞におけるエクソサイトーシスを阻害した。本薬剤は、エクソサイトーシスに伴う肥満細胞膜の形状変化に対し、物理的に拮抗する作用を有すると考えられた。

O-02. 海馬 CA1 領域におけるシナプス脱増強への IP₃ 受容体及びストア作動性カルシウムチャネルの関与に関する研究

○後藤純一¹, 金子健也¹, 藤原浩樹¹, 山崎良彦¹, 御子柴克彦², 藤井 聡¹ (¹山形大・医・生理, ²理化学研究所・脳センター・発生神経生物)

脱増強は海馬において観測されるシナプス可塑性の一種であり、長期増強が誘導されたシナプスに低頻度刺激を与えることで誘導される。脱増強により、以前に誘導された長期増強は部分的に消去される。これまでの研究からイノシトール三リン酸受容体 (IP₃受容体) の活性化が脱増強の誘導に必要であることが示されている。すなわち、I 型 IP₃ 受容体欠損マウスにおいて脱増強が見られず、また IP₃ 受容体阻害薬である 2-APB の投与は脱増強の誘導を阻害する。

2-APB は IP₃ 受容体の阻害薬として広く用いられているが、同時にストア作動性カルシウムチャネル (SOC) を阻害する。SOC は小胞体からのカルシウム放出により細胞内カルシウムストアが枯渇することで活性化され、細胞外か

らカルシウムを動員する。両者は共に細胞質カルシウム濃度の上昇に寄与することから、脱増強の誘導には IP₃ 受容体のみならず SOC も関与する可能性が示唆されてきた。本研究ではモルモット海馬スライス標本を用い、2-APB 以外の阻害薬を用いるなどして IP₃ 受容体・SOC の脱増強への寄与を分離できるか検討を行ったので現在までに得られた結果を報告する。

O-03. 培養 M-1 細胞における ROMK1 遺伝子導入時の C 末端 PDZ ドメイン結合部位の有無と K⁺チャネル活性発現との関係

○鈴木 享¹, 中村一芳¹, 真柳 平², 駒切 洋¹, 祖父江憲治², 久保川 学¹ (¹岩手医大・医・生理, ²岩手医大・医歯薬総合研究所・神経科学)

ROMK1 K⁺チャネルは腎集合管主細胞管腔膜に存在し、管腔内への K⁺分泌路としての役割を担っている。今回、我々は細胞膜への発現に重要と考えられている ROMK の C 末端にある PDZ ドメイン結合部位の有無と K⁺チャネル活性発現との関係について検討した。クローニングした ROMK1 の N 末端に EGFP を結合させ、C 末端に PDZ 結合部位がある野生型と PDZ 結合部位を取り除いた欠失型を作製し、培養マウス集合管 M-1 細胞に導入し検討した。M-1 細胞はガラスディッシュ上で培養した極性のない細胞と、インサート上で単層培養し、管腔膜を形成させた細胞を用い、パッチクランプ法で EGFP 蛍光を有する細胞の ROMK K⁺チャネル電流を測定した。その結果、EGFP 蛍光の細胞内局在には野生型と欠失型による差はなかったが、極性のない細胞では野生型に比べ欠失型でチャネル電流が有意に減少していた。一方、管腔膜を有する細胞では両者のチャネル電流に有意な差はなかった。これらの結果は、ROMK1 は細胞膜の PDZ ドメインの有無に関わらず、管腔膜に発現し易いことを示すものと考えられた。

O-04. 培養がん細胞に取り込まれた蛍光 D-グルコース誘導体の細胞内局在

○滝川翔太^{1,2}, 小野幸輝¹, 大塚祐司³, 山本敏弘³, 豊島 正³, 吉田 孝², 山田勝也¹ (¹弘前大院・医・統合機能生理, ²弘前大・農・分子生命科学・酵素化学, ³(株)ベプテド研究所・彩都研究所)

¹⁸F で標識した D-グルコース誘導体の取り込みを指標としたがんのイメージングが PET 検査として実用化している。しかし、PET は時間的・空間的分解能が悪く、微小な早期がんの検出が難しい。一方、蛍光標識を用いる方法は、分解能向上に有効な方法の一つである。実際、蛍光色素 NBD で標識した D-グルコース誘導体 2-NBDG が、グル

コーストランスポーターを通過して哺乳動物細胞に取り込まれることを見出し、種々の細胞・組織でグルコース輸送研究における有効性が示されている。臨床医療への応用の試みも活発で、2-NBDGによりがんを細胞単位で可視化しようとする試みがなされつつある。しかし、ヒトへの適用を考えていく際には、がん細胞内に取り込まれた後の挙動やその他の様々な点を明らかにしていく必要がある。そこで今回、2-NBDGの細胞内運命に関する若干の検討を培養がん細胞を用いて行ったので報告する。

O-05. 活動依存性マンガン造影MRIを用いたパーキンソン病モデルマウスの神経活動履歴計測

○菊田里美¹、中村幸代²、山村行生²、田村篤史¹、本間経康¹、柳川右千夫³、田村 元¹、笠原二郎²、小山中実¹ (¹東北大・医、²徳島大・薬、³群馬大・医)

パーキンソン病 (PD) は振戦、固縮、無動などを含む精神運動性の様々な症状を呈する疾患である。PDは黒質緻密部のドーパミン (DA) ニューロンが変性し線条体のドーパミン量が減少することが特徴である。その線条体におけるDAの減少がPDの症状に関連した大脳基底核の神経活動の変化を引き起こすと考えられている。しかし、基底核のどの領域の神経活動の変化が病態と関係しているのかは必ずしも明らかではない。そこで、我々は *in vivo* で神経活動を計測できると言われている Activation-Induced Manganese Enhanced MRI (AIME-MRI) を用いて、大脳基底核のどの領域の神経活動の変化がPDの病態と関連があるのかを解析した。このAIME-MRIを用いて、健常マウスとMPTP投与により作成したPDモデルマウスに対して、神経活動履歴計測を行った。線条体におけるチロシン水酸化酵素 (TH) の発現量は運動機能と相関があることが報告されているため (Rozas et al., 1998)、免疫組織化学によるTHの発現量を病態の重篤度の指標とした。AIME-MRIで計測されるT₁値とTH発現量との相関解析を行った結果、背側線条体の神経活動とTH発現量との間に有意な相関があった。

我々の結果はAIME-MRIによりPDの重篤度の判定を行うことができることを示唆している。

O-06. 選択する自由度の価値に関する脳機能イメージング研究

○藤原寿理^{1,2,3,4}、白井信男³、S. Park²、T. Williams²、飯島敏夫⁴、永福智志¹、泰羅雅登³、筒井健一郎⁴、P. Tobler² (¹福島医大・システム神経、²SNS-lab・Uni Zurich、³医歯大・認知神経生物、⁴東北大・脳情報処理)

本研究では、機能的磁気共鳴画像 (fMRI) 法を用いて、

ヒトの選択することに対する価値を表現している脳領域を調べることを目的とした。とりうる選択肢の数を1, 2, 4, 8と変えた選択課題を作成し、自由の程度を「自由度」として定量的に操作した。実験に用いる刺激には現実の購買行動に即するように全て日常生活で目にする100円ショップの商品を用い、課題中に自ら選択して手に入れた商品は実際に課題終了後に被験者に譲渡した。結果、行動学的にはヒトは選択肢が少ないよりも多いものから選ぶことに価値を見出すことが示され、その行動を表現している脳領域は線条体であった。さらに、選択肢が増えることにより、その自由度を多く見積もる傾向のある人ほど、線条体の背側部において有意な賦活がみられた。本実験により「自由」のように非常に抽象度の高い価値も、これまで報告されている様々な価値と同様に線条体領域で表現されていることが明らかとなった (Fujiwara et al., 2013)。

O-07. 心に染みついた恐怖を消す：動物の場合、ひとの場合

○香山雪彦 (福島学院大院・心理・臨床心理)

私は福島県立医科大学で神経生理学講座に在籍中から、その本職に関係なく、摂食障害に苦しむ人たちとその家族のグループのスタッフを務めてきた。定年退職後は臨床心理の教育と並行して、精神科病院で摂食障害・引きこもりなどに特化した診療に携わっている。そこで診ている患者さんたちは心に深い傷を負い、消せない恐怖の記憶に苦しんでいる。

恐怖の記憶については、画期的な動物 (ラット) での研究があり (Nature, 2000)、条件付けにより条件刺激でフリージングを起こす恐怖の記憶は、それが誘発された直後に扁桃核にタンパク合成阻害薬を注入すると、その記憶は消失することが示された。すなわち、恐怖の記憶は読み出されるごとに不安定になり、そのたびに再固定されると考えられる。このことを人での記憶について当てはめると、救いのない状況で恐怖の記憶が再生されると、より恐怖が強くなった形で再固定され、これが繰り返されるとPTSDに発展していくのであろう。一方、支援者のいる状況で再生されると恐怖は少し和らいだ形で再固定され、これを繰り返すと恐怖は徐々に消失していく。そのためには、安全な状況の下で、恐怖の基にある記憶を甦らせ物語として語ってもらうことが治療になると考えられる。

O-08. ステップ関数型キメラチャンネルロドプシンのキネティクス

○細島頌子、石塚 徹、八尾 寛 (東北大・生命・脳機能解析)

近年、480 nm 付近の青色光で活性化される非選択的陽イオンチャンネルであるチャンネルロドプシン (ChR) 2 が緑藻類の *chlamydomonas reinhardtii* から発見された。神経細胞に ChR2 を発現させ、光を照射するとチャンネルが活性化され、陽イオンの流入が起こり、神経の活動を引き起こすことができるため、神経科学の領域で盛んに用いられている。また ChR2 の点変異体 (step-function opsin, SFO) において、チャンネルの開状態から閉じた状態である基底状態までにある中間体への移行が遅延する (Yizhar et al, 2011)。その結果、ChR2-SFO は、青色光を吸収して生ずる光電流が照射終了後も持続し、黄色光照射によりチャンネルが閉じ、光電流が消滅する。本研究では ChR1 と ChR2 のキメラ体である ChRWR と ChRFR を元に SFO を作製し、光電流キネティクスを波長、光強度、および照射時間の関数として解析した。また作製した改変体のうちの1つである ChRFR-C167A をラット大脳皮質神経初代培養細胞に発現させ、膜電位を光強度と照射時間の関数として解析した。その結果、ニューロン種ごとに光刺激に対する応答が異なることが判明した。

O-09. フェンサイクリジンがラット聴覚誘発電位の時間周波数特性に及ぼす影響

○岡本正博, 片山規史, 浄土英一, 永福智志 (福島医大・医・システム神経科学)

フェンサイクリジン (PCP) はヒトや動物に統合失調症に似た症状を引き起こす。近年、統合失調症患者の聴覚性誘発電位に oscillation 異常がみられることが報告されているが、PCP が oscillation 異常を引き起こすかは明らかになっていない。そこで本研究では、PCP 投与 (10mg/kg, i.p.) ラットと同容量の生理的食塩水投与ラットの聴覚性誘発電位を記録し、時間周波数解析の結果を比較した。聴覚刺激としてクリック音を2回 (500 ミリ秒間隔) 呈示し、刺激呈示後 500 ミリ秒間の誘発電位をウェーブレット変換した。oscillation の強度 (induced power : iPower) と位相同期性 (phase-locking factor : PLF) を定量化し、PCP 投与群と生食投与群の間で比較した。PCP 群の iPower は 6-12Hz, 12-25Hz, 25-45Hz 帯域の帯域で有意に低く、PCP 群の PLF は 6-12Hz, 12-25Hz, 25-45Hz, 60-80Hz 帯域で有意に小さかった。以上の結果は、PCP が聴覚性誘発電位の oscillation 異常を引き起こすことを示す。

O-10. 大脳皮質内神経回路ダイナミクスにおける興奮性・抑制性ニューロンの活動の時間的關係

○田村篤史¹, 菊田里美¹, 柳川右千夫², 本間経康¹, 小山内 実¹ (¹東北大・医・医用画像工学, ²群馬大・医・

遺伝発達行動)

大脳皮質の局所電場電位は様々な周波数の振動を示すことが知られており、振動の遷移は神経細胞集団としての活動の変化を示していると考えられる。この振動の状態が遷移していく機構については明らかでない部分も多い。そこで、本研究では、振動状態の遷移において抑制性ニューロンと興奮性ニューロンの活動のバランスが重要であると考え、大脳皮質の神経回路の興奮性・抑制性ニューロンの活動の時間的關係を明らかにすることを目的とした。GABA 作動性ニューロンに GFP を発現する GAD67-GFP knock-in mouse から大脳皮質スライス標本を作製し、Ca²⁺ イメージングを行うことで、抑制性ニューロンを区別した上で、活動電位の発生を複数の細胞から同時に計測した。その結果、大脳皮質第一次運動野 V 層では興奮性ニューロンの周期的な発火と抑制性ニューロンの時間的にスパースな発火が観測された。さらに、抑制性ニューロンの発火により周期的な興奮性ニューロンの発火のリズムが変化の様子が観測された。この結果により、興奮性ニューロンの振動パターンを抑制性ニューロンが変化させている可能性が示唆された。

O-11. ピエゾ素子センサーを用いた心拍動・呼吸運動モニタリング

○安達 健¹, 佐藤紳一², 尾野恭一¹ (¹秋田大院・医・細胞生理, ²秋田大院・医・精神科学)

ピエゾ素子 (PZT) センサーは圧電変換特性をもつことから、生体に接触させることで心拍動・呼吸運動を振動としてとらえ、心拍呼吸活動をモニターすることができる。これまでにこのセンサーを用いてマウス心拍数の生直後 (体重 1.2g) からの生後変化やヒト新生児の非侵襲的心拍・呼吸測定を報告してきた。今回、PZT センサーによる循環血液量変化及び心収縮性変化の検出性を検討した。[方法] モルモットを用いて循環血液量を変化させるために瀉血、返血、生食輸液を行った。心収縮性を増強させるためにイソプロテレノールを反復静注した。[結果] 収縮時陽性波は瀉血により減弱したが、返血、生食負荷では有意に変化しなかった。拡張末期陽性波は瀉血により減弱し、生食負荷で増高した。また、0.3μg/kg 以上のイソプロテレノール投与により収縮時陽性波は増高したが、拡張末期陽性波に有意な変化は認めなかった。[考察] PZT センサーは循環血液量や心収縮性の変化を検出できる可能性がある。現在、ヒト及び心不全モデルラットを対象とした研究を行っているほか、本学医工連携部門と共同して鎮静時呼吸監視モニター製作プロジェクトが進行中であるので、併せて紹介する。

O-12. レム睡眠中の血圧変動における扁桃体の関与

○春山直人, 大波広暉, 西村邦広, 小山純正 (福島大・共生システム理工・神経生理)

扁桃体は情動刺激によって活性化し, 情動反応や呼吸, 心拍, 血圧などの自律神経系の変動を引き起こす。一方, レム睡眠時には不規則で大きな血圧変動が頻繁に生じ, ヒトや動物の扁桃体の活動は上昇する。したがって, 扁桃体がレム睡眠時の自律神経系の変動を引き起こしている可能性がある。本研究ではレム睡眠時の自律神経系の変動における扁桃体の関与を明らかにするため, 血圧変動に着目し, 扁桃体の様々な部位の電気刺激が血圧変動に与える影響と, レム睡眠時の血圧変動に対する扁桃体の電気破壊の影響を調べた。

無麻酔下のラットにおける扁桃体への電気刺激 (10~30 μ A, 50Hz, 3s) により血圧が上昇した。扁桃体中心核ではレム睡眠時に覚醒を伴わない血圧変動がみられた。レム睡眠時には単相性 (single peak) と多相性 (multi peaks) の血圧上昇と, 血圧低下が起こる。扁桃体の両側破壊 (500 μ A, 30s) により, 暗期では血圧上昇 (single peak, multi peaks), 血圧低下の回数は減少し, 明期でも血圧上昇 (multi peaks), 血圧低下の回数が減少した。破壊が両側扁桃体に限局していたとき, この影響は大きかった。

以上の結果から, 扁桃体はレム睡眠時の血圧変動に重要な役割を果たすことが示唆された。

O-13. 睡眠・覚醒およびレム睡眠中の自律神経系変動に対する扁桃体亜核の役割

○西村邦広, 春山直人, 青柳俊史, 小山純正 (福島大・共生システム理工・神経生理)

扁桃体は情動や情動に伴う生理応答に重要な役割を果たす。レム睡眠中には血圧や呼吸などの自律神経系の攪乱が起こる。また, レム睡眠中には, ヒトや動物において扁桃体の活動が上昇する。したがって, 扁桃体はレム睡眠中の自律神経系変動において重要な働きを担うと考えられる。しかし, 扁桃体がレム睡眠時の自律神経系変動を引き起こす詳細な神経機構は未だ明らかになっていない。

そこで本研究では, 無麻酔, 頭部固定ラットから, 睡眠・覚醒サイクルにおける扁桃体各部位のニューロン活動と自律神経系の活動の指標として血圧との相関を調べた。扁桃体から記録されたニューロンのうちの47% (52/108) がレム睡眠中に高い活動を示した。脳幹のレム睡眠中枢ニューロンはレム睡眠に先行し, 持続的に発火するが, 扁桃体ニューロンはレム睡眠には先行せず, 一過性の発火を示した。また, 血圧との相関を調べたニューロンのうち36% (18/50) がレム睡眠中の血圧変動に同期し, そのうち61%

(11/18) が血圧変動に先行して活動していた。特に扁桃体中心核, 基底外側核, 外側核から記録されたニューロンにそれらの傾向が高かった。扁桃体はレム睡眠の発現よりも, レム睡眠中に起こる血圧変動に関与し, 特に扁桃体中心核, 基底外側核, 外側核が深く関係することが分かった。

O-14. 光遺伝学的手法を用いたウイスキーパレルシステムにおける触覚の識別学習

○阿部健太^{1,2}, 本城達也¹, 横山超一¹, 石塚 徹¹, 八尾 寛¹ (¹東北大・生命科学・脳機能解析, ²東北大・国際高等研究教育機構)

光感受性タンパク質 (ChR2) を神経細胞に発現させて活動を操作する光遺伝学は, 神経科学の様々な研究に活用されている技術である。私たちはこの技術を触覚研究の実験モデルとして古くから使われているウイスキーパレルシステムに導入することで, 新規の触覚研究モデルを確立することに成功した。当研究室で開発した ChR2 トランスジェニックラットはウイスキーパレルの触覚受容器に ChR2 が発現しており, 光を触覚として認識することができる。本研究ではこのラットを用いて光刺激による触覚のオペラント条件付けが成立するかを検証した。覚醒状態で頭部固定を行ったラットのウイスキーパレルに光刺激を行い, 同時に報酬 (水) を与えるトレーニングを行った。次に再び光刺激を行いラットが水を飲む行動 (lick) を起こすかを確認したところ, 光刺激と同期した lick を高い確率で検出した。本研究は覚醒状態のラットの触覚受容器への光刺激によって引き起こされる触覚の学習に初めて成功したものである。光刺激を用いることにより, 複雑なパターンの学習が可能かテストできるだろう。本研究の展開により, いまだ不明な点が多い触覚パターンの神経生理学的メカニズムの解明に貢献することが期待できる。

O-15. 背内側線条体アセチルコリン神経伝達による行動柔軟性の制御

○西澤佳代¹, 岡田佳奈², 深堀良二¹, 小林和人¹ (¹福島医大・医・生体機能, ²広大・総合・行動科学)

動物は環境の変化に応じて, 行動を柔軟に切り替えることが必要とされる。このような行動の切り替え機能 (行動柔軟性) において, 高次元の認知機能を司る中枢とされる前頭前野皮質と大脳基底核の中心的な構造である線条体の背内側部 (背内側線条体) を結ぶ神経回路が重要であることが報告されている。この機能の重度な障害は, 統合失調症などの精神・神経疾患の病態として認められるが, 脳内における制御機構の詳細について十分な研究が進んでいない。本研究では, イムノトキシン細胞標的法を用いて, 線

条体コリン作動性介在細胞を選択的に除去して逆転学習課題と消去学習課題を実施し、これらの細胞が行動の柔軟性において果たす役割を検討した。その結果、背内側線条体コリン作動性介在神経細胞の除去は、原学習である空間課題には影響しなかったが、逆転学習と消去学習を亢進させた。さらにこの亢進は、線条体に局在するムスカリン性受容体4型を媒介していることを発見した。以上の結果から、背内側線条体コリン作動性介在神経細胞による行動柔軟性の制御は、ムスカリン性受容体4型を介していることが明らかとなった。

O-16. 異種感覚統合における神経活動正規化機構

○大城朝一（東北大・医，ロチェスター大）

神経細胞は活動のゲインをコントロールすることで刺激に関する情報を最大限に表現しようとする。この現象をうまく説明するモデルとして神経活動正規化 (Divisive normalization) モデルが提唱された。視覚と聴覚といった異なるモダリティー間の情報の統合 (異種感覚統合, Multisensory integration) における神経活動もこのモデルによってうまく説明できることがシミュレーション等によって示されている。本研究では視覚と平衡感覚の統合が行われるマカクザル MSTd 領域から神経活動記録を行い、神経活動正規化モデルが予測する特異的な異種感覚統合現象の検証を目的として以下のような実験を行った。3次元空間の任意の方向に被験者を移動させることのできるモーションプラットフォームにマカクザルを固定することで並進運動刺激を与え、さらにサル目の前に固定したモニターにオプティックフロー刺激を提示することで視覚刺激を与えた。モデルが予測したとおり、どちらかの刺激しか与えない単一モダリティー条件だと興奮性の神経活動が見られるにも関わらず、両方の刺激を同時に与える異種モダリティー条件では神経活動が抑制される例が MSTd 領域に多く見られた。この現象は正規化モデル以外のモデルでは説明が困難であることから、この結果は神経活動正規化機構が異種感覚統合においても機能しているという主張を強く支持する。

P-01. 運動学習がノンレム睡眠時に観測される徐波に及ぼす影響

○安齋友花，辛島彰洋，片山統裕，中尾光之（東北大院・情報科学・バイオモデリング論）

睡眠は、古くは心身の休息にのみ関わっているとされていたが、最近では記憶の固定に重要な役割を果たしていると考えられている。本研究では、学習の生理的な実体とされる神経回路の変化と睡眠との関わりを調べるため、大脳

皮質運動野に変化を引き起こす運動学習が、学習後の睡眠時脳波に影響するかどうかを調べた。我々は8匹の Long-Evans ラットに対して、利き手で物を掴む動作を習得させる運動学習 (リーチングタスク) を、明期が開始する時刻において5日間にわたって毎日実施した。そして、学習直後から翌日の学習開始直前までの約22時間において利き手および利き手と対側の運動野脳波を計測した。

その結果、運動学習直後2時間のノンレム睡眠期において、利き手側を支配している運動野の徐波の振幅が、対側の運動野と比較し増大する傾向を見出した。また、その後から翌日の学習開始時刻直前までの時間においては両側の運動野の左右差は学習前と比較し差がない状態に戻った。この傾向は学習1日目において特に顕著に見られた。徐波は神経回路の結合強度のマーカーの一つとされていることから本結果は、運動野の結合強度が学習後に一時的に増してその後の睡眠により元に戻っていることを示唆している。

P-02. 睡眠一覚醒状態に依存した神経可塑性のメカニズム

○辛島彰洋，中村有孝，片山統裕，中尾光之（東北大院・情報科学・バイオモデリング論）

睡眠には様々な機能があるが、近年注目されているのは Tononi らが提唱しているシナプスホメオスタシスである。シナプスホメオスタシスとは、シナプス伝達効率が増強時には増強する一方で、睡眠時には減弱することで脳全体の結合強度が一定の範囲に維持されていくというものである。中枢神経系に広く分布している AMPA 型グルタミン酸受容体 (以下 AMPA 受容体) の量の増減がこの変動の要因の一つであることが、我々も含めたいくつかのグループから報告されている (昨年度に報告済)。本発表では、覚醒時に見られる AMPA 受容体の増加がどのようなメカニズムによって生じるのかを調べた *in vitro* 動物実験の結果を報告する。実験では、ヒゲの切断により片側の体性感覚入力に暗期 (主に覚醒状態) 12 時間にわたって遮断した後、スライス標本作製した。実験では、シナプス結合が増強した直後にのみ存在する Ca^{2+} を透過する AMPA 受容体がパレル野に存在するかどうかを調べた。その結果、 Ca^{2+} 透過型 AMPA 受容体が、感覚入力が残っている体性感覚野には存在するが、遮断された感覚野には存在しないことを見出した。この結果は、覚醒時には使用依存的に結合が増強することを示唆しており、睡眠一覚醒状態に依存した神経可塑性の理解の手がかりが得られたと言える。

P-03. 随意的舌運動時の大脳体性感覚ニューロンの発火パターン解析

○戸田孝史, 工藤忠明 (東北大院・歯・口腔生理)

巧緻的舌運動制御機構の一端を捉えるべく、一次体性感覚野の後方領域から、単一ニューロン活動を記録しスパイク列の時間構造解析を行った。連続的舌運動課題に習熟した *Macaca fuscata* 雌1頭を用い、課題遂行中の神経活動を記録した。Spike 2 (CED, UK) でスパイク弁別を行った後、Scilab (Scilab Consortium/Digiteo) で発火パターン (regular, random, bursty) を解析した。隣接するスパイク間隔 (ISI) 同士の相関を Shinomoto ら (2009) により考案された局所変動係数の改良型 (LvR) で評価し、ブートストラップ標本 (試行: 1000 回) から平均と信頼区間を求めた。解析した 34 個のユニットのうち、19 個は口唇や舌に受容野をもっていたが、残り 15 個は受容野不明であった。これらのニューロンについて運動課題を 21~222 回行わせ、167~5157 個の ISI を集めた。LvR は 0.34 (regular) から 2.40 (bursty) まで広い範囲に分布しており、すでに報告のある領野の中では、一次視覚野に類似の分布パターンであった。実験動物はナショナルバイオリソースプロジェクトから提供を受けた。

P-04. 多機能性アニオントランスポーター SLC26 ファミリーは細胞障害性アニオン輸送の候補である

○E.S. Prasad^{1,2}, 板垣裕¹, 小祝萌¹, 小林大輔¹, 挾間章博¹ (¹福島医大・医・細胞統合生理, ²Mattaram Univ.)

人体に有害なアニオンは学術的にも産業的にも関心が高いが、体内での輸送経路について理解は十分ではない。SLC26 ファミリーのアニオントランスポーターは様々なアニオン (Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^-) 輸送に関与していることが知られているが、他の細胞障害性アニオンの輸送に関わっている可能性が考えられる。本研究では、ヒト培養細胞における SLC26 ファミリーの遺伝子発現及び Na_3VO_4 , Na_2CrO_4 毒性について評価した。SLC26 ファミリー遺伝子 (SLC26A1-SLC26A11) の発現パターンは細胞種 (HeLa, HEK293, CACO-2, SH-SY5Y) によって異なっていた。また、各培養細胞を各濃度 (1-300 μM) の Na_3VO_4 , Na_2CrO_4 を含む培地で 3 日間培養し、用量反応曲線を比較した結果、細胞種によって耐性に違いが見られた。SLC26 ファミリー遺伝子の発現パターンと細胞障害性アニオンの耐性の違いより、これら障害性イオンの輸送に関与していると思われる遺伝子が明らかになったので、これを報告する。

P-05. 種々の細胞における Cs^+ イオンが細胞増殖に及ぼす影響の比較

○垣野内景, 小林大輔, 挾間章博 (福島医大・医・細胞統合生理)

東日本大震災に伴う福島第一原子力発電所事故以来、放射性元素としての cesium (Cs) は多く話題に上るようになった。しかしながら、 Cs^+ 自体の細胞内での挙動はあまり多く知られていない。

従来より Cs^+ は同じアルカリ金属イオンである K^+ に似た挙動を示し、 K^+ channel 阻害効果があることが知られていた。 K^+ channel が腫瘍細胞の増殖に及ぼす影響に着目し、ヒト子宮頸癌由来細胞である HeLa 細胞を用いて Cs^+ が細胞増殖抑制効果を示すことを明らかにしてきた。

今回、我々はラット (*Rattus norvegicus*) から気管を摘出し、protease type XIV を用いて処理することで細胞を分離することで、ラット気管由来の線維芽細胞 (RAWF) の初代培養系を確立した。

HeLa の細胞増殖抑制効果における Cs^+ の EC_{50} 値は $4 \pm 1 \text{mM}$ であったのに対し、RAWF の細胞増殖抑制効果における Cs^+ の EC_{50} 値は 26mM であり、 Cs^+ の正常細胞に対する細胞増殖抑制効果は癌由来細胞である HeLa に対する抑制効果に比べ弱かった。

今回はこの他にも B16 等数種類の培養細胞に対する細胞増殖抑制効果についても検討したので報告する。

P-06. 細胞容積調節機構の再評価—低浸透圧ショック時の細胞膨張は Na^+ が関与する

○大槻瑠志亜, 小林大輔, 挾間章博 (福島医大・医・細胞統合生理)

動物細胞の容積は一定の大きさに調節されており、一過性の異常浸透圧環境下に曝され細胞容積の収縮・膨張が強いられたとしても、その後速やかに元の容積へと戻る。低浸透圧性膨張後の細胞容積調節は Regulatory Volume Decrease (RVD) と呼ばれ、これまで多くの研究がなされてきた。しかしながら、低浸透圧負荷直後の細胞膨張におけるイオンの役割については、明らかではない。本研究では、細胞外 Na^+ の細胞膨張に対する影響を調べることを目的とする。

対数増殖期の HeLa 細胞を HBS (150mM NaCl, 10mM Hepes-NMDG (pH 7.4), 5mM KCl, 1mM CaCl₂, 1mM MgCl₂) に懸濁し、フローサイトメトリーの直方散乱チャネル (FSC) の値を用いて細胞容積変化を測定した。低浸透圧負荷前の細胞懸濁液 (320mOsm/kg H₂O) に超純水を加えることで低浸透圧負荷を行い、負荷後の細胞懸濁液浸透圧は負荷前の 60% (190mOsm/kg H₂O) であった。

低浸透圧負荷をかけることで細胞容積は1.6倍に増加したが、Na⁺チャネル阻害剤の存在、あるいは細胞懸濁液からNa⁺を除くとこの細胞容積増加が抑制された。

P-07. ゲラニルゲラニルアセトンの細胞傷害効果における温度依存性

○関 光里, 小林大輔, 三宅将生, 挾間章博 (福島医大・医・細胞統合生理)

ゲラニルゲラニルアセトン (GGA) は、胃潰瘍などの胃粘膜傷害に対する治療薬として長く使用されてきた。また、近年、GGAがHSP誘導を介して様々なストレスに対する細胞防御能を持つことが注目されている。一方、GGA自体が細胞傷害を引き起こすという報告もありGGAの効果については議論がある。我々は、GGAがHeLa細胞に対して、濃度依存的・時間依存的に傷害を与えることを示してきた。今回、GGAがHSP70等のヒートショックタンパク質の誘導を介して細胞保護効果があるという報告があることから、HeLa細胞に熱ストレスを加えた場合のGGAの効果を確認した。HeLa細胞を42℃で24時間培養したところ、細胞の生存率はGGA非存在下の72±32%に比べて、GGA 100μM存在下では52±5.8%と著明に低下することが観察された。また、GGA 100μMでは、37℃、24時間培養条件では、生存率の低下が僅かであることから、熱ストレスによる細胞傷害をGGAがむしろ促進することが明らかとなった。このことから、GGAによるHSP70誘導はHeLa細胞における熱ストレスによる細胞傷害に対しては保護的に作用していないことが示唆された。

P-08. 一次嗅覚皮質での情報処理：超高磁場MRIを用いたfMRIでの解析

○深見秀之¹, 堀江沙和^{1,2}, 樋口さとみ³, 佐々木真理³, 佐原資謹¹ (¹岩手医大・生理, ²医歯薬総合研究所・腫瘍生物学研究部門, ³医歯薬総合研究所・超高磁場MRI診断・病態研究部門)

近年、functional MRI (fMRI) を用いて嗅覚認識に関わる研究が行われてきた。しかし、嗅覚刺激でおこるBOLD信号変化は他の感覚刺激に比べ小さいため嗅覚認識について不明な点が多い。超高磁場MRIを用いたfMRIではBOLD信号の増大および高解像度で全脳がスキャンできるメリットがある。そのため、嗅覚認識についてこれまでより詳細な解析が可能となる。今研究で我々は、7 Tesla MRIを用いたfMRIを行い匂い刺激により賦活する領域の探索を行った。刺激は3種類の匂い(ペパーミント、コーヒー、汗の匂い)および無臭の空気をパフ刺激で与え行った。梨状皮質、扁桃核、海馬、眼窩前頭皮質、島皮質、視

床にROIを設定し解析を行ったところすべての領域で賦活が見られた。一次嗅覚皮質である梨状皮質ではその前方部に匂い刺激による賦活が、後方部では空気および匂い刺激による賦活が見られた。これらの結果から、鼻腔に入った匂い物質の情報は梨状皮質の前方で処理され、空気の流れによる機械刺激の情報は梨状皮質の後方部で処理されていることが示唆された。

P-09. 唾液腺におけるV-ATPaseの役割

○堀江沙和^{1,2}, 深見秀之², 後藤(松元)奈緒美³, 中西(松井)真弓³, 佐原資謹² (¹岩手医大・医歯薬総合研究所・腫瘍生物学研究部門, ²岩手医大・生理・病態生理, ³岩手医大・薬・機能生化学)

V-ATPaseは、リソソーム、シナプス小胞などの細胞内膜に存在し、オルガネラの酸性化に関与するものと、細胞膜に存在し、細胞外の酸性化に関与するものが知られている。これまで各大唾液腺の導管にV-ATPaseが局在している事を報告してきた。本研究では、V-ATPaseのB2サブユニットの細胞内局在を超解像度顕微鏡および電子顕微鏡を用いて細胞内局在を解析した。耳下腺では、線条部導管の導管細胞頂部および細胞質底部に局在が見られた。さらに、V-ATPaseの機能を調べる為に、a3サブユニットのノックアウト(a3-KO)マウスを用いた解析を行った。a3-KOマウスは唾液の分泌量が非常に少なく、唾液のpHが原唾液に近くなっていた。さらにワイルドタイプマウスに比べ、pilocarpine刺激による唾液分泌量が、KOマウスで有意に減少していたが、isoproterenol刺激時にはほとんど差が認められなかった。

これらの結果より、唾液腺におけるV-ATPaseは、導管頂部と細胞質基底側に局在し、未知の機構により、唾液のpH調整や吸収に関与していると考えられる。

P-10. 行動戦術の探索における前頭前野及び皮質運動野の役割

○笹川瑛貴¹, 駒木根陽一郎¹, 虫明 元², 松坂義哉² (¹東北大・医, ²東北大院・医・生体システム生理学)

柔軟で状況適応的な行動の発現には様々な行動戦術(行動選択のプロトコル)の使い分けを必要とするが、この行動戦術の使い分けには前頭前野後内側部(pmPFC)が深く関与している(Matsuzaka et al Proc Natl Acad Sci USA, 2012)。しかし、行動戦術の選択に関して前頭葉各皮質領域間の機能局在は明らかではない。本研究ではニホンザルに複数の選択肢の中から適切な行動戦術を選択させ、その過程における前頭葉皮質領域の関与を調べた。実験では、探索の手がかりとなる指示信号を逐次与えるが、各信号は複

数の行動戦術の選択肢と関連付けられており、サルはその組み合わせによって次第に選択肢を絞り込む。この課題を遂行中のサルの pmPFC、背外側前頭前野(DLPFC)、前補足運動野 (pre-SMA)、補足運動野 (SMA) よりニューロン活動を記録解析したところ、pmPFC のニューロンは最終的に決定した戦術に対して選択的な活動を示した。対照的に DLPFC、pre-SMA、SMA には戦術に選択的な活動を示

すニューロンは少なかった。更に neuron dropping analysis (Wessberg-J et al Nature, 2000) と呼ばれる方法によりニューロン集団の持つ戦術の検出力を定量解析した結果、pmPFC は他の皮質領野に比べて高い検出力を示し、この領域が行動戦術の決定に重要な役割を果たしている事が明らかになった。