

1. マイクログリア機能形態の日内変動とノルアドレナリン

森 菜都子¹, EM チョードリ¹, 矢野 元¹, 前山一隆², 田中潤也¹ (¹愛媛大学大学院医学系研究科分子細胞生理学講座, ²同 薬理学講座)

脳の常在性マクロファージであるマイクログリアは、正常成熟脳大脳皮質において、その形態変化が日内変動する。すなわち、入眠時にマイクログリアは大きな形態となり、覚醒時には小さくなる。更に入眠時 AM7 の大脳皮質では、マイクログリアのシナプス貪食に関与する MFG-E8 や起炎症性転写因子の IRF1, ケモカイン受容体の CX3CR1, マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 等の発現を増加させ、マイクログリアのシナプス貪食が観察された。飼育室照明の点灯時刻を 6 時間ずらすと、これらのマイクログリア活性化関連因子の発現変動も共に変化した。これは、マイクログリアの時計遺伝子が日内変動をもたらしているのではないことを示唆している。我々はこれまでにマイクログリアにアドレナリン受容体が発現しており、ノルアドレナリンがマイクログリア機能に抑制的影響を与えることを示してきた。そこで、今回我々は青斑核ノルアドレナリン神経細胞の日内変動がマイクログリアの機能形態に影響を与えるとの作業仮説を立て、その正否について検討した。

大脳皮質のノルアドレナリンを HPLC により定量したところ、PM5 は AM9 に比べ、約 2 倍の含量であった。ドロキシドパ (L-threo-DOPS) は生体内で、ノルアドレナリンに変換される。AM7 にドロキシドパを経口投与すると、大脳皮質ノルアドレナリン含量が 2 倍に増加していた。しかし、IRF-1 や MMP2, MFG-E8 などの mRNA 発現に有意な差はみられなかった。この結果は、ノルアドレナリンの日内変動では、マイクログリアの機能形態の日内変動を説明することは困難であることを示唆する。今後は、同じく日内変動をし、H3 受容体を介してマイクログリアの活性化を抑制するヒスタミンに着目した研究などをすすめていきたい。(利益相反 なし)

2. 催眠鎮静薬ブロムワレリル尿素の抗炎症作用に基づく種々の疾患モデルでの有効性とそのメカニズム

大竹郁斗, 川崎 俊, 阿部尚樹, 檜垣ひろみ, 宮本圭介, EM チョードリ, 矢野 元, 田中潤也 (愛媛大学大学院医学系研究科分子細胞生理学講座)

最近我々は、古典的催眠鎮静薬であるブロムワレリル尿素 (BU) に培養マクロファージ・マイクログリアの起炎症性活性化に対し顕著な抑制作用のあること、盲腸結紮穿孔によるラット敗血症モデル、気管内大腸菌注入による肺傷害モデル、針刺し脳損傷モデル、6-ヒドロキシドーパミン

線条体注入によるラットパーキンソン病モデル、マウスアトピー性皮膚炎モデル等に BU を投与すると、めざましい治療効果を発揮することを見いだした。しかしながら、BU の抗炎症作用の裏付けとなる分子メカニズムはなお不明な点が多い。

本研究では、BU の抗炎症効果のメカニズム解明を目指し、マウスマイクログリア細胞株 BV2 をリポポリサッカライド (LPS) 刺激した際に見られる NO 産生に対する、BU の抑制効果の発現を詳細に検討した。BU は NO 産生を、デキサメサゾン、JAK1 阻害剤、p38MAPK 阻害剤、MSK1 阻害剤よりも強力に抑制した。BU は LPS が誘発する I κ B の分解や NF κ B の核内移行を抑制せず、p65 分子の標的プロモーター配列への結合も阻害しなかった。一方で、p38MAPK の基質である MSK1 や MK2 のリン酸化は抑制するため、BU はリン酸化された p38MAPK の活性抑制に関与している可能性がある。BV2 の NO 産生は、JAK1 阻害剤を p38MAPK あるいは MSK1 阻害剤と混合することでより強く抑制されたが、その抑制効果は BU に劣っていた。これらの結果は、BU は多数の起炎症性シグナルを抑制することで顕著な抗炎症効果を発揮することを示唆している。(利益相反 なし)

3. 有酸素運動による脳梗塞発症後の記憶障害防止効果の検証

水見直之¹, 高橋 尚², 岡部直彦¹, 丸山恵美¹, 林 範人¹, 城本高志¹, 成田和彦¹, 古我知成², 宮本 修¹ (¹川崎医科大学生理学 2, ²川崎医療福祉大学医療技術学部リハビリテーション学科)

軽度な脳梗塞発症後に記憶障害を生じることがあるが、発症前の習慣的な有酸素運動がこれを防止する効果があることを動物モデルにおいて実証し、その主たるメカニズムが運動による脳由来神経栄養因子 (BDNF) の海馬内濃度の上昇によることを示すことを目的とした。

トレッドミルで 7 日間運動 (15m/min \times 30min/day) を課したラット (Ex 群) に対し、運動終了後に脳梗塞を発症させた。一方で運動を負荷しないラット (NE 群) にも同様に脳梗塞を発症させた。脳梗塞の作成には、内頸動脈経路でマイクロスフェア (MS) を注入し脳血管塞栓を生じさせる方法を用いた。MS 注入後は両群とも運動を行わず、MS 注入 8 日後にモリス水迷路試験にて空間記憶能を測定した。さらに、運動前、運動開始 4, 7 日後および MS 注入 4, 7 日後において摘出した海馬組織の抽出液中の BDNF 濃度を ELISA 法にて測定した。

MS 注入ラットの空間記憶能は疑手術群と比較して有意に低下したが、Ex 群は NE 群に比べて有意に空間記憶能の

低下が抑えられた。Ex 群の海馬 BDNF 濃度は 7 日間の運動後 (MS 注入直前) において NE 群と比較して有意に高く、これが梗塞発症後の海馬ニューロンの保護に寄与したものと考察される。

本結果は、日常の運動習慣が海馬の BDNF 濃度を高く維持し、脳梗塞発症後のニューロンを保護し記憶障害を軽減する効果があることを示唆している。(利益相反 なし)

4. Tunicamycin impairs olfactory learning and synaptic plasticity in the olfactory bulb via presynaptic and postsynaptic mechanisms

J. Tong¹, F. Okutan², Y. Murata¹, M. Taniguchi¹, T. Namba¹, M. Yamaguchi¹, H. Kaba¹ (¹Department of Physiology, ²Department of Occupational Health, Kochi Medical School)

Tunicamycin (TM) induces endoplasmic reticulum (ER) stress and inhibits N-glycosylation in cells. ER stress is associated with neuronal death in neurodegenerative disorders, such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease, and most patients complain of the impairment of olfactory recognition. Here we examined the effects of TM on aversive olfactory learning and the underlying synaptic plasticity in the main olfactory bulb (MOB), the first relay of the olfactory information processing. Behavioral experiments demonstrated that the intrabulbar infusion of TM disabled aversive olfactory learning without affecting short-term memory. Histological analyses revealed that TM infusion upregulated C/EBP homologous protein, a marker of ER stress, in the mitral and granule cell layers of MOB. Electrophysiological data indicated that TM inhibited tetanus-induced long-term potentiation (LTP) at the dendrodendritic excitatory synapse from mitral to granule cells. A low dose of TM (250nM) abolished the late phase of LTP, and a high dose (1μM) inhibited the early and late phases of LTP. Further, high-dose, but not low-dose, TM reduced the paired-pulse facilitation ratio, suggesting that the inhibitory effects of TM on LTP are partially mediated through the presynaptic machinery. Thus, our results support the hypothesis that TM-induced ER stress impairs olfactory learning by inhibiting synaptic plasticity via presynaptic and postsynaptic mechanisms in MOB. (COI: none)

5. マウス絶食時の餌の探索行動と昇圧応答：中枢性バゾプレッシン V1a 受容体の役割

住吉愛里^{1,3}, 増木静江^{1,2}, 紫藤 治³, 能勢 博^{1,2} (¹信州大学大学院医学系研究科スポーツ医科学講座, ²信州大学バイオメディカル研究所, ³鳥根大学医学部環境生理学講座)

【背景】我々は、マウスで大脳皮質活動上昇に伴う昇圧反応の後、自発運動が起きること、その反応に中枢性 V1a 受容体が関与することを報告した。しかし、動機付け行動との関連は不明である。

【目的】絶食させ食欲という動機付けを高めた時、大脳皮質活動上昇後の昇圧反応が亢進し、餌の探索行動が亢進するか、その反応に循環中枢 (孤束核) のバゾプレッシン V1a 受容体が関与するか、を検証した。

【方法】自由摂食、絶食、回復日の連続 3 日間、V1a 受容体遺伝子欠損マウス (KO, n=10)、さらに正常マウスの孤束核に V1a 受容体阻害剤を局所投与したマウス (BLK, n=10) において活動量、大脳皮質活動 (脳波 θ 波と δ 波のパワー比)、血圧反射 (心拍数/血圧変化)、行動パターン (DVC) を同時連続測定し、それらの反応を対照マウス (CNT, n=9) と比較した。

【結果】CNT において、絶食日には自由摂食日に比べ、大脳皮質活動上昇に対する血圧反射抑制、血圧上昇、餌の探索行動といった一連の反応が亢進した (すべて P<0.05)。しかし、回復日には自由摂食日のレベルに戻った (P>0.32)。一方、KO では絶食日に大脳皮質活動上昇後の一連の反応の亢進が起きなかった (すべて P>0.28)。また BLK も、KO とほぼ同様の結果を示した (P>0.11)。

【結論】大脳皮質活動上昇に伴う昇圧反応は、絶食時の餌の探索行動に重要なこと、この際の昇圧反応に孤束核の V1a 受容体が関与することが示唆された。(利益相反 なし)

6. Zinc finger protein 521 欠損マウスの行動と脳モノアミンの解析

大久保信孝¹, 平田香穂里¹, 青戸 守¹, 安川正貴², 満田憲昭¹ (¹愛媛大学大学院医学系研究科循環生理学, ²同血液・免疫・感染症内科学)

【背景】Zinc finger protein 521 (*Zfp521*) は ES 細胞から神経前駆細胞への分化促進因子として知られているが、生体脳での働きはほとんどわかっていない。そこで、我々は *Zfp521* 欠損マウスを作製し、その行動を解析した。その結果、本マウスでは多動および不安行動の減弱、プレパルス抑制の減少などの行動異常が見られた。行動異常と脳内モノアミン量とは密接に関わる事から、*Zfp521* 欠損マウス脳内モノアミン量を測定し、その合成系についても調べた。

【結果】脳を前頭前皮質、線条体、海馬、中脳、小脳に分

離し、それぞれの部位におけるドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニンの濃度を ELISA 法にて計測した。その結果、Zfp521 欠損マウスのドーパミン量は前頭前皮質、線条体、海馬、中脳のそれぞれにおいて減少、ノルアドレナリン量はそれぞれにおいて増加していた。セロトニン量については、脳のどの部位においても優位な差が見られなかった。次に、モノアミン合成に関与する因子の発現量を、リアルタイム PCR 法を用いて比較した。その結果、ドーパミンからノルアドレナリンを合成する酵素であるドーパミン-β-ヒドロキシラーゼ (DBH) の発現が有意に増加していた。

[結論] ZFP521 は DBH 発現に抑制的に関与することが示唆された。Zfp521 の欠損は DBH の増加を介して、脳内ドーパミンの減少及びノルアドレナリンの増加、さらに個体の行動異常を引き起こしている可能性が示唆された。(利益相反 なし)

7. 正常ウイスターラットを用いたがんの遠隔転移モデルの作成：腫瘍免疫と遠隔転移との関わり

馬越陽大, 宇都宮 諒, 大角翔太, EM チョードリ, 矢野 元, 田 潤也 (愛媛大学大学院医学系研究科分子細胞生理学講座)

がんの遠隔転移研究には免疫不全マウスが使用されることが多いが、免疫系の影響を排除することになり十分なモデルとは言えない。また、正常免疫動物を使った系では、血管内にがん細胞を注入してその播種を見ることがしばしばなされる。しかし、これでは、固形がんの原発巣からがん細胞が遊離し、血管内に侵入する段階が調べられない。我々はこれらの問題を解決するため、正常ウイスターラットを用いて、原発巣からがん細胞が遊離して遠隔転移するモデルの作成に取り組んだ。免疫不全状態にある生後 24 時間以内のラット新生仔にラット C6 グリオーマ細胞を、50 万個背部皮下に移植したところ、生後 35 日頃から死亡するラットが現れ始めた。死亡ラットの解剖を行うと、肺内部に多発性の腫瘍形成がみられた。これらの結果は、C6 細胞の背部皮下への移植という簡単な手技で、がん遠隔転移モデルを作成できることを示している。

この転移モデルを用いて、肺転移巣と原発巣組織の mRNA 発現を調べたところ、転移巣では CXCL9 や CCL2 などのケモカイン、T 細胞マーカーの発現が大きく低下していた。また、免疫抑制分子として知られる CD200L 分子とそのスプライシングバリエーションであり一次構造の小さい CD200S をそれぞれ強制発現させた C6 グリオーマ細胞を用いて、がん転移モデルを作成したところ、L 腫瘍は S 腫瘍に比べ遠隔転移の率や重症度が有意に高かった。次世代

シーケンサーによる検討では、L 腫瘍ではケモカインの発現が低く、T 細胞の浸潤が少ないことが示唆された。また、同様の結果が、ヒト肝細胞がん組織と大腸がんの肝転移巣を比較した研究からも得られた。これらの結果は、がんの遠隔転移は免疫系により抑制されていること、一旦遠隔転移すると、免疫抑制が起こり、予後の急速な悪化につながることを示している。現在、遠隔転移すると何故腫瘍免疫の抑制につながるのか、そのメカニズム解明を目指して研究をすすめている。(利益相反 なし)

8. カフェインによる鼻炎抑制作用のメカニズムについて

辻本まどか, 佐伯綾希子, 北村弥生, 白神俊幸, 林 泰資 (ノートルダム清心女子大学人間生活学部食品栄養学科)

コーヒーや緑茶の成分であるカフェインは抗アレルギー作用を有し、この作用はマスト細胞からのケミカルメディエーター遊離抑制作用に基づくことが報告されている。最近我々は、コーヒー成分の機能性を研究する中で、カフェインが卵白アルブミンによって感作した鼻炎モデルマウスのアレルギー症状を抑制することを観察した。カフェインは、マスト細胞への作用のほかに幾つかの薬理作用を有することから、本研究ではカフェインの鼻炎抑制作用について、新たな作用機序を探索することを試みた。このために、ヒスタミン点鼻による鼻炎モデルマウスを作製し、中枢興奮薬としてのカフェインの作用に着目して検討した。カフェインの腹腔内投与により、ヒスタミン点鼻によって誘発される鼻かきとくしゃみ回数は減少した。しかし、カフェインを直接点鼻した場合は効果はみられなかった。一方、カフェイン投与は血漿中のコルチコステロンおよびアドレナリン・ノルアドレナリン濃度を増加させた。これらのホルモンは、抗アレルギー作用を示すことから、カフェインの鼻炎抑制作用にはマスト細胞への作用のほかに、これらのストレス関連ホルモンの関与が考えられる。(利益相反なし)

9. 新規に発見したシグナル分子 paxillin の癌細胞の遊走・浸潤における重要性

岡本嵩史¹, 松永一真², 横林志織³, 張 影⁴, 小林 誠⁴ (¹山口大学医学部医学科 4 年生, ²山口大学医学部医学科 5 年生, ³山口大学医学部保健学科 4 年生, ⁴山口大学大学院医学系研究科分子細胞生理学講座)

悪性腫瘍は『転移』と『浸潤』を引き起こす致命的難病で、我が国の死因の第 1 位である。『がん細胞を除く、殺す』のではなく、がん細胞の転移・浸潤を止めることにより、

あたかも良性腫瘍のようになった『がんと共存する』という新しい治療アプローチを目指して、本研究を開始した。

細胞遊走において、ストレスファイバーの形成は重要である。当研究室では、分子生物学的アプローチと質量分析により、このストレスファイバーと細胞遊走の新規シグナル分子として Src ファミリーに属する非受容体型チロシンキナーゼの一つである Fyn、およびその下流分子として paxillin を発見した。さらに、高転移性のヒト乳がん細胞 (以下 MDA-MB-231) の TGF- β 1 による遊走刺激時、形成されたストレスファイバーの両末端に活性型 Fyn と paxillin が共局在し、活性型 Fyn と paxillin の N 末端が直接結合することを見出したが、この両分子の直接結合の意義と重要性は不明なままであった。

以上より、本研究では、paxillin の N 末端に存在する、どのチロシン残基のリン酸化が MDA-MB-231 の遊走に重要な役割を果たしているのかについて検討した。MDA-MB-231 を TGF- β 1 で遊走刺激をすると、paxillin の N 末端のチロシンの中で、4つのリン酸化部位 (Y31, Y88, Y118, Y181) が観察された。Y31, Y88 がリン酸化された paxillin は、ストレスファイバーの両末端に局在し、Y118, Y181 がリン酸化された paxillin は細胞質に散在していた。さらに、TGF- β 1 で刺激した時間経過 (5分~60分) と共に、Y31 と Y88 の両部位のリン酸化には著明に増加傾向が見られた。これらから、両部位のチロシンリン酸化が癌細胞遊走に重要ではないかと考え、現在、MDA-MB-231 の遊走、浸潤に関わるチロシンリン酸化部位を同定する実験を行っているところである。(利益相反 なし)

10. 視床下部後部から視床下部室傍核への中樞経路は運動によって活性化される

花井映里, 木場智史, 渡邊達生 (鳥取大学医学部生理学講座統合生理学分野)

運動を発現するために脳高位から生じる神経シグナル (セントラルコマンド) は、交感神経も刺激する。セントラルコマンドがどのような中樞経路を経て交感神経に至るかは不明である。交感神経プレモータニューロンを含有する視床下部にある室傍核 (paraventricular nucleus: PVN) は、運動によって活性化される [花井ら (第 93 回日本生理学会大会で発表) 等]。本研究では免疫染色を組み合わせた神経トレース実験から、随意運動によって活性化し、かつ PVN に直接入力する上位脳領域の同定を試みた。

逆行性神経トレーサーであるコレラ毒素 b サブユニット (CTb) をラット PVN に注入した (N=9)。自発的にトレッドミル走行を行うよう、CTb の注入日前後に合計 10~17 日間訓練した。CTb の注入から 10~14 日後、ラットを

45 分間トレッドミル上で走らせた (20m/min, 5 度傾斜, N=5)。また、45 分間トレッドミル上で走らない対照群も作成した (N=4)。

ラット脳に対して免疫染色を行い、CTb 陽性細胞および神経活性の標識である Fos タンパク質の陽性細胞の局在を解析した。その結果、CTb 陽性細胞は中脳中心灰白質や皮質運動野など様々な領域で存在していたが、その中でも特に脳弓下器官、視床下部後部 (posterior hypothalamus: PH) において局在を認めた。このうち運動ラットの脳弓下器官では、対照ラットと同様に、Fos 陽性細胞は皆無であった。そこで PH を主な解析対象とした。まず、運動群と対照群とで Fos 陽性細胞密度を比較したところ、PH の吻側、中間、尾側の三領域において Fos タンパク質の発現が運動によって有意に上昇したことを確認した ($P < 0.05$ vs. 対照群)。ただし運動ラット PH における Fos 陽性細胞密度には、領域間で差がなかった。次に、吻側、中間、尾側の三領域間で CTb 陽性細胞の分布を比較したところ、有意差はないものの、尾側領域において密度が高い傾向にあった (吻側領域と比べて約 1.7 倍)。さらに、運動ラット PH の尾側領域の特に腹側領域において CTb と Fos の共陽性細胞の局在を多く認めた ($P < 0.05$ vs. 対照群)。これらの結果は、特に PH の尾側腹側領域には随意運動によって活性化し、かつ PVN に直接入力する神経細胞が局在することを示す。PH の尾側腹側領域から PVN への投射神経は交感神経を刺激するセントラルコマンドの伝達経路である可能性が考えられる。運動時におけるこの中枢経路の生理機能の解明は今後の課題である。(利益相反 なし)

11. Coagulation factor XIa induces Ca^{2+} response in rat aorta smooth muscle cells via proteinase-activated receptor 1

W. Liu, T. Hashimoto, T. Yamashita, J. Igarashi, K. Hirano (Department of Cardiovascular Physiology, Faculty of Medicine, Kagawa University)

Background and objective: The activated coagulation factor XI (FXIa) is a serine proteinase that plays a key role in the intrinsic coagulation pathway, mainly by cleaving and activating FIX. Other serine proteinases in the coagulation system, such as thrombin, FXa, and FVIIa, are known to exert cellular effects via proteinase-activated receptors (PARs). Here we investigated whether or not FXIa exerts any cellular effect via PARs in vascular smooth muscle cells.

Methods and Main findings: We examined the effects of bovine FXIa (Enzyme Research Laboratories, South Bend,

IN, USA) on the cytosolic Ca^{2+} concentrations ($[Ca^{2+}]_i$) in rat embryo aorta smooth muscle A7r5 cells, by using front-surface fura-2 fluorometry. In the absence of extracellular Ca^{2+} , FXIa, at 300 nM, induced a significant but small transient elevation of $[Ca^{2+}]_i$ ($0.7 \pm 0.2\%$ of that obtained with $50 \mu M$ ionomycin in the presence of extracellular Ca^{2+} , $n=4$). This transient Ca^{2+} response is attributable to Ca^{2+} release from the intracellular store sites. The subsequent replenishment of extracellular Ca^{2+} to 2 mM induced a sustained elevation of $[Ca^{2+}]_i$ ($29.5 \pm 0.9\%$, $n=4$), which is attributable to an influx of the extracellular Ca^{2+} . At 100 nM and lower concentrations, FXIa induced a significant Ca^{2+} influx in a concentration-dependent manner, but without any appreciable Ca^{2+} release. Both Ca^{2+} release and Ca^{2+} influx induced by FXIa were abolished by the pretreatment with $1 \mu M$ E5555, an antagonist of PAR_1 (Axon Medchem, Groningen, The Netherlands). Under the same experimental protocol, thapsigargin, an inhibitor of endoplasmic Ca^{2+} ATPase, concomitantly induced Ca^{2+} release and Ca^{2+} influx, which reached the maximal levels of $43.8 \pm 1.9\%$ and $41.1 \pm 1.8\%$ ($n=4$), respectively, at $1 \mu M$. Thrombin also induced Ca^{2+} release and Ca^{2+} influx, reaching the maximal levels of $5.4 \pm 0.1\%$ and $25.9 \pm 1.7\%$ ($n=4$), respectively, at 1 unit/mL. E5555 abolished the Ca^{2+} response induced by $30 \mu M$ TFLLR-NH₂, a PAR_1 -activating peptide. The evaluation of the relationship between the degree of Ca^{2+} release and that of Ca^{2+} influx indicated that FXIa induced a greater Ca^{2+} influx for a given degree of Ca^{2+} release than that observed with thapsigargin and thrombin.

Conclusions: We provide the first evidence that FXIa induces Ca^{2+} response in vascular smooth muscle cells, mainly via PAR_1 . FXIa preferentially induces Ca^{2+} influx rather than Ca^{2+} release. The underlying mechanism is therefore suggested to differ from that involved in the Ca^{2+} responses induced by thapsigargin and thrombin. (COI: none)

12. Neuroprotective effect of oxytocin on corticosterone-induced apoptosis in mouse hippocampal neurons

H.M. Latt, M. Morino, Y. Koga, H. Matsushita, H. Michiue, T. Nishiki, H. Matsui (Department of Physiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences)

Stress is a physiological and behavioral adaptation to an endogenous or exogenous stimulus that is threatening to the integrity and wellbeing of the organism. In rodents, corticosterone (CORT) is released from the adrenal cortex by stress. Although they help individuals to cope with stress, their overexposure in animals has been implicated in dendritic atrophy and apoptosis of hippocampal neurons. Oxytocin (OT), a neuropeptide produced from the paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus, which sends oxytocin projections throughout the brain including hippocampus. OT is shown to mediate antistress and antidepressant-like effects in mice and rats, and to maintain hippocampal synaptic plasticity and memory during stress. In this study, we explored the effects of OT on CORT-induced apoptosis in primary cultured mouse hippocampal neurons. We showed that CORT induced apoptosis in hippocampal neurons but had no effect on apoptosis in glial cells. In cultured mouse hippocampal neurons, OTR was strongly expressed mainly in the soma of the neurons. OT inhibited CORT-induced apoptosis in primary hippocampal neurons. OT also inhibited phosphorylation of p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK) induced by CORT in primary hippocampal neurons. These results indicate that OT has inhibitory effects on CORT-induced neuronal death in primary hippocampal neurons via inactivation of p38 MAPK. The findings suggest a therapeutic potential of OT in the treatment of stress-related disorders. (COI: none)

13. Social defeat stress 誘発性の社会回避行動は、ストレス直後の高脂肪食摂取により軽減される

大塚愛理¹, 志内哲也^{1,2}, 近久幸子¹, 勢井宏義¹ (¹徳島大学大学院医歯薬学研究部統合生理学分野, ²科学技術振興機構さきがけ)

うつ病の発症には社会心理性のストレスが関与しているといわれており、人間の社会心理ストレスの代表的なモデルである社会敗北性ストレス (Social defeat stress: SDS) を慢性的にマウスに与えると、うつ様行動を示すことが報告されている。慢性的なストレス環境に暴露した時、エネルギー密度の高い食品 (快食) を好むという適応反応が起こる。したがって快食はストレスの緩和作用に関与していると推測される。しかし、快食は摂取し続けると肥満を引き起こす。そこで本研究では、肥満を引き起こさない程度の快食摂取でもストレスの緩和効果が見られるか、SDS モデルを使って調べ、その機構の解明を試みた。

快食には高脂肪食 (HF) を用い、SDS 環境下で快食を与えない Stress 群、HF を自由摂取する HFA 群、SDS 直後 2 時間のみ HF を与える HF 群、と SDS を与えないそれぞれの HF 群の対照群の 6 群を 10 日間飼育し行動テストを行った。

HFA 群は体重増加、および精巣上体脂肪の増加がみられたが、HF 群は肥満を呈さなかった。社会性を評価する Social interaction test において、SDS 誘発性の社会回避行動が HF を摂取した 2 群では観察されなかった。したがって、SDS 環境下の HF 摂食はストレスによる行動変化を緩和・予防することが示唆され、その量は肥満を呈さない程度でも十分であることが分かった。血中のコルチコステロンは SDS に暴露した群で高い傾向が見られた。脳内の遺伝子発現に着目したところ、視床下部における CRH が、HF、HFA 群で高かった。また、扁桃体における TRH もこの 2 群だけで高い傾向があった。これらの結果より、ストレス後の高脂肪食摂取は扁桃体 TRH もしくは視床下部 CRH を活性化させて抗ストレス様効果を引き起こしている可能性が示唆された。(利益相反 なし)

14. バゾプレッシンはオスマウスの副嗅球におけるシナプス可塑性の誘導を促進する

難波利治, 谷口陸男, 山口正洋, 梶 秀人 (高知大学医学部生理学講座)

哺乳動物の多くは多様な個体情報を含んだ化学物質であるフェロモンを用いたケミカルコミュニケーションを行うことで社会性を発揮している。この中には、親子間の愛着行動などフェロモン情報の記憶を必須とする社会行動を含んでいる。これら社会行動の基盤となるフェロモン情報の記憶は、鋤鼻系の最初の中継部位である副嗅球の僧帽細胞から顆粒細胞へのグルタミン酸作動性シナプス伝達が長期にわたり増強する可塑的变化によって支えられている。我々はこの可塑的变化に影響を及ぼす候補物質としてバゾプレッシンに注目した。それは、バゾプレッシンはオスの社会性に関わることが知られている上に、副嗅球内にバゾプレッシン作動性ニューロンとバゾプレッシン受容体が存在する事が報告されているからである。そこで、本研究では、電気生理学的手法を用いてオスマウスの副嗅球シナプス伝達へのバゾプレッシンの役割について検討を行った。その結果、バゾプレッシンはバゾプレッシン受容体 1a を介して、僧帽細胞から顆粒細胞へのグルタミン酸作動性シナプス伝達の可塑的变化の誘導を促進している事を明らかにした。(利益相反 なし)

15. 赤芽球脱核時における細胞周期制御機構の解析

青戸 守, 三田佳夏子, 岩下晶穂, 坪内美菜, 大久保信孝, 満田憲昭 (愛媛大学医学部循環生理学講座)

[背景] エリスロポエチンによる分化誘導を受けた哺乳類の赤芽球は、数回の細胞分裂の後に細胞周期を停止し、脱核を行うことにより網赤血球を生じる。この赤芽球分化の最終過程における細胞周期の停止と脱核を誘導する分子メカニズムについてはよくわかっていない。我々は、マウス胎児肝臓由来初代培養赤芽球を用いた *in vitro* 脱核系において、赤芽球がエリスロポエチン刺激後に 5 回細胞分裂を行った後、G1 期で増殖を停止し、脱核することを確認することができた。この系を用いて G1/S の進行に関わるサイクリン依存性キナーゼ (Cdk) の脱核への関与について検討した。

[結果] ウェスタンブロットにより赤芽球には Cdk2, Cdk4, Cdk6 が発現していることが分かった。これらの Cdk 遺伝子をノックアウトした細胞や培養細胞株への Cdk 阻害剤の添加は、細胞増殖の遅延あるいは停止を引き起こすことが知られている。このことから *in vitro* 脱核系への Cdk2 阻害剤あるいは Cdk4/6 阻害剤の添加は、赤芽球の増殖を抑制し、脱核を遅延することが予想された。しかしながら、実際には前者の添加によってのみ脱核は抑制され、後者の添加では予想に反して脱核が促進された。また、Cdk4/6 と複合体を形成することが知られている Cyclin D3 の発現量は、赤芽球分化と共に増加し、脱核に伴い減少した。Cyclin ファミリーはプロテアソームによる分解を受けることが知られていることから *in vitro* 培養系へプロテアソーム阻害剤を添加したところ Cyclin D3 の分解が抑制されるとともに脱核が抑制されることがわかった。

[結論] 赤芽球分化の最終過程において、Cyclin D3 がプロテアソームに分解されることによって Cdk4/6 の活性が抑制されることが、赤芽球が細胞周期を停止し脱核を開始するのに重要であることが示唆された。(利益相反 なし)

16. Fam64a は哺乳類出生時の心筋細胞分裂停止に関与する

橋本 謙, 本田 威, 花島 章, 氏原嘉洋, 毛利 聡 (川崎医科大学生理学 1)

哺乳類の胎児心筋細胞は活発に分裂して原始心臓を形成するが、単離培養系において十分な分裂活性を維持する手法が存在しない為、定量解析が困難である。我々は、哺乳類胎児が低酸素環境 (2-3%) に置かれていることに着目し、細胞単離時の大気酸素曝露 (21% O₂) が胎児心筋細胞の分裂活性を損なっているのではないかと考えた。そこで、細胞単離を胎児環境を模した厳密な低酸素下で行うプロトコルを確立し、タイムラプス観察によって、これまでで最高

レベルの分裂活性を再現することに成功した。単離中の短期間の大気酸素暴露は胎児心筋の分裂活性を 70% 以上も減少させ、細胞分裂活性遺伝子群の発現を劇的に抑制した。このことは、分裂活性を維持し、原始心臓を形成する為に胎児の低酸素環境が如何に重要かを示している。本プロトコルを用い、ゲノムワイドなバイオインフォマティクス解析を行うことにより我々は低酸素によって誘導される胎児心筋細胞分裂に必須の分子として Fam64a を同定した。Fam64a は胎児期には心筋細胞の核に豊富に存在するが、酸素の曝露、また、肺呼吸開始による酸素分圧上昇が起こる出生後の心筋細胞では劇的に減少した。Fam64a のノックダウンにより胎児心筋の分裂活性は 80% 以上減少し、逆に過剰発現により分裂活性は有意に上昇した。また、Fam64a は細胞周期における中期—後期遷移において主要な働きを担うユビキチンリガーゼ APC/C の基質であり、APC/C による適切な時期における Fam64a の分解が心筋細胞の分裂に必要であることが示唆された。以上の知見は将来的な成人心臓における Fam64a を用いた心筋再生への道筋を示すものである。(利益相反 なし)

17. Compound X inhibits the ROK-mediated Ca^{2+} -sensitization of vascular smooth muscle contraction induced by a spasmogen, sphingosylphosphorylcholine

B. Lyu, Y. Zhang, H. Kishi, T. Morita, S. Kobayashi
(Department of Molecular and Cellular Physiology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine)

The Ca^{2+} -dependent contraction of vascular smooth muscle (VSM) regulates physiological vascular tone and blood pressure, while the Rho-kinase (ROK)-mediated Ca^{2+} -sensitization of VSM contraction induced by sphingosylphosphorylcholine (SPC) contributes to vasospasm. In our previous study, we identified Fyn tyrosine kinase as a novel signal molecule which mediates the signal transduction between SPC and ROK pathway. We found that eicosapentaenoic acid (EPA) selectively inhibited the Ca^{2+} -sensitization contraction by inhibiting the Fyn-ROK signal pathway without affecting the Ca^{2+} -dependent contraction, and indeed it can clinically prevent cerebral vasospasm. However, EPA cannot be applied intravenously and thus cannot be used for the acute emergency case. Therefore in the present study, we performed an extensive screening for a novel water-soluble compound which can be used as a substitute for EPA and for a venous injection. Finally we found the novel water-soluble compound X, which has been extracted from the a plant, has the

strong inhibitory effect on the SPC-induced Ca^{2+} -sensitization contraction, although it showed a very slight effect on the Ca^{2+} -dependent contraction of VSM. Subsequently, in order to clarify its molecular mechanism(s), we examined the effects of compound X on the signal transduction of the Ca^{2+} -sensitization contraction induced by SPC. Compound X inhibited the SPC-induced activation of Fyn and ROK, as assessed by the autophosphorylation of Fyn and the phosphorylation of myosin phosphatase targeting submit1 (MYPT1), a substrate of ROK, respectively. Compound X also inhibited the SPC-induced translocation of cytosolic ROK to the cell membrane and thereby the phosphorylation of myosin light chain (MLC). In summary, our findings indicate that compound X inhibits the SPC-induced Ca^{2+} -sensitization contraction by inhibiting the Fyn-ROK signal pathway, with slight inhibition of the Ca^{2+} -dependent contraction. Because Compound X is water-soluble eatable plant component, it may be used for not only the prevention of vasospasm but also the treatment of acute-onset vasospasm in the emergency case. (COI: none)

18. 伸展刺激誘発性 ROS 産生におけるミトコンドリアの役割

貝原恵子, 成瀬恵治, 入部玄太郎 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学)

心筋細胞に伸展刺激を加えると微小管を介して形質膜上の NADPH オキシダーゼ (NOX2) が活性化され、活性酸素 (ROS) が産生されることが報告されている。これまでに我々は細胞伸展時には微小管を介してミトコンドリア膜電位 ($\Delta\psi_m$) の過分極が起こることを明らかにしている。ミトコンドリアの活性化も ROS 発生源として重要であるが、伸展時における NOX2 とミトコンドリアの詳細な関係性は明らかでない。そこで今回我々は、NOX2 KO マウスを用いて両者の関連性を検討した。

方法：野生型 (WT) 及び NOX2 KO マウス心筋筋細胞を酵素的に単離した。心筋細胞の両端にカーボンファイバーを装着して 10% の伸展刺激を加えた。ROS 産生測定には DCF 染色を、 $\Delta\psi_m$ 変化測定には Mito Tracker Green FM と TMRE の 2 重染色を行った細胞を用い、共焦点レーザー顕微鏡にて蛍光を測定した。

結果：WT では伸展により ROS 産生は有意に増加したが、NOX2 KO マウスでは増加は見られなかった。また、 $\Delta\psi_m$ は WT, NOX2 KO マウスとも伸展刺激時に有意に過分極した。一方で Colchicine による微小管破壊では伸展に

よる $\Delta\psi_m$ 変化も ROS 産生増加も見られないことから、ミトコンドリアは伸展刺激に一次的に応答して過分極するが、発生する ROS はほぼすべて NOX2 由来であることが示唆された。(利益相反 なし)

19. 哺乳類と鳥類の心臓は独立して進化し、同じ形に辿り着いた：バネ分子コネクチンによる心室機械特性からの考察

毛利 聡, 花鳥 章, 本田 威, 氏原嘉洋, 橋本 謙 (川崎医科大学生理学 1)

心臓は全身への血液供給ポンプであり、その機能は生物の活動性や生活形態に直結する。脊椎動物のなかでもエネルギー消費の大きな哺乳類と鳥類は 2 心房 2 心室の心臓を共有し、体循環と肺循環を分離することで大量の酸素消費を可能にして恒温性と胎生、飛翔といった特筆すべき性質を獲得している。しかしながら、軟組織である心臓は化石として保存されず、肺のように関連する骨格からの推定も出来ないため、心臓進化についての知見は殆どない。

現生脊椎動物の心筋組織は肉眼的形態から二種類に大別される。一つは進化的に先行していたと考えられる、血管を持たず心室腔から直接酸素を受け取るスポンジ状心筋である。もう一つは心房・心室の形態と同様に哺乳類・鳥類に共通する緻密心筋であり、冠循環と呼ばれる血管ネットワークにより酸素を供給される。そして冠循環を持つ心臓は他臓器と異なり、心臓自身が緩んだ拡張期にのみ血液が流れるという特徴を持ち、拡張期の過度な心室伸展は血流障害を来すため、無冠循環心臓と比較して伸びにくい機械特性があるという仮説を検証した。

冠循環を持つマウス・ニワトリの心臓は冠循環の無いカエルに比較して非常に伸展しにくい機械特性を有していた。また、心筋細胞の伸展性を規定する生体内最大分子コネクチンのバネ機能を発揮する PEVK 領域のアミノ酸配列を検討したところ、マウス・ニワトリではカエルよりも著明に短縮しており、これらは冠循環の登場により心筋細胞の伸展抑制という新たな制約に適応した結果であると考えた。また、遺伝子配列の検討ではカエルの PEVK 領域にある巨大エクソンが鳥類では保存されているものの、スプライシングによりスキップすることで短縮されていた。一方、哺乳類では巨大エクソンが遺伝子レベルで消失していた。

これらより、哺乳類と鳥類は冠循環や緻密心筋を持つ共通祖先から進化したのではなく、環境に適応していくなかで強いポンプ機能を持つ緻密心筋組織をそれぞれ独立に進化させて 2 心房 2 心室の形に収斂進化したものと考えた。哺乳類と鳥類は心筋細胞の形態からも大きく異なってお

り、我々とは別の方法を採用して同様もしくはそれ以上の機能を発揮する鳥類の心臓からは新たな病態生理学的知見を得られる可能性がある。(利益相反 なし)

20. Apoptosis-inducing factor と大腸菌膜との相互作用の解析

松本 感¹, 山下哲生², 橋本 剛², 五十嵐淳介², 小坂博昭², 平野勝也² (¹香川大学医学部医学科 4 年, ²香川大学医学部自律機能生理学)

【背景と目的】Apoptosis-inducing factor (AIF) はミトコンドリア膜に局在する蛋白質である。従来、膜を貫通して存在し、N 末端が限定分解されることによってミトコンドリア型 AIF (AIF_{mit}) から可溶性 AIF (AIF_{sol}) に変換され、核に移行し、アポトーシスを引き起こすとされてきた。我々は、マウス AIF を大腸菌に発現させ、大腸菌膜との相互作用を解析することから、AIF_{mit} も AIF_{sol} もイオン結合依存性に膜に結合することを見出した。AIF は NADH 依存性に二量体を形成して、ミトコンドリア膜に局在する。AIF には NADH 酸化酵素活性があり、NADH の酸化状態がミトコンドリア膜との相互作用に影響を及ぼす可能性がある。本研究では、好気および嫌気条件下に、AIF_{mit} および AIF_{sol} とミトコンドリア膜との相互作用に及ぼすイオン強度の影響を明らかにする。

【方法および結果】マウス AIF_{mit} および AIF_{sol} を大腸菌に発現させた。菌体を低イオン強度 (7mM) の緩衝液で破砕し、得られる懸濁液を超遠心 (98,000 ×g, 90min, 4°C) して膜画分を得た。AIF_{mit} および AIF_{sol} はそれぞれ総発現量の 80% および 50% 程度が膜画分に回収された。この膜画分を、イオン強度の異なる緩衝液 (7~500mM) で懸濁し、4°C, 1.5 時間処理後超遠心を行い、上清中の AIF 量をウェスタンブロット法により検出し、膜画分からの解離を評価した。嫌気条件は、反応液を密閉容器内に調製し、大気と遮断し、さらに、グルコースオキシダーゼおよびカタラーゼを添加することにより溶存酸素を消去することで設定した。好気条件、嫌気条件いずれの場合も、AIF_{mit} および AIF_{sol} はイオン強度依存的に膜から解離した。好気条件の場合、ミトコンドリア膜間腔の生理的イオン強度 100~150 mM において AIF_{mit} は 30% 以下しか解離しないのに対し、AIF_{sol} は 70% 程度解離した。嫌気条件下での解離の程度は両蛋白質とも好気条件下に比べ低下した。嫌気条件による解離抑制は、イオン強度 100~200mM の範囲で、AIF_{sol} において最大であった。

【結論】AIF_{mit} も AIF_{sol} もイオン強度依存性に膜から解離する。好気条件ではミトコンドリア膜間腔の生理的イオン強度下で AIF_{mit} に比べ AIF_{sol} の解離が顕著であった。この

膜解離は嫌気条件により抑制され、その抑制効果は同イオン強度下で AIF_{sol} が大きい。二量体形成は膜結合と解離に影響を及ぼす可能性がある。(利益相反 なし)

21. メカノストレスによる歯周組織リモデリング機構の解明

藤田彩乃^{1,2}, 森松賢順², 高橋 賢², 高柴正悟¹, 成瀬恵治² (¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野, ²同 システム生理学)

咬合等により、歯と歯槽骨の間に存在する歯根膜は常に間欠的な圧力と伸展力にさらされる。咬合力による歯根膜を介した歯周組織への機械刺激は、歯槽骨のリモデリングに繋がると理解されている。しかしながら、歯周炎に罹患した部位では、歯周病原細菌が産生する病原因子によって、歯周組織を構成する細胞から炎症性因子が産生される。そしてその炎症性因子がこのリモデリングを修飾し、複雑化させる。

そこで本研究では、機械刺激下での歯周組織の恒常性、リモデリング制御機構を解明することを目的とし、機械刺激に対する細胞の形態的応答及び、歯周組織のリモデリングに繋がる細胞外マトリクス分解酵素である Matrix Metalloproteinase 1 (MMP1) の遺伝子発現量の定量を行った。

初期実験として、伸展刺激下で歯根膜線維芽細胞を培養した結果、約 4 時間後に伸展刺激に対して細胞は垂直方向に配向した。また、機械感受機構に関わるアクチン線維も垂直方向に配向した。これらは歯周組織における細胞の配向が咬合等による機械刺激によって制御されることを示唆する結果である。さらに MMP の遺伝子発現量が伸展刺激によって約 7 倍増加した。この結果は、機械刺激が歯周組織のリモデリングを誘発することを示唆する。今後は、炎症下での機械刺激の歯周組織リモデリング機構への影響を調べる。(利益相反 なし)

22. 細胞膜 resonance 特性に関わるイオンチャンネル

橋本浩一, 槇殿佳子, 中山寿子 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院神経生理学)

神経細胞の中には、細胞膜に特定の周波数の入力電流を増幅して、大きな電圧変化として出力するという電気特性 (Resonance 特性) を持つものが存在する。Resonance 特性にはイオンチャンネルの関与が示唆されているが、詳細は明らかになっていない。本研究では、resonance 特性に関わるイオンチャンネルの同定を目的として、マウス延髄下オリブ核ニューロンからホールセルパッチクランプ法により電気記録を行った。野生型マウスにおいて、一定の振幅だが周波数が徐々に増すサイン波状 (チャープ) 電流を加え、

出力される電圧変化を計測したところ、3-6Hz の周波数部分の電圧応答が増幅された。この増幅は Cav3.1T 型電位依存性 Ca^{2+} チャンネル欠損マウスで著減したが、resonance 特性の消失までには至らなかった。Cav3.1 欠損マウスで残存した成分は HCN チャンネルの阻害剤 (ZD7288) で完全消失した。Cav3.1 と HCN チャンネルの resonance 特性に対する優位性を確認するため、野生型マウスに ZD7288 を投与した所、resonance 特性が完全に消失することが分かった。また、resonance 特性は HCN1 欠損マウスで消失した。上記の結果より、resonance には HCN1 チャンネルが必須であり、Cav3.1 はそれを増強する役割を持つことが明らかになった。(利益相反 なし)

23. 二足歩行ラットにおける歩行トレーニングによる大脳皮質運動野の変化について

和田直己 (山口大学共同獣医学部生体システム科学)

我々はラットを用いて二足歩行モデルを作成した (Wada et al. 2008)。二足歩行トレーニングによりラットには骨格、筋肉、そして神経制御に二足歩行への適応変化が出現し、安定した二足歩行を行う能力を獲得する (Hosoido et al. 2011, 2012)。我々は二足歩行ラットの安定した二足歩行には皮質脊髄路の変化が伴うことを確認した。そこで、大脳皮質一次運動野の変化について電気生理学、組織学、生化学的手法を用いて変化の有無について研究を行った。今回、その結果について報告を行う。(利益相反 なし)

24. 神経控減後急性期のラット体性感覚野興奮波伝播パターンの変化：正中神経控減と尺骨神経控減の比較

河合美菜子, 濱 徳行, 伊藤真一, 廣田秋彦 (鳥根大学医学部神経筋肉生理学講座)

我々の研究室では、独自に開発した光学的多領域膜電位同時測定システムを用い、ラット大脳皮質感覚野の神経活動を解析している。このシステムは、膜電位感受性色素で染色した大脳皮質の広範囲から、加算処理すること無しに定量解析可能な高シグナルノイズ比で膜電位を記録することが可能である。これまでの研究で、末梢刺激により体性感覚地図上の対応する領域に始まった興奮波は、体性感覚野を広範囲に伝播することが知られている。昨年、右前肢尺側掌球への電気刺激により誘発された興奮波の伝播パターンが、右前肢の尺骨神経控減の直後から有意に変化することを明らかにした。今回は、新たに正中神経を控減した直後の、感覚刺激に対する体性感覚野応答パターンの変化を解析し、尺骨神経の場合と比較した。尺骨神経と正中神経の感覚支配領域は、ラットの右前肢尺側掌球において一部重複していることが知られている。そのため、同一箇

所の刺激に対して、尺骨神経を挫滅した場合には正中神経經由の、正中神経を挫滅した場合には尺骨神経經由の応答を観察することが可能である。

SD ラット (平均体重 260g) を、正中神経挫滅 (MC) 群、尺骨神経挫滅 (UC) 群に分けた。ウレタン・ α -クロラロース混合薬麻酔下で左体性感覚野を露出し、膜電位感受性色素 (RH-414) で染色した。右前肢尺側掌球に電極を刺入し、1mA, 0.5msec の電気刺激により感覚応答を誘発した。光学記録は、神経を挫滅する直前 (PRE)、直後 (t0)、30 分後 (t30) に実施した。その結果、MC 群では、応答の潜時およびシグナルのピーク振幅はともに有意な変化は認められなかったが、UC 群では、応答潜時は PRE と比較して t0, t30 で有意に長く、ピーク振幅は PRE と比較して t0 で有意に大きくなっていった。応答の起始部から周辺部への興奮波の伝播速度は、MC 群ではいずれの方向に対しても有意な変化は認められなかったが、UC 群では起始部よりも内側 (体性感覚地図の小指側) で PRE と比較して t0, t30 では有意に遅くなっていた。これらの結果から、二重神経支配を受けている右前肢尺側掌球への刺激一皮質応答において、尺骨神経が正常な場合には正中神経の寄与はほとんど無く、尺骨神経が損傷した時に初めて正中神経經由の応答が現れることがわかった。今回記録した光学シグナルは、主として皮質 2/3 層の膜電位変化であることから、正中神経經由の応答が 4 層よりも下の神経系で尺骨神経經由の応答に抑制されていることを示唆する。(利益相反 なし)

25. Effect of alteration in the head's position on arterial pressure in rabbits

S. Matsuo, E.O. Felix, Y. Kawai (Division of Adaptation Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tottori University)

Head-down postural rotation (HDR) induced a transient decrease of arterial blood pressure (ABP) in our previous study, which suggested that vestibular apparatus played a role in the transient decrease of ABP. However, inputs from neck afferents may also affect the drop of ABP during HDR. To test this hypothesis, we examined responses of ABP and sympathetic nerve activity to neck flexion (NF) and neck extension (NE) in the prone and lateral position with and without bilateral vestibular lesions, using anesthetized animals. NF in the prone position induced a decrease of ABP which was followed by a suppression of renal sympathetic nerve activity. NE induced an increase of ABP. In vestibular-lesioned animals, NF induced a smaller drop of ABP than that in control rabbits. Vestibu-

lar lesion reduced the increase of ABP which was elicited by NE. The results suggest that both vestibular organs and neck afferents affect ABP during NF and NE through the sympathetic nerve outflows. The effect of neck afferents on ABP is possibly smaller than that of the vestibular inputs during the NF and NE. (COI: none)

26. マイクログリアがパーキンソン病におけるドーパミン減少の代償機構に関与する可能性

田中潤也, 青野仁美, 檜垣ひろみ, EM チョードリ, 秋山順一, 藤田滉大, 矢野 元 (愛媛大学大学院医学系研究科分子細胞生理学講座)

黒質緻密部のドーパミン神経細胞は加齢とともに変性脱落するが、線条体でのドーパミン含量が 80% 程度減少してはじめてパーキンソン症状が発現する。このため、ドーパミン減少に対する代償機構の存在が指摘されてきた。我々は、6-ヒドロキシドーパミン (6-OHDA) の線条体注入によるラットパーキンソン病モデルの脳基底核出力部 (黒質網様部および淡蒼球) で、マイクログリアが顕著に活性化していることに着目し、その病態生理学的意義を検討してきた。共焦点顕微鏡による観察で、出力部の活性化マイクログリアがシナプス貪食していることを見いだした。視床下核に赤色蛍光トレーサー DiI を注入すると、DiI を CD68 陽性ファゴソーム内にグルタミン酸受容体とともに取り込んだマイクログリアが出力部で観察された。一次培養マイクログリアは、グルタミン酸刺激により貪食能を亢進させたが、その効果は合成グルココルチコイドのデキサメサゾンにより遮断された。パーキンソン病モデルラットにデキサメサゾンを一回皮下注射すると、その翌日には、マイクログリアによるシナプス貪食の抑制と共に運動機能の有意な低下が観察された。これらの結果は、脳基底核間接路において、ドーパミン減少に応じた視床下核グルタミン酸作動性神経細胞からのグルタミン酸過剰放出が起こると、マイクログリアが活性化し、そのシナプスを貪食することで代償機構となるネガティブフィードバックループを形成、神経学的異常の出現を抑制することを示唆している。(利益相反 なし)

27. 希少糖 D-アロースにより活性化されるシグナル伝達系の解析とそれを用いた新規癌治療法開発の可能性

神島和代¹, 山口文徳¹, 董 有毅¹, ホセイン・アクラム¹, 隋 麗¹, 片木絢子¹, 野口知里¹, 星川広史², 徳田雅明¹ (¹香川大学医学部細胞情報生理学, ²同 耳鼻咽喉科学)

希少糖の一種 D-アロース (D-グルコースの 3 位のエピ

マー)は、複数の株化癌細胞において Thioredoxin interacting protein (TXNIP) の発現を誘導する。それにより細胞周期の停止、およびグルコースの取り込み抑制を引き起こし、細胞増殖を抑制する。TXNIP は正常細胞では発現しているが、癌組織および癌細胞においては、発現が著しく減少している癌抑制タンパク質である。これらのことから、D-アロースを用いて TXNIP の発現制御機構を解析することは、細胞の癌化および癌抑制メカニズム解明の一助となると考えられる。また D-アロースは安全性が高く経口投与も静脈内投与も可能であることから、副作用の少ない新たな癌治療法の開発につながる事が期待される。

今回 ①株化肝癌細胞における D-アロース添加から TXNIP の発現誘導に至るシグナル伝達経路 ②D-アロースの腫瘍モデルマウスにおける抗腫瘍効果について、以下の内容で報告する。

① 株化肝癌細胞 HuH-7 において、D-アロースによる TXNIP の発現誘導に p44/p42 MAPK 経路、および p38 MAPK 経路が関与することが明らかになった。

② 扁平上皮癌細胞 HSC3 を用いて形成したマウスの腫瘍組織に D-アロースを投与することにより、腫瘍組織が小さくなる傾向がみられた。また、同様の系で低濃度の抗癌剤ドセタキセルに、D-アロースを併用することにより、抗腫瘍効果が増強した。

以上の結果は、D-アロースを利用した癌治療法の開発への重要な知見となる。(利益相反 なし)

28. Effect of rare sugar D-allulose (D-psicose) on established diabetes in OLETF rats

A. Hossain^{1,3}, L. Sui¹, F. Yamaguchi¹, K. Kamitori¹, T. Iida³, I. Tsukamoto², M. Tokuda¹ (¹Department of Cell Physiology, ²Department of Pharmaco-Bio-Informatics, Faculty of Medicine, Kagawa University, ³Research and Development, Matsutani Chemical Industry Co., Ltd.)

INTRODUCTION: Rare sugar D-allulose (previous name is D-psicose) has been evaluated having anti-obese, anti-diabetic and anti-inflammatory effects in various experimental rat models as well as in clinical short studies. In

the present study we have investigated the anti-obese and anti-diabetic effects of D-allulose in type 2 diabetic model Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats to study mainly two things; whether D-allulose was able to reduce blood sugar levels in hyperglycemic rats and whether withdrawal of D-allulose further increase blood sugar levels.

MATERIALS AND METHODS: Twenty control OLETF rats were fed drinking water from early age and feeding 5% D-allulose was started in 10 rats after developing hyperglycemia and obesity. Similarly, 20 D-allulose-treated OLETF rats were started feeding D-allulose from early age and withdrew in 10 rats at the same time when D-allulose was started in control rats. Body weight and blood sugar levels were measured weekly until the age of 100 weeks. Periodical OGTT (Oral glucose tolerance test) was performed with other measurements related to obesity, diabetes and pancreas inflammation.

RESULTS AND CONCLUSION: D-allulose was shown to reduce body weight significantly even when started feeding after the commencement of obesity in control rats. On the other hand, withdrawal of D-allulose in the feeding group significantly increased body weight. In case of blood sugar levels there were no remarkable changes neither starting D-allulose feeding after the commencement of hyperglycemia in the control rats nor withdrawal of D-allulose feeding in the feeding rats. These findings support the clinical use of D-allulose any time for the people with increased body weight to reduce and for the people who are obese tendency from the early life. For hyperglycemic people it is advised to use D-allulose before the commencement of hyperglycemia and diabetes. However, in the diabetic stage D-allulose could be used mainly to prevent the inflammatory complications of diabetes, particularly pancreatic β -cell inflammation. Previous studies had evaluated the strong anti-inflammatory effect of D-allulose. (COI: none)