

## 一般演題

### 1. 視線解析法を用いた Mental rotation 課題による視空間認知機能評価

○鈴木鮎子<sup>1,2</sup>, 篠崎 淳<sup>1</sup>, 植木美乃<sup>3</sup>, 長峯 隆<sup>1</sup> (1札幌医科大学医学部神経科学講座, 2名古屋市立大学大学院医学研究科神経内科学, 3同 医学研究科リハビリテーション医学)

【目的】視空間認知機能の評価に利用される mental rotation 課題は、視覚対象を頭の中でさまざまな方向に回転させる操作過程が中心となる。本研究では、mental rotation を用いた新たな課題を作成し、視空間認知機能における加齢の影響を明らかにした。さらに、課題遂行中の視線を計測・解析することで、脳内での情報処理における加齢の影響を推考した。

【方法】対象は健常高齢群 8 例（平均年齢 66.9±2.7 歳）、若年群 10 例（平均年齢 21.9±1.0 歳）。コンピューター画面の中央に参照する視覚表象画像、四隅に選択肢画像を提示した。中央の参照画像に対して、頭の中で 3 種類の回転操作（回転なし、90° 回転、180° 回転）を行い、結果と一致する画像を 4 つの選択肢から口頭で選ぶよう指示した。16 種類の参照画像を用いて、反応時間、正答率、同時に眼球運動解析装置により課題遂行中の視線データ（固視数、固視時間、saccade 時間、saccade 振幅、固視点の位置、中央からの距離）を記録し、2 要因分散分析を行った。

【結果】高齢群は若年群より有意に正答率が低く（高齢群 0.849 vs 若年群 0.940,  $p=0.025$ ）、反応時間が長かった（3301 ms vs 2053 ms,  $p=0.001$ ）。固視数は多く（13.3 vs 9.0,  $p=0.001$ ）、saccade 振幅は 90° 回転課題で短縮した（4.48° vs 6.41°,  $p=0.004$ ）が、固視時間、saccade 時間は両群間で有意な差を認めなかった。また、固視点の分布についても、両群間で有意な差を認めなかった。

【考察】行動データから、加齢による視空間認知機能の低下を検出することができた。高齢群では、saccade 振幅が短縮し固視数は増えるが、固視点の分布には両群間で有意差がなかった。本課題遂行中の運動系以外における加齢の影響は、視線データのみでは判断困難であった。

【結論】加齢による視空間認知機能の低下を検出できる課題を設定できた。（利益相反 なし）

### 2. サル線条体の時間予測的な活動と運動制御における役割

○亀田将史, 田中真樹（北海道大学医学研究科神経生理学分野）

【背景・目的】時間の情報処理には大脳と大脳皮質下を含

む複数の脳部位が関与するが、脳各部のニューロンがいかにして時間情報を符号化しているか多くが明らかではない。我々の研究室では、タイミング予測を必要とする行動課題（欠落オドボール課題）を用いて、サルの小脳（Ohmae et al., 2013）と視床から時間予測的な神経活動を記録し解析してきた。本研究では、新たに大脳基底核線条体の機能を探った。【方法】欠落オドボール課題では、サルは一定間隔で繰り返し提示される視覚刺激の不意の欠落を検出し、左右どちらかに予め示されたターゲットへ視線を移動（サッカー）することで答える。刺激の提示間隔は、試行ごとに 100—600ms からランダムに選んだ。また、タイミング予測を必要としない対照課題では、繰り返し刺激の不意の色変化をサッカーで答えさせた。予め異なる課題であることをサルに明示するために、2 種類の課題では色の異なる固視点を用いた。【結果・考察】尾状核頭部から繰り返し刺激に反応する単一ニューロン活動を記録した ( $n=46$ )。これらは刺激間隔によって活動の大きさを変化させ、そのうち約 8 割は刺激回数に応じて徐々に活動を増大させた。多くのニューロンは対照課題で活動を減弱させ ( $38\pm 23\%$ ,  $n=38$ , paired t-test,  $p<0.001$ )、また、80% 以上のニューロンはサッカーに伴ってバースト活動を示し、一部のニューロンではその大きさが運動方向によって異なっていた。繰り返し刺激に対する応答が運動準備方向と刺激提示位置のどちらを反映しているかを調べるため、ターゲットと視覚刺激を左右視野に独立に提示し、計 4 パターンの試行を提示したところ、運動方向に加えて刺激提示方向によっても神経活動が変化した。これらの結果から、線条体のニューロンもまた時間情報処理に関与していることが示唆されるが、小脳のニューロンとは異なり、より運動制御に関与しているものと考えられる。

### 3. サルとヒトの同期運動

○竹谷隆司, 亀田将司, 田中真樹（北海道大学医学研究科神経生理学分野）

ヒトや一部の鳥類は一定間隔の刺激に同期した運動を自発的に行うが、サルでは反応時間がゼロになることはないとされ (Zarco et al., 2009; Fuchs, 1967)、言語学習をする種のみが同期運動を行うことができると考えられている (Patel et al., 2006)。しかし近年、チンパンジーやボノボが同期運動を行うことが示され、また、マカクサルでも訓練によっては時間経過をモニターしたり予期的な運動を行ったりすることが知られている。本研究では、眼球運動を用いた同期運動課題をサルに訓練することを試み、ヒトとの比較を行った。一定間隔で左右交互に現れる視覚刺激にサッカーするよう 3 頭のサルを訓練した。標的を 300, 400, 800,

900ms の時間間隔（stimulus onset asynchrony ; SOA）で提示し、予測性サッカード（ $\pm 20\%$  SOA）に対して報酬を与えた。十分な訓練の後、サルは新規に提示した SOA（500—700ms）に対しても予測性サッカード（平均潜時 -11 ms）を行うことができた。各試行の途中でサッカードに合わせて刺激を提示しても（エラーなし条件）、その直前までの運動間隔を維持することができ、内的に生成したリズムに合わせて同期運動を行っていることが示された。エラーなし条件では運動間隔の変動係数が減少したことから、内的リズムは感覚入力によって絶えず微調整されていると考えられる。また、潜時 100ms 以上の反応性サッカードにのみ報酬を与えたところ、サルは柔軟に行動を変化させた（平均潜時 263ms）。一方、ヒトで同様の実験を行ったところ、反応性条件での潜時はサルよりも短く（142ms）、運動間隔の変動係数は大きかった（0.12 vs. 0.22）。しかし、試行内で SOA をランダムにすると反応時間が延長し、変動係数が減少したため、ヒトは反応性条件であっても一定間隔の刺激に対して自動的に同期運動を行ってしまうことが示唆された。サルとヒトはいずれも内的リズムを生成して同期運動を行う能力を持っているが、後者では同期運動自体が報酬となり、無意識に行動がバイアスされるものと考えられる。

#### 4. 魅力的な女性との会話はエピソード記憶を増強するか

○杉山純平<sup>1</sup>、篠崎 淳<sup>1</sup>、白井桂子<sup>1</sup>、鈴木鮎子<sup>1,2</sup>、加藤有一<sup>3</sup>、長峯 隆<sup>1</sup>（<sup>1</sup>札幌医科大学医学部神経科学講座、<sup>2</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科神経内科学、<sup>3</sup>札幌医科大学医療人育成センター）

人生の中の大きな出来事の記憶にはしばしば強い情動が伴っている。私たちは、魅力的な異性との日常会話では、同性との会話に比べて会話中の記憶が強化されるという仮説を立てた。この仮説を証明するために、今回の研究では男性を対象として単語再認テストを用い、同性と会話した場合と異性と会話した場合における記憶再認成績の違いを評価した。

13 人の男性被験者（年齢  $25.5 \pm 7.2$ ）がこの研究に参加した。検者の中の男性 1 名と研究者外より検者の選択した女性 1 名が対話者となった。被験者と 1 対 1 の 5 分間の会話を行い、対話中の 20 個の標的語を 1 日後にどの程度再認できるかを検討した。被験者の生理的活性を評価するために、対話中に心電図及び指尖容積脈波も同時に計測した。対男性、対女性と対話の順序は被験者間で釣り合うようにし、記録間隔は 10 分以内となるようにした。正答解答数を対男性、女性間で Wilcoxon の符号付き順位検定比較を行った。RR 間隔、指尖容積脈波を絶対値化したものである基準化

容積脈波（Normalized Pulse Volume（NPV））を対男性、女性間で t 検定比較した。

平均 23.6 時間後（20-25 時間）で再認できた単語数は対男性平均 5.1、対女性平均 7.5 であり、対女性で有意に上昇していた（ $p=0.008$ ）。また、RR 間隔は対男性平均 766.8ms、対女性平均 740.4ms であり、有意に減少していた（ $p=0.035$ ）。NPV には有意な変化は見られなかった（ $p=0.745$ ）。また、単語数の増加と RR 間隔の減少には有意な相関が見られた（Spearman's  $\rho=-0.713$ ,  $p=0.006$ ）。

この結果は、魅力的な相手と会話することによって引き起こされる生理的活性が、日常会話における記憶力の増強に関与する可能性を示唆している。（利益相反 なし）

#### 5. ウシ毛様体筋細胞における小胞体 $Ca^{2+}$ センサー STIM1 の発現解析

○宮津 基、竹谷浩介、金子智之、高井 章（旭川医科大学生理学講座自律機能分野）

【目的】毛様体筋は  $M_3$  型ムスカリン受容体（ $M_3R$ ）刺激に伴い平滑筋としては非常に速やかに収縮し（初期相）、その後刺激の続く限り一定の張力を保持し続ける（持続相）という特性があり、それが迅速で安定な焦点調節を可能にしている。収縮持続相は細胞外からの持続的  $Ca^{2+}$  流入を必要とするが、膜電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネルは発現しておらず、主な  $Ca^{2+}$  流入経路として機能するのは 2 種類の非選択性陽イオンチャネル [NSCCL (35 pS) と NSCCS (100 fS)] である。これまでに、NSCCS はその薬理学的特徴から筋小胞体 (SR) の  $Ca^{2+}$  貯蔵の枯渇を介して活性化されるイオンチャネルである可能性が示唆されている。今回、Percoll 密度勾配により調製された単離細胞に対して flowcytometry (FCM) を用いて、 $M_3R$  および SR の  $Ca^{2+}$  センサー STIM1、SR の  $Ca^{2+}$  枯渇活性化チャネルのポア構成サブユニットである Orai1 蛋白質の発現について、陽性細胞の有無とその頻度について検討した。

【方法】細胞はウシ毛様体組織試料をコラゲナーゼ酵素処理で分散させた後、Percoll 密度勾配法により得た。単離した細胞の評価は、Fluo-4 蛍光法による細胞内  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_i$ ) の測定と、免疫蛍光顕微鏡法、FCM を使用した。

【結果と考察】Percoll 密度勾配法により分離した細胞を使用し、カルバコールに対する  $[Ca^{2+}]_i$  変化を測定すると、約 70% の細胞が一過性の  $Ca^{2+}$  上昇を示した。また、免疫蛍光顕微鏡法により抗  $\alpha$ -アクチン抗体を用いて観察すると  $\alpha$ -アクチン陽性細胞が大多数を占めることがわかった。浮遊した細胞を固定・膜透過性処理し、抗  $M_3R$  抗体、抗 Orai1 抗体を用い免疫 2 重蛍光染色し FCM で解析したところ、73% の細胞が 2 重陽性となった。抗  $M_3R$  抗体、抗

STIM1 抗体を用いた 2 重染色を行った場合には 66% の細胞が 2 重陽性となった。以上の結果は、M<sub>3</sub>R 陽性の毛様体平滑筋細胞において Orail1, STIM1 の両者が共に強く発現し、Ca<sup>2+</sup>貯蔵の枯渇を介して活性化されるイオンチャネルの構成サブユニットとして機能している可能性を示唆した。（利益相反 なし）

#### 6. RANKL によるインテグリン $\alpha 2$ の発現亢進はインテグリン $\beta 2$ の細胞内輸送を介して細胞接着を亢進する

○大場雄介<sup>1</sup>, 山田珠希<sup>1,2,3</sup>, 津田真寿美<sup>4</sup>, 藤岡容一郎<sup>1</sup>, 藤岡真理<sup>1</sup>, 堀内浩水<sup>1</sup>, 堀口美香<sup>1</sup>, 佐藤 絢<sup>1</sup>, ネパールプラバ<sup>1</sup>, 王 婧<sup>1</sup>, 柏木彩花<sup>1</sup>, 西出真也<sup>1</sup>, 南保明日香<sup>1</sup>, 芳賀 永<sup>5</sup>, 田中伸哉<sup>4</sup>, 進藤正信<sup>3</sup>（<sup>1</sup>北海道大学大学院医学研究科細胞生理学分野, <sup>2</sup>同 歯学研究科口腔顎顔面外科学教室, <sup>3</sup>同 歯学研究科口腔病理病態学教室, <sup>4</sup>同 医学研究科腫瘍病理学分野, <sup>5</sup>同 先端生命科学研究院細胞ダイナミクス科学研究室）

インテグリンはコラーゲン等細胞外マトリックスとの相互作用に必須であり、細胞生理機能において重要な役割を担っている。我々は、サイトカインの 1 つ receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) がインテグリン  $\alpha 2$  の発現とエンドサイトーシスを亢進し、最終的に活性化型インテグリン  $\beta 1$  の細胞内輸送を亢進することで細胞接着を増強することを見いだしたので報告する。RANKL を恒常的に過剰発現する細胞において、種々の細胞外基質のうち I 型コラーゲンへの接着能が亢進したが、ラミニン、フィブロネクチン、マトリゲルへの接着には影響がなかった。コラーゲンの主要な受容体インテグリンのうち、インテグリン  $\alpha 2$  が有意に発現亢進しており、インテグリン  $\alpha 2$  のノックダウンにより、I 型コラーゲンへの接着能が減弱した。これらの RANKL の作用は、RANK-NF- $\kappa$ B 経路を介したオートクリン/パラクリン様式であることが明らかになった。興味深いことに、RANKL 発現細胞において、細胞表面上の活性化インテグリン  $\beta 1$  の量が増加しており、この増加にはインテグリン  $\alpha 2$  の発現とエンドサイトーシスの活性化が必要であった。この RANK-インテグリン  $\alpha 2$  経路は、コラーゲンが豊富な環境におけるアポトーシスを抑制することから、3 次元環境下において細胞の生存能亢進に重要な役割を示すシグナル伝達機構であることが示唆された。（利益相反 なし）

#### 7. アンジオテンシン II-アンジオテンシン II 受容体シグナル伝達の時空間制御機構

○藤岡容一郎, 犬塚貴之, 藤岡真理, 佐藤 絢, 堀内浩水, 西出真也, 南保明日香, 大場雄介（北海道大学大学院

医学研究科細胞生理学分野）

アンジオテンシン II (angiotensin II, AngII) は心血管疾患の発症に極めて重要な役割を担うペプチドホルモンである。ヒトでは 4 つのサブタイプの AngII 受容体が同定されているが、血管収縮作用の大部分は 1 型受容体 (AT1) を介した作用である。一方、他の受容体の情報伝達機構と病態生理学的な役割に関する報告は少なく、2 型受容体 (AT2) の活性化が AT1 と競合的に機能するという報告がある程度である。細胞内における生理的条件下での AT2 による AT1 シグナルの正確な調節機構はまだ解明されていない。そこで、我々は AT1 と AT2 との機能連関を、より生理的条件下で解析するために、蛍光タンパク質を付加した AT1 と AT2 を用いてライブセルイメージングを行った。その結果、AT1 と AT2 が AngII によりダイナミックにその局在を変化し、ヘテロ多量体化しながら細胞内に取り込まれる様子が明らかになった。さらに AT1 と AT2 の相互作用には両者への AngII の結合が必要であり、また PKC (Protein Kinase C) に依存していることが示された。PKC は AT1 依存性の ERK 活性化の重要な介在分子であるため、PKC による AT2 のリン酸化、それに続く受容体レベルの会合に伴う AT1 シグナルの抑制は、細胞自身が持つ AngII シグナルにおける負のフィードバック機構と考えられる。以上のように、バイオイメージングを用いた研究により、AT2 と AT1 間の受容体レベルでの時空間的な相互作用が明らかになり、AT2 による AT1 抑制の新たな分子機構の一端が解明された。

#### 8. 中脳歩行誘発野領域の機能局在

○高草木 薫, 高橋未来, 千葉龍介, 小原和宏（旭川医大脳機能）

中脳歩行誘発野 (MLR) は全ての脊椎動物に存在する。MLR が存在する中脳被蓋外側部には、アセチルコリン (ACh) 細胞が存在する脚橋被蓋核 (PPN) に加えて、上位脳と脳幹・脊髄・小脳を結ぶ神経線維が密に存在している。近年、この領域は Parkinson 病 (PD) に対する脳深部刺激治療の標的として注目されている。その根拠として、1) 歩行障害や姿勢調節障害が強い PD では PPN-ACh 細胞の変性が強いこと、2) PD では PPN の残存 ACh 細胞数と歩行速度には正の相関があること、3) MLR の本体は PPN-ACh 細胞であると主張する研究が存在すること、等である。しかし、この領域への DBS は歩行を改善させるとは限らず、筋緊張亢進や睡眠を誘発するなど、一定の効果は得られていない。そこで本研究では除脳ネコ標本を用いて、歩行誘発野が PPN に相当するのか、また、その作用が ACh 細胞を賦活したことによるのか、の 2 点について検討した。

除脳ネコ (n=8) の中脳被蓋外側部に連続微小電気刺激 (10-40 $\mu$ A, 50Hz) を加え、後肢伸筋の筋活動を解析した。最も低電流で歩行を誘発する部位は、楔状核の腹側部から PPN 背側部にかけての領域に分布していた。一方、楔状核背側部への刺激は筋緊張亢進を、ACh 細胞が豊富に存在する PPN への刺激は筋緊張の減弱・消失を誘発した。これらの成績は、1) 中脳被蓋外側部には歩行と筋緊張の制御における機能局在が存在すること、2) ACh 細胞は歩行よりも筋緊張の調節に関与すること、を示唆する。次に、PPN-ACh 細胞の作用をブロックするため、これが軸索を投射する橋網様体にムスカリン受容体拮抗薬である atropine sulfate を微量 (4 $\mu$ g/0.25 $\mu$ l) 注入し、中脳被蓋外側部への電気刺激の効果を解析した。その結果、電気刺激によって筋緊張亢進や歩行を誘発する領域が拡張した一方、筋緊張を減弱・消失させる領域は縮小した。従って、3) 中脳被蓋外側部における機能局在は PPN-ACh 細胞の興奮性に強く依存すること、4) ACh 細胞は抗重力筋の筋緊張を調節することによって歩行を制御することが明らかとなった。

#### 9. 海馬苔状線維における活動電位の二発刺激抑圧に関するシミュレーション解析

○神谷温之（北海道大学医学研究科神経生物学分野）

中枢神経系における軸索は極めて細く、多くの場合、直接記録による電気生理学的な解析は困難である。このため、神経細胞の出力である軸索活動電位の詳細な調節とその機序については不明な点が多い。われわれは、中枢軸索としては例外的に大型の軸索終末を有し、電気生理学的解析の最も進んでいる海馬苔状線維を主な対象として機能解析を進めている。本研究では、軸索活動電位の神経活動依存的な調節機構について理解するために、汎用的なプラットフォーム NEURON を用いたシミュレーションによる検討を行った。これまでの軸索終末ないし軸索断端からのパッチクランプ記録を用いた研究により、苔状線維軸索に発現する電位依存性ナトリウムチャンネルは、細胞体のチャンネルとは開閉の時間経過や電位依存性などが異なることが示されている。苔状線維軸索の電位依存性ナトリウムチャンネルの開閉に関しては、古典的なホジキンハクスレー型のモデルでは不十分であり、少なくとも 8 状態の遷移を想定したやや複雑なモデルが必要であることも示されている。本研究では、データベース上の最新の 8 状態モデルに基づいたシミュレーションプログラムを用い、軸索活動電位の活動依存的な調節の機序について検討を行った。シミュレーションでは全か無かの法則に従う活動電位が再現されたが、パッチクランプ法による実験で記録される活動電位に引き続く後脱分極応答は生じなかった。このモデルにお

いて二発刺激を与えると、二発目の軸索活動電位は軽度で減弱し、この二発刺激抑圧は数十ミリ秒にわたり持続した。また、これまでの 8 状態モデルに後脱分極応答を導入したところ、軸索活動電位の二発刺激抑圧の程度は増強した。海馬苔状線維における軸索活動電位の二発刺激抑圧には、一発目の活動電位による電位依存性ナトリウムチャンネルの不活性化の残存と、後脱分極の緩徐な脱分極による定常的な不活性化の両者が関与すると推定した。（利益相反なし）

#### 10. 鼻腔内投与した薬物の脳血管関門を介さない脳機能への作用

○柏柳 誠<sup>1</sup>、宮園貞治<sup>1</sup>、野口智弘<sup>1</sup>、笹島 仁<sup>1</sup>、長田和実<sup>2</sup>（<sup>1</sup>旭川医大生理学講座神経機能分野、<sup>2</sup>北海道医療大学歯学部口腔生理学講座）

脳神経に薬物を作用させる上で、脳血管関門が障害となる。嗅上皮では、嗅神経細胞が生涯にわたり脱落新生を繰り返している。また、一次中枢である嗅球へ投射する嗅神経軸索は、それとともに消失と伸展を繰り返している。このような特性は、嗅上皮から薬物が脳血管関門を介さずに脳へ到達することを可能としている。一方、嗅球には、アセチルコリン作動性神経の投射が認められている。そこで、恐怖誘起物質による脳内各部位の興奮、および恐怖関連行動に対する脳血管関門を透過しにくいとされる Neostigmine の作用を検討した。参考文献柏柳誠。嗅上皮の特性と鼻腔内投与による中枢神経機能のマニピュレーション。薬学雑誌, 2012, 132, 1247-1253.

#### 特別講演

##### マルチモーダルな GABA の作用

○福田敦夫（浜松医科大学神経生理学講座）

GABA<sub>A</sub> 受容体の開口に伴い、Cl<sup>-</sup> は電気化学勾配に従って流入し、膜電位を過分極させる。しかし、[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> が高く化学勾配が小さくなると、外向きの電気勾配によって Cl<sup>-</sup> は流出し膜電位を脱分極させるので、GABA は時として興奮性にもなる。Cl<sup>-</sup> ホメオスタシスは、細胞外へ Cl<sup>-</sup> を排出する KCC2 と、細胞内に Cl<sup>-</sup> を取込む NKCC1 の 2 種の Cl<sup>-</sup> トランスポーターにより主に制御されるが、通常発達初期は NKCC1 優位で [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> が高く、発達に伴い KCC2 が優位となって [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> が低下する。したがって、発達初期の GABA 作用は Cl<sup>-</sup> ホメオダイナミクスやトニック作用によって、いわゆる抑制性神経伝達ではないマルチモーダルな作用を持っており、神経発生・移動・シナプス形成などに関わる。そこで、GABA 合成酵素 GAD67 欠損マウスを用いて胎生

期のマルチモーダル GABA に関する検討を行った。母体ストレスを受けた GAD67 ヘテロマウス胎仔脳では、GABA 前駆細胞の発生が減少し、成長後も parvalbumin 陽性 GABA 細胞が減少しており、社会行動性の異常を示した。また、GAD67 ヘテロ欠損個体では、非ストレス時に野生型に比べ corticosteron が減少していた。そこで、この原因を検討したところ、視床下部室傍核の CRH 神経細胞体は GABA により抑制されるが、CRH 神経終末では KCC2 が発現せず NKCC1 が強発現しているため  $[Cl^-]_i$  が高く、GABA が常に興奮性に作用し、弓状核から正中隆起への

GABA 入力により CRH 分泌を促進することを発見した。母体栄養制限モデルの結果から、この機構は低栄養による CRH 分泌に関与する可能性がある。ところが、GAD67 ヘテロ胎仔では野生型に比べ corticosteron が過剰反応を示していた。これは、CRH 神経細胞体への GABA 抑制に比べ終末での促進は発達が遅く、胎仔では機能していないためと考えられた。母体へのストレスや栄養状態はマルチモーダルな GABA 作用を介し、仔の脳発達にも影響すると考えられた。（利益相反 なし）