

1. ラットがん遠隔転移モデルの作成から始まった、Chloride intracellular channel protein 2 (CLIC2) による転移抑制効果の発見

早瀬絵理香¹, 馬越陽大¹, 尾崎沙耶², 住田悠太郎¹, 上野義智³, 高田泰次³, 國枝武治², 矢野 元¹, 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同脳神経外科講座, ³同 肝胆膵・乳腺外科講座)

多くのがんにおいて、遠隔臓器への転移があると5年生存率が急激に悪化することが知られている。そのため、がんの遠隔転移を抑えることはがん治療における一つの到達点といえる。我々はラットC6グリオーマ細胞をウイスターラット背部皮下に移植することで、5週間後には高率に肺転移を起こす簡易なラット肺転移モデル作成に成功した。背部皮下の原発巣と肺の転移巣における腫瘍細胞の分子レベルの違いを同定するため、原発巣と転移巣からC6グリオーマ細胞を単離、次世代シーケンサーを用いて原発巣に残存するC6細胞に有意に高発現する遺伝子群を抽出した。この中で、我々はCLIC2と呼ばれる遺伝子に注目した。ヒト肝がん組織と大腸がん組織、大腸がんの肝転移組織と、各組織の周囲正常組織を比較し、正常組織に比してがん組織でCLIC2が有意に減少していることを確認した。また、CLIC2を強制発現させたC6グリオーマ細胞をラット肺転移モデルに用いたところ、オリジナルのC6グリオーマ細胞に比して肺転移率も有意に減少した。更にC6細胞を移植したラット群とCLIC2強制発現C6細胞を移植したラット群の原発巣を比較した際、CLIC2強制発現C6細胞を移植したラット群の原発巣においてTAM (Tumor Associated Macrophage: 腫瘍関連マクロファージ)の集積低下が認められた。このTAMは、がんの遠隔転移促進に関与していると報告されている。以上の結果より、CLIC2の発現減少ががん遠隔転移と関連することが示唆された。(利益相反 なし)

2. CD200 およびそのバリエーションが腫瘍の進展・転移に及ぼす免疫学的影響の検討

住田悠太郎¹, 馬越陽大¹, 尾崎沙耶², アフサナイスラム¹, ME チョードリ¹, 桑原 淳³, 大角翔太¹, 宇佐英香¹, 矢野 元¹, 渡部祐司³, 國枝武治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 脳神経外科学講座, ³同 消化管腫瘍外科学講座)

我々は、細胞膜1回膜貫通型タンパク CD200Lにはスプライシングによる変異体であるCD200Sが存在することを見出した。CD200Lには免疫細胞にある受容体を介して免疫系を抑制する働きがあることが知られているが、CD200Sの働きについてはいまだ不明な部分が多い。CD200Sの

腫瘍免疫に対する影響を探るために、ラットC6グリオーマ細胞にCD200L, CD200Sの2つの分子を強制発現させ、ラット新生仔脳内に移植した。結果、CD200S⁺C6細胞移植個体では生存率が上昇した。次に、C6細胞の背部皮下移植によるがんの肺転移モデルを用いて、CD200L⁺及びCD200S⁺C6細胞を移植すると、CD200S⁺C6細胞移植個体では肺転移が抑制された。移植後35日目のラットから採取したCD200L⁺及びCD200S⁺C6背部腫瘍塊を次世代シーケンサーで比較すると、CD200S⁺C6腫瘍塊において免疫関連遺伝子が高発現していた。FACSを用いてCD200L/S腫瘍を比較したところ、CD200S腫瘍においてT細胞や腫瘍随伴マクロファージ(TAM)、樹状細胞(DC)の割合が増加していることが観察され、免疫能の亢進を表すと考えられる。以上の結果は、CD200SがTAMの活性化、DCやリンパ球の誘導、細胞障害性T細胞の活性化を通じて、腫瘍細胞の遠隔転移抑制を起こすことを示している。(利益相反 なし)

3. ミフェプリストンが引き起こす非肥満非アルコール性脂肪性肝炎におけるビメンチンの発現亢進には肝星状細胞が関与する

橋本 剛, 平野勝也(香川大学医学部自律機能生理学)

【目的】

ビメンチンは細胞内の脂肪滴を籠状構造物として維持するための中間径線維として機能する。非アルコール性脂肪性肝炎において肝ビメンチンの発現が亢進すると報告されているが、発現細胞については不明な点が多い。マウスにグルココルチコイド受容体遮断薬ミフェプリストンを普通食とともに長期経口投与すると非肥満非アルコール性脂肪性肝炎を惹起することを見出している。本研究では、マウス肝臓組織、ヒト肝実質がん細胞由来細胞株(HepG2)および正常ヒト初代肝星状細胞(HHStc)におけるビメンチン発現へ及ぼすミフェプリストンの影響を明らかにする。

【方法・結果】

ビメンチンのmRNA発現はReal time PCR法により、タンパク質発現はWestern blot法と免疫組織化学染色法により評価した。ミフェプリストンを普通食とともに12週間経口投与したマウスの肝臓では、対照群に比べてビメンチンタンパク質の有意な発現増加が認められ(Western blot法:2.69倍)、脂肪滴を有する細胞の辺縁に強く発現していた(免疫組織化学染色:1.58倍)。一方、HepG2細胞では対照群とミフェプリストン群とでビメンチンのmRNAおよびタンパク質の発現に有意な差は認められなかった。HHStcにおいては対照群に比べてミフェプリストン群でビメンチンタンパク質の有意な発現増加が認められた

(Western blot法: 21.1倍)。

【結論】

ミフェプリストンが引き起こす非アルコール性脂肪性肝炎におけるビメンチンの発現亢進には肝星状細胞が重要な役割を果たす。(利益相反 なし)

4. 電気回路による血圧反射波抽出法の一試案

岡村法宜(愛媛県立医療技術大学保健科学部生理学部門)

受動素子からなる電気回路で、血圧と血流をシミュレーションするとき、反射波は再現不可能である。つまり、電気回路で再現した血圧波には反射波が含まれない。そこで、反射波を抽出する方法として、実測血圧波と電気回路で再現した血圧波の差分をとる方法を着想した。男子大学生3名を対象とし、超音波診断装置で左室流出路血流と左室流出路を、圧脈波センサで左総頸動脈圧脈波を記録した。左室流出路血流と左室流出路の積を心拍出血流波形、頸動脈波に最高血圧と最低血圧を適用した波形を総頸動脈血圧波形とした。太い動脈の粘性抵抗と弾性、総末梢抵抗および血液の慣性からなる2~4要素の回路に、心拍出血流波形を定電流源として適用した。このとき得られる出力電圧波形の上行脚の傾きと、最低電圧が記録した頸動脈波に血圧値を適用した血圧波形と一致するように回路のパラメータを調整した。さらに、血圧波形と出力電圧波形の差分を血圧反射波とした。2要素の回路で反射波を求めると、負の反射波成分が認められた。一方、3, 4要素の回路で反射波を求めると、パラメータが一意的に決定できないものの、負の反射波成分が算出されないようにパラメータを調整できた。また、3, 4要素の回路で求めた反射波は、ほぼ等しくなった。本法で反射波を抽出するには3要素の電気回路を用い、素子のパラメータを決定する方法を改良・検討する必要がある。(利益相反 なし)

5. 新たな注意欠陥・多動性障害 (ADHD) モデルとしての Lister hooded rat

宇都宮 諒¹, 城賀本敏宏², 石井榮一², ME チョードリ¹, 宮西和也¹, 矢野 元¹, 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 小児科学講座)

注意欠陥・多動性障害 (ADHD) は発達・行動障害の一つであり、行動上の多動性、衝動性、不注意性を特徴とする。世界で5から7%, 日本でも3%程度の児童が該当するとされる。いまだその発症機序は不明な点が多く、行動障害の根本的な改善法は確立されていない。その研究が進まない背景の一つに、十分な動物モデルの欠如がある。今回我々は、古典的なラットの系統である Lister hooded rat

(LHR) の多動性に着目し、新たな ADHD モデルとしての可能性を種々の行動実験を用い、Wistar ラットと比較しつつ検討した。Open field テストでは、運動頻度、運動時間の増加から LHR の多動性が示された。高架式十字路では open arm への、明暗箱選択試験では明室への侵入時間、侵入頻度の増加が見られ、LHR の衝動性、多動性が示された。ラットを高さ 40cm 直径 15cm の field に置き、注意力を観察する実験では、意図せず落下する頻度が LHR で多く、その不注意性が示された。これらの多動性、衝動性、不注意性は、ADHD 治療薬であるメチルフェニデート、アトモキセチンの投与により、有意に改善した。次に、Wistar ラットと LHR の前頭葉および扁桃体を含む側頭葉下部を採取し、mRNA 量を定量的 RT-PCR で比較したところ、前頭葉において、神経細胞のストレスマーカーである c-fos の有意な増加とチロシンヒドロキシラーゼ mRNA の有意な減少がみられた。さらに、前頭葉、頭頂葉のフローサイトメトリーでは、マイクログリアの CD11b 発現レベルの減少が LHR で見出された。今後、ADHD モデルとされている自然発症高血圧ラット SHR との LHR を比較したい。(利益相反 なし)

6. 催眠鎮静薬プロモワレリル尿素のラットパーキンソン病モデルに対する治療効果

檜垣ひろみ¹, 阿部尚紀², 萬家俊博², ME チョードリ¹, 矢野 元¹, 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講座, ²同 麻酔・周術期学講座)

パーキンソン病は黒質緻密部ドーパミン神経細胞の変性脱落に起因する頻度の高い神経変性疾患である。神経細胞の変性に伴い、マイクログリアの活性化が生じ、活性化マイクログリアから放出される起炎症性サイトカインや活性酸素、一酸化窒素などが神経細胞死を増悪するとされる。本研究では、古典的な催眠鎮静薬であるプロモワレリル尿素 (BU) がその抗炎症効果を通じて、ラットパーキンソン病モデルに対し治療効果を発揮できるかどうか調べた。6-ヒドロキシドーパミンをオスウイスターラット右側線条体に注入することでモデルを作成し、その後7日間BUを概ね50mg/kg/dayとなるよう飲水中に溶解し経口投与した。その結果、BUはドーパミン神経細胞死を抑制し、運動機能低下を改善した。黒質を含む中脳腹側部での mRNA 発現を定量的 RT-PCR で調べたところ、IL-1beta などの起炎症性サイトカインの発現低下、HGF や PDGF-A などの神経保護因子の発現上昇が見られた。また、起炎症性転写因子である IRF1 や IRF8 の発現も低下していた。一次培養マイクログリアを用いた培養実験でも、BU はリポポリサッカライドが誘発する、JAK/STAT/IRF 経路の活性化

を抑制した。BUはこのメカニズムに加えて、ミトコンドリアにおけるATP産生抑制も通じて、黒質ドーパミン神経細胞変性に伴うマイクログリア活性化を抑制し、神経細胞死を軽減するものと考えられる。(利益相反なし)

7. ラット中脳歩行誘発野から延髄吻側腹外側野への投射神経による交感神経調節

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

運動発現のために高位中枢から生じる神経シグナル(セントラルコマンド)は、中枢回路を刺激して自律神経・循環反応を生成する。我々は、ラット延髄吻側腹外側野(RVLM)は随意運動によって活性化することを明らかにした(Kumada *et al.*, 2017)。そしてRVLMには中脳歩行誘発野(MLR)からの投射軸索があり、その投射神経(MLR-RVLM神経)の軸索末端は小胞グルタミン酸トランスポーター2を含有すること、またMLR-RVLM神経の選択的刺激は昇圧応答を起こすことを報告した(熊田ら、第69回日本生理学会中国四国地方会で発表)。本研究では光遺伝学を活用した*in vivo*実験から、この投射神経の交感神経活性とその機能を担う神経伝達物質を調査した。

まず、MLR-RVLM神経の交感神経活性を調査した。光感受性タンパク質チャンネルロドプシン2をRVLMへの投射神経に発現させるために逆行性アデノ随伴ウイルスベクター(AAV_{ret}-ChR2)をラットRVLMに注入した($n=9$)。AAV_{ret}-ChR2注入から3-7週後、麻酔ラットMLRに青光を1分間間欠的に(0.5秒ON/1.5秒OFF)照射してチャンネルロドプシン2を活性化することでMLR-RVLM神経を選択的に刺激した(10, 20または40Hz)。光照射に同期した腎交感神経活動(RSNA)の増加が認められた。ただし、RSNA応答は40Hzで最も小さく、40Hzと比較して10Hzでは33%、20Hzでは85%大きい($p<0.05$)といった光刺激頻度に対する非依存性が見られた。

次に、MLR-RVLM神経の選択的刺激による交感神経活性はRVLMにおけるグルタミン酸放出を介して起こるとの仮説を検証した。上述の実験と同様にAAV_{ret}-ChR2をラットRVLMに注入した。そして麻酔ラットRVLMに生食あるいはイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の阻害薬(AP5/CNQX)を局所注入してから5-10分後、青光をMLRに照射し、その際のRSNA応答を記録した($n=6$)。生食注入後と比較してAP5/CNQX注入後ではRSNA応答が29%減少した($p<0.05$)。AP5/CNQX注入から60分後には、RSNA応答は生食注入後と同程度まで回復した。

以上の結果から、MLR-RVLM神経は交感神経活性を持つことが考えられた。またRVLMでのグルタミン酸放出

がMLR-RVLM神経による交感神経活性の一基盤であることが示唆された。(利益相反なし)

8. 医学生口腔内カプサイシン閾値と基本味の認知閾値

村田芳博¹, 柴野 究^{1,2}, 山口正洋¹, 奥谷文乃^{1,3} (¹高知大学医学部生理学講座(統合生理), ²同 医学部医学科, ³同 医学部地域看護学講座)

過去の大会で、本学医学科学生の口腔内カプサイシン閾値と辛味嗜好性を調べたところ、1)舌尖部で低い群と高い群が存在し、2)閾値が低い群は、高い群に比べて辛い食品を嫌い、好ましくないイメージを持つ傾向がみられると報告した。今回は、基本味に対する感受性との関係を解析するため、濾紙ディスク法を用いて、舌尖部のカプサイシン閾値、および甘味、苦味、塩味、酸味の4基本味の認知閾値を測定した。対象は、本学医学科2年生111名のうち、基本味の認知閾値測定でスケールアウトした8名を除く103名とした。カプサイシン濃度は0.005~10 μ Mの12段階とし、4基本味の濃度は定法(テーストディスク[®], 三和化学)に従って各5段階とした。その結果、酸味との間、苦味との間で、それぞれ弱い正の相関が認められた。本研究は、高知大学医学部倫理委員会の承認を受け、被験者学生に研究目的を十分説明し同意を得た上で行った。(利益相反なし)

【奨励賞候補演題】

9. 片側Parkinson病モデルラットの運動機能評価と線条体ドーパミン投射量の関係性について

宮西和也, 渡辺みのり, ME Choudhury, 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)

パーキンソン病(PD)は、黒質—線条体ドーパミン(DA)ニューロンの変性・脱落に起因する神経変性疾患である。PDのモデル動物としてラットは広く使用され、PDモデルラットの運動機能障害を評価する行動実験に関しても数多くの報告がある。しかし、PDモデルラットの運動機能障害と線条体DA量等のPD重症度との相関関係を示す報告は少ない。本研究では、片側PDモデルラットを作成し、線条体DA量の測定とその病変がもたらす運動機能障害の相関関係を検討し、各種行動実験の妥当性を検討することを目的とした。PDモデルラットは、DAニューロン選択的な細胞毒性を持つ6ヒドロキシドーパミンの右側内側前脳束への注入により作成した。線条体DA比(ipsilateral/contralateral)と相関を認めた行動実験は、Apomorphine回

転, Beam, Cylinder, FAS の各試験および体重変化量であった。しかし, PD モデルラットの判定に必須とされてきた Apomorphine 回転試験は, 線条体 DA 量が 90% 以上減少しなければ異常を検出できなかった。一方, Cylinder と FAS 試験では, 早期 PD 段階から線条体 DA 比依存的にスコアが変化することが明らかになった。さらに, Cylinder と FAS 試験は, 線条体 DA 量毎に分類し, 病態に応じた各グループで有意差が見られた。つまり, Cylinder と FAS 試験は軽症~中等症~重症に重症度分類する指標に適していることが示された。加えて, 重回帰分析により Cylinder 試験と FAS 試験のスコアにより線条体 DA 量を 89% の正確度で測定できることが見出された。(利益相反なし)

【奨励賞候補演題】

10. 新生仔マウスの離乳における嗅結節の役割

築田靖崇, 山口正洋 (高知大学医学部生理学講座)

食行動と嗅覚には密接な関係があり, 食べ物の匂いは食行動を誘導する。嗅覚に関わる脳領域の中で, “嗅結節”は匂いのモチベーション行動の学習に寄与していると考えられる。新生仔の離乳は食行動の発達および新たな食べ物の学習の典型であり, マウスでは生後 2-4 週の間に行われる。そして嗅結節の構造的機能的発達も, 離乳期と同時期に起こる。そこで, 嗅結節の発達が離乳にどのような役割をもつのかを検討した。嗅結節はドーパミンの投射を受けており, その受容体には 1 型と 2 型が存在する。食行動など匂いに対する誘引時には前内側ドメインのドーパミン受容体 1 型発現ニューロン (D1 ニューロン) が活性化されるため, D1 ニューロンに Cre recombinase を発現するマウスと Cre 依存的にトキシンを発現するウイルスを用いて, 生後 2-4 週間の離乳期において嗅結節前内側ドメインの D1 ニューロンの細胞除去を行った。生後 4 週以降において, 以下の 3 点 ①体重, 摂食量 ②床敷の下に隠した餌を探しあてるまでの時間 ③母親と餌の同時提示時にどちらによりアクセスするか を検討した。この結果, D1 ニューロンの細胞除去が起こった個体では, コントロール個体と比べ, 体重と摂食量の減少, 嗅覚学習の低下, 母親ニップルへのアクセス時間の延長および餌へのアクセス時間の減少, が観察された。以上のことから嗅結節内側ドメインの D1 ニューロンは生理的な離乳に重要な役割を果たしていると考えられた。(利益相反なし)

【奨励賞候補演題】

11. 血液凝固第 XI 因子の血管機能調節因子としての新たな機能の発見

劉 文華, 橋本 剛, 山下哲生, 平野勝也 (香川大学医学部自律機能生理学)

【目的】活性化型凝固第 XI 因子 (FXIa) は内因系凝固経路に重要な役割を果たすセリンプロテイナーゼである。FXI が動脈硬化に寄与すると報告されているが, その機序には不明な点が多い。一方, トロンビン, FVII, FX はプロテイナーゼ活性化型受容体 (PAR) を介して血管平滑筋作用を發揮し, 動脈硬化の発症に関与すると報告されている。本研究は FXIa が PAR を介して血管平滑筋作用を發揮するとする仮説を検証する。

【方法と結果】Fura-2 蛍光法により, FXIa が胎児ラット大動脈平滑筋 A7r5 細胞で Ca^{2+} 放出及び Ca^{2+} 流入を引き起こすことを見出した。 Ca^{2+} 放出及び Ca^{2+} 流入はいずれも PAR₁拮抗薬 atopaxar 及びプロテイナーゼ阻害剤 p-APMSF によって完全に抑制された。 PAR₁^{-/-}胎児マウス由来線維芽細胞では, FXIa による Ca^{2+} シグナルの発生は認められなかった。 FXIa は, PAR₁ の細胞外領域を含む組換え蛋白質を, トロンビンと同様の部位で切断した。 FXIa による Ca^{2+} 流入は電位作動性 L 型 Ca^{2+} チャネル阻害剤 diltiazem 及び Cav1.2 に対する siRNA の導入により抑制された。創傷治癒実験から FXIa が細胞遊走を促進することが明らかとなった。 FXIa の細胞遊走促進作用の一部は atopaxar 及び diltiazem により抑制された。

【結論】血管平滑筋細胞において, FXIa は PAR₁ と Cav1.2 を介して Ca^{2+} シグナルを発生させ, 細胞遊走を促進させる。血液凝固因子の機能に加え, 血管平滑筋機能調節因子としての FXIa の新たな機能が明らかとなった。(利益相反なし)

【奨励賞候補演題】

12. Discovery of novel compound from soybean which selectively inhibits the abnormal vascular contraction leading to vasospasm

Min Zhang, Ying Zhang, Bochao Lyu, Ryodai Takagaki, Hiroko Kishi, Katsuko Kajiya, Tomoka Morita, Sei Kobayashi (Department of Molecular and Cellular Physiology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, Ube, Japan)

Previously we identified sphingosylphosphorylcholine (SPC) as a highly specific spasmogen and found that eicos-

apentaenoic acid (EPA) selectively inhibits the SPC-induced, Rho-kinase (ROK)-mediated Ca^{2+} -sensitization of vascular smooth muscle (VSM) contractions leading to vasospasm and clinically prohibits vasospasm after subarachnoid hemorrhage. However, the lipophilicity of EPA restricts its intravenous injection for the emergency cases.

Extensive screening for the eatable and water-soluble molecule led us to discover soybean. Its crude extract inhibited both the SPC-induced Ca^{2+} -sensitization of VSM contraction and high K^+ -induced Ca^{2+} -dependent contraction. Purification of the extract reduced and enhanced its inhibitory effect on the Ca^{2+} -dependent contraction and the SPC-induced Ca^{2+} -sensitization, respectively. Compared the crude extract with the purified one, three compounds (genistein, daidzein and biochanin A) were identified by high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. Among them genistein showed the most potent and desirable effect. Either pre- or post-incubation of genistein specifically and strongly inhibited the SPC-induced contraction of VSM tissue, with a little inhibition of the Ca^{2+} -dependent one. Genistein inhibited the SPC-induced translocation of cytosolic Fyn and ROK to the cell membrane in human coronary artery smooth muscle cells (HCASMCs) and the SPC-induced activation of ROK and phosphorylation of myosin light chain in both VSM tissues and cells. The flippase-mediated SPC incorporation into HCASMCs were also suppressed by genistein. These data suggest that genistein is the novel compound derived from soybean, which may inhibit the abnormal VSM contraction through the inhibition of both the SPC incorporation into the cell and the ROK activation induced by SPC. (COI none)

【奨励賞候補演題】

13. Mechanical stress modulates the homeostasis of periodontal ligament

Ayano Fujita^{1,2}, Masatoshi Morimatsu², Masayoshi Nishiyama³, Shogo Takashiba¹, Keiji Naruse² (¹Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ²Department of Cardiovascular Physiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ³Department of Physics, Kindai University)

Periodontal ligament (PDL), which connects the teeth to the bone, is always exposed to mechanical stress such as occlusal force. We study the effects of stretch and pressure on PDL cells.

We cultured PDL cells under uniaxial cyclic stretch. After 4 hours, PDL cells and actin fibers were aligned in the vertical direction to the stretch axis.

We used high pressure microscope to observe PDL cells under the high pressure conditions. As a result, high pressure contracted PDL cells, but did not disrupt actin stress fibers. Our data suggested that excessive occlusal force induces the collapse of PDL. (COI none)

【奨励賞候補演題】

14. マウスヒゲ触覚信号は area parafascicularis prerubralis から下オリブ核への経路を経て小脳に伝達される

久保怜香¹, 饗場 篤², 橋本浩一¹ (¹広島大学大学院医歯薬保健学研究科神経生理学, ²東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター動物資源学部門)

げっ歯類の口辺ヒゲ領域で得られた触覚信号は眼窩下神経 (Infraorbital nerve, ION) を介して三叉神経核に伝わる。小脳プルキンエ細胞はこの触覚信号を下オリブ核 (inferior olive, IO) から complex spike (CS) として受け取ることが知られていたが、三叉神経核から IO への伝達経路は不明であった。プルキンエ細胞から single unit recording を行い、ION 刺激で誘発される CS を解析した。視床—中脳領域 (area parafascicularis prerubralis, PfPr) に GABA_A 受容体アゴニスト muscimol を局所投与した所、CS の発生が阻害された。一方、大脳皮質一次体性感覚野・一次運動野に対する muscimol 投与や、光遺伝学的手法を用いた神経活動抑制を行った所、CS 応答が阻害されなかった。逆に一次運動野抑制により CS 応答が促進したため、一次運動野が ION から IO への信号経路に対して抑制作用を持つことが示唆された。さらに形態学的解析の結果、PfPr は三叉神経脊髄路核吻側亜核から入力を受け、IO へ出力することが明らかとなった。以上の結果は、口辺の触覚信号が PfPr を中継核として IO に伝達されることを示す。(利益相反なし)

【奨励賞候補演題】

15. コリンエステラーゼ阻害剤を用いた筋再生機構の解明

戸高 寛¹, 有川幹彦², 野口達哉³, 市川 厚¹, 佐藤隆

幸¹ (高知大学医学部生理学講座循環制御学,²同 理工学部生物科学科,³同 医学部老年病循環器神経内科)

ストレスを受けた骨格筋は、筋損傷、筋幹細胞(サテライト細胞)の増殖、分化のステップを経て機能的かつ形態的に再生される。しかしながら、末梢動脈疾患などの虚血性疾患においては、虚血刺激によりサテライト細胞の増殖や分化が負に制御され、筋再生が抑制される。これによる骨格筋の委縮や線維化、および脂肪化は筋力低下を引き起こし、QOLだけでなく生命活動に大きな影響を及ぼす。我々は、これまでに、AChE阻害剤が虚血性ストレスから骨格筋を保護すること(抗虚血作用および血管新生亢進作用)、およびサテライト細胞の増殖を促進させることを明らかにしている。しかしながら、AChE阻害剤の筋分化に対する影響は明らかとなっていない。そこで本研究では、マウス筋芽細胞であるC2C12細胞を用いてAChE阻害剤の筋分化への影響を検証した。まず、C2C12細胞に対するAChE阻害剤の最適濃度を決定するため、WST-1 assayを行い、細胞生存率を算出した。その結果、コントロールと比べ1~5 μ M AChE阻害剤では生存率に変化がなかったのに対し、25~500 μ Mでは生存率が50%以下になった。従って5 μ M AChE阻害剤を最適濃度とした。次に、AChE阻害剤処理したC2C12細胞における筋分化調節因子(MyoD, myogenin, MyHC)の発現解析を行った。その結果、AChE阻害剤処理によりmyogeninおよびMyHCの発現が顕著に増加した。以上の結果より、AChE阻害剤は抗虚血作用および血管新生亢進作用、サテライト細胞の増殖作用に加え、筋芽細胞の筋分化促進作用を有することが明らかとなり(右図)、末梢動脈疾患の治療薬の一つとなる可能性が示された。(利益相反 なし)

16. 大脳皮質視覚野ニューロンが引き起こす膜電位オシレーションの伝播における non-NMDA 受容体と NMDA 受容体の相互作用

吉村 弘¹, 富永貴志², 富永洋子², 前田さおり^{4,5}, 宮地ゆうじ^{4,6}, 金山宏幸^{4,7}, 長谷川敬展¹, 姚 陳娟¹, 赤松徹也^{1,3} (¹徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔分子生理学分野,²徳島文理大学神経科学研究所,³徳島大学大学院社会産業理工学研究部生体分子機能学分野,⁴同 口腔科学教育部,⁵梅花女子大学看護学部口腔保健学科,⁶大阪人間科学大学人間科学部医療心理学科,⁷大阪急性期・総合医療センター・歯科口腔外科)

大脳皮質ニューロンはオシレーション(膜電位の周期的振動)を引き起こすことが知られているが、振動波がニューロンネットワークを伝播する様式やそのメカニズムについてはまだ不明な点が多い。我々は、カフェインがラット視

覚野スライスにおいてオシレーションを誘発することを報告した。今回、non-NMDA受容体とNMDA受容体がオシレーションの発生伝播にどのように寄与しているのかについて、光学的計測法を用いて調べた。細胞外液にカフェインを投与し、1次視覚野に低頻度刺激をおこなうと、1次視覚野から伝播する初期相と2次視覚野に振動源を持つ後期オシレーション相が誘発された。その後、NMDA受容体を阻害すると、オシレーション相が消失し、初期相において新たにnon-NMDA受容体に依存するオシレーション相が出現した。興味深いことに、この初期オシレーションの振動源は経時的に1次視覚野から2次視覚野に動いていた。さらに、NMDA受容体依存オシレーションの振動数は約10Hzであるのに対してnon-NMDA受容体依存オシレーションの振動数は約20Hzであった。以上より、一連のオシレーションの伝播において、これらの受容体の相対的な活動バランスが経時的に変化することが判明した。これはnon-NMDA受容体とNMDA受容体の動力学的性質が異なっていることに起因するのかもしれない。1次視覚野と2次視覚野におけるオシレーションを介する情報のやり取りにおいて、これら2種類の受容体の相互作用が重要な役割を演じていると考えられる。(利益相反 なし)

17. 催眠鎮静薬プロモバレリル尿素の睡眠作用・抗炎症作用の解析

武田遥奈, 瀬尾尚登, 藤田滉大, 佐藤安理沙, 木原奈那子, ME Choudhury, 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)

我々は、古典的な催眠鎮静薬プロモバレリル尿素(BU)が様々な炎症性疾患のモデルに対して治療的効果を示すことを明らかにしてきた。しかし、その催眠薬、抗炎症薬としての分子機序は未だ曖昧である。正常ウイスターラット3か月齢にBU(50, 125, 250mg/kg)を投与し、24時間脳波測定を行ったところ、250mg/kg投与時に有意に睡眠時間を延長させた。また、高齢ラット(22か月齢)にBU(250mg/kg)を投与したところ、睡眠覚醒リズムが乱れ、睡眠深度の指標であるデルタパワーが有意に低下した。これらのことから、250mg/kg投与時は催眠薬として作用するが、抗炎症作用を発揮する投与量である50mg/kgでは脳波上睡眠に影響しないこと、高齢ラットへのBU投与は慎重を要することが明らかとなった。次に、一次培養マイクログリア、アストロサイトにBU(100 μ g/ml)を添加し、XFp Mito Stress Testを用いて、ATP産生量を計測した。一次培養マイクログリア、アストロサイトのATP産生をBUは有意に低下させたが、マイクログリアでよりその抑制が顕著であった。次に、これらの細胞にリポポリサッカライ

ドを添加し、BUの抗炎症効果を比較したところ、マイクログリアでは起炎症性サイトカインTNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ケモカインCCL2のいずれのmRNAも顕著に抑制したが、アストロサイトではCCL2-mRNAのみ発現抑制が軽度であった。以上の結果は、BUの抗炎症作用にはATP産生抑制が関与していること、睡眠作用と抗炎症作用の分子機序は異なる可能性があることが示唆された。(利益相反なし)

18. 敗血症では起炎症反応が抗炎症反応に先行するのか：マウス盲腸結紮穿孔モデルを用いた免疫反応の解析

西岡龍太郎¹、馬越健介²、松本紘典²、純浦万侑¹、MEチョードリ¹、矢野元¹、相引真幸²、田中潤也¹(愛媛大学大学院医学系研究科分子細胞生理学講座、²同救急医学講座)

敗血症は、感染症を契機とし発症する免疫系の起炎症性の暴走とされ、全身性炎症反応症候群(SIRS)と呼ばれてきた。しかし、近年は起炎症反応と抗炎症反応が混合した状態が早期から発生するとされ、起炎症反応を重視したSIRSとの見方は後退しつつある。しかしながら、感染症を契機としての発症であるから、起炎症性シグナルが、代償性の抗炎症反応に先行する可能性は十分考えられる。そこで、本研究では、マウスの盲腸結紮穿孔(CLP)による敗血症モデルを作成し、時間経過を追って血液中の免疫細胞の変動をフローサイトメトリーにより、脾臓でのサイトカイン発現変動を定量的RT-PCTにより解析をした。血算による白血球数の変動は有意ではないものの、CLP6時間後に好中球と単球は急増し、その一方、リンパ球、とくにBリンパ球が顕著に減少した。Bリンパ球総数は減少するものの、IL-10産生性と考えられるCD1d⁺/CD5⁺制御性Bリンパ球分画は6時間後から急増した。脾臓では、IL-1 β 、IL-6のmRNA発現は6時間後から急上昇するが、同時に、抗炎症性サイトカインであるIL-10も同様の変化を見せた。さらに、起炎症反応の先行によって抗炎症反応が惹起される可能性を検討するため、先行する起炎症反応の抑え込みを意図しCLP後3または6時間でデキサメサゾンを経口投与したが、一層、抗炎症反応を増強する結果となった。以上の結果は、大腸菌を主要原因菌とする敗血症モデルにおいても、起炎症反応と抗炎症反応はほぼ同時に混合して生じることを示している。これは、抗炎症性薬剤の投与によって、敗血症を制御しようとする試みが成功しないことを示唆している。(利益相反なし)

19. マウス赤芽球の脱核過程におけるトランスフェリン受容体1の役割

岩下晶穂、三田佳夏子、大久保信孝、満田憲昭、青戸守(愛媛大学大学院医学系研究科循環生理学講座)

[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状赤血球を生じる。この赤血球分化の最終過程において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、フェニルヒドラジンにより貧血を誘導した成体マウスの脾臓由来赤芽球およびマウス胎児肝臓由来赤芽球を用いて脱核の分子メカニズムを解析した。

[結果]貧血誘導マウスの脾臓由来赤芽球において鉄負荷トランスフェリン(holo-Tf)の添加や鉄イオンと結合し細胞膜を透過して鉄イオンを輸送できる低分子化合物ヒノキチオール(hinokitiol plus iron)の添加によって脱核およびヘモグロビン(Hb)合成が促進されることを見出した。さらに、抗トランスフェリン受容体(TfR)1モノクローナル抗体(R17 208.2抗体)の添加がholo-Tfの脱核およびHb合成に対する促進作用を阻害すること、また、R17 208.2抗体の添加はhinokitiol plus ironによる脱核促進作用を阻害するがHb合成作用を阻害しないことを見出した。マウス胎児肝臓由来赤芽球においてもR17 208.2抗体は脱核を阻害した。TfRファミリーとしてTfR1とTfR2が存在することが知られているが、R17 208.2抗体はTfR1に特異的に結合したがTfR2には結合しなかった。

[結論]TfR1がマウス赤芽球の脱核において重要な役割を果たすことが示唆された。(利益相反なし)

20. ラット腎輸入細動脈と輸出細動脈の収縮調節の分子機序

竹谷浩介¹、Loutzenhiser K²、Wang X²、Kathol F²、Walsh MP²、Loutzenhiser R²(¹岡山理科大学獣医学部、²University of Calgary)

腎輸入細動脈と輸出細動脈は糸球体の入り口と出口にそれぞれ位置しており、腎血流量や糸球体濾過量の調節に重要な役割を果たしている。糸球体濾過量を一定にするためには輸入細動脈と輸出細動脈を選択的に収縮・弛緩させる必要があり、糸球体を挟んで一続きであるこの2つの細動脈は異なる収縮調節機序を備えている。例えば、生理的な血管収縮ホルモンであるアンジオテンシンIIは輸入細動脈と輸出細動脈を共に収縮させるが、その作用は輸出細動脈の方が強い。一方、アンジオテンシンIIに対する収縮応答速度は輸入細動脈の方が早く、輸出細動脈はゆっくりと収縮する。このような違いは収縮調節に関わる分子レベル

の差異に由来すると考えられる。実際、両細動脈平滑筋に発現している分子モーターミオシン重鎖のアイソフォームに違いが見られ、またアンジオテンシン II 刺激後のミオシン軽鎖のリン酸化状態にも違いが見られた。両細動脈ともアンジオテンシン II は AT1 受容体を介して収縮を引き起こすと考えられているが、受容体の下流では大きく異なるシグナル経路が調節に関わっている可能性が示された。(利益相反 なし)

21. ミオシンホスファターゼを介した血管平滑筋興奮—収縮連関のシグナル経路

江藤真澄 (岡山理科大学獣医学部生化学講座)

高血圧症や血管攣縮などに見られる血管壁異常収縮の機序を理解し、より良い治療方法を開発していくためには、血管平滑筋の張力を調節するシグナル経路を解明する必要がある。ミオシンホスファターゼはアゴニスト刺激に応じた GPCR シグナルや NO 放出による cGMP シグナルを受容し、平滑筋の収縮・弛緩を調節する。我々はミオシンホスファターゼを調節する細胞シグナルを分子・細胞・組織レベルで研究した。その結果は、1) 平滑筋細胞にはミオシンホスファターゼ活性を特異的に調節する 17kDa のタンパク質 (CPI-17) が発現している、2) PKC・ROCK による CPI-17 (Thr38) のリン酸化と NO 放出に応じた脱リン酸化が平滑筋収縮弛緩の継時変化を決定する、3) 病的な環境変化に応じた CPI-17 の発現量の増減と平滑筋の収縮応答の変化が一致する、4) ミオシンホスファターゼの活性を抑制する MYPT1 のリン酸化は平滑筋張力の変化を説明できない、ことを示した。従って、CPI-17 シグナルは GPCR や NO 放出に応じた血管平滑筋収縮・弛緩を定義することで血圧調節に寄与していると考えられる。(利益相反 なし)

22. 唾液腺腺房細胞 Cl⁻分泌の律速分子活性と細胞外グルコース濃度依存性

杉田 誠, 寺地桃未, 北川道憲, 廣野 力 (広島大学大学院医歯薬保健学研究科口腔生理学研究室)

唾液腺腺房細胞では副交感神経作動薬の carbachol 刺激により細胞内 Ca²⁺濃度が上昇し、腺腔側膜に局在する Ca²⁺依存性 Cl⁻チャネル (TMEM16A) が活性化され、Na⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送体 (NKCC) を介して細胞内に輸送された Cl⁻が TMEM16A を介して腺腔側に分泌され、水分を駆動する。本研究では分離腺房細胞のグラミシジン穿孔パッチクランプ法による解析、および摘出顎下腺の灌流標本での唾液分泌速度測定を用い、唾液腺の腺房細胞における Cl⁻分泌の律速分子活性、および Cl⁻と水分の細胞外グルコー

ス濃度への依存性を明らかにすることを目的とした。分離腺房細胞のグラミシジン穿孔パッチクランプ解析において、carbachol 刺激時には振動性 Cl⁻電流が誘発された。TMEM16A の部分的阻害は Cl⁻電流量に影響を与えないが、NKCC のさらなる活性化は Cl⁻電流量を増大させることより、腺房細胞では NKCC 活性が Cl⁻分泌の律速過程であることが示唆された。摘出顎下腺の灌流標本において carbachol 刺激は持続的な水分分泌を引き起こしたが、その分泌速度は細胞外グルコース濃度に依存して二相性に修飾され、細胞外グルコース濃度を低下させた場合、および上昇させた場合の両方で水分分泌速度は減少した。細胞外グルコース濃度を低下させた場合には、NKCC と TMEM16A の活性に依存した Cl⁻分泌が抑制され水分分泌が低下し、グルコース濃度を上昇させた場合には Cl⁻分泌の抑制は起こさず、その下流の過程に作用し水分分泌速度が減少することが示唆された。(利益相反 なし)

23. Zinc finger protein 521 欠損マウスでは経腸吸収不良による発育不良があり、腸上皮幹細胞の分化異常の関与が示唆される

大久保信孝, 森定なずな, 三宅琴音, 青戸 守, 満田憲昭 (愛媛大学大学院医学系研究科循環生理学)

Zinc finger protein 521 (ZFP521) は多くの幹細胞で分化調節の働きをしていることが知られている。例えば、間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化を抑制し、その一方で骨芽細胞への分化を促進する。つまり、Zfp521 の欠損では間葉系幹細胞の脂肪細胞への分化を促進する。しかしこの従来の報告とは矛盾して、我々の作製した Zfp521 欠損マウスは体躯が小さく、痩せていた。そこで Zfp521 欠損マウスの脂肪組織と栄養吸収について調べ、Zfp521 欠損マウスの発育不良の理由を考察した。

Zfp521 欠損マウスは極端に血糖値が低く、白色脂肪細胞の発育が悪くなっていた。さらに血中レプチン量は優位に減少していた。その一方で、食事は増加していたことから、栄養吸収不良が考えられた。そこで、ブドウ糖負荷試験による血糖値の経時的上昇を調べた。ブドウ糖を腹腔内投与すると、Zfp521 欠損マウスと野生型マウスで血糖値の上昇に差は見られなかったが、経口投与すると Zfp521 欠損マウスの血糖値の上昇は野生型マウスに比べ緩やかだった。さらに、糞便中のグルコース濃度を測定すると Zfp521 欠損マウスは野生型マウスより有意に上昇していた。以上の結果から、Zfp521 欠損マウスは小腸での栄養吸収不良がおこり、これが脂肪組織の発育が悪い原因となっていることが示唆された。

ZFP521 は幹細胞分化調節因子であることから、小腸上

皮幹細胞から吸収上皮細胞への分化調節に関与する可能性がある。現在、Zfp521欠損マウスの小腸上皮幹細胞の分化異常が栄養吸収不良を起している可能性について検討中である。(利益相反なし)

24. 肥満細胞の発現が社会行動へ及ぼす影響

谷岡大輔, 近久幸子, 清水紀之, 志内哲也, 大塚愛理, 勢井宏義 (徳島大学大学院医歯薬研究部統合生理学分野)
末梢系において肥満細胞は、アレルギー反応や免疫応答に重要な役割を持つ。近年の報告では、さまざまな環境の変化や刺激によって、脳内肥満細胞が活性化したり、細胞数が変化することがわかっている。我々の研究室では、肥満細胞欠損マウス(WBB 6F1/Kit^{W/Wv})を用いた実験において、肥満細胞が欠損すると不安様行動やうつ様行動の増大がみられることを報告している。しかしながら、Kit^{W/Wv}マウスは、他の細胞系への影響も指摘されており、肥満細胞自体が情動行動に影響を与えるかは、明確ではない。そこで、我々は脳内肥満細胞と情動行動との関連性をより詳細に検討するため、ジフテリア毒素(DT)を投与することで、条件的に肥満細胞を除去できるMas-TRECK (Toxin Receptor-mediated Conditional cell Knock out) マウスを用いて、新しい実験系を確立した。初めに、マウス腹腔にDTを投与して中枢・末梢の肥満細胞が除去されていることを確認した。続いて、このマウスを用いた網羅的な行動解析を行ったが、Kit^{W/Wv}マウスのような不安様行動やうつ様行動への影響はみられなかった。しかし、DTを投与した群では、社会的相互作用テストやThree chamber テストにおいて社会行動に変化が認められた。これらのことより、肥満細胞による情動行動を含めた高次脳機能への影響が示唆された。(利益相反なし)

25. マイクログリア活性化におけるグルタミン代謝の意義の解明

山口輝昌¹, 馬越健介², 矢野 元¹, 相引眞幸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, ²同救急医学)

マイクログリア(MG)は中枢神経系における免疫担当細胞として知られており、MGの過剰な活性化は神経変性疾患や脳虚血後の二次的な神経細胞傷害に関わっている。そのためMGの過剰な活性化を抑制することが病態の増悪の抑制につながると考えられ、MGの活性化シグナル抑制を目指した種々の研究がなされている。しかしそもそもMGの活性化シグナルの全貌は明らかになっておらず、抑制活性を示す化合物もその作用機序が判然としない。今般、MGの活性化シグナルが機能するうえで、細胞増殖や免疫

系の機能と密接に関係していると考えられているグルタミン代謝が前提として機能している必要があることを見出した。

マウスMG細胞株のBV2はLPS(リポ多糖:Lipopolysaccharide)刺激により活性酸素の放出やサイトカイン産生などの起炎症性反応が観察される。この時培地中のグルタミン非存在下ではMGの活性化の指標となる一酸化窒素(Nitric oxide:NO)の産生がほとんど観察されず、サイトカイン類の発現亢進も減弱するという結果を得た。一方、活性化シグナルの一つと目されるAktのリン酸化は観察されており、グルタミンの不在が活性化シグナルの機能に重篤な影響を与えていることが示唆された。現在、このグルタミン要求性の意義について、下流の代謝産物の一つであるグルタチオンに注目して解析を進めている。(利益相反なし)

26. 経血管灌流標本を用いたマウス孤束核抑制性投射ニューロンによる呼吸リズムの修飾機構の解析

濱 德行¹, 横田茂文², 藤谷昌司^{1,2}, 岡田泰昌³, 越谷直弘⁴, 小泉英彦⁴ (¹ 島根大学医学部生理学講座(神経筋内生理学), ²同 医学部解剖学講座(神経科学), ³村山医療センター臨床研究部電気生理学, ⁴Cellular and Systems Neurobiology Section, NINDS, NIH, Bethesda, MD, USA)

脳幹の呼吸パターン生成回路(CPG)で形成される呼吸リズムは、種々の感覚情報によって調節される。肺の伸展受容器からの情報は孤束核外側部のGABA/グリシン作動性の抑制性ニューロンに入力し、この抑制性ニューロンが呼吸CPGへ投射している。肺の伸展受容反射では、このニューロンからの入力によって吸息相から呼息相への移行が引き起こされると考えられている。しかし、その詳細な神経機構は不明な点が多い。今回我々は、光遺伝学的手法により、孤束核の抑制性ニューロンを選択的に刺激し、生じる呼吸リズムの変化を解析した。孤束核抑制性ニューロン特異的にチャンネルロドプシンを発現させたマウスを用いて経血管灌流標本を作成し、横隔神経及び頸部迷走神経の活動を記録することで呼吸パターンをモニターした。光刺激は両側の孤束核に光ファイバーを刺入し、レーザー光(473nm)を照射することで行った。持続的なパルス刺激(30s, 10Hz, 10ms)では呼吸は完全に停止した。また、吸息相での単一パルス刺激(100ms)では吸息が終了し、呼吸周期が短くなった。この時、呼息相の短縮も見られた。一方、呼息相での刺激では呼吸リズムへの影響は見られなかった。これらの結果より、孤束核抑制性ニューロンは吸息性ニューロンを直接抑制することで吸息相から呼息相への移行を実現していると考えられる。(利益相反なし)

27. ラットの暑熱馴化を形成する能力は加齢により低下する

松崎健太郎, 住吉愛里, 原 俊子, 橋本道男, 紫藤 治 (島根大学医学部環境生理学)

ヒトやラットでは連続的な暑熱環境への曝露により自律性体温調節機能が亢進し, 深部体温の低下や耐暑熱性の向上を特徴とする暑熱馴化が形成される。これまで我々は, 暑熱曝露された若齢ラットの視床下部で神経新生が促進されることを見出し, 新生したニューロンが暑熱馴化の形成に関与する可能性を報告してきた。本研究では, 暑熱曝露による視床下部神経新生と暑熱馴化形成に及ぼす加齢の影響をラットで解析した。Wistar 系雄性ラット (5週齢, 若齢ラット; 10ヶ月齢, 中齢ラット; 24ヶ月齢, 老齢ラット) を明暗周期 12:12時間, 自由摂食・摂水下, 環境温 24°C で2週間飼育した後, 32°C の暑熱環境に40日間曝露した (暑熱群)。なお, 環境温 24°C で飼育し続けたラットを対照群とした。暑熱曝露開始後, ラット腹腔内に Bromodeoxyuridine (BrdU; 50mg/kg/day) を5日間連続投与した。暑熱曝露終了後, 暑熱馴化形成の指標として腹腔内温の測定と急性の熱負荷に対する体温上昇を解析した。その後, ラット脳を摘出して切片を作製し, 抗 BrdU 抗体や抗 Neuronal nuclei (NeuN) 抗体, c-Fos 抗体などで脳切片を染色後に共焦点レーザー顕微鏡で免疫陽性細胞を観察した。暑熱馴化によりすべてのラットの腹腔内温は低下し, また, 急性の熱負荷に対する体温上昇が抑制されたことから, 暑熱群の耐暑熱性が亢進したことが明らかとなった。しかし, この耐暑熱性の亢進は若齢ラットで最も顕著であり, 中・老齢ラットでは有意に減弱した。一方, 暑熱曝露により若齢ラット視床下部の BrdU 陽性細胞数は顕著に増加したが, 中・老齢ラット視床下部ではほとんど変化しなかった。若齢ラット視床下部の BrdU 陽性細胞の一部は成熟ニューロンマーカーの抗 NeuN 抗体や神経活性マーカーの抗 c-Fos 抗体で染色されたが, 中・老齢ラットではほとんど検出されなかった。以上の結果より, 各齢のラットは暑熱馴化を形成し得るが, その程度は加齢により低下することが示唆された。また, 暑熱曝露は若齢ラット視床下部において神経細胞の新生を惹起するが, 中・老齢ラットの視床下部にはほとんど影響しないことが明らかになった。暑熱曝露による視床下部神経新生機能の加齢による低下が, 高齢者の体温調節機能低下に関与する可能性が示唆された。(利益相反なし)

28. 情動性エピソードで動的に変化する海馬 CA1 ニューロンの自発発火活動

石川淳子, 友景琢人, 美津島 大 (山口大学大学院医学

系研究科神経生理学講座)

海馬はエピソード記憶の形成に中心的な役割を持ち, 時空間と情動の情報を統合した特定の記憶を形成するが, 情報処理過程は未解明である。本研究では, 成熟雄ラットに4種類のエピソード (拘束ストレス, 雌ラットとの初接触, 雄ラットとの接触, 新規物体との接触) を経験させ, エピソード前, 中, 後における海馬 CA1 多ニューロン発火活動をリアルタイムモニターした。十分馴化したホームケージ内では散発的な発火活動が主に見られたが, エピソード経験開始直後から短潜時の高頻度自発発火が何度も発生した。また, エピソード後には, 記憶情報をコードすると考えられるリップル様イベントや, 発火活動が極めて少ないサイレントピリオドの発生頻度が増加し, 繰り返して On/Off の神経活動が明瞭化した。また, 経験前と比べリップル様イベントの形状が多様化し, 形状は様々なパラメータでエピソード間で有意に異なった。また上記の変化は, 情動性の強い拘束ストレスや雌ラットとの接触で顕著に起きたが, 雄ラットや新規物体との接触では顕著でなかった。さらにエピソード30分後に脳スライスを作成し, パッチクランプ法で海馬 CA1 の抑制性・興奮性シナプスを解析した所, シナプスが多様に強化され, その強化様式は経験したエピソード内容により異なることも判明した。以上, 海馬 CA1 ニューロン群で検出された発火活動とシナプスの動的変化は, 情動性エピソードの記憶形成過程の一端を示すと考えられた。(利益相反なし)

29. 新規薬剤 (CoA-CI) の脊髄損傷治療薬としての可能性

坂本一晴, 氷見直之, 林 範人, 岡部直彦, 丸山恵美, 宮本 修 (川崎医科大学医学部生理学2教室)

【目的・背景】

脊髄損傷は重篤な運動や感覚障害を生じる。今回, 脊髄損傷の治療法の一つとして血管新生に着目した。2Cl-C, OXT-A (CoA-CI) はアデノシン類似体の新規低分子化合物であり, VEGF 誘発血管形成応答を媒介する MAP キナーゼ ERK1/2 および MAP キナーゼキナーゼ MEK のリン酸化/活性化を促進し血管新生応答を誘導すると報告されている。さらに, これまでの我々の研究において脳梗塞や脳出血モデルラットに対する発症後の CoA-CI 投与で神経細胞死の抑制効果およびその後の神経細胞再生促進作用を示している。これらの効果が脊髄損傷モデルにおいても発揮されることを検証し, 臨床において脊髄損傷や脊髄の炎症の新規治療薬としての可能性を検討した。

【方法】脊髄損傷モデルラットの作成は雄 SD 群の T7-T9 レベルで荷重装置を用いて圧迫損傷を与え, 無作為に投

与群と対照群に分類した。前者には損傷直後から CoA-Cl の投与を、後者には同量の生理食塩水の投与を行った。CoA-Cl の評価は運動試験を用いた。組織の評価は免疫染色では Neuron, Astrocyte, Microglia を標識した。また TUNEL 染色を用いて細胞死を検出した。

【結果】運動機能について CoA-Cl 投与群で対照群に対し

て7日後より有意な改善が認められた。脊髓損傷後の組織に関しては28日後で CoA-Cl 投与群で空胞量の減少と7日後で Astrocyte の増加が認められ、さらに細胞死の減少を認めた。

【考察】CoA-Cl は脊髓損傷後の治療の発展と促進に寄与する可能性があると考えられる。(利益相反 なし)