

### O-1. 覚醒ラットにおけるアナフィラキシー低血圧時の体表温度の変化

○芝本利重, 九田裕一, 谷田 守, 津元国親, 倉田康孝  
(金沢医科大学・医学部・第二生理学講座)

マウスではアナフィラキシー低血圧時に直腸温度が低下することが知られている。近年, サーモグラフィーを用いて非侵襲的に体表温度を測定してマウスアナフィラキシー時に体温低下が報告されている。しかしながら, ラットでの報告はない。本研究は無麻酔ラットのアナフィラキシー低血圧においてサーモグラフィー(F50, 日本アビオニクス社)を用いて体表温度を血圧とともに測定した。感作ラットでは卵白アルブミン抗原の静脈内投与により体血圧は $113 \pm 11$  (SD) mmHg から 6 分後に  $58 \pm 10$  mmHg と最低となり, その後 1 時間には  $94 \pm 15$  mmHg に回復した。体表温度は最高値を経時的に測定した。抗原投与前値は  $37.8 \pm 0.3^\circ\text{C}$  であったが, 抗原投与後 4 分から低下傾向を認めたが, 有意の低下となったのは血圧が回復中 ( $79 \pm 18$  mmHg) の抗原投与後 16 分からである ( $37.0 \pm 0.3^\circ\text{C}$ )。その後, 体表温度は 29 分には最低となり ( $36.7 \pm 0.4^\circ\text{C}$ )。以後回復傾向を示した。一方, 非感作ラットでは測定値に有意な変化は見られなかった。以上の結果から, 体表温度はラットアナフィラキシー低血圧時に低下するも, アナフィラキシーの血圧低下よりも遅れて, その血圧回復時にみられることが示唆された。(利益相反 なし)

### O-2. Electrogenicity of mitochondrial $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ exchange in mouse heart

○Mohammed Moinul Islam, 竹内綾子, 松岡 達 (福井大学・学術研究院医学系部門・統合生理学)

Mitochondrial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange has pivotal roles in extruding mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  and thereby regulates mitochondrial metabolism. The electrogenicity of mitochondrial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange has been controversial and no membrane current through the  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchanger has been reported. We investigated the electrogenicity of mitochondrial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange by voltage clamp experiments and succeeded in measuring the mitochondrial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange currents for the first time. Mitochondria were isolated from mouse heart and were exposed to a hypotonic solution to form mitoplasts with a diameter of 3-5  $\mu\text{m}$ , which were then used for whole mitoplast patch clamp experiments. Under conditions that  $\text{K}^+$  and  $\text{Cl}^-$  currents, and  $\text{Ca}^{2+}$  uniporter current were inhibited, extra-mitochondrial application of 12.5-50 mM  $\text{Na}^+$  induced in-

ward currents with  $1 \mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$  in the pipette. The inward current was diminished without  $\text{Ca}^{2+}$  in the pipette, and was augmented with  $10 \mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$ . With 100 mM  $\text{Na}^+$  in the pipette, extra-mitochondrial application of  $10 \mu\text{M}$ -1 mM  $\text{Ca}^{2+}$  induced outward currents. Both the  $\text{Na}^+$ -induced inward and the  $\text{Ca}^{2+}$ -induced outward currents were largely inhibited by  $2 \mu\text{M}$  CGP-37157, a mitochondrial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange blocker. These results demonstrated the direct evidence that the mitochondrial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange is electrogenic.(利益相反 なし)

### O-3. 肺動脈性肺高血圧症における $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体の発現増加を制御する STAT シグナル

○山村 彩, 高橋理恵, Md Junayed Nayeem, 林 寿来, 佐藤元彦 (愛知医科大学・医学部・生理学)

肺高血圧症の中で最も典型的な臨床像を示す肺動脈性肺高血圧症 (PAH) は, 肺血管の障害によって肺血管抵抗が増加し, 持続的に肺動脈圧が上昇する致死性の難病である。PAH の病態形成には, 生体内シグナル分子の異常な分泌や細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の持続的な上昇が関与している。これまでに我々は, 肺動脈平滑筋細胞に発現し, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を感知する  $\text{Ca}^{2+}$  感受性受容体 (CaSR) の発現増加および機能増強が, PAH の肺血管リモデリング (異常な平滑筋細胞増殖) に関与していることを明らかにした。さらに, CaSR の発現増加機構には, 血小板由来成長因子 (PDGF) や PDGF 受容体 (PDGFR), その下流シグナルである MAPK/Akt 経路が関与していることを明らかにした。本研究では, CaSR 発現を制御する転写因子を同定するため, STAT シグナルに注目した。特発性肺動脈性肺高血圧症 (IPAH) 患者由来の肺動脈平滑筋細胞において, STAT1 および STAT3 のタンパク質発現が増加していた。また, PDGF-BB による PDGF シグナルの活性化は, STAT1 および STAT3 のリン酸化を促進した。正常ヒト由来の肺動脈平滑筋細胞における PDGF 誘発性 CaSR 発現増加は, STAT1 や STAT3 の siRNA ノックダウンによって抑制された。IPAH 細胞における CaSR 発現増加も, STAT1 や STAT3 の siRNA ノックダウンによって抑制された。以上より, PAH の肺血管リモデリングを亢進させる CaSR の発現調節機構に PDGFR-MAPK/Akt-STAT1/3 経路が関与していることが示唆された。本研究成果は, PAH 病態形成の分子メカニズムを解明する上で有益な知見であると考えられる。(利益相反 なし)

### O-4. 心筋 $\text{Na}^+$ チャネルの細胞側面膜からの発現減少により発生する不整脈トリガーについて: in silico 研究

○津元国親<sup>1</sup>, 芦原貴史<sup>2</sup>, 内藤成美<sup>3</sup>, 島本貴生<sup>3</sup>, 天野晃<sup>3</sup>, 倉智嘉久<sup>4</sup>, 倉田康孝<sup>1</sup> (1金沢医科大学・医学部・生理学 II, 2滋賀医科大学・情報統合センター, 3立命館大学・生命科学部・生命情報学科, 4大阪大学・国際医工情報センター)

【背景】先天的ならびに後天的に異常を来した心臓では, 心筋 Na<sup>+</sup>チャネルの発現分布が細胞内で変化することが知られている. この Na<sup>+</sup>チャネルの分布変化が不整脈の発生に関与することが示唆されてきたが, その機序は明らかでない. 【目的】細胞内 Na<sup>+</sup>チャネル分布変化が不整脈の発生にどのような影響を及ぼすかについて明らかにする. 【方法】心室筋細胞膜を介在板, 細胞体側面膜の 3 つの膜セグメントに分割したヒト心室筋モデル細胞を, Gap junction ならびに膜電位相互干渉作用 (細胞間隙に誘起する細胞外電位変化を介した興奮伝達作用) により電気的に結合した心筋ストランドモデルを構成し, その興奮伝導シミュレーションを実施した. 各細胞の膜セグメントの Na<sup>+</sup>チャネルコンダクタンスを変化させることで, 実験研究により報告された細胞内分布変化を再現し, 興奮伝導への影響を検討した. 【結果】心筋細胞の側面膜からの選択的な Na<sup>+</sup>チャネルコンダクタンスの減少は, 興奮伝導速度の低下, 活動電位形態の変化 (活動電位持続時間長の短縮) を引き起した. 細胞内 Na<sup>+</sup>チャネル分布変化に加え, Na<sup>+</sup>チャネル発現の組織内不均質性の存在は, 不整脈トリガーならびにリエントリー性不整脈の発生に寄与した. 【結論】Na<sup>+</sup>チャネルの細胞内分布変化, 特に細胞側面膜からの選択的な発現減少は, 不整脈トリガーとリエントリー形成に関与する可能性がある. (利益相反 なし)

#### O-5. X 染色体不活性化による発現/欠損細胞のモザイク分布と機能異常

○森 琢磨<sup>1,2</sup>, Enas Kasem<sup>2</sup>, 鈴木絵美<sup>2</sup>, 曹 雪杉<sup>2</sup>, 栗原大河<sup>2</sup>, 田淵克彦<sup>1,2</sup> (1信州大学・バイオメディカル研究所, 2同 医学部・分子細胞生理学)

本研究は, 患者の多くが女性である, 小脳および脳幹の低形成を伴う小頭症, Microcephaly with Pontine and Cerebellar Hypoplasia (MICPCH) 症候群の責任遺伝子 CASK に注目して研究を進めている. X 染色体上の遺伝子である CASK は X 染色体不活性化の影響を受ける. そのため, CASK ヘテロ欠損メスマウスでは, CASK 発現細胞と CASK 欠損細胞が混在した神経回路が形成されると考えられている. 我々は, その発現を単一細胞 RT-PCR 法で調べることで, 実際に遺伝的二型細胞が大脳新皮質で混在していることを明らかにした. 次に, CASK 欠損細胞のシナプス入力様式を解析したところ, CASK 正常細胞は通常の

シナプス入力様式を保っている一方で, CASK 欠損細胞は過剰な興奮性シナプス入力を受ける異常が観察された. このように, 正常細胞と欠損細胞が混在する MICPCH 症候群女性患者の脳内では, 生理的特性の異なる 2 種類の細胞が混在した回路が形成されていることが明らかになった.

この遺伝的にも生理的にも異なる 2 種類の細胞の混在は, CASK だけでなく, 自閉症原因遺伝子の一つである Neurologin3 でも観察された. この事から, X 連鎖性神経疾患においては, 異常細胞が混入することによって発症するという, 女性特有の神経回路メカニズムがある可能性が示唆された.

参考文献: Mori et al. Molecular Psychiatry, 24(7), 2019 (利益相反 なし)

#### O-6. カリウムチャネルの新しいイオン透過機構: Queuing 到着・放出機構

炭竈享司<sup>1</sup>, ○老木成稔<sup>2</sup> (1金沢大学・ナノ生命科学研究所, 2福井大学・高エネルギー医学研究センター)

チャネルのイオン透過機構の研究は長い歴史がある. カリウムチャネルの結晶構造が得られて以来, この 20 年間で理解が大きく進んだが, いまだ議論が尽きない. カリウムチャネルのイオン選択性フィルタは, 従来の実験でえられた一列透過 (single-file permeation) を支持する細く短い (直径 3Å, 長さ 12Å) 構造で, イオンも水分子もフィルタ内では追い越すことはできない. このことを利用して流動電位が測定され, 水-イオン流束比 (水流束/イオン流束) が求まる. この値はフィルタ内に何個のイオンと水が存在するか教えてくれる. 私達は新しい流動電位測定法により, 3 種類のカリウムチャネル (KcsA, Kir, HERG) の水-イオン流束比を求めた. K<sup>+</sup>濃度 100mM 以上ではどのチャネルでも水-イオン流束比が 1 であり, フィルタ内にイオンと水分子が交互に並ぶ従来の透過様式を支持する. 一方, K<sup>+</sup>濃度が低くなると, 水-イオン流束比が 2 を超えた. これは短いフィルタの中にイオンが一個, 水分子が 3 個入っている状況が起こっていることを示している. これはイオン透過に不可欠であると考えられてきた knock-on 仮説では説明できない. 分子動力学シミュレーションの結果を event-oriented analysis 法により解析し, 新しい queuing 到着・放出機構を提案した. (利益相反 なし)

#### O-7. ダイヤモンドセンサを用いた複数薬物のリアルタイム定量

○澤村晴志朗<sup>1</sup>, 緒方元気<sup>1</sup>, 浅井 開<sup>2</sup>, 桑原沙耶香<sup>1</sup>, 加藤理都<sup>1</sup>, ラズビナ オリガ<sup>1</sup>, 栄長泰明<sup>2</sup>, 日比野 浩<sup>1</sup> (1新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学, 2慶

應義塾大学・理工学部・化学科)

生体に投与した薬物が、各臓器の局所においてどのような濃度動態を示すかをリアルタイムに定量することは、薬効や毒性の仕組みを理解する上で鍵となる。臨床では、感染症など多くの疾患において、複数の薬物を併用することが一般的であるが、その組み合わせによっては相互作用が起り、単一薬物投与時とは異なる振る舞いを示す。従って、効果的な多剤投与方法を理論的に設計するためには、複数の薬物をリアルタイムに測り分ける手法が必要である。本研究では、この課題にアプローチするため、針状ダイヤモンドセンサを用いて溶液中の二種の薬物の濃度を同時定量する方法を開発した。テスト薬物として、細菌性髄膜炎などの感染症で併用される二種の抗菌薬、バンコマイシンとセフトリアキソンを選択した。まず、PBS 中にて、それぞれの薬剤を対象に様々な電位における濃度-電流関係を調べた。共に負電位を与えた時に還元電流を発生した。次に、2つの抗菌薬が共存する溶液中で検討した。この条件で測定される電流には、両薬剤の酸化・還元反応が関わる。それぞれの薬物を分離して定量するため、酸化・還元に対する感受性の違いに着目して解析した。その結果、セフトリアキソン存在下でも、有効治療濃度域(0.6-25 $\mu$ M)のバンコマイシンを秒単位の時間分解能で定量できた。以上より、生体局所における複数薬物の複雑な薬物動態を解析するための基礎技術が創出された。(利益相反 なし)

#### O-8. ニホンザル前頭前野皮質脳波を利用した、報酬選択における価値関連情報のデコーディングとその時空間分布の検証

○田中慎吾<sup>1,2</sup>、伊藤陽介<sup>3</sup>、川寄圭祐<sup>2</sup>、長谷川 功<sup>2</sup>、鈴木隆文<sup>4</sup>、坂上雅道<sup>1</sup> (<sup>1</sup>玉川大学・脳科学研究所、<sup>2</sup>新潟大学・医学部・神経生理学、<sup>3</sup>東京大学大学院・総合文化研究科、<sup>4</sup>脳情報通信融合研究センター(CiNet)・情報通信研究機構(NICT))

複数の選択肢の中から一つを選ぶ際、脳内では各選択肢の価値を計算し、最も価値のある選択肢が選ばれる。価値をもとにした意思決定に際しては、価値関連信号が前頭前野の複数領域を伝達され、価値の計算や比較などが行われると考えられている。しかしながら、この点について直接検証する神経生理学的研究は、ほとんど行われていない。そこで、本研究では、まず前頭前野における価値関連情報の時空間分布について検証した。

二頭のニホンザルに対し、報酬選択課題の訓練を施した。この課題では、報酬と関連付けられた二つの視覚刺激が順番に呈示され、その後二つの刺激が同時に呈示されるため、一方を選択することで、視覚刺激に関連付けられた報酬を

得ることができる。この課題によって、報酬である五種類のジュースに対する好みを推定した。

同時に、報酬選択課題遂行中のサル前頭前野(LPFC, OFC, MPFC, ACC)から皮質脳波を記録し、デコーディング解析を行った。報酬価値は、四か所の前頭前野領域全てでコードされていた。二つ目の視覚刺激呈示中の価値情報は、その刺激を選ばないときには減少し、また早く消失していた。さらに、二つ目の視覚刺激呈示中にも、一つ目の刺激の報酬価値情報は保持されていたが、それらの情報をコードする神経細胞集団は異なっていた。以上の結果から、高い価値をコードする神経細胞集団が、生じた低い価値情報を抑制することによって、価値の比較がなされる可能性が考えられた。(利益相反 なし)

#### O-9. Neural mechanisms of symbolic association and construction in the macaque prefrontal cortex

○Nanxi Liu<sup>1</sup>, Kento Ohashi<sup>2</sup>, Keisuke Kawasaki<sup>1</sup>, Takafumi Suzuki<sup>3</sup>, Takeshi Matsuo<sup>4</sup>, Atsuhiko Iijima<sup>2</sup>, Isao Hasegawa<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dept Physiol, Niigata Univ Sch of Med, Niigata, Japan, <sup>2</sup>Grad Sch of Sci & Tech, Niigata Univ, <sup>3</sup>Natl Inst of Info & Comm Tech, <sup>4</sup>Dept Neurosurg, Tokyo Metropoli Neurol Hosp)

Any human language system has a universal double articulation structure, in which words, the smallest meaningful units constituting a sentence, are further constructed by combination of meaningless letters. We trained two monkeys (*Macaca fuscata*) to learn a visual symbol system with double articulation structure in which six symbols associated with different objects are constructed from different combinations of two meaningless geometric elements. In human neuroimaging studies, the left inferior frontal cortex (IFG) has been implicated in linguistic articulation and suggested to serve a role in linking the dual-step articulation processes. However, whether double articulation-like behaviors in non-human primates are based on homologous neural circuits with humans remain unclear. Here we recorded electrocorticogram (ECoG) from the prefrontal cortex of the monkeys while the monkeys performed three tasks: 'object-name' association task, 'word' construction task and symbolic name construction task. We then calculated event-related spectral perturbation (ERSP) and plotted activation maps for each task in each frequency band in time series. The analyses show similarity and contrasts of the maps across the tasks, which helps to estimate neural activity specific to symbolic

association and construction during the double articulation-like behaviors.(利益相反 なし)

#### O-10. テトラサイクリン調節ドーパミン D1 受容体発現を有する遺伝子改変マウスを用いたドーパミンによる運動制御機構の解明

○笹岡俊邦<sup>1</sup>, 齊藤奈英<sup>1</sup>, 原 怜<sup>2</sup>, 田井中一貴<sup>1</sup>, 知見聡美<sup>3</sup>, 阿部 学<sup>1</sup>, 川村名子<sup>1</sup>, 山口 瞬<sup>4</sup>, 鍋島陽一<sup>5</sup>, 一瀬 宏<sup>2</sup>, 崎村建司<sup>1</sup>, 南部 篤<sup>3</sup> (<sup>1</sup>新潟大学・脳研究所, <sup>2</sup>東京工業大学・生命理工学院, <sup>3</sup>生理学研究所, <sup>4</sup>岐阜大学・大学院・医学系研究科, <sup>5</sup>先端医療研究センター)

パーキンソン病 (PD) は、振戦・無動などの運動症状、認知障害・うつ状態などの非運動症状を示し、その症状は中脳ドーパミン神経細胞の変性脱落によるドーパミン (DA) 神経伝達障害に起因すると考えられる。PD は高齢者における罹患率が高く、病因の解明、新規治療法や予防法の開発が急務である。中脳ドーパミン神経細胞は主に線条体に投射するが、「直接路」神経細胞はドーパミン D1 受容体 (D1R) を、「間接路」神経細胞は D2 受容体 (D2R) を発現している。しかし大脳基底核の情報伝達における D1R と D2R の機能の詳細は明らかではない。

PD の症状発現の機構、及び大脳基底核の情報伝達における DA の役割を理解するため、薬物投与により D1R を欠損させることができる D1R ノックダウン (KD) マウスを開発し、D1RKD マウスを D1R 欠損状態にしたところ、運動量の減少、運動学習試験及び記憶学習成績の低下を認めた。また、組織透明化による全脳高解像度解析を用いて受動的回避試験時の神経活動を観察した。

さらに、運動学習における線条体の機能を理解するには、グルタミン酸作動性入力とドーパミン作動性入力の相互作用、およびシナプス可塑性に対する影響の分析が重要である。NMDA 受容体はシナプス可塑性において重要な役割を果たすことから、我々は、D2R 発現細胞特異的に活性化 NMDA 受容体を発現するマウスを開発し、行動解析試験を行っている。(利益相反 なし)

#### O-11. ラットは複合口腔感覚をどのように認知し識別しているか? ~行動学的、電気生理学的検討~

○山村知暉, 安尾敏明, 諏訪部 武, 畚 哲崇 (朝日大学・歯学部・口腔生理学)

我々、ヒトを始めとする雑食性動物が通常摂取しているのは、単純な単一物質からなる味溶液ではなく、味覚として受容される化学的成分に加え、温度、固さ、テクスチャーといったような体性感覚として受容される成分も含んだ複

合刺激である。しかしながら、従来の研究は、味覚の研究者は単一味溶液の研究を、体性感覚の研究者も、その専門の感覚のみに着目しており、この手法を続ける限り、本来の食物摂取行動において動物がその食物が有する複合刺激をどのように認識判別しているかを理解するにはほど遠いものと考えられる。現実的に、2種の異なった味質の混合味溶液を動物が、元の成分の性質を残した味質として認識するのか、それとも、元の性質から離れたユニークな味質として認識するのかについてさえ、研究者の間で長い間、議論が分かれてきたところであった。

そこで、本発表では、近年、我々の研究室で行ってきた、ラットが混合味溶液をどのように認識・識別しているかを検討する行動学的実験結果を紹介するとともに、混合味溶液に対する味覚神経応答の特徴、混合味刺激内容物の識別に関わる生体側の要件 (混合味刺激の内容物の識別にはどの程度の時間味溶液を味わう必要があるのかなど)、さらには、味物質に温度刺激を加えた場合の動物の行動応答の変化について最新の実験結果を紹介する。(利益相反 なし)

#### O-12. 心理ストレスによる交感神経反応と行動反応を駆動する皮質-視床下部神経路

片岡直也, 嶋 佑太, ○中島啓輔, 中村和弘 (名古屋大学・大学院医学系研究科・統合生理学)

心理ストレスを受けた哺乳類は自律神経性、内分泌性、行動性の多様な反応を示す。例えば、交感神経系を介した熱産生、体温上昇、頻脈、血圧上昇や、ストレスホルモン分泌の上昇、社会行動の低下はそうした例である。こうした反応は、人間を含めた哺乳類に備わった基盤的な防衛反応だと理解されるが、それらを駆動する脳内の神経回路メカニズムは不明な点が多い。

我々はこれまでに、視床下部背内側部 (DMH) から延髄に至る神経路が、心理ストレスによる褐色脂肪熱産生、体温上昇、心血管反応を駆動することを報告した (Cell Metab. 25: 322-334, 2017)。しかし、ストレスや情動を処理する前脳の神経回路から DMH へどのようにしてストレス信号が伝達されるのかは大きな謎であった。今回、ラット内側前頭前皮質の最腹側部にある dorsal peduncular cortex (DP) と dorsal tenia tecta (DTT) に、心理ストレスによって活性化され、DMH へ入力するグルタミン酸作動性の神経細胞群を発見した。DP/DTT から DMH への神経路を選択的に光刺激すると、ストレス反応に似た褐色脂肪熱産生や心血管反応が惹起された。一方、DP/DTT から DMH への神経路を選択的に破壊あるいは光抑制すると、社会的敗北ストレスによる褐色脂肪熱産生、体温上昇、皮膚血管収縮、心血管反応がすべて消失した。驚いたことに、この神経路

を光抑制すると、ストレスによる社会行動の抑制が起らなくなった。DP/DTT はいくつかの視床や皮質領域からストレス信号の入力を受けることも分かった。

これらの結果は、ストレスや情動を処理する前脳の神経回路からの信号を DP/DTT が統合し、それを DMH へ伝達することによって交感神経性や行動性の多様なストレス反応を駆動することを示す。DP/DTT から DMH への神経路は、一群のストレス反応を駆動するだけでなく、情動が生体調節系へ作用する上でも重要な役割を担う可能性が考えられる。(利益相反 なし)

### O-13. マウス発育期の社会的敗北ストレスはオリゴデンドロサイトの新生を抑制し、抑うつ状態を惹起する

清水健史, 石田真章, 田尻直輝, ○飛田秀樹 (名古屋大学・医学研究科・脳神経生理学)

発育期は、心身の発達と社会環境変化が著しく、精神疾患の発症率が高くなっている。しかし、発育期に生じる精神疾患発症メカニズムの基礎研究は十分に行われていない。中枢神経系のオリゴデンドロサイト (以下 OL) の動態は、出生後の様々な環境変化によって調節される。最近の研究は、OL のリモデリングが運動学習や社会的相互作用に関与していることを示している。

本研究は、発育期の心理社会的環境が OL のリモデリングに影響を及ぼし精神疾患発症に作用するかどうかを調べるため、社会的敗北ストレスモデルマウスを用い、行動解析や免疫染色等により解析を行った。

社会的敗北ストレスを負荷した発育期のマウスは、抑うつ症状を呈した。また社会的敗北ストレスは、前頭前野の新生 OL の数と、脳梁の PLP 陽性の成熟 OL の数の減少をもたらした。これらのマウス脳の両領域では、BrdU を取り込んだ CC1 陽性の成熟 OL の数も減少していた。次に OL のリモデリングが、社会的敗北ストレスによる抑うつ状態の発症に関与するかどうかを調べた。OL の産生を促進する薬物を経口投与すると、モデルマウスの行動異常が寛解されることを見出した。

これらの結果から、OL の産生を促進することによって、社会的敗北ストレスに惹起される抑うつ症状が改善できることが明らかになった。これらの発見は、心理社会的環境下での OL のリモデリングが精神疾患発症において重要な役割を果たすことを示唆している。(利益相反 なし)

### O-14. シナプスクラスタリングによる聴覚同時検出の制御

○山田 玲<sup>1</sup>, 深澤有吾<sup>2</sup>, 久場博司<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学・医学部・細胞生理学, <sup>2</sup>福井大学・医学部・脳形態機能学)

トリ層状核 (NL) 神経細胞は両耳からのシナプス入力の同時検出器として働くことで両耳間時差 (ITD) 検出を行い、音源定位に関わる神経核である。特に低周波数音を担当する細胞では長い樹状突起を持つことが知られており、ITD 検出における樹状突起の重要性が示唆されている。しかしながら NL 細胞におけるシナプス分布の詳細が不明であることから、樹状突起上でシナプス入力がどのように統合され、ITD 検出にどのような効果をもたらすのかについては明らかになっていない。そこで本研究では NL 細胞樹状突起におけるシナプス分布を、主に caged グルタミン酸を用いた局所刺激によって解析した。その結果、シナプス入力は樹状突起遠位部に集中していること、このような遠位部への入力は細胞体へ伝わる過程で大きく減衰することが分かった。この減衰は入力強度依存的であり、その過程には入力部位局所での脱分極が関与することも示唆された。シミュレーションを用いて検討したところ、局所脱分極によるシナプス電流の減少とカリウム電流の増加が入力強度依存的な減衰を引き起こしていた。このような減衰によって、両側同時入力による発火は維持されるのに対して、同時からずれた時の発火が効果的に抑制され、結果として高い ITD 検出精度が様々な入力強度に対して維持されることが明らかとなった。これまでの結果から、NL 細胞において樹状突起遠位にシナプス入力をクラスタリングさせることが、様々な音圧に対して音源定位を可能にするメカニズムの一つとして機能していると考えられた。(利益相反なし)

### O-15. Excitatory-inhibitory balance in the avian cochlear nucleus

○Mohammed AL-Yaari, Rei Yamada, Hiroshi Kuba (Dept. Cell Physiol., Grad. Sch. Med, Nagoya Univ.)

Output of neurons relies on balance between excitatory and inhibitory synaptic inputs. Neurons in avian nucleus magnocellularis (NM) integrate monosynaptic excitatory and polysynaptic inhibitory inputs from the auditory nerve, and transmit phase-locked output to higher auditory centers. The excitatory input is differentiated tonotopically, the number being fewer and the size being larger in neurons tuned to higher frequency, but how the balance between excitatory and inhibitory inputs is determined in NM remains elusive. We here examined synaptic and spike responses of NM neurons during stimulation of the auditory nerve in a thick slice of chicken brainstem, and found that the excitatory-inhibitory balance was determined differentially according to tonotopic regions, en-

asuring reliable spike output across frequencies. The auditory nerve stimulation elicited IPSCs in NM neurons irrespective of tonotopic regions, but their dependence on intensity differed. In neurons tuned to low frequency, IPSCs appeared and increased in parallel with EPSCs with elevation of intensity, which expanded dynamic range by preventing saturation of spike generation. On the other hand, in neurons tuned to higher frequency, IPSCs required stronger stimuli for induction and remained smaller than EPSCs, being suitable for high-fidelity transmission. Computer simulation confirmed that these differentiations of inhibitory input were optimally coupled with the patterns of excitatory input, and secured appropriate level of neuronal output for wide intensity and frequency ranges of sound in the auditory system. (利益相反 なし)

#### O-16. 帯状疱疹後神経痛患者における右背外側前頭前野の脳血行動態は、プラセボ鎮痛および臨床症状に関連する

○岩間雄大<sup>1</sup>、日比大亮<sup>2</sup>、高本考一<sup>2,3</sup>、海老名翔平<sup>1</sup>、西丸広史<sup>1</sup>、松本惇平<sup>1</sup>、高村雄策<sup>1</sup>、山崎光章<sup>2</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・システム情動科学、<sup>2</sup>同 麻酔科学、<sup>3</sup>東亜大学・人間科学部・スポーツ健康学科)

帯状疱疹後神経痛は慢性疼痛を呈し、その発症メカニズムは不明である。一方、背外側前頭前野は、下行性痛覚調節系を介したプラセボ鎮痛に関与し、痛覚抑制系として機能している。また慢性痛では、条件刺激と痛覚刺激の連合学習が障害されている可能性がある。本研究では、条件刺激と痛覚刺激の連合学習課題における背外側前頭前野の応答性を健常者と帯状疱疹後神経痛患者で比較解析した。まず、健常者 (n=15) および帯状疱疹後神経痛患者 (n=7) に手掛り音と痛覚性電気刺激の連合課題 (低音—弱痛覚刺激、高音—強痛覚刺激) を学習させた。その後、この連合課題において、プラセボおよびノセボ効果を誘発させる、それぞれ低音—強痛覚刺激および高音—弱痛覚刺激の組み合わせを低頻度で挿入し、両側背外側前頭前野における脳血行動態を近赤外分光法により計測した。その結果、患者群ではプラセボおよびノセボ効果が健常者より低く、条件刺激と痛覚刺激の連合学習が障害されていることが示唆された。また低音に対する右背外側前頭前野の血行動態が、プラセボ効果と相関し、患者群で有意に低下していた。さらに、帯状疱疹後神経痛の臨床症状は、右背外側前頭前野およびプラセボ効果と相関していた。以上から、帯状疱疹後神経痛患者では、右背外側前頭前野の機能が障害されてお

り、これによりプラセボ効果および下行性疼痛抑制系も障害され、慢性痛が発症した可能性が示唆された。(利益相反なし)

#### O-17. 覚醒下ミクログリアの2光子カルシウムイメージング

○堀内 浩<sup>1,2</sup>、石田順子<sup>1</sup>、鍋倉淳一<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所・生体恒常性発達研究部門、<sup>2</sup>総合研究大学院大学・基盤神経科学)

生理的条件下のミクログリアは複雑な突起を動かすことによって、シナプスと頻回に接触し、それが神経活動依存的事であることが示されている (Nimmerjahn et al, 2005; Wake et al, 2009)。シナプスに接触によってその発火頻度を増加させることも明らかとなった (Akiyoshi et al, 2018)。ミクログリアの欠損によって運動学習機能が低下する (Parkhurst et al, 2013) などミクログリアの生理的な機能の重要性が判明する一方、免疫細胞への遺伝子導入が難しいことから、ミクログリアの活動様式についてはほとんどわかっていない。これまでに麻酔下ミクログリアの  $Ca^{2+}$  活動は非傷害時にはほとんどないことが報告されている (Pozner et al, 2015; Brawek et al, 2017)。しかしながら、覚醒マウスの活動様式についてはこれまでに分かっていない。そこで本研究では、遺伝子改変動物の新規開発と覚醒下ミクログリアの  $Ca^{2+}$  活動様式を明らかにすることを試みた。我々は、ミクログリア特異的に  $Ca^{2+}$  感受性蛍光タンパク質 GCaMP6 を発現する遺伝子改変マウスを作成した (Ibal-tTA : : tetO-GCaMP6)。本動物は、従来の Ibal-Cre : : floxed-GCaMP5G と比較して、高い S/N 比を持つ GCaMP6 を用いている点、ミクログリアへの発現の特異性を向上している点で優れている。生体 2 光子イメージングによって覚醒下ミクログリアの活動様式を観察したところ、特に突起における非常に活発な活動を認めた。さらに、脳表から tetrodotoxin (30uM) を投与したところ、その活動は著明に抑制された。したがって、ミクログリアの  $Ca^{2+}$  活動が神経活動依存的事であることが明らかとなった。(利益相反 なし)

#### O-18. 除神経モデルマウスの骨格筋におけるホスホランバンの発現量の増加

○中田 勉<sup>1,2</sup>、小松雅俊<sup>1</sup>、山田充彦<sup>1</sup> (<sup>1</sup>信州大学・医学部・分子薬理学、<sup>2</sup>信州大学・基盤研究支援センター・機器分析)

骨格筋の萎縮は、神経障害、加齢、敗血症など様々な疾患で認められる病態である。筋萎縮は筋量 (筋断面積) の減少として定義されるが、多くの萎縮病態では単位面積当

たりの筋力（特異張力）も同時に減少することが知られている。この特異張力の減少の一因としてカルシウム代謝の異常が考えられるが、その分子的基盤には不明な点が多い。これをあきらかにするために、本研究ではマウス除神経モデルを用いた検討を行った。雄性 C57BL/6 マウスの片側の坐骨神経を切断し、14 日後に解析を行った。除神経側の前脛骨筋では、健側と比較して筋張力、断面積、特異張力が有意に減少していた。短趾屈筋を用いてカルシウム動態を検討した結果、電気刺激により惹起される  $Ca^{2+}$  上昇が除神経側で有意に低下していた。また、シクロピアゾン酸を用いた実験を行った結果、除神経側における筋小胞体内  $Ca^{2+}$  含量の低下が認められた。そこで、筋小胞体の  $Ca^{2+}$  貯蔵に重要な役割を果たす SERCA 活性を測定したところ、除神経側で活性の低下が観察された。さらに、前脛骨筋に発現するカルシウム代謝関連分子群をウェスタンブロッティング法で定量した。その結果、除神経処理によってホスホランパンの発現量が著明に増加していることが明らかになった。これらの結果から、除神経による筋力低下に、ホスホランパンの発現増加が関わっていることを示唆された。（利益相反 なし）

#### O-19. 強心配糖体によるがん細胞内ナトリウムポンプを介したグルコース輸送体トランスポーター制御機構

○藤井拓人<sup>1</sup>、大坪愛実<sup>1</sup>、Nguyen Thi Tu Oanh<sup>1</sup>、加藤瑞希<sup>1</sup>、清水貴浩<sup>1</sup>、竹島 浩<sup>2</sup>、酒井秀紀<sup>1</sup>（<sup>1</sup>富山大学・薬学部・薬物生理学、<sup>2</sup>京都大学・薬学部・生体分子認識学）

がん細胞は ATP 合成を解糖系に大きく依存しており、原形質膜においてグルコース輸送体 GLUT1 が高発現することでグルコース取込みが亢進している。我々は、ナトリウムポンプ阻害剤の強心配糖体（ouabain, oleandrin, digoxin）が nM レベルで、ヒト肝がん由来 HepG2 細胞における GLUT1 発現レベルを減少させ、がん細胞内へのグルコース取込みを阻害することを見出した。各種阻害剤を用いた実験により、強心配糖体は CaMKII を活性化することで GLUT1 のエンドサイトーシスおよび分解を促進することが示唆された。また HepG2 細胞において、 $Na^+$ 、 $K^+$ -ATPase  $\alpha 1$ -isoform ( $\alpha 1NaK$ ) に加えて、通常神経細胞に発現する  $\alpha 3$ -isoform ( $\alpha 3NaK$ ) が細胞内小胞に異常発現していることを見出した。siRNA により HepG2 細胞の  $\alpha 1NaK$  をノックダウンしても強心配糖体による GLUT1 発現抑制効果に変化は見られなかったが、 $\alpha 3NaK$  の有意な発現がないラット肝がん dRLH-84 細胞では、強心配糖体による効果が観察されなかった。しかし、ヒト  $\alpha 3NaK$  を過剰発現させた dRLH-84 細胞では強心配糖体による GLUT1 発現抑制

効果が見られた。以上より、強心配糖体によるがん細胞内ナトリウムポンプ  $\alpha 3NaK$  を起点とした新規のグルコース輸送体トランスポーター制御機構の存在が示唆された。（利益相反 なし）

#### O-20. 小腸グルコース輸送活性調節機構と傍細胞 $Na^+$ 透過性の変化

○林 久由、中村千紗都、石塚典子（静岡県立大学・食品栄養科学部・生理学）

小腸での栄養素吸収機構は、生体が必要なエネルギーを外界から取り込むための根源的な機構であり、その中でもグルコース吸収機構は普遍的な機構である。管腔側でのグルコース輸送は  $Na^+$  依存性の機構である SGLT1 により輸送され、これが唯一の吸収機構であると考えられていた。しかし、近年 SGLT1 以外の機構によりグルコースが吸収されることが示唆されている。本研究では、摂食によるグルコース吸収輸送活性調節機構を単離したマウス小腸を用い検討した。ユッシングチャンパー法にてグルコース誘発の短絡電流上昇ならびにアイソトープラベルしたグルコースの経上皮フラックスを測定した。摂食群の上部小腸では、SGLT1 輸送活性を示すと考えられる短絡電流上昇は、ほとんど観察されなかった。しかし、絶食により SGLT1 輸送活性が約 20 倍に上昇した。また、グルコースフラックスは、自由摂食群では僅かな SGLT1 によらないと考えられるグルコース吸収機構が観察されたが、この機構は摂食により影響されなかった。また、絶食による  $Na^+$  依存性の SGLT1 輸送活性の上昇と同時に、上皮細胞間の  $Na^+$  透過性の上昇が観察された。以上より、上部小腸では、絶食により、 $Na^+$  依存性の SGLT1 輸送活性の上昇とタイト結合部の  $Na^+$  選択性の上昇が同時に観察され、これは摂取したグルコースを速やかに、かつ効率的に吸収するために必要な生理機構であると考えられた。（利益相反 なし）

#### O-21. ラットの下行性疼痛抑制系による大腸運動制御におけるオキシトシンの関与

○堀井和広<sup>1</sup>、島岡弘樹<sup>1</sup>、堀井有希<sup>1</sup>、椎名貴彦<sup>1</sup>、志水泰武<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup>岐阜大学大学院・連合獣医学研究科・獣医生理学研究室、<sup>2</sup>岐阜大学・生命の鎖統合研究センター（G-CHAIN））

【背景・目的】我々はこれまで下行性疼痛抑制系が大腸運動を制御すること、この制御には雌雄差があることを解明してきた。近年、雌性特有な生理機能を調節するオキシトシンが下行性疼痛抑制系にも関与することが報告されている。本研究では下行性疼痛抑制系を介した大腸運動制御の雌雄差におけるオキシトシンの関与を検討した。

【方法】麻酔下の雄雌ラットの大腸内にカニューレを挿入した。内腔を生理食塩水で満たし、大腸内の圧変化と大腸から排出される液量を測定した。侵害刺激を起こす物質としてカプサイシンを大腸内に投与した。脊髄腔内にカニューレを挿入し薬剤投与を行った。また、後肢足底にフロイントの完全アジュバントを注入し、炎症性の痛覚過敏モデルを作成した。

【結果】雄ラットの大腸内腔にカプサイシンを投与すると大腸運動が亢進したが、雌では大腸運動の亢進はみられなかった。雌ラットの脊髄腔内にオキシトシン受容体の阻害薬を前投与した場合でも、大腸内へのカプサイシン投与により大腸運動は促進されなかった。しかしながら痛覚過敏モデルでは、オキシトシン受容体阻害薬を前投与することでカプサイシン投与によって大腸運動が促進された。

【考察】本研究により、オキシトシンが下行性疼痛抑制系を介して大腸運動を抑制することが示唆された。女性ではオキシトシン神経系を介する大腸運動の抑制が強く作動するために便秘になりやすいといった発症機序が考えられる。(利益相反 なし)

#### O-22. 小腸ペースメーカー電位の伝搬パターン解析

岩田尚子, 高井千穂, ○中山晋介 (名古屋大学・医学部・細胞生理学)

消化管の各部位では様々な協調運動が見られる。これまで医学・生理学の教科書では、消化管の協調運動は蠕動運動を例にして、口側興奮性運動神経と肛門側抑制性運動神経が同時に活性化するという神経回路反射で説明されてきた。しかし近年の研究から、ネットワーク状に分布するペースメーカー Cajal 間質細胞も協調運動に寄与すると考えられるようになった。

そこで本研究では、私たちの開発した透折膜微小電極アレイ法を用いて、マウス小腸筋層のペースメーカー電位の伝搬について解析した。Ca拮抗薬存在下で平滑筋の活動を抑制し、8×8フィールド電位をマッピングしたところ、1) ペースメーカー電位の連携活動は、暫定的に3パターン(Bumpy, Expanding, Migrating)に分類された。2) その一つ migrating パターンでは、ペースメーカー電流ソース領域は電流シンクに先導され、容積伝導体として移動することがはっきりと観察された。3) また同じパターンでも、その伝搬は様々で、方向・速度など個々の標本で多様であった。4) さらに、同じ標本でも時間経過とともに、パターン間の遷移も観察された。5) セロトニン(5-HT)を加えたところ電位伝搬が改善し、Migrating パターンの比率が増加した。一方、腸内細菌代謝産物である3-IPAを投与するとペースメーカー電位の発生が抑制された。最近の新しい知見

についても発表したい。

#### O-23. 非線形光学顕微鏡を用いた生体血管分別法およびその構造機能解析

○本藏直樹<sup>1</sup>, Lena Claesson-Welsh<sup>2</sup>, 浦野哲盟<sup>1</sup> (<sup>1</sup>浜松医科大学・医学部・生医学講座, <sup>2</sup>Uppsala University・Rudbeck Laboratory)

人をはじめとした多細胞生物は、高度に機能分化した臓器群を用いて、またそれぞれの臓器間情報伝達を時間精度よくおこなうことによって、生体の動的な恒常性を維持し、多様な外的変動にも対応できる生体システムを作り上げている。この高度なシステムを維持するために、臓器間の適切な情報伝達機構が重要で、これに大きく寄与するのが生体で唯一の物質輸送路、すなわち血管のネットワークである。そこで我々はその血管の機能と局所の生体恒常性の関係を理解するために、またその血管の種別による機能の違いを明確にするために、新規の血管分別法を開発し、血管種別ごとの機能と構造を生体で計測することを試みた。

その結果、毛細血管および細静脈では局所の血圧変動に対して非常に動的な構造可塑性を有することが判明し、それは細動脈系では生じないことなどから、辺縁組織と局所血圧とのバランスで、末梢血流の制御および機能制御がおこなわれている可能性を示唆する結果を得た。このことは、より早い局所の血圧や血流変動に動脈系だけで無く静脈系も強く関与していることを予期させる。さらに解剖学的に末梢神経節が微小循環に達していること、またこれら神経終末から放出されるアセチルコリンおよびノルアドレナリンを人工的に作用させると毛細血管網に影響をあたえることも知られているため、中枢だけでなく末梢でもこのような神経調節機構による血流、血圧、血管径などの血管機能が制御されており、それは動脈系だけでなく毛細血管網および細静脈の能動制御が存在することを強く疑わせ、それが局所の生体恒常性に強く関与していると考えられるため、その内容を本研究会で議論したい。(利益相反 なし)

#### O-24. 胎生マウスの冠血管の形態機能に見られる性差

○長谷川歩惟<sup>1</sup>, 児玉昌美<sup>2</sup>, 奥野理菜<sup>1</sup>, 橋口丈晃<sup>1</sup>, 山口賢彦<sup>1</sup>, 山崎泰広<sup>1</sup>, 坂本多穂<sup>1</sup>, 黒川洵子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>静岡県立大学・薬学部・生体情報分子解析学, <sup>2</sup>東京大学・定量生命科学研)

心血管病には発症性差があり、男女における生物学的な違いだけではなく社会的な違いも影響するが、性差機構はほとんど解明されていない。冠血管に注目すると、女性に比べ男性の血管径は太い。さらに、未熟児の生存率の性



差における血圧の関与および閉経後女性に特徴的な微小血管狭心症などの臨床所見は、性ホルモン以外の影響を示唆している。そこで、我々は、胎生マウスの冠血管における形態機能の雌雄差を解析した。胎生 17.5 日のマウスから心臓を摘出し、インク定圧注入法による血管造影を行った(東京大学・栗原裕基先生、熊本大学・西山功一先生、有馬勇一郎先生ご協力)。心室長軸長には雌雄差はなかったが、冠血管径(心室長軸長で補正)には、以下の雌雄差が見られた。生理的条件下では、雌の冠血管径に比べて雄の冠血管径の方が大きかった。一方、血管拡張薬(NOC7)存在下では雄の冠血管径に比べて、雌の冠血管径の方が大きくなり、より拡張していることが示された。次に、DNA マイクロアレイを用いて、胎生 17.5 日のマウス心臓の雌雄差に関わる遺伝子を網羅的に解析したところ、雌では X 染色体から escape する遺伝子を含め 26 遺伝子の発現が有意に増加し、33 遺伝子の発現が有意に減少した。

今後、胎生 17.5 日のマウス冠血管で見られた形態機能の雌雄差を理解するために、同定された雌雄差遺伝子との関連を解析していく。(利益相反 なし)

#### O-25. 動脈硬化促進性の変性 HDL の新規測定法とその有用性の検討

○垣野明美<sup>1,2</sup>、岡村智教<sup>3</sup>、宇佐美陽子<sup>1</sup>、藤田佳子<sup>1</sup>、沢村達也<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>信州大学・医学部・分子病態学、<sup>2</sup>信州大学・バイオメディカル研究所、<sup>3</sup>慶應義塾大学・医学部・衛生学公衆衛生学)

健全な HDL は動脈硬化に対して抑制的に働くが、変性して質的な異常を生じると、もとの機能を失うだけではなく、動脈硬化進展を促進することが示唆されている。実際これまでに、冠動脈疾患患者では変性 HDL が増加し、それが変性 LDL 受容体 LOX-1 を介して血管機能障害を引き起こすことや、ヒトの動脈硬化巣に、HDL のアポ蛋白質 apoAI が変性したものが蓄積していることが報告されている。

本研究では、血液中の変性 HDL の新規測定法を構築し、その有用性についてヒト検体を用いて検討した。

はじめに、LOX-1 と抗 apoAI 抗体を組合わせたサンドイッチ ELISA により、質的異常をもつ変性 HDL を検出する方法を構築した。これにより検出される変性 HDL の性質を調べた結果、酸化度が強く LOX-1 への結合が強い HDL は、コレステロール逆転送活性や抗酸化酵素 PON-1 活性が低下していた。すなわち、本法で測定する変性 HDL は HDL の機能不全を反映することが示唆された。

次に、構築した ELISA を用いてマウス血漿中の変性 HDL 活性を測定すると、通常餌負荷群に比べ、高脂肪食負

荷群では変性 HDL 高値を示した。

そこで、健常日本人男性を対象とし、変性 HDL 活性と冠動脈石灰化の関連を解析した。その結果、各種危険因子による調整後も、変性 HDL 活性高値では、冠動脈石灰化のリスクが有意に高いことが示された。また、喫煙との関連について解析すると、喫煙により HDL コレステロールは減少するが、変性 HDL は有意に増加していた。このことは喫煙習慣が動脈硬化を促進することを示唆する。

以上より、本研究で構築した変性 HDL 活性測定法は、受容体結合活性を定量するため、生体内での生物活性を反映した評価が可能であり、生活習慣病や動脈硬化性疾患のリスク評価に有用であると示唆された。(利益相反 なし)

#### O-26. 内耳の感覚上皮帯を構成する外有毛細胞のナノ動態の同定

○任 書見<sup>1,2</sup>、太田 岳<sup>1,2</sup>、崔 森悦<sup>2,3</sup>、日比野 浩<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>新潟大学大学院・歯学総合研究科・分子生理学、<sup>2</sup>AMED-CREST、<sup>3</sup>新潟大学・工学部・電気電子)

音は、内耳蝸牛において電気信号へと変換され、脳へと伝達される。この変換は、音によってナノスケールで振動する感覚上皮帯で行われる。感覚上皮帯は、複数の細胞や組織により構成される。これらは、内・外有毛細胞、支持細胞、そして細胞外基質層などである。内毛細胞は、求心性神経線維を活性化して、音情報を脳へと送る。一方、音受容の感度を調節する外有毛細胞は、感覚上皮帯の振動に合わせて自らの細胞体を伸縮させる。この動作は、フィードバック的に上皮帯の振動を修飾し、内毛細胞の働きに影響することで、聴覚の高い鋭敏性や周波数特異性に寄与すると指摘されている。しかし、生体内での真の外有毛細胞の動態は未だ十分に明らかにされていない。そこで本研究では、この困難な課題を克服するため、イメージング振動計測装置を創製した。ここでは、市販の光干渉断層撮影(Optical Coherence Tomography: OCT)装置に、広い周波数スペクトルと高出力の特徴とする特殊光源を導入し、計測系を蝸牛の生体内計測に最適化した。生きたモルモットを使った実験により、外有毛細胞の頂側と基底側の 2 点にて異なる振動様式が計測された。さらに、これらの結果から、外有毛細胞の伸縮動態を予測した。本研究の成果により、聴覚機能の成立の鍵となる感覚上皮帯振動の生物物理的メカニズムの一端が抽出された。(利益相反 なし)

#### O-27. 針状ダイヤモンドセンサによるメチルコバラミンの生体内リアルタイム測定

花輪 藍<sup>1</sup>、○緒方元気<sup>2</sup>、浅井 開<sup>1</sup>、加藤理都<sup>2</sup>、澤村晴志朗<sup>2</sup>、日比野 浩<sup>2</sup>、栄長泰明<sup>1</sup> (<sup>1</sup>慶應義塾大学・理工

学部・化学科,<sup>2</sup>新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学)

身体に投与した薬物が、各々の臓器の“局所”にてどのような濃度変化を示すかをリアルタイムで観測することは、薬効や毒性の仕組みを理解する上で重要であるが、従来法では困難である。この課題を克服するため、近年、我々は、理工系先端素材である「導電性ダイヤモンド」を針状に加工したセンサを用いて、生体内薬物計測システムを構築した (Ogata et al., *Nature Biomedical Engineering*, 2017)。本研究では、この新技術を発展させ、2箇所同時に局所の薬物濃度をモニタリングする系を開発した。テスト薬物として、末梢神経障害の治療に広く用いられるメチルコバラミン (MeCbl; 活性ビタミン B12) を選定した。MeCbl は、内耳の障害に起因する難聴にも使われるが、この臓器での薬物動態の検討は非常に少ない。そこで針状ダイヤモンドセンサを、麻酔下の生きたモルモットの内耳ならびに大腿内側の薄筋中へ同時に刺入した。MeCbl (10mg/kg) を静注すると、薄筋中では、顕著な濃度上昇が認められた。一方、内耳では、有意な反応が観察されなかった。この結果は、血液・内耳関門によるバリア機能に依拠すると予想された。また、薬物作用点は、内耳外部の聴神経などにあると示唆された。本薬物計測システムは、複数の局所における薬物動態の比較を可能にするのみならず、薬物標的をより正確に評価することで、化合物の生理活性プロセスの解明へ貢献すると期待される。(利益相反 なし)

#### P-1. 線維筋痛症モデルラットにおける脊髄後角への侵害入力増強

○田口 徹, 江尻侑斗, 亀谷伊織 (新潟医療福祉大学・リハビリテーション学部・理学療法学科)

線維筋痛症 (FM) は全身の恒常的な痛みを主訴とする慢性難治性疾患である。本研究では、神経興奮マーカーを用いた免疫組織化学実験より、FM の脊髄機構の一端を解明することを目的とした。Nagakura ら (Pain, 2009) に従い、生体アミンの枯渇剤であるレセルピンをラットの背部皮下に投与し、FM モデルを作製した。痛覚過敏発症後、左後肢の足底皮下に 5% フォルマリンを投与し、化学刺激誘発性疼痛を与えた。投与 2 時間後、深麻酔下で灌流・固定を行い、L3~L5 腰髄を摘出し、凍結組織標本を作製した。脊髄薄切切片を作成後、痛みの神経マーカーとして汎用される c-Fos タンパクの発現を指標に、痛みによって活性化する脊髄経路の局在と程度を定量化した。FM 群のフォルマリン投与側では、投与した皮膚を支配する L4~L5 腰髄における c-Fos 陽性細胞数が顕著に増加しており、その数は後角表層 (I-II 層) および頸部 (V-VI 層) において、対照群

に比べ有意に多かった。このような変化は隣接する脊髄分節である L3 でも観察された。以上より、FM モデルの脊髄後角では末梢からの痛み入力に対し、侵害受容経路が強く活性化することがわかった。また、その活性化は隣接する脊髄分節に拡大して生じることがわかった。このことは、FM 患者に特徴的な広範囲の痛みを脊髄レベルで説明する神経解剖学的知見であると考えられる。(利益相反 なし)

#### P-2. マカクザルにおける他者の誤信念理解に内側前頭前野が因果的役割を果たす

○秋川諒太<sup>1,2</sup>, 林 剛丞<sup>2,3</sup>, 川崎圭祐<sup>2</sup>, 江川 純<sup>3</sup>, 南本敬史<sup>4</sup>, 小林和人<sup>5</sup>, 加藤成樹<sup>5</sup>, 堀 由紀子<sup>4</sup>, 永井裕司<sup>4</sup>, 飯島淳彦<sup>1,6,7</sup>, 染矢俊幸<sup>3</sup>, 長谷川 功<sup>2</sup> (<sup>1</sup>新潟大学大学院・自然科学研究科, <sup>2</sup>同 医歯学総合研究科・神経生理学分野, <sup>3</sup>同 医歯学総合研究科・精神医学分野, <sup>4</sup>量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・脳機能イメージング研究部, <sup>5</sup>福島県立医科大学付属生体情報伝達研究所・生体機能研究部門, <sup>6</sup>新潟大学医学部・保健学科, <sup>7</sup>新潟大学・工学部・工学科・人間支援感性科学プログラム)

心の理論は他者の心的状態を理解するために重要な能力である。心の理論の有無を直接的に調べる方法として、他者の誤信念を理解できるかどうかを確かめる誤信念課題が用いられる。ヒトを対象とした神経イメージング研究によって、内側前頭前野 (mPFC) が誤信念理解に関連する領域であることが分かっている。しかし、mPFC の神経活動と誤信念理解との因果関係は明らかになっていない。本研究では、神経活動操作が可能なマカクザルを対象として、予期的注視法を用いた非言語的誤信念課題によって mPFC の神経活動と誤信念理解との因果関係を検証した。まず、8 頭のマカクザルに対して他者の誤信念を理解できるかどうかを検証するための動画を見せた。その結果、動画の登場人物の誤信念に基づく行動を予想するような視線のバイアスが検出され、マカクザルが誤信念を理解できることが示唆された。次に、5 頭のマカクザルの mPFC に抑制性 DREADD である hM4Di をレンチウイルスベクターで発現させ、hM4Di 特異的なリガンドである CNO を投与して mPFC の神経活動抑制を実現した。マカクザルの mPFC の神経活動を抑制した状態で再び誤信念動画を見せた結果、誤信念に基づく予期的視線バイアスは消滅した。一方、動く標的の追跡や記憶に基づく視線バイアスは維持されていた。この結果から、マカクザルの mPFC が他者の誤信念理解に因果的役割を果たすことが示された。(利益相反 なし)

### P-3. マカクザル及びヒトの質的・量的な因果構造理解に基づく自己に関わる出来事の原因帰属行動

○阿部 湧<sup>1</sup>, 足立雄哉<sup>2</sup>, 田村澁樹<sup>1</sup>, 齊藤孝臣<sup>1</sup>, 飯島淳彦<sup>1,3</sup>, 長谷川 功<sup>2</sup> (1新潟大学大学院・自然科学研究科, 2同 医歯学総合研究科・神経生理学分野, 3新潟大学・保健学科)

我々は日常で起こった出来事の原因を自己や他者、或いはその他の存在に帰属する。特に自己への原因帰属は、自己認識の側面として社会心理学、発達心理学、人工知能など多くの分野で重視されてきた。原因帰属行動の神経機構を生理学的に解明するためには侵襲性を伴う動物実験が必要であり、本研究ではヒト以外の霊長類でも遂行できる新規の非言語的行動実験系を開発した。本実験系では、被験者又は他者(行為者)がモニタ上の物体をタッチするという出来事がよい結果・悪い結果の何れをもたらしたかを受けて、被験者は、各試行でよい結果・悪い結果を引き起こす原因が行為者と物体のどちらにあるかを探索する。出来事の結果は、試行間で変化する行為者及び物体の状態に依存する。行為者・物体どちらかの状態のみ結果が依存する因果構造(実験1)や、よい結果・悪い結果を引き起こす確率が個々の行為者・物体ごとに連続値として定められている因果構造(実験2)を用いて、ヒト及びサルを被験者として行動実験を行った。いずれの実験においても、ヒトだけでなくサルも、各試行内の出来事の繰り返しにより原因を特定できるようになり、また過去の試行の経験から得た因果構造の知識を原因帰属に適用することができた。このことから、ヒトと同様にサルも、出来事を経験することで因果構造の質的・量的な性質を理解し適用する能力をもつことが示唆された。(利益相反 なし)

### P-4. 物体素材に対するサル下側頭葉皮質における皮質脳波応答

○三木治憲<sup>1,2</sup>, 安斎健太<sup>1,2</sup>, 澤山正貴<sup>3</sup>, 松尾 健<sup>4</sup>, 鈴木隆文<sup>5</sup>, 岡谷貴之<sup>6</sup>, 飯島淳彦<sup>1,2,7</sup>, 長谷川 功<sup>2</sup>, 川寄圭祐<sup>2</sup> (1新潟大学大学院・自然科学研究科, 2新潟大学・医学部・神経生理学分野, 3NTT コミュニケーション・科学基礎研究所, 4東京都立神経病院・脳外科, 5情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター, 6東北大学大学院・情報科学研究科, 7新潟大学・医学部・保健学科)

視覚によって物体の素材を推定する素材知覚は、物体を適切に扱うことや物体の価値を判断するために重要である。本研究では、下側頭葉皮質において物体の素材特性がどのような神経活動として表現されるか検討した。多次元の物体素材特性を操作したコンピュータグラフィックス(CG)により、『金からプラスチック』、『金属からガラス』、

『透明から不透明』、『光沢強度』、『光沢の鋭さ』の5つの次元について段階的に変化させた3次元CG画像を作成し、注視課題遂行中のサルに呈示し、下側頭皮質から皮質脳波を記録した。記録した視覚応答からスペクトル摂動を計算し、5つの次元について、 $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , Low- $\gamma$ , および high- $\gamma$  の6つの周波数帯の応答選択性を調べた。選択性を示した電極は、鏡面反射のみを変化させた画像(光沢強度、光沢の鋭さ)では下側頭前部で、素材の変化を伴う画像(金/プラスチック、金属/ガラス、透明感)では下側頭後部で観測された。周波数ごとに見ると、金/プラスチック及び透明感の選択性は $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , low- $\gamma$ 帯に現れた。金属/ガラスの選択性は、high- $\gamma$ 帯で観測された。光沢強度の選択性は $\delta$ ,  $\beta$ , high- $\gamma$ 帯に現れた。光沢の鋭さの選択性は、 $\beta$ 帯で現れた。これらの結果は下側頭皮質の重複した特定の空間・周波数領域で物体素材特性が表現されていることを示している。(利益相反 なし)

### P-5. 硬膜上高密度多点電極を用いたサル一次視覚野における網膜視野の再構成

○土屋貴大<sup>1,2</sup>, 飯島淳彦<sup>1,2,4</sup>, 川寄圭祐<sup>2</sup>, 鈴木隆文<sup>5</sup>, 長谷川 功<sup>2</sup>, 中原 潔<sup>3</sup> (1新潟大学大学院・自然科学研究科, 2新潟大学・医学部・神経生理学分野, 3高知工科大学・情報学群, 4新潟大学・医学部・保健学科, 5情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター)

本研究では、脳活動パターンから、被験者の視覚経験を忠実に可視化(再構成)することを目指し、従来の機能的核磁気共鳴法や経頭蓋脳波法に比べて高い時間空間分解能で、低侵襲的に記録可能な硬膜上高密度皮質脳波法を開発し、サル初期視覚野に適用した。

まず、パリレン薄膜を素材とした、極間1.3mmの256点高密度多点電極を設計・作成し、1頭のマカクザルを用いて一次視覚野の中心窩領域～傍中心窩の視野再現部位に硬膜外留置した。

サルが注視点の周辺1°以内を注視する間、5段階の偏心度(0.7°-1.4°, 1.4°-2.8°, 2.8°-4.2°, 4.2°-5.5°)位置に50ms間フラッシュ刺激を呈示し、視覚誘発電位(VEP)を調べた。

256極の記録点のうち222点において、約80msの潜伏で、4峰性のVEPが見られた。刺激呈示後350ms間の解析区間におけるVEPの平均振幅は、 $18.5 \pm 5.9 \mu\text{V}$  (N=222)であった。

またVEPの振幅は、視覚刺激の偏心度に応じて77点で有意な変調を受けた(ANOVA,  $P=0.05$ )。中心窩領域では偏心度0.7°-1.4°、傍中心窩領域では偏心度1.4°-2.8°の刺激によりVEPの振幅が最大となった。

以上から、サル初期視野において、硬膜外電極によって視覚応答を記録できること、 $1.05^\circ$ 以下の精度で網膜視野再現を推定できることが示された。(利益相反 なし)

#### P-6. 1文字連続呈示課題を用いた文理解中の2重構造化処理に寄与する神経基盤の解明

○加世堂竜太郎<sup>1,2</sup>、飯島淳彦<sup>1,3</sup>、中原 潔<sup>4</sup>、足立雄哉<sup>2</sup>、長谷川 功<sup>2</sup> (新潟大学大学院・電気情報工学専攻・人間支援科学コース、<sup>2</sup>新潟大学・医学部・神経生理学、<sup>3</sup>同 保健学科、<sup>4</sup>高知工科大学・情報学群)

言語を理解する際に、言語的に低次元要素からより高次元要素を構成する'Merge'と呼ばれる操作が必要となる。具体的には、文字のような意味を持たない単位のものから意味を持つ最小単位である文節を形成する第一段階のMergeと、文節からより高次元意味を持つ単位を形成する第二段階のMergeが考えられる。

先行研究では、第二段階のMergeに関して調べられており、Mergeされていない要素(To-be-merged nodes)の個数に応じて、左側頭極や左上側頭回、下前頭回での活動が報告されている。また、Mergeが起きた際に、Mergeされた要素(Merged-nodes)の個数に応じた一時的な活動が起る部位として、下前頭回三角部が報告されている。

しかし、第一段階のMergeや2つのMergeをつなぐ神経基盤については、大部分が未解明なままである。この問題を解決するために、我々は1文字連続呈示課題を開発し、被験者自身のペースで文を読んでいる際の脳活動をfMRIを用いて計測した。本実験によって、第一段階のMergeと2つのMergeを繋ぐ神経基盤の解明を目指した。

結果は、第一段階のMergeにおけるTo-be-merged nodesとMerged-nodesの個数に応じて、主に左側頭極を中心とした左側頭領域での活動が見られた。また、第二段階のMergeにおけるTo-be-merged nodesの個数に応じて、左上側頭回での活動が見られた。一方、Merged-nodesの個数に応じて縁上回、中前頭回での活動が見られた。これらの結果から、左側頭極、左上側頭回が文理解における2つのMergeを繋ぐ鍵となることが示唆された。(利益相反 なし)

#### P-7. サルの海馬神経活動を記録するためのデータロガーの開発

○田村了以、浅野昂志(富山大学・医学薬学研究部(医学)・統合神経科学)

##### 【背景と目的】

これまでわれわれは、自由行動下のサル海馬から神経活動(脳波やニューロン活動)を記録してきた。その際、記

録信号はサル頭部に取り付けた伝送ケーブルを介して後段処理の機器に送っていたが、サルがケーブルを破損させる、ケーブルがサルの行動の邪魔になる等の問題があった。これを回避する方法としてテレメトリーやデータロガーが考えられる。テレメトリーは、伝送波の反射が起りにくい比較的狭い環境内での記録には適しているが、広い環境内で動物が素早く動く場合には安定した記録が困難である。そこで今回われわれは、サルの海馬から神経活動を記録するためのデータロガーの開発を試みた。

##### 【仕様と方法】

データロガーは、アンプ部とAD変換データ収集・保存部に大別される。

アンプ部では、入力神経活動信号(8チャンネル)をボルテージフォロワー回路でインピーダンス変換し、インストールメンションアンプで増幅後、必要な周波数帯域をバンドパスフィルタリングした。AD変換データ収集・保存部では、アンプ部の出力信号をPICマイコンによりAD変換(1チャンネルあたり50kHzでサンプリング)後、SPIインターフェースを介してマイクロSDカードに送った。

##### 【実用性評価】

本研究で開発したデータロガーを用い、1頭のサルで表在脳波と海馬ニューロン活動とを同時記録したところ、ケーブルを介した従来方式とほぼ同等の結果が得られた。(利益相反 なし)

#### P-8. Involvement of VEGFR3 signaling in castration-resistant prostate cancer cells

○Md Junayed Nayeem<sup>1</sup>、Aya Yamamura<sup>1</sup>、Hiroyuki Muramatsu<sup>2</sup>、Kogenta Nakamura<sup>2</sup>、Motohiko Sato<sup>1</sup> (Department of Physiology, <sup>2</sup>Department of Urology, Aichi Medical University, School of Medicine)

Prostate cancer (PCa) is the most frequently diagnosed cancer in men. Androgen receptors (ARs) play a crucial role in PCa, because castration decreases growth of androgen-dependent PCa cells. However, during long time androgen deprivation therapy (ADT), castration-resistant prostate cancer cells (CRPC cells) become dominant. Around 10-20% of patients with prostate cancer occurrence enter the castration-resistant stage within approximately 5 years of follow-up during ADT. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) are key factors of angiogenesis, which play a critical role in many pathological conditions including cancer. However, the role of VEGF signaling in CRPC is not well elucidated yet. In this study, we investigate a role of VEGF signaling in PCa cell lines. We

first checked the expression of VEGFRs in a panel of PCa cell lines by western blot analysis. Among the VEGFRs, VEGFR3 was highly expressed in PC-3 cells than other prostate cancer cell lines such as LNCap, LNCSS and DU145. PC-3 is a metastatic and highly migratory prostate cancer cell line, which shows androgen-independent growth. VEGFR3 inhibitor, MAZ-51 decreased VEGF-C induced phosphorylation of VEGFR3 in PC-3 cells. MAZ-51 also inhibited phosphorylation of Akt in the downstream of VEGFR3. MAZ-51 inhibited proliferation, migration and viability of PC-3 cells in vitro. Tumor formation of transplanted PC-3 cells was also significantly inhibited by MAZ-51. These observations suggest that targeted therapy against VEGFR3 is alternative approach to control metastatic CRPC. (利益相反 なし)

#### P-9. ラット不活動性疼痛モデルにおける CGRP 受容体拮抗薬の鎮痛効果

○濱上陽平<sup>1,2</sup>, 太田大樹<sup>1,2</sup>, 田口 徹<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>新潟医療福祉大学・リハビリテーション学部・理学療法学科, <sup>2</sup>同運動機能医科学研究所)

【背景・目的】四肢の一部を不動化することで痛みが生じるが、この不活動性疼痛の分子機構は未解明である。我々はこれまでに、ラットの足関節をギブス固定した不活動性疼痛モデルにおいて、侵害受容性一次求心性神経の伝達物質であるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の発現が脊髄後角において増加することを報告している。しかし、後根神経節細胞で産生される CGRP の 95% が神経終末から末梢性に放出されることを考慮すると、脊髄よりも末梢組織での作用が大きいと考えられる。本研究では、不活動性疼痛における末梢性 CGRP の関与を行動薬理実験により調べた。

【方法】ラットの左足関節を 4 週間ギブス固定し、不活動性疼痛モデルを作製した。行動薬理実験では、固定期間終了後、固定側の足底皮下に CGRP 受容体拮抗薬 (CGRP8-37) を投与し、機械刺激に対する逃避閾値の測定 (von Frey test) と熱刺激に対する逃避潜時の計測 (Hargreaves' test) を行った。

#### 【結果および考察】

固定開始後 1~4 週間において、機械逃避閾値および熱逃避潜時は顕著に低下・短縮し、不活動性疼痛の発症を確認した。この低下した機械逃避閾値は CGRP8-37 の皮下投与により上昇した。また、短縮した熱逃避潜時は拮抗薬投与により延長した。この結果から、不活動性疼痛モデルの機械・熱痛覚過敏には末梢組織での CGRP が関与すること

がわかった。(利益相反 なし)

#### P-10. 油中水滴接触膜法を応用した膜張力の定量的操作法の開発

○岩本真幸<sup>1</sup>, 老木成稔<sup>2</sup> (<sup>1</sup>福井大学・学術研究院医学系部門・分子神経科学, <sup>2</sup>同 高エネルギー医学研究センター)

生体膜には微弱な膜張力が発生し、それが生理的環境下において変動している。このことが、程度の差こそあれ、生体膜に組み込まれた様々な膜タンパク質の活性に影響を及ぼしていると考えられる。実際我々は、酸性 pH で活性化する KcsA カリウムイオンチャネルの活性が、膜張力によって大きく変動することを明らかにしている (Iwamoto & Oiki, PNAS 2018)。一方、微弱な生体膜の張力を定量的に操作することは極めて困難であり、膜タンパク質活性への影響について分子レベルでの解明は進んでいない。この課題の解決に向け、本研究では独自の人工生体膜実験法 (油中水滴接触膜法, CBB 法) を応用し、膜張力の定量的操作法の開発を試みた。その結果、油中水滴の幾何学形状と内圧をモニターすることで、油中水滴接触膜の張力値、および、その経時変化を解析する手法を確立した。本法では、油中水滴内圧を制御することで膜張力を操作できる。これを利用し、酸性 pH で活性化状態にある KcsA チャネルの活性を、膜張力操作によって自在に変えられることを、単一チャネル電流レベルで実証することができた。今後、膜張力の影響に視点を置いたチャネル研究、更には、広く膜タンパク質研究への応用が期待できる。(利益相反 なし)

#### P-11. Identification of amino acid involved in the agonistic effect of menthol on TRP channel

○Nguyen Thi Hong Dung<sup>1,2,3</sup>, Makoto Tominaga<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>Thermal Biology group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems National Institutes of Natural Sciences, <sup>2</sup>Division of Cell Signaling, National Institute for Physiological Sciences, National Institutes of Natural Sciences, <sup>3</sup>Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies)

Several transient receptor potential (TRP) channels play important roles in the sensory nervous system, including TRP vanilloid 1 & 3 (TRPV1 & TRPV3), TRP ankyrin 1 (TRPA1) and TRP melastatin 8 (TRPM8). These channels are critical for sensing natural substances.

Menthol, a natural non-reactive cooling compound, is well-known as an activator of TRPM8, required for cool thermosensation *in vivo*. Menthol has also been reported to

activate TRPV3 and to has bimodal effect on mouse TRPA1. Moreover, several amino acids were shown to be important for the binding sites of menthol to mouse TRPM8 (Y745, R842 and Y1004) and human TRPA1 (S873 and T874). However, no consensus has been reached and some information is lacking regarding menthol binding sites, especially for TRPV3. The possibility of a conserved mechanism of action of menthol was not investigated so far.

In this study, using a patch-clamp method, we show for the first time an agonistic effect of menthol was also observed on TRPV1. Here, we identified several amino acids in the S4-S5 linker involved in the agonistic effect of menthol on TRPV1 and TRPV3. We propose that the identification of the binding sites and mechanism of agonistic effect of menthol will enable the understanding of the regulation of TRP channel regulation by small hydrophobic molecules. (利益相反 なし)

#### P-12. 胎生期大脳基底核原基の神経前駆細胞に生じる膜電流成分について

○秋田天平, 福田敦夫 (浜松医科大学・医学部医学科・神経生理学)

大脳皮質内の GABA 作動性神経細胞の多くは、胎生期に主に内側基底核原基 (MGE) で発生し、そこから移動して大脳皮質に到達する。移動時の細胞の形態変化に伴う細胞の容積変化は、細胞膜を横断するイオンの移動を駆動力とする細胞への水の出入りによりもたらされる。また、シナプス伝達が未発達な胎生脳内では、種々の化学伝達物質が陰イオンチャネルの開口を通じて放出されている可能性が考えられる。しかし、胎生脳内を移動する神経前駆細胞に生じている膜電流及びそれを担うイオンチャネルの種類については、ほとんど明らかにされていない。我々は、細胞移動の盛んな胎生 14 日目のマウス胎仔 MGE より急性単離した細胞に対し whole-cell patch clamp 法を適用し、その細胞に生じる膜電流とその電位依存性を調べたところ、陽イオンの電流成分については、 $-30\text{mV}$  以上の膜電位で活性化され、急峻な外向整流性を示す  $\text{K}^+$  電流成分と、 $-30\text{mV}$  以下でも生じている  $\text{Na}^+$  リーク電流成分が、通常時に認められた。一方、陰イオンの電流成分は通常時には認められなかった。今後はこれらの電流成分を担うイオンチャネル種の同定と、そのイオンチャネル抑制の細胞移動への影響、また種々の細胞移動制御因子の作用の各電流成分への影響について検討を進める。(利益相反 なし)

#### P-13. 小胞体 Ca センサー STIM1 による Cav1.2 チャ

#### ネル制御機構の解明

○富田拓郎, 高橋弘毅, 山田充彦 (信州大学・医学部・分子薬理学)

血管平滑筋細胞などの興奮性細胞において、 $\text{G}_q$  タンパク質に共役した細胞膜受容体刺激は、ホスホリパーゼ C (PLC) の活性化を介して、細胞膜を脱分極させる。これにより電依存性 Ca チャネル Cav1.2 が活性化し、細胞内への強力なカルシウム流入が引き起こされる。PLC の活性化により生成されたイノシトール 3 リン酸 ( $\text{IP}_3$ ) は小胞体の  $\text{IP}_3$  受容体を活性化し、細胞内 Ca ストアからの Ca 放出を引き起こす。stromal interacting protein 1 (STIM1) は Ca 放出によるストア内 Ca 濃度の低下を感知し、細胞膜上のストア作動性 Ca チャネルを活性化する。一方で、STIM1 は Cav1.2 チャネルを抑制する機能も有することが報告されている。しかしながら、この STIM1 依存的 Cav1.2 抑制の詳細な機構および生理的重要性はほとんど明らかにされていない。本研究において我々は、STIM1 依存的 Cav1.2 の抑制機構を電気生理学的に解析した。STIM1 の過剰発現は、Cav1.2 の C 末端依存的に Cav1.2 を抑制した。Gating current の解析から、STIM1 の過剰発現は、Cav1.2 チャネルの細胞表面発現を抑制することが示唆された。ストア枯渇による内在的な STIM1 活性化も Cav1.2 を抑制した。STIM1 による Cav1.2 の細胞表面発現の抑制の生理的重要性の解明が今後必要である。(利益相反 なし)

#### P-14. 容積感受性アニオンチャネル電流の LRRC8E による制御

○清水貴浩, 川島健太郎, 藤井拓人, 酒井秀紀 (富山大学・薬学部・薬物生理学)

容積感受性外向整流性 (volume-sensitive outwardly rectifying: VSOR) アニオンチャネルは、細胞容積調節機構だけでなく細胞死を制御する生理的に重要なイオンチャネルである。最近、VSOR アニオンチャネルの分子実体候補として leucine-rich repeat containing 8 (LRRC8) ファミリーが報告されており、このうち LRRC8E は VSOR アニオンチャネル電流の時間依存的な不活性化を促進すると報告されている。本研究では、LRRC8E を過剰発現させたヒト胎児腎臓 HEK293T 細胞にパッチクランプホールセル記録法を適用し、浸透圧性細胞膨張により生じる VSOR アニオンチャネル電流を観測した。これまでの報告とは異なり、LRRC8E の過剰発現により VSOR アニオンチャネル電流が減少することが明らかとなった。一方、LRRC8E 過剰発現細胞において VSOR アニオンチャネル電流の時間依存的な不活性化が速くなった。この不活性化は細胞内外のカチオン種に依存して変化し、 $\text{NMDG}^+$  や  $\text{choline}^+$  存在下に比

べて Cs<sup>+</sup> や Na<sup>+</sup> 存在下で促進した。それ故、LRRC8E がカチオン依存的に VSOR アニオンチャネルの不活性化を制御している可能性が考えられた。これらの結果は、VSOR アニオンチャネル電流における LRRC8E の新たな制御メカニズムを示唆している。(利益相反 なし)

#### P-15. mGlu2 と 5-HT2aR の相互作用により変化するシグナル伝達の解析

○立山充博<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>総研大・生理科学)

神経伝達物質の一つであるセロトニンは、高次脳機能の調節に重要な役割を担うと考えられている。多数あるセロトニン受容体の中でも 5-HT2aR は Gq シグナル伝達経路を活性化することが知られているが、近年、5-HT2aR が Gi/o 共役型代謝型グルタミン酸受容体 2 型 (mGlu2) と複合体を形成することで、各々のシグナル伝達の効率などを変化させ、高次脳機能に影響を与えるという報告がなされた。しかしながら、5-HT2aR と mGlu2 の相互作用については共通の見解が得られていない。そこで、我々はこれらの相互作用について、HEK293T 細胞発現系を用いて検討した。まず、5-HT2aR-Gq シグナル経路活性化を、セロトニン投与による PIP<sub>2</sub> 結合ドメイン付加蛍光タンパク質の細胞膜から細胞質への移動を指標として解析した。その結果、mGlu2 との共発現により 5-HT2aR-Gq 経路の活性化が抑制されること、この抑制がグルタミン酸投与により解除されることが明らかとなった。一方、mGlu2-Gi/o 経路活性化を G タンパク質依存性カリウム (GIRK) チャネルの活性化を指標に解析したところ、mGlu2-GIRK チャネル活性化が 5-HT2aR の共発現により抑制を受けることが明らかとなった。この抑制は、セロトニンの有無に依存しなかった。以上の結果は、5-HT2aR と mGlu2 の相互作用により各シグナル伝達様式および伝達効率が変化するを示すものである。さらに、mGlu2 と Gq 共役型アドレナリン受容体・ムスカリン受容体においても同様な解析を行ったので、その結果も紹介したい。(利益相反 なし)

#### P-16. 背側縫線核セロトニン作動性ニューロンにおけるオレキシン誘発性発火後過分極と内向き電流に対する細胞内外カルシウム濃度の影響

○石橋 賢<sup>1</sup>, 福田敦夫<sup>1</sup>, Leonard S Christopher<sup>2</sup> (<sup>1</sup>浜松医科大学・医学部・神経生理学, <sup>2</sup>New York Medical College・Department of Physiology)

これまでオレキシン A が背側縫線核 (DR) のセロトニン作動性 (5-HT) ニューロンを脱分極させるだけでなく、発火後過分極 (AHP) を増強 (oeAHP) するため発火頻度

順応を大きくし発火様式を変化させることを報告した。しかしながら、oeAHP のうち Ca<sup>2+</sup> 依存性カリウムチャネルの阻害薬である Apamin に非感受性な成分 (ai-oeAHP) が未同定で残っていたためさらなる検討をマウスの急性脳スライスをを用い、ホールセルパッチクランプ法による記録にて行った。

カリウムチャネルを非選択的に阻害する Cs<sup>+</sup> により ai-oeAHP は阻害されなかった。一方で、オレキシン誘発性内向き電流 (I<sub>orexin</sub>) と ai-oeAHP の両方が細胞外 Ca<sup>2+</sup> 濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>) の低下により増加したが、それら振幅の比は [Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub> が変化しても ai-oeAHP が I<sub>orexin</sub> のおよそ半分で一定であった。また、オレキシン誘発性膜ノイズは、ai-oeAHP 中に一過性に抑制されていた。さらに、オレキシンが誘発するコンダクタンス変化は、ai-oeAHP 発生中に約半分に減少していた。

これら複数の結果から ai-oeAHP は、カリウムチャネルの開口に伴う過分極ではなく、オレキシンにより活性化された非選択的陽イオンチャネルが活動電位に伴って細胞内に流入した Ca<sup>2+</sup> により一過性に抑制されるため過分極していると考えられる。(利益相反 なし)

#### P-17. NaCl 吸収輸送体のカップリング機構の解明

○石塚典子, 伊久美直毅, 林 久由 (静岡県立大学・食品栄養科学部・生理学)

消化管からの NaCl 吸収機構は、Na<sup>+</sup> 輸送体と Cl<sup>-</sup> 輸送体がカップリングして働いていると考えられている。これまでに、Na<sup>+</sup> 輸送体は、小腸・大腸いずれも NHE3 であることが示されているが、Cl<sup>-</sup> 輸送体に関しては、小腸では PAT 1, 大腸では DRA と異なる輸送体が存在する。また我々は、小腸では、NHE3 が、パートナーを替え栄養素輸送体ともカップルすることを示している。しかし、Na<sup>+</sup> 輸送体のカップリングパートナーが異なる理由や、そのカップリング様式の分子機構、更にそれらが栄養素とどのように相互作用するかは全く知られていない。そこで本研究では NaCl 吸収輸送体のカップリング機構を明らかにすることを目的とし、Na<sup>+</sup> 輸送体と Cl<sup>-</sup> 輸送体の腸管各部位の発現と機能を検討した。

マウスより小腸 3 部位, 盲腸, 大腸 3 部位を採取し、NHE3, DRA の免疫染色を行なった。NHE3 と DRA が共に高発現している部位は中位大腸に限られた。中位大腸では、NHE3 と DRA の一方を阻害するともう一方の機能も抑制されることから両者がカップリングして働いていることが示唆された。また、盲腸では DRA の発現は高い一方、NHE3 の発現はわずかであるにも関わらず、阻害剤を用いた機能測定からは両者のカップリングを示唆する結果が得られ

た。(利益相反 なし)

**P-18. 脳ミトコンドリアからの  $\text{Ca}^{2+}$  排出における NCLX および NCX の寄与**

○竹内綾子, 松岡 達 (福井大学・学術研究院医学系部門・統合生理学)

ミトコンドリア  $\text{Ca}^{2+}$  動態は,  $\text{Ca}^{2+}$  ユニポーター MCU による取り込みと  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送体や  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送体による排出のバランスで決定される。2010 年, ミトコンドリア  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送を担うタンパクとして NCKX ファミリーに属する NCLX が同定された (Palty *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010)。一方, 細胞膜 NCX ファミリーに属する NCX1~3 が脳ミトコンドリアに発現するとの報告もあるが (Gobbi *et al.*, *Pharmacol Res*, 2007), その寄与は不明である。本研究では, ミトコンドリア  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送における NCLX と NCX の寄与を調べた。マウス脳からミトコンドリアを単離し, 蛍光色素 Calcium Green-5N を用いてミトコンドリア外  $\text{Ca}^{2+}$  を測定した。ミトコンドリアに 50  $\mu\text{M}$   $\text{Ca}^{2+}$  を添加すると, MCU の働きによってミトコンドリア外  $\text{Ca}^{2+}$  は速やかに減少した。ここで MCU 阻害剤 (Ru 360) を添加すると, ミトコンドリア外  $\text{Ca}^{2+}$  は  $\text{Na}^+$  非存在下に比べ存在下で著しく増大した。この  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換活性は NCLX 阻害剤 (CGP-37157) で抑制されたが, NCX 阻害剤 (SEA0400 や SN-6) の影響を受けなかった。従って, マウス脳ミトコンドリアの  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換輸送は, NCLX が主に担うと考えられる。(利益相反 なし)

**P-19. 抑制性神経伝達を維持するカリウム一クロライ**

**ド共役担体 (KCC2) のリン酸化による制御の役割**

○渡部美穂<sup>1</sup>, Kristopher T. Kahle<sup>2</sup>, 福田敦夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>浜松医大・神経生理, <sup>2</sup>Depts of Neurosurgery, Pediatrics, and Cellular and Mol Physiol; Centers for Mendelian Genomics, Yale Sch Med)

KCC2 は  $\text{Cl}^-$  を細胞外にくみ出すトランスポーターで, 細胞内  $\text{Cl}^-$  濃度を低く保ち GABA による抑制性伝達を維持している。これまでに KCC2 はリン酸化による制御を受けており, KCC2 の 906 番目 (Thr<sup>906</sup>) と 1007 番目 (Thr<sup>1007</sup>) のスレオニン残基のリン酸化により KCC2 の機能が抑制され GABA による抑制力が弱まること, 脱リン酸化により KCC2 の機能が亢進し, GABA による抑制力が高まることを *in vitro* 実験で報告している。本研究ではリン酸化による KCC2 機能制御の *in vivo* での役割について明らかにするために, Thr<sup>906</sup> と Thr<sup>1007</sup> をグルタミン酸に置換し, リン酸化状態を模倣した KCC2<sup>T906E/T1007E</sup> マウスおよびアラニンに置換し, 脱リン酸化状態を模倣した KCC2<sup>T906A/T1007A</sup> マウスを作製し, 解析を行った。KCC2<sup>T906E/T1007E</sup> マウスは生後 10 時間前後で死亡した。KCC2 の  $\text{Cl}^-$  くみ出し能が低下しており, 痛覚および接触刺激によりてんかん発作が認められ, 脊髄第 4 頸神経より記録される自発性の呼吸リズムがみられず, 第 2 腰神経より記録される歩行リズムが乱れていた。KCC2<sup>T906A/T1007A</sup> マウスの行動解析を行ったところ, 社会性テストで新奇探索性が低く, 高架式十字迷路試験で不安が低いこと, また, 驚愕反応テストでは驚愕反応の低下が認められた。よって, KCC2 の Thr<sup>906</sup> と Thr<sup>1007</sup> のリン酸化が適切に制御されることが, 抑制性神経伝達に重要であることが示唆された。(利益相反 なし)