

### 1. ラット結腸における短鎖脂肪酸によるイオン分泌の神経反射回路

○原田大毅<sup>1</sup>, 浅野真司<sup>1</sup>, 桑原厚和<sup>2</sup>, 加藤郁夫<sup>3</sup>, 乾利夫<sup>4</sup>, 丸中良典<sup>2,5,6</sup> (立命館大学薬学部,<sup>2</sup>同 総合科学技術研究機構,<sup>3</sup>神戸薬科大学,<sup>4</sup>再生未来,<sup>5</sup>京都工場保健会,<sup>6</sup>京都市立医科大学)

短鎖脂肪酸の一つであるプロピオン酸は遠位結腸において二相性のイオン分泌,  $K^+$ 分泌 (短絡電流  $I_{sc}$  減少) に次いだ  $Cl^-/HCO_3^-$  分泌 ( $I_{sc}$  増加) を起こす. このイオン分泌反応は腸管神経系の求心性神経, 介在神経, 遠心性神経から成る神経反射回路の活性化を伴う. この神経反射回路の求心性の経路において, プロピオン酸刺激によって腸内分泌細胞の一つである L 細胞から放出されるグルカゴン様ペプチド 2 (GLP-2) や, タキキニンとその受容体であるニューロキニン受容体 1 及び 3 ( $NK_{1/3}$ ) の関与を考え, Ussing チャンバーを用いた  $I_{sc}$  測定によるイオン輸送の評価によって, これらの検証を行った. プロピオン酸刺激による  $I_{sc}$  増加 ( $Cl^-/HCO_3^-$  分泌) は,  $NK_1$  受容体アンタゴニストによって抑制され,  $NK_3$  受容体アンタゴニストによっては亢進した. GLP-2 受容体アンタゴニストによっては, プロピオン酸刺激による  $I_{sc}$  減少 ( $K^+$ 分泌) が抑制された. これらの結果から, 遠位結腸においてプロピオン酸によるイオン分泌反応の神経反射回路の求心性の経路は GLP-2 やタキキニンを介するものであることが示唆された. (利益相反 なし)

### 2. NKCC2 の電解質再吸収における Moesin の生理的役割の解明

○川口高德<sup>1</sup>, 波多野 亮<sup>2</sup>, 浅野真司<sup>1</sup> (立命館大学薬学研究科分子生理学研究室,<sup>2</sup>千葉大学大学院医学研究院代謝生理学)

$Na^+/K^+/2Cl^-$  共輸送体 2 (NKCC2) は腎尿細管の太いヘンレの上行脚の管腔膜上において電解質の再吸収を担う輸送体であり, 遺伝的変異が電解質再吸収不全を特徴とする I 型 Bartter 症候群を引き起こすこと, ループ利尿薬の標的分子であることなどから生理的な重要性が高い. 近年, 腎尿細管において細胞骨格関連タンパク質 Moesin が NKCC2 と複合体を形成し, NKCC2 の細胞内小胞輸送に関与することが報告された. しかし, 腎臓における Moesin の生理機能については未だ明らかとなっていない. 本研究では, Moesin ノックアウト (MKO) マウスを用いて, Moesin 欠損時の NKCC2 の小胞輸送への影響と尿管での再吸収に関わるフェノタイプを解析した.

その結果, MKO マウスでは, 細胞膜上での NKCC2 の発現上昇が見られた. MKO マウスでは, エンドサイトーシス

の抑制, エンドサイトーシスに重要である脂質ラフトでの NKCC2 の発現レベルの低下が見られた. また, MKO マウスにおける細胞膜上での NKCC2 発現上昇は, NKCC2 のエキソサイトーシスを抑制する慢性的な水負荷状態でも確認され, Moesin が NKCC2 の小胞輸送において, 特に正常なエンドサイトーシスに重要であることが示唆された. *in vivo* における解析では, MKO マウスは  $Na^+$  および  $Cl^-$  の尿中への排泄量が低下し, 高  $Cl^-$  血症を呈することが明らかとなった. (利益相反 なし)

### 3. 近位尿細管における再吸収数理モデルの構築

○西塚大貴<sup>1</sup>, 谷口淳一<sup>2</sup>, 野間昭典<sup>1</sup>, 天野 晃<sup>1</sup>, 姫野友紀子<sup>1</sup> (立命館大学・生命科学研究所,<sup>2</sup>自治医大・医・分子薬理)

$Na^+$ ,  $K^+$ , 水は, 糸球体濾過量の約 70% が近位尿細管で再吸収されるが,  $Na^+$  は再吸収の共役物質であるグルコース等の溶質量が足りず,  $K^+$  は  $Na$  ポンプによる駆動力で分泌され, どちらも上記量の再吸収を説明できなかった. 本研究は, タイトジャンクション (TJ) 経路が再吸収に重要な役割を担うと考え, 我々の研究室で開発された心筋細胞と毛細血管の数理モデルを基に, 近位尿細管数理モデルを新規に構築し, 細胞経路と TJ 経路の物質輸送を解析した. その結果, TJ が選択性の低い, 一種の水チャネルを形成すると仮定することで TJ 経路の水再吸収が生じ, それに伴う  $Na^+$  と  $K^+$  の溶媒牽引によって, これまで説明できなかった, 近位尿細管におけるこれらの溶質再吸収を説明可能にした. 上皮細胞に存在するアクアポリンは水選択性が高く, 近位尿細管では  $K^+$  に対する反発係数が小さいという事実 (Wareing ら, *J. Physiol.*, 1995) と相容れなかったが, これも TJ に選択性の低い水チャネルを仮定することで説明できることが判明した. 数理モデルは, 実験では不可能な細胞経路と TJ 経路の輸送の分離を可能にし, シミュレーションによる結果と実験結果の比較を可能にし, 細胞間隙の構造と機能を解明する切り口に繋がることを期待する. (利益相反 なし)

### 4. 尿細管上皮細胞モデル開発による物質輸送メカニズムの解析

○田原太貴<sup>1</sup>, 野間昭典<sup>1</sup>, 天野 晃<sup>1</sup>, 姫野友紀子<sup>1</sup>, 谷口淳一<sup>2</sup> (立命館大学・生命科学研究所,<sup>2</sup>自治医大・医・分子薬理)

上皮細胞による物質や水の輸送は, 管腔側膜と組織側膜でイオンチャネルやイオン輸送体の分布が異なることによって行われる. 例えば,  $Na^+$  を通る  $Na^+$  チャネルが管腔側膜に, 能動輸送体である  $Na^+/K^+$  ポンプが組織側膜に局在

すれば、 $\text{Na}^+$ は組織側へ輸送される。このイオン輸送によって生じた浸透圧差によって、水の再吸収が行われる。我々は膜極性を示さない通常の単一細胞で、細胞内イオン濃度、膜電位と細胞容積が定常状態を示すモデルから出発し、その細胞モデルを tight junction によって組織側、管腔側に隔絶し、その細胞が持つ  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ チャネルと  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 、 $\text{Na}/\text{K}/2\text{Cl}$  共輸送体を、膜極性を考慮して配置した。膜電位を  $t_j$  で電気的に分離されるそれぞれの膜分画で計算すると、 $\text{Na}/\text{K}$  を含む組織側膜は  $\text{Na}/\text{K}$  の逆転電位近くに、イオンチャネルを含む管腔側膜は  $-30\text{mV}$  近くに落ち着いた。この異常な分極電圧は細胞間隙を通る電流を計算に組み込むことで、両膜の電位差を数  $\text{mV}$  内に調整でき、細胞内電位は元の定常的な値に復帰した。さらに、細胞間隙にイオンの蓄積をもたらす第4の区画を設けることで、浸透圧差による水や  $\text{K}^+$  の再吸収を再現できた。このモデルを更に調整することで、生理学的な物質の効率的な再吸収を支える動作原理の解明を目指した。(利益相反 なし)

#### 5. $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 交換輸送体 NHE1 の過剰発現は、Rho キナーゼ ROCK の持続的活性化を介してヒト iPS 細胞の選択的細胞死を誘導する

○若林繁夫、友田紀一郎、朝日通雄 (大阪医科大学薬理学教室)

ヒト人工多能性幹細胞 (hiPSCs) に固有の特性を理解することは、hiPSCs の品質管理に重要である。今回、形質膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 交換輸送体 (NHE1) の過剰発現が hiPSCs の細胞死を誘導することを見出したので、そのメカニズムについて報告したい。安定発現 iPSCs 株を樹立したうえで Doxycycline により NHE1 過剰発現を行うと、細胞増殖は停止し、72 時間以内に細胞はネクローシスにより死滅した。さらに、コロニー辺縁部において細胞の異常な伸長・膨脹およびストレスファイバーの著明な形成、Rho 下流のキナーゼ ROCK の持続的活性化をもたらし、細胞死は ROCK 阻害剤 Y27632 によって阻害された。一連の現象は、NHE1 変異体では起きず、阻害剤によって抑制されるので、NHE1 輸送活性が必要である。さらに、i) ROCK は人工的な細胞質アルカリ化によっても活性化され、ii) NHE1 過剰発現に伴い細胞膜に集積することから、NHE1 付近の膜近傍の局所 pH の増加により ROCK の持続的活性化とそれに伴う著しい細胞運動が起こることが示唆された。一連の現象は iPSCs から分化した中胚葉細胞では起こらず、iPSCs 選択的であった。また、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 交換活性を持つモネンシンが iPSCs を選択的に死滅させることも見出し、ガン化する危険性のある分化後に残る iPSCs を効率的に除去する再生医療における新しい手段となりうる可能性が示された。(利益相反

なし)

#### 6. マウス精子に存在する電位依存性ホスファターゼの機能

○河合喬文、岡村康司 (阪大・院医・統合生理)

電位依存性ホスファターゼ (VSP) は電位センサードメインとホスファターゼドメインよりなり、膜電位依存的にイノシトールリン脂質への脱リン酸化活性を示すユニークな蛋白質である。VSP は種を超えて広く保存されており、また多くの動物種で精巣或いは精子で発現することが知られている。一方で VSP の生物学的な機能については分かっていた。本研究では、マウスの精子における VSP の機能に着目し、VSP 遺伝子欠損マウスを用いた解析を行った。VSP を欠損した精子はイノシトールリン脂質のプロファイリングに異常を示し、このことから VSP が正常なマウスの精子においても機能していることが明らかとなった。VSP を欠損した精子は体外受精時に受精率が著しく低下し、これは受精能獲得時の運動能異常に起因していた。また、VSP 欠損精子ではカルシウムシグナルに異常が生じていることも明らかになった。さらにこのような異常なカルシウムシグナルシグナルの背景に VSP によるイオンチャネル制御機構が関与していることが分かったので、本発表ではこれについても報告する。(利益相反 なし)

#### 7. カルシウムシグナル調節因子 NCS-1 欠損によるエネルギー代謝異常と運動療法の効果

○中村 (西谷) 友重<sup>1</sup>、中尾 周<sup>2</sup>、土持裕胤<sup>1</sup>、ピアソングジェームス<sup>1</sup>、若林繁夫<sup>3</sup> (<sup>1</sup>国立循環器病研究センター・分子生理学部、<sup>2</sup>立命館大学・生命科学部、<sup>3</sup>大阪医科大学・薬理)

肥満は各種疾患のリスクを高めることから、その発症・抑制経路を明らかにすることは重要である。私たちは、神経や心臓の興奮性制御に重要な役割を担う  $\text{Ca}^{2+}$  センサー NCS-1 の全身欠損 (KO) マウスにおいて、体脂肪蓄積による顕著な肥満が発症すること、そのメカニズムとして摂食量や運動量は変わらないが、エネルギー代謝が KO マウスで低下しているためであることを個体レベルで明らかにした。さらに細胞レベルでの解析により、KO マウスではミトコンドリア呼吸量やミトコンドリア生合成に関わる因子群が低下していること、さらにメタボローム解析により褐色・白色脂肪組織で様々な代謝物質の量が変化していることがわかった。実際、NCS-1 は褐色・白色脂肪両組織に発現しており、神経系以外の新規の代謝調節経路に寄与している可能性がある。

一方、これら代謝異常に対しトレッドミルによる運動療

法の効果を検討したところ、8週間の運動トレーニングによりKOマウスでも体重増加や脂肪組織の肥大化は減少し、各種筋肉量は増加した。これらの結果は、遺伝的背景による肥満や代謝異常に対しても適切な運動療法で症状が軽減できることを示している。(利益相反 なし)

#### 8. Mathematical model of metabolic fatigue during intense exercise

○Yuttamol Muangkram, Akira Amano (College of Life Sciences, Ritsumeikan University)

An exercise-induced reduction in maximal voluntary contraction or the failure to maintain the expected force has generally defined as 'muscle fatigue'. Intense exercise activates ATPase activity and promotes ATP production, thus leading to accumulating metabolic by-products such as hydrogen ion ( $H^+$ ), inorganic phosphate (P<sub>i</sub>), and lactate, in contracting muscle and the blood. It is well known that an increase in these metabolic by-product levels can lead to metabolic fatigue. However, those complex mechanisms are still unclear. The current study aimed to construct a simplified mathematical model which can reproduce the biological mechanisms of metabolic fatigue during moderate- and high-intensity. The novel model should capture the key biological reactions and characteristic metabolic alterations observed at fatigue including; the role of creatine kinase reaction 'buffering ATP', the role of bicarbonate buffer system in regulating blood pH, and the accumulation of metabolic by-products in good agreement with the basic of experimental results. New metabolic model can provide a better understanding of fatigue during intense exercise such as 1) creatine kinase activity plays an important role in maintaining ATP homeostasis at rest-to-exercise transition, 2) the change in muscle creatine phosphate level is approximately matched by the change in muscle inorganic phosphate, 3) there is a close relationship among blood lactate level, bicarbonate buffer system, and ventilation rate. For further study, the combination of our model with other mechanism-related fatigue, e.g. shortage of substrates within muscle fiber, may help elucidate the nature of metabolic fatigue. [No conflict of interest]

#### 9. 生体機能基盤としての上皮バリアのアピカル構築

○月田早智子 (帝京大学戦略的イノベーション研究センター, 大阪大学大学院生命機能研究科)

生体は大小様々な区画に分かれ、各区画は、上皮細胞シ-

トによる「上皮バリア」により、内部環境を外部からの摂動に対応させ、種々の生体機能を発揮する。上皮バリアの表層は、タイトジャンクション (TJ) による上皮細胞間バリアと上皮細胞アピカル膜のアピカル面バリアで形成され、物質移動の制限と選択的透過を行う。私共は、分子・細胞・個体レベルの TJ 研究を推進し、近年は TJ の接着分子クローニン構造解析から細胞間バリアの分子構築モデル仮説を提唱してきた。さらに最近、細胞間バリアがアピカル面バリアと構造的・機能的に連携する構造体として「TJ-アピカル複合体」を同定した。ここでは、TJ によるアピカル構築に注目し、一般上皮細胞や気管上皮細胞におけるアピカル構築と生体機能について、最近の研究内容を議論する。(利益相反 なし)

#### 10. 無麻酔妊娠ラットにおける胎動性活動の発達と麻酔薬の効果

○有菌理久<sup>1,2</sup>, 上田 洋<sup>1,2</sup>, 玉木 彰<sup>2</sup>, 諸隈誠一<sup>3</sup>, 荒田晶子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>兵庫医大生理学・生体機能, <sup>2</sup>兵庫医療大理学療法, <sup>3</sup>九州大医学院保健学)

我々はラットの胎動性活動をヒトと同様に無麻酔で超音波画像解析をすることにより比較しようと考え、ラット胎動が顕著に認められる胎生15日齢 (E15) から胎生21日齢 (E21) までを測定した。その結果、胎動性活動にはヒトと同様に身体全体を使って動く全身性運動と細かく反応する反射性運動が存在することが判明した。全身性運動はE17をピークに減少し、反射性運動は胎生17日齢から発生し生まれる直前まで発現がする。今回はこの2つの胎動性活動において、その特性を分別した三種混合麻酔薬で使用されているブトルファノール (k オピオイド作動薬)、ミダゾラム (GABA 作動薬)、メドトミジン ( $\alpha 2$  アドレナリン作動薬) の作用を調べた。全身性運動に対して、ブトルファノールはE21において顕著に抑制し、ミダゾラムとメドトミジンは、E17-19において顕著に抑制を示した。一方、反射性運動は、ブトルファノールによりE19で抑制され、ミダゾラムとメドトミジンによりE19-E21で顕著に抑制された。これらの結果より、全身性運動を主に抑制していたのはGABAと $\alpha 2$  アドレナリン受容体であり、反射性運動を強く抑制していたのは $\alpha 2$  アドレナリン受容体であることが分かった。胎動性活動の発達においてGABAとアドレナリン受容体の重要性が示唆された。(利益相反 なし)

#### 11. マウス心筋前駆細胞 Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs) における多核形成のメカニズムの検討

○福永 諒, 尾松万里子, 松浦 博 (滋賀医科大学・生理学講座・細胞機能生理学部門)

Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs) は、成体マウス心室筋細胞の単離時に得られる間質細胞分画の培養中に発見された拍動細胞である。ACMs は、培養皿に接着したのち数日間かけて自発的に拍動細胞に成長することから、心筋前駆細胞の一種であると推察された。この細胞のほとんどは多核であるが、増殖は確認されていない。今回、この細胞の多核形成機序について検討した。核内に蛍光タンパク質を発現する Fucci2 トランスジェニックマウスおよび野生型マウスからそれぞれ ACMs を調製して共培養したところ、細胞内に両方のマウス由来の核をもつ拍動細胞を確認した。一方、高解像度顕微鏡を用いて詳細に調べた結果、細胞質分裂を伴わない核分裂が起こっていることがわかり、ACMs は細胞融合だけでなく、核分裂によっても多核細胞を形成することが明らかになった。さらに、分裂期の姉妹染色分体の分離不全で生じるとされている DNA bridge など通常の細胞核では見られない特徴が観察されたことから、核の異常分裂が ACMs における細胞増殖を妨げる要因の1つとなっている可能性が示唆された。(利益相反 なし)

### 12. 単一心筋細胞モデルを使った心周期モデルの開発

○丹羽彩夏, 野間昭典, 天野 晃 (立命館大学院生命科学研究所)

我々はヒト心室筋細胞 (HuVEC) モデルを開発しているが、最終的にこのモデルが心室のポンプ機能発現に応用可能か検証する必要がある。そこで、HuVEC モデルから得られる収縮力によって仮想ラプラス心の心内圧を計算し、後負荷、抹消血管抵抗、前負荷、心房ラプラス心に接続することによって、心周期図を再現した。これまで心室筋細胞モデルの収縮と心室収縮の時間経過の整合性を満足できる計算方法を確立した上で、拍動に伴う心室容積変化や、これによる後負荷血圧変化の時間経過がほぼ正確に再現できることを確認できた。今回は、動脈弁の開閉と動脈血流速の関係を精緻化する事を目指した。心室の収縮によって血液に与えられる側圧 (P) と運動エネルギーに関するベルヌーイの式を導入した。

$$E = P + \frac{1}{2} \rho \cdot v^2 \quad \text{変形して, } v = \sqrt{\frac{2 \cdot (E - P)}{\rho}}$$

P は後負荷の容積-内圧関係から計算し、E を心室内圧に等しいと仮定して、血流速  $v$  を計算した。その結果、心室の内圧と容積関係については、より生理学的に正常に近い波形が得られた。しかし、運動エネルギーによって、動脈弁が閉じるタイミングが側圧関係の逆転から遅れるという仮説を明確に立証することはできなかった。(利益相反なし)

### 13. 心筋収縮力の生理学的調節機転の数値モデル構築

○中川敦博, 野間昭典, 天野 晃, 姫野友紀子 (立命館大学・生命科学研究所)

心筋収縮力は外部からの神経性、液性調節に加えて、細胞固有の調節機転によって制御される。既に、 $\beta$ 1-アドレナリン受容体 (AR) を介する A キナーゼを介する調節はヒト心室筋細胞モデルに加えられている。この研究では、カルモジュリンキナーゼ (CaMKII) を介する興奮頻度の上昇に応じた収縮力の増強 (positive inotropic 作用) を細胞モデルに加えて、より包括的に心筋収縮力の変化を再現できるヒト心室筋細胞数値モデルの構築を目指している。CaMKII については、Chiba ら (2008) によって提案されたモデルを細胞モデルに実装し、その標的イオントランスポータとして、L-type Ca チャネル ( $I_{CaL}$ , SERCA) と筋小胞体膜への Ca の取り込みを担っている SERCA の、調節因子 phospholamban のリン酸化による機能修飾をモデル化した。 $\beta$ 1-AR シグナル伝達では、chronotropic 作用によって心拍が加速され、これによって細胞内 Ca 量が増大し、収縮力が増大するが、これによる CaMKII の活性化がどの程度期待できるか、検証し、このシグナル伝達の重要性を定量的に検証する。(利益相反 なし)

### 14. 匂いによる恐怖記憶想起時の交感神経活動と循環動態の変化

○矢口佳奈, 池亀静香, 三木健寿, 吉本光佐 (奈良女子大学生生活環境科学系自律神経生理学)

【目的】心的外傷後ストレス障害に交感神経活動および循環機能の変化を伴うことが知られているが不明点が多い。本研究はラットに匂いによる恐怖条件付けを行い、匂いによって恐怖を想起している時の交感神経活動と循環動態の応答について検討した。【方法】Wistar 系雄ラットを用い、腎及び腰部交感神経活動、海馬 CA1 神経活動、海馬領域血流量、脳波、筋電図、心電図、横隔膜筋電図の測定用電極、及び動脈圧測定用カテーテルを慢性留置した。匂いによる恐怖条件付けは4日間行った。1日の実験プロトコールは、ホームケージでラットにアニソール、オイゲノール、無臭の3種類をランダムに嗅がせた後、アニソール呈示後にフットショックを負荷し、恐怖条件付けを行った。【結果・考察】恐怖条件付けされたアニソールの呈示により腎及び腰部交感神経活動および動脈圧は増加し、無臭よりも高い値を約2分間維持した。心拍数もアニソールにより増加し、無臭より10分間高い値を維持した。以上より、匂いによる恐怖記憶の想起は、腎及び腰部交感神経活動を増加させ、動脈圧と心拍数の変化を惹起することが明らかとなった。(利益相反 なし)

### 15. 拘束浸水ストレスがラットの海馬組織血流量調節に及ぼす影響

○増田柚果, 矢口佳奈, 池亀静香, 三木健寿, 吉本光佐  
(奈良女子大学生生活環境科学系自律神経生理学)

【目的】ストレスが海馬組織血流量調節に影響を及ぼすことが示唆されているが, その詳細は不明な点が多い. 本研究はラットを用い, 拘束浸水ストレスが海馬組織血流量調節に及ぼす影響を検討した. 【方法】Wistar 系雄ラットを用い, 海馬 CA1 神経活動, 腎および腰部交感神経活動, 海馬組織血流量, 脳波, 筋電図, 心電図測定用電極及び動脈圧測定の為のカテーテルを慢性留置した. 拘束浸水ストレス負荷を 5 日間行った. 一日の実験プロトコールは, ホームケージでのコントロール期 60 分, その後拘束浸水ストレス期 90 分, 後ホームケージでの回復期 60 分間とした. 海馬組織血管抵抗を海馬組織血流量と動脈圧から算出した. 【結果・考察】実験 1 日目は, 拘束浸水負荷直後に海馬組織血流量は減少し, 海馬組織血管抵抗は増加した. その後拘束浸水ストレス 90 分の間に海馬組織血流量は徐々に減少し続け, 血管抵抗は増加し続けた. 一方, 実験 4 日目の負荷では, 拘束浸水直後に海馬組織血流量と血管抵抗は初日と同じレベルに変化した, その後負荷 90 分間の間で変化はなく, 負荷直後のレベルを維持した. 以上より, 拘束浸水ストレス負荷は海馬組織血流量を持続的に低下させ, 組織血管抵抗の増加がその一因であることが明らかとなった. (利益相反 なし)

### 16. ヒト心室筋細胞モデルで再現した連続 EAD 発生とそのエネルギー代謝

○清川祥大朗, 氏原美玲, 野間昭典, 天野 晃 (立命館大学大学院生命科学研究所)

$\text{Na}^+$  電流は速い不活性化を示すが, 僅かではあるが数百ミリ秒にわたって流れ続ける成分 ( $I_{\text{NaL}}$ ) があり, 心不全では  $I_{\text{NaL}}$  の不活性化が更に遅延し,  $I_{\text{NaL}}$  が早期後脱分極 (EAD) の原因となる可能性が示唆されている. EAD は  $I_{\text{CaL}}$  の活性化に依るので, シミュレーションでは, EAD が連発すると強縮が誘導されるのが観察できて, 例えば低酸素状態ではこれによって細胞内 ATP が枯渇する可能性が示唆された. EAD が連続して発生する場合,  $I_{\text{NaL}}$  の不活性化が進行するので自動的に EAD 発生はやがて停止する. しかし, EAD が広い範囲で発生する場合, EAD がその範囲内で連続する可能性がある. 我々は, 簡単な例として心筋細胞の一次元配列でこの持続する EAD 発生を検証した. 正常細胞 (100 個) と EAD が発生しやすい細胞を一次元に多数 (1000 個) 結合することで EAD が複数箇所から発生, 興奮が長時間持続し, 時に膜興奮が健常部位に伝播するシミュ

レーションに成功した. この報告では, この現象のメカニズムを解析した結果と心筋強縮状態で ATP が枯渇, これによって ATP 感受性  $\text{K}^+$  チャネルが活性化し, EAD 発生を抑制する現象を観察したのでその生理学的意義を考察する. (利益相反 なし)

### 17. 左心室における駆出期等時刻圧容積勾配の変化

○加藤詩朗, 岸田昂大, 天野 晃 (立命館大学生命科学研究科)

ヒトやイヌ等の大型哺乳類の収縮末期圧容積関係 (ESPVR) が直線状になり, 前負荷・後負荷に依存しないため, ESPVR の勾配を表す左心室最大弾性率 ( $E_{\text{max}}$ ) は心臓の収縮性を表す良い指標とされている. また, この性質を用いて左心室の圧容積比である弾性率が時間変化するとした数理モデルである時変弾性モデルが提案されている. このモデルでは, 等時刻の圧容積関係 (PVR) は同一直線上に位置する. 一方, 心室筋細胞の詳細な収縮分子機構モデルを利用した左心室モデルも提案されているが, 時変弾性モデルとの特性の違いは明らかではない. そこで本研究では, 血管系モデル, 左心室モデルおよび心室筋細胞収縮モデルを統合した循環動態モデルを用いて, 駆出期の等時刻 PVR が, 後負荷の変化に対してどのようになるか解析した. その結果, 駆出期の等時刻 PVR は常に線型関係を保つが, PVR の勾配  $E$  は, 収縮末期にかけて減少し, PVR の体積軸切片に対応する無負荷体積が減少していく結果となった. 収縮末期にかけて左心室弾性  $E$  が増加する時変弾性モデルの PVR の性質と, 心筋細胞収縮モデルを利用した左心室モデルの性質とは整合しない結果となった. (利益相反 なし)

### 18. 生理学教育への“e-Heart”教材の活用～立命館大学における実践～

○姫野友紀子, 野間昭典, 天野 晃 (立命館大学生命科学部生命情報学科)

生理学は, 物理学, 化学, 数学などの基礎科目の上に成り立つ学問である. 生物学を専攻した学生は, しばしば基礎科目の理解が曖昧であるという認識から, 生理学に対して苦手意識を抱くケースが多い. しかし, 生理機能のメカニズムを正確に把握するためには, 数式化のプロセスを避けられない. そこで我々は, 要素毎の相互関係を常微分方程式で表現し, 数値積分で時間発展計算を行うことによって, 生体機能のダイナミズムを生き生きと再現できるシミュレーターを中心とした電子教科書“e-Heart”を開発した. シミュレーターでは, 生理学実験で計測結果をモニターで確認しながら記録するのと同様に, シミュレーション結

果をモニタに表示し、データとして保存可能である。実験研究では、得られた結果をこれまでの研究で蓄積されてきた知見と総合して、その背景にあるメカニズムを考察するが、シミュレーションでは得られた結果を得るための数式はすべてプログラムコードとして明示されている。実験研究から想定されるメカニズムを、数式という具体的な形で説明できるシミュレーターは、生理学教材として有用であると我々は考え、本学で教育・研究を行ってきたので、その実践について紹介したい。(利益相反 なし)

### 19. 嗅細胞での内向き単一チャンネルの検討

○倉橋 隆, 竹内裕子 (阪大生命生理学)

嗅細胞は線毛で匂いを受容, 線毛に局在するCNGチャンネルとCa感受性Clチャンネルの協同により脱分極性の受容器電位を発生した後に細胞体の電位依存性チャンネル(例えば, 電位依存性Naチャンネル, T型Caチャンネル, 各種Kチャンネル)の活動により活動電位を発生し, これが軸索を通して匂いの情報を脳へ伝導する。さらに, 細胞体には各種のイオンチャンネルが存在し, 様々な細胞機能の発現に関与すると考えられる。今回, バッチクランプ記録の際に微小電流ウィンドウを設定してイモリ嗅細胞の細胞体でCell-attachedモードでチャンネル活動を検討・検索を行ったところ, 従来には確認されなかったチャンネル活動が見出されたので報告する。(利益相反 なし)

### 20. イモリ嗅細胞のベール活動に関する検討

○竹内裕子, 倉橋 隆 (阪大生命生理学)

嗅細胞は線毛に存在する嗅覚受容体で匂い分子を受容した後, G蛋白介在性の酵素カスケードを介し, 情報変換チャンネルの開口により受容器電位を発生し, 軸索を通して嗅球へ情報を伝える。嗅球には神経叢としての糸球体構造が存在し, 同一の嗅覚受容体を発現する嗅細胞は同一の糸球体へ軸索投射することが知られている。つまり, 嗅細胞の軸索投射は発現する嗅覚受容体と何らかの形でリンクした機構に制御される。この軸索投射の制御機構には様々な説が提唱されているが, そのうちの1つにNakashimaら(2013, J Physiol)が提唱する嗅細胞細胞体のHCNチャンネルの関与がある。HCNチャンネルは細胞内側のcAMP濃度感受性を持ち, 活動性が変化するが, 嗅細胞では細胞体内cAMPは発現する嗅覚受容体に依存して変化するため, 細胞の活動性は嗅覚受容体の種類によって異なっている(匂いの存在とは独立である)。しかし, この説の決定的な弱点は, マウス以外の両生類やヒトではHCNチャンネルが認められない点にある。今回, HCNチャンネルが存在しないことで知られているイモリを例にとり, 細胞のbasal活動の決

定因子について検討し, 新たな知見が得られたので報告する。(利益相反 なし)

### 21. 神経細胞におけるMnの代謝

○井上明男 (京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター)

神経細胞が興奮するとCaが細胞内に流入する。MnはCaのチャンネルを通して細胞内に流入する。MnはMRIで同定できるので, 生きたまま脳活動を測定することが可能となる。しかしながら, Mnの細胞内の挙動についてはあまりよく知られていない。そこでラット海馬の培養神経細胞を用いFluo-4の蛍光からCaならびにMnの挙動を調べた。Fluo-4の蛍光はCaによって増大し, Mnがあると消光する。神経細胞をMn存在下でグルタミン酸で刺激するとMnはゆっくりと流入した。Mn存在下でグルタミン酸処理し, 時間がたってからFluo-4をチャージして再刺激すると小胞からのMnの遊離が観測できる。しかしながらMn存在下でのグルタミン酸刺激ののちに何度もグルタミン酸で刺激するとMnは消失しFluo-4の蛍光は消光しなくなる。この結果はリアノジン受容体のCa-induced Ca-release機構によっては小胞からMnも遊離することを示している。実際, 神経細胞にリアノジン受容体の促進剤を加えると小胞からCaならびにMnが遊離し, リアノジン受容体の阻害剤であるダントロレンを加えるとCaならびにMnの遊離を阻害した。そこでこのことを用いてMnの小胞内への封じ込めを検討している。(利益相反 なし)

### 22. 脳室上衣線毛細胞の培養系の確立及び線毛運動の活性化機構の解明

○名本有里枝<sup>1</sup>, 中張隆司<sup>2</sup>, 岡崎興徳<sup>1</sup>, 浅野真司<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>立命館大学薬学部, <sup>2</sup>立命館大学総研)

脳室表面は線毛上衣細胞によって覆われている。脳室線毛は, 脈絡叢で産生されクモ膜下腔から吸収されている脳脊髄液流を駆動していると考えられている。それゆえ, 脳室線毛運動の障害は水頭症の原因となる。しかし, 脳室線毛運動の活性化機構は十分に理解されていない。

脳室線毛運動の活性化機構を明らかにするためには, 安定な実験系として, 脳室上衣線毛細胞の培養系の確立が必要である。これまでの報告で, 新生仔脳細胞を無血清培地で培養することで脳室初期線毛細胞が得られることが示されている。今回, permeable-support filterを用いた新たな培養法を試みた。新生仔脳細胞を単離した後, permeable-support filterに播種し, 基底側は血清を含んだ培地, 管腔側は無血清培地で培養(3D-culture)することで, 脳室線毛細胞に分化させることができた。脳室線毛細胞の機能は,

線毛運動の周波数 (CBF, ciliary beat frequency) 及び振幅 (CBD, ciliary beat distance) を測定し、機能評価を行った。3D-culture 開始後 5 週で、20Hz 以上の CBF を持つ線毛細胞を得ることができた。ただし、全面に線毛細胞を生やすことはできておらず、無血清培地以外の因子が必要であることが示唆された。現在、様々な因子について検討を始めている。(利益相反 なし)

### 23. 成体神経幹細胞の自己複製へのミノサイクリンの直接的作用

○黒田杏理, 測上孝裕, 福家 聡, 小山なつ, 等 誠司 (滋賀医科大学生理学講座統合臓器生理学部門)

ミノサイクリンはテトラサイクリン系の抗生剤としてよく知られているが、抗生剤以外の薬理作用も多数報告されている。多くの神経疾患においてミノサイクリンの抗生剤以外の機能を期待した治療が行われているが、そのメカニズムについてはまだ明らかになっていない。

我々は、ニューロフィアアッセイと呼ばれる脳室周囲の神経幹細胞の培養方法を用い、ヒトの治療域濃度のミノサイクリンをニューロフィアに直接投与した *in vitro* の系において、ミノサイクリンはマウスの成体神経幹細胞に直接作用し、自己複製能を促進し、オリゴデンドロサイトへの分化を促すことを見出した。また、浸透圧ポンプを生きたマウスの脳室に埋め込み、マウスの脳室内の脳脊髄液にミノサイクリンを 7 日間投与する *in vivo* の系においても、マウスの成体神経幹細胞の自己複製能が促進されることが判明した。

現在、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病などの神経変性疾患や多発性硬化症などの脱髄性疾患の臨床での治療にミノサイクリンが有効であるという多数の報告がある。本研究による知見は、これらの神経疾患にミノサイクリンが有効であるメカニズムのひとつであると示唆した。(利益相反 なし)

### 24. オリゴデンドロサイトおよびその前駆細胞の生体内カルシウムイメージング

○尾野里穂, 加藤大輔, 杉尾翔太, 橘 吉寿, 和氣弘明 (神戸大学医学研究科システム生理学分野)

高次脳機能の発現には神経回路活動が正確かつ時空間的に制御される必要がある。オリゴデンドロサイトが軸索周囲に形成する髄鞘は神経伝達速度を制御し 50 倍程度まで速めることができるため、この活動電位の伝搬速度の制御は、高次脳機能の発現に必要な不可欠と考えられている。さらに近年、髄鞘化は神経活動依存的に起き、髄鞘化された軸索で構成される白質は学習や訓練に伴い可塑的に変化する

ることがヒト MRI を用いた研究で示された。しかし、その際オリゴデンドロサイトがどのように機能応答して髄鞘形成を引き起こすのか、そのメカニズムは不明な点が多い。そこで我々は、マウスのオリゴデンドロサイトおよびその前駆細胞 (OL/OPC) の活動を 2 光子顕微鏡で可視化し、神経活動に対する OL/OPC の構造的・機能的応答やその生物学的意義の解明を試みた。結果、麻酔を用いて神経活動を低下させると OL/OPC の活動は低下し、神経活動を人為的にケモジェニックに活性化させる DREADD システムを用いて神経活動を増加させると OL/OPC の活動は増加することを見いだした。以上より、OL/OPC は神経活動を受容し、その活動レベルに応じて自身の細胞活動を厳密に制御することが、神経活動依存的な髄鞘化に極めて重要な要素である可能性が示唆された。(利益相反 なし)

### 25. 妊娠中の母体炎症による児ミクログリアへの影響

○尾崎可奈, 春若航一郎, 橘 吉寿, 加藤大輔, 和氣弘明 (神戸大学大学院医学研究科システム生理学分野)

発達段階の脳では神経細胞のアポトーシスに引き続く、シナプスリモデリングによる神経回路構築が行われ、これらはミクログリアによって制御されることが知られている。一方、母体炎症による児の自閉症、統合失調症のリスク上昇が指摘され、動物実験では疾患モデルとして使用される。しかし遺伝的素因が大きいこれら疾患が炎症を契機に発症する機序およびそのミクログリアの関与は明確になっていない。我々は、妊娠中期での母体マウスの炎症による、胎児ミクログリアのサイトカイン発現比を調べ、ミクログリアを 2 光子顕微鏡で可視化することで、ミクログリアの遺伝子発現変化と構造的徴変化を解明することを試みた。さらに行動実験により児ミクログリアの性質変化と精神行動への寄与との関連を解明することを試みた。結果、母体炎症によって胎児ミクログリアの炎症促進性サイトカインの上昇と、胎生 18 日と生後 10 日での突起運動速度変化を見いだした。疾患好発時期の生後 6 週齢では妊娠中期炎症モデルで LPS 投与による生後炎症の突起運動速度変化を認め、行動実験では明らかな児の不安行動と社会性低下を認めた。これらの結果より、妊娠中期からのミクログリア遺伝子発現変化による機能異常が疾患発症の要因になる可能性が示唆された。(利益相反 なし)

### 26. 初代培養ミクログリアにおけるモエシンの生理機能の解析

○岡崎興徳<sup>1</sup>, 川口高德<sup>1</sup>, 中張隆司<sup>2</sup>, 浅野真司<sup>1</sup> (<sup>1</sup>立命館大学薬学研究所, <sup>2</sup>同 上皮生理研究ユニット)

ミクログリア (MG) は、中枢における免疫細胞である。

休止型 MG は分岐した突起を伸縮させ周囲を監視しているが、傷害を感知すると活性型 MG になり、突起を退縮させ傷害部位へ移動し集積し、NO や TNF- $\alpha$  などの神経傷害性物質や IL-10 や BDNF などの神経保護性物質を放出する。さらに、死んだ神経細胞などを貪食し除去する。モエシンは、アクチン結合タンパク質であり、低分子量 G タンパク質である Rho や Rac 活性を調節して、膜ラフリングなど形態変化の制御に関与する。モエシンは MG に高発現するが、その生理的機能は報告されていない。本研究では、野生型 (WT) とモエシン欠損マウス (Msn-KO) から初代培養 MG を調製し、貪食能、化学遊走能、突起退縮という大きな形態変化をともなう機能を比較・検証した。

Msn-KO の MG は、WT と比較して UDP 依存性の貪食能の低下、ADP 感受性の遊走能の低下、LPS 感受性の突起退縮速度の低下が見られた。また、ADP、UDP 刺激による膜ラフリング数の低下も見られた。よって、モエシンが、低分子 G タンパク質を活性化し、膜ラフリングの関わるアクチン重合を伴う貪食や化学遊走に影響すると考えられた。(利益相反 なし)

## 27. ノルアドレナリン $\beta$ 受容体を介したコントラスト感度修飾作用の神経機序

○角田圭輔<sup>1</sup>、佐藤彰典<sup>1</sup>、七五三木 聡<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>大阪大学

大学院生命機能研究科、<sup>2</sup>同 全学教育推進機構スポーツ脳情報科学研究室)

脳幹の青斑核ニューロンから脳全体に放出されるノルアドレナリン (NA) は、神経修飾物質として様々な脳機能を調節するが、視覚機能に果たす役割はよく分かっていない。そこでラットの視覚刺激検出限界能 (コントラスト感度、CS) に対する NA の影響と神経機構を検討した。CS と NA の関係性を調べるため、大脳皮質一次視覚野 (V1) の神経活動が刺激検出に関与し、NA は V1 ニューロンの活動を修飾することで CS を調節するという仮説を立てた。この仮説検証のため、視覚刺激検出課題遂行中のラットの V1 から多点細胞外記録を行い、課題成績と神経活動の関係、そして両者への NA $\beta$  受容体阻害剤 (プロプラノロール、PRP) の効果を調べた。行動課題では、頭部固定されたラットの前面モニターに様々なコントラストのグレーティング刺激を呈示した。刺激に対して、ラットはレバー操作で応答する事により報酬を得た。

V1 ニューロンの約 1 割は、課題の正誤に応じて発火強度を変化させた。PRP の V1 への浸潤投与により、検出閾値付近のコントラストに対する課題正答率は有意に向上し、ニューロンの視覚応答シグナルノイズ比も向上した。そのため NA は、V1 の  $\beta$  受容体を介して視覚刺激検出能を低下させている可能性がある。(利益相反 なし)