

演題 1. 尿の浸透圧変化からヒト胸管リンパ流量を推定する測定法の開発

○林 もゆる^{1,2}, 浅香智美^{1,2}, 前島大輔², 河合佳子^{1,2}, 大橋俊夫² (1東北医科薬科大・医・生理, 2信州大・医・メディカルヘルスイノベーション)

私たちはこれまでに、ヒトにおいてリンパ流量を増加させるといわれる腹式呼吸を行うことで血液希釈がおこること、抗利尿ホルモン (ADH) 濃度の低下が起こることを見出している。この希釈度からヒトの胸管リンパ流量を定量的に評価できることをヒトの臨床研究やウサギの動物実験で証明してきた。また、ラットを使った実験から蒸留水の摂取により腸のリンパ流量が大幅に増加することを見出し、摂取した水分や水溶性物質が腸リンパから主に吸収されることを証明した。そこで本研究では、負担の少ない尿一般検査によってヒトの胸管リンパ流量を評価する方法の開発を試みた。研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を受けて実施した。対象者を蒸留水摂取の有無で分け、仰臥位前後の血液と尿を採取し、ADH 濃度、血液成分、尿浸透圧、尿量などを比較した結果、蒸留水摂取を行うと速やかにリンパ流量が増加しその結果血液希釈が起こること、ADH 濃度の低下により尿量が増加し、その後フィードバックとして ADH 濃度が上昇することなどが考えられた。健康人の胸管リンパ流量を尿検査で推定でき、今後リンパ浮腫療法士の実技評価に応用できる可能性が示された。(利益相反 なし)

演題 2. リンパ節切除後の再疎通現象における Gata2 遺伝子の及ぼす影響について

○鈴木紅音¹, 浅香智美¹, 林 もゆる¹, 高井 淳², 上村聡志², 森口 尚², 河合佳子¹ (1東北医科薬科大・医・生理, 2東北医科薬科大・医・医化学)

【はじめに】Gata2 ヘテロ欠損症としてリンパ浮腫を主症状とする Emberger 症候群が知られるように、Gata2 遺伝子がリンパ管の発生に重要であることが近年明らかになっている。一方、がん患者のセンチネルリンパ節生検や、リンパ節郭清術後のリンパ浮腫が長年解決されない問題であるように、リンパ節切除後の再疎通現象について未解明な点が多い。そこで、リンパ節切除後の再疎通における Gata2 遺伝子の関与について検討した。【方法と結果】Gata2 ヘテロ欠損マウスを用い、膝窩リンパ節を切除後、3 週間での再疎通の有無をコントロール群と比較した。その結果、リンパ管再疎通率はコントロール群に比べ Gata2 変異群で有意に低下した。【考察】Gata2 遺伝子は発生段階だけでなく、成体のリンパ節切除後の再疎通現象においても重要な役割を担う可能性を見出した。リンパ管の適切な再生は

リンパ浮腫の新たな治療につながるため、今後さらに Gata2 遺伝子がリンパ管再疎通現象に及ぼす影響について解析を進めたい。(利益相反 なし)

演題 3. 一過性甲状腺機能低下症マウスの局所脳波解析

○鈴木真生¹, 内田克哉², 内田竜生¹, 中尾光之¹, 井樋慶一², 片山統裕¹ (1東北大院・情報・バイオモデリング論, 2東北大院・情報・情報生物)

ヒトの胎児期および幼若期における甲状腺機能の一過性低下(以下では、Transient Hypothyroid, TH と略称)は、その後の精神発達遅滞や運動機能の低下を引き起こす。TH のマウスモデルにおいては、大脳皮質のパルプアルブミン含有ニューロン数の低下や層構造の乱れなど、解剖学的異常が生じていることが報告されている。しかし、脳波など生理学的現象への影響については明らかになっていない。本研究では、TH マウスを対象に睡眠時および安静覚醒状態において大脳皮質局所脳波の多点記録・解析を行った。その結果、TH マウスにおいては、深い徐波睡眠時に運動野付近の大脳皮質徐波のパワーが野生群に比べ有意に大きくなることが明らかになった。体性感覚野や視覚野では徐波パワーに差がみられなかったことから、大脳皮質の解剖学的変異が脳の領域依存性を有している可能性が示唆される。本研究は東北大学動物実験専門委員会の承認を得て実施された。(利益相反 なし)

演題 4. 概日リズムの支配下にある胆汁酸制御機構の数理モデル化

○森崎遥平, 片山統裕, 中尾光之 (東北大院・情報・バイオモデリング論)

概日リズムの乱れがガンを誘発することは報告されているが、その臓器特異的な分子機構については研究の余地がある。その中で肝臓ガンは詳しい分子機構が研究されており、胆汁酸の増加が概日リズムの乱れによる肝臓ガン形成に寄与すると考えられている。しかし、概日リズムの変調と胆汁酸挙動の変化との間に存在するメカニズムは確立されていない。本研究の目的は概日リズム依存的な胆汁酸の制御機構を数理モデル化し、種々の概日リズム変調状態での胆汁酸の挙動をシミュレートし、胆汁酸増加メカニズムの解明及びその予防法について提案することにある。本研究では概日リズム変調として制限給餌状態のシミュレーションを行った。制限給餌状態とは特定の時刻に給餌を制限することで食事依存の体内リズムの位相が制御された状態である。制限給餌により給餌位相と明暗位相を逆位相にして非活動期での給餌を強制した場合、胆汁酸はある時刻での一過性上昇という特異的な振る舞いをする。我々は制

限給餌によって生じる生体内の複数リズム間の相対位相の動的変化に着目したシミュレーションを行い、胆汁酸の一過性上昇メカニズムの解明を試みた。(利益相反 なし)

演題 5. Phencyclidine 投与はラット腹側海馬ネットワーク活動を变化させる

○中園智晶, 浄土英一, 永福智志 (福島県立医科大・医・システム神経科学)

Phencyclidine (PCP) は精神異常発現性薬物であり、その投与によって統合失調症によく似た症状が見られることが知られている。この PCP による統合失調症的な行動の変化は、前頭皮質ニューロンの異常活動によるものだと考えられている。先行研究においては、腹側海馬から前頭皮質へ直接投射するニューロンの活動の変化が前頭皮質ニューロンの異常活動を引き起こしていることが示されている。しかしながら、PCP 投与によって腹側海馬内の神経ネットワークにおいてどのような変化が引き起こされ、前頭皮質での活動異常に繋がっているのかは未だ十分に明らかにはなっていない。そのため本研究では、麻酔下ラット腹側海馬より多細胞記録を行い、PCP 投与前後でその活動の変化を比較した。その結果、局所脳波によって組織化されていると考えられるネットワーク活動が変化していることを示唆するデータが得られたので報告する。(利益相反 なし)

演題 6. レム睡眠中にみられる血圧変動と延髄のニューロンの関係について

○荒井佳史, 岩田逸人, 鈴木達也, 望月 要, 小山純正 (福島大・共生システム理工・神経生理)

延髄はレム睡眠の発現やレム睡眠中の筋弛緩に重要な役割を果たしている。また、延髄には呼吸や心拍、血圧を調節する循環中枢があることが知られている。レム睡眠中には、自律神経の乱れによる血圧の上昇や心拍の増加が観察されるが、延髄のニューロンがレム睡眠中の血圧変動にどのように関わっているのかはまだ明らかにされていない。

今回、我々は無麻酔頭部拘束条件下のラットを用いて、血圧を測定しながら延髄から睡眠・覚醒中の単一神経活動を記録した。これまで 115 個のニューロンを記録し、レム睡眠中に活動が上昇するニューロン (PS active ニューロン) は 75.7% (87/115) であった。

PS active ニューロンのうち、33.3% (28/87) はレム睡眠に先行して活動が上昇しており、延髄中央から後方に分布していた。このうち、持続的な発火を示すニューロンは腹側部に、相動的な発火を示すニューロンは背側部に分布していた。

また、PS active ニューロンのうち、レム睡眠時の血圧変

動に相関して活動を上昇させるニューロンは 32.2% (28/87) であった。このうち、血圧変動に先行して活動が上昇するニューロンは 75% (21/28) であり、延髄前方に分布するニューロンの先行時間は長く、延髄後方のニューロンの先行時間は短かった。

本実験は福島大学動物実験委員会の承認を得て行った。(利益相反 なし)

演題 7. TRPV6 は胎盤における母子間 Ca²⁺ 輸送に関与する

○鈴木喜郎¹, David Chitayat², 澤田浩武³, 西村玄⁴, 富永真琴⁵, 中階克己¹ (¹岩手医大・医・統合生理, ²トロント大, ³宮崎大・医・看護, ⁴埼玉医大・総合医療センター, ⁵同 生理研)

TRPV6 は非常に高いカルシウム (Ca²⁺) 選択性を持つ TRP チャネルであり、小腸などの輸送上皮において Ca²⁺ 輸送に関与し、体全体の Ca²⁺ 恒常性維持に重要と考えられている。今回私達は、骨形成不全を伴う新生児期副甲状腺機能亢進症の患者において TRPV6 遺伝子に変異を見出した。見出された変異の多くは複合ヘテロ接合という遺伝形態を取っていた。見出された変異の生理的意義をパッチクランプ法、細胞内 Ca²⁺ イメージングおよびビオチン化実験により解析した結果、1) 細胞膜への局在、2) チャネルタンパク質の安定性、3) 細胞内 Ca²⁺ 依存性チャネル不活性化、に関与する 3 つのタイプの変異が存在することが明らかになった。また、これらミスセンス変異以外にもスプライシング異常を伴うイントロン変異も同定された。TRPV6 がマウス胎盤において胎仔の骨形成のための母子間 Ca²⁺ 輸送を担うという私達の過去の結果を踏まえると、TRPV6 は胎児の骨形成のための胎盤 Ca²⁺ 輸送に関与し、その生理機能はマウスからヒトに至るまで保存されていることが示唆された。骨形成不全を伴う新生児期副甲状腺機能亢進症は TRPV6 遺伝子の変異により生じる遺伝性疾患であることが明らかになった。(利益相反 なし)

演題 8. ニホンザルにおける歩行中の姿勢変換過程の解析

○鈴木 享¹, 守田和紀¹, 村田 哲², 稲瀬正彦², 中階克己¹ (¹岩手医大・医・生理・統合生理, ²近畿大・医・生理)

サルは流れベルト上を歩きながら体幹姿勢を水平位 (四足歩行) から直立位 (二足歩行) へと変換することができる。この姿勢変換過程を明らかにするために四肢・体幹のキネマティクスと筋活動を解析した。姿勢変換は一側後肢 (trigger limb, TL) の着地時に開始され、1-2 歩行周期間に

完了した。この期間では矢状面の体幹軸角度は約 5° から 70° へと増加した。前額面では四足歩行中の尾部は右足と左足の歩隔間に位置したが、姿勢変換直前に TL 側に変位した(姿勢調節①)。姿勢変換期間の尾部は、TL の着地相では TL の反対側へ、続く対側後肢の着地相では TL 側へと変位し、各下肢の着地相に一致して内外側方向への変位を繰り返した(姿勢調節②)。四足歩行中の下肢の抗重力筋は着地相で活動し、左右の脊柱起立筋は各下肢の着地時に共収縮した。姿勢変換期間ではこれらの筋活動は増加し、左右の脊柱起立筋は交代性に活動した。姿勢変換に伴う上記の変化は二足歩行でも維持された。以上より四足歩行から二足歩行への姿勢変換過程において、起き上がり動作と二足歩行運動のそれぞれに先行する二つの姿勢調節を同定できた。これらの予測的姿勢調節は歩行中の姿勢変換における動的バランスの担保に寄与する。(利益相反 なし)

演題 9. リンゴ果皮に含まれる Phlorizin/Phloretin の質量分析

○小野幸輝¹、今井麻智子¹、長友克広¹、田中和明²、山田勝也¹ (¹弘前大院・医・統合機能生理、²弘前大院・農学生命)

生物の栄養素である D-グルコースの鏡像異性体 L-グルコースは細胞膜を通過せず、生物が利用しないとされてきた。蛍光標識グルコースを用いてこの立体選択性の可視化を試み、種々の細胞で検討を進めている (Yamada, K. Biol. Pharm. Bull. 41 : 1508-1516, 2018)。その結果、がん細胞には蛍光標識 L-グルコース (fLG) を取り込むものがあり、各種婦人科がんの手術時、病変切除前に行う腹水検査液に fLG 陽性細胞が存在した場合、術後経過が極めて悪い傾向を認めた。fLG の腫瘍細胞内への取り込みはリンゴ果皮に高濃度に含まれる Phloretin (PHT) で消失するが (Sasaki A et al, Human Cell 2016)、PHT は病害微生物から果実を保護するファイトアレキシンである Phlorizin (PRZ) の aglycone で、抗がん効果を示唆する研究も多い。そこで無農薬栽培や無化学肥料栽培を実践する農家の協力を得て、リンゴ果皮に含まれる PRZ/PHT 含量を LC/MS 等で定量し、栽培法の影響等を調査した。共生微生物の検索や糖分析も実施し、いくつか興味深いデータが得られた為、その一部を紹介する。(利益相反：小野幸輝(研究費・助成金などの総額(日本メジフィジックス株式会社、浜松ホトニクス株式会社、株式会社ペプチド研究所))、今井麻智子(研究費・助成金などの総額(日本メジフィジックス株式会社、浜松ホトニクス株式会社、株式会社ペプチド研究所))、長友克広(研究費・助成金などの総額(日本メジフィジックス株式会社、浜松ホトニクス株式会社、株式会社ペプチド

研究所))、山田勝也(研究費・助成金などの総額(日本メジフィジックス株式会社、浜松ホトニクス株式会社、株式会社ペプチド研究所))

10. 大腸菌、および真核細胞でのハイブリッド遺伝子発現システムによるカルシウムチャネル研究への応用

○村上 学¹、大場貴喜²、村上アグニエシユカ¹、板垣史郎³ (¹弘前大・医・病態薬理、²秋田大・医・細胞生理、³札幌医科大・医・産学・地域連携センター)

遺伝子のクローニング、および発現による機能解析は重要である。我々はシンプルに目的遺伝子のクローニングを行い、大腸菌、および哺乳類細胞で遺伝子発現を行うハイブリッド型遺伝子発現システムを開発した。新規遺伝子発現システム (pgMAX) は CMV プロモーターと polyA 配列からなる哺乳類発現ユニット内に、IPTG による遺伝子発現誘導システムを組み込んだものである。平滑末端を有する遺伝子を pgMAX 内の EcoRV に挿入すると、IPTG 誘導により、組換え体のみが、コロニーを形成する。DsRed 遺伝子を用いたところ、蛍光観察により、目的の組換え体を同定した。カルシウムチャネル β サブユニットにおいても、遺伝子発現を確認した。抗体認識ドメインを検索する目的で、エピトープライブラリーを作成したところ、C 末端領域が抗体認識部位であることが明らかとなった。さらにカルシウムチャネルサブユニット間の結合部位を同定する目的にも応用可能であった。上記発現システムを用い、カルシウムチャネル β サブユニットが CaV1.2 の C 末端領域に結合することも、Overlay 法で明らかとなった。以上、新規発現システムである pgMAX は汎用性の高い発現システムと期待される。(利益相反 なし)

演題 11. 急速融解によるラット 1 細胞期胚のガラス化保存法の開発

○福田康義^{1,2}、東谷美沙子¹、小畑孝弘¹、場崎恵太¹、矢野愛美¹、尾野恭一²、大場貴喜²、岡本洋介²、西島和俊¹、関 信輔¹ (¹秋田大・動物実験部門、²秋田大・医・細胞生理)

CRISPR/Cas9 システムにより多くの動物種で安価で簡単にゲノム編集動物を作出できるようになった。そのため、CRISPR/Cas9 システムで使用する 1 細胞期胚の凍結保存法の開発が望まれる。しかし、ラット 1 細胞期胚の凍結保存は高価なデバイスを用いた報告に限られている。我々は、凍結保存には融解速度が重要であるという研究結果を得ており、融解速度に着目することで、安価なデバイスを用いたラット 1 細胞期胚の凍結保存技術の開発を行っている。

ガラス化溶液として耐凍剤(エチレングリコール, 10%,

20%, 30% または 40%vol/vol), フィコール, スクロースを含む EFS10, EFS20, EFS30 または EFS40 を用いた。また, 融解には 23°C, 37°C または 50°C のスクロース溶液を用いた。胚へのガラス化溶液の毒性を調べたところ, EFS10 で処置した胚のみ無処置群と同様の胚盤胞期への発生率を示した。しかし, EFS10 による凍結保存では, いずれの融解温度でも胚盤胞期への発生率は低かった。そこで, 低濃度の耐凍剤溶液で前処置したのち, EFS10 で凍結保存したところ, 50°C の急速融解で非凍結群と同様の胚盤胞期への発生率が確認できた。本研究により, クライオチューブによるラット 1 細胞期胚の凍結保存が可能であることが示された。(利益相反 なし)

演題 12. IP₃ receptor binding protein released with IP₃ (IRBIT) 欠損マウスにおける高次脳機能への影響

○藤原浩樹, 山崎良彦, 後藤純一, 金子健也, 藤井 聡 (山形大・医・生理)

細胞内の情報伝達物質として重要な機能をはたしている 1 つにカルシウムイオンが挙げられる。IRBIT は, 細胞内のカルシウムチャネルの 1 つであるイノシトール三リン酸受容体 (IP₃R) の活性を制御する因子として知られている。

IRBIT が豊富に存在する脳神経系の機能は未だ不明なところも多く, IRBIT が海馬神経細胞において, 記憶や学習等の脳高次機能に大きな役割を果たす事が期待される。そこで, IRBIT 欠損マウスを用いて, 自発行動, 恐怖条件づけの行動解析を行った。

自発行動では, IRBIT 欠損マウスが自発運動機能にどのような影響を与えるかを新奇環境下での自発的活動性・不安様行動に注目した。結果, IRBIT 欠損マウス群は野生型のマウス群よりも行動量が増加する傾向にあった。

恐怖条件づけでは恐怖記憶の獲得, 消去, 想起のプロセスに注目した。結果, 条件づけでは恐怖記憶の獲得ができた。

行動解析した結果, 記憶や学習を可能にしているプロセスの制御機構が, 記憶学習をはじめとする高次脳機能において, IRBIT がどのような役割を担っているのかを今後明らかにしていきたい。(利益相反 なし)

演題 13. てんかんモデルラットにおける GABA 合成酵素の発現量の変化

○福田湧希, 大柳貴紀, 川松里穂, 阿部聡太, 梶田裕貴, 虫明 元 (東北大・医・生体システム生理)

抑制性神経伝達物質の GABA は, GABA 合成酵素 (GAD) 67 と GAD65 から合成される。その中でも GAD65 は刺激依存的な GABA 合成を主に担っており, 薬剤投与に

よって作成されたてんかんモデル動物の海馬では, GAD65 は減少することが報告されている。また, GAD65 欠損動物は重篤な痙攣発作を発症することなどから, GAD65 とてんかん発作が密接に関係していることが示唆されている。しかし, GABA 細胞は, その形態や入力先の違いなどによって複数のサブタイプに分類され, どのサブタイプの異常がてんかん発作の原因となるのかは詳しく分かっていない。

本実験では, ラットに GABA_A 受容体のアンタゴニストであるベンチレンテトラゾールを連続投与 (40mg/kg, i.p., CTL: 生理食塩水) し, 全般性発作を起こすラット (てんかんモデルラット) を作成した。その後, 灌流固定を行い免疫組織化学染色により, 海馬 CA1 における GAD65 の発現量の変化をサブタイプ間で比較を行った。その結果, てんかんモデル動物の脳内において GAD65 が顕著に減少している GABA サブタイプがあることが明らかになった。(利益相反 なし)

演題 14. グルタミン酸デカルボキシラーゼ GAD67 遺伝子を欠損したラットの神経学的解析

○劉 冬雨, 大城朝一, 虫明 元 (東北大院・医・生体システム生理)

抑制性神経伝達物質であるガンマアミノ酪酸 (GABA) は, グルタミン酸がグルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) によって脱炭酸を受けることにより生合成される。GAD には分子量で区別される 2 つのアイソザイム, GAD65 または GAD67 が存在しており, 其々細胞内の異なる場所 (シナプス又は細胞体) に局在していることから, 生物学的な役割が異なると予想されている。GAD65 遺伝子をノックアウトしたマウスとラットは成長に従い重篤な癲癇発作を繰り返す様になることから, 中枢神経系における抑制性神経伝達において重要な役割を果たすことが示唆されている。一方, GAD67 遺伝子をノックアウトしたマウスは口蓋裂を伴って出生し生後数日以内に死亡するため神経学的な症状を調べることが出来ない。この為に GAD67 の中枢神経系における役割は依然として不明のままであった。

出生後直ちに死亡してしまうノックアウトマウスとは対照的に, GAD67 遺伝子をノックアウトしたラットは口蓋裂を呈せず, 成獣まで生育することが群馬大学医学部の柳川右千代教授らの研究 (未発表) によって明らかにされている。本研究では共同研究として GAD67 ノックアウトラットを譲り受け, GAD67 遺伝子の欠損がどのような脳機能の異常を引き起こすのか神経学的に調べることを目的とする。埋め込み型記録電極を用いて覚醒下での脳波測定を行い, 癲癇性発作波出現の有無, そして睡眠徐波及び覚醒速波の周波数分布の野生型動物との違いを中心に解析する。

(利益相反 なし)

演題 15. Role played by medial frontal areas in selection of behavioral tactics to transform sensory information into action

○M. Ali Haider Awan¹, H. Mushiake¹, Y. Matsuzaka²
(¹東北大院・医・生体システム生理, ²東北医科薬科大・医・神経科学)

Flexible, context dependent behavior necessitates the selection of diverse protocol to convert sensory information into valid action (i. e. behavioral tactics). Previous studies indicated implication of posterior medial prefrontal cortex (pmPFC) of primates in this process. In the present study, we examined how the selected tactics is utilized to transform visual information into action and how the pmPFC and the downstream cortical motor areas contribute to this transformation. To address these issues, we devised a behavioral task that required monkeys to choose either reach to (pro-reach) or away from (anti-reach) a spatial cue. A trial started as the monkeys pressed a home button attached to a primate chair. Then a color cue briefly appeared to instruct the tactics (cyan and blue color instructed pro- and anti-reach, respectively) only but not action, then disappeared. After a variable length of delay period, a spatial cue (white LED appearing either on the left or the right) prompted the monkeys to perform an action (reach to either left or right button). The cued tactics (either pro- or anti-reach) determined how the spatial cue is converted into monkeys' action. In pro-reach, the monkeys were rewarded by reaching to the push button ipsilateral to the spatial cue whereas in anti-reach, they were rewarded by reaching to the contralateral button.

While the monkeys were performing this task, neuronal activity was recorded from the posterior medial prefrontal cortex (pmPFC), the presupplementary motor area (preSMA) and the supplementary motor area (SMA) and their relation to the cued tactics, cue position and the monkeys' action was analyzed. We found both pmPFC and preSMA have tactics selective, action selective and dual coding (both tactics and action) neurons. Our findings also show that pmPFC has complete information about tactics, action and cue position but preSMA has information about the tactics and action only but not cue position. SMA is mainly action selective and has only action selective neurons. These results indicate that the three cortical areas play distinct roles in converting sensory information into action by multiple behavioral tactics. [No conflict of interest]

演題 16. 前頭前野の軸符号化細胞の活動はシーケンスカテゴリによっても変調される

○坂本一寛^{1,2}, 斎藤尚宏², 吉田 隼², 虫明 元² (¹東北医科薬科大・医・神経科学, ²東北大・医・生体システム生理)

昨年, 経路計画課題遂行中のサル前頭前野・具体的行動目標細胞が, 具体的行動目標の軸を符号化, つまりカーソルの上下運動ないしは左右運動を好むことを報告した. これらを更に解析すると, 特に錐体細胞の活動は, シーケンスカテゴリ, つまり具体的運動によらずシーケンスボタンが X→X→Y ないしは X→Y→X ないしは Y→X→X であるかによっても変調されることを見出した. これらの結果は, 前頭前野神経細胞が, 変化する環境に柔軟に対応するため神経資源を節約していることを示唆する. (利益相反なし)