

奨励 01. 尿中修飾核酸の網羅的解析による細菌感染症の新規診断マーカー検索

西口栞世, 永芳 友, 山村遼介, 中條岳志, 富澤一仁
(熊本大学大学院生命科学研究部分子生理学講座)

リボ核酸 (以下, RNA) は生物の生命活動の根幹をなすタンパク質合成にとって必須の分子である。近年, RNA には様々な転写後化学修飾が存在し, この化学修飾は哺乳類と細菌とで種類が大きく異なっていることが知られている。加えて私たちは, RNA から分解された後の修飾スクレオチドが生体内で再利用されず細胞外, 特に尿から体外へ排泄されることを明らかにした。このことから「細菌感染時に細菌特異的修飾スクレオチドが患者尿中に排泄されるのでは?」という仮説を立て, その実証研究を行なった。

まず複数の細菌株の抽出 RNA を用い細菌特異的修飾スクレオチドを質量分析器で網羅的に解析したところ, 最も共通して検出される修飾スクレオチドは 2-methyladenosine (以下, m²A) であった。我々は, 細菌感染時に m²A が細菌がマクロファージに貪食されることでエンドソーム内に出現し, その後細胞外に排泄されることを細菌一培養細胞の共培養実験で明らかにした。

次に, 発熱原因が細菌感染症あるいはウイルス感染症と診断されている患者の尿サンプル内の修飾スクレオチドを解析した。その結果尿中の m²A が細菌感染症患者で有意に上昇していた。これらの結果から, 細菌特異的尿中修飾スクレオチドである m²A が細菌感染症に対する新規診断マーカーとなり得る可能性を見出した。(利益相反 なし)

奨励 02. 動物行動実験を用いた食感認知研究の可能性に挑む

中富千尋¹, 堀江成和^{1,2}, 宮村佑一^{1,3}, 小野堅太郎¹
(¹九州歯科大学生理学分野, ²同 大学院歯科矯正学分野, ³同 大学院歯科放射線分野)

ほくほく, もっちり, サクサク, ふわふわなど, 私たちが美味しさを感じる言葉には, 食べ物の食感を表現したものが多く, このように, 食感がおいしさを決定する大きな要因となりうるにも関わらず, 食感認知に関する科学的知見はほとんど得られていない。これは, 食感が様々な感覚が混ざり合った複合的な感覚であることや, 咀嚼の過程で刻一刻と変化する特性を持っているためであると考えられる。本研究の目的は動物実験を用いた口腔内粘性識別評価法の開発である。試験物質として, 代表的な増粘剤であるカルボキシメチルセルロース (CMC) を採用し, 実験動物には雄性 Wistar ラットを用いた。CMC 溶液識別試験として, ラット二瓶選択法, 塩化リチウム投与による粘性嫌悪条件づけ試験を行った。粘性嫌悪条件づけ試験では, CMC

濃度 0.1% でも条件づけが生じたことから, ラットは CMC の物性ではなく風味を認知している可能性が生じた。そこで同濃度で粘度の異なる CMC 溶液を用いた二瓶選択法を行ったところ, ラットは高粘度 CMC 溶液に対して嫌悪性を示した。また, 高粘度 CMC 溶液を条件刺激として嫌悪条件づけを行うと, サッカリン添加 CMC および同粘度の他種増粘剤に対する嗜好性が優位に低下した。以上の結果は, ラットは一定以上の粘性の認知が可能であることを示唆している。本研究の結果をもとに, ラットの粘性認知閾値を決定することが可能であり, 動物実験を用いた食感認知研究の発展に寄与すると考える。(利益相反 なし)

一般 01. TRPV1 ノックアウトマウスを用いた神経障害性疼痛における疼痛逃避行動と脊髄後角の神経/グリアの活性の変化の検討

馬場一彦^{1,2}, 川崎 展¹, 西村春来^{1,2}, 藤谷晃亮¹, 松浦孝紀¹, 山中芳亮¹, 鈴木仁士¹, 眞田賢哉², 西村和朗², 田中健太郎², 園田里美², 吉村充弘², 丸山 崇², 上田陽一², 酒井昭典¹ (¹産業医科大学医学部整形外科学, ²同第 1 生理学)

【目的】TRPV1 は温度, 化学物質により活性化し, 侵害刺激受容に関与することが報告されている。本研究では, TRPV1 ノックアウト (KO) マウスを用いて神経障害性疼痛モデルを作成し, 痛覚閾値の変化と脊髄後角における神経/グリア細胞の活性を評価した。

【方法】成熟雄性 C57BL/6J (WT) マウスと TRPV1KO マウスを使用した。神経障害性疼痛モデルは, 片側坐骨神経部分結紮 (pSNL) により作成した。処置後 7, 14 日に von Frey test および Hot Plate test を行い, 痛覚閾値の変化を評価した。処置後 7, 14 日で灌流固定を行い, 30μm の脊髄切片を作成し, 免疫組織化学的染色を行った。L5 レベル脊髄後角 I-II 層において, 神経活動の評価として FosB を用い免疫染色陽性細胞数をカウントし, グリア細胞の評価のために GFAP (アストロサイト標識) と Iba-1 (ミクログリア標識) の免疫陽性細胞における蛍光輝度を測定した。

【結果】pSNL を行った全てのマウスに神経障害性疼痛が生じた。pSNL 群で処置後 14 日の熱刺激に対する痛覚閾値のみ WT マウスと比較し TRPV1KO マウスで有意に高値であった。L5 レベル脊髄後角 I-II 層における FosB 陽性細胞数, GFAP および Iba-1 の蛍光輝度は pSNL 群で有意に増加した。処置後 14 日の GFAP の蛍光輝度のみ WT マウスと比較し TRPV1KO マウス群で有意に低値であった。処置後 7, 14 日で FosB 陽性細胞数は WT マウスと比較し, TRPV1KO マウスで有意に低値であった。

【考察および結論】神経障害性疼痛モデルにおいて, 慢性

期にTRPV1は脊髄後角でアストロサイトを介して温痛覚過敏に関与している可能性がある。(利益相反 なし)

一般02. レセルピン反復投与誘発線維筋痛症モデルラットにおける痛覚反応・うつ状態の評価及びオキシトシン系活性化の検討

池田直史¹, 川崎 展¹, 馬場一彦¹, 西村春来¹, 真田賢哉², 西村和朗², 鈴木仁士¹, 吉村充弘², 丸山 崇², 上田陽一², 酒井昭典¹ (¹産業医科大学医学部整形外科学, ²同 第1生理学)

【目的】レセルピン反復投与誘発線維筋痛症(Fibromyalgia: FM)モデルの評価とオキシトシン(OXT)系の活性化について検討した。

【方法】成熟雄Wistar系ラット及び雄OXT-mRFP1トランスジェニックラットを用いた。レセルピン(1mg/mL, 1ml/kg体重)(FM群)もしくはVehicle(対照群)を3日(1回/日)連続して背部皮下に投与した。前者では、皮下投与前後にvon Freyテスト(疼痛閾値), 強制水泳テスト(不動時間)を行い, 6日後に灌流固定後に免疫組織化学的染色を行い, FosB陽性細胞数(視床下部, 脊髄後角), ミクログリア・アストロサイト蛍光輝度(L5脊髄後角), トリプトファン水酸化酵素(TPH)陽性細胞数(背側縫線核)を計測した。後者では, 皮下投与6日後の視床下部mRFP1蛍光輝度および脊髄後角mRFP1顆粒数を計測した。

【結果】前者のFM群では対照群と比較し, 疼痛閾値は有意に低下, 不動時間は有意に延長, FosB陽性細胞数は有意に増加, ミクログリア・アストロサイト蛍光輝度も有意に増加, TPH陽性細胞数は有意に低下した。後者のFM群では, mRFP1蛍光輝度およびmRFP1顆粒数が有意に増加した。

【結語】レセルピン反復投与ラットでは疼痛過敏とセロトニン減少によるうつ状態が生じ, OXTニューロンの活性化と脊髄へ投射した軸索終末でのOXT顆粒の増加を明らかにした。(利益相反 なし)

一般03. 舌への体性感覚刺激がラットの記憶力に及ぼす影響について

行平 崇^{1,2}, 申 敏哲², 小牧龍二^{2,3}, 福永貴之^{2,4}, 土井 篤², 吉村 恵⁵ (¹帝京大学福岡医療技術学部理学療法学科, ²熊本保健科学大学リハビリテーション学科, ³リハビリテーションセンター熊本回生会病院, ⁴総合リハビリテーションセンター城南病院, ⁵医療法人社団温故会直方中村病院)

舌には味覚だけではなく体性感覚を伝える感覚神経が密に分布している。これまでの先行研究において, 舌の味覚

受容について多くの研究がなされているが, 体性感覚についての研究は少なく今日に至っても明らかではない。近年, 我々は正常ラットの舌への体性感覚刺激が, 脳の活性化や記憶・認知能力の増強に効果的であることを明らかにした。これらの結果は, 舌への体性感覚刺激が発達障害等の症状改善にも効果的である可能性を示している。従って, 本研究では, 先行研究において正常ラットで最も効果的であった舌への触・圧覚刺激が発達障害モデルラットに及ぼす影響を, 行動学的手法, 免疫学的手法を用いて検討した。その結果, 学習・記憶機能評価では, 発達障害+触・圧覚刺激群(DD+TPS群)で発達障害(DD群)群に対し学習・記憶力の増強が認められた。さらに, DD+TPS群では, DD群に比べラットの海馬におけるc-FosとBrdU陽性細胞の増加, 成長因子の増加がみられた。これらの結果から, 舌への触・圧覚刺激は, ラットの脳を活性化させ, 記憶力の増強に影響を与えることで発達障害の症状を改善させた可能性が示唆された。(利益相反 なし)

一般04. 心筋細胞のT管は, 興奮の単なる伝導路なのか?

塩谷孝夫(佐賀大学医学部生体構造機能学講座器官・細胞生理学分野)

心筋細胞を低 K^+ 外液で灌流すると, 早期後脱分極(EAD)や遅延後脱分極(DAD)に続く, 異常自動能が観察される。ナイスチチン超穿孔パッチ法で生理的な $[Ca^{2+}]_i$ 動態を維持した記録では, このEADやDADに先行して, 振幅 ~ 10 mVの膜電位ゆらぎが観察された。この膜電位ゆらぎの波形は, 二峰性や三峰性に記録され, 複数のT管内で, 非同期的に局所的な自発活動電位(local AP)が発生することを示唆した。これらの実験事実を説明するため, T管の機能の新しいモデルを考案した。T管は, 筋細胞膜の興奮を, dyadへと順行性に伝導する。続いて, 興奮収縮連関のあとの自発的なCICRによりdyadに発生する非同期的なlocal APを, 筋細胞膜へと逆行性に伝導する。T管膜には一過性外向き K^+ チャンネルが局在しており, 活動電位の脱分極に応じて開口する。したがって, 順行性の興奮伝導は, T管膜の膜抵抗を低下させてT管の長さ定数を短縮し, そのあと逆行性に伝導するlocal APを減衰させる。病態において, T管の長さ定数が延長したり, 自発的なCICRが同期して発生すれば, dyadに生じたlocal APは筋細胞膜を脱分極させて, EADやDADを生じる。このモデルによって, 実験的に観察されたEADやDADと異常自動能の発生を, 合理的に説明できた。心筋細胞のT管は, 興奮の単なる伝導路ではない。(利益相反 なし)

一般 05. An anticonvulsant valproate decreases hERG K^+ channel current I_{Kr} through the histone deacetylase inhibition

Xiufang Zhu, Pu Wang, Mengyan Wei, Kenji Yoshimura, Shinichiro Kume, Tatsuki Kurokawa, Katsushige Ono (Department of Pathophysiology, Oita University School of Medicine)

Drug-induced QT-interval prolongation is a known risk factor for lethal arrhythmias such as torsades de pointes. Valproic acid, or valproate, is a fatty acid derivative and anticonvulsant, also known as an inhibitor of histone deacetylase (HDAC) class I and IIa, to control simple and complex seizure. Although cases of valproate-associated QT prolongation have been well documented, the underlying mechanisms are poorly understood. The aim of this study was to evaluate the possible effects of valproate focusing the action on rapidly activating delayed potassium (K^+) channel current I_{Kr} . Long-term (24 h) but not short-term (5 min) application of valproate decreased I_{Kr} with a dose-dependent manner in heterologous expression system using human hERG-transfected HEK293 (hERG-HEK) cells. Among the four groups of HDAC inhibitors, aliphatic fatty acid, hydroxamate, benzamides, and cyclic peptides, only aliphatic fatty acids (valproate and butyrate) decreased I_{Kr} as a long-term effect. When hERG-HEK cells were treated by a transcription inhibitor actinomycin D, valproate was unable to reduce I_{Kr} any further. These results suggest that valproate suppress the hERG channel through HDAC-mediated processes as a class effect of aliphatic fatty acid derivatives. (COI: none)

一般 06. 腎臓周囲リンパ管には心臓ペースメーカー HCN4 チャネルが発現する

中島則行¹, 中島明子¹, 中川 拓^{1,2}, 武谷三恵¹, 力武純二郎^{1,3}, 鷹野 誠¹ (¹久留米大学医学部生理学講座, ²九州大学医学部麻酔科, ³久留米大学医学部医学科 6 年生)

腎臓は、血液の濾過やホルモン分泌など循環系の制御に重要な器官である。腎臓は脂肪を含む線維性の被膜に覆われた閉鎖空間であり、腎実質における細胞外液の調節にはリンパ管系が重要な役割を果たすと考えられている。

我々は、心臓ペースメーカーチャンネルとして知られる過分極誘発環状スクレオチド作動性チャンネルのサブタイプ 4 (HCN4) に興味をもち、そのプロモータ制御下にホタルシフェラーゼを発現するマウス (HCN4^{Luc/+}) を作成した。

基質であるルシフェリン投与下において、腎被膜を中心に発光シグナルを発見した。さらに HCN4 プロモータ制御下に Tet-off 遺伝子条件発現システムを導入したマウス (HCN4^{Tet/+}) を作成し、Tet 応答型の GFP レポーターマウス (TRE-GFP) を掛け合わせた。このマウス (HCN4^{Tet-GFP/+}) において、腎被膜の脂肪から直下の腎実質へ立体的に連絡している脈管組織に蛍光シグナルを発見した。GFP 発現組織は、リンパ組織特異的マーカー LYVE-1 により免疫シグナルが陽性となることから、腎被膜下に広がるリンパ組織であることが分かった。

ポンプ作用を有するリンパ管は電位依存的な自発収縮活動をすることが知られており、HCN4 チャネルが腎臓におけるリンパ還流の制御に重要な役割を果たすことが示唆される。(利益相反 なし)

一般 07. 酸素および H^+ 濃度勾配下の MDA-MB-231 細胞の方向性遊走

波田悠暉, 高橋英剛 (佐賀大学大学院先進健康科学研究科)

当研究室では、がんの血行性遠隔転移のメカニズム解明を最終目的として、がん細胞が腫瘍内微小血管に向かって能動的に遊走 (方向性遊走) するという可能性を *in vitro* で検討している。これまで乳がん細胞株の MDA-MB-231 細胞で、約 0.2 units/mm の細胞外 pH 勾配が方向性遊走を誘導することを示した (IJMS, 2020, 21 (7), 2565) しかし、この実験では細胞外酸素濃度が生理的範囲を逸脱していた (~10%) ため、細胞外 pH 勾配に加えて、細胞外酸素濃度勾配が方向性遊走をもたらすかどうかは依然として不明である。本研究では、生理的酸素濃度 (~5%) 下で MDA-MB-231 細胞の遊走を検討した。細胞外 pH および酸素濃度勾配の形成には微小流体デバイスを用い、pH 勾配 0.22 units/mm, 酸素濃度勾配 6.0%/mm を実現したが、実験に際しては pH 勾配の影響を培地に 15mM hepes を加えることで消滅させた。以上の条件では細胞に方向性遊走は認められなかったことから、生理的酸素条件では、今回形成した細胞外酸素濃度勾配は方向性遊走を誘導しないと結論した。(利益相反 なし)

一般 08. BMPR-2 は発達期における僧帽細胞樹状突起の活動依存的な安定化を制御している

藍原周平^{1,2,3}, 藤本聡志^{1,2}, 坂口理智^{1,2,3}, 今井 猛^{1,2,3} (¹九州大学大学院医学研究院疾患情報研究分野, ²理化学研究所多細胞システム形成研究センター, ³京都大学大学院生命科学研究所)

発達の神経細胞ははじめに神経突起を過剰に形成する

が、その後ガイダンス分子や神経活動に基づいて神経突起を再編成することで機能的な神経回路を形成する。嗅球に存在する僧房細胞は、生後直後には複数の樹状突起を伸ばすが、発達に伴い、そのうちの一本のみを安定化させて主樹状突起とし、その他の樹状突起を刈り込む。しかしながら、この過程で一本の樹状突起のみを選択的に安定化させる仕組みはよくわかっていない。そこで我々は CRISPR/Cas9 と子宮内電気穿孔法を組み合わせた *in vivo* ノックアウトスクリーニングを行い、BMPR-2 が樹状突起の選択的安定化を行う重要な制御因子であることを見出した。Bmpr2 KO とそのレスキュー実験から、BMPR-2 がリガンド非依存的に LIMK を抑制し、樹状突起の不安定化を促進していることが分かった。一方、アンタゴニストとアゴニストの過剰発現の実験から、BMP が BMPR-2 に結合すると、LIMK の抑制が解除されることで樹状突起の安定化が促されることが判明した。遺伝学的解析や FRET イメージングの実験から、NMDA 受容体が Rac1 を介して LIMK を活性化すること、さらに活性化された LIMK がアクチン線維の形成を促進することで樹状突起を安定化することが判明した。このように、僧房細胞においては BMPR-2 のリガンドである BMP と神経活動の二つが同時に入力する樹状突起だけが選択的に安定化される。(利益相反 なし)

一般 09. Time-lapse imaging of callosal axon projection dynamics *in vivo*

中川 直¹, 水野秀信², 田川義晃¹ (¹鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科神経筋生理学分野, ²熊本大学国際先端医学研究機構)

生後の発達期において大脳皮質では神経投射形成が急速に進行する。左右の大脳皮質をつなぐ脳梁投射軸索は、生後 7 日頃に標的とする反対側の投射領域の白質に到達して皮質に侵入し、その後の約 1 週間で枝を急速に張り巡らし、生後 2 週目には成熟した脳と同等の軸索形態が完成する。しかし、脳梁投射軸索が反対側皮質でどのような挙動を示し完成した形態を作るかは、技術的な難しさからこれまで調べられていない。今回、我々は、バレル皮質の少数の第 2/3 層興奮性細胞に蛍光タンパクを発現させ、反対側皮質における脳梁投射軸索を生後 11, 12, 13 日の 3 日間で time-lapse イメージングを行った。その結果、個々の軸索や枝ではダイナミックな伸長・退縮や形成・消失が起きており、1 本の枝が 1 日に 200 ミクロン以上伸び縮みする例も見られた。また、生後 11 日の時点で枝ぶりが小さかった軸索では退縮・消失の割合が大きく、一方で、長く枝分かれが豊富な軸索では伸長・形成と退縮・消失が拮抗していた。成熟したバレル皮質では半球間の投射が稀であるが、今回わ

かった軸索発達ダイナミクスは、枝ぶりの良い少数の軸索だけを残し他の軸索を除去するように働いていることが示唆される。今後、軸索の発達ダイナミクスを決定づける分子メカニズムや神経活動依存性を調べることで、左右両半球の協調した機能を作る因子とその関与を特定し、半球間の投射異常の原因特定にもつながると期待できる。(利益相反 なし)

学部 01. 複数のフリーラジカルに対するエチルピルビン酸の濃度依存的な消去活性

出村陽実¹, 尾方和枝², 徳丸 治² (¹大分大学福祉健康科学部福祉健康科学科理学療法コース学生, ²同 生理学講座)

フリーラジカルは生体内で感染防御や情報伝達などの機能を有するが、不安定で反応性が高いため、虚血再灌流傷害などにより過剰に発生すると、細胞や組織を傷害する。エチルピルビン酸 (EP) は抗酸化作用をもつとされ、生体内で酸化ストレスを抑制する働きが報告されている。しかし、EP がどの種類のフリーラジカルに対して直接的な消去活性をもつか、まだ詳細な報告はされていない。そこで我々は電子スピン共鳴法を用いて、8 種のフリーラジカルを対象とし、EP の直接的消去活性を評価した。試験管内でフリーラジカルを発生させ、EP の濃度依存的な消去活性を評価した。Cheng-Prusoff の式により濃度-反応曲線を作成し、IC₅₀を推定した。EP は以下のフリーラジカルを濃度依存的に消去した ($p < 0.001$): ヒドロキシルラジカル (IC₅₀ 9.8mM), スーパーオキシドアニオン (2.1mM), トロキシルラジカル (4.1mM), アスコルビルフリーラジカル (0.2mM), 一重項酸素 (0.8mM)。しかし、トロキシルオキシラジカルや DPPH, チロシンラジカルは消去されなかった。EP は、生体内で最も反応性が高いヒドロキシルラジカルに対してはラジカル消去剤エタラボンと同等のラジカル消去活性をもつが、虚血再灌流障害の最上流で発生するスーパーオキシドアニオンに対する消去活性は弱いことが示唆された。(利益相反 なし)

学部 02. 正常マウスの海馬領域における高エネルギーリン酸の分布についての検討

藤田悠紀¹, 額額真満子¹, 尾方和枝², 徳丸 治² (¹大分大学福祉健康科学部福祉健康科学科理学療法コース学生, ²同 生理学講座)

脳組織のエネルギー代謝には部位特異性があることが知られている。近年、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析 (MALDI-MS) を用いた組織のエネルギー代謝の可視化が試みられている。本研究では、MALDI-MS によ

り正常マウスの海馬領域における高エネルギーリン酸のイメージングを行い、部位毎の分布を詳細に検討した。正常マウスの脳を寒剤によって急速に冷却凍結した後に摘出し、クライオスタットで薄切、ITO グラスに貼付した。シリカゲルを入れた試験管に入れてフリーザー内で十分に乾燥させた後、海馬の MALDI-MS を行った。まず海馬における ATP (m/z 506) のイメージを作成した。アンモン角の CA1 と CA3 の錐体細胞層および歯状回 (DG) の顆粒細胞層を同定し、相当するピクセルから ATP, ADP (m/z 426), AMP (m/z 346) のピークを抽出した。またこれに直交する方向についても同様に検討した。エネルギー状態の指標である Energy charge は、CA1, CA3, DG の 3 部位の間に有意な差が認められた。また標準化した ATP と ADP の値を二次元平面上にプロットしたところ、CA1, CA3, DG の間に有意な分布の差異が認められた。いずれの解析でもアンモン角の方が歯状回よりもエネルギー状態はよく、またアンモン角内でも CA1 と CA3 の間には明らかなギャップが認められた。(利益相反 なし)

学部 03. 正常マウスの海馬領域におけるエネルギー関連代謝物の部位差の検討

額額真満子¹, 藤田悠紀¹, 出村陽実¹, 尾方和枝², 徳丸治² (¹国立大学法人大分大学福祉健康科学部福祉健康科学科学生, ²同 生理学講座)

脳のエネルギー代謝は脳血流に依存し、虚血によりエネルギー代謝が停止する。しかし、虚血再灌流に伴う高エネルギーリン酸等のエネルギー関連代謝物の部位特性の経時的变化を詳細に検討した報告は少ない。本研究は、その前段階として正常マウスの海馬領域におけるエネルギー関連代謝物の部位特性を明らかにすることを目的として実施した。急速冷却し凍結した正常マウス脳をクライオスタットにて薄切(10 μ m)し、ITO グラスに貼り付けた。フリーザー内で十分に乾燥させた後、MALDI-TOF 型質量分析イメージング装置により空間分解能 20 μ m, negative mode で測定した。イメージングソフトウェアを用いて海馬における ATP (m/z 506) のイメージを作成し、アンモン角 CA1, CA3 の錐体細胞層及び歯状回 (DG) の顆粒細胞層に沿って MS スペクトルを取得した。cADP-ribose (m/z 540) と Fructose-1,6 bisphosphate (m/z 339) のピークを抽出し、各部位における代謝物の量を比較した。cADP-ribose, Fructose-1,6 bisphosphate とともにアンモン角より DG で有意にピーク下面積が大きく、さらに cADP-ribose は CA1 より CA3 で面積が大きかった。これらのことより、正常マウス海馬におけるエネルギー代謝の部位特異性の存在が示唆された。(利益相反 なし)

学部 04. PTSD 様病態における NMU システムの新たな生理機能の解明

早田暁伸, 比嘉涼子, 鹿野健史朗, 花田礼子 (大分大学医学部神経生理学講座)

【背景・目的】Neuromedin U (NMU) および Neuromedin S (NMS) は摂食やサーカディアンリズムの制御など様々な生理作用を有する神経ペプチドである。NMU/NMS 両遺伝子欠損マウス (dKO) を用い、高次脳機能に関する一連の行動実験を行ったところ、恐怖条件づけ試験において dKO で恐怖記憶の増強を認め、心的外傷後ストレス障害 (PTSD) 様行動が起こることが判明した。そこで本研究では、NMU システムの恐怖記憶への影響を検討するため、受動回避試験を用いて情動行動の解析を行った。

【方法】12-14 週齢の雄性野生型マウス (WT), dKO, NMU 受容体 1 遺伝子欠損マウス (R1KO) および NMU 受容体 2 遺伝子欠損マウス (R2KO) を用いて、受動回避試験を行った。恐怖記憶獲得条件として、暗箱における電気ショックを行い、条件づけ後 1 日、28 日における暗箱への移動にかかる時間を解析することで、恐怖記憶想起を評価した。

【結果】電気ショック 1 日後ではすべての群において、恐怖記憶の形成が確認された。次に電気ショック 28 日後の恐怖記憶想起を評価したところ、WT 群および R2KO 群については恐怖記憶が減弱していたが、dKO 群および R1KO 群においては恐怖記憶の保持が認められた。以上の結果から、NMU システムは NMUR1 を介して恐怖記憶の保持に関与していることが示唆された。(利益相反 なし)

一般 10. NPGL/NPGM システムのエネルギー代謝調節機構における生理的役割の解明

鹿野健史朗¹, 森崎郁子², 比嘉涼子¹, 吉村充弘³, 花田俊勝², 上田陽一³, 花田礼子¹ (¹大分大学医学部神経生理学講座, ²同 細胞生物学講座, ³産業医科大学医学部第 1 生理学教室)

我々は鳥類やげっ歯類の視床下部の摂食中枢から分泌性小タンパク質をコードする新規遺伝子を発見し、Neurosecretory protein GL (NPGL) 及び Neurosecretory protein GM (NPGM) と命名した。先行研究では、遺伝子過剰発現実験や投与実験により、NPGL/NPGM システムが摂食亢進作用や脂肪組織における脂肪合成の亢進による脂肪量増加作用を有することが判明している。本研究では、CRISPR/Cas9 システムを用いて作製した NPGL 及び NPGM 両遺伝子欠損 (dKO) マウスの生理機能解析を行うことを目的とした。普通食あるいは高脂肪食給餌条件下で野生型マウスと dKO マウスを飼育し、体重や摂餌量、呼吸代謝、組織

重量を測定した。その結果、普通食および高脂肪食給餌条件下において、野生型マウスに比べて dKO マウスの体重や摂餌量、白色脂肪組織重量が減少することが認められた。また、高脂肪食給餌条件下において、dKO マウスの酸素消費量が増加していた。したがって、NPGL 及び NPGM dKO マウスはエネルギー摂取の減少ならびにエネルギー消費の亢進により、脂肪蓄積量を抑制することが示唆された。さらに、エネルギー消費に関して、褐色脂肪組織における脂質代謝や熱産生関連因子についても検討したので報告する。(利益相反 なし)

一般 11. 植物に含まれる香りが性行動に関連した生物学的基盤を刺激する可能性について

樽見 航, 中畑泰和, 青山晋也, 篠原一之(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学分野)

【背景と目的】

β -カリオフィレンは、イランイランという植物香気成分の 15.05~33.30% を占めており、インドネシアでは、古くから催淫作用があると考えられている。我々はこの伝承から、 β -カリオフィレンが性行動を誘発するのではないかとの仮説を立て、 β -カリオフィレンがラット性行動を誘発することを明らかにした。さらに、この仮説を補強するために、 β -カリオフィレンに嗅覚曝露された女性の唾液中テストステロンとエストロゲン濃度の変化を調べた。

【方法】

月経周期の卵胞期の女性 19 名を対象に、我々が作成した臭気曝露装置により匂いの曝露を行った。各被験者は、対照としてジプロピレングリコールに 20 分間曝露され、次いで 3% の β -カリオフィレンに 20 分間曝露された。唾液の採取は、対照曝露前後、 β -カリオフィレン曝露前後の 4 回行った。唾液中のテストステロンおよびエストロゲン濃度を競合法 ELISA で測定した。

【結果】

β -カリオフィレンは、テストステロンの唾液中濃度を有意に増加させた。一方、エストロジェンの唾液中濃度に影響はなかった。

【結論】

我々は、 β -カリオフィレンが性欲減退の女性のための治療薬である可能性があると考えている。しかし、それは、さらなる臨床研究により検証されなければならない。(利益相反 なし)

一般 12. ラット海馬スライスにおけるカルバコール誘導振動の周波数調節機構と日周リズムの関与

重本昌也, 夏目季代久(九州工業大学生命体工学研究

科)

光情報によって調節される 1 日周期のリズムを日周リズムと呼び、このリズムによって生物の学習性能が調節されていることが明らかになっている。記憶プロセスに関与しているベータ波も記憶の日周変化に関与していると考えられるが、その関連性はまだ不明である。本研究ではアセチルコリン作動薬であるカルバコールによって再現される脳波様振動(ベータと同じ周波数帯を持つ)を用いる。ラット海馬スライス上でカルバコール誘導振動を様々な時間帯で測定し、時間帯間で比較を行った。その結果、周波数が真夜中の時間帯で昼間の時間帯に比べて有意に低下していることがわかった ($p = 0.04$)。また持続時間は有意に短くなっていた。さらに、抑制性神経伝達物質 GABA_A 受容体阻害薬を投与した結果、昼間の振動周波数は有意に減少した ($p = 0.03$)。また、ペアパルス抑制実験において、深夜の時間帯に抑制が減少していた。これらの結果から、ラットの活動期である真夜中の時間帯では脱抑制が起き、カルバコール誘導振動の周波数低下を引き起こしたと考えられる。真夜中の時間帯では、脱抑制による海馬錐体神経内の Ca²⁺ 濃度増加が起り、カルシウム活性化カリウムチャネルの活性化により周波数減少が起きたと考えられる。(利益相反 なし)

一般 13. ベンゾピレン投与ラットでの生薬の効果検討

申 敏哲¹, 行平 崇², 小牧龍二^{1,3}, 福永貴之^{1,4}, 土井篤¹, 吉村 恵⁵(¹熊本保健科学大学リハビリテーション学科, ²帝京大学福岡医療技術学部理学療法学科, ³リハビリテーションセンター熊本回生会病院, ⁴総合リハビリテーションセンター城南病院, ⁵医療法人社団温故会直方中村病院)

ベンゾピレン投与ラットに対するケイヒの効果をも、感覚刺激による定量的閾値評価法、分子生物学法で検討した。その結果、5Hz、250Hz の電気刺激周波数において、各群有意な閾値の変化はみられなかったが、2000Hz の電気刺激周波数ではベンゾピレン投与群で感覚閾値の有意な上昇がみられ、その閾値上昇はケイヒの投与により有意に抑制された。酸化ストレス度に関しては、ベンゾピレン投与群に対し、ケイヒ投与群で有意な酸化ストレス状態の改善が見られた。また、ウェスタンブロッティングを用いた myelin basic protein (MBP), cytochrome P450 (P450) 1A1 (CYP1A1), myelin-associated glycoprotein (MAG) の発現変化の検討では、ベンゾピレン投与群に対し、ケイヒの投与群で MAG の発現低下の抑制、CYP1A1 の発現増加の抑制がみられた。しかし、MBP の発現に関しては群間有意な差はみられなかった。本研究の結果から、ベンゾピレン投与は

その毒性が触・圧覚を伝える A β 線維に作用し、脱髄を起こすことで、感覚異常等を発生させた可能性が示唆された。またその作用は、抗酸化作用と AHR 活性化の阻害作用を

もつケイヒの投与により抑制されることで感覚異常が改善される可能性が示唆された。(利益相反 なし)