

一般 1. ゲノム編集ゼブラフィッシュから示唆された遅筋による速筋機能の補償

善方文太郎¹, 山本耕裕², Tory Williams³, 小野富三人^{2,3} (自治医科大学医学部統合生理学,²大阪医科大学医学部生理学,³Laboratory of Molecular Physiology, NIAAA, NIH)

骨格筋を構成する速筋と遅筋は、いずれも神経筋接合部のニコチン性アセチルコリン受容体 (AChR) を介して運動神経の指令を受容する。近年、ゼブラフィッシュの遅筋から新たな AChR が発見された。既知の AChR が α , β , δ , ϵ (幼若期は γ) の 4 種のサブユニットで構成されるのに対し、新たな AChR は α , β , δ のみで構成される。我々はこの新たな AChR の機能を解析するため γ , ϵ ダブル KO ゼブラフィッシュを作製した。その結果、遅筋のみが AChR を発現し、速筋が機能喪失した系統が得られた。これを用いて運動解析を行ったところ、稚魚は逃避行動時の遊泳速度が極めて低く、一方、成魚は野生型と同じ速度で逃避できることが分かった。成長過程で運動制御システムが変化したと考え、運動神経の軸索投射を解析したところ、KO 系統の成魚では本来速筋に投射するタイプの運動神経が遅筋に投射し、さらに、遅筋の一部が速筋に近い解糖能を示していた。長期的な速筋の機能喪失がこれらの変化を引き起こし、機能を補償したと考えられる。(利益相反 なし)

一般 2. マウス冠血管の発生・発達段階における性差の研究

長沢忠音¹, 児玉昌美², 長谷川歩惟¹, 山口賢彦¹, 坂本多穂¹, 黒川洵子¹ (静岡県立大学薬学部,²東京大学定量生命科学研究所)

超早産児の死亡率は男児で有意に高く、出生後に見られる循環不全が一因である。成人の場合、循環器系における性差には性ホルモンの影響が報告されているが、発生・発達期での性差機構は全く不明である。そこで我々は、胎生マウス心臓を用いて発生・発達期における性差機構を解析した。冠血管の形態機能解析では胎生 17.5 日のマウスから心臓を摘出し、血管造影を行った。心室長軸は長い群と短い群に分かれたが、いずれの群でも性差はみられなかった。一方冠血管径については、心室長軸が長い群のみで有意な差があることを見出した。生理的条件下では雄の冠血管径の方が長い血管拡張薬存在下では雌の方が長くなった。これらの結果をもとに胎生 17.5 日マウスの心臓の雌雄差に関わる遺伝子発現変動をみるため、マイクロアレイ解析を行った。そこで、X 染色体から escape する遺伝子を含め 59 遺伝子が同定された。今回、胎生マウスの心臓に性差があることを示すことに成功した。(利益相反 なし)

一般 3. hERG スクリーニングにおけるエストロゲン類の影響

杉本真菜¹, 杉本真太郎¹, 岡 貴之², 坂本多穂¹, 黒川洵子¹ (静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学分野,²ナニオンテクノロジーズジャパン)

薬物誘発性 QT 延長症候群は男性よりも女性で発症率が高いことが知られているが、メカニズムは不明である。当分野では、主な分子標的である遅延整流性カリウム (I_{Kr}) チャネルの hERG 分子にエストラジオールが相互作用し、hERG 阻害薬 E-4031 の阻害活性を増強することを見出し、hERG 変異体を用いた実験などからエストロゲン類と阻害薬が共に結合する可能性を示してきた。今回、他の hERG 阻害薬 (20 剤) についてもエストロゲン類の影響を調べるため、オートパッチクランプ装置 SyncroPatch384 PE (ナニオン) を用いて検討した。その結果、各種エストロゲン類の添加により hERG 阻害活性が増強する 6 化合物が同定され、QT 延長症候群が女性で多く発症することが原因で市場撤退した 2 剤も含まれており、エストロゲン類との相互作用がリスクを高めた可能性が示唆された。本研究結果は、薬物誘発性不整脈を忌避する非臨床安全性試験において、エストロゲン類の影響について議論する必要性を示唆している。(利益相反 なし)

一般 4. 正常型トロポニン T 過剰発現によるトロポニン T 変異型心筋症治療の可能性

山口裕也¹, 谷端 淳¹, 馬場俊輔², 森本幸生³, 南沢享^{1,2} (東京慈恵会医科大学細胞生理学講座宇宙航空医学研究室,²同 細胞生理学講座,³国際医療福祉大学福岡保健医療学部)

拡張型心筋症 (DCM) は心室全体の収縮不全と拡大を特徴とする予後不良疾患であるが、根本的な治療法はまだない。我々は心筋トロポニン T (TNNT2) のアミノ酸変異 ($\Delta K210$) を持つマウス (TNNT2 ^{$\Delta K210/\Delta K210$}) はヒト若年性 DCM と同様の表現型を示すことを報告した。先行研究において変異型 TNNT2 を筋原線維に過剰発現すると DCM 病態や肥大型心筋症病態を示したことから、変異型 TNNT2 が正常型 TNNT2 遺伝子に置き換わることが示唆される。そこで、本研究では TNNT2 ^{$\Delta K210/\Delta K210$} マウスに正常型 TNNT2 を過剰発現させると、変異型 TNNT2 が正常型 TNNT2 に置換され、DCM 病態が改善すると仮説をたて、検証した。ヒト TNNT2 過剰発現 (hTNNT2 Tg : Tg) マウスと TNNT2 ^{$\Delta K210/\Delta K210$} マウスを交配させた Tg/TNNT2 ^{$\Delta K210/\Delta K210$} マウスを作成し、TNNT2 ^{$\Delta K210/\Delta K210$} マウスと比較したところ、生存期間の延長、左室駆出率の若干の改

善が認められた。以上より、TNNT2 変異により発症する DCM 病態は正常型 TNNT2 遺伝子の過剰発現によって治療できる可能性があることが示唆される。(利益相反 なし)

一般 5. 小腸内分泌 L 細胞に対する人工甘味料スクラロースの作用

三田真理恵, 坪井貴司 (東京大学大学院総合文化研究科 広域科学専攻生命環境科学系)

人工甘味料スクラロースは、低カロリー食品の添加物として一般的に用いられる化合物である。しかし近年、スクラロースの摂取は、血糖値を上昇させないにも関わらず、膵臓からのインスリン分泌や、インスリン分泌を調節する消化管ホルモンであるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) の分泌を誘起する可能性が示唆されている。そこで本研究では、マウス小腸内分泌 L 細胞株である GLUTag 細胞を用い、GLP-1 分泌を調節する細胞内シグナル伝達経路へのスクラロースの作用を検討した。その結果、スクラロースは細胞内 Ca^{2+} 濃度だけでなく、細胞内 cAMP 濃度を上昇させることで、GLP-1 分泌を誘起している可能性を見出した。この作用は、7 回膜貫通型受容体の一種であるカルシウムセンシングレセプター (CaSR) を介する可能性がある。さらに、グルコースイメージングにより、スクラロースは細胞内グルコース濃度を上昇させる可能性があることも見出した。(利益相反 なし)

一般 6. 視覚野ニューロンの超音波刺激

小池 誠^{1,2} (¹マイクロ特許事務所, ²小池誠マイクロ波研究所)

超音波パルスは一定の条件でニューロンの発火を誘発する旨が報告されているので、この生理機構の応用について検討した。米国特許 6536440 号及び米国特許 6584357 号は、超音波パルスを一次視覚野に照射して、映像を脳に直接、伝達する通信方式に関する。映像を伝達するためには、特定の時間 t において、一次視覚野の所定の位置 (x, y, z) に、所定の振幅及び位相の超音波が到達することが求められるのだが、波面の振幅及び位相を再生する技術として音響ホログラフィがある。そこで、一次視覚野で音響ホログラフィを実現する。音響ホログラフィでは多くの超音波パルスを利用して波面を再生するのだが、個々の超音波パルスについては、赤外線パルスレーザーから直径が極めて小さなレーザービームを頭部の微小領域に照射することにより局所的に体液が急激に熱膨張して、超音波が発生する現象を応用する。このレーザービーム照射のために変性した組織がレビー小体であるとともに、レビー小体型認知症の

幻視は赤外線パルスレーザーを応用した音響ホログラフィで誘発されているという仮説を提唱する。(利益相反 なし)

特別講演 1. 視神経の形成

山下勝幸 (国際医療福祉大学・基礎医学研究センター)

発生初期の網膜には、神経上皮細胞の上皮型 Na^+ チャネルを介する Na^+ 輸送により細胞外電位勾配が形成され、網膜神経節細胞の軸索はこの電場に誘導されて伸長・集合する (Yamashita, BBRC, 2013)。本研究はこの分子機構の解明、及び、電場の収束による神経束の形成を目的とした。

孵卵 6 日目の鶏胚から網膜切片を作製して Matrigel® に包埋し、定電場培養システム (Yamashita, Bioelectricity, 2020) において 24 時間培養した。モノクローナル抗鶏インテグリン $\beta 1$ 抗体、及び、 Mn^{2+} の影響について検討した。その結果、インテグリン $\beta 1$ サブユニットのリガンド結合ドメインにおいて、細胞外基質中のリガンド (ラミニン) との親和性を制御する 2 価イオン結合部位への Ca^{2+} 結合がキーとなることが示唆された。また、絶縁物を配置して電場を収束させると軸索が集合し、神経束を形成することが確認された。(利益相反 なし)

一般 7. 「一歩一歩学ぶ生命科学」によるフルオンライン授業の試行

渋谷まさと^{1,2}, 樋口 要^{1,2} (¹女子栄養大学短期大学部 生理学研究室, ²生命科学教育シェアリンググループ)

重要な情報を抽出し、独自ルールで作成した端的な静止画、(音声付き)動画、単純なクイズをステップ・バイ・ステップに提供する「一歩一歩学ぶ生命科学」を展開してきた。フルオンラインに切り替わった講義系授業において、静止画の要点が記載されていない「ワークブック」を配布した。授業では教員が完成図を説明し、学生はワークブックに書き込むことで理解を深め、同時に完成度の高いイラストが手元に残ることを意図した。e-learning システムである moodle にすべてを提示することで自己学習を可能にし、次週の授業で前回授業範囲の小テスト(無作為出題)を課した。「ワークブック」持ち込みですべての小テストに合格することを単位取得に必須とした。

アンケートでは、たとえば

学生さんに調べてもらうのではなく、こちらで徹底的に調べ、端的なイラストの多い絵本のようなコンテンツを作り上げました。これはご自身の勉強にとって

ほぼ良かった 89 人 / 少し良かった 26 人 / 少し悪かった 1 人 ほぼ悪かった 0 人

のように好ましい評価であった。(利益相反 なし)

一般 8. ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた COVID-19 治療薬の催不整脈リスク評価

柳田翔太^{1,2}, 佐塚文乃¹, 林 紗代¹, 小野 敦², 諫田泰成¹ (1 国立医薬品食品衛生研究所 (NIHS) 薬理部, 2 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科薬学系)

世界的に大流行している COVID-19 の治療薬開発のために数多くの臨床試験が進められている。抗マラリア薬ヒドロキシクロロキン (HCQ) も治療薬として期待されているが、最近の臨床試験で致死性不整脈である Torsade de pointes (TdP) が報告された。そこで、本研究では、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (ヒト iPS 心筋) を用いて COVID-19 治療薬の催不整脈リスクを評価した。市販の iCell 心筋 2.0 (CDI 社) に HCQ を投薬すると、TdP の原因となる早期後脱分極 (EAD) が誘導されることを見出した。レムデシビルなど他の COVID-19 治療薬は EAD が認められなかった。次に、我々が開発した 2 次元リスク評価法を用いて TdP リスク分類を行った結果、HCQ は高リスク、他の COVID-19 治療薬は低リスクに分類された。さらに、FDA の有害事象データベースである FEARS を解析したところ、HCQ は TdP 発生報告があるのに対して、その他の COVID-19 治療薬では TdP の報告がなかった。以上の結果から、ヒト iPS 心筋の催不整脈リスク評価は、COVID-19 治療薬の TdP リスク予測に有用であることが示唆された。(利益相反 なし)

一般 9. 新規 1 型リアノジン受容体 (RyR1) 阻害薬の結合部位の探索

村山 尚¹, 呉林なごみ¹, 小林琢也¹, 小川治夫², 児玉昌美², 森 修一³, 影近弘之³, 櫻井 隆¹ (1 順天堂大学医学部薬理学, 2 東京大学定量生命科学研究所, 3 東京医科歯科大生体材料工学研究所)

1 型リアノジン受容体 (RyR1) は骨格筋筋小胞体の Ca²⁺ 遊離チャネルで、その遺伝子変異は Ca²⁺ 誘発性 Ca²⁺ 遊離 (CICR) を亢進して悪性高熱症 (MH) をはじめとした筋疾患の原因となる。RyR1 阻害薬はそれらの疾患の治療薬となる。最近、われわれは新規 RyR1 阻害剤 (Compound 1) の開発に成功した。本研究では、Compound 1 の結合部位の探索を行った。Compound 1 は心臓の 2 型リアノジン受容体 (RyR2) に対しては作用しない。そこで、RyR1 と RyR2 のキメラチャネルを作製し、責任領域の絞り込みを行った。その結果、細胞質領域のドメインが責任領域であることが分かった。Compound 1 の結合に関与すると考えられるアミノ酸に変異を導入したところ阻害活性が消失または著しく減弱した。以上の結果から、Compound 1 は細胞質領域のドメインに結合して阻害活性を発揮することが示唆さ

れた。(利益相反 なし)

一般 10. 侵害受容情報特異的な腕傍核-扁桃核投射の functional synaptomics

奥田崇雄, 徳永亮太, 杉村弥恵, 高橋由香里, 加藤総夫 (慈恵会医科大学神経科学研究部)

腕傍核 (PBN) 扁桃核中心核 (CeA) 投射は、身体のさまざまな有害状況を脳に伝えることによって恒常性の維持に寄与する経路である。近年、この PBN-CeA シナプス伝達の可塑的变化が痛みの慢性化とともに生じることが報告され (Sugimura et al. 2016)、慢性痛の成立に重要な現象として注目されている。しかし、この増強が侵害受容情報を伝える系に特異的なのか、現在までの方法では検証することができず、この可塑性を引き起こす情報の実体はつかめていなかった。そこで、Fos-CreERT2 マウス (Guenther et al. 2013) を用い、侵害受容情報特異的なシナプス伝達を解析した。顔面部の炎症性疼痛により Fos を発現したニューロン選択的に、ChR2 (PBN) または、mCherry (CeA) を発現させ、CeA スライスで光誘発興奮性シナプス後電流 (Ie-EPSC) を比較したところ、侵害受容活性化 CeA ニューロンで有意に高振幅を示し、応答率も有意に高かった。PBN から CeA に侵害受容情報を特異的に伝達する経路と関与するニューロンの存在が示唆された。(利益相反 なし)

一般 11. 動物個体内における青色光を用いたタンパク質核内移行の制御

犬東 歩 (自治医科大学医学部神経脳生理学部門)

神経細胞の生理機能を調べるため、様々な光操作技術が広く使われている。光操作の高い空間分解能は *in vitro* の実験状況下では容易に得られるが、*in vivo* の実験状況下では光は様々な要因により散乱・吸収されてしまう。しかし、生体内で青色光の透過領域を空間的に測定することは困難である。本発表では、LOV ドメインを利用した光駆動性核内移行を用いて、生体組織での青色光透過範囲を可視化する分子生物学的な手法を提案する。光駆動性核内移行シグナル (LINuS) は LOV2 ドメインと核内局在シグナル (NLS) から構成されており、青色光照射によって標的タンパク質の核内移行を誘導する。我々は、HEK293 細胞において、青色光照射により NES-tdTomato-LINuS が 30 分以内に細胞質から核へ可逆的に移行することを確認した。また、血液脳関門を透過することができるアデノ随伴ウイルスベクターを眼窩静脈叢に注入することで、NES-tdTomato-LINuS を脳内に散在的に発現できることを確認した。また、30 分間の経頭蓋青色光照射により、NES-tdTomato-

LINuS の核移行が脳皮質、海馬、視床室傍核に誘導されることを確認した。こうした結果は、特別なトランスジェニック動物や熟練した手技を使うことなく、組織内の光透過性に関する有用な情報を簡単に得る方法を示している。また、本手法の他の機能性分子に関する応用についても紹介する。(利益相反 なし)

特別講演 2. オキシトシンの多彩な働き

尾仲達史 (自治医科大学医学部神経脳生理学部門)

オキシトシンは視床下部で合成され、下垂体後葉から分娩、授乳刺激により放出され、子宮収縮、射乳を引き起こす。オキシトシンをヒトに投与すると、カップルの結びつきが強くなる、他人に対する信頼が増加し向社会行動が促

進されると報告されている。さらに、自閉症スペクトラム障害の患者の社会行動を促進させることが示されつつある。動物実験においても、一夫一婦制を形成するハタネズミにおいてオキシトシンがペアの絆形成に重要であることが示されている。また、様々な動物実験でオキシトシンがストレス緩和作用をもつことも報告されている。一方で、オキシトシンがストレス反応促進作用と非社会的行動の誘発作用をもつことが報告されている。この矛盾について、我々は、遺伝子改変動物を用い、オキシトシン-オキシトシン受容体系がその領域により異なる働きをもつことを見出してきた。我々のデータを含めて紹介したい。(利益相反なし)