

演題 1. α 受容体遮断薬フェントラミンと β_1 受容体遮断薬アテノロールに対するウサギ大動脈と総腸骨一大腿動脈における血管応答の比較

○勝田新一郎¹, 堀越裕子², 藤倉佑光^{1,3}, 挟間章博¹, 清水 強⁴, 白井厚治⁵ (¹福島医大・医・細胞統合生理, ²同 新学部設置準備室, ³由利組合総合病院, ⁴清水宇宙生理学研, ⁵みはま病院)

血管壁の血圧維持機構を調べるため、フェントラミン (Phe) とアテノロール (ATN) 投与時の血圧低下に対する大動脈と総腸骨一大腿動脈の応答を新しい血管指標 Beta を用いて比較した。ペントバルビタール麻酔下のウサギに Phe と ATN を 2 分間静脈内投与した際の大動脈起始部 (oA), 腹部大動脈遠位端 (dA), 左大腿動脈遠位端 (fA) で圧脈波を同時記録した。大動脈脈波速度 (aPWV), 総腸骨動脈一大腿動脈脈波速度 (ifPWV), 上行大動脈一大腿動脈脈波速度 (aifPWV) に対する各 Beta は $2\rho/PP \times \ln(Ps/Pd) \times PWV^2$ (ρ : 血液密度, Ps : 収縮期血圧, Pd : 拡張期血圧, PP : 脈圧) より求めた。Phe, ATN 投与で oA, dA, fA の血圧は低下した。Phe 投与後 aBeta と aifBeta は増加し ifBeta は減少した。ATN 投与後各 Beta は変化しなかった。Phe に対する aBeta と ifBeta の相対的応答より血圧低下時に大動脈と腸骨一大腿動脈の硬さは個別に調節される可能性が示唆された。(利益相反 なし)

演題 2. 肺静脈の不整脈発生機構

○岡本洋介¹, 高木大地², 福田康義¹, 尾野恭一¹ (¹秋田大・院医・細胞生理, ²同 院医・心臓血管外科)

肺静脈 (PV) は心房細動という頻度の高い不整脈の発生源であるが、PV から不整脈が発生する発生機構は謎だった。我々は PV 心筋細胞を単離することに成功し、細胞レベルで不整脈の分子機構を検討した。ラット PV では、ノルアドレナリン (NA) 刺激によって、細胞内 Ca 濃度が上昇し、Na-Ca 交換体 (NCX) を駆動して NCX 由来の内向き電流が自発的な脱分極ならびに活動電位を誘発した。ウサギ PV では高頻度刺激で持続的な活動電位の繰り返しを観察された。ラットでは上室区域に局限して 3 型アデニル酸シクラーゼ (ACIII) が強発現している、心房筋と違って横行小管 (T 管) が発達していた。過分極活性化型 Cl 電流 (I_h, Cl) も観察され、自発活動電位の緩徐脱分極相を補強しているものと考えられた。I_h, Cl は心筋細胞で従来報告されている I_h と薬理的、電気生理学的特性が大きく異なっており、分子実態としては、ポアドメインである CLCN2 に HSPA8 がアクセサリ蛋白として結合していることが分かり、新規のイオンチャンネルとして報告した。以上のことより、肺静脈不整脈の機能的基盤は Ca 過負荷であり、過分

極活性化電流がこれを補強していると考えられた。(利益相反 なし)

演題 3. 自然栽培および特別栽培された「ふじ」の果皮に含まれる Phlorizin 含量の定量

○小野幸輝, 今井麻智子, 山田勝也 (弘前大院・医・統合機能生理)

フロリジンはりんごの果皮に高濃度に含まれるポリフェノールで、抗癌作用や血糖低下作用を示す。実際、フロリジンの腎特異性を高めた誘導体は最新の高血糖治療薬として臨床で使用されている。しかし、りんごを果皮ごと食用とする場合、農薬が懸念される。昨年度の本談話会でりんご果皮のフロリジン含量を質量分析により定量する手法を紹介した。今年度は、本手法を用い、ふじ果皮に含まれる Phlorizin 含量の月ごとの変化を、津軽地域で無農薬・無肥料による自然栽培を 30 年以上続ける農園と、減農薬・無化学肥料による有機栽培を 20 年以上続ける青森県特別栽培認定農園で比較した。その結果、自然栽培されたふじは、特別栽培されたふじと比べて果実の大きさや重量は小さいものの、果皮の Phlorizin 含量は月によらず有意に大きかった。フロリジンは、植物が病害微生物の攻撃に対して自らを守るファイトケミカルの代表であり、困難とされるりんごの無農薬栽培の鍵を握る物質の一つとして注目される。(利益相反 なし)

演題 4. 新生児一過性副甲状腺機能亢進症における新規 TRPV6 変異の同定

○鈴木喜郎¹, 澤田浩武², 徳増智子³, 鈴木 滋⁴, 二宮伸介⁵, 白井 勝⁶, 向井徳男⁷, 斎藤くれあ⁸, 西村玄⁹, 富永真琴⁸, 中階克己¹ (¹岩手医大・統合生理, ²宮崎大・医・看護, ³倉敷中央病院, ⁴旭川医大・小児科, ⁵倉敷中央病院・遺伝診療部, ⁶旭川厚生病院, ⁷旭川赤十字病院, ⁸生理研・細胞生理, ⁹埼玉医大・難病センター)

胎盤における母子間 Ca²⁺ 輸送は胎児の骨形成のために必須な役割を果たしている。我々はこれまでに、Ca²⁺ 選択的なチャネルの 1 つである TRPV6 の変異によって、胎盤 Ca²⁺ 輸送低下による骨異常を伴う新生児一過性副甲状腺機能亢進症を発症することを明らかにしてきた。今回我々は、ホットスポットからはずれた変異を伴う 2 つの新規家系を報告する。1 つ目の p.Arg390His は膜貫通ドメイン (S1) の細胞外部分に位置していた。変異体を HEK293 細胞に発現させてパッチクランプ法および細胞膜ピオチン化実験を行った結果、細胞膜へ到達できない変異であることが示唆された。一方、2 つ目の p.Gly291Ser は細胞内アンキリンリピートドメイン (AR6) に位置していた。本変異体は野生

型と同様の膜電流を示したが、定常状態における細胞内 Ca^{2+} 濃度が優位に上昇していた。以上のことから TRPV6 の AR6 ドメインは細胞内 Ca^{2+} overload の際のチャンネル不活性化に関与し、上皮における一方向性 Ca^{2+} 輸送の際の細胞内 Ca^{2+} 恒常性維持に重要であることが示唆された。(利益相反 なし)

演題 5. pH 感受性 2 孔型 K^+ チャンネル (TASK2) KO マウス：非代償性—近位尿細管性アシドーシスの細胞機序

安岡有紀子¹、佐藤雄一²、野々口博史³、○河原克雅^{1,4}
(¹北里大学・医・生理学、²同 医衛・臨床検査学、³同メディカルセンター・内科、⁴仙台白百合女子大学・人間科学・健康栄養学)

腎近位尿細管 (PT) (側底膜) に発現する TASK2 (TWIK-related acid-sensitive K^+ channel 2) は、 Na^+ 、 K^+ ATPase と連携して細胞内負電位を形成し、同側の起電性 HCO_3^- 輸送 (NBCe1) に駆動力を与える。標準食で飼育された TASK2 KO マウスは、高 Cl^- 性—代謝性アシドーシス (MA) を呈し (Warth et al. 2004)、(1) 呼吸性代償 (PaCO_2 低下) や (2) 腎性代償 (尿中アンモニア ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) 排泄量増加) を示さなかった (Yasuoka Y, et al. 日腎東部 2012, 2019 他)。【方法】TASK2 KO/WT マウスを、標準食/酸負荷食 (+ NH_4Cl 溶液、+HCl 練餌) で飼育し、1, 3, 6 日目に採血・採尿、最終日に腎の免疫組織染色を行った。【結果】 NH_4Cl 負荷：両マウスの血漿 pH は一過性に低下したが (1 d)、尿中 $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ 排泄量が増加し、それぞれ元のレベルに復した。HCl 負荷：KO, WT の血漿・尿 pH は、それぞれ有意に低下した ($P < 0.05$, 6 d)。免疫組織染色：腎各部の CAII (PT, CCD, OMCD)、PEPCK (PT) シグナルは、標準食 KO マウス (MA)/WT マウス (血漿 pH 正常) 共に微弱だった。しかし、HCl 負荷食で、それぞれ同様に強くなった。【結論】TASK2 KO マウスの PT 細胞内に蓄積した HCO_3^- による細胞内アルカリ化が、PT 細胞内のアンモニア産生を抑制し、非代償性 MA の原因になった。(利益相反なし)

演題 6. 頭頸部癌由来細胞の上皮間葉移行におけるクロライドチャンネルの役割

垣野内 景¹、吉江 進¹、室野重之²、挾間章博¹ (¹福島県立医大・医・細胞統合生理学、²同 医・耳鼻咽喉科学)

上皮間葉移行 (EMT) は、上皮の性質をもった細胞が、間葉系の性質に転換する現象であるが、間葉系の性質を持つことにより、癌の転移や浸潤に関わることが知られている。その過程において、ダイナミックな細胞形態の変化が

起こることから、細胞膜における水・イオン輸送が EMT に関与している可能性がある。我々は、水輸送にも関連するクロライドチャンネルが EMT に関与するかを検討した。EMT のモデルとして、舌癌リンパ節転移由来細胞 OSC-20 を用いた。OSC-20 に対して、クロライドチャンネル阻害剤の NPPB を添加すると、紡錘形への形態変化や、Vimentin など間葉系マーカーの mRNA 発現量の上昇などの間葉系細胞の特徴を示し、EMT が誘導されることが分かった。その効果は TGF β 単独投与より、間葉系のマーカー増大は著明だった。また、スクラッチアッセイにより、NPPB 投与による細胞移動の亢進が観察されたことから、機能面でもクロライドチャンネル阻害剤による EMT 誘導が明らかになった。このように、OSC-20 における EMT がクロライドチャンネルと関連することが示唆された。(利益相反 なし)

演題 7. 大腸菌を用いた新規遺伝子発現系の構築

○村上 学¹、村上アグニエシュカ¹、板垣史郎² (¹弘前大・医・病態薬理、²札幌医大・医・産学・地域連携センター)

遺伝子のクローニング、および遺伝子発現による機能解析は、重要である。我々は簡潔で効率が高い遺伝子発現システム (pgMAX) を開発してきた。pgMAX は哺乳類発現と、大腸菌発現の二重発現系である。本報告では、pgMAX のアイデアを基に、pgMAX を小型化した発現系、および複数遺伝子を誘導可能な遺伝子発現系 (pdMAX)、pgMAX の主要部分である選択用トキシン配列の解析について報告する。

オリジナルの pgMAX 発現プラスミドは 6kb 以上あり、遺伝子組み換えが困難となる場合がある。4kb 程度にスケールダウンし、6 種類のタグ配列を持つシステムを構築した。大腸菌における複数遺伝子発現はシングルプラスミドシステムを採用し、アラビノース誘導、および lac プロモーター双方での誘導を試み、複数遺伝子の発現を確認した。複数のプロモーターを組み込むと、個々の遺伝子発現が低下した。さらに、遺伝子組み換えに重要な選択用遺伝子であるトキシン配列の変異体作成を試みた。pgMAX 系を応用することにより、より簡便な遺伝子発現解析が可能となった。(利益相反 なし)

演題 8. 一般の人々に体の仕組みを教える取り組み—Popularization of Medical-knowledge Project—

○挾間章博^{1,2} (¹福島県立医大・医・細胞統合生理学、²特定非営利活動法人 POMk Project)

第 50 回東北生理談話会にて、現在の学校教育では、教科書には記載されている人体や病気についての基礎知識が十

分に習得されないこと、その状態を少しでも改善する試みとして、小学校・中学校を大学生とともに訪問し、大学生が主体となる体と病気の基礎知識を理解するための体験型授業を行っていることを報告した。また、そのような活動を実践する者として、生理学教育に携わっている私達が一番相応しいという意見を述べた。その後、その活動を広げるために、非営利活動法人 POMk Project を立ち上げ、小中学校のみならず、一般の方々に対する人体や病気についての基礎知識を広める活動を行っている。現在、小学校・中学校・高等学校を対象とする体験型授業に加え、独立行政法人国際協力機構 (JICA) 支援の下、インドネシアのマタラム大学と協力して、ロンボク島の小学校を対象とする授業や、会津薬師寺での地域住民を対象とする授業を行っている。今回、それらの活動について報告する。(利益相反なし)

演題 9. 腹部電気活動を通して身体状態を探る基礎的な検討

○長友克広, 村上花香 (弘前大院・医・統合機能生理)

昨年度実施した医学部 3 年次研究室研修の一例を紹介したい。消化管は、部位特異的な電気活動を示し、周期的に運動している。しかし、消化管の運動を日常生活において意識することはほとんどない。研修では、消化管運動を腹部電気活動として非侵襲的に記録し、周波数解析を行った。長時間記録した腹部電気活動のスペクトル画像から、胃や腸の活動に伴い通常記録される周波数帯 (3~12cycles/min) に加えて、より高い周波数帯 (18~28cycles/min) に活動強度の変化を認めた。興味深いことに、この高周波帯の活動は学科試験直前の記録で上昇していた。また、朝食および昼食を欠食すると、3~12cycles/min の腹部電気活動強度に低下を認めた一方、前述の高周波帯では、学科試験前の記録と同様の変化が認められた。非侵襲的な電気活動の記録から生命科学実験の基本的な成り立ちを知る機会を提供できればと考えている。(利益相反なし)

演題 10. ラット視床背内側核ニューロンの睡眠・覚醒時の活動記録

○高橋和巳, 永福智志 (福島医大・医・システム神経科学)

前頭前皮質や海馬を含む広範な領域と神経連絡を有し、高次の情報処理に関わる視床背内側核は、睡眠時の情報処理過程にも関与している可能性がある。しかし、その睡眠時の活動パターンの詳細は明らかになっていない。本実験では、ワイヤテロード電極およびガラス管電極を用い、それぞれ自由行動条件下及び頭部拘束条件下のラットにお

いて視床背内側核ニューロンの睡眠・覚醒中の活動を記録した。睡眠・覚醒状態は皮質脳波及び頸部筋電図記録により判定した。その結果、自由行動条件下及び頭部拘束条件下の両方において、覚醒時および逆説睡眠時に高い発火頻度で持続的に活動し、徐波睡眠時には活動が減弱してバースト発火を示すニューロンが多く記録された。一方、徐波睡眠時にバースト発火しながら最も発火頻度が高まり、覚醒および逆説睡眠時に減弱するニューロンも存在していた。いずれのニューロンタイプでも逆説睡眠時の発火活動はクラスター化する傾向が見られたが、皮質脳波における θ 活動との相関は見られなかった。これらの結果は、視床背内側核ニューロンが睡眠・覚醒状態依存性の点では比較的均質な集団であり、他の視床核と同様に前脳基底部や脳幹の睡眠・覚醒中枢からの直接入力による影響があることを反映していると考えられる。(利益相反なし)

演題 11. 扁桃体へのケタミンの局所注入による血圧上昇

○森本一生^{1,3}, 小山純正², 村川雅洋³ (1大槻スリープクリニック, 2福島大学共生システム理工学類, 3福島県立医科大学麻酔科学講座)

ケタミンは大脳皮質を抑制して大脳辺縁系を賦活する解離性麻酔薬として知られ、麻酔薬としては珍しく血圧上昇をもたらす。今回我々はケタミンが大脳辺縁系の一部である扁桃体に作用して血圧変動を起こすという仮説を立て、ラットを用いてケタミンを扁桃体に直接投与し血圧への影響を調べた。

オスラット (6 匹) の腹腔内にテレメトリー方式の圧トランスデューサー、頭骨に脳波電極、頸筋に筋電電極を埋め込み、脳定位装置へ固定するための U 字プレートに頭骨上に設置した。頭部を固定した状態で無麻酔下にガラス管によってケタミン (5mg/mL) 0.2 μ L を 0.2 μ L/min の流速で注入し、脳波と筋電図で動物の状態を確認しながら血圧を測定した。実験後は注入部位を染色し同定した。

扁桃体基底外側核、中心核、傍梨状核へのケタミン注入によって血圧の上昇が認められた。反応 (n=9) は、平均潜時 229.0 \pm 43.6 秒で血圧上昇が始まり、上昇開始 177.6 \pm 28.4 秒後に最大となり、その変動値は 17.6 \pm 3.0mmHg、持続時間 712.6 \pm 138.1 秒であった。ケタミン投与による血圧上昇には、扁桃体が関与していることが示唆された。(利益相反なし)

演題 12. 脳出血ラットにおける運動種類の違いが機能回復に与える影響

○佐藤ちひろ, 小枝周平, 三上美咲, 山田順子 (弘前

大・医・保健学研究科)

意欲やストレス等の心理状態と機能回復の関係が注目されている。我々は、運動麻痺を呈する脳出血ラットへ自発及び強制運動を行うと、自発運動による回復効果が高いことを明らかにした。回復時の脳機能変化を捉えるため、損傷領域である線条体へ DiI を注入し、投射元である一次運動野第 V 層内の標識細胞に対し、パッチクランプ法を用いて興奮性シナプス後電流 (mEPSCs) の振幅・頻度を解析した。結果、介入群は非介入群より mEPSCs の振幅・頻度が多く、リハビリによる脳内ネットワーク活性化の可能性が示唆されたが、2 群間の差は検出されなかった。そこで、運動に伴うストレスやモチベーションに着目し、それらが機能回復に及ぼす影響を検討した。

非介入群、強制運動群、自発運動群に分けた動物に対し運動を実施した後に、ストレス状態の指標として血中コルチコステロン濃度を測定した。一方、モチベーションの指標として報酬関連領域である側坐核 (NACc) 中の神経活動マーカー蛋白 Δ FosB の発現量を評価した。

その結果、コルチコステロン濃度は強制運動群で高く、NACc 中の Δ FosB 蛋白は自発運動群で多かった。本結果より、強制運動に伴う高いストレスや自発運動によるモチベーション関連領域の賦活によって機能回復が左右された可能性がある。(利益相反 なし)

演題 13. 海馬 CA1 ニューロンに化学的に誘導されるシナプス可塑性への細胞外 ATP の効果

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

モルモット海馬スライス CA1 ニューロンに、0.05Hz でテストシナプス入力しつつ代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) アゴニスト aminocyclopentane-1S, 3R-dicarboxylic acid (ACPD) を投与すると field EPSP 応答に長期増強 (LTP) が誘導され、テスト入力しない場合は長期抑圧 (LTD) が誘導された。テスト入力に代えて ACPD と同時に N-methyl-D-aspartate (NMDA) を与えると LTP が誘導され、テスト入力中に ACPD と NMDA 受容体阻害

薬 D, L-2-amino-5-phosphonovalerate (AP5) を与えると LTD が誘導された。これらより、CA1 シナプスで mGluR が活性化している最中にテストシナプス入力により NMDA 受容体が活性化するか否かで、LTP ないし LTD の誘導が決定された。さらに、ACPD とともにアデノシン 5'-三リン酸 (ATP) を与えると、誘導される LTP および LTD が増大した。これら結果から、アストロサイトが放出する ATP は mGluR 受容体活性化を増強し、LTP または LTD の誘導を促進する可能性があると結論した。(利益相反 なし)

演題 14. 青斑核ノルアドレナリン神経細胞の活動亢進による情動記憶の想起の促進：新規神経活動活性化ツールによる検討

○井口善生¹, 深堀良二¹, 加藤成樹¹, 高橋和巳², 永福智志², 辻 真伍³, 挾間章博³, 内ヶ島基政⁴, 渡辺雅彦⁵, 水間 広⁶, 崔 翼龍⁷, 尾上浩隆⁸, 疋島啓吾⁹, 八十島安伸¹⁰, 小山内 実¹¹, 稲垣 良¹², 福永浩司¹³, 西條琢真¹⁴, 榎山俊彦¹⁵, リチャード・ベントン¹⁶, 小林和人¹
(¹ 福島医大・生体機能, ² 同 システム神経科学, ³ 同 細胞統合生理, ⁴ 新潟大・脳研・細胞病態, ⁵ 北大・医・解剖発生, ⁶ 理研・生命機能科学・健康病態科学, ⁷ 同 生体機能動態イメージング, ⁸ 京大・脳機能総合研究センター, ⁹ 産総研・健康医工学・医療機器, ¹⁰ 阪大・人間科学・行動生理, ¹¹ 同 医・医用画像工学, ¹² (株) プレインイノベーション, ¹³ 東北大・薬・薬理, ¹⁴ 愛知県医療療育総合センター・分子病態, ¹⁵ 慈恵医大・医・薬理, ¹⁶ ローザヌス大・統合ゲノム科学)

シヨウジョウバエ由来の Ionotropic Receptors (IRs) を利用し、神経活動の活性化ツールを独自に開発した。この新規化学遺伝学ツールによりマウス青斑核のノルアドレナリン (NA) 神経細胞の活動を亢進させたところ、味覚嫌悪条件づけの記憶想起過程が促進された。この促進効果は、扁桃体の NA シグナル伝達に依存し、青斑核―扁桃体 NA 投射回路の重要性が明らかになった。(利益相反 なし)