

奨励 01. ステロイド軟膏による口内炎疼痛抑制メカニズムの解明

○浪花真子^{1,2}, 中富千尋¹, 人見涼露³, 田淵拓也⁴, 秋房住郎², 小野堅太郎¹ (九州歯科大学生理学分野,²同歯学部口腔保健学科,³日本大学歯学部生理学講座,⁴第一三共ヘルスケア株式会社)

口内炎は臨床上よくみる粘膜疾患で、ステロイド軟膏が主に処方されるが、口内炎疼痛への効果は意見の一致をみず、詳細な疼痛抑制機序は不明である。我々は口内炎疼痛へのステロイド軟膏の効果と作用機序について検討した。確実なステロイド奏効のため、多種軟膏基剤の残留性を評価した結果、高残留性基剤としてトラフル軟膏基剤(TO)、低残留性基剤としてプラスチック(PB)を使用し、トリアムシノロンアセトニド(Tmc)を添加して動物実験を行った。雄性 Wistar ラットに酢酸誘発性口内炎を作製した。軟膏塗布後、次の評価を行った。自発痛と接触痛を行動学的に解析した。グルココルチコイド受容体(GR)標的遺伝子と TNF- α 、COX-2 の遺伝子発現、ET-1 と PGE₂ のタンパク質量を定量した。短時間・長時間 Tmc 作用による高張機械刺激(Hyper)と TRPA1 アゴニスト(AITC)誘発応答への影響をみるため、ラット三叉神経節細胞に Ca²⁺イメージングを行った。疼痛行動は TO+Tmc 群で無処置(NT)群より抑制された。GR 標的遺伝子は TO+Tmc 群で NT 群より有意に増加し、TNF- α 、COX-2、PGE₂ は TO+Tmc 群で低下した。PB+Tmc 群は作用がないか弱かった。Tmc 長時間作用で Hyper と AITC による反応細胞は有意に減少、AITC による Ca 応答も低下した。本研究より、口内炎治療用軟膏の残留性が薬効に大きく寄与することが示唆された。高残留性ステロイド軟膏は COX-2 の発現を抑制することで自発痛を抑制し、神経終末上の TRPA1 応答性を低下させることで接触痛を抑制する可能性が示唆された。(利益相反 あり)

奨励 02. ティモシー症候群に関連する Cav1.2 の I1166T 変異は発達期のマウス大脳皮質において神経細胞の移動と脳梁投射を障害する

○玉川(中川)直¹, 桐野恵美¹, 菅生厚太郎², 永田英孝², 田川義晃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大日本住友製薬株式会社基盤技術研究ユニット)

ティモシー症候群(TS)は、QT延長症候群などの心疾患を主症状とし、自閉症スペクトラム障害などの神経症状を伴う多臓器疾患である。TSは、脳の発達に重要な働きを持つL型カルシウムチャンネルCav1.2の突然変異によって起きる。最近、TS様症状を持つ患者で、Cav1.2の新たな機

能獲得変異I1166Tが同定された。そのチャンネル特性はin vitroで解析されているが、この変異が生体内で脳の発達にどのような影響を及ぼすかは調べられていない。

そこで本研究は、胎生期に一次体性感覚野の第2/3層興奮細胞にCav1.2 I1166Tを強制発現させ、発達を調べた。生後2週で細胞移動と脳梁投射を解析したところ、Cav1.2 I1166Tを発現する細胞の約20%に移動障害が見られ、反対側皮質への軸索投射も顕著に減少した。次に、Cav1.2 I1166Tに第2の変異、すなわち[Ca²⁺流入を阻害するL745P変異]と[β サブユニットの結合を阻害するW440A変異]を導入して調べたところ、どちらの変異も移動と投射を回復させた。

以上の実験結果は、マウスにおいてCav1.2のI1166T変異が、大脳皮質の発達過程の細胞移動と軸索投射という2つの重要なプロセスに障害を及ぼすことを示す。この障害は、Cav1.2の下流にあるCa²⁺流入に依存する経路と β サブユニットに依存する経路の両方に依存することが示唆される。TS患者の脳で同様の障害が起きている可能性を示唆するとともに、障害が起きるメカニズムの解明に貢献し、治療や予防につなげたい。(利益相反 あり)

一般 01. 舌への触・圧覚刺激が脳血管性認知症モデルラットに及ぼす影響

○小牧龍二^{1,2}, 福永貴之^{1,3}, 行平 崇⁴, 亀山広喜¹, 坂本亜里紗¹, 田中哲子¹, 申 敏哲¹ (熊本保健科学大学リハビリテーション学科,²リハビリテーションセンター熊本回生会病院,³総合リハビリテーションセンター城南病院,⁴帝京大学福岡医療技術学部理学療法学科)

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おり、これまでの先行研究において、舌の体性感覚についての研究は少ない現状にある。近年、我々は正常ラットの舌への体性感覚刺激が、海馬を活性化させ成長因子の増加や細胞新生を促進し、記憶力の増強を及ぼす可能性を明らかにした。これらの結果は、舌への体性感覚刺激が脳血管性認知症の症状改善にも十分効果的である可能性を示している。本研究では、正常ラットで一番効果的であった舌への触・圧覚刺激が脳血管性認知症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、脳血管性認知症+触・圧覚刺激群(P2VO+TPS群)で脳血管性認知症群(P2VO群)に対し、学習・記憶力の増強が認められた。さらに、P2VO+TPS群では、P2VO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

脳血管性認知症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

○池田直史¹, 川崎 展¹, 清水真喜子², 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 (産業医科大学医学部整形外科学, ²同 医学部第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。断頭後に採血を行い, OXT 血中濃度を測定し, *in situ* ハイブリダイゼーション法で, OXT mRNA を測定した。後者では, 皮下投与終了2, 4, 6, 22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減少した。視床下部 OXT mRNA および後者の mRFP1 蛍光輝度の経時的変化が一部で見られ詳細を検討中である。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 ニューロンの変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. 感覚評価を用いたベンゾピレン投与ラットに対する β -NMN の効果検討

○申 敏哲¹, 行平 崇², 小牧龍二^{1,3}, 田中哲子¹, 福永貴之^{1,4}, 亀山広喜¹, 坂本亜里紗¹, 吉村 恵⁵ (熊本保健科学大学, 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)

ダイオキシシ類似化合物の一つであるベンゾピレンを用

いてベンゾピレン中毒ラットに対する β -NMN の効果を感じ覚刺激による定量的閾値評価法, 酸化ストレス・抗酸化力測定法, Western blot 法を用いて検討した。その結果, 定量的閾値評価法では, 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上昇がみられ, その閾値上昇はベンゾピレン+ β -NMN 投与群で抑制された。酸化ストレス度に関しては, ベンゾピレン投与群に対し, ベンゾピレン+ β -NMN 投与群で酸化ストレス状態の改善がみられた。また, ウェスタンブロッティングを用いた cytochrome P450 (P450) 1A1 (CYP1A1), myelin basic protein (MBP), myelin-associated glycoprotein (MAG) タンパク質発現変化の検討では, ベンゾピレン投与群で CYP1A1 タンパク質の発現増加, MAG タンパク質の発現低下がみられ, β -ベンゾピレン+ β -NMN 投与群では MAG タンパク質の発現低下抑制傾向が認められた。本研究の結果から, ベンゾピレン投与はその毒性が触・圧覚を伝える神経線維に作用し, 脱髄を起こすことで, 感覚異常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などがある β -NMN の投与により抑制されることで感覚異常が改善された可能性が示唆された。(利益相反 なし)

一般04. An anti-cancer drug gemcitabine inhibits and modifies N-glycosylation of the hERG channel resulting in a suppression of I_{hERG}

○Mengyan Wei, Kenshi Yoshimura, Shinichiro Kume, Tatsuki Kurokawa, Katsushige Ono (Department of Pathophysiology, Oita University School of Medicine)

Gemcitabine is an anti-cancer drug particularly for the treatment of patients with non-small-cell lung cancer. Previous reports demonstrated the high incidence of arrhythmias with QT interval prolongation. The purpose of this study was to explore the possible actions of gemcitabine for the cardiac ion channels focusing on I_{hERG} or I_{Kr} . Human embryonic kidney (HEK)-293 cells transfected with human Kv11.1 (hERG) gene (hERG-HEK cells). Whole cell patch clamp technique was applied on hERG-HEK cells incubated with or without gemcitabine for 24 hours. Long-term but not short-term application of gemcitabine caused a significant decrease of I_{hERG} with a shift of the activation curve to the hyperpolarization direction. Gemcitabine was without effect on other gating properties of I_{hERG} : inactivation, deactivation, and reactivation. A glycosylation syn-

thesis inhibitor tunicamycin masked the effect of gemcitabine on I_{hERG} , suggesting a glycosylation inhibition effect of gemcitabine on the hERG channel. In addition, prolongation of action potential duration or QT interval by gemcitabine was successfully simulated by a biophysical software simulating models of cardiac cellular function e-HEART. (COI: none)

一般 05. 腎疾患に繋がる非選択的カチオンチャネル TRPC6 変異体における不活性化機構の破綻と腎疾患発症リスク及び発症年齢との関連

○岡田 亮^{1,2}, 小牧 竜也^{2,3}, 坂口 怜子², 森 誠之²
(¹産業医科大学産業保健学部人間情報科学, ²同 医学部医学科生命科学分野生体物質化学, ³北九州市立大学大学院国際環境工学研究科環境システム専攻)

TRPC6 (Transient Receptor Potential Classical 6) は G-蛋白質共役型受容体等の刺激により活性化される非選択的カチオンチャネルで、 $Na^+ \cdot Ca^{2+}$ を細胞内に透過させる。TRPC6 遺伝子変異は腎疾患 (ネフローゼ症候群) の原因の一つとして知られ、その発症年齢は幼児期から成人後まで幅広く分布する。腎疾患発症年齢の予測は治療方針決定の際に有益であると考えられるが、発症に寄与する TRPC6 の分子機構には不明な点が多い。近年、我々は腎疾患に関連する TRPC6 変異体の構造・機能解析の結果、本来機能しているはずのカルシウム依存的な不活性化機構 (CDI) と呼ばれるブレーキ機構が破綻し、結果として発生する遅延性シグナルが本症の発症に繋がるとの知見を得た (Polat and Uno et al., 2019, JASN)。本研究ではパッチクランプ法による TRPC6 変異体の機能解析を行い、変異体における CDI の遅延と腎疾患発症リスク及び発症年齢との関連性について検討した。パッチクランプ法による定量的なチャネル活性評価を基盤とした腎疾患発症リスク及び発症年齢予測の有用性について報告する。(利益相反 なし)

一般 06. 修飾ヌクレオシドの網羅的解析による COVID-19 診断マーカーの探索

○永芳 友, 西口 栞世, 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 (医) 分子生理学講座)

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) は RNA ウイルスである Severe Acute Respiratory Syndrome Corona-Virus 2 (SARS-CoV-2) の感染により引き起こされる呼吸器感染症であり、感染報告から 2 年経った今でも世界中で猛威を振るい続けている。SARS-CoV-2 のウイルス内部に存在するゲノム RNA には未知の化学修飾を受けた領域が報告されている。我々の先行研究において化学修飾を受けた RNA

はヌクレオシドまで分解されたのち、修飾を持つヌクレオシドのみ細胞外である血液や尿に排泄されていることを見出した。これらの背景から、「SARS-CoV-2 に感染するとウイルス特異的な修飾ヌクレオシドが血中や尿中に多く排泄され、診断に応用できるのではないか?」という着想に至った。

我々はまず SARS-CoV-2 感染細胞を用い、感染時間に応じて上昇する 6 種類の修飾ヌクレオシドを抽出した。それら 6 種類に対して COVID-19 患者の血液・尿を、高速液体クロマトグラフ質量分析器で解析し、健常人サンプルと比較することで COVID-19 特異的修飾ヌクレオシドを 2 種類同定することに成功した。さらに患者情報を抽出し、COVID-19 特異的修飾ヌクレオシドとの相関を評価したところ、血中の修飾ヌクレオシドは重症度や治療効果・予後と相関していた。(利益相反 なし)

一般 07. VRK2 KO zebrafish の行動生理学的解析

○梅田涼平¹, 清水誠之², 波田一誠², 寺西仁志¹, 鹿野健史朗¹, 比嘉涼子¹, 漆畑博太郎², 白石裕士², 花田俊勝², 花田礼子¹ (¹大分大学医学部神経生理学講座, ²同 医学部細胞生物学講座)

Vaccinia related kinase 2 (VRK2) は vaccinia-related kinase family に属するセリン/スレオニンキナーゼの 1 種である。既報では *in vitro* の検討により、VRK2 が細胞の生存や低酸素に対するストレス応答において重要な役割を持つことが報告されている。近年、ヒトの GWAS 解析により VRK2 と統合失調症を含む精神神経疾患との関連性が明らかになった。一方で、*in vivo* における研究はほとんど行われておらず、生体における VRK2 の生理機能は明らかとなっていない。そこで我々は、CRISPR/Cas9 システムを用いて VRK2 遺伝子欠損ゼブラフィッシュ (VRK2 KO) を作製・解析した。まず、体重・体長の経時的解析に加え、HE 染色を用いた脳の形態的な評価を行った。さらに行動学的解析として統合失調症に関与する攻撃性、社会性、不安様行動に関し、それぞれ Mirror test, Social interaction test, Novel tank diving test を用いて解析した。その結果 VRK2 KO では強い攻撃性を示すことが明らかとなった。さらに VRK2 KO とコントロールフィッシュを用いて、脳神経伝達物質について解析したところ、VRK2 KO では GABA 含量が減少していたことが判明した。以上より VRK2 KO の攻撃性の増加は脳内 GABA 含量の低下による可能性が示唆された。(利益相反 なし)

一般 08. 不全顆粒島皮質第 5 層の異なるニューロン群は飲水行動の抑制および促進に寄与する

○竹本 誠, 宋 文杰 (熊本大学大学院生命科学研究部 (医) 知覚生理学講座)

島皮質の大部分は味覚野として知られており, 前方の甘味領域および後方の苦味領域がそれぞれ摂食 (飲水) 行動を正および負に調節することが報告されている。しかしながら, 摂食 (飲水) 行動は味覚の生得的嗜好性以外の様々な内的・外的要因による調節を受けているため, 味覚の種類に依存しない摂食行動調節のメカニズムが存在すると考えられる。本研究では, マウスの不全顆粒島皮質から皮質下領域への下降性神経回路を有する第5層(L5)に着目し, その飲水行動調節における役割を調べた。解剖学的解析の結果, 不全顆粒島皮質のほぼ全域において扁桃体中心核外側部へ両側性に投射する L5a ニューロン群と, 扁桃体中心核内側部・基底内側核および視床下核傍核などに同側投射する L5b ニューロン群の存在が明らかとなった。さらに, 光遺伝学的手法を用いて飲水行動時における各ニューロン群への刺激の効果を調べたところ, L5a 刺激は飲水行動を抑制したのに対し, L5b 刺激は同行動を促進した。一方で, 各サブレイヤーの自己刺激行動における有意な強化または忌避反応は見られなかった。これらの結果から, 不全顆粒島皮質第5層が情動反応を伴わず飲水行動を正または負に調節することが示唆された。このことは, 味覚の生得的嗜好性に非依存的な摂食 (飲水) 行動調節の神経基盤の存在を示唆している。(利益相反 なし)

一般 09. 次世代型 AD モデル *App^{NL-P-F/NL-P-F}* KI マウスにおける心理行動異常と脳内変動

○高村雄策¹, 泉尾直孝², 久米利明³, 入江一浩⁴, 小松生明¹ (¹第一薬科大学薬学部薬物解析学分野, ²富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学) 薬物治療学, ³同 大学院医学薬学研究部 (薬学) 応用薬理学, ⁴京都大学大学院農学研究科食品生物学専攻食品生命科学)

われわれはこれまで, ヒト変異 *App* 遺伝子ノックインマウスを用い, 空間認知障害と酸化ストレスおよびパルプアルブミン陽性 GABA ニューロンとの関連について報告してきた (Hongo et al., 2020)。今回, 従来モデルを改良した *App^{NL-P-F/NL-P-F}* KI マウス (*NLPF* マウス) を用い, 行動と脳内変動について検討した。*NLPF* マウスでは, amyloid- β (42) の 22 位グルタミン酸をプロリンに変異させた高毒性コンホマー (E22P-A β) を産生し, 認知機能低下がみられることが報告されている (Izuo et al., 2019)。*NLPF* マウスでは 6-8 か月齢以降で, オープンフィールド, 高架式十字迷路, 社会行動などにおいて顕著な行動異常を示した。オープンフィールドでは中心部滞在時間の延長, 行動距離減少が見られた。高架式十字迷路では, オープンアーム滞在時間の

増加が見られた。社会行動では, 社会的接触および接近の増加が見られた。組織学的検討では, E22P-A β の沈着とともに, 側坐核, 扁桃体基底外側部, 大脳皮質, 海馬などへの iNOS を発現した細胞傷害性とみられるマイクログリアの遊走が確認された。これらの心理行動異常と脳内変動は, アルツハイマー病における周辺症状 (BPSD) を表現している可能性があり, *NLPF* マウスが BPSD モデルとして有用であることが示唆された。(利益相反 なし)

一般 10. 繰り返し音刺激によるマウス聴覚野ニューロンの神経応答

○富岡良平¹, 周 博^{1,2}, 宋 文杰^{1,2} (¹熊本大学大学院生命科学研究部 (医) 知覚生理学講座, ²同 HIGO プログラム)

動物にとって, 「繰り返し音 (例: 滴の音)」に馴化する事は, 必要な情報を獲得するためにも重要なメカニズムである。それでは, 動物は「繰り返し音」をどのように知覚しているのだろうか? これまでの研究では, 「繰り返し音」に伴って, 一次聴覚野において, 反応が減少ないしは促進されるニューロンが報告されているが, その詳細は十分に明らかになっていない。そこで, 私達は麻酔下のマウスに「繰り返し音」を提示し, 一次聴覚野の神経活動の変遷を解析した。その結果, 刺激後 10-30 ミリ秒間においては, 繰り返し音によって神経活動が減弱するニューロンや促進されるニューロンがみられた。繰り返し音によって神経活動が減少するニューロンは, 大脳皮質浅層・深層両方でみられ, 一番目の音刺激に対する応答が最大であった。すなわち, これらのニューロンは, 繰り返し音の初期のコーディングに働いていると考えられた。促進されるニューロンは主に浅層のみで観察され, 一番目の音刺激では受容野がほとんど確認できないほど反応性が乏しいが, 繰り返し音の後半に受容野が明確に表れたことから, 後半部分のコーディングしている可能性が考えられた。以上から, 繰り返し音の聴覚野でのコーディングにおいて, 様々な時間反応パターンを示す複数のニューロン群が関わっていると考えられた。(利益相反 なし)

一般 11. 運動によるテストステロンの増加作用と生活リズムとの関連

○青山晋也, 樽見 航, 中畑泰和, 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)

【背景・目的】男性ホルモンであるテストステロンは男性では早朝にピークを示す日内変動を示す。本研究では運動がテストステロンの日内変動に及ぼす影響を調べ, さらに朝型や夜型といったクロノタイプでの比較を行った。

【方法】24名の成人男性を対象としたランダムクロスオーバー試験とし、朝(0600-0900)または夕方(1800-2100)に単回のレッグプレス運動(10RMの負荷で10回を5セット)を行った。テストステロンの日内変動は、運動をしない日と朝または夕方の運動翌日に採取した唾液を用いて評価した。唾液は午前6時から翌日午前2時まで4時間おきに計6回採取した。クロノタイプは朝型夜型質問紙(MEQ)を用いて評価した。

【結果・まとめ】朝または夕方の運動は、運動を行っていない日に比べて、早朝のテストステロンを有意に増加させたが、運動の実施時刻による差異はみられなかった。さらに被験者をMEQスコアによって朝・中間型と夜型の2グループに分けて運動によるテストステロンへの影響を評価したところ、朝型・中間型グループでは、運動直後や翌日早朝のテストステロンの増加がみられたが、夜型のグループでは運動によるこれらの応答はみられなかった。以上の結果より、運動は翌日早朝のテストステロンを増加させるが、実施時刻による差はみられなかった。また運動によるテストステロンの増加作用はクロノタイプによって異なる可能性が考えられた。

(利益相反 なし)

一般 12. 暑熱環境における運動負荷時の生体影響

○丸山 崇¹、篠塚脩平²、興相泰知²、吉村充弘¹、上田陽一¹ (¹産業医科大学医学部第1生理学、²同 医学部3年基礎研究室配属生)

熱中症は暑熱環境下で運動負荷が増大する際に発症リスクが高まることから知られており、時に生命の危機をおよぼすこともあるため、労働作業やスポーツを行う際は特に予防すべき重要な課題の一つである。熱中症の病態としては、熱失神、熱痙攣、熱疲労、熱射病があるが、この中で熱射病が最も重症度が高く、深部体温の上昇が主要な原因とされている。今回の研究では、暑熱環境での運動負荷による生体影響と深部体温の上昇を抑えるための有効な対策を検討した。被験者は、健康な成人男性2名で、人工気候室において気温35℃、湿度50%の暑熱環境下で、エルゴメーターにより80Wの運動負荷を2回(18分+24分)加えた。この時、直腸温による深部体温測定その他、心電測定や自覚症状の測定を運動負荷前後も含め継続的に行った。運動負荷により、心拍が増大すると共に、深部体温の上昇を認め、最大深部体温は38℃を超えた。次に、深部体温を下げるための対策として、ポータブルファン、手足冷却、アイススラリーの経口摂取を運動負荷の中間時間に実施した。結果として、どの対策においても深部体温の低減効果は限定的であった。いずれの対策においても深部体温の上昇率はほ

は同様で、気温35℃環境では運動を行わない休憩時でも深部体温は大きな低下が見られないため、運動負荷の低減や環境温の低下が根本的な対策となる可能性が示された。(利益相反 あり)

一般 13. 生理学実習のハイブリッド反転授業によるアクティブラーニング化

○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)

コロナ禍での生理学実習では、3密の回避や時間短縮の感染対策と、実験による学習効果を両立して実施する工夫が求められた。そこで、本学の生理学実習では、対面式の実験実習に、オンデマンドビデオによる反転授業を重ねて、ハイブリッド反転授業の形態での実施を試みた。実習では、ウシガエル開胸標本を用いた、心臓の興奮と収縮に関する実験を実施した。実習をハイブリッド反転化するために、①各実験の手技を解説した短いビデオ、実験の解釈を解説したビデオ、および実習書のPDFを、学内ネットワークでオンデマンド配信した。②実習の課題レポートを反転化して、実習の実施前にレポートを下書きさせた。③実習室では、Raspberry Piと24"モニターで構成したメディアセンターを実験班ごとに配置し、解説ビデオをオンデマンド視聴させた。以上の方法論による、実習のハイブリッド反転化は、個々の学生が明確なクエスチョンをもって実習に臨む、アクティブラーニングの効果をもたらした。また、各実験班のメディアセンターは、解説ビデオのオンデマンド視聴を知識のベースとして、学生同士で議論することを促進した。実習後の学生アンケートでは、総合評価、興味の程度、理解の程度をはじめ、すべての評価点が大きく上昇した。生理学実習のハイブリッド反転化は、「ファインマン・テクニック」と同型の、アクティブラーニングをもたらすと結論した。(利益相反 なし)

一般 14. ミトコンドリア tRNA 修飾酵素 NSUN3 の全身および心臓における生理的意義の解明

○村上慶高^{1,2}、中條岳志¹、魏 范研^{1,3}、堀口晴紀⁴、門松 毅⁴、尾池雄一⁴、安東由喜雄⁵、植田光晴²、富澤一仁¹ (¹熊本大学大学院生命科学研究部(医)分子生理学講座、²同 脳神経内科学講座、³東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野、⁴熊本大学大学院生命科学研究部(医)分子遺伝学講座、⁵長崎国際大学薬学部アミロイドーシス病態解析学分野)

ミトコンドリアには核DNAとは独自の環状DNAがあり、ミトコンドリアにおける遺伝子発現の破綻はミトコンドリア病をはじめ様々な疾患の原因となる。ミトコンド

ア (mt) DNA に由来するトランスファー RNA (mt-tRNA) は転写後に修飾され、修飾は tRNA 構造の安定化などを介してミトコンドリア内での翻訳制御に必要である。メチオニンに対応する mt-tRNA^{Met} のアンチコドン領域には 5-formylcythidine (fC) 修飾が付加されており、核 DNA に由来する NSUN3 と呼ばれる酵素によって修飾される。NSUN3 のコンパウンドヘテロ遺伝子変異をもつ小児患者はミトコンドリア病を発症しており、また、NSUN3 を欠損する培養細胞ではミトコンドリア機能異常が報告されているが、個体における NSUN3 の生理機能には不明な点が多い。今回我々は全身における *Nsun3* 欠損 (KO) マウスおよび心筋特異的 *Nsun3* KO マウスを作製し、表現型解析を行った。全身 KO では KO マウスは出生せず、胎齢 12.5 日の子宮内において胎児の異形を認め、胎生致死であった。心筋特異的 KO マウスは発育可能であったが、50 週齢前後に心エコーを行った結果、KO 群で心筋の肥大と心臓重量の増大を認めた。電顕像ではミトコンドリア径の拡大を認めた。抽出したミトコンドリアでは、酸化リン酸化複合体 I と IV の活性低下、複合体 I, III, IV 量の低下、MTCO1 量低下を認めた。一方、mt-DNA から転写される mt-mRNA の発現量は変化せず、翻訳の段階での異常が示唆された。本研究により、マウスにおいて NSUN3 による mt-tRNA^{Met} の fC 修飾は胚発生に必須であり、また、成体では心臓の正常な形態と機能に必要であることを明らかにした。(利益相反 なし)

一般 15. NPGL/NPGM システムによる中枢性エネルギー代謝調節機構の解明

○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 医学部細胞生物学講座、³産業医科大学医学部第 1 生理学教室)

Neurosecretory protein GL (NPGL) 及び Neurosecretory protein GM (NPGM) は、視床下部から単離された分泌性小タンパク質をコードする新規遺伝子として発見された。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、エネルギー代謝調節機構における NPGL/NPGM システムの生理作用を明らかにするために、CRISPR/Cas9 システムを用いて作製した NPGL 及び NPGM 両遺伝子欠損 (NPGL/NPGM dKO) マウスの生理機能解析を行った。その結果、NPGL/NPGM dKO マウスは野生型マウスに比べて、体重や摂食量、脂肪組織や肝臓の重量が減少することが明らかになった。また、NPGL/NPGM

dKO マウスでは、褐色脂肪組織における脂肪蓄積が顕著に抑制されており、熱産生に重要な脱共役タンパク質 1 (UCP1) の発現量の増加が認められた。さらに、NPGL/NPGM dKO マウスにおける視床下部のエネルギー代謝調節関連因子や褐色脂肪組織におけるミトコンドリアについても検討したため報告する。(利益相反 なし)

一般 16. ボンベシン様ペプチド (NMB/GRP) のエネルギー代謝調節機構における生理機能の解明

○比嘉涼子¹、森崎郁子²、鹿野健史朗¹、寺西仁志¹、花田礼子¹ (¹大分大学医学部神経生理学講座、²同 医学部細胞生物学講座)

Neuromedin B (NMB) および Gastrin releasing peptide (GRP) は哺乳類におけるボンベシン様ペプチドとして知られており、生体内の様々な生理機能を制御することが知られている。しかし、エネルギー代謝調節機構における NMB および GRP の機能については不明な点が多い。エネルギー代謝調節機構における NMB および GRP の機能を明らかにするために、遺伝子改変技術である CRISPR-Cas9 システムを用いて NMB/GRP 両遺伝子欠損マウス (dKO) を独自に作製し、解析を行った。野生型および dKO マウスに高脂肪食を摂餌させ、経時的に体重を測定したところ、dKO マウスでは野生型マウスに比べ、体重増加量の有意な減弱が認められた。また、高脂肪食摂餌下において、dKO マウスは野生型マウスに比べ、肝臓における脂肪蓄積が減少していることが明らかとなった。そこで、精巣上体白色脂肪組織および肝臓における脂肪酸合成に関わる遺伝子発現を qPCR 法にて解析したところ、dKO マウスの精巣上体白色脂肪組織において、脂肪酸不飽和酵素 1 (Scd1) および PPAR γ の遺伝子発現量の増加が認められた。一方、肝臓においては Scd1 および PPAR γ の遺伝子発現量は低下していた。以上のことから、NMB および GRP は高脂肪食負荷における脂質代謝調節に関わることが示唆された。(利益相反 なし)

一般 17. 双極性障害の病態メカニズムの探索：ハプロタイプフェージングと RNA シーケンスによるミトコンドリア代謝制御遺伝子 X の発現異常の発見

○高松岳矢^{1,2}、馬目陽子⁵、柳久美子⁴、小金潤佳江⁸、當山奏子¹、李 俊錫¹、長谷川実奈美⁵、服部功太郎^{6,7}、功刀 浩^{6,9}、近藤 毅²、岡野 ジェイムス洋尚⁵、木村亮介³、要 匡⁴、松下正之¹ (¹琉球大学大学院医学研究科分子・細胞生理学講座、²同 精神病態医学講座、³同 人体解剖学講座、⁴国立成育医療研究センターゲノム医療研究部、⁵東京慈恵会医科大学再生医学研究部、⁶国立精神・

神経医療研究センター神経研究所疾患研究第三部,⁷同センターメディカル・ゲノムセンターバイオリソース部,⁸東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻,⁹帝京大学医学部精神神経科学講座)

【背景】双極性障害の病態生理はほぼ不明である。最近の大規模ゲノム研究により、転写調節配列の変異のうちに影響力の大きな原因が潜んでいる可能性が示唆された。しかしながら、そのような変異はそれぞれの頻度が稀で、従来の方法では発見が難しく、具体的に未だほとんど明らかになっていない。そこで我々は稀な疾患多発家系を解析する手法を検討し、大きな影響をもつ転写調節変異を探索した。

【方法】本研究は琉球大学倫理審査委員会の承認と参加者のインフォームドコンセントを得て実施した。双極性障害と反復性うつ病の多発する 1 家系を対象に連鎖解析と全ゲノムシーケンスを行い、連鎖領域の全フェーズを決定した。家系内の 3 世代の患者から iPS 細胞を樹立し、分化誘導した神経系細胞の RNA シーケンスを行い、リードデータと連鎖領域のフェーズ情報を統合してアレル特異的 RNA 発現解析を行った。

【結果】アレル特異的 RNA 発現解析により、本家系では遺伝子 X が患者ハプロタイプのみ発現低下していることを発見した。遺伝子 X はミトコンドリア代謝に関わる遺伝子であった。

【結論】本家系は気分障害が多発し、強い遺伝要因が想定される。本手法は候補遺伝子の同定に有用と思われた。家系内患者が共有するシス転写調節の変異により、ミトコンドリア代謝制御遺伝子 X の発現が低下し、発症に影響した可能性がある。今後さらなる検討を行い、遺伝子 X と病態との関係を明らかにする。(利益相反 あり)

学部 01. エネルギー代謝調節機構における NMB および GRP の機能解析

○山田若奈, 比嘉涼子, 鹿野健史朗, 寺西仁志, 花田礼子 (大分大学医学部神経生理学講座)

Neuromedin B (NMB) および Gastrin Releasing Peptide (GRP) は生体内において様々な生理機能を有する生理活性ペプチドであるが、エネルギー代謝調節機構における機能については不明な点が多い。本講座では、独自に NMB/GRP 両遺伝子欠損 (dKO) マウスを作製し、エネルギー代謝調節機構に関する一連の解析を行ったところ、dKO マウスは抗肥満作用を呈することが明らかとなった。そこで、本研究ではエネルギー代謝調節機構における NMB および GRP の生理機能を明らかにするために、12 週齢の雌性野生型マウスおよび dKO マウスに 4 週間高脂肪食 (HFD) を負荷し、経時的な体重測定、摂餌終了後の組織重量測定、各

組織の HE 染色、肝トリグリセリド量測定、経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT) およびインスリン負荷試験 (ITT) を行い、dKO マウスの表現型解析を行った。これらの結果から、4 週間の HFD 負荷において、dKO マウスは野生型マウスに比べて体重増加量の有意な減少は認められなかったが、dKO マウスの肝臓において脂肪蓄積の減少が認められた。また、dKO マウスは野生型マウスに比べ耐糖能異常が抑制されており、インスリン感受性が亢進していることが明らかとなった。以上より、NMB および GRP はエネルギー代謝調節に関与していることが示唆された。(利益相反 なし)

学部 02. NPGL/NPGM システムの熱産生調節機構に関する生理機能解析

○和田修人, 鹿野健史朗, 比嘉涼子, 寺西仁志, 花田礼子 (大分大学医学部神経生理学講座)

Neurosecretory protein GL (NPGL)/Neurosecretory protein GM (NPGM) は鳥類の視床下部から発見された摂食行動や脂質代謝に関係している神経ペプチドである。現在までに、野生型マウスに比べて NPGL/NPGM 両遺伝子欠損 (NPGL/NPGM dKO) マウスは体重や摂食量、白色脂肪組織 (WAT) や褐色脂肪組織 (BAT) における脂肪の蓄積量が低下することが明らかになっている。また顕著な体重差が認められる長期間の脂肪食負荷条件では NPGL/NPGM dKO マウスの熱産生能が低下することが示唆されているが、NPGL/NPGM システムが熱産生に与える影響は未だ不明である。そこで、本研究では NPGL/NPGM が熱産生制御に寄与するか否かを検討した。その結果、NPGL/NPGM dKO マウスは普通食給餌条件においても、WAT 及び BAT の脂肪蓄積が減少し、ミトコンドリア脱共役タンパク質 1 (UCP1) 発現が増加していた。次に、交感神経活動の指標として各脂肪組織におけるノルアドレナリン含量を測定したところ、NPGL/NPGM dKO マウスにおいて WAT 及び BAT においてノルアドレナリン含量が増加した。本研究により、NPGL/NPGM のノックアウトによって交感神経系が賦活化し、UCP1 による熱産生が亢進することが示唆された。(利益相反 なし)

学部 03. 腸内感覚を担う迷走神経の *in vivo* カルシウムイメージング

○武島光里, 藤本聡志, 稲垣成矩, 今井 猛 (九州大学大学院医学研究院疾患情報研究分野)

腸は消化吸収機能を有するだけでなく、腸内腔の状態を感知し、その情報を脳に送る感覚器官としても働く。その情報伝達機構として、古典的には消化管ホルモンの作用が

良く知られてきた。一方で、最近の研究により、腸上皮の腸内分泌細胞 (EEC) は、舌咽迷走神経下神経節 (NPG)ニューロンとシナプス結合し、腸内腔の刺激情報を直接脳に伝達をしていることが明らかとなった。しかしながら、異なる EEC によって受容された腸内腔の感覚情報を NPG ニューロンがどのようにコーディングしているのかは全く分かっていない。そこで本研究ではさまざまな管腔内刺激に対して NPG ニューロンがどのような応答を示すのか解析した。具体的には、麻酔下のマウスにおいて NPG を露出し、腸管腔内に刺激を行いながら NPG ニューロンの 2 光子カルシウムイメージングを行った。その結果、様々な管腔内刺激に対して再現性良く応答する NPG ニューロンが観測された。各刺激に反応する NPG ニューロンの集団は少しずつ異なるが、一部で重なる部分もあった。このことから、EEC サブタイプと NPG ニューロンサブタイプの間には特異的な結合関係が存在している可能性が示唆された。(利益相反 なし)

学部 04. NPGL/NPGM システムの摂食行動に関する生理機能解析

○美濃春菜, 鹿野健史朗, 比嘉涼子, 寺西仁志, 花田礼

子 (大分大学医学部神経生理学講座)

Neurosecretory protein GL (NPGL)/Neurosecretory protein GM (NPGM) は、近年、鳥類の視床下部で発見された、食欲や脂肪組織の脂質代謝を調節する分泌性小タンパク質である。本講座では最近、NPGL/NPGM 両遺伝子欠損マウス (NPGL/NPGM dKO) を作製し、NPGL/NPGM システムの生理機能の解析を進めている。現在までに NPGL/NPGM dKO マウスでは、特に高脂肪食 (HFD) 給餌条件において、体重減少ならびに摂餌量の減少、エネルギー代謝の亢進が認められている。本研究では、NPGL/NPGM システムの生理機能に関し、中枢における食餌嗜好性への関与に焦点を当てて、解析を行った。食餌嗜好性に関し、飼料選択試験及び二瓶選択嗜好性試験を行った。飼料選択試験において、NPGL/NPGM dKO マウスは野生型マウスに比べて、HFD 摂取量が減少したが、普通食 (ND) 摂取量に差は認められなかった。水道水と 1% スクロース水を用いて二瓶選択嗜好性試験において、NPGL/NPGM dKO マウスでスクロース水の飲水量が有意に減少した。本研究により、エネルギー代謝調節機構に関して NPGL/NPGM システムが食餌嗜好性に関与することが示唆された。(利益相反 なし)