

A1. 脊髄損傷後における皮質脊髄路の大規模再構成

○上野里子¹, 山口玲玖奈², 伊佐かおる¹, 川崎敏生¹, 三橋賢大¹, 伊佐 正^{1,2,3} (1)京都大学神経生物学, (2)同 ヒト生物学高等研究拠点 (WPI-ASHBi), (3)同 脳機能総合研究センター)

高等霊長類に備わる器用な手指の運動は、大脳皮質運動野から脊髄運動ニューロンに情報を伝える皮質脊髄路に由来するとされる。脊髄が損傷されると、損傷前と同じ神経回路を再構築することは困難であり、運動機能は障害される。しかし、損傷の程度によっては、リハビリテーションを行うことで運動機能が回復することが知られている。このことは、脊髄損傷後に皮質脊髄路において神経回路の再編が起こり、再び運動野からの情報が運動ニューロンに伝達されるようになったことを示唆している。

本研究では、皮質脊髄路の可塑的な変化を調べるために、脊髄を亜半切したサルを用いて長期的なリハビリテーションを行い、運動野にウイルストレーサーを注入して皮質脊髄路の投射様式を調べた。その結果、脊髄損傷と反対側の運動野に由来する皮質脊髄路について、錐体交叉で非交叉性に行き、損傷尾側で交叉する神経線維の割合が増加していることが分かった。このサルでは、手指の器用な運動は回復しないものの、手全体を用いた粗な運動は回復しており、非交叉性に下行した皮質脊髄路が運動機能回復に貢献していたことが示唆された。(利益相反 なし)

A2. トランスシナプス標識法により明らかにされたカハール間質核から前庭小脳への間接的な神経接続

○杉村岳俊, 齋藤康彦 (奈良県立医科大学生理学第一)

視線の保持には脳幹の神経積分器が関与し、神経積分器と前庭小脳との神経回路がその機能に重要である。水平系の神経積分器である舌下神経前位核 (PHN) から前庭小脳へは直接投射していることが明らかにされているが、垂直系の神経積分器であるカハール間質核 (INC) からの投射経路は調べられていない。本研究では、INC-前庭小脳経路の解剖学的な知見を明らかにすることを目的とした。Alexa 488 標識デキストランをラットの前庭小脳の片葉または虫部垂・小節に注入した結果、逆行性標識されたニューロンは PHN や内側前庭神経核 (MVN) に存在したが、INC には存在しなかった。従って、INC から前庭小脳への直接投射の可能性は低いことが示唆された。次に、狂犬病ウイルスを用いたトランスシナプス標識法を用いて、INC から前庭小脳への経路は PHN または MVN を経由している可能性について調べた。その結果、虫部垂・小節に投射する PHN および MVN のニューロンから、狂犬病ウイルスが一つシナプスを超えて逆行性感染したニューロンが INC で

観察された。以上の結果より、INC から前庭小脳への神経経路は PHN および MVN を経由した間接的な経路であることが示唆された。(利益相反 なし)

A3. 不確実な報酬を求め続けるための中脳辺縁ドーパミン回路の潜在的役割

○石野誠也¹, 鎌田泰輔¹, Gideon Sarpong¹, 司 玲央¹, 向平妃沙¹, Yulong Li^{2,3,4}, 小林憲太⁵, 本田直樹⁶, 大石直也¹, 小川正晃¹ (1)京都大学大学院医学研究科, (2)State Key Laboratory of Membrane Biology, Peking University School of Life Sciences, (3)Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, (4)PKU-IDG/McGovern Institute for Brain Research, (5)生理学研究所行動・代謝分子解析センター, (6)広島大学大学院統合生命科学研究科)

動物の行動心理学に基づく古典的な学習理論によると、過去の経験に基づいて期待する報酬に比べて、実際に受け取る報酬が少なく、「期待外れ」が生じる場合、「報酬予測誤差」が負の値となり、動機は低下する。しかし、最終的に不確実な報酬を得るためには、期待外れが生じても、その負の報酬予測誤差を「克服」しようとする動機を高め、報酬を求め続けるほうが適応的である。しかし、その動機を担う神経基盤は、解明されていない。従来、側坐核に投射する中脳・腹側被蓋野 (VTA) のドーパミン細胞 (中脳辺縁ドーパミン回路) は、報酬予測誤差を信号すると考えられてきた。本研究は、この仮説とは反対に、この神経回路の一部が、報酬の期待外れを克服する動機を高めることを明らかにする。我々は、以前、異なる感覚刺激と異なる報酬確率を条件づける課題において、期待外れを克服する動機づけを誘導することに成功した。我々は、この行動課題に基づき、ラットが確率的報酬を求める行動課題を新たに開発し、VTA のドーパミン細胞の電気活動と投射先の側坐核のドーパミン量を調べた。そのデータを発表する。(利益相反 なし)

A4. マウスを用いたチック様症状発現に関わる脳神経回路の同定

○辻 奈津美, 橋 吉寿, 内匠 透 (神戸大・医・生理)

チック症は顔や手足にリズムカルな筋収縮を伴う不随意運動で、心理的ストレスに起因するとされていたが、近年では大脳基底核の神経伝達異常によるものではないかと考えられ始めている。そこで、この仮説を実証するために大脳基底核の入力部である線条体の神経活動を人工的に操作し、チック症状が再現できるかについて検討を行った。マウス線条体を過興奮する目的で GABA_A 受容体拮抗薬を局

所注入したところ、線条体の体部位局在に一致したチック様症状が発現した。c-Fos 免疫組織染色を用いて、チック様症状発現時の活性化脳部位を調べたところ、帯状皮質、島皮質、梨状皮質、扁桃体といった、これまで情動領域と考えられている脳部位において活性化がみとめられた。次に、これらの 4 領域が線条体と線維連絡があるかどうかを調べるため、線条体に順行性ウイルスを、c-Fos 高発現領域に逆行性ウイルスを注入した。その結果、c-Fos 高発現領域は線条体から直接投射を受けておらず、内側中心核を介して線条体由来の投射を受けることが明らかとなった。以上の結果より、チック症発現には運動と情動を繋ぐ神経回路が深く関わることが示唆された。今後はこれらの経路の人工神経活動操作を行うことで新規治療法の開発を目指す。(利益相反 なし)

A5. 音刺激により内耳蝸牛の感覚上皮に生じる直流的な動作の成立機序

○太田 岳, 日比野 浩 (大阪大学大学院医学系研究科薬理学講座統合薬理学)

哺乳類の聴覚は、音により内耳蝸牛の感覚上皮に生じるナノレベルの波を端緒とする。上皮の振動により、この組織に含まれる有毛細胞の感覚毛が屈曲し、イオンが流入することで細胞が電気興奮する。以前に、我々は、独自に創出したレーザー干渉法により、この波が交流的な正弦波振動だけでなく、その基準線のシフト、すなわち「位置ずれ」を伴うことを、生きたモルモットの蝸牛で見出した。そして、この直流的な動作が、有毛細胞の膜電位作動性モータータンパク質の機能に依存することを示した。また、数値計算により、位置ずれは巨大音から内耳を保護する役割や聴覚のダイナミックレンジを拡げる意義があることを予測した。本研究では、位置ずれが発生する機序を解明するため、有毛細胞の膜電位の制御に重要である感覚毛の動作に注目した。アクチン・ミオシンが充満する感覚毛は、感覚上皮の振動に呼応して自身の屈曲を増幅する。ミオシンのリン酸化を修飾して感覚毛の動作を変化させる薬物を蝸牛に投与したところ、報告通り、感覚上皮の振動は減弱した。一方、位置ずれは消失した。以上より、位置ずれには、感覚毛の能動的なプロファイルが深く関わることが示唆された。(利益相反 なし)

A6. ナトリウムの好ましい味を担う細胞内情報伝達メカニズムの解明

○野村憲吾¹, 樽野陽幸^{1,2,3} (¹京都府立医科大学細胞生理学, ²JST さきがけ, ³JST CREST)

食塩 (NaCl) の過剰摂取は高血圧の最大のリスク因子だ

が、減塩目標の達成は困難である。その原因は、食塩が魅力的な“おいしい味”を持つことにある。これまでに、食塩のおいしい味を担うセンサーとして上皮型 Na⁺チャネル (ENaC) が同定されたが、肝心の Na⁺感知細胞 (Na細胞) は不明であり、細胞内情報伝達、および神経伝達の仕組みも謎であった。今回我々は、ENaC と CALHM1/3 チャネルを共発現する細胞が Na 細胞であることを突き止め、その情報伝達の仕組みを解明した。まず、味蕾の ENaC 発現細胞の中に、ENaC を介した Na⁺流入に応じて活動電位を生じる細胞集団があり、この細胞が CALHM1/3 を発現することを見出した。さらに、CALHM1 発現細胞で ENaC を欠損するマウス、および CALHM3 欠損マウスにおいて、NaCl に対する味神経応答と誘因行動が損なわれていること明らかにした。このことから、Na 細胞に ENaC を介した Na⁺流入が起こると活動電位が生じ、電位依存性の神経伝達物質 (ATP) 放出チャネルである CALHM1/3 を活性化することで、塩味情報が神経に伝達されると考えられた。本研究により、長年の謎であった、食塩のおいしさを担う仕組みが細胞・分子のレベルで解明された。(利益相反 なし)

A7. 味覚伝導路細胞同定による情報処理様式の解明

○相馬祥吾¹, 野村憲吾¹, 末松尚史², 村上達郎¹, 樽野陽幸^{1,3} (¹京都府立医科大学細胞生理学, ²Department of Bioengineering, University of Pittsburgh, ³JST CREST)

ヒトを含む動物は、味覚により食行動を調節する。その背景には、味蕾での受容、脳での認識、価値判断(嗜好)というプロセスが存在するが、味覚体験のこうした基本的な神経基盤はそのほとんどが未解明である。その原因に、触覚などの他感覚の混入が味覚情報処理に関与する神経細胞の高精度な解析を阻んできたことが挙げられる。さらにこれまで、小規模な活動計測が単一神経レベルで行われてきたため、情報処理のレイヤー構造が議論できなかった。そこで、本研究ではノイズフリーかつ多階層にわたる大規模な「オプトタグ多細胞同時記録法」を独自に開発して脳内の味覚、および嗜好の情報処理を明らかにすることを試みる。麻酔不動化したマウスに 5 基本味を呈示しながら孤束核 (NST), 結合腕傍核 (PbN), 視床 (VPMpc)・扁桃体 (CeA) から記録した結果、末梢からの 5 基本味の情報は脳への入口である NST では独立に処理され、PbN で統合が進むことが明らかとなった。さらに PbN からの情報は VPMpc と CeA へと送られるが、VPMpc では統合された味情報処理だけではなく、独立処理される 5 基本味の情報も処理していた。一方、CeA では嗜好性を表現する情報処理が見出された。PbN をハブとして「識別」に関する味覚

情報はVPMpcを経由して大脳皮質へと、「嗜好性」を形成する味覚情報はCeAへと伝達されている可能性が示唆された。(利益相反 なし)

A8. イソフルラン麻酔下で強調される上丘の機能マップ

○笠井昌俊¹, 伊佐 正^{1,2} (¹京都大学大学院医学研究科・神経生物学, ²同 高等研究院・ヒト生物学高等研究拠点)

高等な哺乳類の第一次視覚野(V1)では方位選択性カラムと呼ばれる機能的な細胞構築が存在する。一方2光子顕微鏡による細胞集団の応答の可視化によって、マウスのV1には方位選択性カラムが存在しないことが明らかになった(Ohki et al., 2005)。最近になって、マウスのV1には見られない方位選択性マップが、上丘に存在することが報告された(Feinberg & Meister, 2014)が、その性質や存在そのものについてまだ議論が続いている(Inayat et al., 2015)。

今回我々は、覚醒下と軽イソフルラン麻酔下で、同一の細胞集団が示す、方位・方向選択性マップを比較した。Moving bar 刺激による反応から、個々の細胞の選択性を調べたところ、麻酔下では、細胞集団レベルでは広い範囲で応答特性のそろった細胞が観察される一方、覚醒化では局所的な応答特性の類似性が小さく、機能マップが崩れることが明らかになった。さらに麻酔下では、抑制性細胞の方向選択性細胞が少なくなることや、方向選択性細胞のnull directionで見られる抑制性応答が減少することが明らかになった。これらの結果は、一般に定常的であると考えられる機能マップが脳の状態によって変動することや、上丘の方向・方位選択性応答の生成に、抑制性の局所回路が関与する可能性を示唆している。(利益相反 なし)

A9. 新規量子解析法を用いた短期抑圧メカニズムの解明

○田中 護, 坂場武史, 三木崇史(同志社大学脳科学研究科シナプス分子機能部門)

シナプス伝達効率の変化は、シナプス可塑性と呼ばれ、学習・記憶の細胞メカニズムであると考えられている。シナプス伝達効率は、Katzらの量子仮説に基づいて、古典的に小胞放出部位数(N)、小胞放出確率(P)、小胞一つに対する反応の大きさ(Q)の三つのパラメータによって表されてきた。最近の研究からPは、小胞が放出部位に存在する確率(δ)とその小胞の放出確率(p)に分けられることが示唆されている。しかし、この二つのパラメータを分離して求める手法は限られており、 δ のシナプス可塑性への影

響については殆ど分かっていなかった。本研究では、海馬苔状線維-CA3透明層抑制性介在細胞間シナプスにおいて、新規量子解析法を適用することで δ を含む全パラメータの値の推定を行い、短期可塑性である短期抑圧への影響を調べた。細胞外カルシウム濃度が3mMの時に見られる短期抑圧は、頻回刺激中の δ の減少が主な要因であり、NとQは殆ど影響を及ぼさなかった。細胞外カルシウム濃度を減少させると刺激前の δ も減少し、これが初発の応答の大きさを変化させることで短期抑圧に影響を及ぼしていることが分かった。以上の結果から海馬苔状線維-CA3透明層抑制性介在細胞間シナプスでは δ が短期可塑性を決める重要な要素であることが示唆された。(利益相反 なし)

A10. Microglia-triggered hypoexcitability plasticity of pyramidal neurons in the rat medial prefrontal cortex

○大槻 元, 山脇優輝, 和田弥生(京都大学大学院医学研究科創薬医学講座)

Lipopolysaccharide (LPS), an outer component of Gram-negative bacteria, induces a strong response of innate immunity via microglia, which triggers a modulation of the intrinsic excitability of neurons. However, it is unclear whether the modulation of neurophysiological properties is similar among neurons. Here, we found the hypoexcitability of layer 5 (L5) pyramidal neurons after exposure to LPS in the medial prefrontal cortex (mPFC) of juvenile rats. We recorded the firing frequency of L5 pyramidal neurons long-lastingly under *in vitro* whole-cell patch-clamp, and we found the firing frequency of L5 pyramidal neurons decreased under the application of LPS. Decrease in the excitability against LPS-exposure was also found in L2/3 pyramidal neurons but not in fast-spiking interneurons. The decrease in the intrinsic excitability by immune-activation was underlain by an increased activity of small-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels (SK-channels) in the pyramidal neurons and tumor necrosis factor (TNF)- α released from microglia. Furthermore, we revealed the reduction in the intrinsic excitability of L5 pyramidal neurons was dependent on the intraneuronal Ca^{2+} and PP2B. Decrease in the frequency of spontaneous inhibitory synaptic transmission reflects network hypoactivity. These results suggest the hypoexcitability in pyramidal neurons results from upregulation of SK channels via Ca^{2+} -dependent phosphatase during acute inflammation in the mPFC. Such a mechanism is contrast to that of cerebellar Purkinje cells, in which immune activation induces the hy-

perexcitability via downregulation of SK channels. Therefore, our results suggest that the directionality of the intrinsic plasticity by microglia are not consistent, depending on the brain region and the cell type. (COI: none)

A11. 脊髄性体動活動における GABA と Glycine の役割について

○高坂侑希, 榎谷直子, 内田—西山千晶, 大岡裕隆, 荒田晶子 (兵庫医科大学生理学・生体機能部門)

小児期の自閉症患者がてんかん発作を発症することは知られており, 体動の減少が自閉症リスクを高くさせることも臨床報告されている。また, バルプロ酸投与はてんかんだけでなく, 自閉症にも関与があることが示唆されている。今回, 我々は脊髄性の体動性活動を指標として, GABA_A の抑制機構と自発性活動を引き起こす 5-HT との関連性を調べた。0~2 日齢のラット摘出延髄—全脊髄標本の C4 と L4 前根から記録し, それぞれ呼吸性活動, 体動性活動として記録した。まず, 体動性活動における GABA またはグリシンの効果を遮断薬により検討した。グリシン遮断薬であるストリキニン及び GABA_A 遮断薬であるビククリンによる体動性活動には大きな違いは見られなかったが, ビククリン存在下で 5-HT を投与すると L4 では小さな周期性リズムが発現し, そのリズム活動は発達とともに減少した。一方で, ストリキニン存在下で 5-HT を投与すると体動性活動が規則的になり P0 では呼吸と体動が連動して出現していたものが, P2 では呼吸との連動は減少した。全脊髄標本の場合, P0 では脊髄神経回路の興奮性が強く, 発達とともに興奮性は減少した。ビククリン下の 5-HT によって生じる脊髄性リズムは若年性てんかんの発生に関与があるかもしれない。GABA は種々の脊髄性胎動活動を鎮静化し, 脊髄性回路を安定化していると考えられる。(利益相反 なし)

A12. TRPA1 による橋の呼吸抑制作用

○榎谷直子, 高坂侑希, 荒田晶子 (兵庫医科大学生理学・生体機能部門)

一過性受容体電位 (TRP) チャネルは, 幅広い多様性と選択性のため, 化学的感知, 侵害受容, サイトカイン放出の媒介など, さまざまな生理学的プロセスに関与している。TRPA1 は, 主に末梢神経の有髄 A δ 線維および無髄 C 線維に発現し, 脊髄神経, 迷走神経, 三叉神経の軸索に見られ, 感覚機能および神経ペプチドの放出を介した炎症の調節において重要な役割を担っている。今回, 痛み—呼吸反応に関与する橋の腕傍核において TRPA1 の役割を調べた。まず摘出橋—延髄—脊髄標本と摘出延髄—脊髄標本を

用いて橋と延髄に関わる呼吸性反応を比較検討した。その結果, TRPA1 作動薬であるシンナムアルデヒドを橋付きの標本に投与すると呼吸数は減少したが, 延髄—脊髄標本では呼吸数はあまり変化しなかった。TRPA1 は, 橋に対しては抑制作用を示すことから TRPA1 の作用として, 橋による呼吸抑制メカニズムが存在すると思われる。また, 橋—延髄—脊髄の上肢レベルである C8 頸髄後根を刺激し光学的測定をしたところ, 橋の腕傍核付近に感覚刺激に応答する光学反応が見られた。次に, 腕傍核における TRPA1 の呼吸抑制に抑制伝達物質の GABA の関与を調べた。呼吸抑制作用が GABA_A 遮断薬ビククリンでブロックされたことから, TRPA1 が腕傍核の GABA 抑制機構関与し, 痛み刺激に対する橋における下降性抑制作用があるのではないかと考えられた。(利益相反 なし)

A13. 意識下ラットでの頸部迷走神経活動計測の試み

○宮浦和奏, 三木健寿, 池亀静香, 吉本光佐 (奈良女子大学統御生理学)

頸部迷走神経は頸下の臓器を神経支配し, 求心性および遠心性神経活動により臓器間ネットワークの中心的役割を果たす。しかし, 意識下での迷走神経活動の計測の試みは少く, その実体は不明な点が多い。本研究は, 意識下自由行動下ラットの, 右頸部迷走神経活動の計測方法の開発を試みた。Wistar 系雄ラットを麻酔し, 右頸部迷走神経を 2 mm 程度剥離し, ステンレス製 2 極電極を接触させ, 2 液性のシリコンゲルを用いて電極と頸部迷走神経を固定した。電極より 5mm 以上末梢側に局所麻酔薬 (ポプスカイン) 投与のためのカテーテルを留置した。計測は, 意識下自由行動下で行った。頸部迷走神経活動は, ピーク間電位で約 20-40 マイクロボルトの連続した活動を示した。ポプスカインを電極より末梢側の迷走神経に投与すると, 神経活動は一部抑制され, 求心性神経活動の計測が確認された。この方法により, 求心性と遠心性の両方を含んだ神経活動と遠心性の神経活動のみの計測が可能になった。ノンレム睡眠からレム睡眠移行時において遠心性迷走神経活動の低下が観察された。(利益相反 なし)

A14. バゾプレッシン神経の選択的刺激による腎交感神経活動の変化

○高井香里¹, 武井珠里¹, 宮浦和奏¹, 森本夏実¹, 池亀静香¹, 丸山 崇², 上田陽一², 三木健寿¹, 吉本光佐¹
(¹奈良女子大学統御生理学, ²産業医科大学医学部第一生理学)

視床下部室傍核は, バゾプレッシン (AVP) 分泌および腎交感神経活動を調節し中枢性体液調節の要である。AVP

神経の近傍には下降線維領域が位置し腎交感神経活動調節に関与するが、それらの関係は不明な点が多い。意識下のAVP-hM3Dq-mCherry トランスジェニックラットを用いて、AVP 神経を選択的に刺激して、腎交感神経活動の応答を定量化した。「方法」実験の少なくとも1日以上前に、麻酔下にて脳波、筋電図、心電図、腎交感神経活動、腰部交感神経活動計測のための電極、動脈圧測定および腹腔内へのCNO (clozapine-N-oxide, 1mg/kg) 投与のためのカテーテル、腹腔内温計測のための熱電対を慢性留置した。「結果・考察」CNO 投与により、腎交感神経活動は持続的に低下したが、腰部交感神経活動に変化はなかった。動脈圧は徐々に上昇し、心拍数は低下した。腎交感神経活動の低下は動脈圧と心拍数の変化より先に生じた。以上より、AVP 神経の刺激は腎交感神経活動を選択的に低下させ腎臓でのナトリウム排泄を促進する可能性を示唆された。(利益相反なし)

A15. 月経随伴症状の個人差の神経基盤

○堂西倫弘¹、寺田正樹²、金桶吉起¹ (¹和歌山県立医科大学・医・生理学I、²医療法人昭陽会和歌山南放射線科クリニック)

月経随伴症状は遺伝的素因や体質が大きく影響すると思われるが、その実態は不明である。今回、我々は脳のMRI画像を用いて、月経随伴症状(特に情動に関する症状)の強さの個人差と関連する脳部位を探索した。健常女性57名(20.1±1.2歳)にて、月経初日1-7日(M1)と21-24日(M2)にMRIのT1強調画像(T1w)とT2強調画像(T2w)を撮像し、それらの信号比画像(T1w/T2w)を作成し、388領域に分けた脳の灰白質の信号値と月経随伴症状の強さとの相関をGeneralized linear modelを用いて検討した。各領域のT1w/T2w信号値はM1とM2で有意な差はなかったため、それら各部位の平均値と月経随伴症状の強さを調べたところ、両側の上側頭回の信号値と有意な負の相関、また右の前頭葉背外側の信号値と正の相関が見られた。T1w/T2w信号値は、当初ミエリン量を反映すると言われていたが、最近の研究では灰白質ではシナプス密度に関係していることが推定されている。この値がM1とM2で変わらなかったことは、性ホルモン量の大きな変化にも関わらず個人ごとに定常な値を持っており、それが月経随伴症状の強さに関与していることを示す。すなわち同じ性ホルモン量の変化でもそれに対する感受性の違いに関係している可能性がある。(利益相反なし)

A16. 性格特性と安静時脳機能ネットワークの関連における性差

○平田大晟¹、堂西倫弘¹、寺田正樹²、金桶吉起¹ (¹和歌山県立医科大学・医・生理学I、²医療法人昭陽会和歌山南放射線科クリニック)

性格と脳機能ネットワークとの関係に性差があるのか、特にどの脳部位にあるのかを詳細に検討した。18-22歳の健常被験者(男性103名、女性221名)に対して性格因子を測定し、5つの因子と脳部位のネットワーク特性との相関を検討した。ネットワーク特性は、安静時fMRI(15分)画像データを取得し、388の領域の平均BOLD信号によって、それぞれの領域のネットワーク特性(次数中心性)を算出した。性格因子の1つである神経症傾向は、男性では左頭頂間溝で有意な負の相関($r = -0.4238$, corrected $p < 0.01$)があった。しかし、女性ではどの因子も有意な相関がある部位は見出されなかった。本結果は、男性では確かに性格因子の一つである神経症傾向は、脳のネットワークにその神経基盤をもち、特に左頭頂間溝に強く表現されていることを示す。被験者数が2倍以上あり、さらに女性は男性より神経症傾向が高いにも関わらず女性で同様の結果を見出せなかったことは、単に統計学的な理由によるは考えにくい。女性の神経症傾向という一つの性格因子は、その行動パターンがたとえ男性のそれと同様であっても、その神経基盤には本質的な違い(関連する脳部位、情報処理過程など)があることを示唆する。(利益相反なし)

A17. 脳機能発現メカニズムの解明を目指したマルチスケールイメージングシステム

○小山内 実^{1,2}、川淵公美子¹、末岡知己¹、増崎紘平¹、松下知佳¹、上村優輝¹、田村篤史¹ (¹大阪大学医学系研究科保健学専攻生体機能イメージング、²情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター)

脳は細胞、局所回路、領域間回路、脳全体のように階層構造を成し、さらにその階層内、階層間で相互作用がある。近年、ある階層での計測結果からある機能発現機序を説明することは誤謬を生む可能性があると言われている(Bernard, eNeuro editorial, 2020)。この誤謬を回避するためには、様々な階層のデータを統合し解析することが肝要である。そこで、我々はマイクロからマクロまでの多階層イメージングを行うためのマルチスケールイメージングシステムの構築を行っている。具体的には、全脳神経活動履歴計測法としての活動依存性マンガン造影MRI、極微細蛍光内視鏡イメージング、脳スライス標本におけるカルシウムイメージングをそれぞれ開発・改良し、大脳基底核を中心として、脳機能発現機序の解明を目指した研究を実施している。現在は同一個体での計測には到達できていないが、将来的には同一個体マルチスケールイメージングを行って

られたデータを統合的に解析することにより、脳機能発現機序の解明に迫りたい。(利益相反 なし)

A18. 線条体間接路ニューロンの応答特性への D2 受容体活性化の影響

○末岡知己¹, 田村篤史¹, 稲垣 良¹, 小林和人², 小山内 実¹ (¹大阪大学医学系研究科保健学専攻生体機能イメージング, ²福島県立医大生体機能研究部門)

大脳基底核は運動制御に重要な役割を果たしていると言われている。その中の線条体にはドーパミンの調節を受ける二種類の投射ニューロンが存在し、D1 ドーパミン受容体を有する直接路ニューロンは運動の開始に、D2 ドーパミン受容体を有する間接路ニューロンは運動の制止に関わると考えられている。運動開始時に脳波の周波数分布が変化するが、その周波数分布の変化により線条体の二種類のニューロンの応答特性がどのように変化するかは分かっておらず、投射ニューロンの応答の変化に対するドーパミンの影響も不明である。本研究では線条体の投射ニューロンの内、間接路ニューロンの入出力特性と入出力特性のドーパミン依存性について調査した。実験には D2 ドーパミン受容体を持つニューロンに YFP を発現させたトランスジェニックマウスから作製した急性脳スライス標本を使用し、D2 受容体アゴニストをスライスに投与した前と後で、大脳皮質から線条体への入力線維に対して刺激周波数の異なる複数の電気刺激を与えた際の間接路ニューロンの応答特性の変化をカルシウムイメージング法により調べた。(利益相反 なし)

A19. 脳機能イメージングのための極微細蛍光内視鏡イメージングシステムの改良

○増崎紘平¹, 川淵公美子¹, 廣瀬くるみ¹, 田村篤史¹, 小山内 実^{1,2} (¹大阪大学大学院医学系研究科生体機能イメージング, ²情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター)

近年、in vivo 多細胞イメージングを行うために、二光子励起顕微鏡が用いられているが、この方法は、脳深部のイメージングは困難であることに加えて、頭部固定下でしかイメージングをすることができない。そこで我々のグループでは、自由行動下の動物に対して、脳の任意の領域の多細胞イメージングを行うための極微細蛍光内視鏡イメージングシステム (Ultra-thin Fluorescence Endoscope Imaging System, U-FEIS) を開発している。この U-FEIS を用いたイメージングは成功しつつあるが、我々の研究対象であるマウス大脳基底核線条体のイメージングは未だ成功していない。そこで、我々は内視鏡の頭部固定法を開発する

と共に、光学系の効率改善のために、励起光源、レンズ系の比較検討を行った。本会では、U-FEIS の特徴を紹介すると共に、その光学性能及び改良点、細胞イメージングの結果について報告する。(利益相反 なし)

A20. 極微細蛍光内視鏡イメージングシステムによるマウス両側海馬 CA1 Ca²⁺イメージング

○川淵公美子¹, 大川宜昭², 瀬戸川 将², 斎藤喜人², 増崎紘平¹, 小山内 実¹ (¹大阪大学医学系研究科保健学専攻生体機能イメージング, ²獨協医科大学先端医科学研究センター認知・記憶研究部門)

近年、二光子励起顕微鏡を用いた *In vivo* Ca²⁺ イメージングが行われているが、装置が高価なことや、脳深部、自由行動下、複数領域のイメージングが困難であることが問題とされている。これらの問題点を解決する為に、当研究室では、極微細蛍光内視鏡イメージングシステム U-FEIS (Ultra-thin Fluorescence Endoscope Imaging System) を開発している。この U-FEIS は、前述の二光子励起顕微鏡の問題点を克服することが可能である。この U-FEIS を用いて、Thy1-G-CaMP7 マウスの両側海馬歯状回や CA1 の神経細胞活動の観察法を確立し、複数感覚モダリティ入力時の海馬の多細胞イメージングに成功した。本発表では、この Ca²⁺ イメージングのための、動物の手術、イメージングで得た画像データの処理、そして、得られたデータからの細胞の同定とセルソーティングの結果について紹介する。(利益相反 なし)

A21. 定量的活動依存性マンガン造影 MRI による運動時神経活動のイメージング

○松下知佳¹, 上村優輝¹, 圓見純一郎^{2,3}, 田村篤史¹, 吉岡芳親^{2,3}, 小山内 実^{1,3} (¹大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻生体機能イメージング, ²同 大学院生命機能研究科, ³情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター)

運動野や大脳基底核は運動の制御に関わる脳領域として知られているが、実際の運動時にこれらの領域を含めた脳全体がどのように活動しているのかは明らかではない。そこで我々は、定量的活動依存性マンガン造影 MRI (qAIM-MRI) による協調運動関連脳領域の可視化を試みた。この qAIM-MRI 法は、マンガン投与後 1-3 時間後の神経活動を 24-48 時間後に MRI 撮像することで、全脳の神経活動履歴を評価できる非侵襲イメージング法である。ローターロッドのトレーニングを終えているマウスの腹腔に塩化マンガンを投与し、2 時間後にローターロッドテストを課し、その際の神経活動とローターロッドテストの成績との間に相関

のある脳領域の同定を試みた。

運動野と橋の神経活動とロータールットテストの成績とが有意に正の相関を示していた。また、赤核では負の相関が観察された。この結果から、既に学習済みのマウスでは、大脳基底核の神経活動は運動成績に関与している可能性が低いことが示唆された。(利益相反 なし)

B1. 心筋細胞活動電位数理モデルを実験まく電位記録に合わせる自動パラメータ最適化

○野間昭典¹、姫野友紀子²、梶谷泰彦³、豊田 太⁴、幸田茂也²、天野 晃² (¹立命館大学総合科学技術研究機構、²同 生命科学部生命情報学科、³京都大学医学部附属病院循環器内科、⁴滋賀医科大学生理学)

ヒト心室筋細胞モデル (HuVEC) の膜電流パラメータを変化すると、活動電位波形が変化する。これによって、それぞれの電流の役割を示すことができる。しかし、研究レベルを超えて、薬物反応の解析や臨床現場での治療予測への数理モデルの実用化は依然として限られている。原因はいろいろ考えられるが、基本的に細胞モデル自体の定量的な検証 (validation) が不足していることによる。これを解消するには、モデルパラメータを客観的なパラメータ最適化手法によって調整し、記録された様々な活動電位波形をできるだけ広範囲に正確に再現できる事を実証する必要がある。しかし、活動電位は 10 種類以上のイオン電流が相互に依存していて、その複雑性によって、これまで最適化手法の成功例は殆ど報告されていない。我々はクローン細胞である iPSC 由来心筋細胞の極めて多様な活動電位波形を HuVEC のパラメータ最適化によってある程度再現できる新たな方法を開発したので報告する。最適化には、最も原理的なパターンサーチアルゴリズムを応用した。(利益相反なし)

B2. E-4031 による hERG チャネル阻害効果の数理モデル化

○中西優奈、佐下橋杏実、佐藤里奈、小林千夏、姫野友紀子、天野 晃 (立命館大学生命科学部)

電位依存性 K⁺チャネルである hERG チャネルの阻害薬は、催不整脈性の指標である心電図 QT 延長をもたらす、新薬開発の障壁となっている。また、創薬の現場では *in silico* モデルを用いた安全性評価に期待が寄せられている。本研究では、心筋細胞で hERG チャネルが担う電流成分、I_{Kr} モデルに対する薬物阻害効果を数理モデルで表現することを試みる。先行研究として、O' Hara & Rudy のヒト心室筋細胞モデルに組み込まれている I_{Kr} モデルに薬物捕捉性を再現するモデルが組み込まれたダイナミック ORd モ

デルが報告されている (Li et al., 2017)。我々はヒト心室筋細胞モデル (HuVEC モデル、Himeno et al., 2015) に組み込まれている I_{Kr} モデルをベースに、既報の実験データ (Kamiya et al., 2006) を参照して E-4031 による刺激頻度依存性を再現するモデルを構築した。参照した実験データでは 2 つの大きさの異なる時定数関わっていることが示唆されており、本モデルでは、薬物捕捉性に加えて Li らのモデルでは再現できなかった時間依存性の薬物効果を再現することができたので、報告する。(利益相反 なし)

B3. 心室筋細胞数理モデルにおける刺激周期、刺激強度、Na⁺チャネル阻害率、活動電位持続時間に対する細胞内 Na⁺濃度決定メカニズム

○原 亮介、小山滉貴、姫野友紀子、天野 晃 (立命館大学生命科学部)

心室筋細胞の収縮力は Ca²⁺濃度に依存して発生する。例えば、心拍数の増加、Na⁺チャネル阻害は Ca²⁺濃度を上昇させ、収縮力を増強する。細胞モデルを用いた予備的なシミュレーション実験で、刺激電流量の増加は Ca²⁺濃度の低下と収縮力の低下をもたらすことがわかった。このような濃度変化の背景にあるメカニズムの理解は、病態生理学的に重要であるが、定量的な説明はあまりなされていない。そこで、本研究では、心室筋細胞モデル O' Hara-Rudy モデルを用いて、刺激電流量、刺激間隔 (CL)、活動電位持続時間 (APD)、I_{Na}阻害率に対する Na⁺濃度平衡点決定の説明モデルを構築した。I_{Na}阻害率を増加させると、I_{Na}開口電位の低下と、より大きい閉口電位の低下をもたらす。Na⁺流入量が減少する。I_{NaK}による Na⁺流出量は Na⁺濃度と CL にはほぼ比例する。同様の解析で、内向き Na⁺電流と外向き Na⁺電流が一致する細胞内 Na⁺濃度を計算することで、CL、APD、I_{Na}阻害率、刺激電流量に対する Na⁺平衡濃度を説明する定量的モデルを実現することができた。(利益相反 なし)

B4. 運動誘発性徐脈モデルマウスの洞房結節における遺伝子発現プロファイリング

○柳澤和輝¹、土井晃大¹、植山萌恵¹、馬場 藍¹、中尾周^{1,2}、川村晃久¹ (¹立命館大幹細胞・再生医学、²同 応用分子生理学)

長期間にわたる持久運動は安静時心拍数の低下をまねき、機械式ペースメーカー治療のリスクを増加させる。本研究では、この運動誘発性徐脈の原因となる細胞内シグナル伝達系を明らかにするために、強制水泳運動モデルマウスを用いて、第一の心臓ペースメーカー組織である洞房結節の網羅的遺伝子発現解析を実施した。その結果、運動群では安静群と比較して 141 遺伝子が発現増加していたのに対し

て553遺伝子が発現減少していた。次に、洞房結節の活動電位生成に関与するイオンチャネル遺伝子群の発現量変化をイオン電流に換算して、数理モデルe-Heartのプログラム「洞房結節に於ける興奮伝播」に入力したところ活動電位周期が延長したことから、心拍数の減少はイオンチャネル機能低下に伴ったものであることが示唆された。さらにGO解析およびGSEA解析では、興味深いことに、発現低下した遺伝子がエネルギー代謝ならびに免疫・炎症に関連する遺伝子群に豊富に含まれることが判明した。すなわち、運動誘発性徐脈の背景には洞房結節におけるイオンチャネルだけでなく代謝様式の機能変化が潜在している可能性が見出された。(利益相反 なし)

B5. ゼブラフィッシュ異種移植モデルを用いた膵臓がん神経浸潤の検討

○北田和也¹、藤井研介¹、谷口高平¹、小野富三人²、内山和久¹ (¹大阪医科薬科大学一般・消化器外科、²同生理学教室)

膵管腺癌(PDAC)は最も予後が悪い癌の一つであり、医療技術が発達した現在でも5年生存率が10%を下回っている。PDACの特徴として神経浸潤の頻度が高く、予後不良因子として認識されているが、PDACの神経浸潤のメカニズムは完全には解明されていない。われわれはゼブラフィッシュ異種移植モデルを用いて、PDACの神経浸潤を再現し、病態生理の検討を行なった。臨床を反映する異種移植モデルの実験動物としてはマウスが広く使用されているが、ゼブラフィッシュ異種移植モデルは①安価、②大量生産が可能、③胚が透明であるため単一細胞レベルでのイメージングが可能、という利点をもつ。通常は受精後2日の稚魚の卵黄嚢にがん細胞を移植し作成するが、より直接的にがん細胞の神経浸潤を観察するため、受精後2日の稚魚の神経管内にがん細胞を移植し神経浸潤モデルとした。PDACを卵黄嚢に移植した場合と比較して、移植後5日目までの定着率は神経管内に移植した方が高く、がん細胞の観察も容易であった。近年ではPDACの神経浸潤と軸索誘導因子の関連を示した報告も散見されるが、ゼブラフィッシュの神経浸潤モデルはそれらの分子の機能を解析する理想的なツールとなる可能性がある。(利益相反 なし)

B6. Nav1.4 ノックアウトゼブラフィッシュの解析

○坂田宗平、寺井千史、小野富三人(大阪医科薬科大学医学部生理学教室)

運動神経の興奮は神経筋接合部(NMJ)において筋に伝えられる。哺乳類ではNMJは筋繊維の中央部に局在し、筋全体に電氣的興奮を伝えるために活動電位が必須である。

しかし魚類であるゼブラフィッシュではNMJが筋繊維全体に散在するため、必ずしも活動電位が必要でない可能性も考えられる。そこで我々は筋で発現している電位依存性ナトリウムチャネル(Nav1.4)をノックアウトして、ゼブラフィッシュにおける活動電位の生理的意義を調べた。まず筋細胞からナトリウム電流を記録し、Nav1.4をノックアウトしたゼブラフィッシュ(NavKO)の筋は電位依存的なナトリウム電流を持たないことを確認した。その後、幼魚の逃避行動を計測したところ、NavKOの運動能力は野生型とほぼ変わらなかった。またカルシウムイメージングにより、NavKOの筋は刺激に応じてカルシウムイオン濃度が上昇した。さらにテトロドトキシン(TTX)存在下でも野生型の筋繊維はアセチルコリンに応答することを確認した。これらのことはゼブラフィッシュの体幹筋は活動電位が存在しなくても機能し得ることを示している。(利益相反 なし)

B7. UVレーザー共焦点顕微鏡での細胞内ケージドcAMP乖離後の物質の拡散動態解析

○倉橋 隆、竹内裕子(阪大院・生命機能・生理学研究室)

レーザー走査型共焦点顕微鏡は、細胞形態や物質動態を調べる際に強力な武器となるが、同時に細胞内で局所的にケージド化合物を乖離させて、その効果を見ることも可能である。我々は先に、嗅線毛に於ける細胞内二次伝達物質であるcAMPやCa²⁺が自由拡散よりも制限を受けて数ミクロンで限局的に働くことを電気生理学的に明らかとしているが、拡散制限を行うような内部構造が見当たらない嗅線毛で、物質の拡散制限があるとはにわかに信じがたく、電気生理のデータを解釈しにくい一般の人々に納得していただくためには可視化データが必要である。電気生理、ケージド乖離、Ca²⁺測光を同時に用いて線毛内局所cAMP上昇に伴うCa²⁺変化の可視化に成功したが、得られる画像は瞬時的なものではなく、レーザー走査による時空間的なグラジエントを含むものである。物質拡散現象は時空間プロセスを追わねばならないので、測定系が時空間グラジエントを含むと解析過程は単純なものではない。今回は、画像データの時空間グラジエントを考慮した解析によって、電気生理学で得た先の知見がCa²⁺可視化実験においても確証されたので、その実験解析プロセスをご紹介したい。(利益相反 なし)

B8. 嗅線毛における相反2種のCa²⁺シグナリングの機能分離

○竹内裕子、倉橋 隆(阪大院・生命機能・生理学研究

室)

匂いは嗅線毛で cAMP を介して CNG チャネルを開口させる。CNG チャネル開口に伴う線毛内 Ca^{2+} 上昇は、 $Cl_{(Ca)}$ チャネルによるシグナル増幅と CNG チャネルへのフィードバックによる順応という 2 つの主要な機能を持つ。線毛内での Ca^{2+} は拡散制限を受け、微小空間において電流の増幅と減衰の相反する効果を持ち、一見すると両者はキャンセルしあうと捉えられがちである。 Ca^{2+} の働きを定量的に知るため、線毛内 Ca^{2+} ダイナミクスを直接測定する必要があるが、ナノレベルの線毛の微細構造により、生きた試料での生理学実験は困難とされてきた。本研究では、電気生理、局所 UV レーザーによるケージド cAMP 乖離、 Ca^{2+} 測光を組み合わせて、局所線毛内の遊離 Ca^{2+} 動態を解析することに成功した。意外なことに UV 刺激直後に Ca^{2+} 活性化 Cl 成分を含む電流が定常値へ戻ると同様に、数秒で Ca^{2+} 濃度もベースへ戻った。それにも拘らず順応は 10 秒ほど持続した。つまり、限局した空間でも両者は巧妙に機能分離され、 Cl チャネルは CNG チャネル開口直後にのみ存在する遊離 Ca^{2+} によって制御され、一方、順応は Ca^{2+} と Ca^{2+} 結合タンパク質との排他的な相互作用によって調節されると考えられる。(利益相反 なし)

B9. 階層を超えた包括的フェノタイプ解析による概日リズム障害成立プロセスの解明

○小池宣也¹、梅村康浩¹、井之川 仁^{1,2}、笹脇ゆふ¹、土谷佳樹¹、八木田和弘¹ (¹京都府立医科大学統合生理学、²中国学園大学人間栄養学科)

概日リズムの乱れは様々な疾患の発症リスク増加と関連する。我々はこれまでに、行動リズムが明暗周期に同調しきれない概日リズム攪乱状態にマウスを長期間暴露すると寿命が短縮することを見出した。また、その病態として、肝臓、腎臓の免疫系と免疫疾患に関連する遺伝子の活性化、炎症性細胞の浸潤を伴う脂肪性肝炎、及び、免疫老化の促進を発見した。これらの結果は、明暗周期のみを変化させた環境攪乱によって、個体機能の恒常性破綻が生じることを明確に示したものである。しかしながら、概日リズム障害の発症を予防する為には発症前の状態から病態成立に至る過程までの全体像を明らかにする必要がある。今回、我々は、個々のマウスから、分子、細胞、組織及び個体レベルでの観察可能な表現型を包括的に取得することで、未病状態を定量化し個体機能の状態を定義することを試みた。マウス個体の生理学的解析、RNA-seq によるトランスクリプトーム解析、病理組織学的解析などによる貫階層的解析によって、長期間の概日リズム攪乱により引き起こされる病態成立プロセス追跡の成功例について報告する。(利益相反

なし)

B10. 概日時計コア因子 CLOCK/BMAL1 による体節時計振動への干渉作用

○梅村康浩¹、小池宣也¹、土谷佳樹¹、渡邊仁美²、近藤玄²、影山龍一郎³、八木田和弘¹ (¹京都府立医科大学統合生理学、²京都大学ウイルス再生医科学研究所統合生理プロセス分野、³同 ウイルス再生医科学研究所・理化学研究所)

哺乳類の概日時計は、生命に必須の生理機能である。概日時計振動は、細胞レベルで存在するが、発生初期や多能性幹細胞において、概日時計の分子振動は抑制されている。個体発生に伴い、細胞自律的に分子振動が形成されるが、発生初期において概日時計が抑制されることの生理学的意義は不明であった。一方で、概日時計が抑制されている発生初期においては、*Hes7* のネガティブフィードバックを基盤とする体節時計が振動している。本研究では、発生初期過程で抑制されている CLOCK/BMAL1 を強制的に機能させると、体節時計の振動に影響しうると報告する。RNA-seq による網羅的な遺伝子発現解析の結果、CLOCK/BMAL1 は、*Hes7* 発現制御に関連するパスウェイの広範囲に影響を与えていることがわかった。これらのことから、発生初期における概日時計の抑制は、*Hes7* 振動への干渉を防ぐために CLOCK/BMAL1 が機能抑制を受けることの結果であると推察される。(利益相反 なし)

B11. 3交代勤務から2交代勤務への変更に伴う生理機能の概日リズム変化

○笹脇ゆふ、小池宣也、梅村康浩、八木田和弘 (京都府立医科大学統合生理学教室)

現代社会において、シフトワーク等により生体の概日リズムが攪乱され様々な疾患と関連することが問題となっている。代表的なシフトとして、3交代(日勤、準夜勤、深夜勤からなる勤務)と2交代(日勤と夜勤からなる勤務)がある。しかし、3交代と2交代で概日リズムを比較した研究はまだない。そこで、我々は概日リズムを指標として個体レベルで生理機能の状態を定量的に評価し、3交代から2交代の変更による状態変化を明らかにすることを目的とした。21名の看護師を対象として、3交代と2交代の日勤と休日の5日間でホルター心電計による心拍変動リズム、血糖リズム、活動リズムの測定を行い、コサイナー法により概日リズム指標を求めた。また、HRV解析から自律神経活動の位相関係を個人ごとに求めた。さらに睡眠に関する質問票の回答を得た。その結果、2交代で睡眠の質が良好な人が有意に増加し、概日リズム指標の相関関係が大きく変化

した。さらに、自律神経活動の位相評価では、2交代で自律神経活動の位相関係が大きく改善した人では睡眠の質も改善していた。以上より、我々は概日リズム指標を用いて個体の生理機能の状態を評価し、勤務形態の変更に伴う状態変化を明らかにできた。(利益相反 なし)

B12. 授乳期の母親を介した「だし摂取経験」がマウスの油に対する食欲を向上させる

○伏見駿亮, 佐々木 努 (京都大学大学院食品生物科学専攻栄養化学分野)

【背景】日本食を特徴づける「だし」の摂取頻度は、肥満の各指標 (BMIや腹囲) と負の相関関係にあることが報告されている (Kuroda et al., J. Acad. Nutr. Diet., 2011)。日本食は低脂肪食にもかかわらず、世代を超えて食されているが、だしが食欲調節する機序は未解明である。そこで本研究は、「母親を介しただし摂取経験が、子の食欲に影響を与える」という仮説を立てた。

【方法】妊娠させた母親マウス (C57BL6) に対して、特定の期間 (胎生期・授乳期, 胎生期のみ, 授乳期のみ) に濃縮かつおだし 10% を自由摂取させた。その子供たちが成体になったのち、食欲をおいしさと欲求にわけて評価できるリック試験を行った。リック試験では、コーン油 2.5% 溶液を 15 分間、明期に提示した。

【結果】おいしさを表すバーストサイズは、経験無し群と比べて、胎生期・授乳期群および授乳期群で有意に増加した。また、欲求を表すバースト数は、経験無し群と比べて、胎生期・授乳期群で有意な傾向で増加した。他方、胎生期群では、どちらの指標でも、経験無し群と有意な差は見られなかった。

【考察】授乳期に母親を介しただし摂取経験により、栄養エピゲノム制御がおこり、その子供が成体になった後、油に対する食欲が変わる可能性が考えられる。(利益相反 なし)

B13. 慢性運動によって誘導される PMP22 の筋・骨連関における役割

○川口美紅¹, 河尾直之¹, 村谷匡史², 高藤義正¹, 石田昌義¹, 水上優哉¹, 大平宇志¹, 梶 博史¹ (¹近畿大・医・再生機能医学, ²筑波大・医・ゲノム生物学)

【目的】サルコペニアと骨粗鬆症の関連から、筋・骨連関が注目されているが、運動中の筋・骨連関において重要なマイオカインについての詳細は不明である。今回、トレッドミル慢性運動後のマウス筋の RNA シークエンス解析を行い、慢性運動により発現量が増加する体液性因子として PMP22 を抽出し、その役割について検討した。

【方法】ミトコンドリア酸素消費率 (OCR) はフラックスアナライザーを使用して測定した。

【結果】慢性運動は、卵巣摘出による骨量減少を回復し、腓腹筋 PMP22 mRNA 発現を増加させた。マウス骨芽細胞において、PMP22 は骨芽細胞分化、石灰化を有意に抑制した。一方、マウス骨髄細胞において、PMP22 は RANKL によって誘導される破骨細胞形成を有意に抑制した。さらに、PMP22 は、RANKL により増加した OCR を有意に減少させた。実験に用いたマウスでの単相関分析により、腓腹筋 PMP22 発現は大腿骨の皮質骨密度と正の相関を示した。

【考察・結論】以上の実験結果より、マウスにおいて、PMP22 は、破骨細胞形成を抑制する作用により、慢性運動による骨量増加作用に寄与する新規のマイオカインであることが示唆された。(利益相反 なし)

B14. マウス肺気道線毛に局在する $\alpha 7$ -ニコチン性アセチルコリン受容体/電位依存性 Ca^{2+} チャネルによる線毛運動の増加

○齋藤大地^{1,2}, 川口高德^{1,2}, 浅野真司^{1,2}, 丸中良典^{1,3}, 中張隆司¹ (¹立命館大学総合科学技術研究機構, ²同 薬学部分子生理学, ³京都工場保健会)

マウス気道線毛細胞において、アセチルコリン (ACh) は細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を介して線毛運動の周波数 (CBF) と振幅 (CBD) を 120% に増加させ、ニフェジピン、MLA ($\alpha 7$ -nAChR 阻害剤) で 110% に減少した。PNU282987 ($\alpha 7$ -nAChR 刺激薬) は CBF と CBD を 110% に増加させたが、有意な $[Ca^{2+}]_i$ 増加は認められなかった。この増加はニフェジピンで阻害された。この結果は、線毛のみの $[Ca^{2+}]_i$ 増加を示唆している。KCl 溶液は CBF, CBD, $[Ca^{2+}]_i$ を増加させ、ニフェジピンまたは Ca^{2+} -free 溶液で阻害された。気道線毛には電位依存性 Ca^{2+} チャネル (Cav1.2) と $\alpha 7$ -nAChR が存在していた。また、IL-13 は MLA 感受性 CBF と CBD 増加を引き起こし、気道線毛細胞からの ACh 分泌が示唆された。気道線毛には、ACh/ $\alpha 7$ -nAChR/Cav1.2 オートクリン機構が存在し、線毛運動を活性化していた。(利益相反 なし)

B15. 気道線毛の形態形成および運動調節における Ezrin の役割の検討

○川口高德¹, 齋藤大地¹, 安岡加紗音¹, 丸中良典², 中張隆司², 浅野真司¹ (¹立命館大学薬学部分子生理学, ²同総合科学技術研究機構)

気道上皮では、多線毛細胞において線毛の作り出す液層の流れが感染防御の維持に重要である。Ezrin は apical 膜

で局在する細胞骨格関連タンパク質であり、気道上皮で、線毛形成で必須となる apical 領域でのアクチン細胞骨格および基底小体の集積や、線毛運動活性化に関わる β_2 アドレナリン受容体 (β_2 AR) の局在に重要な役割を担う可能性がある。本研究では、Ezrin の発現を 5% 以下に抑制した Ezrin ノックダウンマウス (*Vil2^{kd/kd}* マウス) を用いて、気道線毛の形態や β_2 AR の局在の制御における Ezrin の役割を検討した。

その結果、野生型マウスの気道線毛において、 β_2 AR が Ezrin と subapical 領域で共発現していることが明らかとなった。*Vil2^{kd/kd}* マウスの肺多線毛細胞および気管組織において、線毛の形態形成に異常は認められなかった。また、野生型マウスと比べ *Vil2^{kd/kd}* マウスの肺多線毛細胞では、プロカテロールによる線毛運動の CBF と CBA の増加率が低く、反応性の低下が見られた。IBMX 処理時には、野生型・*Vil2^{kd/kd}* マウス間に CBF, CBA の違いは見られなかった。*Vil2^{kd/kd}* マウスでは、 β_2 AR の subapical 領域での局在が破壊されていた。以上から、Ezrin は肺多線毛細胞において β_2 AR 刺激時の cAMP レベルの上昇による線毛運動の活性化に重要な役割を担うことが示唆された。(利益相反 なし)

B16. Transforming growth factor inhibits differentiation into ependymal multiciliated cells in Vitro

○Baekgyu KIM¹, Takuya HIRAO¹, Kotoku KAWAGUCHI¹, Takashi NAKAHARI², Shinji ASANO¹
(¹Department of Molecular Physiology, College of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University, ²Research Unit for Epithelial Physiology, Research Organization of Science and Technology, Ritsumeikan University)

Ependymal cilia play pivotal roles in cerebrospinal fluid flow. In the primary culture system, undifferentiated glial cells differentiate well into ependymal multiciliated cells (MCCs) in the absence of FBS. However, the substances in FBS which inhibit this differentiation process have not been clarified yet. Here, we studied the effects of some cytokines on differentiation to MCCs. [Methods] Undifferentiated glial cells were prepared from the whole brain of newborn mice. Ependymal MCCs were stained by using an anti-acetyl tubulin antibody, and the number of MCCs was counted. [Results] The percentage of MCCs to total cells after 4 weeks of culture in the presence and absence of FBS was 30 and 60 %, respectively. Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) also inhibited differentiation into MCCs to a similar extent as FBS. These results indi-

cate TGF- β 1 is one of the substances included in FBS which inhibits the differentiation into process. (COI: none)

B17. 1 分子イメージングによる PIP2 を介したイオンチャンネル動態制御の解析

○好岡大輔, 岡村康司 (大阪大学統合生理学)

カリウム電位依存性 (Kv) チャンネルは、様々な組織の電氣的興奮を制御している。Kv チャンネルの制御には、イノシトールリン脂質の一種である PIP2 が関与している。PIP2 がチャンネルを制御する機構としては、チャンネルのゲーティング制御と空間ダイナミクス制御という 2 つのメカニズムが考えられる。これまでに、多くの研究が前者に注目している一方で、後者の検証は置き去りにされてきた。また、PIP2 はカベオラやクラスリン被覆ピット (CCP) に局在することでエキソ・エンドサイトーシスを制御しており、細胞表面において不均一な分布を示している。PIP2 が局在する領域は、チャンネルのダイナミクスに影響を与える可能性が高く、そのダイナミクスの変化はチャンネルの活性と密接に関係すると予想される。本研究では、チャンネルと PIP2 の相互作用を 1 分子イメージングで解析し、PIP2 を介したチャンネルの活性化とダイナミクス変化の相関関係を明らかにすることを旨とする。(利益相反 なし)

B18. Voltage-Sensing Phosphatase (VSP) Promotes Endocytosis-Dependent Nutrient Absorption in Enterocytes

○Adisorn Ratanayotha^{1,4}, Makoto Matsuda¹, Yukiko Kimura², Md. Israil Hossain¹, Shin-ichi Higashijima², Takafumi Kawai¹, Michio Ogasawara³, Yasushi Okamura¹ (¹Laboratory of Integrative Physiology, Department of Physiology, Graduate School of Medicine, Osaka University, ²National Institutes of Natural Sciences, Exploratory Research Center on Life and Living Systems, National Institute for Basic Biology, ³Department of Biology, Graduate School of Science, Chiba University, ⁴Department of Anatomy, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University)

Voltage-sensing phosphatase (VSP) is a membrane protein that translates membrane electrical activities to intracellular phosphoinositide signalings. VSP orthologs from various species have been intensively studied in vitro for their biophysical properties. However, their physiological role in native cells remains largely unknown. Here we report that zebrafish VSP (Dr-VSP) is functionally expressed in lysosome-rich enterocytes (LREs) that mediate dietary

protein absorption. Dr-VSP is mainly localized on intracellular vesicles of LREs. Loss of Dr-VSP remarkably reduces initial endosomal vesicles, potentially leading to nutrient malabsorption and higher mortality in zebrafish larvae. Our comparative study on a marine invertebrate *Ciona intestinalis* VSP (Ci-VSP) also revealed a homologous expression in absorptive epithelial cells of the *Ciona* digestive tract, corresponding to zebrafish LREs. These findings signify a crucial role of VSP in promoting endocytosis-dependent nutrient absorption in enterocytes. (COI: none)

B19. Conformational changes of ATP-gated channel P2X2 induced by hyperpolarization

○Rizki Tsari Andriani*, Yoshihiro Kubo (生理学研究所神経機能素子研究部門 *current affiliation: 大阪大学大学院医学系研究科統合生理学教室)

P2X2 is a ligand-gated ion channel activated primarily by ATP. The gating of this channel has been shown to be not only dependent on [ATP] but also membrane voltage, despite the absence of a canonical voltage sensor domain within its structure. How the structural rearrangements occur during the voltage-dependent gating remains elusive. We aimed to analyze the structural movements of [ATP]- and voltage-dependent gating of rat P2X2 receptor by voltage-clamp fluorometry recording utilizing fluorescent unnatural amino acid (UAA). Through genetic incorporation of an fUAA named Anap, sites of interest were labeled at individual positions of the P2X2 receptor. We observed fast and linearly voltage-dependent fluorescence intensity (F) changes at Ala337 and Ile341 in the TM2 domain, which could be due to the electrochromic effect, reflecting the presence of a converged electric field. We also observed a hyperpolarized-induced conformational changes at around Ala337 in TM2. Structure guided mutagenesis studies at Ala337 in TM2 and Phe44 in TM1 suggested that the interaction between these two residues in the ATP-bound open state is important for the [ATP]- and voltage-dependent gating of P2X2 receptor. Taking these results together, we propose that the voltage dependence of the interaction within the converged electric field underlies the voltage-dependent gating. (COI: none)

B20. 腎臓で機能する Na-Pi cotransporter SLC34A3 のイオン輸送の仕組みの解明

○周 俊先¹, 大河内善史¹, 水谷夏希¹, 塩崎雄治², 瀬

川博子², 岡村康司¹ (¹阪大・院医・統合生理学, ²徳島大・院医菌薬・応用栄養学)

生体内のリンの恒常性を維持することは骨形成や細胞機能に必須である。血中リン濃度は腎臓を含めた多臓器関連によって厳密に制御されており、SLC34 cotransporter が腎臓におけるリン再吸収の主要な分子として同定されている。我々は最近 SLC34 の分子機能を詳細に解析する方法を確立した (Mizutani et al., 2019)。本研究ではこの方法を用いて家族性低リン血症性くる病の原因遺伝子である SLC34A3 (NaPi-IIc) のリン酸輸送の仕組みを調べた。我々は三つの変異体 (S137F, R563C, I196V) に着目して解析を行った。NaPi-IIc は電氣的に中性のため電流を記録することができないが、変異を導入することで起電性にする事ができる (IIC-AAD)。この IIC-AAD 起電性変異体にこれらの変異を導入し、GFP と融合した遺伝子を作成後、培養細胞 Neuro2A に遺伝子導入し、Patch clamp 法で電流を記録した。その結果、S137F と R563C の電流値は野生型の半分程度低下していた。一方で I196V の電流値は野生型に比べて 2 割程度増加していた。共焦点顕微鏡を用いた局在解析により、S137F と R563C 変異体の細胞膜上に局在する量が野生型よりも低下していたことから、電流量の低下は細胞膜上の局在量の低下によることが示唆された。一方で I196V 変異体は野生型と同程度細胞膜上に局在していたことから、リン酸輸送機能の亢進が示唆された。(利益相反 なし)

B21. 遺伝性疾患に関連する変異 GIRK チャネルのイオン選択性の新規制御機構の解明

○陳 以珊^{1,2}, 久保義弘¹ (¹生理学研究所神経機能素子, ²和歌山県立医科大学薬理学)

GIRK チャネルは神経・心筋興奮性や睪丸ホルモン分泌の調節において重要な役割を果たす分子である。遺伝性代謝異常疾患の原因である GIRK チャネルの変異による異常なイオン選択性は、過剰な Na⁺ と Ca²⁺ 流入により細胞死を引き起こし、生理機能の異常を来す。本研究では、疾患に関連する GIRK 変異体のイオン選択性を、アフリカツメガエル卵母細胞を発現系として用い、電気生理学的に解析した。その結果、GIRK2 の選択性フィルター (SF) に位置する G156S 変異体は、K⁺ に比して、Li⁺ と Na⁺ に対する選択性が高く、その他の変異体は Rb⁺ と Cs⁺ に対する選択性が高いことが明らかとなった。また、SF の構築するイオン透過路のプロッカーの投与により、G156S 変異体の Li⁺ と Na⁺ に対する選択性が増加することが観察された。また、single-channel recording の解析においても、TPN-Q 感受性 K⁺ 電流と TPN-Q 非感受性 Li⁺ 電流が観察された。これらの結果から、G156S の変異により、通常の SF の構築

するイオン透過路とは異なるイオン選択性を持つ、第二の 益相反 なし)
イオン透過路が新たに形成された可能性が示唆された。(利