

特別講演

行動の適応を制御する神経ネットワーク：線条体入力系を中心に

○小林和人（福島医大・医・生体機能研究部門）

われわれの脳は、学習や経験に依存して行動を獲得し、環境に応じて適切な行動を実行する。環境に変化が生じた場合、既得の行動を新しい行動に柔軟に切り替える。学習の獲得や切り替えには、大脳皮質—基底核—視床を結ぶ神経ネットワークが重要な役割を持つ。複雑な神経回路が行動制御をどのように媒介し、回路のどのような変化が病態に結びつくのかを解明することが重要な課題である。これらの機構の解明において、神経回路を構成する特定の細胞種や経路の役割を操作した動物モデルは有益な実験系を提供する。われわれの研究グループは、独自の遺伝子改変技術を利用して、行動制御を媒介する脳神経回路の仕組みを明らかにするための研究を進めてきた。特に、基底核の中心的な構造である線条体への入力系に焦点をあて、学習の獲得、実行、切り替えを媒介する神経回路機構の研究を紹介する。また、新規の化学遺伝学による特定ニューロンの機能促進技術を応用し、記憶想起を増強する研究成果についても紹介したい。（利益相反 なし）

一般演題

演題 1. TRPV6 トラフィッキング変異体の細胞内局在の解析

○齋藤紘帆，鈴木喜郎，中隕克己（岩手医大・統合生理）

TRPV6 は TRP チャネルファミリーに属する Ca^{2+} 選択性チャネルである。小腸や胎盤に発現し、全身の Ca^{2+} 恒常性維持のための上皮 Ca^{2+} 輸送を行っていると考えられている。TRPV6 遺伝子変異によって母子間 Ca^{2+} 輸送障害による新生児期副甲状腺機能亢進症 (TNHP) を発症する。変異の多くは細胞膜への移行が障害されるトラフィッキング変異であったが、その詳細は不明である。私達は TNHP 発症メカニズムの詳細を明らかにするため、HEK293 細胞に強制発現させた際のトラフィッキング変異体の細胞内における分布を免疫細胞化学法および糖鎖切断前後の試料を用いたウエスタンブロット法によって解析した。野生型や細胞内アンキリンリピート変異体はゴルジ体まで進む一方、トラフィッキング変異体はゴルジ体へは進めずに小胞体に留まっているという preliminary な結果を得た。トラフィッキング変異体では細胞膜 TRPV6 を介した上皮 Ca^{2+} 輸送が障害されるだけでなく、小胞体に留まることに

よって小胞体ストレスを生じ、その結果、組織の炎症が惹起される可能性が示唆された。（利益相反 なし）

演題 2. GABA_A 受容体の細胞内分布における $\beta 3$ サブユニットのリン酸化の影響

○藤井萌加，下山修司，古川智範，上野伸哉（弘前大院・医・脳神経生理）

GABA_A 受容体には麻酔薬結合部位が存在し、抑制性神経伝達物質である GABA 応答が増強し、麻酔効果発現を行っている。この効果発現・感受性調節に GABA_A 受容体の細胞内分布が影響することが明らかとなっている。さらに細胞内分布の制御機構として GABA_A 受容体のサブユニットの S408/9 のリン酸化の関与が示されているが、そのメカニズムの詳細は不明である。そこでリン酸化と局在の関係を突き止めるために、 $\beta 3$ サブユニットの S408/9 を A および E に置換した変異体 (SA および SE) を作製し、安定発現株を樹立した。 $\beta 3$ サブユニットの分布を調べた結果、SA は細胞膜に局在していたが、SE は細胞膜には発現していなかった。この結果から、 $\beta 3$ の S408/9 のリン酸化は GABA_A 受容体の内在化を促進する、もしくはゴルジ体から細胞膜への輸送を阻害するという可能性が示唆された。以上より、GABA_A 受容体 $\beta 3$ サブユニットの S408/9 のリン酸化を阻害することで、細胞表面での局在低下を防ぎ、新たな麻酔薬制御法の開発を期待できる。（利益相反 なし）

演題 3. GATA2 および GATA3 がリンパ管再疎通に及ぼす影響について

○河合佳子，浅香智美，林 もゆる（東北医科薬科・医・生理）

リンパ節切除後のリンパ管再疎通に関与する因子の解明は術後リンパ浮腫の軽減などリンパ循環の促進に貢献できる。我々はこれまで、GATA2 および GATA3 に着目し、Gata2 ヘテロ変異マウスにおいてのみリンパ節切除後のリンパ管再疎通が有意に低下していることを見出してきた。本研究ではリンパ管再疎通における GATA2 および GATA3 の関与について検討した。コントロールマウスにおいて膝窩リンパ節切除後のリンパ管再疎通は 3 週間では完了する。Gata2::Gata3 ダブル変異マウスにおいて、切除後 3 週間のリンパ管再疎通はコントロール群と比較して有意差は認められないものの再疎通にやや低下が認められた。ところが、再疎通低下の内訳は Gata2 ヘテロ変異マウスとは異なり、繋がりが方ばらつきが出るという興味深い結果であった。Gata2 ヘテロ変異マウスでは、コントロールと比較して有意にリンパ管再疎通の低下が認められる。しか

し今回、*Gata3* ヘテロ欠損を追加することにより、GATA 3 の影響を受けて改善されるケースが認められることが示唆された。今後、GATA3 が大きく関与する T 細胞系リンパ球や炎症との関連についても研究を進めたい。(利益相反なし)

演題 4. 細胞生理機能制御のための光誘導性分子による脱分極機構の解明

○沼田朋大, 佐藤(沼田)かお理 (秋田大院・医・器官・統合生理)

細胞膜電位は動物細胞において様々な生理機能を制御する基盤となる。そのため、膜電位の人為制御は医療分野への利用も期待できる細胞工学的アプローチである。本研究では、光により電荷分離を引き起こす分子 (CS 分子) を細胞膜に局在化させ、細胞膜電位を制御する新規手法の分子機構の解明を試みた。この目的のために、電気生理学的手法で膜輸送タンパクを標的として膜の脱分極と再分極機構を調査した。光活性化 CS 分子は、電位依存性カリウム電流を不活性化すると同時に、細胞膜の静電容量の損失によりリーク電流を生成した。この光誘起の効果は、光照射を止めても標的細胞の脱分極を維持した。その後、一定期間の脱分極状態を経過した後、細胞膜の再生メカニズムによる膜コンダクタンス機能の回復で膜電位は再分極した。CS 分子による細胞の光励起の根底にあるメカニズムの解明は、予期しない膜興奮性調節メカニズムの発見と潜在的な医療分野への応用への可能性を示した。(利益相反なし)

演題 5. ジアゼパム長期使用による海馬神経機能への影響

○増山 望¹, 古川智範¹, 二階堂義和^{2,3}, 下山修司^{1,4}, 能登谷綾香¹, 上野伸哉^{1,4} (¹弘前大院・医・脳神経生理, ²同 医・麻酔科, ³同 医・フレイル予防学研究, ⁴同 医・子どものこころの発達研究センター)

ベンゾジアゼピン系薬剤 (BZDs) は、不安症や不眠症、てんかん発作、痙攣などに処方される。一方、高齢者の BZDs の長期利用が認知症発症リスクの増加に関わることが示唆されているが、その機序は未解明である。これまで報告では BZDs であるジアゼパム (DZP) 長期投与が神経興奮性やシナプスの形成・維持に影響を及ぼすことが報告されている。そこで、DZP を長期投与したマウスの認知行動および海馬神経機能 (LTP) 評価、海馬の組織学的解析を行った。また運動負荷による DZP 弊害作用の予防効果を検討した。DZP の長期投与による認知行動の低下が老齢マウスにおいて認められ、海馬領域の興奮性シナプス密度および LTP も減弱した。また、LTP およびシナプスの加齢

による減少も認められた。そして DZP の作用は運動負荷によって減弱した。これらの結果から、DZP を長期投与した老齢マウスの学習能力は、加齢と DZP の相乗効果によって低下したと考えられる。また、身体的運動は DZP 長期投与の弊害作用に予防効果があることが判明した。(利益相反なし)

演題 6. ウレタン麻酔と SLEEP interruption で誘発される不整脈の比較検討

○佐藤紳一, 西島嗣生 (岩手医科大学・睡眠医療)

最近、著者らが開発した非侵襲的マウス心電図測定システムは、無麻酔自由行動マウスの心電図記録を可能にする。本システムを用いて、マウスの睡眠中に心拍数 (HR) が 400 bpm 以下に (359 ± 24 bpm; $n = 7$) 低下した状態で覚醒刺激を与えると、HR の急上昇 (629 ± 47 bpm; $n = 7$) の後に徐脈および不整脈が誘発された。さらに、不整脈の R 波間に 30.5 ± 6.2 ms ($n = 340$) 間隔のパルスが出現した (科研費報告 24590268)。一方、ウレタン麻酔によるマウス不整脈の誘発は、1970 年代に報告がある。そこで、ウレタン麻酔下でマウス HR の変化を記録したところ、高率で不整脈が出現した。さらに、新規に開発した電極を用いて心電図記録を行ったところ、鮮明な心電図が記録され、不整脈 R 波間に 30ms 程度の間隔の心房細動で見られる f 波様の基線の動揺が記録された。以上の 2 条件下におけるマウス不整脈について、比較検討を行った。(利益相反なし)

演題 7. TRIC A チャネルと心調律

○村上 学, 村上アグニエシュカ (弘前大院・医・病態薬理)

細胞内小胞体カウンターイオンチャネル (TRIC A) の心調律における役割を解明するため、遺伝子欠損マウスを用いて、心臓の自動能を検討した。心調律は洞結節における膜電位の周期的変化 (メンブレンクロック) と、細胞内カルシウム (Ca^{2+}) 濃度の周期的変化 (Ca^{2+} クロック) が重要である。 Ca^{2+} クロックは細胞内に存在する小胞体から Ca^{2+} を放出するリアノジン受容体が重要である。小胞体から陽イオンである Ca^{2+} を数十ミリ秒間も持続放出させるためには、 Ca^{2+} 放出により発生する負電荷を中和するカウンターイオンチャネルが必須である。本研究の主題である TRIC (trimeric intracellular cation) チャネルは、小胞体におけるカウンターイオンチャネルである。TRIC A 欠損マウスにおける心拍数の低下を確認した。欠損マウスでは心拍数と収縮期血圧との関係が、野生型とは逆相関を示した。摘出心臓標本において、心拍数の低下 (自動能の低下)、及びイソプロテレノール刺激に対する反応性の低下を確認し

た。結語：TRIC A チャネル欠損により、心臓の自動調律に異常が認められた。交感神経刺激に対する反応性も低下していた。TRIC A チャネルは心臓のペースメーカーに関与することが明らかとなった。(利益相反 なし)

演題 8. 温熱負荷による海馬 CA1 ニューロン繰り返し応答へのアデノシンの関与について

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

私たちはこれまで、海馬スライスを用い電気生理学的手法で、温度上昇時のニューロン機能の可逆的および不可逆的变化について検討してきた。海馬 CA1 ニューロンは、30℃ から 43℃ まで加温した場合、静止膜電位が上昇し、抑制性シナプス応答が減弱して繰り返し応答する。さらに 49℃ まで加温すると、熱の直接作用とともに大量に放出されたグルタミン酸が加わり、ニューロン機能に不可逆的な障害を与える可能性がある。そこで、加温中に CA1 ニューロンが繰り返し応答する機序を、抑制性神経伝達物質アゴニスト、グルタミン酸受容体アンタゴニスト、および、アデノシン受容体アゴニストを用いて検討した。加温時海馬 CA1 領域では、アデノシン受容体活性が増強する一方、産生されるアデノシンが増加して抑制性シナプス伝達を減弱させ、CA1 ニューロンが繰り返し応答する、さらに加温が進むと興奮性シナプス応答が遮断される、ことが明らかになった。(利益相反 なし)

演題 9. ケタミン抗うつ作用に関するマウスを用いた基礎的検討

○二階堂義和^{1,2}, 光岡杏奈², 宮本茉里奈² (1弘前大院・医・フレイル予防学研究, 2同 医・麻酔科)

医学部 3 年次研究室研修として低用量ケタミンが脳皮質神経細胞にどのような影響を及ぼすか検討した例を紹介したい。ケタミンは全静脈麻酔法に用いる静脈麻酔薬や神経障害性疼痛に対する鎮痛薬として知られている。近年、低用量ケタミンが抗うつ作用を有することが報告され、臨床応用に向けた研究や商品化が進められてきた。しかし、ケタミンがどのようにして抗うつ作用を発揮するのか未解明の点も多く残されている。本研究は前帯状皮質神経細胞の活動に着目して、低用量ケタミン投与による神経活動変化を *in vivo* 細胞外電位記録およびカルシウムイメージングによって検討した。細胞外電位記録から低用量ケタミン投与によって興奮的活動を示す前帯状皮質神経細胞が見られた。これらの細胞がどのような性質をもつ神経細胞なのか免疫組織化学的に検討したところ、Arc を発現する細胞が含まれる可能性が示された。そこで、AAV Vector を用い

て Arc 陽性神経細胞に対して GCaMP6s を導入し、低用量ケタミン投与に対する *in vivo* カルシウムイメージングを行った。その結果、ケタミン投与後に Arc 発現細胞で GCaMP6s の蛍光シグナルを確認することができた。以上から、低用量ケタミンが持つ抗うつ作用に前帯状皮質 Arc 発現神経細胞が関与する可能性が示された。(利益相反 なし)

演題 10. 肺静脈自動能に関するアデニル酸シクラーゼ

○岡本洋介¹, Naing Ye Aung², 高木大地³, 五十嵐亘³, 尾野恭一¹ (1秋大院・医・細胞生理, 2山形大・医・病理解析センター, 3秋大院・医・心臓血管外科)

【背景】臨床上不整脈の発生源と知られている肺静脈から単離した心筋細胞は、ノルアドレナリンなどカテコラミン刺激で自発性活動電位が誘発される特徴を持つ。我々はこれまでカテコラミン α 受容体刺激の下流でイノシトール誘発性 Ca^{2+} 放出が活動電位を惹起する仕組みを解明してきた。今回、 β 受容体刺激の下流で主要な膜機能を活性化させるアデニル酸シクラーゼ (AC) の働きを研究した。【方法・結果】ラットの各心臓区域について、RT-PCR 法、免疫組織染色、ウェスタンブロット法で 9 つある AC のアイソタイプの発現パターンを確認したところ、心臓では AC3, AC5 ならびに AC9 の発現量が高く、特に AC3 は心房と肺静脈で限局的に発現が高かった。細胞免疫染色では AC は T 管の沿って局在していた。1 μ M イソプレテレンール刺激で各種心筋細胞の L 型 Ca^{2+} 電流を増大させたところ、心室筋細胞と違い、心房と肺静脈の心筋では、細胞内 Ca^{2+} をキレートするよりも 0.1 mM 細胞内 Ca^{2+} 条件で優位に増大反応が強くなった。ノルアドレナリン誘発自動能は SQ22536 (SQ) 5 μ M では停止しなかったものの、100 μ M で停止した。【結論】SQ に高感度かつ Ca^{2+} 抑制性の AC5 や、SQ や Ca^{2+} に非感受性の AC9 ではなく、SQ に中程度感受性かつ Ca^{2+} 刺激性の AC3 が、肺静脈の誘発性自動能で主な役割を担っていた。(利益相反 なし)

演題 11. L-グルコースを用いた新規抗がん剤の開発戦略

○小野幸輝, 木村和都, 田中皓大, 永井崇雅, 吉田健, 山田勝也 (弘前大院・医・分子輸送)

D-グルコースは、グルコーストランスポーターを介して哺乳動物細胞内に取り込まれ、代謝されるが、その鏡像異性体である L-グルコースは天然に希である上、グルコーストランスポーターを通過できず、細胞はこれを利用できないとされる。以前我々は、小型の蛍光基 NBD を D-グル

コースの 2 位炭素に結合した 2-NBDG が、グルコーストランスポートを介して細胞内に取り込まれることを示した。2-NBDG はその後、正常細胞のみならず、種々のがん患者の生きた組織や細胞にも適用され、がんのイメージングに有用であることが報告されてきた。2-NBDG の陰性対照として、L-グルコースに NBD を結合した 2-NBDLG を開発したところ、グルコーストランスポートは通過しなかったが、がん患者から採取した生きたがん組織や細胞に取り込まれた。解析の結果、2-NBDLG は、グルコーストランスポートとは異なるチャンネル様輸送機構を介して腫瘍細胞内に特異的に取り込まれることがわかってきた。今回、L-グルコースに NBD の代わりに抗がん作用のある分子を結合した CLG が、ミトコンドリアの膜電位が失活した膀胱腫瘍細胞に特異的に取り込まれた後、その核に侵入し、細胞死を引き起こす様子を報告する。(利益相反の有無の開示：腫瘍細胞に対する CLG の効果を示す実験の一部は、オルパバイオ株式会社からの共同研究費により実施した。)

演題 12. セシウムの動物培養細胞増殖抑制効果～セシウムは解糖系を抑制する～

○小林大輔, 挾間章博 (福島医大・医・細胞統合生理)

我々はこれまでに、セシウム (Cs) が HeLa 細胞において、細胞増殖抑制効果を示し、この要因の一つが解糖系である可能性を示してきた。本発表では、Cs 負荷した細胞の解糖系への影響について詳細に検討したので、それを報告する。Cs 負荷により、ヘキソキナーゼ (HK)、グリセルアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH)、ピルビン酸キナーゼ (PK)、乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) の発現量が減少し、GAPDH と PK の活性も低下していた。HK と PK はその逆反応がない重要なステップを触媒する酵素であり、解糖系フラックスに大きな影響を与えていると考えられる。また、Cs 負荷によってピルビン酸から LDH によって産生される乳酸の濃度が低下し、 NAD^+ の濃度が上昇した。一方、ピルビン酸と NADH の濃度には明らかな差は見られなかった。 $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$ 比が増加したとい

うことは、Cs 負荷細胞において解糖フラックスが低下していることを示している。これらの結果から、Cs 負荷による細胞増殖抑制の要因の一つは、解糖系経路の抑制であり、Cs によって解糖系経路が抑制され、細胞増殖に十分なエネルギーを解糖系から得ることができなかつたと結論づけた。(利益相反 なし)

演題 13. 一般の人々に体の仕組みを教える取り組み～学校教育と社会教育の相互補完による地域医療の充実を目指して～Popularization of Medical-knowledge Project～(第 2 報)

○挾間章博^{1,2}, 三宅将生^{1,2}, 小林大輔^{1,2}, 垣野内 景^{1,2}
(¹福島医大・医・細胞統合生理, ²特定非営利活動法人 POMk Project)

前回の第 52 回東北生理談話会では、人体や病気についての基礎知識を一般の方々に広めるための NPO 法人を設立し、福島をはじめとして国内外の地域住民に対して体験型授業を展開していることを報告した。今回の発表では、その後の進捗状況について概説する。現在、医療における多職種連携の重要性が叫ばれているが、学部での教育カリキュラムにおいて将来の多職種連携を意図したプログラムは少ない。また、あっても学内での協力的にとどまるものが多い。特に医系大学では学生の間に様々な価値観に触れる機会を設けることは就業前教育としても重要だと考えられる。そこでカリキュラム外で県内の専門学校とも連携し、双方の学生の混合チームによる体験型授業実施を企図した。授業の対象は子供たちを含む震災避難者や帰還者とし、県からの支援も受けている。教育活動は学校教育と社会教育に大別されるが、現代社会では学校教育のみならず後者にも軸足が移りつつある。一般公衆に対する教育活動は社会教育と言えるが、講師役として参加する大学生らにとっては学校教育との連続性があり、「教えることで自ら学ぶ」という相互補完関係にある、と言える。また、将来の患者と直接触れ合う機会を持つことは、将来の地域医療の充実や信頼醸成に寄与するだろう。(利益相反 なし)