

**演題 1. 防己黄耆湯による水分分泌機構の解明**

齊藤遥菜<sup>1</sup>, 佐藤(沼田)かお理<sup>2</sup>, 沼田朋大<sup>2</sup> (<sup>1</sup>秋田大・医, <sup>2</sup>秋田大院・医・器官・統合生理)

防己黄耆湯は体内の水分を排出し、水太りや慢性腎不全などに効果がある漢方薬である。現在、防己黄耆湯は国内の慢性腎不全患者約1330万人に対して、水太り解消や透析を回避するために使われているが、そのメカニズムはよくわかっていない。

本研究では防己黄耆湯の細胞の水分分泌メカニズムを調べるために、ヒト腎由来 HEK293T 細胞容積をコールターカウンター法で測定し、細胞の水分分泌能を評価した。はじめに、HEK293T 細胞へ防己黄耆湯を投与すると、濃度依存的 ( $EC_{50} = 444.34 \pm 25.9 \mu\text{g/ml}$ ) な縮小を示した。防己黄耆湯  $800 \mu\text{g/ml}$  による細胞縮小は、 $\text{Cl}^-$ チャネル阻害剤や  $\text{K}^+$ 阻害剤を加えると、それぞれ 89.5%、102.0% 抑制された。さらに、ヒト腸上皮由来の Caco-2 細胞を用いた場合でも同様の結果が得られた。これらのことから、防己黄耆湯は  $\text{K}^+$ チャネルや  $\text{Cl}^-$ チャネルを活性化し、細胞の水分分泌を促す効果があると考えられ、水太り解消や腎機能改善など幅広い問題に効果があると期待できる。(利益相反 なし)

**演題 2. 様々な炎症反応に対する大防風湯の効果**

佐々木花純<sup>1</sup>, 佐藤(沼田)かお理<sup>2</sup>, 沼田朋大<sup>2</sup> (<sup>1</sup>秋田大・医, <sup>2</sup>秋田大院・医・器官・統合生理)

関節リウマチは関節で炎症が起き、それに伴い、軟骨などが破壊され機能が損なわれていく疾患である。

現在、リウマチ治療に使用されているステロイド薬などの抗炎症薬は、長期間の使用における骨粗鬆症や消化器症状などの様々な副作用が課題として示されている。一方、副作用が少ない漢方薬の中で大防風湯は、関節の炎症を伴う腫れに対する効果が期待されるが、その作用機序は明らかでない。

本研究では、炎症を起こした細胞に対する大防風湯の効果を検討した。はじめに、HeLa 細胞に LPS、ヒスタミンなどの炎症物質を作用させると、作用後 2 分以内にそれぞれ  $2.59 \pm 0.79\%$ 、 $2.09 \pm 1.05\%$  の炎症性細胞膨大を起こした。この炎症性細胞膨大は、大防風湯の同時投与によって、いずれの場合も抑制された。さらに、軟骨細胞株 ATDC5 細胞でも LPS 誘導性の細胞膨大に対し、大防風湯は抑制効果を示した。これらの結果より、大防風湯は種々の炎症反応に対して抗炎症作用を持つと考えられ、関節炎を含む炎症性の疾患に対して効果が期待される。(利益相反 なし)

**演題 3. 随意運動にともなう体性感覚入力の大脳皮質情****報処理**

望月 圭<sup>1</sup>, 中隋克己<sup>1</sup>, 稲瀬正彦<sup>2</sup>, 村田 哲<sup>2</sup> (<sup>1</sup>岩手医大・医・統合生理, <sup>2</sup>近畿大・医・生理)

随意運動時、脳はその運動で生じる感覚フィードバックを予測し、実際に得られた感覚入力と照合して評価する。運動遂行過程でのエラーは予測外の感覚入力を発生させ、これが運動の修正をするための手掛かりとなる。逆に予測した感覚フィードバックに誤差がない限り、その感覚入力は抑制(予測と相殺)され、主観的にも減弱して知覚される。

われわれはニホンザルにおいて、随意運動中のこの知覚減弱現象の神経基盤を調べた。サルが右手でレバーを前後に動かすと、サル自身の左手にあてたブラシが前後に動いて触覚刺激を与えた。またレバー操作とブラシの動作の間にゼロから数百ミリ秒の遅延を加え、運動から感覚入力までの時間的誤差を操作した。

課題遂行中のサルの右一次体性感覚野(SI, 触覚刺激の対側半球)から単一ニューロン活動記録を行なった。結果、サル SI ニューロンには、ブラシ動作までの遅延が少なく、予測と感覚入力の誤差が小さいとき体性感覚応答が弱まる細胞や、逆に強まるような細胞がみられた。両者の割合としては、誤差が小さい条件で応答が弱いもののほうが多かった。この結果は、随意運動にともなう体性感覚フィードバックの知覚減弱が、大脳皮質情報処理の初期段階で起こることを示唆している。(利益相反 なし)

**演題 4. ニホンザルの歩行姿勢の変換: キネマティクスと筋活動の解析**

鈴木 享<sup>1</sup>, 望月 圭<sup>1</sup>, 守田和紀<sup>1</sup>, 鈴木喜郎<sup>1</sup>, 稲瀬正彦<sup>2</sup>, 中隋克己<sup>1</sup> (<sup>1</sup>岩手医大・医・統合生理, <sup>2</sup>近畿大・医・生理)

歩行に伴う姿勢の中核制御機序を解明するために、サルに四足歩行と二足歩行を交互に繰り返す課題を行わせた。本研究では第一段階として、体幹を水平位から直立位へと変換する期間におけるキネマティクスと筋活動(中枢神経系の最終出力)の修飾様式を四足歩行と二足歩行の間で比較した。

姿勢変換は 1-2 歩行周期の間に完了した。歩行周期頻度は姿勢変換に伴って増加し、二足歩行では減少した。

歩行中の頭部と臀部の位置は左右へ周期的に変動した。四足歩行中の頭部は立脚相にある前肢の対側に変位し、臀部は立脚相の後肢の対側へ変位した。一方、姿勢変換に伴って前肢が離床すると、頭部は臀部と共に立脚相の後肢の対側に変位するようになった。この体幹の変動様式は二足歩行でも維持された。

四足歩行中の左右の脊柱起立筋は、各後肢の着地時に共収縮した。対して、姿勢変換中ではそれらの共収縮は増強し、交代性の相動的活動が重畳した。姿勢変換中の筋活動様式は二足歩行中でも維持された。

以上より、サルは脳幹-脊髄神経機構は歩行中の随意的な姿勢変換に際して、上位からの運動指令に従って歩行リズムを変調し、前-後肢間・肢-体幹間の協調様式を切り替えることが示唆される。(利益相反 なし)

#### 演題5. 睡眠・覚醒サイクルにおけるラット視床下部背内側核のニューロン活動

高橋和巳<sup>1</sup>, 加藤由美子<sup>1</sup>, 永福智志<sup>1</sup> (福島医大・システム神経科学)

近年、自律系機能の中核である視床下部背内側核(DMH)には、選択的光刺激により徐波睡眠(SWS)を促進するニューロンと逆説睡眠(PS)を促進するニューロンが存在することが報告されている。しかし、睡眠・覚醒状態における個々のDMHニューロン活動の特徴は明らかになっておらず、単一のニューロンが睡眠調節と自律系調節の両方に関与するか否かは不明である。我々は睡眠・覚醒中のラットからDMHの単一ニューロン活動を記録し、解析した。全54個のニューロンのうち、覚醒時に最も発火頻度が高いニューロンは18個(33%)、PS時に最も高いニューロン(Pニューロン)が18個(33%)だった。SWS時に最も活発に活動するニューロンは1個と非常に少なかった。Pニューロンのうち5個は、発火活動の開始タイミングと持続性からPS促進ニューロンである可能性が考えられた。また、睡眠中の心拍数の一時的な上昇に対し、先行して発火頻度が増大もしくは減少するニューロンが11個(20%)存在し、そのうち3個はPS促進ニューロンと見られる特徴を有していた。これらの結果からDMHに存在する一部のニューロンはPSの発現に重要であると同時に自律神経系の調節にも関わっている可能性が示唆された。(利益相反 なし)

#### 演題6. LRRC8D チャネルの細胞容積調節能における役割の解明

鈴木太郎<sup>1</sup>, 佐藤(沼田)かお理<sup>2</sup>, 酒井彩子<sup>2</sup>, 森 俊太郎<sup>1</sup>, 沼田朋大<sup>2</sup> (<sup>1</sup>秋田大・医, <sup>2</sup>秋田大院・医・器官・統合生理)

LRRC8チャネルは、LRRC8Aを核として-8B、-8C、-8D、-8Eのいずれかの組み合わせでイオンチャネルを形成し、機能する。これまで、電気生理学による機能解析とクライオ電子顕微鏡による結晶構造解析によって構造機能連関研究を中心にチャネル機能が明らかになりつつあるが、

生理的役割に関する報告は少ない。

本研究では、LRRC-8Aと-8Dの低浸透圧刺激における調節性容積減少能(RVD)を蛍光イメージングによる細胞断面積解析で比較した。はじめにHeLa細胞にLRRC-8Aと-8Dを単独、もしくは両方の組み合わせで導入し、目的の遺伝子発現を示す蛍光マーカーの発現をしている細胞のみを測定した。コントロールや単独で発現させた場合のRVDと比較すると、8A+8Dで顕著な上昇を示した。次に、HEK293細胞において、HeLa細胞の実験の際と同様に目的の遺伝子を発現できた細胞のみを選び測定を行った。コントロール、単独の発現と比較すると、8A+8DでRVDを亢進することが明らかとなった。今後、活性化シグナルや変異体発現実験を含めた解析を進めることでRVDの全容を明らかにする必要がある。(利益相反 なし)

#### 演題7. MccB 遺伝子 (DNA 組み換えの選択遺伝子として)

村上 学<sup>1</sup>, 米倉 学<sup>1</sup>, 村上アグニエシユカ<sup>1</sup>, 板垣史郎<sup>2</sup> (<sup>1</sup>弘前大・病態薬理, <sup>2</sup>札幌医大・産学・地域連携センター)

ペプチドトキシンは分子生物学や感染症学に貢献してきた。しかし、トキシンを広く応用するためには遺伝子の小型化が必須である。

本研究では、1. 大腸菌由来のCcdBトキシンの小型化、2. 細菌由来ペプチドトキシンの開発を行った。

プラスミド上での遺伝子組み換えを効率良く検討するため、lacプロモーター、オペレーターの下流に各種トキシン遺伝子を挿入した(IPTG誘導によりトキシンが発現し、増殖不能となる)。各トキシンが有効か否かを判定するため、LacZ遺伝子の $\alpha$ ペプチド配列部分をトキシン遺伝子5'末端に挿入した。 $\alpha$ ペプチド配列がプロモーターと同方向、かつプロモーター下のポリヒスチジンタンパクと読み枠が一致した場合にのみ、 $\alpha$ 相補となる(青いコロニーが形成される)。CcdBトキシンは20%、短縮することが可能であった。MccBトキシン、およびそのバリエーションがCcdB同様の効果を有することを確認した。MccBトキシンはCcdBの半分以下の長さであり、さらに短いペプチドトキシンを作製することも可能であった。MccBトキシンをを用いた発現プラスミドは3.6 kbというサイズで大腸菌、哺乳類での遺伝子発現に有効である。(利益相反 なし)

#### 演題8. L-グルコースの腫瘍細胞内への取り込み機構の解析

小野幸輝<sup>1</sup>, 木村和都<sup>2</sup>, 杉浦 歩<sup>3</sup>, 佐々木綾子<sup>4</sup>, 長友克広<sup>4</sup>, 尾崎 拓<sup>2</sup>, 山田勝也<sup>1</sup> (<sup>1</sup>弘前大院・医・分子輪

送,<sup>2</sup>岩手大・理工・生命,<sup>3</sup>順天堂大院・医・難病センター,<sup>4</sup>弘前大院・医・統合機能生理)

D-グルコースの鏡像異性体であるL-グルコースは、細胞内に輸送されず、一部の土壌菌を除き代謝されず、役に立たない糖と考えられてきた。D-グルコースの可視化に利用される蛍光標識D-グルコース2-NBDGには陰性対照が必要と考えていた私達は、そこで2-NBDGのD-グルコース部分をL-グルコースで置き換えた2-NBDLGを開発した。2-NBDLGはヒト被検者の赤血球や腹膜中皮細胞など正常細胞には取り込まれなかったが、胃がん、卵巣がん、子宮体がん、尿路系がんなどの患者検体に2-NBDLGを取り込む細胞が検出された。小規模試験では、2-NBDLG陽性細胞の存在は患者予後と病理細胞診を上回る相関を示したことから、がんの予後予測マーカーとして2-NBDLGを利用できる可能性がある(Ono 他 Cancers 2020)。2-NBDLGのがん細胞内への輸送は、マウスインスリノーマ細胞やヒト骨肉腫細胞等を用いた研究から、ポリフェノール Phloretinにより阻害される非トランスポーター型機構を介すると推定されたが、本研究ではより詳細な検討の結果について紹介する。(利益相反の開示：腫瘍細胞における2-NBDLGの取り込み機構を示す実験の一部はオルパイオ株式会社および浜松ホトニクス株式会社からの共同研究費により、また取り込みを検出する装置を開発する研究の一部は株式会社ニコンインテックからの共同研究費により実施した。)

#### 演題9. ニコチンによるNMDA受容体反応の増強

山崎良彦, 藤原浩樹, 後藤純一, 藤井 聡 (山形大・医・生理)

ニコチン投与により、神経回路の興奮性が変化し、シナプスでの情報伝達機能が修飾される。その修飾作用の1つとして、海馬CA1シナプスでの長期増強(LTP: long-term potentiation, 学習・記憶の細胞レベルでの機序として広く知られている)の誘導促進が報告されている。この領域のLTP誘導にはNMDA型グルタミン酸受容体の活性化が必要であるため、今回、NMDA受容体反応に対するニコチンの効果を検討した。海馬スライス標本においてCA1領域の錐体細胞から細胞外記録およびホールセル記録し、NMDA受容体を介するシナプス反応をモニターしたところ、ニコチンの灌流投与により反応が増大した。ニコチン性受容体は抑制性介在ニューロンに多く発現していること、そして、ニコチンの効果は抑制性シナプス伝達の阻害によって減弱することから、脱抑制による機序が考えられた。また、ニコチンの効果は $\alpha 4\beta 2$ 型ニコチン性受容体の阻害薬によって減弱すること、 $\alpha 7$ 型ニコチン性受容体(脱感

作が非常に速い)の阻害薬がニコチンと同様の増大効果を示すことから、脱抑制には異なる2つの機序が含まれていることがわかった。さらに、NMDA受容体反応はムスカリン受容体を介した機序によっても増大したことから、ニコチンによるNMDA受容体反応の増強およびこれに関連するLTP誘導促進には、複数の機序が含まれていることが明らかになった。(利益相反 なし)

#### 演題10. マウス, ラット, ヒトの心臓トランスクリプトームの比較研究

岡本洋介<sup>1</sup>, 岡田大翔<sup>2</sup>, 小林大礎<sup>1</sup>, 尾野恭一<sup>1</sup> (<sup>1</sup>秋田大院・医・細胞生理, <sup>2</sup>京都大院・医・ゲノム医学センター)

心臓は哺乳類の生命維持に重要な器官であり、長年主要な科学研究課題だった。それにもかかわらず、種差に着目した研究は少なく、種を超えて普遍的な機能を持つ遺伝子や、種差を決定する遺伝子の研究には課題が残されている。本研究では、マウス、ラット、ヒトの心房、心室、洞房結節(SA)のトランスクリプトームデータを解析し、種差を考慮したSpecificity measure (SPM) 値を算出して比較した。3つの心臓領域の中で、SAの種差が最も大きく、SAの本質的な特徴を決定する遺伝子を探索したところ、我々の基準ではSHOX2であった。SHOX2のSPM値は、生物種を超えて突出して高かった。同様にSPM値を算出すると、心房特異的なマーカーが3種類、心室特異的なマーカーが11種類、SA特異的なマーカーが17種類同定された。オントロロジー解析により、70の心臓領域および種特異的なオントロロジーが同定された。これらの結果は、SPM値を算出することにより既存のデータを再解析することで、新規の組織特異的遺伝子や種依存的な遺伝子発現を同定できる可能性を示唆している。(文献: Okada, *et al. Biomolecules*, 2022, 12(6), 859) (利益相反 なし)

#### 演題11. リンパ動態生理学から考えるヒトリンパ流量推測法について

河合佳子<sup>1</sup>, 林 もゆる<sup>1</sup>, 浅香智美<sup>1</sup>, 前島大輔<sup>2</sup>, 大橋俊夫<sup>2</sup> (<sup>1</sup>東北医科薬科大・生理, <sup>2</sup>信州大・MHI)

リンパ浮腫は生活の質の低下を招く深刻な問題であり、リンパ浮腫治療を行うにはリンパドレナージなどの手技の有効性実証のためにリンパ流量を推定するための生理学的な理解、リンパドレナージ効果に対する一般的評価法を確立する必要がある。リンパ流は最終的に胸管から静脈系に合流し血液の希釈が起こることから、私どもはすでにリンパドレナージ前後の血液検査を行い、血液の希釈度を算出することにより、リンパの流入量を推定することが可能で

あるとの報告を行っている。リンパが血液に合流し血液希釈が起こった後、希釈分は尿に排泄されると考えられる。そこで、より侵襲の少ない尿一般検査による評価が可能かどうかについて検証した。研究は信州大学医学部倫理委員会の承認を受けて実施した。リンパ流量を増加させる処置の前後の尿を比較すると、処置後の尿量が増加し尿浸透圧

の低下を確認できた。血液検査の結果と比較すると、血液希釈度に応じて抗利尿ホルモンの分泌抑制が起き、尿の性状解析結果は血液検査結果と同様の傾向が得られた。健康人の胸管リンパ流量を負担の少ない尿一般検査によって推測でき、今後リンパ浮腫療法士の技能習得の評価等に応用できる可能性が示された。(利益相反 なし)