

特別公演

1. 皮質脳波法による視覚・記憶の脳情報解読

○長谷川 功 (新潟大学医学部生理学)

わたしたちは脳の表面に「網をかける」ように張りめぐらせて局所フィールド電位を多点記録する柔軟なメッシュ型の皮質脳波(Electrocorticogram: ECoG)電極を設計し、ラットやマカクザルの動物モデルで、刺入型の微小電極法との比較において、高密度のメッシュ型 ECoG 電極によって得られる信号の記録特性を検証する系を開発しました。マカクザルでは、メッシュ型電極を脳表のみならず脳溝に広範囲留置することも可能となりました。ECoG 法を用いてマカクザル下側頭葉やヒト紡錘状回の神経活動を計測すると、『顔』や『文字』の視覚カテゴリー情報が解読できることがわかりました。マカクザルの実験では、連想記憶の学習にともない内側側頭葉のマクロ的機能構築がダイナミックに変化することもわかりました。網状電極を用いた ECoG 法は、視覚・記憶に関わる脳情報の生理学的研究にとっても、次世代 Brain-machine interface の開発にとっても発展性に富む手法と考えられます。(利益相反 なし)

2. 大脳皮質回路形成におけるカルシウム依存的制御機構の探索

○竹本さやか^{1,2}, 堀金慎一郎^{1,2}, 鈴木敢三², 上條諭志², 藤井 哉², 尾藤晴彦² (1名古屋大学環境医学研究所神経 I, ²東京大学医学系研究科神経生化学)

神経細胞は、脳室周囲にて誕生・運命決定された後に、適切な脳局所へと移動し、軸索・樹状突起やシナプス結合を発達させ神経回路を形成する。この神経回路形成の異常が精神・神経疾患の素地となることが知られ、その制御機構の解明が待望される。シナプス結合を発達させる前の発生途上の神経細胞は、成熟した神経細胞とは異なる様々な機構により自発的カルシウム変動を示すことが知られており、各回路形成過程(細胞増殖、細胞移動、神経突起発達など)において重要な役割を果たすとされる。近年我々は、大脳皮質回路形成におけるカルシウム依存的制御機構を解明する目的で、神経突起の伸展を制御するカルシウムエフェクター分子として、カルシウム依存性蛋白質リン酸化酵素(CaMKI)に着目し、神経突起形成や大脳皮質回路形成における新規機能解明を推進している。本講演では、これまでの研究成果を紹介するとともに、最近の知見を紹介する。回路形成段階において観察されるダイナミックなカルシウム変動の意義付けとその分子機構解明を進めることにより、カルシウムシグナルの多彩な生理機能に加え、精神・神経疾患の病態理解が進むことが期待される。(利益相

反 なし)

3. 中枢概日時計の神経メカニズムの解析

○三枝理博 (金沢大学医学系統合神経生理学)

我々の行動や生体機能の殆どが概日(サーカディアン)リズムにより調節される。哺乳類の概日リズム中枢・視交叉上核(SCN)は、多様なニューロンで構成される神経ネットワークである。個々のニューロンは細胞内で概日リズムを刻む時計の分子機構(細胞時計)を持つが、そのみでは不安定であり、SCN 全体として強固で安定した概日リズムを発振するためには、多種多数の SCN ニューロン間のコミュニケーションを介した機能的神経ネットワークの構築が必須である。

我々は、SCN にニューロンタイプ特異的な遺伝子操作や神経活動操作を加え、中枢概日時計の神経メカニズムを理解することを目指している。SCN の主要なニューロンタイプの一つ、アルギニンバソプレシン(AVP)産生ニューロンのみで細胞時計を欠損したマウスは、概日行動リズムが不安定で振幅は減少し、周期は長くなった。また、AVP ニューロンのみで細胞時計の周期を人為的に変化させると、概日行動リズムの周期も変化した。AVP はリズム発振には重要でないと考えられていたが、我々の結果は、AVP ニューロンがペースメーカー細胞として機能し、概日リズムの発振、およびその周期の決定に重要であることを示している。このように、概日リズムの周期、振幅、位相、各々がどのように制御されるのか、SCN 中枢概日時計の神経メカニズムを明らかにしていきたい。(利益相反 なし)

O-1. ヒト脳内における自然視聴覚情報表現への遺伝的寄与

○豊田峻輔^{1,2,3,4}, 西田知史^{3,5}, 本多智佳⁴, 渡邊幹夫⁴, 大阪ツイニリサーチグループ⁴, 西本伸志^{3,4,5} (1山梨大学大学院総合研究部医学域生理学講座神経生理学教室, ²日本学術振興会, ³情報通信研究機構(NICT)脳情報通信融合研究センター(CiNet), ⁴大阪大学大学院医学系研究科附属ツイニリサーチセンター, ⁵大阪大学大学院生命機能研究科)

私たちは独自の方法で世界を認識しているが、その個人差がいかんして遺伝的および環境的な影響を受けているのかはあまり明らかにされていない。双生児研究は、一卵性双生児がほぼ 100% の遺伝子を共有するのに対して、二卵性双生児は約 50% を共有していることから、ヒトの様々な表現型における遺伝・環境要因を評価する有用な手法である。これまでの双生児研究によって、様々なヒトの認知機能における遺伝的寄与が示唆されているものの、それらの

多くはある特定の認知条件に限られており、より自然な体験における脳内表現への影響については未だ明らかにされていない。そこで本研究では、大阪大学ツインリサーチセンターによって募集された双子のボランティアを対象に、日常生活における多種多様な知覚・認知を誘発する 1 時間以上の動画を視聴中の全脳レベルの活動を機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) によって計測した。その後、各被験者の動画クリップにおけるマルチボクセルの活動パターンの表現類似度を定量したところ、特に前頭前野及び後頭頂皮質において、一卵性双生児ペア内で高い類似性が認められた。このことから、ヒト脳内における自然な視聴覚情報表現において、高次認知機能に関与する連合野が特に強い遺伝的影響を受けていることが示唆された。*同等寄与：豊田峻輔、西田知史 (利益相反 なし)

O-2. ストレプトゾトシン誘発 1 型糖尿病は一次運動野の身体部位再現を変化させる

○村松 憲¹、生友聖子¹、玉木 徹¹、志茂 聡² (¹健康科学大学健康科学部理学療法学科、²健康科学大学健康科学部作業療法学科)

近年、我々は糖尿病ラットの腰髄に投射する錐体路細胞に選択的減少が生じることを発見した。錐体路細胞の減少は一次運動野の身体部位再現に影響を与えることが予想されるが、この点について調べた研究はない。そこで、1 型糖尿病モデルラットの一次運動野の身体部位支配領域の変化を調べることにした。

実験には Wistar 系ラット 36 匹 (雄、13 週齢) を用いた。18 匹のラットは Streptozotocin の腹腔内投与によって 1 型糖尿病を発症させ糖尿病群とし、残りの 18 匹は対照群とした。各群のラットは 4 週間 (n=6)、13 週間 (n=6) もしくは 23 週間 (n=6) の飼育期間の後に、ケタミン・キシラジン混合麻酔下にて皮質内微小電気刺激を行い一次運動野のマッピングを行なった。

一次運動野の後肢面積は対照群に比較して病期 4 週から縮小し (P<0.01)、病期 23 週では対照群の半分以下になった (P<0.01)。同様の激しい運動野の縮小は体幹領域にも観察された。前肢領域は病期 13 週以降から縮小したが (P<0.05)、下肢・体幹領域と比べると軽微な変化であった。一方、頸部や顔面領域には変化が認められなかった。

本研究は糖尿病によって一次運動野の身体部位支配領域が縮小することを初めて報告するものである。支配領域の縮小は後肢・体幹領域を中心に認められ、腰仙髄に投射する錐体路細胞の脱落と良く合致する結果であった。(利益相反なし)

O-3. 生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) ニューロン制御における興奮性 GABA 入力役割

○渡部美穂¹、鍋倉淳一^{2,3}、福田敦夫¹ (¹浜松医大神経生理、²生理研・生体恒常、³総研大生理科学)

脳による生殖内分泌調節の最終共通路は視床下部に存在する GnRH ニューロンである。卵巣から分泌されるエストロジェンの正のフィードバック作用により、GnRH ニューロンから GnRH が大量分泌され、その結果、下垂体から黄体形成ホルモン (LH) のサージが起こり、排卵が起こる。GnRH や LH は通常パルス状に分泌され、卵巣成熟に関与する。GnRH ニューロンの周期的な GnRH 大量分泌やパルス状分泌のメカニズムは十分に明らかにされていない。これまでに、抑制性伝達物質である GABA が GnRH ニューロンでは興奮性に作用することを明らかにしてきたが、生殖機能における興奮性 GABA 入力の役割について個体レベルで明らかにするために、特定の時期に GnRH ニューロンでカリウムクロライド共役担体 (KCC2) を過剰発現させることにより、GnRH ニューロンへの GABA 入力を興奮性から抑制性に変化させることができる遺伝子改変マウスを今回作成し、その検討を行った。GnRH ニューロンへの GABA 入力を抑制性に変化させたところ、性周期が乱れ、排卵や妊娠がみられなくなった。これらのマウスの卵巣には成熟卵胞が認められず、未熟な卵胞が多数観察された。さらに、陰開口の時期が早まることがわかった。以上より、雌マウスの生殖機能制御において興奮性 GABA 入力が必要な役割を持つことが明らかになった。(利益相反 なし)

O-4. Regulation of inwardly rectifying potassium current by WNK3 kinase in layer V pyramidal neurons of the mouse prefrontal cortex

○AS. Sinha¹、Y. Hosoi¹、E. Sohara²、H. Mutoh¹、T. Akita¹、S. Uchida²、A. Fukuda¹ (¹Dept. of Neurophysiology, Hamamatsu Univ. School of Medicine, Hamamatsu, Japan、²Dept. of Nephrology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental Univ., Tokyo, Japan)

The with-no-lysine (WNK) kinases, a family of serine/threonine kinases have been shown to be an essential element in the signaling cascade regulating intracellular Cl⁻ concentrations in many cell types including pyramidal neurons of the cortex. Recent findings indicate another function of WNK3 kinase, the regulation of RBFOX1, an RNA binding protein known to generate splice variants of ion channels and synaptic proteins. Clinical investigations in subjects with Schizophrenia and autism spectrum disorder

ders have reported changes in expression of WNK3 kinase in the prefrontal cortex. These observations also indicate a pleiotropic functionality of WNK3 kinase. In the present study, we used WNK3 knockout mice at postnatal day 21-27 and examined active and passive membrane properties of layer V pyramidal neurons from medial prefrontal cortical slices. The results indicate loss of WNK3 kinase significantly hyperpolarized resting membrane potential (RMP), decreased input resistance and membrane time constant and a resulting increase in threshold current for action potential (AP) generation. Both the rise and fall of an AP were significantly slowed. The interspike voltages during repetitive AP firing were more depolarized in the knockout mice. Voltage-clamp recordings to ascertain the contributors to the hyperpolarized resting membrane potential indicate a key regulation of the inward rectifying potassium (IRK) conductance. On the other hand ambient GABA mediated GABA_B receptor coupled Girk channel currents were not affected, confirming involvement of classical inward rectifier channels. This enhancement of IRK conductance due to WNK3 deficiency was phosphorylation dependent as evidenced by active WNK3 kinase-mediated rescue. Thus WNK3 kinase by regulation of K_{IR} channels, would affect the excitability of layer V pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. (COI none)

O-5. Head mounted display を用いた視運動性刺激が立位の身体重心および歩行に及ぼす影響

○駒形純也^{1,2}, 杉浦篤志¹, 北間敏弘¹ (¹山梨大学総合分析実験センター, ²健康科学大学健康科学部理学療法学科)

Head mounted display (HMD) を用いて視運動刺激 (OKS) を提示し, 立位時の重心動揺および歩行に与える影響を調べた。本研究には, 健康成人 17 名を対象とした。重心動揺計上において立位姿勢を取らせた被験者に HMD を装着させ, ランダムドットによる OKS を提示した。刺激強度は, 20~100°/s とした。刺激試行ごとに重心動揺の総軌跡長および時間変化に対する直線回帰からの重心偏移度を求めた。上下, 水平, 回旋の全ての方向の OKS において, 総軌跡長は静止画よりも増加する傾向を示した。上下および回旋 OKS では, 刺激方向への重心偏移度が大きい傾向を示し, 40°/s で最大となった。歩行計測は, 被験者に静止立位にて 15 秒間, 回旋または水平 OKS (40°/s) を提示した後, 4m 歩行を行なわせた。歩行中も OKS を継続した。靴内に装着した足底圧測定用センサーシートにより平均足底

圧, 歩行周期を求めた。回旋 OKS 時, 歩行軌跡は刺激方向に大きく偏移し, 刺激側の平均足底圧が増大する傾向を示した。非刺激側の足底圧は, 圧分布が刺激側に移動する傾向を示した。また, 回旋 OKS では刺激側立脚期が静止画に比べて, 約 5% 増大した。水平 OKS では, 歩行軌跡の偏移, 平均足底圧ともに変化は少なかった。HMD を用いた OKS による歩行への影響から, 脳卒中等のリハビリ応用への可能性が示唆された。(利益相反 なし)

O-6. 標本館見学による医学学習支援のための拡張現実感システム

○杉浦篤志¹, 豊浦正広², 茅 暁陽², 北間敏弘¹ (¹山梨大学総合分析実験センター, ²山梨大学大学院総合研究部)

山梨大学には医学標本館があり, 実物の臓器の構造や質感を見学できる貴重な機会を提供している。学内の医学初学者や県内の医療関連の学生等が定期的に見学に訪れ, 人体構造の知識を深めている。標本説明は, 各標本の前に置かれた説明やイラストと医学標本館対応の教職員の解説によって行われているが, 各見学者への情報提示は不十分である。本研究では拡張現実感 (AR: Augmented Reality) 技術を利用した新たな見学支援システムを提案する。我々はまず, 医学標本の構造やテキストを活用し, AR 技術によって標本に関する情報をタブレット端末で見学者へ提示する 2 つのシステムを開発した。AR 環境を正確で簡単に実現する手法としてカメラと専用の AR マーカを利用するものがある。1 つめのシステムは, この手法を用いて標本の横に設置された AR マーカをタブレット端末のカメラで撮影することにより画面に映し出された標本に仮想ラベル情報を付加するものである。2 つめのシステムでは, 本学の医学標本館がスライス状の標本を数多く有することから, スライス標本断面を画像マーカとして設定した。さらに, 後者のシステムに対し, ヘッドマウントディスプレイと直感的クリックインタフェースを組み合わせた改良を行った。その結果, 直感的なジェスチャ操作により標本情報を提示する効果的な見学支援システムを構築することができた。(利益相反 なし)

O-7. 簡易型心電図テレメトリの自作と性能評価

○住田 爽, 間 祐太郎, 田村了以 (富山大学医学薬学研究部 (医学) 統合神経科学)

本電気生理学研究における測定機器を自作することには種々のメリットのあることが認識されているにもかかわらず, 近年は簡単な測定機器でさえ既製品に頼る傾向がある。そこで今回, 生理学研究の初学者が心電図テレメトリを自

作し性能を評価するという試みを行なった。心電図テレメトリは本発表者(本学医学部医学科 1 年次生)が自作した。これは初段が 21 倍、次段が 10 倍の信号増幅部と Bluetooth による送信部からなる。計測信号は Bluetooth 受信機と AD 変換器を介して PC に取り込み、波形表示とデータ保存を行なった。性能評価のため、自作機および既製品の心電計を用い、覚醒下のヒト (1 名) と麻酔下のニホンザル (1 頭) から心電図 (双極第一誘導) を記録した。なお自作機からは信号増幅部直後の出力とテレメトリ出力 (伝送記録距離: 1~10m) を導出した。その結果、ヒトの記録では自作機の信号増幅部直後の出力から既製品と同等の波形が得られた。テレメトリ出力波形は Bluetooth 内蔵のフィルタのため歪曲していたが、R 波に一致して明瞭な高振幅波形が認められ、また、1~10m 間では記録波形の劣化はなかった。サル の 記録では、手術期間中継続して (約 6 時間) 安定して心電図をモニターできた。以上より、生理学研究の初学者でも心拍モニターとして用いることのできる心電図テレメトリを比較的容易に自作できることが実証できた。(利益相反 なし)

O-8. 自由行動下サルにおける海馬錐体細胞の場所応答性

○間 祐太郎, 田村了以 (富山大学医学薬学研究部統合神経科学)

齧歯類の海馬には、動物がある環境内の特定の場所 (場所受容野) に来た時に活動が増加するニューロン (場所細胞) が存在し、場所細胞の集団活動が空間認知地図の神経基盤であると考えられている。場所細胞の応答は、運動により生じる前庭感覚や固有感覚の入力により影響を受ける。これまでヒトを含む霊長類の海馬における場所細胞の存在を示唆した研究はあったが、そのほとんどでは自己運動を伴わない仮想空間環境を使用していた。

そこで本研究では、サルが自由行動下で直線走路を往復移動しているときに海馬からニューロン活動を記録し、海馬 CA1 野錐体細胞の場所応答性および発火周期性を検討した。

記録した 83 個の錐体細胞のうち、17 個はサルの居場所には、1 個はサルの移動方向に依存する応答を示したが、場所と移動方向の両方に特異的な発火を示す細胞はなかった。サルの歩行速度は、場所細胞の発火頻度と正の相関、場所受容野のサイズと負の相関を示した。自己相関解析の結果、場所細胞の活動に明瞭な周期性は見られなかった。

以上の結果から、サルの海馬にも場所細胞が存在し、齧歯類と同様に、前庭感覚や固有感覚からの情報もその空間表現に寄与することがわかった。一方、歩行移動時 (齧歯

類ではシータ波が観察される条件) にサルの場所細胞は周期性活動を示さないことから、サル海馬における空間情報符号化への周期性徐波の寄与は低いことが示唆された。(利益相反 なし)

O-9. ヒスタミン作動性神経細胞にシナプス入力する神経細胞のマッピング

○前島隆司¹, 齊藤夕貴^{1,2}, 三枝理博¹, 櫻井 武² (¹金沢大学医学系統統合神経生理学, ²筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構)

ヒスタミン神経は視床下部結節乳頭核に存在し、脳の広範囲に軸索投射して様々な脳領域にヒスタミンを放出する。この中枢ヒスタミン神経系は睡眠・覚醒、体温調節、エネルギー代謝などの恒常性維持機能に加え、記憶、学習、認知などの高次脳機能にも関与する。このような幅広い脳機能に対しヒスタミン神経系が各機能を統合的に調節する役割については未だ不明な点が多い。この間に対するアプローチの一つとして、ヒスタミン神経に入力する神経細胞を同定し、どのような情報が同時に送られるかを解明することがあげられる。そこで我々は遺伝子改変型狂犬病ウイルスによる逆行性トランスシナプス標識法を用い、ヒスタミン神経にシナプス入力する神経細胞の解析を行った。今回用いたヒスタミン神経特異的 Cre マウスの系統では、腹側部の E1 と E2 亜核を中心に狂犬病ウイルスが初期感染し、これに対する入力神経は視索前野、視床下部、乳頭体を中心に観察された。また、入力神経の一部について機能的解析を行い、腹外側視索前野核に見出された入力神経は主に GABA 作動性であり、ノルアドレナリン及びセロトニンで抑制されるため、睡眠中枢を構成する神経細胞と認められた。このようにヒスタミン神経への入力層を構成する神経群を組織的かつ機能的に解析することで、ヒスタミン神経系の機能的役割を解明する一助となると考えられる。(利益相反 なし)

O-10. 次世代型アルツハイマーモデルマウス (APP-KI) における酸化ストレスの検討

本江信子¹, ○高村雄策¹, 西丸広史¹, 松本惇平¹, 戸邊一之², 齊藤貴志³, 西道隆臣³, 小野武年¹, 西条寿夫¹ (¹富山大学医学部システム情動科学, ²富山大学医学部第一内科, ³理化学研究所脳科学総合研究センター神経蛋白質制御研究チーム)

アミロイド前駆体タンパク質 (APP) に家族性アルツハイマー病の遺伝子変異をノックインすることにより次世代型アルツハイマーモデルマウスを作製した (Saito et al., 2014). 本マウスは、APP の非生理的な過剰発現を伴わずに

脳内にアミロイドを蓄積し、ヒトのアルツハイマー病に類似した病態を示す。一方、アミロイド蓄積による酸化ストレスは、アルツハイマー病の病態の一つであることが示唆されている。本研究では、生後6ヶ月よりアミロイド斑を形成し、18ヶ月齢でY迷路において記憶障害の低下が報告されているSwedish変異およびBeyreuther/Iberian変異を挿入したAPP^{NL-F}マウスを用い、脳内の酸化ストレスの指標として4-hydroxynonenal結合タンパク質(4-HNE)量を測定し、記憶障害との関連性を解析した。

APP^{NL-F}マウスは、バーンズ迷路の学習1週間後のプロベテストにおいて正常マウスと比較してゴール滞在時間が減少し、記憶障害を呈した。アミロイドβ(42)(Aβ42)量は、APP^{NL-F}マウスでは正常マウスに比べ、内側前頭前野、海馬、および扁桃体において増加していた。4-HNE量は、APP^{NL-F}マウスでは正常マウスと比較して、内側前頭前野および海馬において増加し、Aβ42量と正相関が認められた。一方、扁桃体では4-HNEの増加は認められなかった。

以上から、APP^{NL-F}マウスの脳内ではAβ42の蓄積に伴い過酸化生成物が生成されており、酸化ストレスをターゲットとしたアルツハイマー病の予防や治療の可能性が示唆された。(利益相反 なし)

O-11. リドカイン筋注による鎮痛における末梢TRPチャネルの関与

○那須輝顕, 内村佳子, 水村和枝 (中部大学生命健康科学部理学療法学科)

【目的】筋骨格系の痛みの治療にトリガーポイント注射が行われており、それにはリドカインが良く使われる。しかし、その鎮痛機構の解明はまだ不十分である。そこで我々は、線維筋痛症のモデル動物である繰り返す寒冷ストレス(以下RCSと略す)ラットを用いて、リドカイン筋注の鎮痛効果の機序について行動薬理学的手法を用いて検討した。

【方法】腓腹筋の機械逃避閾値をRandall-Selitto装置で測定し、痛みが持続しているRCS負荷後2週目に1)リドカインの鎮痛効果、2)末梢TRPチャネルの関与と中枢性機構について調べた。

【結果】RCS後に低下した筋逃避閾値は、リドカイン筋注によって30分後から1時間後までRCS負荷前値にまで回復した。なお対側の腓腹筋でも同程度の効果が観察された。TRPチャネル非選択的拮抗薬(ruthenium red)でその鎮痛効果は投与側だけでなく反対側も消失した。更に中枢神経系で鎮痛に関与するアドレナリン、セロトニン、アセチルコリン、GABAの受容体の拮抗薬をリドカイン投与前に腹腔内投与したところ、その鎮痛効果発現は抑制された。更にオピオイド受容体のアンタゴニストの腹腔内投与によっ

ても鎮痛効果発現が抑制された。

【考察】上記の結果から、リドカイン筋注によって末梢のTRPチャネルを活性化しその求心性入力によって、中枢神経系の内因性鎮痛系が活性化されて鎮痛が起きると考えられる。(利益相反 なし)

O-12. 心理ストレスによる交感神経反応を駆動する皮質-視床下部伝達路

片岡直也¹, ○中村和弘^{1,2} (¹名古屋大学大学院医学系研究科統合生理学, ²JST・さがけ)

心理ストレスで引き起こされる体温や脈拍などの上昇は哺乳類で幅広く観察される交感神経反応である。脳のストレス信号は視床下部背内側部から延髄縫線核への神経投射を活性化し、交感神経反応を惹起する。しかし、視床下部背内側部ニューロンをストレス信号が活性化する上位のメカニズムは不明である。我々は、*in vivo* 生理実験や神経トレーシング実験を行い、腹側前頭前皮質が視床下部背内側部へストレス信号を入力することを見出した。社会心理ストレスモデルである社会的敗北ストレスをラットに与えると、腹側前頭前皮質から視床下部背内側部へ投射するニューロンが神経の活性化マーカーであるFosを発現した。さらに、自由行動ラットの腹側前頭前皮質ニューロンへ神経抑制剤であるムシモールを微量注入すると、社会的敗北ストレスによる褐色脂肪熱産生、体温、血圧、脈拍の上昇が大きく減弱した。このストレス性体温上昇は、視床下部背内側部へグルタミン酸受容体拮抗薬(AP5/CNQX)を微量注入することでも減弱した。そこで、腹側前頭前皮質から視床下部背内側部への直接の神経投射が褐色脂肪熱産生を駆動するかを*in vivo* 光遺伝学実験によって検証した。光駆動性カチオンチャネル, ChIEFをウイルスを用いて腹側前頭前皮質ニューロンに発現させると、視床下部背内側部に伸びた軸索終末にChIEFが局在していた。麻酔下のラットに光ファイバーを挿入して、この軸索終末へ光照射を行うと、褐色脂肪交感神経活動、褐色脂肪組織温度、血圧、脈拍の上昇が観察された。この反応はAP5/CNQXを視床下部背内側部に微量注入することで消失した。以上の結果から、心理ストレス信号は腹側前頭前皮質から視床下部背内側部へのグルタミン酸作動性神経伝達によって伝達され、その結果、視床下部背内側部の下流に位置する延髄縫線核からの交感神経プレモーター出力が亢進することによりストレス性交感神経反応が引き起こされるというメカニズムが明らかとなった。(利益相反 なし)

O-13. 全身性多汗症に対する塩化アルミニウム長期外用療法における体温調節機能と汗腺病理組織変化

○犬飼洋子, 岩瀬 敏, 佐藤麻紀, 清水祐樹, 佐藤元彦
(愛知医科大学医学部生理学)

塩化アルミニウム ($AlCl_3$) 外用療法は, 原発性局所多汗症の制汗に有効で第 1 選択だが, 全身長期連用による体温調節機能, 汗腺構造の変化の報告は無い. 全身性多汗症での長期連用で不可逆的無汗となった 1 例でそれらを検討した. 症例は 44 歳の男性で, 15 歳から多汗を自覚した. 28 歳時, 尿中, 血漿カテコールアミン軽度上昇以外異常なし. 頭部 MRI で下垂体, 視床下部, 脳幹などに異常なし. 発汗は同年代男性対照に比べ開始が早く多量で, 汗腺組織は正常だった. 以上より特発性全身性多汗症と診断され, 20% $AlCl_3$ 水溶液塗布を開始 (1 回/日, 眠前), 著効し, 毎日塗り重ねた. 温熱性発汗試験 (人工気候室で室温 40℃, Minor 法で全身発汗分布を観察, 核心温として鼓膜温を同時測定), 皮膚生検 (Tyler technique で連続切片) で汗腺構造を, 経時的に調べた. 連用 7 年目の塗布時の, 暑熱負荷による鼓膜温上昇度は, 特発性後天性全身性無汗症の男性平均値と同等に高かったが, 連用中止で徐々に低くなり, 体温調節機能は復活した. 14 年連用後には中止しても発汗はほぼ復活せず, 全発汗量は少なく, 鼓膜温上昇度は無汗症とほぼ同等に高かった. エクリン汗管内腔が拡大し, 腺房細胞が泡沫化し, 真皮内汗管が消失した時点で無汗は不可逆的となり, その後腺房の退縮, 汗分泌上皮細胞の萎縮, 内腔拡大, 汗腺消失に至ることを確認した. 汗管が消失する前なら, 塗布中止後も発汗は復活し体温調節機能が改善するといえる. (利益相反 なし)

O-14. ラットの食道蠕動を解析できる in vivo 実験法の確立

○堀井和広, 中森裕之, 内藤清惟, 椎名貴彦, 志水泰武
(岐阜大学大学院連合獣医学研究科獣医生理学研究室)

【背景と目的】食道の蠕動運動は, 延髄により迷走神経を介して制御されている. そのため, 中枢との連絡が切断された摘出標本は食道蠕動の制御機構を解明する研究には適さない. そこで本研究では, ラットを用いて食道蠕動を解析できる in vivo 実験法を確立することを目的とした.

【材料と方法】麻酔下ラットの口腔から食道内腔へバルーンを挿入した. バルーン内に一定の速度で水を注入し, 蠕動運動を誘発した. 蠕動運動に伴うバルーンの移送を等張性トランスデューサーで記録し, 移送距離や移送に要した時間, 運動誘発の閾値を解析した.

【結果と考察】食道内腔でバルーンを拡張すると, 口腔側から胃側へとバルーンが移送された. しかし迷走神経切断後では, バルーンを拡張しても移送は誘発されなかった. このことはバルーン拡張により, 迷走神経を介する食道蠕

動を誘発できたことを示している. 30 分のインターバルでバルーン拡張を繰り返すと, 運動誘発の閾値, バルーンの移送距離および速度のほぼ一致した食道蠕動が再現性よく誘発された. そこでこの方法を用いて, 食道蠕動の制御因子として一酸化窒素 (NO) の関与を調べた. NO 合成酵素阻害薬である L-NAME 投与後では, バルーンを拡張しても食道蠕動は起こらなくなった. この結果から, 伸展刺激により誘発されるラット食道蠕動には, NO が関与していることが示唆された. 以上より食道蠕動の制御機構の解明に有用な in vivo 実験系が確立されたといえる. (利益相反 なし)

O-15. Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes

○T. Li^{1,2}, C.T. Saito², S. Saito^{1,2}, M. Tominaga^{1,2} (¹Department of Physiological Sciences, SOKENDAI, Okazaki, Japan, ²Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National Institute for Physiological Sciences), Okazaki, Japan)

Mosquitoes have long been recognized as crucial vectors for transmission of malaria and other epidemic diseases in tropical and subtropical areas. Transient receptor potential channel, subfamily A, member 1 (TRPA1) channel of mosquito is a key transducer of various sensory stimulations, which plays an important role in nociception and has been thought to be a specific target for repellents. Nevertheless, physiological characteristics of mosquito TRPA1 have not been systematically compared among species. In this project, functional properties of TRPA1 isoforms from *Anopheles gambiae* (Ag), *Anopheles stephensi* (As), and *Aedes aegypti* (Aa) were characterized. Responses of mosquito TRPA1 isoforms to heat or chemicals were examined by calcium-imaging and whole-cell patch-clamp recording. Three novel mosquito TRPA1 agonists were discovered. The activity of TRPA1 splicing variants were different; TRPA1b showed higher responses to both heat and chemicals compared to TRPA1a in all three species. Temperature thresholds for heat-evoked activation of mosquito TRPA1b channels have been found to be quite similar. We also found that short N-terminal domain region of TRPA1b played a crucial role in responses to heat and chemicals. Better understanding of functional properties of mosquito TRPA1 may provide insight into the design of the novel repellents and specific animal models for controlling mosquito-borne diseases. (COI none)

O-16. TMEM16F の機能的多様性の連関機構の解析

○清水貴浩, 鍋島彰太, 藤井拓人, 小澤茂喜, 酒井秀紀
(富山大学大学院医学薬学研究部(薬)薬物生理学)

Transmembrane protein 16 (TMEM16) は, 機能的多様性を示す 10 回膜貫通型タンパク質ファミリーである. これまでに TMEM16F は, 細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度に依存して活性化する Cl^- チャンネル (CaCC) としてだけでなく, リン脂質の対称性を崩壊するスクランブラーゼとしても機能することが知られている. 昨年の本会において我々は, この TMEM16F の両機能が正に相関することを報告したが, イオン輸送とリン脂質輸送の機能連関メカニズムはほとんど明らかになっていない. そこで本研究では, ヒト TMEM16F の各種変異体を過剰発現させた HEK293T 細胞の CaCC 機能およびリン脂質スクランブラーゼ機能を, それぞれパッチクランプホールセル記録法および annexin V-phycoerythrin (PE) を用いた flow cytometry 解析により観測し, 両機能における TMEM16F 変異の影響について検討した. イオンチャネルゲーティングを解析するため, CaCC のテール電流を観測した. 高い Ca^{2+} 感受性を示すことが知られている TMEM16F 変異体において, CaCC 能やリン脂質輸送能が亢進しただけでなく, テール電流の減衰が遅延した. また TMEM16F の推定上の膜貫通領域の変異体においても, スクランブラーゼ能とともにテール電流の変化が見出された. 以上の結果から, TMEM16F のチャネルゲーティングが, スクランブラーゼ能に影響を与えることが示唆された. (利益相反 なし)

O-17. 血管内皮細胞における線溶開始酵素 (t-PA) 活性の定量評価と変異型 t-PA の機能解析

○鈴木優子, 佐野秀人, M. Maess, 田中宏樹, 浦野哲盟
(浜松医科大学医学部医生理学)

血管内皮細胞は, 血栓形成を抑制し血液の流動性ならびに血管壁の恒常性の維持に大きく関与する. 血栓溶解開始因子である組織型プラスミノゲンアクチベータ (t-PA) は活性型酵素として血管内皮細胞から分泌され, 血漿中のプラスミノゲン (plg) をプラスミン (plm) に活性化し, 生じた plm がフィブリン (fn) を分解する. fn や細胞表面などの固相では t-PA による plg の活性化が増強するが, これは t-PA/plg/固相の三者複合体形成と固相への結合に伴う plg の構造変化による. 我々は細胞表面における t-PA による plg 活性化機構に着目し, 培養血管内皮細胞において GFP 融合 t-PA (tPA-GFP) 発現系を用いた可視化解析を進めてきた. 分泌後の t-PA は重鎖依存性に細胞表面に滞留すること, この滞留現象は内皮上における t-PA 活性発現に重要であることを明らかにした. さらに tPA-GFP 分泌

量を定量化するとともにその活性発現を①内皮細胞上に作成した fn クロット溶解時間 (CLT) と②発色基質による内皮細胞由来 plm 生成率 (RPG) により評価した. tPA-GFP 発現細胞において, 培養上清中の GFP 濃度と①は強い負の相関 ($r = -0.93$) を, ②は強い正の相関 ($r_s = +0.81$) を示した. 分泌後の細胞表面への滞留度が異なる変異型 tPA-GFP では, 野生型と異なるパターンを示した. これより CLT と RPG は異なる機構による plm 活性を反映しており, 両者の併用は細胞表面あるいは fn 固相への結合性が異なる PA 活性発現の評価に有用であると考えられた. (利益相反 なし)

O-18. アディポネクチンの抗動脈硬化作用の検討

○垣野明美^{1,2}, 藤田佳子^{1,3}, 堀内清香¹, 沢村達也^{1,3}
(¹信州大学医学部生理学, ²信州大学バイオメディカル研究所, ³信州大学次世代医療研究センター)

背景: アディポネクチンは抗糖尿病や抗炎症作用をもち心血管系に対して保護的に働き, これらの作用は受容体 AdipoR1/2 を介していることが明らかにされてきている. またアディポネクチンは抗動脈硬化作用をもつことが動物実験などで証明されているが, その作用機序は必ずしも明らかにはなっていない. 一方, 動脈硬化進展には酸化 LDL-受容体相互作用が重要である.

目的: 本研究では, アディポネクチンが動脈硬化の原因分子である酸化 LDL に直接作用し, 酸化 LDL 阻害作用を発揮する可能性を検討した.

方法・結果: はじめに, アディポネクチンの酸化 LDL への結合を ELISA を用いて調べた結果, 正常 LDL に比べて酸化 LDL に強くアディポネクチンの結合が認められた. さらに, ヒト血漿から精製した変性 LDL 中には, 正常 LDL に比べてアディポネクチンが濃縮されており, 実際の血液中でもアディポネクチンが結合していると考えられた. また, 酸化 LDL 受容体 LOX-1 発現細胞や, 血管内皮細胞を用いて調べた結果, アディポネクチンは酸化 LDL 受容体 LOX-1 を介した酸化 LDL の取込みを抑制し, 酸化 LDL が引き起こす NF- κ B 活性化や ERK リン酸化を阻害した. 以上より, アディポネクチンは酸化 LDL の受容体への結合を阻害することで酸化 LDL による内皮障害に対して抑制的に働く可能性が考えられた.

結論: 血中アディポネクチンの低下は酸化 LDL 作用を増強し, 酸化 LDL を原因とする心血管疾患発症を促進することが示唆される. (利益相反 なし)

O-19. C2C12 筋芽細胞の 3 次元分化誘導と構造変化

○太田一城¹, 鷲谷 衛¹, 高梨恭一¹, 穂積直裕¹, 小林

和人², 吉田祥子¹ (¹豊橋技術科学大学大学院工学系研究科, ²本多電子株式会社)

筋芽細胞は、高濃度の細胞増殖因子を含む増殖培地中では増殖するが、その後、貧栄養にすると増殖は止まり、筋芽細胞同士が融合して多核の筋管細胞を形成する。本研究ではマウス筋原細胞 C2C12 細胞を用いて、培養器内で Cellmatrix TypeI-A コラーゲンゲル (新田ゼラチン) による 3 次元培養を行い、増殖・分化の様子を観察した。さらに、HDAC 阻害剤であるバルプロ酸 (VPA) が分化に与える影響を調べた。

マウス由来 C2C12 細胞 (DS ファーマ) を、10% ウシ胎児血清添加 HMEM 培地で増殖し、十分に増殖した後に無血清培地に交換して分化させた。培養にはシャーレ型フィルム培養器 (メニコン) を用いた。3 次元培養の効果を観察するため、①コラーゲンゲル (新田ゼラチン) を固めた上に細胞を播種し培養する方法と、②細胞を含んだコラーゲンゲルを培養器に分注するコラーゲンゲル包埋培養の 2 通りの方法で培養を行った。構造の変化は光学顕微鏡と共焦点顕微鏡を用いて観察した。①においては山なりになったゲルに沿って細胞が立体的に増殖・分化している様子が観察された一方、②ではゲルに混ざった細胞が全方向に伸びていく様子が観察された。

さらに、分化誘導 4 日後に VPA を 0.1, 1.0, 10 μ M で 24 時間処理し、光学顕微鏡、共焦点顕微鏡、超音波顕微鏡で観察した。0.1 μ M 処理が最も分化した形態をとったがその差は小さなものだった。

今後はさらにゲル培養に改良を加え、より高次の 3 次元培養と筋組織分化を目指したい。(利益相反 なし)

O-20. 超音波顕微鏡を用いた C2C12 細胞の分化に伴う細胞内変化の非侵襲観察

○鷲谷 衛¹, 高梨恭一², 太田一城¹, 小林和人³, 穂積直裕², 吉田祥子¹ (¹豊橋技術科学大学環境生命工学, ²豊橋技術科学大学電気電子情報工学, ³本多電子株式会社)

C2C12 細胞は、マウス由来の筋芽細胞クローンで、貧栄養などの分化誘導により培養下で筋管細胞となる。本研究では中心周波数 300MHz の超音波顕微鏡を用いて、PS film dish (Menicon Co., Ltd.) 上で培養した C2C12 細胞の分化に伴う細胞内変化を非損傷・非侵襲で観察した。超音波顕微鏡は、生きたままの培養細胞の細胞内の体積弾性率を可視化することが可能で、特に細胞骨格の構成タンパク質の一つである F-アクチンと体積弾性率が深く関係することから、細胞骨格の内部状態や分布の観察に適している。以前の研究から、分化に伴い C2C12 細胞内の体積弾性率が変化することを観察している。

無血清培地に交換、又は無血清培地に交換時に小胞体ストレス誘導剤の一つであるタブシガルギン処理して分化誘導した C2C12 細胞に対し、超音波顕微鏡による生きた細胞の経時的音響インピーダンス観察、及び固定細胞の筋管細胞依存性ミオシンタンパク質 (MY-32) 及び M-カドヘリンの発現、核の免疫細胞化学的観察を行った。さらに F-アクチン脱重合剤の一つであるサイトカラシン B 処理して細胞分化に対する影響を観察した。

タブシガルギン処理による分化誘導促進した C2C12 細胞は、円盤状の高インピーダンス部位を示し、細胞融合による多核化、繊維状の MY-32 の発現、及び M-カドヘリン発現を確認した。インピーダンス変化は経時的に一旦減少した後、増加した。分化した C2C12 細胞内の高インピーダンス部位は、未分化細胞に比べてサイトカラシン B 処理に抵抗性を示した。(利益相反 なし)

O-21. 内耳蝸牛の特殊体液の恒常性維持に関与する膜タンパク質の網羅的解析

○澤村晴志朗¹, 野々村頼子^{1,2}, 任 書見¹, 上塚 学³, 猪原秀典³, 堀井 新², 高橋 姿², 永森收志⁴, 金井好克⁴, 日比野 浩¹ (¹新潟大学大学院医歯学総合研究科・分子生理学, ²新潟大学大学院医歯学総合研究科・耳鼻咽喉科・頭頸部外科, ³大阪大学大学院医学系研究科耳鼻咽喉科頭頸部外科, ⁴大阪大学大学院医学系研究科薬理学講座生体システム薬理学)

音の末梢受容器官である内耳蝸牛は、150mM の K⁺濃度と +80mV の高電位を示す「内リンパ液」で満たされる。この特殊な細胞外液では、浸透圧や酸塩基平衡も厳密に制御されている。これらの内リンパ液環境は、聴覚に必須であり、蝸牛側壁を構成する「血管条」と「らせん靱帯」を介したイオン輸送により保たれる。以前に我々は、血管条の網羅的解析により、1807 種類の膜タンパク質を同定し、その中から 25 種のイオンチャンネルと 79 種類の輸送体を見出した。本研究では、蝸牛側壁のイオン輸送を司る分子プロフィールを包括的に明らかにするため、らせん靱帯を標的とした膜タンパク質を網羅的に解析した。らせん靱帯は血管条と密に結合しているため、単離する際に純度が問題となる。そこで、ラット蝸牛にビオチンを灌流してらせん靱帯のみを標識した。そして、実体顕微鏡下で血管条かららせん靱帯を分離し、抽出タンパク質をビオチン強親和性ビーズで精製した。このサンプルを質量分析で解析した結果、820 種類のタンパク質が同定された。この内、474 種類 (全体の約 58%) は膜タンパク質であった。また、形質膜に発現する 5 種類のイオンチャンネル、18 種類のイオン輸送体を認めた。本研究の成果は、内リンパ液の恒常性維持に重

要な蝸牛イオン輸送の分子実態の解明のみならず、その破綻が関わる内耳疾患の病態生理メカニズムの理解に有用な情報を提供すると考えられた。(利益相反 なし)

O-22. 内耳ナノ振動を標的としたレーザ干渉計の作製と技術展開

○太田 岳^{1,2}, 崔 森悦^{2,3}, 任 書見^{1,2,4}, 日比野 浩^{1,2,4} (¹新潟大院医歯学総合研究科分子生理学, ²AMED-CREST・AMED, ³新潟大学工学部, ⁴新潟大学超域学院)

内耳蝸牛は聴覚の末梢器官である。空気の振動である音が蝸牛に達すると、有毛細胞層、支持細胞層、細胞外基質層からなる積層組織「感覚上皮帯」がナノ振動する。この振動が有毛細胞により電気信号に変換され、脳へと伝えられる。感覚上皮帯は、小さな音ほど敏感に、大きな音には鈍感に反応する。この「非線形性増幅」の成立には、有毛細胞の能動的な動作が関わりと指摘されているが、詳細は謎である。そこで、生きた動物の上皮帯のナノ振動を捉えることを目的として、本研究では、古典的なレーザ干渉法を大幅に改良した振動計を創出した。「二重正弦波位相変調 (Dual SPM) 法」と名付けた本手法により、生体を模したピエゾ素子において最小 10pm の振動振幅を検出した。生モルモット蝸牛では、入力音圧に対し非線形応答する上皮帯の振動を確認した。ここでの検出最小値は、0.3nm であった。また、以前の報告通り、非線形性は動物の死後には消失した。Dual SPM 法に基づく方法は対象物の段差を計測できることが、元々、振動振幅の取得とは別途に見出されていた。これを活用・工夫し、本研究では、振動の振幅とその中心の「位置ずれ」を同時に捉えるように技術展開した。振動させたピエゾ素子では、位置ずれを 1nm まで追尾できた。この技術を上皮帯測定へ最適化・応用すれば、蝸牛の非線形的な増幅応答を支える新たな作動原理が抽出されると示唆された。(利益相反 なし)

O-23. 生体内局所の薬物動態とその作用をリアルタイム計測する薬物モニタースステムの活用

○緒方元気^{1,2}, 浅井 開³, 石井雄也³, 佐野大和⁴, 任書見^{1,2}, 吉田崇正^{1,5}, 澤村晴志朗¹, 高井まどか⁶, 楠原洋之⁴, 栄長泰明^{3,7}, 日比野 浩^{1,2} (¹新潟大院医歯分子生理, ²同 超域学院, ³慶應大理工・化学, ⁴東京大院薬・分子薬物動態, ⁵九州大院医・耳鼻科, ⁶東京大院工・バイオエンジニアリング, ⁷JST-ACCEL)

生体に投与した薬物が、各々の臓器の“局所”へ如何に分布しどのような濃度変化を示すか、そしてどのような作用を及ぼすかをリアルタイム観測することは、薬効や毒性

の仕組みを理解する上で重要である。現在、薬物測定法は、体液などを採取し分析機にかける方法が主流である。しかし、この従来法では、“局所”薬物濃度の、リアルタイム計測は困難である。また、種々の生体信号計測器との統合も難しい。以上を踏まえ、我々は、「導電性ダイヤモンド」を用いた計測システムを創出した。これは、薬物濃度を測定する針状ダイヤモンドセンサーと、電気活動の測定を指向した微小ガラス電極を搭載する。以前我々は、げっ歯類に利尿薬ブメタニドを静注した際、この薬の局所反応を内耳や脳にて捉え、報告した。今回は、抗てんかん薬ラモトリギンと抗がん剤ドキシソルビシンを試した。ラットにラモトリギンを静注すると、脳内では、ゆっくりとしたラモトリギンの濃度上昇が観察された。神経活動を示す電場電位は、薬物濃度の上昇開始とともに強く抑制された。モルモットへドキシソルビシンを静注し、内耳で計測すると、薬物濃度の急激な上昇と、それに続く持続的な低下が測定された。同時に微小ガラス電極で観測した内耳電位は、変化しなかった。この結果は、難聴を起こさないドキシソルビシンの性質に合致していた。以上より、この計測システムは、多彩な薬物に適用可能であり、汎用性があると示唆された。(利益相反 なし)

O-24. Auditory input shapes tonotopic differentiation of Kv1.1 expression in avian cochlear nucleus during late development

○N. Akter, R. Adachi, A. Kato, R. Fukaya, H. Kuba (Dept. of Cell Physiology, Nagoya University, Graduate School of Medicine)

Tonotopic differentiation is fundamental for signal processing in the auditory system. However, when and how this differentiation arises remains elusive. We addressed this issue using electrophysiology and immunohistochemistry in nucleus magnocellularis (NM) of chickens, which is known to differ in the expression of Kv1.1 channels depending on the characteristic frequency (CF). Just after hearing onset (embryonic day 12), Kv1 current increased in NM neurons, and the extent was larger for neurons with higher CF, causing a slight tonotopic difference of Kv1 current before hatch. In contrast, a drastic increase of Kv1 current occurred after hatch particularly in higher-CF neurons, due to an augmentation of Kv1.1 expression at the plasma membrane, leading to the large tonotopic difference of Kv1 current in mature animals. Attenuation of auditory input by inducing conductive or sensorineural hearing loss suppressed the differentiation in a level-

dependent manner after hatch. Moreover, elevation of auditory input during embryonic periods could not reproduce the differentiation, suggesting that the capability of neurons to express Kv1.1 via auditory input increases in cell- and period-specific manners, which underlies the frequency-specific expression of the channel within the nucleus. The results indicated that the tonotopic differentiation of Kv1.1 in NM is roughly determined via intrinsic mechanisms before hatch, but largely established by peripheral input after hatch. Our results highlight the importance of neuronal capability as well as the timing and level of auditory experience in the frequency tuning of brainstem auditory circuits. (COI none)

P-1. 消化管微小領域における協調的電気興奮

○中山晋介 (名古屋大学医学部生理学)

消化管は体内にある極めて長い臓器であり、各部位では様々な協調運動が見られる。この運動の基盤には微小領域の電氣的興奮連携が必須であり、それは機能状態に応じて多様に修飾されると考えられる。また、電気活動の特性として、Slow waves と呼称されるペースメーカー細胞に起因する電位や、平滑筋から発生すると考えられるスパイク状の電位など様々な種類が存在する。そこで、この多様な消化管運動のための電気活動を計測・評価するために、透析膜微小電極 (Microelectrode array: MEA) アレイ法を開発した。広帯域の電気現象を計測するために、低インピーダンス MEA を使用した。マウス消化管の様々な部位の筋層を剥離し、透析膜下にスライスアンカーにより固定した。本方法を用いると、(記録用)微小電極と参照電極間のアクセス抵抗、及び微小電極間の隔絶抵抗が十分に安定すると考えられる。

本発表では、透析膜微小電極アレイ法 (記録領域: 約 1 mm²) によるマウス胃・小腸・結腸筋層での計測と解析例を報告する。以下の事項が特記される。1) 結腸標本において、筋電気複合体 (Myoelectric complex) と呼ばれる複数の細胞群の重複興奮電位が観察された。徐振動 (slow oscillation) を速振動 (rapid oscillations) が先導した。2) 小腸において微小電極から通電することで内在神経を局所刺激したところ、興奮性神経伝達で惹起される神経筋接合部電位 (電流) の閾値下での伝搬 (電気緊張電位・電流) を観察した。その振幅が 0.5mm 以内での大きな減衰は、多次元の電気伝導を示唆した。3) DHP Ca 拮抗薬存在下での小腸 MEA データを電位マッピングビデオで観察したところ、ペースメーカー電位伝搬は、大別して 3 つのパターン (Bumpy, Expanding, Migrating) に分類された。その一

つ migrating パターンでは、ペースメーカー電流ソース領域は、電流シンクに先導され容積伝導体として移動することが観察された。類似のペースメーカー電位伝搬は、胃筋層においても観察された。(利益相反 なし)

P-2. G 蛋白活性調節因子による脈絡膜血管新生の制御

○林 寿来¹, MA. Al¹, 山村 彩¹, 佐喜真未帆¹, 武山 正行², 雑喉正泰², 矢ヶ崎莉菜³, 中原 努³, 瓶井資弘², 佐藤元彦¹ (¹愛知医科大学医学部生理学講座, ²同医学部眼科学講座, ³北里大学薬学部分子薬理学講座)

血管内皮増殖因子 (VEGF) は、正常・異常時における血管形成を担うシグナルの中心的役割を担う。我々は以前、三量体 G 蛋白の Gβγ Subunit 結合分子である G 蛋白活性調節因子 (activator of G-protein signaling 8, AGS8) を同定した。AGS8 は血管内皮細胞において VEGF2 型受容体 (VEGFR-2) や VEGF3 型受容体 (VEGFR-3) と複合体を形成し、VEGF リガンドによる受容体リン酸化と血管新生やリンパ管新生を制御していることを昨年報告した。本研究では血管病態における AGS8 の関与に関して、滲出型加齢黄斑変性の原因とされている脈絡膜血管新生に着目した。VEGF はこの疾患における憎悪因子であり、実際に脈絡膜における VEGF 阻害が治療に用いられていることから、今回 AGS8 が新しい標的分子になるのかについて検討を行った。脈絡膜由来の培養血管内皮細胞に対して AGS8 をノックダウンしたところ、VEGFR-2 リン酸化の減少とともに、細胞増殖、細胞移動、管腔形成の抑制が確認されたことから、脈絡膜血管新生における AGS8 の関与が考えられた。そこで、*in vivo* 加齢黄斑変性モデルとして、C57BL/6/N 背景の野生型マウス眼球にレーザー照射による光凝固を行い脈絡膜に血管新生を誘導した。その結果、術後の血管新生に伴う AGS8 mRNA の発現上昇 [238.3 ± 24.2%] と、新生血管部位特異的な AGS8 蛋白の発現誘導が認められた。次にレーザー照射後、硝子体に siRNA の投与を行い AGS8 のノックダウンを行ったところ、脈絡膜における AGS8 分子の発現が抑制され [54.0 ± 18.2%]、これに符合するように新生血管の有意な減少が確認された。以上の結果から、AGS8 は生体内で脈絡膜血管新生を制御すること、さらに AGS8 の抑制により血管新生を抑制できることが示された。(利益相反 なし)

P-3. Angiopoietin-2 is not involved in anaphylaxis-induced hyperpermeability in anesthetized rats and mice

○W. Yang, T. Shibamoto, Y. Kuda, T. Zhang, M. Tanida, Y. Kurata (Department of Physiology II, Ka-

nazawa Medical University)

Angiotensin (Angpt)-2, an endothelial growth factor, increases vascular permeability, and has been implicated in the pathogenesis of sepsis and acute lung injury, as evidenced by significant correlations between plasma Angpt-2 levels and the severity of sepsis and overall mortality. However, the roles of Angpt-2 in the hyperpermeability of systemic anaphylaxis is not known. Thus, we determined the plasma Angpt-2 levels during anaphylactic hypotension in anesthetized Sprague-Dawley rats and BALB/c and C57BL mice, which were sensitized with ovalbumin. Mean arterial blood pressure (MBP) was measured, and hematocrit (Hct) and plasma Angpt-2 levels (ELISA) were assessed at baseline, 20 and 60 min after antigen. Separately, vascular permeability to albumin was examined using the Evans blue dye method at 20 min after antigen in rats and C57BL mice. At 20 min after antigen, in both sensitized mice and rats, MBP and Hct were significantly and substantially decreased and increased, respectively. Thereafter, Hct did not increase further at 60 min after antigen. Vascular permeability was increased in both rats and mice at 20 min after antigen. Plasma Angpt-2 did not change significantly after antigen in mice of either strain. In rats, plasma Angpt-2 levels also did not change until 60 min, when they increased in both non-sensitized and sensitized rats with a greater magnitude in the sensitized rats. In conclusion, Angpt-2 is not involved in anaphylaxis-induced hyperpermeability in anesthetized rats and mice. (COI none)

P-4. Activation mechanisms of G-protein-gated inwardly rectifying K⁺ channel by ivermectin

○I-S. Chen^{1,3}, M. Tateyama^{1,3}, Y. Fukata^{2,3}, M. Ue-sugi⁴, Y. Kubo^{1,3} (¹Div Biophys and Neurobiol, NIPS, ²Div Membr Physiol, NIPS, ³Physiol Sci, SOKENDAI, ⁴CeMS, Kyoto Univ)

Ivermectin (IVM) is a widely used antiparasitic drug in humans and pets which activates glutamate-gated Cl⁻ channel in parasites. It is also known that IVM binds to the transmembrane domains (TMs) of several ligand-gated channels, such as Cys-loop receptors and P2X receptors. In this study, we found that the G-protein-gated inwardly rectifying K⁺ (GIRK) channel is activated by IVM directly. Electrophysiological recordings in *Xenopus* oocytes revealed that IVM activates GIRK channel in a

phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP₂)-dependent manner, and that the IVM-mediated GIRK activation is independent of G_{βγ} subunits. We found that IVM activates GIRK2 more efficiently than GIRK4. In cultured hippocampal neurons, we also observed that IVM activates native GIRK current. Chimeric and mutagenesis analyses identified an amino acid residue unique to GIRK2 among the GIRK family, Ile82, located in the slide helix between the TM1 and the N-terminal cytoplasmic tail domain (CTD), which is critical for the activation. The results demonstrate that the TM-CTD interface in GIRK channels, rather than the TMs, governs IVM-mediated activation. These findings provide us with novel insights on the mode of action of IVM in ion channels that could lead to identification of new pharmacophores which activate the GIRK channel. (COI none)

P-5. てんかん原性獲得過程における抑制性神経とグリア細胞の相互作用

○武藤弘樹, 福田敦夫 (浜松医科大学医学部神経生理学講座)

てんかん原性は種々の要因で長期間にわたり神経回路の興奮—抑制バランスが乱れることで形成され、最近グリア細胞の関与も報告されているが、その機序、特に抑制系に対するものはいまだ解明されていない。そこで、てんかん原性獲得過程における抑制性神経とグリア細胞の相互作用について調べた。てんかん原性過程の変化を観察するため、低濃度 Pilocarpine 複数回投与によりモデルマウスを作製した。てんかん重積発作終息後 3 日目の脳組織を抗 GABA 抗体と抗 GFAP 抗体で染色し 3 次元で画像解析したところ、海馬 CA1 と歯状回で GABA 陽性細胞数の減少と GFAP 陽性 fragment 数と総表面積が増加していた。一方、大脳皮質運動野と感覚野では GFAP 陽性 fragment 数と総表面積は増加したが、GABA 陽性細胞数の変化はなかった。興味深いことにこれらのうち GABA と GFAP 両方に陽性な fragment が存在し、その fragment は SE3 日後のモデルマウスで数と総表面積がコントロール群に比べ著しく増加していた。

以上から、てんかん原性獲得過程で抑制性神経の減少とアストロサイトによる GABA の細胞内蓄積が起こることが明らかとなった。神経回路の興奮—抑制バランス崩壊との因果関係は不明であるが、現在、これらの時間経過やそのメカニズムについて解析している。(利益相反 なし)

P-6. イオンイメージセンサによる脳内 pH イメージング

○堀内 浩¹, 石田順子¹, 中村友亮², 稲田浩之¹, 揚妻正和¹, 和氣弘明³, 澤田和明², 鍋倉淳一¹ (¹生理学研究所生体恒常性発達研究部門, ²豊橋技術科学大学工学部集積電子システム分野, ³神戸大学大学院医学研究科システム生理学分野)

本研究は、新規に開発した pH イオンセンサを用いた脳内 pH イメージングである。最近の報告から、脳内 pH は一定ではなく不均一な状態であること、外的環境に応じて変化することが示されている (Magnotta et al, 2012)。さらに、H⁺ は神経活動に応じてシナプス前終末から放出され、神経伝達物質として機能することが示された (Du et al, 2014)。しかしながら、生体脳における神経回路レベルでの pH の挙動は明らかにされていない。そこで、細胞レベルの空間分解能を持つ pH イオンセンサを脳内に挿入し、その計測系の確立と神経回路活動に伴った pH 変化の可視化を試みた。

挿入後の pH 変化の計測を行うため、マウスパレル野にセンサを挿入し、直後からの pH の変化について計測した。興味深いことに、pH は皮質の表層および深層で異なることが判明した。神経活動に伴って変化する H⁺ を計測するため、脳表に GABAA 受容体阻害薬 SR95531 を滴下したところ、頻回なスパイク様の応答が認められたことから、神経活動依存的に pH の低下が生じている可能性が示唆された。さらに、SR95531 投与後のひげ刺激によって刺激に応答した電位増加の頻度増加が認められた。最後に、Tetrodotoxin を投与し、神経活動を抑制した場合の変化について検証を行ったところ、その投与によってスパイク様の応答が抑制された。したがって、脳内の領域における pH の多様性が明らかになり、神経活動に伴って皮質における pH 低下が生じることが示された。(利益相反 なし)

P-7. マーモセットにおける mismatch negativity (MMN) と視線の同時計測

○吉田正俊^{1,2} (¹生理学研究所認知行動発達機構, ²総合研究大学院大学生理学専攻)

統合失調症の行動マーカーのひとつとして、眼球運動の異常が知られている。たとえば、自然画像を自由視しているときの急速眼球運動の振幅は統制群と較べると統合失調症患者では低い。本研究プロジェクトの長期的目標は、眼球運動指標をヒトと小型霊長類のマーモセットで共通して評価可能な統合失調症の行動マーカーとして確立することにある。統合失調症の動物モデルのひとつにケタミン投与による薬理学的モデルがある。これまでのげっ歯類やマカ

クザルを用いた研究では、ケタミン投与が統合失調症の神経生理学的マーカーである mismatch negativity (MMN) を減衰させることが知られている。そこで本研究ではケタミン投与中の MMN と自由視時の視線を同時計測する実験系の確立を目指した。この方法によって、1) ケタミン投与による MMN の減衰をマーモセットで再現することで、ケタミン投与による統合失調症モデルを確立すると同時に 2) 同じ濃度のケタミンが同時記録した眼球運動指標に影響を与えるか検証可能となる。これまでに 1 頭のコモンマーモセットにおいて同時計測に成功している。ケタミン 0.5mg/kg i.m. 投与後 15-30 分において MMN は減衰し、急速眼球運動の振幅も低下していた。本研究で開発した同時計測の実験系は、MMN と眼球運動指標に共通の神経メカニズムの存在を検証するためにも将来的に有用であると考えられる。(利益相反 なし)

P-08. 交感神経プレモーターニューロンの動的な血圧応答特性を再現するモデルの構築

○三枝岳志 (山梨大学医学部統合生理学)

吻側延髄腹外側野 (RVLM) には脊髄の交感神経節前細胞に直接投射する交感神経プレモーターニューロンが存在し、交感神経基礎活動の維持に不可欠な興奮性入力を提供している。また、同ニューロンは末梢および中枢から多様な入力を受けており、種々の交感神経反射の発現においても重要な役割を演じている。動脈圧受容器反射(血圧反射)もそのひとつである。RVLM に分布するプレモーターニューロンは動脈圧受容器に由来する抑制性の入力を受け、動脈圧の変化に対して迅速に応答することが知られている。本研究では、動脈圧の変化によって誘発されるプレモーターニューロンの応答を再現できるモデルを構築するため、ウレタン麻酔下のウサギを用いて、心拍動に伴う動脈圧の変化と RVLM プレモーターニューロン活動との関係を解析した。その結果、両者の関係は単純なフィードバック制御モデル、たとえば、むだ時間を考慮した比例・積分・微分モデル (PID モデル) ではまったく再現することができないが、むだ時間の異なる 2 つの PID 要素を並列に連結したモデル (dual PID モデル) を用いることによって、両者の関係を精度よく再現できることが明らかとなった。またこの結果から、RVLM プレモーターニューロンへの動脈圧信号の入力には遅延時間の異なる 2 つの要素が存在している可能性が示唆された。(利益相反 なし)

P-09. エストロジェンの増殖抑制作用に関与する遺伝子発現解析

○三井哲雄, 石田真帆, 有田 順, 宇賀貴紀 (山梨大学

医学部統合生理学)

下垂体前葉プロラクチン産生(PRL)細胞の増殖に対するエストロゲン(E2)の作用について調べた結果, insulin-like growth factor-1 (IGF-1)等の成長因子の存在下では, E2は細胞増殖を抑制する. この細胞増殖抑制作用に関与する遺伝子を同定するため, DNA マイクロアレイ法により E2による発現変動遺伝子を調べた. そのなかで, デキサメサゾン誘導 Ras 関連タンパク質(Rasd1)に着目し, Real-time PCR 法により発現変化を詳細に調べた. その結果, E2 投与 30 分後には発現が増加し, 1 時間後にピークに達し, 数日間発現増加が持続した. この作用は, エストロゲン受容体(ER)を発現する, ラット下垂体腫瘍細胞株(GH4C1細胞)でも同様に見られた. PRL 細胞の Rasd1 発現を短鎖ヘアピン RNA (shRNA)により抑制したところ, E2により発現変化する Pim3 と Igf1 発現は減少し, Giot1 発現は増加した. さらに, Rasd1 発現の抑制により, E2 投与 24 時間後の Pim3 発現を増強し, Fos11 発現の抑制を減弱させた. また, Rasd1 発現の抑制により, CRE, AP-1 および SRE プロモーター活性を増強した.

これらの結果は, PRL 細胞において Rasd1 がエストロゲン応答性初期遺伝子であり, 少なくともいくつかの E2 誘導後期遺伝子発現を調節することを示唆している. (利益相反 なし)

P-10. エストロゲンによる MDA-ER 細胞の増殖抑制作用に対する BCAR3 および FOSL1 遺伝子の関与の検討

○石田真帆, 三井哲雄, 有田 順, 宇賀貴紀 (山梨大学医学部統合生理学)

エストロゲン(E2)受容体(ER)を本来発現していない乳癌細胞株に ER を強制発現させると, E2 は増殖抑制作用を発現する. 本研究では, E2 による増殖抑制作用機構に関わる遺伝子を調べるため, ER を安定的に発現する MDA-MB-231 細胞株(MDA-ER)を樹立した. MDA-ER のうち, 24 時間の E2 投与で, 増殖抑制作用が認められるクローン(MDA-ER#3)と認められないクローン(MDA-ER#1)について, DNA マイクロアレイ法により遺伝子発現変動を比較した. BCAR3 と FOSL1 は, E2 投与 4 時間後には両クローンで遺伝子発現が抑制されるが, MDA-ER#3 において MDA-ER#1 より強い発現抑制が見られた遺伝子であった. siRNA を用いて各遺伝子発現を抑制した場合には, MDA-ER#3 の増殖率が低下したことから, E2 の増殖抑制作用がこれら遺伝子の発現抑制を介する可能性が示唆された. 一方, MDA-ER#3 に BCAR3 あるいは FOSL1 遺伝子を過発現させた場合でも, E2 投与により増殖率が低下したことから, これら遺伝子が発現抑制されなくても,

E2 の増殖抑制作用が発現することが判明した. 以上より, MDA-ER の増殖率は, BCAR3 あるいは FOSL1 遺伝子の発現抑制により低下するが, E2 による MDA-ER 細胞の増殖抑制作用機構には各遺伝子発現の抑制は関与していないことが示唆された. (利益相反 なし)

P-11. サッケード時のサル MT 野および MST 野ニューロンの運動方向選択性の解析

○熊野弘紀¹, 北澤 茂^{2,3} (¹山梨大学大学院総合研究部医学域統合生理学, ²大阪大学大学院生命機能研究科, ³Center for Information and Neural Networks (CiNet))

我々は 1 秒間に 3 回程度, 毎秒 500 度もの高速眼球運動(サッケード)を行っているが, それによる網膜像の動きを知覚することはない. この動き知覚の抑制メカニズムを調べるため, 動きの知覚に重要なサル大脳皮質 MT 野および MST 野のニューロンの運動方向選択性を, サッケードの前後の時間にわたって調べた.

サルには視覚誘導性サッケード課題を行わせ, 同時に MT 野および MST 野から細胞外電位記録法により単一ニューロンの活動を記録した. この課題では, サルが注視点に眼を向けた後, 上下左右どれかの方向の 10 度離れた点に現れた指標にサッケードすれば成功となる. ニューロンの運動方向選択性および受容野構造を定量化するため, モニター画面を 9×6 に分割し, 各区画で様々な方向に運動するランダムドット刺激を呈示した.

まず, 注視課題中に計測した最適運動方向と, サッケードによる網膜像の動きに対する最適運動方向とを比べた. その結果, MT 野では最適運動方向が様々な方向に変化したが, MST 野では, 変化しない群と逆転する群との 2 群に分かれることが分かった. 逆相関法によって受容野構造を調べたところ, 逆転群において反最適方向からの入力が増強しているということはなく, 非逆転群と明瞭な差は見られなかった. 受容野の線形成分を推定する逆相関法で検出できないことから, サッケードによる最適方向の逆転メカニズムは非線形である可能性が示唆される.

本研究の結果は, 脳は, MST 野に存在する最適運動方向が逆転するニューロン群と逆転しないニューロン群の活動を単純に足すことで, サッケードによる網膜像の動き信号を消去している可能性を示唆する. (利益相反 なし)

P-12. NMDA 受容体拮抗薬ケタミンは柔軟な判断課題の課題遂行に不必要な情報に対する感度を上昇させ, 蓄積活動の開始時間を遅らせる

○須田悠紀^{1,2}, 宇賀貴紀^{1,2} (¹山梨大学医・統合生理学, ²玉川大学脳科学研究所)

状況に応じて柔軟に判断することは、人の日常生活において必要不可欠な能力である。この適応的な判断能力は、NMDA 受容体拮抗薬ケタミンの低用量全身投与により低下することが知られているが、その神経メカニズムは明らかでない。我々は、サルを用いて、柔軟な判断が求められるタスクスイッチ課題をしている際の判断に関わる LIP 野神経活動が、低用量ケタミンの全身投与によりどのように変化するか調べた。

2 頭のマカクザルに、画面上に呈示されるドットの運動方向と奥行きをいずれかを弁別する課題を、注視点の色でランダムに切り替えさせるタスクスイッチ課題を訓練した。この課題を行っている際、低用量ケタミン (0.25-0.5ml/kg) の全身投与により、サルの行動と判断に関わる LIP 野神経活動がどのように変化するのか調べた。

その結果、運動方向弁別課題において、課題に関連していない奥行き情報に対する感度が、行動成績と LIP 野神経活動いずれにおいてもケタミン投与に伴って上昇した一方で、課題に関連した運動情報に対する感度は変化しなかった。また、反応時間は関連刺激非依存的に一定時間延長し、LIP 野蓄積活動の開始時間の遅延と相関した。これらのことは、ケタミン投与により、課題遂行に不必要な情報に対する感度が上昇したこと、及び LIP 野蓄積活動の開始が遅延したことが考えられる。(利益相反 なし)

P-13. 小脳小節・虫部垂プルキンエ細胞の単純・複雑スパイクの頭部回転および視運動性応答

○北間敏弘¹、駒形純也^{1,2}、杉浦篤志¹ (¹山梨大学総合分析実験センター、²健康科学大学理学療法学科)

覚醒ネコ小脳小節・虫部垂の単一プルキンエ細胞 (P-cell) から単純スパイク活動 (SS)、複雑スパイク活動 (CS) を記録し、正弦波状頭部垂直・水平回転刺激、および視運動刺激に対する応答を調べた。大部分の SS は、頭部の垂直回転刺激に対して応答した。垂直回転を Pitch, Roll, 左右斜め 45° の面の 4 つの回転面において行った結果、① SS の各最適応答方向は回転面特異性を示し、② Pitch-type が正中面から外側約 1.0mm の内側部に、また Roll-type が >1.0mm の外側部に位置する吻尾方向のゾーン構造をもつことがわかった。次に、vertical (V), torsional (T), horizontal (H) の各方向の視運動刺激に対する CS 応答を調べた結果、40% ほどで V または T 方向に対する応答がみられた。V, T 応答の ON 方向は各々、外旋、上向きであった。T-type は SS でみられた内側部に、V-type は外側部にほぼ位置するゾーン構造をなすことが示唆された。いくつかの P-cell において、3 方向の視運動刺激に対して明らかな応答を示すものが認められ、H および V 応答のベクトル和の推

定により T 応答が合成される可能性があることが示唆された。以上の結果から、小脳小節・虫部垂の SS および CS には吻尾側方向の前庭性と視覚性による機能的ゾーンが存在することが示唆された。(利益相反 なし)

P-14. 音圧変化の方向に感受性を示す高次聴覚野ニューロン

○地本宗平、秋保拓馬、佐藤 悠 (山梨大学医学部神経生理学)

音圧の時間変化情報は音知覚に重要な役割を果たす。心理物理学実験より音圧振幅が時間と共に増加するランプ音はそれを時間軸上で反転させたダンブ音と比べて大きく長く知覚される。我々はこれまでに、この非対称知覚の神経基盤の解明のため、覚醒動物の一次聴覚野 (A1) から単一細胞記録を行ない、この非対称性音刺激に対する応答を調べた。その結果、急速な音圧変化に感受性を示す細胞がダンブ音終了後に比べ、ランプ音終了後により長く興奮を持続することを明らかにした。しかし多くの A1 細胞は音圧変化の速度 (緩徐あるいは急速) に同調応答を示し、その方向 (増加あるいは減少) には選択性を示さないため A1 細胞応答のみでは非対称性知覚のすべてを説明できない。本研究では、高次聴覚野である二次聴覚野 (A2) と後部聴覚野 (PAF) から単一細胞記録を行ない、ランプ音とダンブ音に対する応答を調べた。その結果、(1) A1 同様、A2 と PAF の細胞は緩徐あるいは急速な音圧変化に発射頻度を増加させ、振幅変化の速度に感受性を示した。(2) 音圧下降スロープあるいは音圧上昇スロープで発射頻度を増加させ、音圧変化の方向に感受性を示す細胞集団を初めて発見した。(3) 両刺激音に対するピーク応答を比較した結果、高次聴覚野細胞の半数以上が刺激特異性を示した。これらの結果は非対称性知覚の符号化の機構が A2 と PAF のレベルで達成される可能性を示唆する。(利益相反 なし)

P-15. 随意運動における小脳登上線維シグナルの 2 光子イメージング解析

○日高直樹^{1,2}、堤 新一郎¹、池添貢司²、磯村宣和³、狩野方伸¹、喜多村和郎^{1,2} (¹東京大学大学院医学系研究科神経生理学講座、²山梨大学医学部神経生理学講座、³玉川大学脳科学研究所)

運動実行に関わる小脳の皮質神経回路において、延髄下オリブ核からプルキンエ細胞への登上線維シグナルは、運動の誤差シグナルを表現していると考えられている。登上線維入力が集団レベルでどのように誤差を表しているのかについて調べることを目的として、運動タスク遂行中のマウスで 2 光子励起顕微鏡によるカルシウムイメージング

を行った。マウスを用い、金属レバーを自発的に左前肢で引き、一定時間保持するようにトレーニングを行った。カルシウムセンサー GCaMP6f を小脳左前肢領域に発現させ、登上線維シグナルによって引き起こされる複雑スパイクに伴うカルシウムシグナルを計測した。多くのプルキンエ細胞がレバー引き運動に対応した蛍光シグナルを示した。それぞれの細胞において、レバー引き運動開始時に蛍光シグナルの増強が見られるもの、レバー保持時にシグナルの増強・減弱が見られるものがあり、それを基にすると細胞の活動パターンは 4 つのタイプに分類できた。それら細胞活動パターンによってレバー引き・保持といった運動が表現されていると考えられる。レバーにかかる負荷を変化させて運動に外乱を加えた所、全体としてそれぞれの細胞タイプの構成割合には変化が見られなかったが、個々の細胞に注目するとタイプ間での変化が多く見られた。これら個々の細胞レベルの登上線維入力のパターン変化が、運動適応に必要な誤差シグナルを反映していることが示唆される。(利益相反 なし)

P-16. マウスを用いた到達運動課題の開発とその性能評価

○真仁田 聡, 池添貢司, 喜多村和郎 (山梨大学大学院総合研究部医学域生理学講座神経生理学教室)

これまで前庭動眼反射などの反射運動と小脳の関係は詳細に研究され、プルキンエ細胞へ入力する登上線維がエラー情報を運ぶことが示されているが、より複雑な運動については明らかでない。本研究は、前肢到達運動中の神経活動を詳細に観察し、その神経回路メカニズムを明らかにするために必要な運動課題の開発を目的とした。マウスは前肢を用いて目の前に配置してあるエサまで手を伸ばし、エサをつかみ、口まで運ぶことができる。この到達運動中の小脳の神経活動をホールセル記録法や二光子レーザー顕微鏡によるカルシウムイメージング法などによって観察するために、マウスの頭部固定下においてこの運動を遂行させるための実験系を確立した。まず、自動で報酬(アガー)が提示される装置の開発とその性能評価を行ったところ、この装置によって作られるアガブロックは重さ 6mg (標準偏差) で、また 1mm 以下 (標準偏差) の精度で提示できることが分かった。次に、頭蓋骨に歯科用セメントを用いて頭部固定のための金属片を取り付け、手術の回復を経た後、頭部固定下において前肢到達運動を訓練させた。その結果、およそ 1 週間でマウスは頭部固定下においてもアガーをつかめることが分かった。そして、この装置を用いてマウスの到達運動を観察すると、アガブロックをうまくつかめず、アガブロックを落下させてしまう場合(失

敗)とうまくつかめた場合(成功)を観察することができた。さらにこの運動中に小脳のプルキンエ細胞のカルシウム応答も観察することが可能になった。今後の展望として、前肢の動きのパラメータと神経活動の相関を検討し、神経活動から前肢の動きや成功・失敗を予測できるか検討する。観察対象の神経細胞もプルキンエ細胞やインターニューロンだけでなく、小脳回路を構成する他の神経細胞にも注目する。(利益相反 なし)

P-17. Encoding-model analysis for mapping stimulus feature selectivity in macaque V1 by 2-photon Ca^{2+} imaging

○池添貢司^{1,2,3}, 天野真綾², 西本伸志^{2,3}, 藤田一郎^{2,3}

(¹山梨大学医学部神経生理学, ²大阪大学生命機能研究科, ³脳情報通信融合研究センター・大阪大学および情報通信研究機構)

In vivo 2-photon calcium (Ca^{2+}) imaging allows to simultaneously monitor activities of hundreds of individual neurons within a local population. Although this helps us to understand how cortical neurons represent sensory information, factors such as photo-bleaching of the Ca^{2+} indicator limit the duration for imaging, which in turn hampers the full characterization of neuronal response properties. Here, we demonstrate that an encoding modeling analysis on fluorescence responses to presentation of a natural movie results in detailed characterization of receptive field (RF) properties despite the relatively short time for data collection. During presentation of natural movie clips, we recorded fluorescence signals from neurons in the primary visual cortex (V1) of macaque monkeys that had been loaded with a Ca^{2+} indicator. We constructed an encoding model consisting of an array of motion-energy filters that tiled over the RFs for each recorded neuron. We optimized the weight of each filter's output so that the linear sum of the outputs across the filters mimicked the neuron's responses. These models were able to predict the neural responses to a different set of natural movies with a significant degree of accuracy. Moreover, the orientation tunings of neurons simulated by the model were highly correlated with those experimentally obtained. The model predictions were also consistent with what is known about spatial frequency tunings, the structure of excitatory subfield within RFs, and functional maps for these RF properties in V1. In addition, the extent and distribution of inhibitory subfields within RFs varied among nearby neurons,

whereas those for excitatory subfields were shared. Thus, applying the encoding-model analysis to 2-photon imaging data of Ca^{2+} responses to natural movies provides a reli-

able and efficient means of analyzing a wide range of RF properties in multiple neurons. (COI none)