

## 第 59 回中部日本生理学会

会 期：平成 24 年 11 月 16 日（金）、17 日（土）

会 場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター

当番幹事：生理学研究所発達生理学系認知行動発達機構研究部門 伊佐 正  
生理学研究所発達生理学系生殖・内分泌系発達機構研究部門

箕越靖彦

演 題 数：70 題

日本生理学会中部地方会は、第 59 回中部日本生理学会として上記日程で開催されました。口演 25 題、ポスター 45 題の計 70 演題が発表され、130 名を超える先生方にご参加いただき、活発な質疑応答が行われました。特別講演は、「A new perspective of ionotropic glutamate receptors : lessons learned from GluD2」と題して、慶應義塾大学医学部柚崎通介先生にご講演いただきました。総会では各委員会の報告と共に、新たに着任された教授の方々に自己紹介をしていただきました。また、1 日目終了後には懇親会を開催し、多数の方々の参加をいただき、盛会裏に本学会を終了いたしました。参加者の皆様に厚くお礼申し上げます。次回の当番幹事は岐阜大学の予定です。

## 招待講演

#### A new perspective of ionotropic glutamate receptors : lessons learned from GluD2

##### イオノトロピックグルタミン酸受容体の新しい展開 : GluD2 が教えてくれたこと

○柚崎通介（慶應義塾大学医学部生理学）

記憶・学習メカニズムの解明は、神経生理学における最大の課題の一つである。神経活動によって、興奮性シナプスにおいてシナプス伝達効率が増減する現象—長期増強・長期抑圧 (LTD) —が細胞レベルにおける記憶・学習の基礎過程であり、その分子レベルにおける実体は、シナプス後部における AMPA 型グルタミン酸受容体の数の増減によると考えられている。一方、より長期に持続する記憶の形成には、遺伝子発現の変化に伴うシナプス形態変化が必要である。イオンチャンネル型グルタミン酸受容体にはカイン酸型、NMDA 型、そして  $\delta$  型 (GluD1 と GluD2) も存在する。これらの分子は、シナプス伝達そのものではなく、シナプス可塑性を調節する分子と考えられている。実際に、GluD2 欠損マウスでは、小脳における平行線維—プルキンエ細胞シナプスにおける LTD が起きず、運動学習が障害される。しかし GluD2 がどのように機能するのかについては 1993 年に GluD2 が発見されて以来の謎のままであった。GluD2 の細胞外ドメインにはシナプス形成・維持制御機能があり、一方、リガンド結合ドメインと細胞内ドメイ

ンはシナプス可塑性 (LTD) を制御することを、これまでに私たちは報告した。すなわち GluD2 は機能的シナプス可塑性と構造的シナプス可塑性を、それぞれ別のドメインで制御する。今回の講演では GluD2 で得られた知見が、ほかのイオンチャンネル型グルタミン酸受容体に敷衍できる可能性について議論したい。

#### S1-1. 肥満者における睡眠中のメラトニン濃度と心拍数の季節性変動

○佐藤麻紀, D. Kanikowska, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 西村直記, 犬飼洋子, 佐藤元彦, 菅屋潤壹 (愛知医科大学医学部生理学講座)

肥満は、世界中で増加しており、日本においても男性の 28.6%、女性の 20.6% は肥満 (BMI : 25kg/m<sup>2</sup> 以上) である。肥満は、心血管・腎・内分泌系の疾患や睡眠障害の発症を増加させる。我々は、睡眠時のメラトニン濃度、心拍数、心拍変動を測定し、季節による変動を検討した。被験者は、肥満者 5 名 (BMI, 32.0 ± 4.9kg/m<sup>2</sup>) と非肥満者 5 名 (BMI, 23.2 ± 2.9kg/m<sup>2</sup>) とし、夏季と冬季で実験を行った。被験者は、26°C、50% の人工気候室内で心電図を測定しながら睡眠した。睡眠時の唾液中メラトニン濃度を 23 時、2 時、6 時に測定した。睡眠時のメラトニン濃度は、冬季において肥満者で低かった。また、心拍数は、両群において、冬季が夏季に比べ高かったが、心拍変動は季節間で差がなかった。冬季における肥満者でのメラトニン濃度の減少は、夜

間睡眠中の心拍数の上昇に関係する可能性が考えられ、肥満者においては、特に冬季において睡眠中の心血管系疾患のリスクが高まることが示唆された。

#### S1-2. 若年男女における緩やかな寒冷曝露時の体温、皮膚血流量及び主観的温冷感の変化

○大西範和<sup>1</sup>、奥村みなみ<sup>2</sup>、渡邊友梨絵<sup>3</sup>、林 佐知子<sup>3</sup>、若林春香<sup>4</sup> ( <sup>1</sup>三重県立看護大学看護学部、<sup>2</sup>済生会松阪総合病院看護部、<sup>3</sup>三重県立総合医療センター看護部、<sup>4</sup>鈴鹿中央総合病院看護部)

本研究では、健康な若年成人男女各 10 名に緩徐な寒冷曝露を負荷し、その際の体温、皮膚血流量及び主観的温冷感を記録・観察して、寒冷に対する体温調節応答に男女の差があるか否か調べた。寒冷負荷は、環境温 30℃ で 20 分間維持した後、20 分間で 24℃ まで連続的に低下、続いて 20 分間で 24℃ から 30℃ へ連続的に上昇させ、さらにその後 20 分間 30℃ に維持する条件とした(相対湿度 40%)。この間被験者は椅座位姿勢で安静状態を保った。実験中、鼓膜温、指尖及び足趾の皮膚温及び皮膚血流量を連続的に測定するとともに、全身と局所(手・足)の主観的温冷感を 7 段階で、全身の温熱的快適感を 4 段階で、5 分おきに申告させた。鼓膜温、皮膚温、皮膚血流量は、寒冷曝露に伴い有意 ( $p < 0.05$ ) な低下を示すとともに、主観的温冷感は、全身、局所とも有意 ( $p < 0.05$ ) に寒い側へ申告された。女性では、男性に比べ鼓膜温の低下が小さく、指尖及び足趾皮膚温の低下が大きい傾向にあった。また、環境温が最低に達した時間帯で、男性に比べ女性において、主観的温冷感は全身、局所のいずれも「寒い」側に、温熱的快適感は「不快」側に申告される傾向にあった。これらは、男性に比べ女性において、緩やかな寒冷負荷に対し寒冷の感覚や血管の収縮が生じやすく、その結果、皮膚からの伝導及び対流による熱放散量が減少し、深部体温の変動が小さくなっていく可能性を示唆した。

#### S1-3. ゼブラフィッシュの稚魚と成魚での網膜電図記録の検討

○松原 央<sup>1</sup>、山本哲朗<sup>2</sup>、西村有平<sup>3</sup>、田中利男<sup>3</sup>、近藤峰生<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>三重大学大学院医学系研究科臨床医学系講座眼科学、<sup>2</sup>三重大学大学院医学系研究科基礎医学系講座システム神経科学、<sup>3</sup>同 基礎医学系講座薬理ゲノミクス)

緒言：近年、遺伝子組換えを簡単に行うことが可能なゼブラフィッシュがモデル動物として使用され始めている。網膜機能評価法である網膜電図 (ERG) の生体からの直接記録方法が報告されているが、マウス等と異なる手法が必要となる。また、稚魚と成魚で呼吸法の違いがあり生体反

応の記録には相違に留意する必要がある。

目的：ゼブラフィッシュの稚魚と成魚から ERG を記録し記録方法の相違を検討する。

対象と方法：受精後 5-14 日のゼブラフィッシュ稚魚と、体長 2cm 以上の成魚を使用し、Makhankov らの方法 (2004) に準じ ERG を記録した。60 分以上の暗順応の後、3-aminobenzoic acid methyl ester (MESAB) による全身麻酔を行い記録台へのせ、E3 emnry 溶液を浸したティッシュペーパーで全身を被い乾燥を防止した。更に、成魚には酸素飽和した E3 溶液を口からえらへ持続灌流した。記録電極としてガラス管微小電極を角膜に接着し、不関電極として Ag 板を生体下に設置した。眼前に設置した白色 LED により刺激光を加え photopic, scotopic ERG の記録を行った。

結果：稚魚では安定した記録が得られたが、成魚では、酸素飽和 E3 溶液による灌流を行わない場合には、a 波 b 波とも記録不能であり、十分な再灌流により ERG の記録が可能となった。

考察：成魚では、えらへの酸素飽和溶液の灌流中断による血液酸素濃度低下が ERG へ鋭敏に反映されていた。

結論：ゼブラフィッシュの成魚においては、酸素飽和溶液の灌流による血液酸素濃度低下防止が ERG 記録に重要である。

#### S1-4. 2 種類の抑制機構による音源定位精度の相補的調節

○山田 玲<sup>1</sup>、奥田裕子<sup>2</sup>、久場博司<sup>1</sup>、西野恵里<sup>2</sup>、石井孝広<sup>2</sup>、大森治紀<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>名古屋大学医学系研究科細胞生理学、<sup>2</sup>京都大学医学研究科神経生物学)

鳥類の層状核神経細胞 (NL) は、左右の音入力と同時に検出器として働くことで両耳間時差 (ITD) を検出し、音源定位に関わる神経核である。音源定位機能には抑制性調節が重要な働きを持つが、NL においては上オリブ核 (SON) からの音の強さに応じたフィードバック抑制が存在する。この抑制は持続的に働くことで NL 細胞の発火閾値を調節し、強い音入力での ITD 検出精度を維持する働きを持つと考えられている。今回我々は、ニワトリスライス標本を用いた実験により、NL に投射する新たなフィードフォワード抑制回路の存在を明らかにした。この IPSC は同側蝸牛神経核からの EPSC に 1~2 ミリ秒遅れて入力し、低い周波数帯域 (low-CF) の NL 細胞でのみ観察されることから、NL の low-CF 領域周辺に存在する GABA 作動性の介在神経細胞によると考えられた。この IPSC は早い時間経過を持つ一過性の抑制入力である。シミュレーションによる解析の結果、この時間依存的なフィードフォワード抑制は弱

い音入力での ITD 検出精度を改善することが分かった。さらには SON からの持続的なフィードバック抑制と相補的に働くことで、様々な強さの音入力に対して高い ITD 検出精度を維持できることが明らかとなった。

### S2-1. マカクザルの前頭葉から MT および V4 への多シナプス性入力様式

○二宮 太平<sup>1</sup>, 澤村 裕正<sup>2</sup>, 井上 謙一<sup>1</sup>, 高田 昌彦<sup>1</sup> (1 京都大学霊長類研究所統合脳システム分野, 2 東京大学医学部眼科)

霊長類の脳における視覚システムは背側経路と腹側経路という機能の異なる 2 つの経路からなる。例えば、背側経路の MT は主に動きや奥行きを処理し、腹側経路の V4 は主に色や形の情報を処理する。これらの領野は前頭葉などから送られてくる top-down 入力の影響を強く受けることが知られている。視覚システムを理解する上で、top-down 入力に関するネットワークの解明は非常に重要である。今回、マカクザルの MT および V4 に逆行性超シナプスの神経トレーサーである狂犬病ウイルスを注入し、前頭葉からの多シナプス性入力様式を解析した。MT、V4 どちらの場合も、直接結合のある前頭眼野に加え、2 次ニューロンラベルが 46 野腹側部 (46v 野) に観察された。MT の場合では、さらに補足眼野に 2 次ニューロンラベルが見られた。次に、前頭葉から MT および V4 へ入力を送るニューロン集団は共通しているのかそれとも独立しているのか調べるために、MT と V4 に逆行性蛍光トレーサーである Fast blue と Diamidino yellow をそれぞれ注入した。前頭葉からの入力を中継していると考えられる前頭眼野および外側頭頂間野のいずれにおいても二重標識された細胞はほぼなかった。以上の結果は前頭葉から MT への 2 次入力は 46v 野と補足眼野に、また V4 への 2 次入力は 46v 野に由来し、それらの入力が異なるニューロン集団を介していることを示唆する。

### S2-2. Neuronal responses to dangerous stimuli in the monkey pulvinar

○Q. Le Van, E. Hori, M.N. Nguyen, T. Ono, H. Nishijo (System Emotional Science, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama)

Snakes are predators of monkeys, and have been suggested to be an important factor for evolutionary changes of the primate brains. Behavioral and neuropsychological studies using humans and monkeys suggest that the pulvinar is a part of the fear module circuitry. However, neuro-

nal responses in the pulvinar to dangerous stimuli have been unknown. To investigate this issue, in the present study, photos of 4 categories of visual stimuli [photos of snakes (snakes facing monkeys and attacking toward the sides), faces (angry and neutral human faces, angry and neutral monkey faces), hands (human and monkey right and left prone or supine hands) and simple patterns (circle, cross, square, and star)] were presented to monkeys in a delayed non-matching to sample (DNMS) task, in which monkeys were required to discriminate a target figure from sample stimuli. Of 650 pulvinar neurons recorded, 97 (14.92%) responded to the visual stimuli. Of these, 76 neurons were tested with all of the stimuli, and responded differentially to these stimuli. Of the 76 neurons, 45 (59.21%), 35 (46.05%) 25 (32.89%) and 12 (15.79%) responded stronger to snakes, faces, hands and simple patterns, respectively. These results suggest that the pulvinar might play an important role in detecting snakes.

### S2-3. コモンマーモセットは顔の弁別が苦手

○中村 克樹, 竹本 篤史, 三輪 美樹, 山口 智恵子, 木場 礼子 (京都大学霊長類研究所高次脳機能分野)

近年、神経科学分野でコモンマーモセットが実験対象として注目されている。本研究では、コモンマーモセットの視覚認知機能を検討する目的で、コモンマーモセットの顔・花・食物・人工物・コンピュータで作成した図形の 5 種類の刺激を用いて、遅延見本合わせ課題を訓練し、各々の刺激に対する成績を比較した。これまで 3 頭で訓練した結果、いずれの個体も食物・花・人工物・コンピュータで作成した図形を刺激に用いた場合、学習が可能であったが、コモンマーモセットの顔を刺激として用いた場合には、学習が非常に困難であったか、学習ができなかった。

頭数が少ない段階であるため十分な解釈は難しいが、この結果をディスカッションしたい。また、今回の結果は、コモンマーモセットで認知課題を実施するときには刺激の種類を選ぶ必要がある、ということを示唆する。

### S2-4. マカクザルの運動リズム制御におけるテンポの効果

○宮地 重弘<sup>1</sup>, 鴻池 菜保<sup>1</sup>, 三上 章允<sup>2</sup> (1 京都大学霊長類研究所高次脳機能分野, 2 中部学院大学リハビリテーション学部理学療法学科)

運動リズムの制御メカニズムを明らかにするため、2 頭のニホンザルに一定のテンポでボタン押しを繰り返す行動課題を訓練し、その行動特性を解析した。サルには、LED

ボタンの点滅に合わせてボタンを押す課題を訓練した。課題は、ボタンの点滅のパターンによって2つの条件に分類される。ひとつは等間隔条件であり、ボタンの点滅の間隔(刺激間隔)は600, 750, 1000, 1200, または1500ミリ秒の等間隔であった。一方の条件(ランダム条件)では、ボタンの点滅の間隔は750, 1000, 1250, 1500, 1750ミリ秒の中からランダムに選ばれたので、サルはボタン押しのタイミングを予測することが不可能であった。いずれの条件でも6回連続で制限時間以内にボタンを押すと1試行が終了し、報酬が与えられた。1ブロック(10または20試行)の間は課題条件を(等間隔条件の場合は刺激間隔も)一定とした。

刺激間隔が1秒以下の等間隔条件では、サルの反応時間はランダム条件に比べて有意に短縮した。それに対し、刺激間隔が1秒以上の等間隔条件では、反応時間はランダム条件と変わらなかった。以上の結果により、サルは、間隔が1秒以下の速いリズムで運動を制御する‘automatic timing system’は発達しているが、より遅いリズムにより運動を制御する‘cognitive timing system’はあまり発達していないことが示唆された。

### S3-1. 糖尿病ラットの内側腓腹筋を支配する運動ニューロンの形態変化

○村松 憲<sup>1</sup>, 丹羽正利<sup>2</sup>, 石黒友康<sup>1</sup>, 佐々木誠一<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>健康科学大学理学療法学科, <sup>2</sup>杏林大学作業療法学科, <sup>3</sup>茨城県立医療大学医科学センター)

本実験は糖尿病性ニューロパチーにおける運動神経系の障害について調査する事を目的に行なった。

実験にはWistar系ラットの(7週齢, 雄)24頭を用いた。12頭のラットにはstreptozotocinを投与し、I型糖尿病を発症させ糖尿病群とし、残りの12頭には生理食塩水を投与して対照群とした。

薬剤の投与後、各群6頭は10週間後、残りの6頭は20週間後にネプタール麻酔下にて右脛骨神経内側腓腹筋枝を切断、その断端を10% dextran-fluorescein 溶液に2時間浸し、運動ニューロンを逆行性標識した。2週間の生存期間の後、深麻酔下にて動物を灌流固定し、脊髄を取り出し、連続切片を作成、運動ニューロン数と平均径を算出した。また、左内側腓腹筋を摘出し、10 $\mu$ mのパラフィン切片を作成、マッソンのトリクローム染色を行なった。

対照群の運動ニューロン数は週齢に関わらず約125個、細胞体の平均径は約34 $\mu$ mであったが、糖尿病発症後20週間までに運動ニューロン数は約80個、細胞体の平均径は約31 $\mu$ mまで有意に減少した(P<0.05)。さらに、対照群の細胞体の平均径の分布を示すヒストグラムは週齢によらず

二峰性の分布を示したが、糖尿病群は病期が長くなるにつれて小型の運動ニューロンが減少し、糖尿病発症後20週間には単峰性の分布へと変化した。内側腓腹筋の組織標本は錐外筋線維には変性が認められないが、錐内筋線維に変性が認められるため、細胞数が減少した運動ニューロンは主に $\gamma$ 運動ニューロンである可能性が示唆された。

### S3-2. 母性 Ube3a 欠失マウス小脳顆粒細胞における GABA トランスポーター過剰によるトニック抑制の減弱と小脳機能障害

江川 潔<sup>1</sup>, 北川恭子<sup>2</sup>, 井上浩一<sup>1</sup>, 高山理和<sup>1</sup>, 高山千利<sup>3</sup>, 齊藤伸治<sup>4</sup>, 木住野達也<sup>5</sup>, 北川正敏<sup>2</sup>, ○福田敦夫<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>浜松医科大学神経生理学, <sup>2</sup>浜松医科大学分子生物学, <sup>3</sup>琉球大学分子解剖学, <sup>4</sup>名古屋市立大学新生児・小児医学, <sup>5</sup>長崎大学先端生命科学支援センター・ゲノム機能解析)

ユビキチンリガーゼ E6-AP をコードする母性発現遺伝子 *UBE3A* を原因遺伝子とし、自閉症スペクトラム障害のひとつとして近年注目されている Angelman 症候群 (以下 AS) は生後発達期に著明となる重度の精神発達遅滞、てんかん、振戦、小脳失調を主徴とする遺伝性疾患である。AS における小脳機能障害メカニズムを検討するため、母性 *Ube3a* 欠失マウス (AS マウス) 小脳を用いた生理学的検討を行った。

小脳顆粒細胞 (CGC) における GABA シナプス性抑制に変化を認めなかったが、シナプス外 GABA<sub>A</sub> 受容体を介するトニック抑制が、AS マウスで有意に低下していた。GABA transporter 1 (GAT1) 阻害薬の NO711 投与による tonic conductance の上昇が AS マウスで有意に大きかったため、GAT1 の増加を考えウェスタンブロットを行ったところ小脳 GAT1 蛋白質量が増加していた。しかし、GAT1 mRNA 量に変化がなく、さらに、degradation assay や免疫沈降の結果から、*Ube3a* による GAT1 の degradation 不全が示唆された。CGC への電流注入に対する発火頻度変化では AS マウスでの易興奮性を認め、プルキンエ細胞の発火パターンでは、AS マウスでは通常のトリモーダルパターンが消失し、持続・一定発火パターンを示した。これらは GABA<sub>A</sub> 受容体  $\delta$  アゴニスト、THIP でレスキューされ、foot print, tail suspension, ロータロッドにて評価した小脳機能障害も THIP の腹腔内投与にて改善した。AS の小脳機能障害は GAT1 過剰によるトニック抑制の減弱が一因と結論した。

### S3-3. 内皮細胞特異的 HIF ノックアウトマウスにおける腎虚血再灌流モデルの解析

○佐野秀人<sup>1,2</sup>, 浦野哲盟<sup>1</sup>, V. Haase<sup>2</sup> (1浜松医科大学医学部生理学, 2Vanderbilt University)

急性腎炎モデルであるマウス腎虚血再灌流実験において, 低酸素誘導因子 (HIF) の関与が示唆されてきたが, どの細胞で, どの HIF サブタイプが機能しているかなど詳細な点については不明であった。

我々は, 内皮細胞特異的 HIF ノックアウト (KO) マウスを作成し, 腎虚血再灌流モデルを用いて HIF の役割について検討するとともに, そのメカニズムの解析を行った。

Cre/loxP システムを用いた内皮細胞特異的 HIF-1 及び HIF-2 のダブルノックアウトマウス (HIF-1/2eKO) では, 両側腎虚血再灌流モデルにおいて生存率が減少した。また片側腎虚血再灌流モデルで組織的に詳細な検討をしたところ, HIF-1/2eKO マウスにおいて重篤な病変変化と, CD45 陽性炎症性白血球の腎間質での増加を確認した。また, HIF サブタイプについて検討するため, 内皮細胞特異的 HIF-1 (HIF-1eKO) および HIF-2 (HIF-2eKO) それぞれのマウスを作成し, 同様に片側腎虚血再灌流モデルにて解析した。コントロールマウスと比較して, HIF-1eKO マウスでは病変, 白血球の蓄積に変化は見られなかったが, HIF-2eKO マウスにおいて, HIF-1/2eKO と同様重篤な病態と白血球の蓄積が観察された。

以上より, 腎虚血再灌流における急性腎炎において, 内皮細胞の HIF-2 が白血球浸潤による炎症に対して重要な役割を演じていることを証明することができた。

#### S3-4. クラス II 型 PI3 キナーゼ C2 $\alpha$ は血管新生・恒常性維持に必須である

○吉岡和晃<sup>1</sup>, 吉田耕太郎<sup>1</sup>, 多久和典子<sup>1,2</sup>, 岡本安雄<sup>1</sup>, 多久和 陽<sup>1</sup> (1金沢大学医薬保健学域医学系血管分子生理学, 2石川県立看護大学看護学部健康科学)

フォスファチジルイノシトール-3-キナーゼ (PI3K) は, 哺乳類において8つのアイソフォームが存在し, 多岐にわたる生理作用を発揮する。クラス I 及び III (Vps34) と異なり, クラス II 型 PI3K の生理機能はこれまで不明であった。本研究では, クラス II $\alpha$  型 PI3K (C2 $\alpha$ ) 遺伝子 KO マウスを作製し表現型の解析を行った。全身型 C2 $\alpha$ KO 及び内皮細胞特異的コンディショナル KO マウスは, 血管新生の異常により発生中期において胎生致死となった。内皮細胞での RNA 干渉法による PI3K ノックダウン (KD) 実験において, C2 $\alpha$  の KD のみが初期エンドソーム数の著しい減少と小胞運動性・輸送の低下をひき起こした。接着分子 VE カドヘリンの細胞膜への小胞を介した輸送は C2 $\alpha$  の KD のみにおいて顕著に低下し, 内皮細胞間における VE カドヘリン集積が障害された。更に C2 $\alpha$  ノックダウン

細胞では, VEGF による VEGF 受容体の内在化が強く抑制され, VEGF 受容体のシグナル伝達が障害された。それらの結果, C2 $\alpha$ -KD 細胞では, 遊走及び管腔形成能が他の PI3K アイソフォームの KD と比べ有意に低下していた。ホモ KO とは異なり C2 $\alpha$  ヘテロ KO マウスは正常に発生・発育するもの, 生後の生理的網膜血管新生・成熟の異常, 血管透過性亢進, アンジオテンシン II 慢性投与による解離性動脈瘤を呈した。以上の結果から, C2 $\alpha$  は血管内皮細胞において膜小胞輸送の制御を介して, 内皮細胞間接着構造の形成・安定化とシグナル伝達に必須の役割をはたす PI3K アイソフォームであることが明らかとなった。

#### S4-1. レドックスシグナルによる TRPM2 感作機構とマクロファージ機能への寄与

○加塩麻紀子<sup>1</sup>, 曾我部隆彰<sup>1</sup>, 森 泰生<sup>2</sup>, 富永真琴<sup>1</sup> (1自然科学研究機構・生理研・細胞生理, 2京大・工)

TRPM2 (Transient Receptor Potential Melastatin 2) は温度感受性の非選択性陽イオンチャネルである。TRPM2 は過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) により活性化されるが, 本研究では通常生理的温度域以上に保たれている TRPM2 の活性化温度閾値が H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処置により生理的温度域に低下する (感作) ことを明らかとした。また H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による感作は単一メチオニン残基への変異導入により完全に消失したことから, メチオニン酸化の関与が示唆された。TRPM2 は, 脳, 腎臓, 脾臓, 免疫細胞といった比較的一定の体温にさらされた環境に発現しているため, レドックスシグナルに応じて温度に対する感受性を変化させることで体温下でのチャネル活性の調節を可能としている機構は, その生理機能を考える上で合理的といえる。

さらに, 異物貪食に伴う H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生能をもち, 体温(発熱等) が機能に大きく関わるということが知られるマクロファージを用い, TRPM2 感作が担う生理的役割を検討した。その結果, サイトカイン遊離, 貪食といったマクロファージの機能が, TRPM2 依存のかつ温度依存的に調節されることが明らかとなった。したがって, マクロファージにおいて異物貪食に伴い産生される H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は異物の処理に用いられるのみならず, TRPM2 の感作を介してマクロファージ機能の調節に寄与すると考えられる。

#### S4-2. 表皮ケラチノサイトの創傷治癒と ATP-Ca<sup>2+</sup> シグナリングに対する TRPC6 活性剤の効果

○高田弘弥<sup>1</sup>, 古家喜四夫<sup>2</sup>, 曾我部正博<sup>1,2</sup> (1名古屋大学大学院医学系研究科細胞生物物理学, 2名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター)

我々は, HaCaT ケラチノサイトの創傷治癒モデルを用い

た研究で、伸展刺激依存性の ATP-Ca<sup>2+</sup>シグナル系が創傷治癒に重要であることを指摘した [1]。本研究では、同モデルを用いて、TRPC6の活性剤 hyperforin の効果を検討した。コラーゲンコートしたシリコンチャンバー上に幅約 250µm のストリップを貼付して HaCaT 細胞を培養し、コンフルエント達成後にストリップを剥離して線状の創傷を作成し、創傷治癒アッセイを行った。また、蛍光指示薬 Fluo-8 と Luciferin-Luciferase 反応を用いて、細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度変化と細胞外 ATP 放出のイメージングを行った。培養と実験は創傷時の上皮環境を模した低 Ca<sup>2+</sup>濃度 (0.07mM) 溶液中で行った。Hyperforin (1µM, 24 hr) 処理は創傷治癒を促進するとともに、創傷境界の最前列細胞の伸展刺激に対する ATP 放出と、これをトリガーとした細胞間 Ca<sup>2+</sup>波の伝播を増強した。伸展刺激が創傷治癒を促進する [1] ことと併せ考えると、hyperforin は TRPC6 を介して、最前列細胞の遊走時に細胞内に生じる伸展刺激や後続細胞に対する牽引 (伸展) 刺激による ATP-Ca<sup>2+</sup>シグナリングを増強して創傷治癒促進に寄与するものと推測された。1. Takada et al. : *Fragrance J* 3 : 65-69, 2012.

#### S4-3. 胃酸分泌細胞における分子シャペロン ERp57 の発現と機能

○藤井拓人, 藤田恭輔, 清水貴浩, 竹口紀晃, 酒井秀紀 (富山大学大学院薬物生理学)

ERp57 は、生体内各組織にユビキタスに発現し、ER においてジスルフィド結合形成酵素として機能する分子シャペロンである。しかし、近年 ERp57 は細胞膜や核など ER 以外にも存在しており、シャペロン以外の機能を担うことが示唆されている。我々は、ヒト胃粘膜を用いた免疫組織染色において、ERp57 が、胃酸分泌細胞に特に顕著に発現していることを見出した。ERp57 の細胞内分布は、胃プロトンポンプ (H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase) の分布と部分的に一致した。二次元電気泳動を用いたプロテオーム解析において、ERp57 はブタ胃酸分泌細胞のアピカル膜由来ベシクルに高発現していたが、細管小胞由来のベシクルにおける発現量は低かった。次に、H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニットを安定発現させた HEK293 細胞を用いて ERp57 と H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase との機能的関連性を検討した。内因性の ERp57 を siRNA によりノックダウンしたところ、H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニットの発現量および  $\beta$  サブユニットの糖鎖修飾パターンに変化は見られなかったが、SCH28080 感受性の ATP 加水分解活性 (H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase 活性) が有意に減少した。他方、ERp57 のノックダウンにより、Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の発現量および ATPase 活性に変化はみられなかった。以上より、ERp57 は胃酸分

泌細胞のアピカル膜に存在する H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase の活性を、シャペロン機能とは異なる機構で調節している可能性が示唆された。

#### S4-4. マウス ES 細胞由来視床下部誘導系におけるパゾプレシン細胞の解析

○長崎 弘<sup>1,2</sup>, 福岡一貴<sup>2</sup>, 小谷 侑<sup>1</sup>, 須賀英隆<sup>2,3</sup>, 笹井芳樹<sup>3</sup>, 金子葉子<sup>1</sup>, 中島 顕<sup>1</sup>, 大磯ユタカ<sup>2</sup>, 太田明<sup>1</sup> (<sup>1</sup>藤田保健衛生大学生理学講座 I, <sup>2</sup>名古屋大学大学院医学研究科糖尿病内分泌学, <sup>3</sup>理研・発生・再生研)

近年マウス胚性幹細胞 (mES) の浮遊培養で得られるスフェロイドの誘導培養により、各種の神経組織が器官形成されることが示された。その中で視床下部細胞系 (ES-Hypo) は、インスリンを含む全ての成長因子を除いた培地により誘導されることから、最も原始的ないわゆる 'Default' の細胞集団であると考えられている。この中にはパゾプレシン、オレキシン、メラニン凝集ホルモン等の視床下部ペプチドや、チロシン水酸化酵素、GAD65 を発現するニューロン及び、グリア、アストロサイト等が混在している。本研究では特にパゾプレシン細胞に着目しその機能について検討を行った。ES-Hypo の細胞塊は高 [K<sup>+</sup>], 高 [Na<sup>+</sup>] 及び高浸透圧に反応してパゾプレシン分泌が見られた。また、パゾプレシン mRNA 発現は培養 21 日目より指数関数的に増加していた。再生治療への適用を検討するため、AVP 遺伝子変異により多尿を呈する尿崩症モデル動物の Brattleboro rat に対し、視索上核近傍に ES-Hypo を移植、6 週間経過観察した。移植群において 40~50% 程度の尿量及び飲水量の低下を認めた。また移植細胞の腫瘍化は一例も認められなかった。以上より ES-Hypo 系は視床下部ニューロンの研究モデルとしての可能性だけでなく、尿崩症を含む視床下部疾患に対する再生治療への方向性が示唆された。

#### S5-1. Exploring the role of cathepsin C and cystatin F in demyelinating diseases

○W. Wisessmith<sup>1,2</sup>, T. Shimizu<sup>2</sup>, K. F. Tanaka<sup>3</sup>, K. Ikenaka<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>Department of Physiological Sciences, SOKENDAI, <sup>2</sup>Division of Neurobiology and Bioinformatics, NIPS, <sup>3</sup>Keio University)

Cathepsin C (CatC) or dipeptidyl peptidase I is a cysteine protease, which activates several peptides and protein substrates that are related to immune inflammatory processes. We previously found that expression of CatC is upregulated in microglia in chronic demyelinated lesions. Additionally, expression of its inhibitor, cystatin F (CysF),

is also induced during early phase of demyelination, but ceased its expression in chronic demyelinating stage (Hamilton et al., 2008, Ma et al., 2011). CatC and CysF seem to play roles in demyelinating process. We generated mouse lines to manipulate CatC or CysF expression by using Flexible-Accelerated-STOP-Tetracycline-Operator Knock-in (FAST) system (Tanaka K.F. et al., 2010). Homozygotes of CatC<sup>STOP/STOP</sup> (CatC<sup>STOP/STOP</sup>) or CysF<sup>STOP/STOP</sup> (CysF<sup>STOP/STOP</sup>) knock-in mouse showed no expression of CatC or CysF, which can be considered as CatC or CysF knockouts. We introduced PLP<sup>4e</sup> allele into CatC<sup>STOP/STOP</sup> or CysF<sup>STOP/STOP</sup> mice to examine their effects on demyelination. In addition, we also used experimental autoimmune encephalomyelitis (MOG-EAE) model, another demyelination model. CatC<sup>STOP/STOP</sup> : PLP<sup>4e/-</sup> mouse at 6 months old seem to have milder symptom when compared with PLP<sup>4e/-</sup> mouse. We also found CysF<sup>STOP/STOP</sup> mouse showed more severe symptoms than that of wild type mouse in the MOG-EAE model.

#### S5-2. 筋侵害受容性線維の酸による機械感受性増大はコンドロイチン硫酸により抑制される

○堀田典生<sup>1</sup>, 久保重抄子<sup>2</sup>, 水村和枝<sup>2</sup> (<sup>1</sup>中部大学生命健康科学部スポーツ保健医療学科, <sup>2</sup>中部大学生命健康科学部理学療法学科)

我々はこれまでに、筋細径線維受容器の機械刺激に対する応答は、酸に暴露されると増強することを報告した。また、パッチクランプ実験でも同様に培養後根神経節 (DRG) 細胞の機械応答電流が酸で増強され、さらに増強が見られるのは IB4 が結合するコンドロイチン硫酸 (CS) プロテオグリカン (versican) をもつ細胞がほとんどであることを発見した。さらに CS と機械応答チャネル (またはその補助分子) の相互作用が酸による機械応答電流増強に重要であることが示唆された (Kubo et al., J.Physiol. 2012)。そこで、筋細径線維受容器の酸による機械反応増強も CS 投与により変化しないか調べた。

雄性 SD ラットから神経一筋標本を取り出し、筋細径線維受容器の単一神経記録を行い、酸 (pH6.2) を 30 秒間 2 回投与し、2 回目の投与前に CS (0.3%, 5 $\mu$ l)、または Krebs 液の受容野近傍への注入を行い、その前後で機械刺激 (196 mN/10 秒の鋸歯状刺激) に対する反応を調べた。予想通り、酸暴露に伴い機械反応の閾値は有意に低下し反応の大きさは増加し、CS の注入により元に戻った。一方、Krebs 液の注入では酸による増強はさらに続いた。知覚神経終末部の反応性からは IB4 (+), (-) を識別する良い方法が無く、

今回の実験は両者込みの結果である。それにもかかわらず CS 投与により有意な感作の抑制が見られた。

#### S5-3. 脊髄を介したラット大腸運動亢進におけるグレリンの作用機序

○中森裕之<sup>1</sup>, 杉田理子<sup>1</sup>, 池田あずさ<sup>1</sup>, 平山晴子<sup>2</sup>, 椎名貴彦<sup>1</sup>, 志水泰武<sup>1</sup> (<sup>1</sup>岐阜大学応用生物科学部獣医生理学研究室, <sup>2</sup>岡山大学自然生命科学研究支援センター)

【背景と目的】ペプチドホルモンであるグレリンを脊髄腔内に投与すると、顕著な大腸蠕動運動の亢進が誘発される。本研究では、脊髄においてグレリンが神経に作用することを明確にし、さらに、そのグレリン感受性神経がどのような性質を持つ神経であるか検討した。【方法】麻酔下でラットの大腸運動を評価するために、遠位結腸と肛門にカニューレを挿入し、大腸内腔の圧変化と、蠕動運動によって肛門側へ推送される液量を測定した。排便中枢のある腰仙髄部にカニューレを設置し、そこから薬物を投与した。

【結果と考察】グレリンを脊髄腔内に投与することで生じる大腸運動の亢進は、神経遮断薬を脊髄腔内に投与することで消失した。興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸によって脊髄腔内の神経を興奮させたところ、グレリンと同様の反応が再現できた。次に、グレリンが脊髄で作用する神経は、視床下部に存在するグレリン感受性神経と同じ性質をもつか検討した。視床下部の神経は、ニューロペプチド Y (NPY) を伝達物質として放出するが、NPY を脊髄腔内に投与してもグレリン作用は再現されなかった。また、NPY 受容体拮抗薬でもグレリンの作用は阻害されなかった。【結論】これらの結果は、グレリンによる大腸運動の亢進作用は、脊髄内に存在するグレリン感受性神経を介していること、さらに、脊髄内のグレリン感受性神経は、視床下部の神経とは性質が異なることを示唆している。

#### S5-4. 哺乳動物における冬眠様低体温誘導法の確立

○島岡弘樹<sup>1</sup>, 川口敬之<sup>1</sup>, 鈴木隼人<sup>1</sup>, 笹木かほり<sup>1</sup>, 宮澤誠司<sup>2</sup>, 椎名貴彦<sup>1</sup>, 志水泰武<sup>1</sup> (<sup>1</sup>岐阜大学応用生物科学部獣医生理学研究室, <sup>2</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科))

【背景および目的】低体温は、心筋梗塞や脳梗塞の予後改善や癌の進行抑制など医療分野で幅広い応用の可能性を秘めている。しかし、哺乳類の多くは、極度の低体温状態に陥ると心拍動が維持できなくなるため、低体温療法の臨床レベルでの適用にはまだ至っていない。そこで、本研究では、哺乳動物を人工的に低体温状態にする方法を確立することを目的とした。【方法】麻酔薬の投与と冷却により、低体温への誘導を試みた。直腸温度と心電図を記録して、動

物の状態をモニターした。【結果と考察】冬眠動物であるシリアンハムスターに麻酔をかけて冷却すると、体温が低下した。これは、麻酔により体温中枢が抑制された結果であると考えられる。このとき、心拍数は冬眠中のハムスターと近い値を示し、異常な心電図も現れなかった。次に、この誘導法を非冬眠動物であるラットに適用したところ、冬眠動物と同様に体温を低下させることに成功した。体温が低下しても、正常な洞律動が維持されていた。さらに、低体温に誘導したラットは、冷却を停止して室温環境に戻すことで体温および心拍数が回復した。この結果は、非冬眠動物であるラットにおいても低体温耐性があることを示している。【結論】本研究により、麻酔薬を用いた新たな低体温誘導法を確立した。また、その方法が冬眠動物のみならず、非冬眠動物を簡便かつ安全に低体温状態へ誘導することが明らかとなった。

#### S5-5. 嘔吐する小型実験動物スunksの食道運動を制御するコリン作動性および非コリン作動性機構

○椎名貴彦, 安田昇平, 志水泰武 (岐阜大学応用生物科学部獣医生理学研究室)

【背景と目的】スunks (*Suncus murinus*) は、物理化学的刺激にตอบสนองして嘔吐する能力を持つ小型実験動物である。嘔吐は、主として胃の逆蠕動運動によって起こる現象であるが、食道もまた嘔吐において一定の役割を果たしている。食道は、嘔吐時に縦走方向の短縮反応を起こし、胃内容物の口腔への運搬を助けると考えられている。そこで本研究では、スunks食道の縦走方向運動がどのような因子によって制御されているかについて明らかにすることを目的とした。【方法】摘出した食道標本をオルガンバスにセットし、張力トランスデューサーにより、食道の機械的反応を記録した。【結果と考察】食道周囲の迷走神経を電気刺激したところ、二相性の収縮反応が誘発された。この二相性の収縮反応を薬理学的に調べたところ、一相目の反応は横紋筋、二相目の反応は平滑筋であり、いずれの反応もコリン作動性神経によって制御されていることが明らかとなった。次に、非コリン作動性因子の関与を検討するため、ヒスタミンおよびセロトニンをそれぞれオルガンバスに投与した。いずれの物質も、食道標本を収縮させた。薬理的な検討により、ヒスタミンおよびセロトニンにより誘発された反応は平滑筋の反応であることが示された。【結論】以上の結果から、スunks食道縦走方向運動は、コリン作動性および非コリン作動性の機構によって制御されていることが明らかとなった。

#### S6-1. 表面積を増大した微小電極アレイによるマウス

#### 消化管自発性電気活動の空間特性解析

○中山晋介<sup>1</sup>, 谷口瑞樹<sup>1</sup>, H.B. Shozib<sup>1</sup>, 澤村健太<sup>1</sup>, 梶岡俊一<sup>2</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学, <sup>2</sup>九州大学大学院医学研究科泌尿器科学)

消化管の精妙な運動は、平滑筋、神経、特殊ペースメーカー細胞等の細胞群の協調的活動により成り立っている。したがって、これら細胞群を含む消化管細胞組織での電気活動の空間特性解析は、消化管運動メカニズムの詳細な理解に繋がる。また、現在の医学・生理学研究ではモデル小動物を使用することが多いため、微小な領域の空間的電気現象を評価するツールがあると便利である。

そこで本研究では、微小電極アレイ装置 (MED system: Alpha Med Scientific, Ibaraki, Japan) を用いて、摘出したマウス小腸筋層標本表面のフィールド電位を  $1\text{mm}^2$  の領域で  $64 (8 \times 8)$  チャネル同時計測を行った。消化管の緩徐な電気活動を記録するため、マルチチャネル AC アンプは  $0.1\text{Hz}$  の時定数で使用した。使用した細胞外微小電極は、 $50 \times 50\mu\text{m}^2$  の大きさであるが、白金黒ナノ粒子が固着されているので、表面積は約 200 倍に増大している。そのため、 $0.1\text{Hz}$  においても電極インピーダンスは約  $31\text{M}\Omega [ = \sqrt{1 / (2\pi \times 0.1\text{Hz} \times 0.052\mu\text{F})^2 + (15\text{k}\Omega)^2} ]$  と低く、十分な割合の電気信号が計測できる。このようなアレイ電極での計測データへ、パワースペクトル、自己相関、相互相関解析を応用し、特殊ペースメーカー細胞に起源すると考えられる緩徐な自発性電気活動の空間的特性を調べることが出来た。

#### S6-2. 発達期におけるミクログリアの形態的及び機能的特性の解明

○宮本愛喜子<sup>1,2</sup>, 江藤圭<sup>2</sup>, 鍋倉淳一<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻, <sup>2</sup>自然科学研究機構生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門)

中枢神経系内に存在するミクログリアは非病態時には突起を四方に伸長させた形態 (ramified) をしているが、病態時には突起を退縮した形態 (amoeboid) へと変化する。非病態時におけるミクログリアの突起は活発に動き、頻繁にシナプスと接触していることが明らかとなっているが、発達期にミクログリアがどのように活動しているのか、また、シナプスとの関連があるのかについては不明である。

本研究では発達期のミクログリアの形態変化、及び、神経細胞のスパインとの接触について観察を行った。形態変化についてはミクログリア特異的に EGFP を発現する Iba1-eGFP マウスを用いて固定切片を作成し、観察した。その結果、成体マウス (P60) では ramified 型をしていたが幼若 (P8-10) マウスでは突起の本数も少なく、細胞体の大きい amoeboid 型に近い形態をしていることが明らかとなっ

た。また、Iba1-eGFP マウスの *in vivo* イメージングを行い、突起の運動性について観察したところ成体マウスよりも幼若マウスの方が有意に突起の運動性が高いことが明らかとなった。さらに、Iba1-eGFP マウスに *in utero* electroporation で大脳皮質錐体細胞に赤色蛍光タンパク質を発現させたマウスで、そのスパインとミクログリアとの接触を観察したところ、幼若マウスにおける突起はスパインとだけでなく樹状突起との接触も観察され、接触中にスパイン形成が生じる例も観察された。以上のことは発達期におけるミクログリアが成体ミクログリアと異なる役割を持っている可能性を示唆するものである。

### S6-3. 内包出血後の麻痺肢集中使用は運動野体部位再現における前肢領域を拡大させる

○石田章真<sup>1,2</sup>、梅田達也<sup>2</sup>、伊佐 正<sup>2</sup>、飛田秀樹<sup>1</sup> (1名古屋市立大学大学院・医学研究科・脳神経生理学、<sup>2</sup>生理学研究所・認知行動発達機構)

本研究では、内包出血モデルラットを用いて、有効なりハビリテーション方策とされる麻痺側上肢の集中使用が大脳皮質運動野の体部位再現に及ぼす変化について経時的に解析した。

Wistar 系雄ラットの運動野の前肢領域部に皮質内微小電気刺激用のチャンパーを取付けた。7日後に同側内包部に collagenase (type IV, 15U/ml, 1.4 $\mu$ l) を注入し内包出血モデルを作成した。出血後 1-8 日目に非麻痺肢を拘束し麻痺肢のみ使用を可能にした。出血後 12 日および 26 日目に運動機能評価 (リーチ・ステップ機能) を行った。出血 5 日前および 1, 10, 24 日後に皮質内微小電気刺激法にて出血側運動野のマッピングを行った。

内包出血 1 日後には重篤な運動麻痺が生じ、運動野の前肢領域において皮質内微小電気刺激に反応する部分は観察されなかった。自然回復群 (n=5) では、術後 10 日目に尾側運動野の比較的狭い範囲にて刺激に反応する前肢領域が観察され、術後 24 日目には同領域がやや拡大していた。一方、麻痺肢集中使用群 (n=6) では、術後 10 日目から尾側および吻側運動野において自然回復群に比して広範な前肢領域の出現が確認され、術後 24 日目には領域の更なる拡大が認められた。前肢運動機能の評価では、自然回復群と比べ集中使用群では有意な機能改善が認められた。さらに、出現した尾側・吻側前肢領域に muscimol (1 $\mu$ M, 1 $\mu$ l) を投与すると、改善した運動機能が低下することが確認されたため、これらの領域が機能回復に貢献していることが明らかになった。

以上の結果から、内包出血後の麻痺肢集中使用は運動野前肢領域を拡大し、運動機能回復を促進することが示唆さ

れた。

### S6-4. 発達期のうま味刺激が AD/HD モデルラットの情動行動に与える影響

○横山善弘<sup>1,2</sup>、清水由布子<sup>1</sup>、三角吉代<sup>1</sup>、石田章真<sup>1</sup>、横井基夫<sup>2</sup>、飛田秀樹<sup>1</sup> (1名古屋市立大学・医学研究科・脳神経生理学、<sup>2</sup>同 歯科口腔外科学)

注意欠陥多動性障害 (AD/HD) は不注意、衝動性、多動性を示す発育期疾患で、自然発症高血圧ラット (SHR) がそのモデルラットとして用いられている。我々は、発育期の外部刺激の多い飼育環境 (豊かな環境) が情動行動の発現に影響を及ぼすことを示してきた。本研究は、AD/HD モデルの SHR を用い、発育期のうま味 (mono sodium glutamate: MSG) 刺激が情動行動にどのような影響を与えるのかについて調べた。

SHR を H<sub>2</sub>O 経口投与の対照群 (n=22) と 0.6% MSG 水溶液経口投与の投与群 (n=16) に分け、離乳直後の生後 25 日齢から 60 日齢の 5 週間の発育期を通常の環境で飼育を行った。発育中の体重変化、摂食および飲水量を調べた。また情動行動として open-field test (OT) および social interaction test (ST) を調べた。

その結果、発育期の体重変化および餌摂取量に関して MSG 投与群と対照群の間に大きな変化を認めなかったが、水摂取量は MSG 投与群において 1.4 $\pm$ 0.1 倍と多かった。OT では、多動性の指標となる総移動距離および歩行時速度、不安様行動の指標となる中心部へ入る回数は両群の間に有意な違いは認められなかった。ST では、初対する動物への臭い嗅ぎ行動や馬乗り行動が対照群に比べ MSG 投与群では有意に減少していた。

以上の結果から、SHR の発育期にうま味刺激として MSG を経口摂取させると情動行動に明らかな変化が認められることが示された。また不安様行動より社会性の発現への影響が大きいことが示された。

### P1. アストログリアにおける ATP 及びグルタミン酸による細胞容積感受性外向整流性アニオンチャンネル (VSOR) の容積非依存的な活性化

○秋田天平、岡田泰伸 (自然科学研究機構・生理学研究所・機能協同研究部門)

細胞容積感受性外向整流性アニオンチャンネル (VSOR) は、あらゆる種類の細胞において細胞容積調節時の主たるアニオン透過経路となる。細胞膨張時のその活性化は細胞内アニオン流出を促して細胞容積の復元をもたらす。膨張を伴わずに活性化される場合は容積の縮小をもたらしてアポトーシスを誘起しうる。また、透過アニオンとしてグル

タミン酸等のアミノ酸を含み、それが神経系においては細胞間シグナル伝達の役割も持つ(Liu et al, J Physiol, 2009). 近年我々は、マウス大脳皮質アストログリア細胞における細胞膨張を伴わないVSOR活性化機序が、Ca<sup>2+</sup>透過型イオンチャネル開口部近傍に形成される高Ca<sup>2+</sup>濃度領域「Ca<sup>2+</sup>ナノドメイン」を介することを明らかにしたが(Akita & Okada, J Physiol 2011; Akita et al, Cell Physiol Biochem, 2011), それはその活性化機序が、細胞の形態変化や移動に伴う細胞の局所的な容積変化や細胞間シグナル伝達を駆動する役割をも担うことを示唆する。最近我々は、ATPやグルタミン酸といった神経系の生理的伝達物質の作用により、アストログリアで細胞膨張を伴わずにVSORが活性化されうることを見出したので報告する。

## P2. 小脳失調症の原因である変異型 Kv3.3 は培養小脳プルキンエ細胞の樹状突起発達不全と細胞死を引き起こす

○入江智彦<sup>1,2</sup>, 松崎泰教<sup>2</sup>, 関野祐子<sup>1</sup>, 平井宏和<sup>2</sup> (<sup>1</sup>国立医薬品食品衛生研究所・薬理部, <sup>2</sup>群馬大学大学院医学系研究科・神経生理学分野)

小脳は円滑な運動の遂行に重要な役割を果たす。小脳皮質からの出力はプルキンエ細胞の軸索が担っており、これが障害されると小脳性失調が引き起こされる。近年、小脳(特にプルキンエ細胞)に強く発現する電位依存性 K チャネルの1種(Kv3.3)のミスセンス変異が、小脳失調症(脊髄小脳変性症13型: SCA13)を引き起こす事が報告された。SCA13は常染色体優性遺伝を示し小脳萎縮を伴う。しかしながら、変異型 Kv3.3が小脳神経細胞の形態や電気生理学的特性等に与える影響は不明のままである。

そこで、ヒト患者でドミナント・ネガティブを示す変異をマウス Kv3.3 遺伝子に導入した(変異型 Kv3.3)。これをレンチウイルスベクターを用いてマウス初代小脳培養細胞に強制発現させて実験を行った。

培養7日目まではプルキンエ細胞に形態的な違いは生じなかった。しかし、培養11日目には変異型 Kv3.3を発現するプルキンエ細胞で樹状突起の発達不全が生じた。また、アポトーシスによる細胞数の顕著な減少が見られた。そこで、培養8-10日目の間に生じる電気生理学的特性の変化をパッチクランプ法により検討した。その結果、(1)外向き電流の減少(2)自発EPSCの顕著な減少(3)活動電位幅の延長(4)通電刺激に対する発火頻度の減少、の変化を見いだした。

今回見いだした形態学的・生理学的変化がヒトの小脳で起こる事で、小脳萎縮や運動失調を伴うSCA13の病態を惹起する原因になっていると考えられる。また、今回構築した培養実験系はSCA13の治療薬探索・評価に活用でき

るであろう。

## P3. 白色脂肪組織 TNF-alpha の mRNA 発現に及ぼす AgRP 及び交感神経の調節作用

○唐麗君<sup>1</sup>, 志内哲也<sup>2</sup>, 箕越靖彦<sup>1</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門, <sup>2</sup>徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部統合生理学)

肥満動物における TNF-alpha の過剰産生は、インシュリン抵抗性の発症に関与することが知られている。これまで、白色脂肪組織における TNF-alpha の過剰産生は、脂肪組織の肥大とそれによって引き起こされるマクロファージの浸潤によると考えられており、TNF-alpha の過剰産生に脳がどのような調節作用を営むかは不明であった。本研究において、我々は、摂食促進ペプチドである AgRP を脳室内に投与すると、副腎脂肪組織においてマクロファージの浸潤を促進することなく、TNF-alpha mRNA 発現が亢進することを見出した。外科的神経切除、beta-アドレナリン受容体(AR)拮抗薬の投与、beta-AR 遺伝子欠損マウス、及び脂肪組織片、間質血管細胞群を用いて交感神経の調節作用を調べた結果、交感神経は、脂肪組織に存在するマクロファージの beta2 受容体-PKA 経路を介して TNF-alpha の発現を抑制すること、AgRP は交感神経活動を抑制することによって TNF-alpha の発現を高めることが分かった。一方、高脂肪食誘導性肥満マウスの脂肪組織では、交感神経活動が低下しており、ノルエピネフリンによる抑制作用は認められなかった。

以上の実験結果から、脂肪組織における TNF-alpha の過剰産生は、肥満の結果のみならず、脳-交感神経-beta2 受容体経路の異常も関与すると考えられる。

## P4. 大脳皮質非錐体細胞の樹状突起の形態機能解析

○窪田芳之<sup>1</sup>, 野村真樹<sup>2</sup>, 苅部冬紀<sup>1</sup>, 川口泰雄<sup>1</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所・大脳神経回路論研究部門, <sup>2</sup>理化学研究所 RCAI)

大脳新皮質の代表的な4種類の非錐体細胞(FSバスケット細胞, マルチノッチ細胞, ダブルブーケ細胞, 大型バスケット細胞)の樹状突起の形態特性を計測した。ラットの大脳皮質を使った電気生理スライス実験で単一の非錐体細胞の生理的な特性を抽出した後、DABで染色し、NeuroLu-cidaで3次元的に樹状突起を再構築した。そして、電子顕微鏡を使って連続した超薄切片像からその樹状突起を再構築し、その形態を詳細に測定した。その結果、樹状突起の太さは、細胞体からの距離には相関せず、むしろその部分から遠位部の樹状突起の総延長に相関して太さが決まる事がわかった。また、樹状突起の分岐部分の前後でその形状

を測定したところ、下記の2つの法則が同時に成立する事がわかった。(1)親樹状突起の断面積は2つの娘樹状突起の断面積の和に等しい。

(2) Rall model (親樹状突起のコンタクト数は2つの娘樹状突起のコンタクト数の和に等しいという法則)が成立する。さらに、樹状突起の断面は楕円形であるということもわかった。これらの形態特性を正確に反映したモデル細胞を作成し、興奮性シナプス入力によりEPSPの伝導様式をシミュレーション解析した。結果、Rall modelの法則が成立する事で、樹状突起上にあるシナプス入力は、その神経細胞にとってほぼ等価の影響を示す事がわかった。

#### P5. 代謝型アセチルコリン受容体I型の電位依存的構造変化に関するFRET解析

○立山充博, 久保義弘 (生理学研究所・神経機能素子研究部門)

ムスカリン受容体I型(MIR)は、アセチルコリンに対する代謝型受容体の一種でGq蛋白質を介してシグナルを細胞内に伝達する。近年、MIRによるシグナリング効率が膜電位により影響を受けることが示され、また、受容体の構造が膜電位により変化するという可能性が示唆された。一方、我々は、FRET効率を測定することでMIRの活性化状態を捉えることに成功していた。これは、細胞内第三ループにYFPをC末端にCFPを付加したコンストラクトでのFRET効率が作用薬投与により減少し、作用薬除去により回復するという事に基づく。そこで、このコンストラクトを用いて膜電位の受容体活性化構造に与える影響について検討した。実験では、whole cell patch clamp法により膜電位を固定した条件下で、CFP励起時のCFPとYFPの蛍光強度をフォトマルを用いて記録した。作用薬がない状態では、膜電位を変化させてもFRET効率は変化しなかった。これに対して、作用薬投与によるFRET効率の減少は、脱分極時に増大し、過分極時に減弱した。これらの結果は、膜電位の変化はシグナリングを惹起しないが、作用薬投与時のシグナリング効率は膜電位により影響を受けると報告をよく説明する。さらに、受容体活性化に関わるどのステップが膜電位により影響をうけるのかという点について検討したので、その結果についても紹介する。

#### P6. 情動行動に及ぼすかつおだし摂取の影響

○J.Undarmaa<sup>1</sup>, 堀悦郎<sup>1</sup>, 近藤高史<sup>2</sup>, 小野武年<sup>1</sup>, 西条寿夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>富山大学大学院医学薬学研究部(医学)システム情動科学, <sup>2</sup>京都大学大学院農学研究科食の未来戦略講座(味の素寄附講座))

研究目的: かつおだしは様々なアミノ酸を含有してお

り、消化管には種々のアミノ酸受容体が存在する。一方、腸-脳相関により、消化管内各種栄養素が脳機能に影響を及ぼすことが示唆されている。本研究では、かつおだしを摂取したマウスの情動行動について調べた。

実験方法: 4週齢雄性マウス(C57BL/6)を用い、水を摂取させた水摂取群、10%かつおだし摂取群および100%かつおだし摂取群の3群に分けた。全ての個体を個別飼育し、試験期間中の溶液摂取量を測定した。4週間後、各マウスのホームケージにC3H系雄性マウスを一匹入れ10分間の行動をビデオ撮影し、攻撃行動を解析した。攻撃行動試験の2週間後に高架式十字迷路試験を、さらに2週間後に強制水泳試験を行った。

結果: 10%かつおだし摂取群では、水摂取群に比べて攻撃行動の開始潜時が長く、攻撃行動回数も少なかった。さらに、強制水泳試験では、10%かつおだし摂取群の水泳時間が水摂取群に比べて延長していた。高架式十字迷路試験では群間に有意な差は認められなかった。

以上から、かつおだし摂取は、マウスの攻撃行動およびうつ様行動を抑制することが示唆された。

#### P7. 侵害刺激受容体TRPA1とTRPV1の脊椎動物における機能進化

○齋藤 茂<sup>1</sup>, 中塚一将<sup>2</sup>, 福田直美<sup>1</sup>, 太田利男<sup>2</sup>, 富永真琴<sup>1,3</sup> (<sup>1</sup>岡崎統合バイオ(生理研)・生命環境, <sup>2</sup>鳥取大学・農, <sup>3</sup>総研大・生理)

温度感受性TRPチャネルは幅広い動物種で温度受容体として機能しており、複数の温度感受性TRPチャネルが異なる温度域を受容することにより動物は温度を正確に感知している。また、温度感受性TRPチャネルは様々な化学物質でも活性化される多機能な受容体である。本研究では痛みとして認識される温度や刺激性の化学物質の受容体であるTRPA1とTRPV1の脊椎動物における進化過程を推定するために、ニシツメガエルおよびグリーンアノールのTRPA1とTRPV1の機能解析を行い、チャネル特性を既知のゼブラフィッシュや哺乳類などのTRPV1やTRPA1と比較した。また、分子系統解析により遺伝子の進化過程も推定した。その結果、1)刺激性の化学物質の感受性はすべての脊椎動物種のTRPA1で維持されている、2)TRPA1は動物の初期の進化過程で既に高温および化学物質の感受性を獲得した、3)TRPV1は脊椎動物の祖先種で新たに生じて高温感受性を獲得し、4)既に存在したTRPA1と感覚神経細胞で共発現するようになったことが示唆された。TRPV1の獲得がその後の脊椎動物の進化過程におけるTRPA1の温度感受性の多様化に貢献したと考えられる。両チャネルの機能の進化過程を推定することで類似した生

理機能を担う受容体が互いに影響を与えながら共進化してきたことが明らかとなった。

#### P8. 胎生期脊髄における酸性糖鎖による発生の制御

○橋本弘和<sup>1,2</sup>, 石野雄吾<sup>1,2</sup>, 吉村 武<sup>1,2</sup>, 池田一裕<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>自然科学研究機構・生理研・分子神経生理, <sup>2</sup>総研大・生命科学・生理科学)

胎生期における脊髄の発生は Wnt, BMP, Shh といったモルフォゲンと呼ばれる液性因子が制御し, それらの濃度勾配により様々なドメイン構造を形成している。これまでに Wnt-1, -3, -3a, -4 が胎生期の脊髄で発現しオリゴデニンロサイトの発生をコントロールしていることが報告されている。加えて, Wnt や Shh は酸性糖鎖と結合しやすい傾向があることから, 酸性糖鎖とモルフォゲンとの相互作用に着目した。

初めに, 胎生期脊髄において酸性糖鎖の合成に関わる Sulfotransferase や Sulfatase の発現分布を *in situ* hybridization 法を用いて解析した。胎生 10.5 日では, コンドロイチン硫酸の合成に関与する C4ST2, GalNAc4ST1 や GalNAc4S,6ST は脊髄全体に発現していた。ヘパラン硫酸の合成に関わる酵素の内, HS2ST1, HS6ST1 や NDST1 も脊髄全体に発現がみられた。ヘパラン硫酸の脱硫酸に関わる Sulf1/2 は floor plate に局在していた。これらの結果から胎生 10.5 日の脊髄ではコンドロイチン硫酸やヘパラン硫酸がプロテオグリカン上において顕著に合成されており, 特にコンドロイチン硫酸の 4S あるいは 4S,6S のアイソフォームが豊富に存在していることを示唆している。

硫酸化糖鎖に関連するいくつかの酵素が背側あるいは腹側に局在していたことから, 硫酸化糖鎖の分布の変化が Wnt タンパク質と相互作用することにより脊髄の発生を制御している可能性がある。

#### P9. In vivo バッチクランプ法を用いた脊髄における内臓知覚シナプス伝達および下部尿路中枢性制御機構の解析法の開発

○箱崎敦志<sup>1,2,3</sup>, 井本敬二<sup>1,2</sup>, 林 勸生<sup>3</sup>, 河谷正仁<sup>4</sup>, 古江秀昌<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>生理学研究所神経シグナル研究部門, <sup>2</sup>総合研究大学院大学生命科学研究科, <sup>3</sup>大鵬薬品工業株式会社第二研究所, <sup>4</sup>秋田大学大学院医学系研究科器官・統合生理学)

求心性神経を介して内臓感覚情報を受け取る脊髄など中枢は, その情報を基に内臓機能の制御を司る。特に, 下部尿路は体性神経や交感・副交感を介して腰部から精巧な制御を受け, また, 間質性膀胱炎などの病態時に C 線維が活性化され膀胱痛や頻尿が生じる事が知られている。しか

し, 脊髄へのそれら痛覚伝達機構や感覚情報の下部尿路機能に対する役割は未だ不明な事が多い。そこで, 下部尿路からの脊髄内臓知覚シナプス応答および中枢性制御機構の詳細な検討を行うために, 腰部脊髄背側部からの *in vivo* バッチクランプ法を新規に開発した。

麻酔下に SD ラット膀胱および尿道にカテーテルを挿入し, 膀胱と尿道内圧を測定した。椎弓を切除し, 腰部脊髄を露出した動物を定位固定装置に固定した。脊髄背側部から細胞外記録およびホールセルバッチクランプ記録を行った。記録細胞は約 -70mV の静止電位を有した。膀胱収縮圧が上昇すると同調して発火頻度が上昇した。脊髄表面に投与した TTX や CNQX はその発火を抑制した。腰部脊髄スライス標本を作製し, 後根誘起のシナプス応答を調べると, 背側部の細胞に A $\delta$  線維に加え, C 線維誘起の単シナプス性興奮性シナプス後電流が発生した。

以上より, 腰部脊髄背側部は A $\delta$  や C 線維を介したグルタミン酸の入力を受け, 膀胱収縮圧に同調して発火することが示された。本法は, 生理的条件下に下部尿路からの感覚情報伝達や下部尿路中枢性制御機構の解明に有用である事が示された。

#### P10. Motor Adaptation and Volitional control of wrist movement via an Artificial Neural Connection between Muscle and Peripheral Nerve in Man

○K. Kato<sup>1,2,3</sup>, S. Sasada<sup>1</sup>, Y. Nishimura<sup>1,2,4</sup>  
(<sup>1</sup> Department of Developmental Physiology, NIPS, <sup>2</sup>The Graduate University for Advanced Studies, SOKENDAI, <sup>3</sup>The Japan Society for the Promotion of Science, <sup>4</sup>PRESTO, Japan Science and Technology Agency)

In the last decade, a number of studies in nonhuman primates and humans have demonstrated that brain-computer interfaces (BCIs) had a potential to improve the performance by learning. Here, we developed the system of recurrent BCIs that creates an artificial neural connection (ANC) between muscle and peripheral nerve that can boost the muscle activity and demonstrates subjects can learn to utilize this system. The artificial neural connection produces by a computer interface that can detect the firing pattern of motor units and converted in real-time to activity-contingent electrical stimuli delivered to peripheral nerve. The artificial neural connection between the wrist flexor and the ulner nerve boosts the on-going muscle activities of the ulner-innervated muscle, which is the synergistic muscle of the wrist flexor. Eleven healthy subjects were asked to perform the visually-guided reaching

task about wrist over three epochs; control epoch in 30 min, ANC learning epoch in 30 min, and washout epoch in 10 min. The target location was set at the same location with the end-point where the tetanic electrical stimulation to the ulner nerve induced. Just after starting ANC learning epoch, the wrist trajectory overshoot the target. As the practice progressed with ANC, the wrist trajectories hit the target. These results indicate that the subjects could adapt to the novel ANC that boosts the on-going muscle activities.

To elucidate the neuronal mechanism underlying this adaptation, we investigated wrist trajectories and muscle activities during "catch trials" after adaptation completed, in which ANC suddenly disconnected while holding the target. The resulting trajectories undershot the target. Moreover, the ulner-innervated muscle substantially reduced their activity compared to the control epoch. In the washout epoch, trajectories undershot the target, in which the ulner-innervated muscle still reduced their activities within 5 min. These results indicate that after adaptation completed, the subject decreases descending command to spinal motoneurons. This protocol may develop for a potential neuroprosthetic treatment for individuals with damaged motor pathways.

#### P11. サル下側頭皮質の色選択性応答に刺激輝度コントラストの変化が与える影響

○波間智行<sup>1,2</sup>, 安田正治<sup>3</sup>, 坂野拓<sup>4</sup>, 小松英彦<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>総研大・生命科学, <sup>2</sup>生理研・感覚認知情報, <sup>3</sup>NIH, <sup>4</sup>国立精神・神経医療研究センター)

色の輝度コントラストの変化は色の見えを変化させることがある。たとえば、同じ色度をもつ色であっても、輝度が異なると橙色と茶色、白色と黒色といった明らかに見えの異なる色として知覚されるようになる。

色知覚のメカニズムを理解する上で、視覚野の色選択性ニューロンで色情報と輝度情報がどのように関係しているかを明らかにすることが重要である。

本研究では、色知覚に深い関係があると考えられている下側頭皮質(IT)の色選択性ニューロンにおいて、色刺激の輝度コントラスト変化がニューロンの色選択性応答にどのような影響を与えるかを検討した。

注視課題遂行中のマカクザルの前部下側頭皮質(AITC)および後部下側頭皮質(PITC)から単一細胞外電位記録を行った。視覚刺激は15個の色刺激を用い、グレー背景(10 cd/m<sup>2</sup>)に対して明るい輝度(20 cd/m<sup>2</sup>)もしくは暗い輝度

(5 cd/m<sup>2</sup>)で提示した。明るい色刺激に対するニューロン活動と暗い色刺激に対するニューロン活動を比較し、色選択性応答に刺激輝度コントラストの変化が与える影響を検討した。

ニューロンの色選択性応答の変化を領野ごとに比較した結果、PITCはAITCに比べてより強い輝度コントラスト変化の影響がみられた。特に、PITCでは中間色の色刺激(白色点)およびその周辺の低彩度色で輝度コントラスト変化の強い影響がみられた。

#### P12. Vasopressinの連続投与はマウス腹腔血管床の血管拡張を惹起する

○芝本利重, 九田裕一, 山本悠貴, 王墨飛, 谷田守, 倉田康孝(金沢医科大学第二生理学)

【目的】Vasopressinは抗利尿作用と血管収縮作用があり、最近、後者の作用を期待して敗血症性ショックへの治療が試みられている。しかし、Vasopressinは血管拡張作用も有する。今回、マウスにおけるVasopressinの体血圧と腹腔血管床への容量依存的な作用を検討した。

【方法】体重25g前後のBALB/cマウスを麻酔下に体血圧(Psa), 門脈圧(Ppv), 門脈血流量(Q)を測定し、腹腔血管抵抗(Rspl:(Psa-Ppv)/Q)を算出した。Vasopressinは0.01~100nmol/kgを静脈内にbolus投与した。さらに、高量(100nmol/kg)の連続投与をオキシトシン受容体とVasopressin V2受容体の関与のもとに検討した。

【結果】Vasopressin 0.01~1nmol/kgは容量依存性にPsa上昇, Q低下, Ppv低下, Rspl上昇がみられ、体血圧の昇圧と腹腔血管収縮を認めた。しかし、100nmol/kgではPsa増加はわずかで、Q上昇, Ppv上昇, Rspl低下を示し、腹腔血管拡張を認めた。一方、100nmol/kgを最初に投与すると、Psa上昇とRspl上昇の腹腔血管収縮が生じた。引き続き同量を投与すると腹腔血管拡張反応に転じた。以上よりVasopressin高量投与により、血管収縮に関与するVasopressin V1a受容体が脱感作され、血管拡張反応の出現が示唆された。この血管拡張反応はオキシトシン受容体阻害剤であるatosibanを前処置すると消失したがVasopressin V2受容体阻害剤の前処置では効果がなかった。

【結論】マウスにおいてVasopressinの高投与量は血管収縮に関与するV1a受容体の脱感作を惹起し、引き続き投与はオキシトシン受容体の関与による血管拡張反応を来すことが示唆された。

#### P13. アロマ精油賦香の心循環系に対する作用特性

○榊原吉一<sup>1</sup>, 小川沙織<sup>1</sup>, 増田敦子<sup>2</sup>, 田中美智子<sup>3</sup>, 長坂猛<sup>4</sup>(<sup>1</sup>金沢工業大学心理情報学科, <sup>2</sup>徳寺大学理学

療法学科,<sup>3</sup>福岡県立大学看護学部,<sup>4</sup>宮崎県立大学看護学部)

吸入されたアロマ精油は嗅覚を刺激し、更に体内に入っ  
て、抗菌・抗酸化作用、精神高揚・鎮静化作用、更に自律  
神経興奮・鎮静化作用等を有している。これらの作用の実  
体は未解明であるとは言え、精油成分の酢酸リナリルは内  
皮細胞の一酸化窒素 (NO) 合成を促進し、リナロールは副  
交感神経活動を高めることなどが知られている。本研究で  
は、これらの成分を含むラベンダー (Lav) とジャスミン  
(Jas) の短時間賦香が成人の心臓血管系とその自律神経系  
に及ぼす作用を調べた。

精油の 1, 2, 4% シアバター湯煎液 (融点約 32℃) を標  
本とし、空気 4 分、標本賦香 6 分、空気 4 分の順番に空気  
ポンプの定常流速と三方活栓で被験者の鼻先 20cm ほどの  
ビニール管開口部まで送り届けた。心電図と指尖脈波を連  
続的に測定し、心拍数変動法による HF と LF/HF を心臓  
自律神経活動の指標とした。R 波と脈波一次微分最高値地  
点間の時間 (R-dP1) を血管交感神経活動の指標とした。血  
圧は間欠的に測定した。被験者は 5 人を用いたが、心電図  
異常、呼吸統制失敗、途中入眠などの理由で 3 人の結果は  
不採用とした。

Lav は通常 HF 増と HR 減を起こした。時として、R-dP1  
は著増と血圧低下を示し、通常とは違って、HF と正の相関  
性を示すことがあった。Jas は HF 減・HR 増と、時として  
R-dP1 増という、交感神経活動の興奮と鎮静の両作用を示  
した。

#### P14. 痒み物質の皮膚塗布により誘起される行動学的解 析と *in vivo* パッチクランプ記録法を用いた脊髄後角にお けるシナプス応答の解析

○歌 大介<sup>1</sup>、安東嗣修<sup>2</sup>、倉石 泰<sup>2</sup>、井本敬二<sup>1,3</sup>、古  
江秀昌<sup>1,3</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所神経シグナル研究部門、<sup>2</sup>富山  
大学医学薬学研究部応用薬理学研究室、<sup>3</sup>総合研究大学院  
大学生理学)

痒みは一般的な皮膚疾患の症状で、状態を悪化させる皮  
膚への弛まぬ引っ掻き行動を引き起こす。時に痒みは痛み  
以上に耐えがたい感覚であるにも関わらず、痛みと比べ脊  
髄における痒みの情報の伝達やその調節機構については不  
明なことが多い。

そこで、脊髄後角での痒み伝達と処理機構について行動  
薬理学的解析及び電気生理学的解析を行った。まず、行動  
薬理学的解析により成熟雄性のラットにおいてセロトニン  
にて痒み行動が誘発されるかどうかを検討した。その結果、  
マウス同様にセロトニンにより長時間持続する痒み行動が  
誘発される事が明らかとなった。続いて、脊髄後角から *in*

*vivo* パッチクランプ記録を行いセロトニンによる痒み応答  
が記録できるかを検討した。その結果、一部の細胞でセロ  
トニンにより振幅の大きな自発性の興奮性シナプス後電流  
(EPSC) の発生頻度が著明に増加した。この興奮性の応答  
は数十分にわたり持続した。セロトニンにより誘起される  
EPSC は脊髄表面から投与した TTX により完全に抑制さ  
れた。

以上の事から、皮膚へのセロトニン塗布によって痒み行  
動が起こること、末梢で発生した活動電位が脊髄の表層の  
細胞にシナプス入力し振幅の大きな EPSC の発生頻度を  
著明に増加させることが明らかとなった。

#### P15. オプトジェネティクスを用いた長時間神経活動抑 制と睡眠覚醒制御

○常松友美<sup>1</sup>、E.S. Boyden<sup>2</sup>、富永真琴<sup>1</sup>、山中章弘<sup>1,3,4</sup>  
(<sup>1</sup>生理学研究所細胞生理研究部門、<sup>2</sup>MIT、<sup>3</sup>名古屋大学  
環境医学研究科、<sup>4</sup>JST さきがけ)

神経ペプチド「オレキシン」を産生する神経 (オレキシ  
ン神経) は、視床下部外側野に少数が散在しており、これ  
までの研究から覚醒の維持において非常に重要な役割を  
担っていると考えられている。

今回、我々はオレキシン神経活動がどのようにして睡眠  
覚醒調節に影響を与えているのかについて、オプトジェネ  
ティクスを用いて検討した。オレキシン神経特異的に緑色  
光によって活性化されるプロトンポンプであるアーキロド  
プシン 3 (Arch) を発現する遺伝子改変マウス (*Orexin-Arch*  
マウス) を新たに作成した。スライスパッチクランプ法を  
用いて、緑色光照射により強力に神経活動が抑制されるこ  
とを示した。また長時間 (~1 時間) にわたり神経活動を抑  
制することが可能であった。

この *Orexin-Arch* マウスの睡眠覚醒ステージを判定しな  
がら、両側視床下部に刺入した光ファイバーを介して、光  
照射によりオレキシン神経活動を 1 時間抑制した。その結  
果、オレキシン神経の活動レベルが最も高い暗期 (活動期)  
の前半に光照射を行うと、有意に覚醒時間が減少し、徐波  
睡眠の時間が増加することを見出した。また、睡眠覚醒ス  
テージの頻繁な入れ替わり、つまり睡眠覚醒の分断化を呈  
することが明らかになった。一方、明期では、ほとんど影  
響が見られなかった。このことはオレキシン神経活動が活  
動期の覚醒維持に特に重要であることを示唆している。

#### P16. 時期特異的オレキシン神経運命制御によるナルコ レプシー発症メカニズムの解明

○田淵紗和子<sup>1,2</sup>、常松友美<sup>1</sup>、富永真琴<sup>1</sup>、山中章弘<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>生理学研究所細胞生理研究部門、<sup>2</sup>総合研究大学院大学

生命科学研究所, <sup>3</sup>名古屋大学環境医学研究所神経系2)

神経ペプチド「オレキシン」は、視床下部外側野にごく少数存在する神経(オレキシン神経)において産生される。睡眠障害の一つであるナルコレプシー患者脳では、オレキシン神経が特異的に脱落しており、オレキシン神経を除去した動物でもナルコレプシー様の症状を示すことが報告されている。このことから、オレキシン神経は睡眠覚醒制御に重要な役割を担っていることが示唆されている。ナルコレプシーは、思春期または成人期初期に好発することがわかっているが、確定診断までに平均10年近くを要している。そのため、ヒトでは発症初期の症状変化を解析することができなかった。そこで、Tet-offシステムを用いた新規ナルコレプシーモデルマウスを作成した。このマウスでは、ドキシサイクリン(DOX)の有無によりオレキシン神経特異的なジフテリアトキシンA断片(DTA)の発現制御が可能である。DOX非存在下にすることで、任意のタイミングでDTAを産生させオレキシン神経を時期特異的に脱落させることができる。免疫組織化学的解析から、DOX除去後2週間では約90%のオレキシン神経が脱落していることを確認した。そこで、DOX除去前後の脳波と筋電図を持続的に記録し、睡眠覚醒パターンの解析を行った。オレキシン神経細胞数と睡眠覚醒分断化やカタプレキシー発作回数の経時変化を調べ、オレキシン神経細胞数とナルコレプシー発症との関係を明らかにした。

#### P17. レプチンによる肝臓自律神経調節の作用解析

○谷田 守<sup>1</sup>, K. Rahmouni<sup>2</sup>, 芝本利重<sup>1</sup> (<sup>1</sup>金沢医科大学生理学II, <sup>2</sup>アイオワ大学医学部)

白色脂肪組織由来のレプチンは交感神経系を介して、血圧、熱産生、糖代謝、摂食調節などに関与している。本研究では、レプチンが糖代謝に関与する肝臓自律神経系に及ぼす作用とその機序について検討した。

Wistar系雄性ラットとC57/BL/6雄性マウスを用いて、麻酔下に開腹し肝臓を支配する交感神経を同定し、ステンレス電極により電気生理学的に計測した。脳室内に留置したカニューレよりレプチンを微量投与した。

ラット肝臓交感神経活動はレプチンの脳室内投与(1 $\mu$ g, 10 $\mu$ g)により濃度依存的に増大した。マウス肝臓交感神経活動もレプチンの脳室内投与(0.2 $\mu$ g, 2 $\mu$ g)により濃度依存的に増大した。この作用はレプチン受容体変異マウス(db/db)で消失した。さらにPI3キナーゼ阻害剤であるLY-294002を投与するとラット及びマウスでのレプチンによる肝臓交感神経活動作用は消失した。さらに、レプチン受容体(ObRb)のSTAT3のリン酸化部位を破壊したノックインマウスでは、レプチン投与による肝臓交感神経作用が

残存していた。

以上の結果から、レプチンによる肝臓交感神経活性化作用には、視床下部の細胞内シグナリングにおけるPI3キナーゼカスケードが関与していることが示唆された。

#### P18. マウスiPS細胞からオリゴデンドロサイト前駆細胞への分化誘導と細胞障害抵抗性の検討

○三角吉代, 西垣瑠里子, 上田佳朋, 石田章真, 飛田秀樹(名古屋市立大学・医学研究科・脳神経生理学)

脳室周囲白質軟化症(PVL)は未熟性を基盤とする低酸素虚血により白質障害であり、オリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)の選択的傷害が報告されている。生後3日齢のラットを用いた未熟児型PVLモデルラットへの細胞移植による機能再建を最終目的とし、本研究では、マウスiPS細胞からオリゴデンドロサイト系細胞への効率的な分化誘導、移植に適した細胞時期について検討を行った。

マウスiPS細胞から胚様体形成時に無血清培地を用いることにより、外胚葉系への分化効率が促進された。また、iPS細胞から6段階の過程でグリア前駆細胞へ分化誘導させると69%がA2B5陽性のO-2A細胞に分化し、その後PDGF(10ng/ml)により47%がPDGFR- $\alpha$ 陽性のOPCへ分化することが明らかになった。また、マイクロビーズ結合SSEA-1抗体を用いた細胞選別により、腫瘍化する未分化細胞の除去(0.1%以下に減少)が可能となった。さらに、どの分化段階の細胞が移植による細胞障害に最も抵抗性を示すのかについて検討を行うため、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による細胞障害抵抗性をLDH活性により評価した。その結果、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(1mM)添加24h後、グリア前駆細胞ではLDH活性が非添加群に比べ3.4倍に上昇するのに対し、PDGFR- $\alpha$ 陽性のOPCでは1.3倍と低かった。

以上の結果から、iPS細胞からのオリゴデンドロサイト系細胞への分化誘導が可能となり、グリア前駆細胞に比べOPCが移植時の細胞障害に対しより強い抵抗性を示すことが示唆された。

#### P19. ウイルスベクター二重感染法による選択的神経伝達遮断により明らかにした、マカクザル前肢巧緻運動における脊髄固有ニューロンの機能

○木下正治<sup>1</sup>, 松井亮介<sup>2</sup>, 加藤成樹<sup>3</sup>, 長谷川 拓<sup>2</sup>, 笠原洋紀<sup>2</sup>, 伊佐かおる<sup>1</sup>, 渡我部昭哉<sup>4</sup>, 山森哲雄<sup>4</sup>, 西村幸男<sup>1</sup>, B. Alstermark<sup>5</sup>, 渡辺 大<sup>2</sup>, 小林和人<sup>3</sup>, 伊佐 正<sup>1</sup> (<sup>1</sup>生理研・認知行動発達, <sup>2</sup>京大院・医・生体情報, <sup>3</sup>福島県立医大・医・生体機能, <sup>4</sup>基生研・脳生物, <sup>5</sup>Umeå Univ., Sweden)

大脳皮質運動野から脊髄運動ニューロンへ至る運動指令

経路には、霊長類においては単シナプス性の直接経路と介在ニューロンを経由した間接経路が存在する。直接経路は進化的に新しく、この経路が手の巧緻運動に本質的な役割を果たしていると考えられてきた (Lawrence & Kuypers, 1968)。我々の研究グループは直接経路の切断実験により、頸髄中部に存在する脊髄固有ニューロン (PNs) の役割を明らかにしてきた (Sasaki, et al., 2004)。しかし健常状態での PNs の役割についてはまだ明らかでない。本研究では健常時の PNs を介した間接経路の巧緻運動における役割を明らかにすることを目的として、経路選択的な遺伝子導入を行い、前肢巧緻運動の障害を行動実験により検証した。

霊長類において経路選択的、かつ可逆的な遺伝子発現制御を実現するために、ウイルスベクター 2 重感染法および Tet-ON システムを用いた手法を開発した。これにより頸髄 C3-C5 に存在する PNs にのみ破傷風毒素 (eTeNT) を発現させた。PNs 選択的に発現させた破傷風毒素によるシナプス伝達の障害を急性電気生理学実験により確認した。ベクター注入から 1-2 ヶ月後にサルへ Dox の経口投与を開始し、数日後に 4 頭中 4 頭において前肢巧緻運動の障害を観察した。

これらの結果は PNs が前肢の運動制御に本質的な役割を果たしていることを示唆する。また本研究で開発した選択的かつ可逆的な神経伝達遮断法は、霊長類システム神経科学研究の新たな可能性を開いた。

#### P20. 上肢筋—腰髄間の人工神経接続による下肢歩行運動の随意制御

○笹田周作<sup>1</sup>、加藤健治<sup>1,2,3</sup>、ステファン J グロイス<sup>4</sup>、門脇 傑<sup>4</sup>、宇川義一<sup>4</sup>、小宮山伴与志<sup>5</sup>、西村幸男<sup>6</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所発達生理学研究室、<sup>2</sup>日本学術振興会特別研究員、<sup>3</sup>総合研究大学院大学生命科学研究科、<sup>4</sup>福島県立医科大学医学部、<sup>5</sup>千葉大学教育学部、<sup>6</sup>科学技術支援機構さきがけ)

脊髄損傷による歩行機能の喪失は、腰髄にある下肢歩行中枢への下降性入力遮断が原因である。しかし、損傷領域の上流である上位中枢及びその下流にある脊髄内神経回路網はその機能を残存しており、それらを何らかの方法で人工的に神経接続できれば歩行機能再建の可能性がある。本研究は、随意的な歩行様腕振り運動中に生じる上肢筋の活動パターンに依存した腰髄への脊椎上磁気刺激により上肢筋—腰髄間の人工神経接続を形成し、人工神経接続を介した上肢筋による下肢歩行様運動の随意制御を試みた。

上肢筋—腰髄間の人工神経接続は、随意的下降性神経活動の代わりに腕振り運動中に生じる三角筋の筋電図活動量の振幅変化に比例して頻度変調する刺激波形により、下肢

歩行中枢がある腰髄へ脊椎上磁気刺激を施すことによって達成した。人工神経接続下では、腕振り運動により下肢の歩行様運動が生じた。また、上肢筋活動を随意制御する事により下肢歩行様運動の開始・停止、更にその歩調もまた変調可能であった。この運動は腓腹神経への刺激を加えることで増大した。人工神経接続を利用して下肢歩行様運動を随意制御することが可能であり、脊髄損傷患者の随意歩行機能再建が出来る可能性を示している。

#### P21. 皮質盲視野における連合学習

○高桑徳宏<sup>1,2</sup>、加藤利佳子<sup>1</sup>、P.Redgrave<sup>3</sup>、伊佐正<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>自然科学研究機構生理学研究所認知行動発達機構研究部門、<sup>2</sup>総合研究大学院大学生命科学研究科、<sup>3</sup>英国シェフィールド大学)

動物は目的を達成するために行動と報酬の関係を頻繁に学習している。この学習は連合学習と呼ばれている。報酬を得るための連合学習が全て意識に上る知覚情報によるのか、意識に上らない知覚情報によって連合学習が起こり得るのかはよく判っていない。一方、片側第一次視覚野 (V1) を損傷すると反対側視野に提示された対象を見えるという視覚的意識がなくなるが、一部の患者ではその対象に手を伸ばしたり目を向けることができるということが知られている。この現象は盲視と呼ばれている。そこで、我々は片側 V1 を損傷した個体を用いれば意識に上らない視覚情報による連合学習について検証することが可能ではないかと考えた。

そこで、本研究では、片側 V1 を損傷したサルの障害視野内に視覚刺激 (CS) を提示することで、意識に上らない視覚刺激の位置とそれぞれが示す報酬量、得られるタイミングとの関連を学習させた。そして、これらの CS をもとに、それに適した行動 (licking: 報酬の出るチューブを舐める行動) を予測的に行うようになるかを検証した。また、障害視野内に視覚刺激を手がかりとして視野内の見えない特定の場所を同定する課題を行った。そして、特定の場所に到達するうえでより効率のよい行動が強化されるかを調べた。

#### P22. 覚醒行動下マウスを用いた孤束核味覚ニューロン応答の記録法の開発

○内山久美子、上野照子、永福智志、田村了以 (富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)・統合神経科学)

【背景と目的】従来、延髄孤束核における味覚情報処理様式についてのニューロンレベルの研究では麻酔下のラットを用いることが多く、マウスを用いた研究は極めて少なかった。しかし近年、遺伝子改変マウスの開発等が進展し、

味覚情報処理に関するニューロンレベルの研究でもマウスの使用の重要性が高まっている。また、生理学研究では覚醒下の動物を用いることが望ましいが、孤束核はその解剖学的位置の関係上、動物が動くときニューロン活動記録の維持が困難となるため、多くの研究では深い麻酔が用いられてきた。本研究では、覚醒下のマウスの孤束核からニューロン活動を記録するための実験系の開発を試みた。

**【方法と結果】**頭部を無痛的に脳定位固定装置に固定するためのヘッドホルダーと味覚溶液投与用の口腔内カニューレをマウスに取り付けた。手術から回復後、マウスの頭部を固定し、カニューレから液体を摂取することを訓練した。覚醒下での記録実験では、マウスを脳固定装置に固定して、予め麻酔下で電気生理学的に同定しておいた孤束核味覚領域の脳定位座標に記録電極を刺入した。明瞭なニューロン活動が記録できることを確認後、口腔内カニューレから4基本味(0.1M食塩水, 0.5Mスクロース溶液, 0.01Mクエン酸溶液, 0.1mM塩酸キニーネ溶液)および蒸留水を与え、ニューロンの応答様式を解析した。その結果、基本味溶液に識別的に応答するニューロンが記録できた。

**【結論】**本研究で開発した方法を用いることにより、覚醒行動下のマウスの孤束核から味覚ニューロン活動を記録できることが明らかとなった。

### P23. 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードの制御に寄与する脳部位：PETによる脳活動測定

○加藤利佳子<sup>1</sup>, 池田琢朗<sup>1,4</sup>, 尾上浩隆<sup>2</sup>, 河原正幸<sup>2,3</sup>, 尾上嘉代<sup>2</sup>, 林拓也<sup>2</sup>, 吉田正俊<sup>1</sup>, 高浦加奈<sup>1,5</sup>, 塚田秀夫<sup>3</sup>, 伊佐正<sup>1</sup> (1)生理学研究所認知行動発達機構研究部門, (2)理化学研究所分子プローブ機能評価研究チーム, (3)浜松ホトニクス中央研究所, (4)カナダ Queen's 大学 Center for Neuroscience studies, (5)理化学研究所適応知性研究チーム)

第一次視覚野(V1)に損傷を受けると、障害視野に提示された視覚刺激に対する“見える”という認識は失われる。しかし患者の中には、その意識に昇らない刺激に対し手を伸ばしたり眼を向けるといった定位行動が可能なのが報告されてきた。この現象は“盲視”と呼ばれている。我々は、最近、盲視における網膜視蓋経路の重要性を明らかにした(Kato et al. 2011)が、皮質の視覚運動経路の寄与については、ほとんど明らかではない。そこで我々は、“盲視”のモデル動物として片側V1を除去したサルを用い、視覚誘導性サッケード中の脳活動をPETにより調べた。結果、V1損傷前には、occipital cortexを主とした視覚野の多くの領域とfrontal eye fieldにおいて、サッケード数との関連が観察された。一方、V1損傷後は、損傷側の上丘および視

床枕において関連が見られた。また、皮質の3領域：dorso-lateral prefrontal cortex, lateral intraparietal area (LIP), Visual area 3 (V3), においても、関連が両側で見られた。これらの結果は、V3およびV3を含む背側皮質視覚路、およびその投射先である頭頂野のLIPは、損傷後に網膜視蓋経路より上丘および視床枕を介して入力を受け、視覚情報伝達および視覚誘導性サッケードに寄与することを示唆する。

### P24. 自発運動中におけるサル頸髄DRG細胞活動の多電極記録

○梅田達也<sup>1</sup>, 渡辺秀典<sup>1</sup>, 佐藤雅昭<sup>2</sup>, 川人光男<sup>2</sup>, 伊佐正<sup>1,3</sup>, 西村幸男<sup>1,3,4</sup> (1)自然科学研究機構生理学研究所認知行動発達機構, (2)国際電気通信基礎技術研究所, (3)総合研究大学院大学, (4)JST・さきがけ)

個々の末梢感覚神経は四肢の位置や動きに応答し、運動情報をコードしていると考えられる。以前、我々は、麻酔下サルにおける頸髄後根神経節(DRG)から多数の神経活動を同時記録する事で、末梢感覚神経が集団として上肢の複雑な運動情報を正確に表現し、皮膚・筋受容器が共に機能している事を明らかにした。今回、自発運動中のサル頸髄DRGより多数の神経活動を同時記録し、運動情報を正確に表現するか調べた。

2頭のサルのC7, 8レベルのDRGに多電極アレイ(各48チャンネル)を慢性的に埋め込み、多数の神経活動を同時記録した。また、3次元空間における上肢運動軌跡をモーション・キャプチャー・システムで記録した。2頭のサルより14, 25ユニットが記録され、10, 17ユニットが到達保持運動に関連する応答を示した。記録したユニット集団は、皮膚受容器・筋紡錘・関節受容器を含んでいた。スパース線形回帰分析を用いて、一部のDRGの発火パターンより上肢関節キネマティクスを再構成する事ができた(相関係数：肘関節角度0.71, 肘関節角速度0.70)。また、スパースロジスティック分析を用いて、一部のDRGの発火数より2種類の物体の形を95%以上の精度で判別する事ができた。

以上の結果は、末梢感覚神経は自発運動における上肢キネマティクスを正確にコードし、また、把持する物体を識別する情報を中枢神経系に送っている事を示唆している。

### P25. マウス胃酸分泌細胞におけるSLC26A7の機能

○藤田恭輔<sup>1</sup>, 清水貴浩<sup>1</sup>, 藤井拓人<sup>1</sup>, 竹口紀晃<sup>1</sup>, U. Seidler<sup>2</sup>, 酒井秀紀<sup>1</sup> (1)富山大学大学院薬物生理学, (2)ハノーバー大学消化器科)

我々は、これまでに胃酸分泌細胞の基底側膜にcGMP依存性のCl<sup>-</sup>チャンネルが存在し、そのチャンネルの活性化が

エタノールによる細胞傷害に対し保護効果を示すことを見出している。しかし、この細胞防御 CI<sup>-</sup>チャンネルの分子実体は未だに解明されていない。本研究では、胃酸分泌細胞基底側膜での発現が報告されている SLC26A7 が、細胞防御 CI<sup>-</sup>チャンネルの分子実体ではないかと考え、SLC26A7 ノックアウト (KO) マウスを用いて、その可能性について検討した。

単離胃腺中の胃酸分泌細胞にパッチクランプ法を適用し、ホールセル CI<sup>-</sup>電流を測定したところ、KO マウスにおいても野生型 (WT) マウスの胃酸分泌細胞における電流と同様に、電位・時間非依存性で、NPPB 感受性、SITS 非感受性の電流が観測された。しかし、KO 細胞における電流は WT 細胞の電流より有意に小さく、ホールセル形成から数分後にランダウンが観察された。これらの結果より、SLC26A7 は細胞防御 CI<sup>-</sup>チャンネルの分子実体ではないが、チャンネルの機能調節に関わる分子であると考えられた。また、KO マウスにエタノールを経口投与すると WT マウスに比べ有意に胃粘膜の傷害の程度が増加し、組織学的に胃酸分泌細胞の傷害が見られた。この結果より、SLC26A7 がエタノール傷害に対する胃酸分泌細胞の保護機構に寄与している可能性が示唆された。

#### P26. ウイルスベクター 2 重感染法によるマウス指向運動に関する神経経路の選択的・可逆的制御

○伊佐かおる<sup>1</sup>、T. Sooksawat<sup>1,2</sup>、松井亮介<sup>3</sup>、加藤茂樹<sup>4</sup>、木下正治<sup>1</sup>、渡辺 大<sup>3</sup>、小林和人<sup>4</sup>、伊佐 正<sup>1</sup> (1自然科学研究機構生理学研究所認知行動発達機構、<sup>2</sup>Chulalongkorn 大学薬学部、<sup>3</sup>京都大学大学院医学研究科生体情報科学講座、<sup>4</sup>福島県立医科大学医学部附属生体情報伝達研究所生体機能研究部門)

遺伝学的ツールを用いた神経回路解析は、近年急速に発展してきた分野であるが、細胞種特異的プロモーターの探索や遺伝子改変マウスの作製など、現在主に用いられている多くの手法には長い時間と多くの費用・高度な技術が必要である。その中で、我々は、2種類のウイルスベクターを組み合わせることで、比較的簡便に、霊長類のような遺伝子改変動物の作製が困難な動物において特定の神経回路における信号伝達を可逆的に遮断することに成功した (Kinoshita et al. Nature 2012)。

この手法は最初に霊長類で成功したが、実はマウスも含めて広く利用できる。今回、マウスを用いて「指向運動」(興味ある対象物に頭部、眼球、体を協同して向ける運動) に重要な役割を果たす、中脳の上丘から反対側の脳幹網様体への経路を片側性に遮断した結果、上丘注入の反対側への指向運動が阻害された。具体的には、GFP と連結した破傷

風毒素を Tet-on システム調節下で上丘から脳幹網様体へ投射している神経に特異的かつ可逆的に発現させ、ドキシサイクリンを投与することにより、指向運動における行動阻害を3種類の指標で計測した。この系は注入操作が容易で行動阻害も明確なので、多数の個体を必要とする条件検討や技術改良の実験に適している。今回、薬剤投与開始からの時間的経緯について組織学的検索も含めて解析してきたので報告する。

#### P27. ヒト盲視における視覚誘導性及び記憶誘導性サッカー運動

○吉田正俊<sup>1,2</sup>、両宮史織<sup>3</sup>、伊佐 正<sup>1,2</sup> (1自然科学研究機構・生理学研究所・認知行動発達、<sup>2</sup>総合研究大学院大学・生命科学、<sup>3</sup>東京大学大学院・医学系研究科)

盲視とは第一次視覚野 (V1) の損傷によって同名半盲となっている患者の一部において、損傷視野内の視覚刺激の情報を自発的な行動に利用できる現象を指す。著者らはこれまでに、片側の V1 を損傷させたマカクザルを盲視のモデルとして用い、マカクザルが盲視を示すこと、そして V1 の損傷が視覚だけではなく眼球運動にも影響を及ぼすことを明らかにしてきた (Yoshida et al., 2008)。本研究ではヒトの盲視における眼球運動への影響を検証した。被験者は 20 代の男性で右側の V1 の大部分を失っており、左側半視野の同名半盲であると診断された。しかしながらキープレス課題においては損傷視野に提示された視覚刺激の位置 (上下二択) を 90% 以上の正答率で答えることができた。同じ刺激を用いて、キープレスの代わりに刺激の位置に目を向けることによって刺激の位置を報告する、視覚誘導性サッカー課題を行った。キープレス課題と同様に 90% 以上の正答率で刺激の位置を答えることができた。一方でサッカーの終止位置は実際の視覚刺激の位置よりも短くなっていた。このような傾向は統制群 (n=4) の被験者では見られなかった。視覚刺激の位置を刺激が消えてから 2 秒後にサッカーによって答える記憶誘導性サッカー課題を行ったところ、高い正答率 (90% 以上) でこの課題を実行できることを見いだした。以上の結果はマカクザルを用いた著者のこれまでの報告結果と一致しており、ヒトとマカクザルの盲視が同様な神経機構によって担われているとする考えを支持している。

#### P28. シナプス接着因子 Neurexin の構造とシナプス形成におけるシグナルの解析

張 文欣<sup>1,2</sup>、Nur Farehan Mohamed Asgar<sup>1,2</sup>、真壁幸樹<sup>3,4</sup>、中村 敬<sup>3</sup>、桑島 邦博<sup>3</sup>、G. Pramanik<sup>1,2</sup>、T.C. Südhof<sup>5,6</sup>、重本隆一<sup>1</sup>、○田淵克彦<sup>1,7,8</sup> (1生理学研究所脳

形態解析研究部門,<sup>2</sup>総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻,<sup>3</sup>岡崎統合バイオサイエンスセンター生体分子物性研究室,<sup>4</sup>山形大学工学部バイオ化学工学科,<sup>5</sup>Stanford University School of Medicine,<sup>6</sup>Howard Hughes Medical Institute,<sup>7</sup>信州大学医学部神経生理学講座,<sup>8</sup>PRESTO JST)

Neurexin は、細胞外領域に LNS ドメインと EGF 様リピートを有する 1 回膜貫通型タンパク質で、シナプス前終末に局在し、シナプス後終末に局在する細胞接着因子 Neuroligin および LRRTM と、細胞外の LNS ドメインを介して結合することにより、シナプスの形成および成熟に寄与していると考えられている。Neurexin が、これら細胞外のリガンドと結合し、シナプス成熟のシグナルをシナプス前終末に伝達するメカニズムを解明する目的で、まず Neurexin の細胞内領域の構造について研究を行った。Neurexin の細胞内領域の組換えタンパク質を生成し、NMR および CD スペクトラで解析を行ったところ、この領域は天然変性タンパク質の特徴を有することが判明した。天然変性タンパク質は、構成するアミノ酸の静電学的性質を反映した結合をする。Neurexin の細胞内領域は、塩基性のアミノ酸に富んでいるため、陰性に荷電したリン脂質との結合を調べると、PI (4,5) P2 と結合することが判明した。この領域のセリンを、リン酸化型変異 (アスパラギン酸) に置換すると、この結合が阻害されたことから、リン酸化が Neurexin の PI (4,5) P2 との結合をレギュレートしていると考えられる。また、HEK293T 細胞を用いた培養系において、TPA で PKC シグナルを誘導すると、Neurexin のリン酸化が起こることを見出した。

現在、Neurexin のリン酸化と、シナプス形成能との相関について、ニューロン培養を用いて解析を行っている。

#### P29. 個体全体の消費エネルギーにおける基礎代謝、運動および食事によるエネルギー消費量の算出方法の確立と摂食の効果

○高木一代<sup>1,2</sup>、箕越靖彦<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>総合研究大学院大学、<sup>2</sup>生理学研究所生殖・内分泌発達機構研究部門)

【目的】マウス個体全体のエネルギー消費量 (EE) には、安静時基礎代謝 (RMR)、運動 (Ex) および食事 (食餌誘導性非ふるえ熱産生、DIT) によるエネルギー消費量が含まれている。しかし、EE に占める RMR、Ex、DIT の量は未だ不明であり、摂食に伴う熱産生に RMR、Ex、DIT がどう寄与しているのかも不明である。本研究では RMR、Ex および DIT の算出方法を確立し、遺伝子改変マウスを用いて、普通食および高脂肪食摂食時においてこれらのエネルギー消費量がどう変化するかを調べた。

【方法および結果】摂食によるエネルギー消費の影響を除くため、絶食下におけるマウスのエネルギー消費量を測定した。解析の結果、絶食したマウスの EE と活動量の間には正の相関があることを見出し、マウス一匹毎に固有な一次関数式を得た。また、マウスの主要な熱産生組織として褐色脂肪組織 (BAT) と骨格筋が知られている。UCP1 は BAT における熱産生に必要なタンパク質であり、AMPK は骨格筋での脂肪酸酸化に関与する。本研究では、UCP1 ノックアウトマウス (UCP1-KO)、骨格筋特異的 dominant-negative-AMPK 発現マウス (dnAMPK-mTg)、さらに、それらをかけ合わせた、KO-Tg (UCP1-KO&dnAMPK-Tg) マウスを用いて普通食及び高脂肪食を摂取した時の RMR、Ex、DIT をマウスごとに算出した。その結果、KO-Tg マウスでは RMR に差は無いが、Ex および DIT が低下していた。UCP1-KO および dnAMPK-Tg マウスは、いずれのエネルギー消費においても差は認められなかった。以上の結果から、KO-Tg マウスは代償機構が働いている可能性が示唆された。

#### P30. 脊髄損傷の回復期における腹側線条体の役割

澤田真寛<sup>1,3</sup>、尾上浩隆<sup>2</sup>、伊佐正<sup>1,4</sup>、西村幸男<sup>1,4,5</sup> (<sup>1</sup>生理研・認知行動発達、<sup>2</sup>理研分子イメージング科学研セ機能評価、<sup>3</sup>京都大院医脳神経外科学、<sup>4</sup>総研大生命科学、<sup>5</sup>JST-PREST)

抑うつ症状は脳、脊髄損傷の患者においてよく見られ、うつ症状によるモチベーションの減退は運動機能回復において重要な問題である。しかし、このような精神的な効果の神経メカニズムはまだまだ不明である。われわれは以前の研究で、モチベーションを作り出す働きのある腹側線条体が、運動機能回復に重要な役割を果たしていることを見出した。腹側線条体の活動と運動機能回復との関連を明らかにするため、脊髄損傷後のさまざまな時期において腹側線条体を薬理的に一時的に不活性化し、手指の巧緻性の変化を観察した。2頭のサルにおいて、外側皮質脊髄路のみを C4/5 レベルで損傷した。サル P においては、精密把持は 6-7 週で回復した。しかし、サル D では精密把持は障害されなかった。損傷後の回復期間のさまざまな時期において GABA<sub>A</sub> のアンタゴニストであるムシモルを腹側線条体に注入した (1µl/site, 5µg/µl)。サル P では術前にはムシモルの影響はみられなかったが、損傷後のすべての期間において巧緻性は大きく障害された。サル D においては損傷後に巧緻性の低下がみられず、腹側線条体の不活性化の影響は、損傷後の 1 か月の時期において手の動きの早さが低下したのみで、他では影響がみられなかった。この結果は、脊髄損傷後の巧緻性の回復に腹側線条体は重要な役割を果

たしており、モチベーションを制御している可能性があることを示唆している。

### P31. 侵害受容組織としての筋膜の新しい生理的役割

田口 徹<sup>1</sup>, 安井正佐也<sup>2</sup>, 久保亜抄子<sup>1,3</sup>, 阿部真博<sup>4</sup>, 水村和枝<sup>3</sup>, 木山博資<sup>2</sup>, 山中章弘<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, <sup>2</sup>名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野, <sup>3</sup>中部大学生命健康科学部理学療法学科, <sup>4</sup>ピタカイン製薬株式会社学術部)

第二の骨格“筋膜”は骨格筋を隈なく覆い、円滑な身体動作を可能にする。その支持組織としての生理的役割は確固たるものであるが、筋膜の他の役割に関する研究はほとんどない。本研究では、1)ラット下腿筋膜への定量的侵害刺激に応答する細径線維受容器を電気生理学的に記録し、2)下腿筋膜における侵害受容線維の分布を peripherin, および CGRP 陽性神経線維をマーカーに調べた。また、3)下腿筋膜からの侵害受容の脊髄内投射を c-Fos タンパクの発現を指標に調べた。電気生理学実験において、細径線維受容器のうち C 線維の受容野は下腿筋膜の遠位 1/3 に密に分布し、その多くはブラジキニンや侵害熱刺激に応じるポリモーダル受容器であった。一方、A $\delta$  線維の受容野は下腿筋膜全体に分布し、主として機械刺激のみに応じた。Peripherin, および CGRP 陽性線維は下腿筋膜の遠位 1/3 に密に分布し、電気生理学実験で観察された C 線維の受容野の分布とよく一致した。下腿筋膜に眼局した侵害レベルのピンチ刺激による c-Fos 発現は L2-L4 脊髄後角表層の中央部に密に観察された。以上の結果はラット下腿筋膜に起因する侵害受容の末梢神経機構、および、その脊髄内投射を示しており、これまで骨格筋の他動的な支持組織としてしか捉えられていなかった筋膜が、侵害受容組織としても生体においてアクティブな役割を果たすものと考えられた。

### P32. Transmembrane channel-like protein (TMC) 4 の電気生理学的性質

○清水貴浩, 江口悠樹, 藤井拓人, 竹口紀晃, 酒井秀紀 (富山大学大学院薬物生理学)

Transmembrane channel-like (TMC) ファミリーは、8 種のメンバー (TMC1-TMC8) で構成されており、そのいくつかのメンバーの遺伝子変異が、難聴およびいぼ状表皮発育異常症の原因であることが知られている。TMC タンパク質は 6 回膜貫通領域を有すると推定されており、イオンチャネルとして機能が考えられているが、その詳細な解析はほとんど行われていない。そこで本研究では、TMC タンパク質のチャネル機能解析を行うことを目的とした。

これまでにヒト TMC4 の全長クローニングに成功したことから、パッチクランプホールセル記録法により TMC4 の電気生理学的性質を検討した。TMC4 を HEK293T 細胞に一過性発現させたところ、mock-transfected 細胞に比べ、有意に大きなホールセル電流が観測できた。この TMC4 に依存した電流は電位非依存性を示した。また細胞外 Na<sup>+</sup> を NMDG<sup>+</sup> に置換したところ、逆転電位が過分極側に大きくシフトしたが、Na<sup>+</sup> の K<sup>+</sup> への置換は逆転電位をやや脱分極側にシフトした。Gd<sup>3+</sup> (10 $\mu$ M) は、TMC4 依存性電流を有意に抑制したが、mock 細胞の電流には影響を与えなかった。これらの結果から、ヒト TMC4 は電位非依存性カチオンチャネルであることが示唆された。

### P33. Withholding of desired actions—a possible role of the subthalamic nucleus

○橘 吉寿<sup>1,2</sup>, 彦坂興秀<sup>2</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所・生体システム, <sup>2</sup>NIH/NEI/LSR)

我々の行動は、内的な動機づけによって影響される。内的な動機づけに関わる第一の要因は、行動にまつわる報酬であると考えられる。報酬に結びつくであろう行動は加速されるであろうし、報酬と全く結びつかないような行動は抑制されるであろう。我々の脳内で、大脳基底核の構成要素である『視床下核』は、行動抑制に強くかかわることがこれまで明らかとなっている。一つの可能性として、報酬と結びつかない行動発現の際、視床下核は神経活動を亢進させると予測される。この仮説を調べるため、我々は、報酬量を変化させた眼球運動課題をサルに課し、視床下核の単一神経活動記録を行った。その結果、予想通り、報酬無しの眼球運動に比べ、報酬有りの眼球運動の方が、運動の反応時間は短く、眼球運動速度は大きかった。にも拘わらず、視床下核の神経活動は、予想に反し、報酬有りの眼球運動の方が、報酬無しの眼球運動に比べ、大きかった。このことから、視床下核は、内的な動機づけによって、いまずぐ実行したい行動を、敢えて抑えるという機能を有しているのではないかと推察される。

### P34. 市販のマイコンボードを組み込んだ簡易型生体信号計測装置の試作

○島田洋一 (金沢工業大学情報フロンティア学部心理情報学科)

生理学実習用システムとして国内外の様々な製品が市販され、特に Vernier Software & Technology 社の LabQuest 2 は小型で高機能であるために注目に値するもの手軽に購入できる価格ではない。そこでこの製品のコンセプトを参考にして、ルネサステクノロジーの 32 ビットマイクロプロ

セッサ (R5F5621BDFP) を搭載した秋月電子通商の RX621 ボードをシステムの核にして、最大 1000 倍の変利得を持つ前置増幅器と能動フィルタから構成される入力部、LCD コントローラ (SID13781F00A) およびカラー TFT 液晶モジュール (ATM0430D5) からなる出力部、SD カードを外記記録装置とするシステムを小型の筐体に組み込んだ入門用簡易型生体計測装置を試作した。また安全対策の観点から電源は乾電池/充電電池から 3.3V レギュレータを介してシステムに供給している。4 チャンネルの各差動増幅器に入力されたアナログ信号は、測定信号に対応して選択されたフィルタ特性によりエイリアシング対策を行い、12 ビットの AD 変換器でシステムに取り込ませて液晶表示器上に記録した波形を表示すると同時に、パソコンでオフラインでの高次の解析を行うためにデータを外部記録素子に格納させている。主に心電図及び筋電図の波形処理を行うためのプログラムの開発は統合開発環境下 (HEW) で C 言語およびアセンブリ言語で行った。

#### P35. 改変型チャンネルロドプシン 2 を用いた特定神経高頻度刺激法の開発

○犬東 歩<sup>1</sup>、常松友美<sup>2</sup>、田中謙二<sup>3</sup>、岡部 勝<sup>4</sup>、K. Deisseroth<sup>5</sup>、山中章弘<sup>1,2,6</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学環境医学研究所、<sup>2</sup>自然科学研究機構生理学研究所、<sup>3</sup>慶應義塾大学医学部、<sup>4</sup>大阪大学遺伝情報実験センター、<sup>5</sup>Department of Bioengineering, Stanford University、<sup>6</sup>JST さきがけ)

視床下部の外側野に存在するオレキシン神経は、主に覚醒の維持において重要な役割を果たしており、ヒトにおけるオレキシン神経の細胞脱落は睡眠障害であるナルコレプシーを引き起こすことが知られている。しかし、オレキシン神経は少数の細胞が散在しているため、通常の電気刺激等の手法では特異的にその活動を制御して機能を解析することが難しかった。そこで、光活性化型イオンチャンネルとして知られるチャンネルロドプシン 2 の改変型、ChR2 (ET/TC) を用いた光遺伝学的手法によるオレキシン神経の活動制御について報告する。

我々は独自に開発した KENGE-tet システムを利用することで、オレキシン神経特異的に ChR2 (ET/TC) が安定かつ大量に発現している遺伝子改変マウスを作成した。Orexin-tTA マウスと  $\beta$ -actin 遺伝子部位に TetO-ChR2 (ET/TC) を組み込んだ TetO-ChR2 (ET/TC) マウスとを交配して、目的のマウスを得た。免疫染色では、オレキシン神経特異的に ChR2 (ET/TC) が発現していることが確認された。また、スライスパッチクランプ法では、パルス幅 5msec、20Hz という高頻度の光刺激に対応して 20Hz の活動電位が正しく誘導できることが確認された。今後は

こうした手法を *in vivo* における光操作および行動解析へと応用する予定である。

#### P37. 運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球内節ニューロン活動のグルタミン酸および GABA 作動性調節

○金子将也<sup>1,2</sup>、畑中伸彦<sup>1,2</sup>、高良沙幸<sup>1</sup>、高田昌彦<sup>3</sup>、南部 篤<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>生理学研究所生体システム研究部門、<sup>2</sup>総研大生命科学研究科、<sup>3</sup>京都大学霊長類研究所統合脳システム分野)

大脳皮質—大脳基底核ループ回路において、線条体と視床下核に入力された大脳皮質からの情報は、出力部である淡蒼球内節に伝達されたのち、視床を介して大脳皮質に戻る。このように、淡蒼球内節は、線条体から GABA 作動性の抑制性入力と、視床下核からグルタミン酸作動性の興奮性入力を受けるが、拮抗するこれら 2 つの入力が、どのような情報を担い、淡蒼球内節の神経活動にどのように関与しているかについては不明である。

本研究では、3 頭のマカクザルを用いて、淡蒼球内節ニューロンから神経活動の記録を行い、運動野刺激に対する応答から皮質入力部位を同定した後、運動課題遂行中の活動様式を記録した。さらに、記録しているニューロンの周囲に CPP (NMDA 型グルタミン酸受容体の遮断薬) と NBQX (AMPA/カイニン酸型グルタミン酸受容体の遮断薬) の混合物や、gabazine (GABA<sub>A</sub> 受容体の遮断薬) を微量注入することにより、それぞれの入力を遮断した際の活動変化を解析した。その結果、CPP+NBQX を注入すると、課題遂行中の興奮性活動が減少するだけでなく、場合によっては抑制性活動が観察された。gabazine を追加注入すると、このような活動変化が平坦化した。本結果から、運動課題遂行時における大脳基底核出力核の神経活動は、グルタミン酸作動性入力と GABA 作動性入力の両者によって調節されていることが示唆された。

#### P38. 体温調節異常が視床下部障害によると考えられた 3 例の病態生理

○犬飼洋子、岩瀬 敏、西村直記、佐藤麻紀、桑原裕子、清水祐樹、菅屋潤壹、佐藤元彦 (愛知医科大学生理学)

環境温により体温が著明に変動し、視床下部障害であると考えられた 3 例を報告する。症例 1 (29 歳女性)：主訴はうつ熱、失神。幼少時より暑さに弱く、発汗が少なく、汗が出るまで時間がかかる。屋外でよく失神した。27 歳より、普段は 35.4℃ であるが夏は直ぐに微熱 (腋窩温 37.2~37.7℃) がでて倦怠感が強くなる。神経学的所見、頭部 CT、MRI、脳波は異常なかった。Minor 法による温熱発汗試験で

は、発汗はほぼ全身に発現したが、発汗閾値は37.5℃とやや高目であった。症例2(5歳6か月男児)：主訴は無汗による体温調節障害。早産4か月時高体温を繰り返し、1歳の発熱時に発汗が無く、寒さにも弱い。温熱発汗試験で無汗、両側手掌の交感神経性皮膚血流反応(SFR)と交感神経性皮膚反応(SSR)の精神性反応は良好で、MRIで異常なく、有毛部で汗腺がなかったことより、視床下部障害によるコリン作動性支配の遮断によると推察された。症例3(40歳男性)：主訴は環境温の変化による著明な体温変動と不快感。腋窩温が、暑い夜は37.8℃まで上昇し、冬期の明け方は32.8℃まで下降するが、寒さを感じない。核心温が上昇しても発汗がなく、核心温上昇・低下に対して血管運動のみ発現し、神経性温度情報の伝達障害はないので、視床下部への灌流性の温度入力障害と推定した。これらの病態の解明により、体温調節行動に的確にアドバイスできる。

#### P39. マカク中枢神経系の遺伝子発現の発達変化の解析

○大石高生<sup>1</sup>、佐藤 明<sup>2</sup>、檜垣小百合<sup>1,3</sup>、近藤伸二<sup>4</sup>、小島俊男<sup>5</sup>(<sup>1</sup>京都大学霊長類研究所、<sup>2</sup>理化学研究所BSI、<sup>3</sup>国立長寿医療研究センター認知症先進医療開発センター、<sup>4</sup>理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究所、<sup>5</sup>浜松医科大学実験実習機器センター)

マカクの中枢神経系の各部位における遺伝子発現の生後発達における変化をDNAマイクロアレイ法を用いて調べた。0歳(生後70日)、1歳、成体(6、7歳)のサル2頭ずつから、小脳、被殻、海馬、新皮質7領域(前頭前野、側頭連合野、頭頂連合野、運動前野、一次運動野、一次体性感覚野、一次視覚野)からRNAを抽出し、Agilent社の4x44kアカゲザル用オリゴマイクロアレイを用いて定量した。GeneSpring GX 12.1(Agilent)を用いて、クラスタリングを、GSEA v2.07(Broad Institute)を用いてGene Set Enrichment Analysisを行った。どの脳部位でも、調べた約2万の遺伝子の内、1000個内外が生後発達にともなって変動していた。クラスタリングでは、新皮質と海馬が最も近く、次に被殻が近く、小脳が最も遠かった。新皮質内では、領域間の差よりも発達段階の差が大きかった。全ての脳部位で変動していた遺伝子、大脳新皮質7領域で変動し、他の3部位では変動しなかった遺伝子がともに約30個あった。新皮質内の機能遺伝子群の発現の差は成体で最大であった。また、山森らが指摘しているように、成体で他の領域と最も際立った遺伝子発現パターンを示したのは一次視覚野であった。

#### P40. 抑制性シナプスにおけるGABA/グリシンスイッチングに関する電気生理学的解析

石橋 仁<sup>1,2</sup>、山口純弥<sup>1,2</sup>、中畑義久<sup>1,2</sup>、鍋倉淳一<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門、<sup>2</sup>総合研究大学院大学生理学専攻)

中枢神経系における抑制性シナプスでは神経伝達物質としてGABAまたはグリシンが用いられる。我々は、幼若期ラット脳幹の聴覚伝達経路において、抑制性シナプスにおける伝達物質が発達によりGABAからグリシンへとスイッチし、その過程で、GABAとグリシンが単一神経終末部から共放出されていることを報告した。しかし、GABAとグリシンの放出を制御している機構は殆ど解明されていない。そこで、本研究では、培養神経細胞を用い、GABAとグリシンの放出を制御している機構について検討した。

脊髄から培養した標本で観察されたIPSCは、そのほとんどがGABAとグリシンの共放出であり、0.1Hzで刺激を行ったコントロール条件下ではGABAとグリシンの割合は1時間以上変化しなかった。一方、シナプス前細胞のバッチ電極内液に高濃度(100mM)グリシンまたはGABAを添加すると、1時間後には添加した伝達物質によるシナプス伝達が主に行われる様になった。また、神経回路活動が活発になると、グルタミン酸取り込みが増強され、神経終末部内でのGABA合成が促進されてGABAergic IPSCが増強され、グリシン成分は減少した。

以上の結果から、GABA・グリシンの共放出シナプスでは、神経活動に依存して、放出する伝達物質を容易に変化させ、神経回路の恒常性を保とうとする機構が存在していると考えられた。

#### P41. 視覚刺激誘発大脳活動(VEF)に対する空間周波数の影響：脳磁計(MEG)による計測

○鶴原亜紀<sup>1</sup>、永田裕子<sup>1,2</sup>、鈴木雅也<sup>1,2</sup>、乾 幸二<sup>1</sup>、柿木隆介<sup>1</sup>(<sup>1</sup>生理学研究所、<sup>2</sup>東海光学株式会社)

【目的】視覚誘発電位(VEP)を用いた研究では、P100成分の潜時・振幅への空間周波数の影響が示されている。しかし、領域間での影響の違いは不明である。本研究ではMEGを用いて空間周波数の影響を視覚諸領域で比較した。

【方法】0.28~18.1cpdの7段階の空間周波数のサイン波縞刺激を呈示し、計測には306チャンネル全頭型脳磁計を用いた。被験者は12名であり、うち11名で信号源が推定された。

【結果】V1・V6・両側V2・両側V3領域付近に信号源が推定された。V1とV2の活動は80ms、V6の活動は120ms付近にピークが見られた。V1とV2の潜時・振幅は空間周波数によって有意に変化し、ともに4.5cpdの縞で最大となった。一方、V6とV3の活動には空間周波数の影響は有

意ではなかった。

【結論】視覚領野間で空間周波数の影響が異なることが示された。潜時については VEP を用いた先行研究とは異なる傾向であった。この解釈として、V1 と V6 の活動の分離が VEP による計測では困難であった可能性が考えられる。

#### P42. 二次体性感覚野における体性感覚—視覚—運動統合

○和坂俊昭, 柿木隆介 (生理学研究所統合生理研究系感覚運動調節研究部門)

【目的】運動中の身体部位の感覚情報と運動情報が統合されるメカニズムを解明することを目的として、実際の運動とは異なる視覚情報が提示されたときにみられる脳磁場反応を計測した。

【方法】被験者にはミラーボックス内に両手を挿入させ、右手の鏡像が左手の位置に映るように調整させた (Mirror 条件)。その後、左正中神経刺激を無視しながら左右の拇指の同位相 (In-phase 課題) と異位相 (Out-of-phase 課題) の屈曲伸張動作を行わせ、運動課題遂行時の体性感覚誘発磁場を測定した。同様の運動課題をミラーボックスがない条件時にも記録し比較した (NoMirror 条件)。

【結果】Mirror 条件時の Out-of-phase 課題では、左手の拇指の屈曲伸張時に実際の運動の位相と異なる視覚情報がフィードバックされる。このとき、身体部位の運動の視覚フィードバックが正常な NoMirror 条件と比較して、二次体性感覚野の活動は有意に増大した。In-phase 課題では両条件間で変化はみられなかった。

【結論】二次体性感覚野は運動部位からの感覚情報 (体性感覚, 視覚) と運動指令の統合に関与していることが明らかとなった。

#### P43. マウス大脳皮質の移動神経細胞における領域特異的な GABA<sub>A</sub> 受容体応答

○熊田竜郎, 中西康彦, 古川智範, 江川 潔, 福田敦夫 (浜松医科大学医学部神経生理学講座)

発達期の移動神経細胞は経路上で特異的な  $[Ca^{2+}]_i$  変動を示し、細胞移動を調節する。抑制性神経伝達物質受容体として知られる GABA<sub>A</sub> 受容体は、幼弱神経細胞では  $[Cl^-]_i$  が高いため興奮性に働く。近年、我々は GABA とタウリンが協調して GABA<sub>A</sub> 受容体に作用し、大脳皮質板となる神経細胞の放射状移動に関与することを見出した。今回、我々は GABA とタウリンの異なる分布に着目し、両者の移動細胞への作用の違いを中間帯 (IZ)、サブプレート (SP)、皮質板 (CP) の各領域で検討した。細胞外 GABA

イメージング法により細胞外 GABA の供給・取り込み機構について検討した結果、細胞外 GABA レベルは GABA トランスポーター阻害剤ニベコチン酸 (NPA) の投与により亢進したが、容量感受性陰イオンチャネルの阻害剤 DCPIB の投与により著減した。急性脳スライス標本において子宮内電気穿孔法で標識された移動神経細胞における細胞外 GABA と細胞外タウリンの GABA<sub>A</sub> 受容体応答について  $Ca^{2+}$  イメージング法により検討した。その結果、NPA は CP で、タウリントランスポーター阻害剤 GES は SP で移動細胞の  $[Ca^{2+}]_i$  振動を促進し、DCPIB は全ての領域で抑制することを見出した。以上より移動細胞の GABA<sub>A</sub> 受容体に対して細胞外タウリンは SP で、細胞外 GABA は CP で優位に作用することが示唆された。

#### P44. 温泉浴が高齢者の身体機能に及ぼす影響

○鈴木敦子, 志村まゆら (健康科学大学健康科学部生理学)

温泉療法は疾病の治療ばかりではなく、疲労回復・リラクゼーションなどを目的として広く親しまれている。特に最近では高齢者福祉サービスの一環として、高齢者の健康増進のために温泉を利用するケースも多い。一方、高齢者では入浴中の事故が多いことも報告されている。そこで、高齢者における温泉浴の安全性を検討する目的で、温泉浴が高齢者に及ぼす影響を調べた。

高齢者ボランティア 11 名 (男性: 72~82 歳) を被験者とし、温泉 (低張性中性温泉, 40~41℃) に 10 分間自由に入浴してもらい、入浴前後に口腔温と、循環機能の指標として心拍数、心拍変動、血圧、心臓足首血管指数 (CAVI 値)、及び精神的ストレスの指標として唾液中クロモグラニン A の濃度を調べた。さらに日内変動の影響を除くため、同一被験者において別の日に入浴なしの条件下で、ほぼ同時刻にこれらのパラメーターの測定を実施した。その結果、温泉浴により体温及び心拍数は入浴をしなかった日と比べて有意に高かったが ( $p < 0.05$ )、入浴前との比較では有意な変化は認められなかった。また、他のパラメーターは入浴前との比較でも入浴なしの日との比較でも有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、今回行った自由な温泉浴は高齢者の循環機能に顕著な影響を及ぼさず、安全性が高いと考えられた。唾液中のクロモグラニン A も変化しなかったことから、精神的な負担も少ないことが示された。

#### P45. 大脳皮質視覚野可塑性における T 型 $Ca^{2+}$ チャネルの役割

○吉村由美子<sup>1,2</sup>, 足澤悦子<sup>1</sup>, 丸山拓郎<sup>3</sup>, 小松由紀夫<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>生理学研究所・神経分化, <sup>2</sup>総合研究大学院大学, <sup>3</sup>名古屋大学環境医学研究所)

大脳皮質一次視覚野の機能は、生後発達期の視覚体験に強く依存して成熟する。これまでに我々は、ラット視覚野より作成した切片標本を用いた電気生理学的解析により、感受性期の視覚野に限局してT型Ca<sup>2+</sup>チャネル依存性長期増強が誘発されること、長期増強感受性期にはT型Ca<sup>2+</sup>チャネル電流量自体が大きいことを報告した。従って、T型Ca<sup>2+</sup>チャネルが可塑性を調節している可能性が考えられる。Cysteine投与によりT型Ca<sup>2+</sup>チャネル電流が増

大することが知られているので、この特性を利用して、Ca<sup>2+</sup>チャネル電流が増大すると可塑的变化が生じやすくなるかを検討した。切片標本を用いた解析により、Cysteine存在下では、通常ではLTPが起こらない短い条件刺激においてもLTPが誘発された。また、感受性期のラット視覚野に浸透圧ミニポンプを装着し、Cysteineを持続的に投与すると、眼優位シフトを起こすには不十分なことが知られている2日間の片眼遮蔽においても眼優位性のシフトが観察された。以上の結果は、T型Ca<sup>2+</sup>チャネル電流量がシナプス可塑性、視覚反応可塑性を調節する可能性を支持する。