自 然 科 学 研 究 機 構

生理学研究所年報

第36巻

2015

はじめに

生理学研究所年報第 36 巻をここに刊行し，2014（平成 26）年度における大学共同利用機関としての生理学研究所の事業活動，研究成果を報告させていただきます。

生理学研究所は，1977 年 5 月に開設され，2004 年 4 月の法人化により大学共同利用機関法人自然科学研究機構を構成する研究機関となり現在に至っています。その間，生理学研究所はいくつかの組織改編を行いながら，「人体基礎生理学の研究と研究者育成のための大学共同利用機関」としての役割を果してきました。2013 年には自然科学研究機構の研究大学強化促進事業の開始に伴ない，生理学研究所にも研究力強化戦略室が設けられ，研究所の運営体制の整備が進められています。研究面では，2011 年度からは 5 年間の「ヒトとモデル動物の統合的研究による社会性の脳神経基盤の解明」プロジェクトが特別経費として予算措置されています。また 2014 年度末には待望の７テスラ超高磁場磁気共鳴画像装置の設置が完了しました。2014 年度におきましても，コミュニティ研究者の皆様のご協力と，所員一同の努力によって，多数（167 件；法人化以前の約２倍）の共同研究・共同利用実験を行いつつ大きな成果をあげることができたものと思います。今後とも研究レベルの向上と大学共同利用機関としての更なる機能強化に努力していく所存であり，関係者各位の評価を仰ぐ次第であります。

生理学研究所の第 1 の使命は，人のからだと脳の働き，そしてそれらの仕組みについて，世界トップレベルの研究を進めることです。幸い，2014 年度も約 170 編の原著論文・英文総説を発表することができました。その内，およそ１割がインパクトファクターが８以上の雑誌に掲載されています。第２の使命は，このような世界トップレベルの研究を基礎にして，全国の研究者コミュニティの方々との共同利用実験・共同研究を進めるということです。2014 年度は，「一般共同研究」38 件，「計画共同研究」73 件，超高圧電子顕微鏡，機能的磁気共鳴画像装置（fMRI），脳磁計（MEG）を供しての「共同利用実験」35 件，「研究会」25 件，「国際シンポジウム」１件，「国際研究集会」２件の事業を進め，国内外から多数の研究者の方々にご参加いただくことができました。また自動切削装置内蔵型走査型電子顕微鏡（3D-SEM）の共同利用や遺伝子導入用ウイルスベクターの供給など，研究者コミュニティの要望に応える新しい研究手法の提供を共同利用・共同研究として実施いたしました。本研究所の第３の使命は，若手研究者を育成することにあります。総合研究大学院大学（総研大）の基盤機関として大学院生の指導にあたると共に，全国からの多数の大学院生を受託する形で指導もしています。更には，生理科学実験技術トレーニングコースを開催し，全国から 100 名以上の若手研究者・院生・学生を受け入れて教育すると共に，「多次元共同脳科学推進センター」を中心として，分野をまたぐ若手脳科学研究者の育成のための異分野連携的脳科学に関する多次元トレーニング＆レクチャーを開催しました。加えて，「せいりけん市民講座」開催や出前授業やその他講演会 23 回の開催など，多種の情報発信活動も研究力強化戦略室が中心となって行ってまいりました。

所員一同「生体を対象に分子，細胞，器官，個体レベルの研究を推進し，究極において人体の機能を総合的に解明することを目標とする」という創設来の基本姿勢を堅持しながら，主として脳の働きと生体恒常性の仕組みについての世界トップレベルの研究を推進し続けることができるよう，引き続き努力を重ねてまいりたいと考えております。皆様方のご支援・ご鞭撻を心よりお願い申しあげます。

2015（平成 27）年 9 月 4 日

生理学研究所　所長　井本敬二

生理学研究所年報

〔　目　　次　〕

職　員（2014 年度）…… i

研究活動報告

分子生理研究系 …… 11
細胞器官研究系 …… 18
生体情報研究系 …… 23
統合生理研究系 …… 32
大脳皮質機能研究系 …… 44
発達生理学研究系 …… 54
個別研究 …… 66
行動・代謝分子解析センター …… 70
多次元共同脳科学推進センター …… 75
脳機能計測・支援センター …… 76
岡崎統合バイオサイエンスセンター …… 81
動物実験センター …… 84
技　術　課 …… 87

研究発表

ａ．発　表　論　文 …… 103
ｂ．学　会　発　表 …… 123

一般共同研究報告 …… 153

計画共同研究報告 …… 181

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告 …… 233

生体機能イメージング共同利用実験報告 …… 243

研究会報告 …… 263

国際研究集会 …… 439

各種シンポジウム

2014（平成 26）年度生理研国際シンポジウム …… 465

トレーニングコース

第 25 回生理科学実験技術トレーニングコース …… 471

セミナー報告 …… 475

大学院特別講義 …… 507

職員（2014年度）

所　　長　井本敬二

【分子生理研究系】

神経機能素子研究部門

教　　授　久保義弘
准教授　立山充博
助　　教　中條浩一（～2015.2.28）
生理研研究員　KECELI, Batu（～2014.7.16）
日本学術振興会特別研究員
　山本　泉（～2014.12.31）
大学院生　北沢和寛
〃　粂　慎一郎
〃　ANDRIANI, Rizki Tsari
　（2014.10.1～）
技術支援員　内藤知津江

分子神経生理研究部門

教　　授　池中一裕
助　　教　清水健史
〃　吉村　武（2014.12.3～）
特任助教　稲村直子（～2014.8.31）
NIPSリサーチフェロー　橋本弘和（2014.11.1～）
〃　杉尾翔太（～2015.3.31）
研究員　橋本弘和（～2014.10.31）
〃　長内康幸（～2015.2.15）
〃　WISESSMITH, Wilaiwan
　（2014.4.10～2014.11.30）
大学院生　江　文
〃　半田（鳴海）麻衣（2014.4.1～）
〃　國澤和生
〃　李　佳益
〃　菊地原沙織
技術支援員　田口理恵
〃　赤坂英里子（2014.6.16～）
〃　吉田寛子（～2014.7.15）
事務支援員　田中真由美（2014.7.1～）
〃　川上綾子（～2014.7.18）

【細胞器官研究系】

生体膜研究部門

教　　授　深田正紀
准教授　深田優子
特任助教　横井紀彦（～2015.3.31）
NIPSリサーチフェロー　上條中庸
　（2014.4.1～2015.3.31）
大学院生　関谷敦志（～2015.3.31）
〃　村上達郎（2014.4.1～）
技術支援員　鈴木由美
〃　渡邊聖愛

神経細胞構築研究部門

客員教授　瀬藤光利

細胞生理研究部門

教　　授　富永真琴
特任准教授　岡田俊昭
助　　教　鈴木喜郎
特任助教　齋藤　茂
助　　教　内田邦敏
特任助教　加塩麻紀子（～2014.8.31）
〃　高山靖規（2014.10.1～）
NIPSリサーチフェロー　高山靖規（～2014.9.30）
〃　沼田（佐藤）かおり（～2014.8.15）
研究員　周　一鳴（～2014.11.30）
〃　沼田（佐藤）かおり
　（2014.8.16～2015.3.31）
〃　橘髙裕貴（2014.4.1～）
〃　孫　武平（2014.10.7～）
〃　平沢　統（～2014.9.30）
日本学術振興会特別研究員
　田淵紗和子
　（2014.10.1～2015.3.31）
日本学術振興会外国人特別研究員
　DEROUICHE, Sandra
〃　ISLAM, Md. Rafiqul
大学院生　田淵紗和子（～2014.9.30）

大学院生	新宅健司
〃	孫　武平（～2014.9.30）
〃	西本れい
〃	GUPTA, Rupali
〃	KURGANOV, Erkin
特別共同利用研究員	藤山雄一（2014.10.1～）
〃	渡邊成樹（～2014.9.30）
事務支援員	伊藤嘉美
技術支援員	齋藤くれあ
〃	重本久実
〃	安井尚美（～2015.1.31）

【生体情報研究系】

感覚認知情報研究部門

教授	小松英彦
助教	郷田直一
〃	横井　功
特任助教	眞田尚久
研究員	西尾亜希子
〃	岡澤剛起（～2015.1.8）
〃	波間智行
技術支援員	太田知宏
〃	庭木由紀
〃	澤　栄恵

神経シグナル研究部門

准教授	古江秀昌
助教	佐竹伸一郎
〃	山肩葉子
研究員	秋元　望
〃	池田あずさ（～2015.3.31）
〃	平沢　統（2015.10.1～2015.10.31）
大学院生	箱崎敦志（～2015.3.31）
特別共同利用研究員	山田彬博（2014.4.1～）
技術支援員	田中美穂
技術支援員	中村亜由美

視覚情報処理研究部門

教授	吉村由美子
特任助教	森　琢磨（～2015.3.31）
〃	宮下俊雄
〃	木村梨絵（2014.4.1～）
NIPSリサーチフェロー	山浦　洋
日本学術振興会特別研究員	石川理子（～2015.3.31）
〃	西尾奈々
大学院生	山本真理子（2014.4.1～）
技術支援員	石神久美子
事務支援員	比賀昌子

心循環シグナル研究部門

教授	西田基宏
助教	冨田拓郎（2014.4.1～）
特任助教	西村明幸
特別訪問研究員	外山喬士（～2015.3.31）
大学院生	武吉恭子（～2014.4.30）
特別共同利用研究員	北島直幸（～2015.3.31）
〃	島内　司（2014.4.1～）
技術支援員	藤森仁美
事務支援員	岡安友美（2014.4.1～2014.12.31）

【統合生理研究系】

感覚運動調節研究部門

教授	柿木隆介
准教授	乾　幸二
〃	岡本秀彦
特任准教授	木田哲夫（2014.12.1～）
助教	三木研作
特任助教（併任）	坂本貴和子
NIPSリサーチフェロー	中川　慧
特別訪問研究員	本多結城子
日本学術振興会特別研究員	小林　恵
〃	KECELI, Sumru
技術支援員	廣岡裕子
事務支援員	加藤三津子（～2014.9.30）
〃	中村和子（～2014.4.30）

生体システム研究部門

教　　授	南　部　　篤
准　教　授	遠　本　　徹（～2015.3.31）
助　　教	畑　中　伸　彦
〃	橘　　吉　寿（～2014.4.30）
〃	知　見　聡　美
特任助教	佐　野　裕　美
〃	纐　纈　大　輔（～2014.6.23）
〃	近　藤　秀　樹（2015.3.1～）
NIPSリサーチフェロー	金　子　将　也（2014.4.1～）
研　究　員	長谷川　　拓（2015.2.1～）
大学院生	Dwi Wahyu Indriani
〃	竹　内　佐　織（～2015.3.31）
〃	若　林　正　浩（2014.4.1～）
〃	WONGMASSANG, Woranan（2014.10.1～）
特別共同利用研究員	尾　崎　充　宣（～2015.3.15）
〃	金　沢　星　慶（～2015.3.15）
技術支援員	宮　本　香　奈（～2014.7.15）
〃	磯　谷　ひとみ
〃	松　澤　敬　子（～2015.3.31）
〃	粟　村　香奈子（2014.6.16～）

計算神経科学研究部門

客員教授	合　原　一　幸（～2015.3.31）

【大脳皮質機能研究系】

脳形態解析研究部門

教　　授	古　瀬　幹　夫（2014.4.1～）

大脳神経回路論研究部門

教　　授	川　口　泰　雄
准　教　授	窪　田　芳　之
助　　教	大　塚　　岳
〃	森　島　美絵子
研　究　員	植　田　禎　史
〃	牛　丸　弥　香
研　究　員	畠　中　由美子（～2015.3.31）
大学院生	WAHAB, Luna（～2015.3.31）
技術支援員	犬　塚　小百合
技術支援員	北　　啓　子
〃	塩　津　千　尋（～2014.8.31）
〃	服　部　宣　子
〃	兵　藤　智栄美
〃	AHMED, Syed Tanvir（～2015.3.31）
〃	加　藤　幸　奈（～2014.4.30）
〃	渡　邉　晴　子（2014.4.16～）
〃	ALSAYED, Alsayed Abdelhamid Mohamed（2014.7.1～014.11.26）

心理生理学研究部門

教　　授	定　藤　規　弘
准　教　授	福　永　雅　喜（2014.4.1～）
助　　教	北　田　　亮
特任助教	原　田　宗　子
〃	小　池　耕　彦
客員准教授	廣　谷　昌　子（2014.4.1～2014.8.31）
NIPSリサーチフェロー	菅　原　　翔（2014.4.1～）
研　究　員	岡　崎　俊太郎
〃	中　川　恵　理（2014.9.1～2015.3.31）
日本学術振興会特別研究員	東島(宍戸)恵美子（～2014.5.31）
日本学術振興会外国人特別研究員	宮　原　資　英（2014.7.1～2015.1.31）
大学院生	高　橋　陽　香
〃	橋　口　真　帆
〃	濱　野　友　希
〃	青　木　直　哉
〃	小　山　総市朗
〃	角　谷　基　文
〃	山　崎　英　明
〃	吉　本　隆　明（2014.10.1～）
特別共同利用研究員	石　井　　徹（～2015.3.31）
〃	川　口　彰　子（～2015.3.31）
特任専門員	木　村　玲　子
技術支援員	中　川　恵　理（2014.5.16～2014.8.31）
〃	竹　中　邦　子

技術支援員　岩瀬　恵
〃　伊藤竜樹（～2014.8.31）
〃　大河内　真須美（～2014.5.31）

【発達生理学研究系】

認知行動発達機構研究部門

教授　伊佐　正
准教授　西村幸男
特任准教授　郷　康広
助教　吉田正俊
特任助教　小川正晃
研究員　渡辺秀典（2014.7.1～2015.3.31）
〃　加藤利佳子
〃　笠井昌俊
〃　加藤健治（～2015.3.31）
〃　石野誠也（2015.1.16～）
日本学術振興会外国人特別研究員　VEALE, Richard（2014.7.10～）
〃　MATROV, Denis（2014.11.24～）
大学院生　高桑徳宏
〃　鈴木迪諒
〃　西原陽子
〃　徳岡広太（2014.4.1～）
〃　辻本憲吾（2014.4.1～）
〃　中尾弥起（2014.4.1～）
〃　ST CLAIR, Griffin（2014.10.1～）
特別共同利用研究員　澤田真寛（～2015.3.31）
〃　當山峰道
特任専門員　伊佐かおる
〃　柴田あゆみ（2014.12.1～）
〃　嶋田ゆう（2014.12.1～）
技術支援員　高田和子
〃　山西ユミ
〃　高橋伸明
〃　山崎瞳子（2014.6.16～）
〃　水谷裕美（2014.8.16～2015.3.31）
〃　石野真麻（2015.1.16～）
技術支援員　柴田あゆみ（～2014.11.30）
〃　嶋田ゆう（～2014.11.30）

生体恒常機能発達機構研究部門

教授　鍋倉淳一
准教授　和氣弘明（2014.4.1～）
特任助教　稲田浩之
〃　江藤圭（2014.10.1～）
NIPSリサーチフェロー　石川達也（～2015.3.31）
研究員　宮本愛喜子（2014.4.1～）
〃　江藤圭（2014.8.1～2014.9.30）
特別協力研究員　加藤大輔（2014.4.1～）
日本学術振興会特別研究員　中畑義久
日本学術振興会外国人特別研究員　STEVENSON, Tamara（2014.7.1～2015.3.31）
大学院生　中村佳代
〃　穐吉亮平
〃　戸田拓弥（2014.4.1～）
特別共同利用研究員　STEVENSON, Tamara（～2014.12.31）
技術支援員　大場多津子
〃　市橋結貴
〃　小林知子（2014.4.1～）
〃　蜂須賀由香里
事務支援員　齋藤永子
〃　小林文絵

生殖・内分泌系発達機構研究部門

教授　箕越靖彦
助教　岡本士毅
NIPSリサーチフェロー　唐麗君（～2015.3.31）
〃　横田繁史
研究員　髙木一代（2014.10.1～）
大学院生　COUTINHO, Eulalia
〃　佐藤達也
〃　MOHAMED ASGAR, Nur Farehan
技術支援員　林めぐみ

環境適応機能発達研究部門

客員教授　矢田俊彦（～2015.3.31）

【個 別 研 究】

個別研究（村上グループ）

准　教　授	村　上　政　隆	
大 学 院 生	魏　　飛	（～2014.9.30）
特別協力研究員	古　家　園　子	（2014.4.1～）

個別研究（大橋グループ）

助　　教	大　橋　正　人	

個別研究（毛利グループ）

助　　教	毛　利　達　磨	

個別研究（樫原グループ）

助　　教	樫　原　康　博	（～2015.3.31）
技術支援員	野　村　智　美	（～2015.3.31）

【行動･代謝分子解析センター】

センター長（併任）　池　中　一　裕

遺伝子改変動物作製室

准　教　授	平　林　真　澄	
特 任 助 教	足　澤　悦　子	
特別共同利用研究員	原　　弘　真	（～2015.3.31）
技術支援員	山　内　恵　子	
〃	大　西　皆　子	
〃	道　木　美　香	（2014.5.1～）

代謝生理解析室

教　　授（併任）	箕　越　靖　彦	
助　　教（併任）	鈴　木　喜　郎	

行動様式解析室

客 員 教 授	宮　川　　剛	
特任准教授	高　雄　啓　三	
特別訪問研究員	林　　愛	
特任専門員	腰　高　由美恵	（2014.4.1～）
技術支援員	今　井　篤　子	
〃	石　川　美　香	（～2014.12.31）
〃	中木原　敦　子	（～2014.4.30）
〃	宮　嶌　直　人	（～2014.4.20）
〃	古　川　佐千子	（2014.7.16～）
〃	兵　藤　美　和	（2014.7.16～）
事務支援員	高　松　　香	

【多次元共同脳科学推進センター】

センター長（併任）	伊　佐　　正	
特 任 教 授（併任）	吉　田　　明	（～2014.5.31）
事務支援員	土　井　　優	（～2014.10.31）

脳科学新領域開拓研究室

教　　授（併任）	池　中　一　裕	
〃	山　森　哲　雄	
客 員 教 授	小　林　和　人	
〃	佐　倉　　統	
〃	高　田　昌　彦	
〃	西　田　眞　也	
〃	宮　田　卓　樹	
〃	望　月　秀　樹	
客員准教授	小早川　令　子	（～2015.3.31）

脳情報基盤研究開発室

教　　授（併任）	伊　佐　　正	
教　　授（併任）	鍋　倉　淳　一	
客 員 教 授	川　人　光　男	
〃	銅　谷　賢　治	
〃	横　井　浩　史	
〃	大　木　研　一	
〃	森　　郁　恵	
客員准教授	大　野　伸　彦	

社会的脳表現解析開発室

教　　授（併任）	定　藤　規　弘	
教　　授（併任）	小　松　英　彦	
客 員 教 授	酒　井　邦　嘉	
〃	尾　崎　紀　夫	
〃	友　田　明　美	

脳科学研究戦略推進室

特任准教授	丸　山　めぐみ	（～2015.3.31）
特 任 助 教	大　塩　り　つ	（～2015.3.31）
〃	矢　口　邦　夫	（～2015.3.31）
研　究　員	本　木　和　美	（～2014.9.30）
特任専門員	嶋　田　弘　子	（～2015.3.31）
〃	寺　嶋　恵　子	（～2015.3.31）
技術支援員	齋　藤　理　恵	（～2015.3.31）

流動連携研究室

選　考　中

【脳機能計測・支援センター】

センター長（併任）　久　保　義　弘

形態情報解析室

准　教　授　　村　田　和　義
研　究　員　　宮　崎　直　幸
技術支援員　　山　田　幸　子
〃　　永　吉　美代子（～2015.3.31）
〃　　河　口　美　江
〃　　加　藤　勝　己

生体機能情報解析室

教　　授（併任）　定　藤　規　弘

多光子顕微鏡室

教　　授（併任）　鍋　倉　淳　一
准　教　授　　村　越　秀　治
博士研究員　　柴　田　明　裕（～2015.3.31）
技術支援員　　安　井　尚　美（2015.2.1～2015.3.31）

電子顕微鏡室

教　　授（併任）　古　瀬　幹　夫（2014.4.1～）
准　教　授（併任）　村　田　和　義
〃　（併任）　窪　田　芳　之

ウイルスベクター開発室

教　　授（併任）　伊　佐　　正
〃　（併任）　南　部　　篤
准　教　授　　小　林　憲　太
技術支援員　　影　山　梨　衣

霊長類モデル動物室

教　　授（併任）　伊　佐　　正
研　究　員　　山　根　　到
事務支援員　　岡　本　友　紀

【情報処理・発信センター】

センター長（併任）　柿　木　隆　介

点検連携資料室

教　　授（併任）　伊　佐　　正
准　教　授（併任）　村　上　政　隆

医学生理学教育開発室（客員研究部門）

客員教授　　渋　谷　まさと

【安全衛生管理室】

教　　授（併任）　定　藤　規　弘

【研究力強化戦略室】

教　　授（併任）　鍋　倉　淳　一
〃　　吉　田　　明（～2014.5.31）
特任教授　　浦　野　　徹
特任助教　　坂　本　貴和子
特任専門員　　内　山　千保美（2014.6.1～）
事務支援員　　内　山　千保美（～2014.5.31）
〃　　安　井　亜　紀（2014.4.1～）

岡崎共通研究施設（生理学研究所関連）
【岡崎統合バイオサイエンスセンター】

バイオセンシング研究領域

細胞生理研究部門（兼務）
（ i 頁の細胞生理研究部門を参照）

生体制御シグナル研究部門

特任准教授　　佐　藤　幸　治

生命時空間設計研究領域

心循環シグナル研究部門（兼務）
（ ii 頁の心循環シグナル研究部門を参照）

神経分化研究部門

准　教　授　　東　島　眞　一
研　究　員　　木　村　有希子
技術支援員　　鈴　木　幸　子
〃　　伊　木　志成子
〃　　伊　藤　浩　子
〃　　寺　澤　洋　子

生命動秩序形成研究領域

【動物実験センター】

センター長（併任）　箕　越　靖　彦
特任教授（併任）　浦　野　　徹（2014.4.1～）

助　　教　　王　　振　吉（2014.4.1～）
技術支援員　　水　野　みどり
〃　　松　永　ゆう子
〃　　古　山　真基子
〃　　不　退　久　恵
〃　　鈴　木　敏　文（～2015.3.31）
〃　　山　中　　緑
〃　　山　本　　忍
〃　　本　多　千　佳（2014.6.1～）
事務支援員　　橋　谷　久　美
〃　　浦　川　裕　乃

【動物実験コーディネータ室】

特任教授　　佐　藤　　浩
事務支援員　　鈴　木　邦　子

【技　術　課】

課　　長　　大河原　　浩

研究系技術班

班　　長　　市　川　　修

分子生理研究系　技術係

係　　長　　佐　治　俊　幸
係　　員　　山　本　友　美
〃　　加　納　雄一朗

細胞器官研究系　技術係

係　　長　　山　口　　登
主　　任　　福　田　直　美
係　　員　　髙　橋　直　樹

生体情報研究系　技術係

係　　長　　永　田　　治（2014.7.1～）
係　　員　　森　　将　浩
〃　　髙　木　正　浩
〃　　石　原　博　美

統合生理研究系　技術係

主　　任　　竹　島　康　行
〃　　佐　藤　茂　基

大脳皮質機能研究系　技術係

係　　長　　伊　藤　嘉　邦
係　　員　　神　谷　絵　美（～2014.6.30）

発達生理学研究系　技術係

係　　長　　戸　川　森　雄
主　　任　　齊　藤　久美子
〃　　吉　友　美　樹

研究施設技術班

課長補佐（班長）　小　原　正　裕

脳機能計測･支援　技術係

係　　長　　前　橋　　寛
係　　員　　山　田　　元

情報処理･発信　技術係

係　　長　　永　田　　治（～2014.6.30）
主　　任　　吉　村　伸　明
係　　員　　村　田　安　永

動物実験　技術係

係　　長　　伊　藤　昭　光
主　　任　　廣　江　　猛
係　　員　　窪　田　美津子
〃　　神　谷　絵　美（2014.7.1～）

行動･代謝分子解析　技術係

係　　長　　（未選考）
係　　員　　三　寳　　誠
特任専門員　　腰　高　由美恵（2014.4.1～）

多次元共同脳科学推進　技術係

係　　長（併任）　（未選考）

研究力強化戦略室

特任専門員　　内　山　千保美（2014.6.1～）
〃　　岡　安　友　美（2015.1.1～）

技術支援員・事務支援員

技術支援員　　加　藤　勝　己
〃　　粟　村　香奈子（2014.6.16～）
〃　　石　神　久美子
〃　　磯　谷　ひとみ
〃　　犬　塚　小百合
〃　　岩　瀬　　恵
〃　　大　西　皆　子
〃　　大　場　多津子

技術支援員	加　藤　三津子（2014.5.1～2014.9.30）
〃	齋　藤　くれあ
〃	澤　　栄　恵
〃	鈴　木　敏　文（～2015.3.31）
〃	鈴　木　由　美
〃	高　田　和　子
〃	田　口　理　恵
〃	田　中　美　穂
〃	内　藤　千津江
〃	永　吉　美代子（～2015.3.31）
〃	新　関　奈央子
〃	橋　本　　恵（2014.11.1～）
〃	林　　めぐみ
〃	廣　岡　裕　子（2014.10.1～）
〃	藤　森　仁　美
〃	不　退　久　恵
〃	古　山　真基子
〃	本　多　千　佳（2014.6.1～）
〃	松　永　ゆう子
技術支援員	宮　本　香　奈（～2014.7.15）
〃	水　野　みどり
〃	山　田　幸　子（2014.4.1～）
〃	山　中　　緑
〃	山　本　　忍
事務支援員	浅　井　明　代
〃	内　山　千保美（～2014.5.31）
〃	浦　川　裕　乃
〃	小　澤　祐　子
〃	後　藤　美　穂（～2015.3.31）
〃	小　林　文　絵
〃	坂　本　　愛
〃	佐　藤　明　子
〃	柴　田　利　江
〃	芝　村　賞　子
〃	高　松　　香
〃	長　尾　法　子
〃	橋　谷　久　美
〃	安　井　亜　紀

【研究活動報告】

研究活動報告

〔　目　　次　〕

分子生理研究系

神経機能素子研究部門 …… 11
概　要
オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた，遺伝子改変マウスの作成
（山本友美，山本　泉，久保義弘，周　麗，夏目里恵，崎村建司）
オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた，脳内発現パターンの解析
（山本友美，山本　泉，久保義弘，今野幸太郎，渡辺雅彦）
オーファン代謝型受容体 Prrt3 結合蛋白同定と切断酵素同定に向けた研究
（山本　泉，山本友美，久保義弘，横井紀彦，深田優子，深田正紀，中尾和貴，清成　寛，今野幸太郎，渡辺雅彦）
受容体－GIRK チャネル複合体形成に関する研究
（立山充博，久保義弘）
G タンパク質共役型受容体による KCNK13 チャネルの機能修飾
（立山充博，久保義弘，松原美紀）
QT 短縮を起こす変異が KCNQ1 チャネルのゲーティングに与える影響
（中條浩一，久保義弘）
全反射赤外分光法によるカリウムチャネル機能の解析
（中條浩一，久保義弘，塚本寿夫，古谷祐詞）
ATP 受容体チャネル P2X2 の膜電位と ATP に依存する構造変化の光学的手法による検出
（Rizki Tsari Andriani，Batu Keceli，久保義弘）
相対発現量に依存した Kv4.2/DPP10 複合体のストイキオメトリーと性質の変化
（北沢和寛，中條浩一，久保義弘）
hERG チャネルの脱活性化機構における S4-S5 リンカー-C リンカー間相互作用の研究
（粂慎一郎，中條浩一，久保義弘）
分子神経生理研究部門 …… 15
概　要
オリゴデンドロサイトの機能と病態
（清水健史，長内康幸，國澤和生，Wilaiwan Wisessmith，李　佳益，池中一裕）
アストロサイトの機能と病態
（稲村直子，杉尾翔太，菊地原沙織，池中一裕）
脊髄神経発生における硫酸化プロテオグリカンの役割
（橋本弘和，江　文，吉村　武，池中一裕）
N 結合型糖鎖の構造決定と機能解析
（吉村　武，半田（鳴海）麻衣，加納雄一郎，池中一裕）

細胞器官研究系

生体膜研究部門 …… 18
概　要
てんかん関連リガンド LGI1 の分子病態機構の解明
（横井紀彦，加勢大輔，大川都史香，井本敬二，深田正紀，深田優子）
自己免疫性辺縁系脳炎における新規抗原の同定
（大川都史香，佐竹伸一郎，横井紀彦，渡邊　修，深田優子，深田正紀）
PSD-95 パルミトイル化サイクルによるシナプス機能制御
（深田優子，横井紀彦，関谷敦志，村上達郎，深田正紀）
脱パルミトイル化酵素ファミリーの探索と性状解析
（村上達郎，関谷敦志，横井紀彦，深田優子，深田正紀）
神経細胞構築研究部門 …… 19
概　要

神経変性におけるリン脂質組成の質量顕微鏡解析
（有馬秀幸，由木　大，瀬藤光利）
細胞生理研究部門 ····· 20
概　要
モノテルペン化合物によるヒト TRPA1 阻害とその構造基盤
（高石雅之，藤田郁尚，内田邦敏，富永真琴）
TRP チャネルと膀胱機能
（水野秀紀，鈴木喜郎，渡邊成樹，富永真琴）
脳脈絡叢に発現する TRPV4 とアノクタミン１の機能連関
（高山靖規，鈴木喜郎，内田邦敏，富永真琴）
プロポフォールによるヒト TRPA1 チャネルの活性化
（西本れい，加塩麻紀子，富永真琴）

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門 ····· 23
概　要
下側頭葉皮質における光沢選択性ニューロンの解剖学的結合
（西尾亜希子，郷田直一，小松英彦，一戸紀孝）
サル視覚領野の物体素材情報表現に視触覚経験が与える影響：fMRI 研究
（郷田直一，横井　功，小松英彦 ，橘　篤導，南本敬史）
マカクサルＶ２ニューロンの自然テクスチャ選択性を説明する画像統計量
（岡澤剛起，小松英彦）
素材画像に対する下側頭葉皮質ニューロンの反応
（横井　功，小松英彦）
実物と画像の素材刺激を用いたサルの行動実験
（横井　功，郷田直一，小松英彦）
サル外側膝状体ニューロンの色選択性応答に対する輝度コントラスト極性の影響
（波間智行，小松英彦）
大脳皮質 V4 野における色情報の空間的な統合
（眞田尚久，小松英彦）
神経シグナル研究部門 ····· 26
概　要
青斑核を介した覚醒と痛覚抑制の中枢連関機構
（古江秀昌，井本敬二）
RuBi-glutamate を用いたグルタミン酸輸送体機能評価システムの構築：ジストニア病態モデルマウス（*Atp1a3*$^{+/-}$）への適用
（佐竹伸一郎，井本敬二，川上　潔，池田啓子）
神経活動と ERK1/2-MAP キナーゼ・フォスファターゼ活性と基質蛋白質シナプシン I のリン酸化
（山肩葉子，Angus C. Nairn，井本敬二）
下部尿路から脊髄に入力する感覚シナプス伝達機構の解析
（秋元　望，古江秀昌，井本敬二）
視覚情報処理研究部門 ····· 28
概　要
大脳皮質における細胞系譜依存的な神経細胞間結合の分子メカニズム
（足澤悦子，宮下俊雄，吉村由美子，平林真澄，三寶　誠，八木　健）
２光子励起顕微鏡を用いた，機能的な一次視覚野神経回路の形成メカニズム
（宮下俊雄，足澤悦子，吉村由美子，平林真澄，三寶　誠，八木　健）
一次視覚野ニューロンにおける空間周波数選択性の経験依存的発達
（西尾奈々，石川理子，吉村由美子）
視覚野可塑性における一酸化窒素の役割
（山浦　洋，吉村由美子，小松由紀夫）
視知覚・運動連関に関する多領域・多細胞の神経活動
（木村梨絵，吉村由美子）
大脳皮質一次視覚野における経験依存的機能発達の層特異性
（石川理子，吉村由美子）

心循環シグナル研究部門 …… 30
概　要
TRPC3 チャネルーNADPH オキシダーゼ機能的共役による心臓の線維化シグナル制御
（北島直幸，冨田拓郎，西田基宏）
TRPC6 チャネルによる末梢循環制御
（冨田拓郎，島内　司，西田基宏）
ミトコンドリア分裂による心筋老化制御
（外山喬士，西村明幸，西田基宏）
高血圧症の新たなリスク要因としての P2Y6 受容体
（西村明幸，Caroline Sunggip，西田基宏）

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門 …… 32
概　要
表皮内電気刺激法による皮膚 Aδ，C 線維機能障害評価
（小平　農，乾　幸二，柿木隆介）
正立顔および倒立顔に対する定常的視覚誘発脳磁場の計測
（鶴原亜紀，乾　幸二，柿木隆介）
雑音下での静寂に対する神経活動の適応
（岡本秀彦，柿木隆介）
静寂の軌跡が聴覚誘発脳磁場に与える影響
（岡本秀彦，柿木隆介）
外耳道へのカプサイシン刺激による咳嗽反射を用いた機能性嚥下障害の治療法
（近藤英司，陣内自治，大西皓貴，川田育二，中野誠一，合田正和，北村嘉章，阿部晃治，星川広史，岡本秀彦，武田憲昭）
耳鳴りに対する周波数除去音楽療法と経頭蓋直流電気刺激の効果
（タイスマン・ヘンニング，ウォルブリンク・アンドレアス，岡本秀彦，シュラウグ・ゴットフリード，ルダック・クラウディア，パンテフ・クリスト）
突発性難聴に対する音響療法
（岡本秀彦，福嶋宗久，タイスマン・ヘンニング，ラーゲマン・ロター，北原　糺，猪原秀典，柿木隆介，パンテフ・クリスト）
共感覚における単語色決定の脳内メカニズム
（横山武昌，野口泰基，古賀裕紀，齋木　潤，柿木隆介，喜多伸一）
道具刺激の無意識的認識による μ リズムの低下
（鈴木恵美，野口泰基，柿木隆介）
注意欠陥多動性障害のある子の表情観察時の脳血流反応
（市川寛子，仲渡江美，金沢　創，島村圭一，作田由衣子，作田亮一，山口真美，柿木隆介）
多チャンネル NIRS 計測データを二群に識別する新規手法の提案：チャネル組み合わせを探る
（市川寛子，北園　淳，永田賢二，萬田　暁，島村圭一，作田亮一，岡田真人，山口真美，金沢　創，柿木隆介）
他者による観察が自己顔認知へ与える情動的影響
（守田知代，田邊宏樹，佐々木章宏，島田浩二，柿木隆介，定藤規弘）
自閉症スペクトラムにおけるバイオロジカルモーション知覚処理に関する異なる脳反応
（平井真洋，軍司敦子，井上祐紀，北　洋輔，林　隆，西牧謙吾，中村みほ，柿木隆介，稲垣真澄）
エコイックメモリの時間分解能：オフセット応答を用いた検討
（西原真理，牛田享宏，元村英史，守田知代，小平　農，望月秀紀，大鶴直史，乾　幸二，柿木隆介）
感覚不一致による自己身体所有感の喪失が一次体性感覚野に及ぼす影響
（大鶴直史，橋詰　顕，仲村大地，遠藤勇輝，乾　幸二，柿木隆介，弓削　類）
表情変化を超えた人物同定は生後 7 ヶ月頃に発達する
（小林　恵，大塚由美子，金沢　創，山口真美，柿木隆介）
微弱な先行刺激の呈示による感覚処理における抑制系の評価
（中川　慧，乾　幸二，柿木隆介，弓削　類）
表皮内電気刺激法による C 線維選択刺激の皮質応答
（根木　潤，村垣善浩，乾　幸二，小平　農，柿木隆介）

閾下意味プライミングにおける前頭–側頭部の領域間結合の変化
（松本　敦，柿木隆介）
生体システム研究部門 …… 39
概　要
睡眠中の海馬における律動波の研究
（逵本　徹，竹内佐織，金沢星慶）
パーキンソン病モデルマーモセットにおける視床の神経活動
（若林正浩，近藤秀樹，畑中伸彦，南部　篤）
大脳基底核における上肢運動ストップ課題遂行中の活動調節
（金子将也，畑中伸彦，南部　篤）
パーキンソン病モデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核経路の情報伝達異常
（知見聡美，長谷川拓，Wongmassang Worana，高田昌彦，南部　篤）
大脳皮質–線条体経路による大脳基底核の神経活動の調節
（佐野裕美，小林憲太，加藤成樹，知見聡美，小林和人，南部　篤）
線条体–淡蒼球外節投射ニューロンによる大脳基底核の神経活動調節と運動制御
（佐野裕美，田中謙二，知見聡美，南部　篤）
ジストニン欠損マウスの病態生理学的解析
（佐野裕美，堀江正男，知見聡美，竹林浩秀，南部　篤）
ゾニサミドが神経栄養因子に与える影響の解析
（佐野裕美，村田美穂，南部　篤）
L-DOPA 誘導性ジスキネジアの病態生理学的解析
（Dwi Wahyu Indriani，佐野裕美，知見聡美，南部　篤）
計算神経科学研究部門 …… 42
概　要
短期的シナプス可塑性と新しい神経ダイナミクスの描像
（香取勇一，合原一幸）

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門 …… 44
概　要
トリセルラータイトジャンクションにおけるアクチン線維制御
（小田裕香子，古瀬幹夫）
トリセルラータイトジャンクションの異常と難聴
（東　智仁，勝野達也，北尻真一郎，古瀬幹夫）
ゲノム編集技術による細胞間接着装置構成分子欠失培養上皮細胞の作製
（徳田深作，古瀬幹夫）
大脳神経回路論研究部門 …… 45
概　要
大脳皮質錐体細胞に分布する抑制性シナプスの形態・機能分化
（窪田芳之，山口　登，畑田小百合，北　啓子，川口泰雄，根東　覚，野村真樹，苅部冬紀，Joachim Lübke）
光刺激によって誘発される皮質回路のオシレーション活動
（大塚　岳，川口泰雄）
前頭皮質 5 層錐体細胞から抑制性細胞へのシナプス結合特性
（森島美絵子，川口泰雄）
大脳皮質興奮性細胞の分類とその細胞系譜
（畠中由美子，服部宣子，川口泰雄）
錐体細胞サブタイプの軸索層分布様式
（植田禎史，川口泰雄）
心理生理学研究部門 …… 47
概　要
統合失調症と脳皮質下構造変化の横断的検討 –多施設 MRI 研究–
（福永雅喜，岡田直大，越山太輔，橋本亮太）

視覚脱失が線条体外身体領域の形成に与える影響
（北田　亮，吉原一文，佐々木章宏，橋口真帆，河内山隆紀，定藤規弘）
素材の視触覚の不一致性に関わる神経基盤
（北田　亮，佐々木章宏，岡本悠子，橋口真帆，河内山隆紀，定藤規弘）
幸福及び悲しみの顔表情による情動伝染の神経基盤
（原田宗子，林亜希子，定藤規弘，飯高哲也）
コミュニケーションのオンライン性検出に対応した脳領域：Hypersacanning fMRI を用いて
（小池耕彦，中川恵理，角谷基文，岡崎俊太郎，定藤規弘）
体動の無意識な同期に対する視界と注意の影響
（岡崎俊太郎，吉本隆明，小池耕彦，廣谷昌子，定藤規弘）
系列運動技能の睡眠依存的改善と線条体活動の関連性
（菅原　翔，小池耕彦，川道拓東，牧田　快，濱野友希，高橋陽香，中川恵理，山崎英明，定藤規弘）
運動速度条件の異なる練習の組み合わせによる系列運動技能固定化の妨害
（菅原　翔，濱野友希，青木直哉，山崎英明，吉本隆明，定藤規弘）
日本人英語学習者による統語処理プロセスの神経基盤：fMRI による解明
（中川恵理，横川博一，小池耕彦，牧田　快，島田浩二，定藤規弘）
描画時における視線先行と書字習熟度の関係
（宍戸恵美子，福村直博，尾崎紀夫，岡崎俊太郎，定藤規弘）
他者の感情推定時における涙と顔表情の統合に関わる神経基盤
（高橋陽香，北田　亮，佐々木章宏，川道拓東，岡崎俊太郎，河内山隆則，定藤規弘）
手指の順序運動学習の神経基盤　機能的 MRI を用いた研究
（濱野友希，菅原　翔，青木直哉，山崎英明，定藤規弘）
口頭復唱による外国語単語学習定着の促進
（青木直哉，菅原　翔，廣谷昌子，岡崎俊太郎，山崎英明，吉本隆明，吉田春世，横川博一，定藤規弘）
第二次体性感覚野に対する経頭蓋直流電気刺激が痛み感覚に与える影響
（小山総市朗，中川　慧，定藤規弘，田中悟志）
聞き手の肯定的反応が話し手に与える影響の神経基盤
（角谷基文，小池耕彦，岡崎俊太郎，北田　亮，定藤規弘）
歌唱におけるピッチ制御の学習メカニズム
（山崎英明，岡崎俊太郎，菅原　翔，小山総市郎，定藤規弘）

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門 …… 54
概　要
ヒト精神疾患・高次認知機能解明のための霊長類モデル動物の開発
（郷　康広，渡我部昭哉，山森哲雄，大石高生，豊田　敦，藤山秋佐夫，伊佐　正）
マカクザルを用いた半側空間無視動物モデルの確立
（吉田正俊，辻本憲吾，澤田真寛，福永雅喜，関野正樹，金　東珉）
刺激一報酬間連合学習における前頭前野神経回路機能の解明
（小川正晃，伊佐　正）
「盲視」サルにおける視覚―運動変換の皮質神経機構
（加藤利佳子，吉田正俊，伊佐　正，池田琢朗，林　拓也，河原正幸，尾上嘉代，尾上浩隆，高浦加奈，塚田秀夫）
In vivo 2 光子イメージングをもちいた上丘浅層，側方抑制機構の解明
（笠井昌俊，伊佐　正）
脳梗塞モデルサルにおける大脳皮質⇒筋間の人工神経接続による運動機能の再建
（加藤健治，澤田真寛，西村幸男）
Parameterization of Large-Scale Simulations of Superior Colliculus
（Richard Veale，Tadashi Isa，Masatoshi Yoshida）
皮質盲視野に提示された条件刺激に対する中脳ドーパミンニューロンの応答
（高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave，伊佐　正）
モチベーションと運動パフォーマンスを繋ぐ神経因果律の解明
（鈴木迪諒，伊佐　正，西村幸男）
随意運動時における皮質活動と体性感覚情報を用いた筋活動推定
（西原陽子，梅田達也，伊佐　正，西村幸男）

脊髄損傷患者に対する上肢筋活動依存的な経脊椎磁気刺激による随意的歩行機能回復の試み
（中尾弥起，笹田周作，加藤健治，村山尊司，門脇　傑，吉田　晋，飯塚正之，小宮山伴与志，宇川義一，西村幸男）
運動機能回復を支えるモチベーションの神経基盤
（澤田真寛，加藤健治，伊佐　正，西村幸男，尾上浩隆）
サル皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復における脊髄固有ニューロンの寄与の検証
（當山峰道，伊佐　正，木下正治，松井亮介，渡邉　大，加藤茂樹，小林和人，里宇明元）
経路選択的光遺伝学的活性化による上丘出力系回路の操作；指向運動と恐怖反応の誘導
（Thongchai Sooksawate，小林憲太，伊佐かおる，伊佐　正）
生体恒常機能発達機構研究部門 …… 61
概　要
In Vivo 多光子顕微鏡を用いた慢性疼痛形成期における大脳皮質体性感覚野神経回路再編
（江藤　圭，石川達也，金　善光，鍋倉淳一）
細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能
（Andrew Moorhouse，中村佳代，戸田拓弥，鍋倉淳一）
In Vivo 多光子顕微鏡を用いたミクログリア・アストロサイトによる大脳皮質神経回路再編機構の解析
（和気弘明，宮本愛喜子，加藤大輔，穐吉亮平，鍋倉淳一）
生体イメージングのためのデバイスの開発
（平等拓範，澤田和明，和気弘明，江藤　圭，稲田浩之，鍋倉淳一）
生殖・内分泌系発達機構研究部門 …… 63
概　要
視床下部室傍核 AMPK による摂食調節機構
（岡本士毅，箕越靖彦）
交感神経系による脂肪組織マクロファージの TNF-α 発現調節機構
（唐　麗君，岡本士毅，箕越靖彦）
加齢依存性の体重増加に及ぼす視床下部 SIRT1 の調節作用
（佐々木努，北村忠弘，唐　麗君，箕越靖彦）
環境適応機能発達研究部門 …… 64
概　要
末梢投与オキシトシンの迷走神経を介した脳情報伝達，摂食抑制と肥満改善
（岩﨑有作，矢田俊彦）
Kv2.1 チャネル阻害の併用による GLP-1 関連薬のインスリン分泌促進・血糖改善効果の増強
（出崎克也，RauzaSukma Rita，矢田俊彦）

個別研究

個別研究（村上グループ） …… 66
概　要
唾液分泌における傍細胞輸送と細胞内信号による調節
（村上政隆，魏　飛，成田貴則，福島美和子，橋本貞充，澁川義幸，佐藤正樹）
個別研究（大橋グループ） …… 67
概　要
細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと発生シグナル制御
（大橋正人，木下典行）
個別研究（毛利グループ） …… 68
概　要
ウニ卵受精時のミトコンドリア活性化と一酸化窒素遊離
（毛利達磨，経塚啓一郎）
ウニ卵受精時の ATP 生成の探査
（毛利達磨，井尻貴之，佐藤賢一）
ヒトデ卵母細胞成熟におけるカルシウム遊離機構と活性電流の研究
（毛利達磨，経塚啓一郎）
個別研究（樫原グループ） …… 69
概　要
生後運動神経細胞のチャネル発現の支配標的筋依存性
（樫原康博，野村智美）

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室 …… 70
概　要
フォルスコリンの 2i 培地への添加はラット ES 細胞株の樹立に有効か
（平林真澄）
代謝生理解析室 …… 70
概　要
環境汚染物質による心臓リスク増加のメカニズム
（外山喬士，石原博美，西村明幸，西田基宏）
環境汚染物質による心臓リスク増加のメカニズム
（渡邊成樹，鈴木喜郎，富永真琴）
中枢性呼吸調節における TRP チャネルの役割
（平田　豊，鈴木喜郎，富永真琴）
エネルギー消費に及ぼす脱共役タンパク質 1 と骨格筋 AMPK の調節作用
（高木一代，岡本士毅，箕越靖彦）
ジストニアモデルマウスの病態解析
（佐野裕美，知見聡美，南部　篤，堀江正男，竹林浩秀）
行動様式解析室 …… 73
概　要
精神疾患の中間表現型「未成熟脳」のメカニズム解明と制御法の探索
（高雄啓三，宮川　剛）
ヒト炎症性疾患のモデル動物としてのマウスの再評価
（高雄啓三，宮川　剛）
マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用
（高雄啓三，宮川　剛）

多次元共同脳科学推進センター

概　要

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室 …… 76
概　要
超高圧電子顕微鏡トモグラフィーによる出芽酵母細胞丸ごとの超微形態解析
（村田和義，江崎雅俊，小椋　光，荒井重勇，山本悠太，田中信夫）
連続ブロック表面走査型電子顕微鏡によるマラリア感染赤血球の三次元形態観察
（宮崎直幸，村田和義，坂口美亜子，金子　修，藤岡　壽）
生体機能情報解析室 …… 77
概　要
多光子顕微鏡室 …… 77
概　要
FRET プローブのフォールディング効率改善法の確立
（柴田明裕，中畑義久，鍋倉淳一，村越秀治）
光応答性 CaMKII 阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用
（村越秀治，柴田明裕，安田涼平）
光応答性 CaMKII 分子の開発とシナプス可塑性研究への応用
（柴田明裕，村越秀治）
分子間相互作用検出のための高感度蛍光タンパク質の開発
（村越秀治，鍋倉淳一，柴田明裕）
ウイルスベクター開発室 …… 79
概　要

脳機能解析に有用なウイルスベクターの開発・提供と共同研究の推進
（小林憲太）
特定の神経路あるいは神経領域の機能解析
（小林憲太）
霊長類モデル動物室 …… 80
概　要
オリオンプロジェクト　生体制御シグナル研究部門 …… 81
概　要
匂い認識における嗅粘液の役割の解明
（佐藤幸治）
光によるカルシウムシグナル伝達系の制御
（佐藤幸治）
神経分化研究部門 …… 82
概　要
CRISPR/Cas9 システムによる高効率ノックイン法の確立
（木村有希子，東島眞一）
胸びれのリズム運動司る神経回路の解析
（東島眞一）

動物実験センター …… 84

概　要
管理運営
研　究
教　育
社会貢献

技術課 …… 87

概　要
（大河原浩）
施設の運営状況
①統合生理研究系
(1) 生体磁気計測装置
（竹島康行）
②大脳皮質機能研究系
(1) 磁気共鳴装置
（伊藤嘉邦）
③脳機能計測・支援センター
(1) 形態情報解析室
（小原正裕，山田　元，加藤勝己）
(2) 多光子顕微鏡室
（前橋　寛）
(3) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）
（小原正裕，山田　元）
(4) 機器研究試作室（生理研・基生研共通施設）
（佐治俊幸）
④情報処理・発信センター
(1) ネットワーク管理室
（吉村伸明，村田安永）
⑤岡崎共通研究施設
(1) 動物実験センター
（伊藤昭光，廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美）

分子生理研究系

神経機能素子研究部門

【概要】

イオンチャネル, 受容体, G 蛋白質等の膜関連蛋白は，神経細胞の興奮性とその調節に重要な役割を果たし，脳機能を支えている。本研究部門では，これらの神経機能素子を対象として，生物物理学的興味から「その精妙な分子機能のメカニズムと動的構造機能連関についての研究」に取り組み，また，神経科学的興味から「各素子の持つ特性の脳神経系における機能的意義を知るための個体・スライスレベルでの研究」を進めている。

今年度，これまでに引き続き，神経機能素子の遺伝子の単離，変異体やキメラ分子の作成，タンデムリピートコンストラクトの高効率作成，tag の付加，非天然蛍光アミノ酸の導入等を進め，卵母細胞，HEK293 細胞等の遺伝子発現系における機能発現の再構成を行った。また，2 本刺し膜電位固定法，パッチクランプ等の電気生理学的手法，細胞内 Ca^{2+}イメージング・全反射照明下での FRET 計測・一分子イメージング・膜電位固定下蛍光変化測定等の光生理学的手法，細胞生物学的研究手法により，その分子機能調節と構造機能連関の解析を行った。また，生理研内外の研究室との共同研究により，遺伝子改変マウスの作成と行動解析，免疫組織化学的解析，質量分析による結合タンパク質の同定，マイクロアレイ解析による遺伝子破壊の影響の解析，赤外分光による膜タンパク質の構造変化の解析等も進めている。以下に，今年度行った研究課題とその内容の要約を記す。

オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた，遺伝子改変マウスの作成

山本友美，山本　泉，久保義弘
周　麗，夏目里恵，崎村建司（新潟大学脳研究所細胞神経生物学分野）

我々は，代謝型グルタミン酸受容体や $GABA_B$ 受容体と同じく，大きな N 末細胞外領域と 7 回膜貫通部位を持つ，Family C に属するオーファン代謝型受容体（Prrt3）の機能の解析に取り組んでいる。機能に関する手がかりを得るために，Prrt3 遺伝子破壊（KO）マウスを作成した。しかし，KO ホモマウスは，1 週間以内に高率に死亡したため，KO ヘテロマウスを用いて網羅的行動解析を行い，空間記憶，恐怖条件付け記憶の長期保持が低下していることを明らかにした。次に，KO ホモマウスを用いた網羅的行動解析を行うために，条件的 KO のための Flox マウスの作成に取り組み，昨年度までに，Flox マウスを得，また，Emx1-Cre マウスと交配させて大脳において Prrt3 遺伝子を脱落させたヘテロマウスを得た。今年度，網羅的行動解析に向け，flox ホモかつ Emx1-Cre ヘテロマウス（大脳特異的 KO ホモマウス）と，同腹の flox ホモマウスを充分数確保することを目指して交配を継続したが，大脳特異的 KO ホモマウスの生存率がかなり低く，充分数の個体は得られていない。今後，薬剤投与により Cre 発現が誘導されるマウスとの交配も視野に入れて，実験を継続する。

オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた，脳内発現パターンの解析

山本友美，山本　泉，久保義弘
今野幸太郎，渡辺雅彦（北海道大学大学院医学研究科解剖学講座解剖発生分野）

オーファン代謝型受容体（Prrt3）の機能に関する手がかりを得るために，特異抗体を作成し，脳内発現パターン，神経細胞内局在に関する解析を進めている。これまでに，昨年度，マウス脳新鮮凍結標本を用いて脳内発現部位を解析し，視床，黒質，橋核，海馬等で，KO マウスで消失する特異的染色を観察した。

今年度，Prrt3 の発現細胞種を決定するために，各種マーカーを用いて，2 重 fluorescent in situ hybridization を行った。用いた細胞マーカーは，グルタミン酸作動性ニューロンマーカーVGluT1（海馬・大脳皮質），VGluT2（視床），抑制性インターニューロンマーカーGAD67，グリアマーカーGLAST である。その結果，Prrt3 mRNA はニューロン選択的に発現し，大脳皮質・海馬では VGluT1 陽性グルタミン作動性ニューロンと GAD67 陽性抑制性インターニューロンに，視床後腹側核では VGluT2 陽性グルタミン作動性ニューロンに発現すること，グリア細胞には発現していないことが明らかになった。

さらに，ニューロンにおける細胞内局在を明らかにするために Prrt3 と各種マーカータンパク質の特異抗体を用いて二重免疫染色を行った。用いたマーカー分子は，グルタミン酸作動性神経終末マーカーVGluT1（皮質由来終末）・VGluT2（脳幹由来終末），抑制性神経終末マーカーVIAAT，グリアマーカーGLAST である。その結果，視床・海馬において Prrt３は VGluT1 陽性グルタミン酸作動性神経終末部，あるいはその近傍に多く存在することが明らかになった。今後，免疫電子顕微鏡観察により，発現部位が，終末部の pre 側か post 側かを確定することを目指す。

オーファン代謝型受容体 Prrt3 結合蛋白同定と切断酵素同定に向けた研究

山本　泉，山本友美，久保義弘
横井紀彦，深田優子，深田正紀（生理学研究所細胞器官研究系生体膜研究部門）
中尾和貴（理化学研究所発生・再科学総合研究センター，東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター）
清成　寛（理化学研究所発生・再科学総合研究センター）
今野幸太郎，渡辺雅彦（北海道大学大学院医学研究科解剖学講座解剖発生分野）

オーファン代謝型グルタミン酸受容体 Prrt3 は，長い N 末端細胞外領域を有する 7 回膜貫通型の受容体である。(1) 我々は，脳に発現する Prrt3 タンパク質の特異抗体を用いた western blot 解析により，N 末端細胞外領域が根元付近で切断された，受容体が存在することを見出した。切断は，当初，細胞外に放出される protease，tPA, Neuropsin, Neurotrypsin 等によると推測したが，これらの遺伝子破壊マウスでも Prrt3 の切断は同様に観察された。今年度，細胞内でのタンパク質のプロセシングに関わる pro-protein convertase (PCs) によるものと推測し，遺伝子発現系を用いた実験を行ったところ，PC のひとつである Furin によって，Prrt3 が，少なくとも部分的に切断されることが確認された。なお，Furin の遺伝子破壊マウスは致死であるため，Furin 非存在マウスで，Prrt3 の切断が起きなくなるかどうかについては，解析できていない。(2) 我々は，Prrt3 の機能を知る手がかりを得るために，免疫共沈タンパク質の質量分析による解析を行った。その結果，たくさんの候補分子のリストが得られたが，非特異的ではないと判断できるものとして，グルタミン酸トランスポーター EAAT1, EAAT2，G 蛋白質 alpha i/o サブユニットが同定された。このことから，興奮性シナプス前終末に局在する Gi/o 共役型受容体であることが強く示唆された。

受容体－GIRK チャネル複合体形成に関する研究

立山充博，久保義弘

G 蛋白質依存性内向き整流カリウムチャネル（GIRK）は，主に，百日咳毒素（PTX）感受性 Gi/o 蛋白質を介して活性化される。これに対し，我々は，Gq 共役型受容体であるムスカリン性アセチルコリン受容体 1 型（M1R）とチャネルを 34 のアミノ酸残基で結合すると，Gq 蛋白質を介して GIRK が活性化されることを見出した。この作用は，チャネルと受容体をつなぐアミノ酸残基の数を増やすと消失した。これに対して，Gi/o 共役型の受容体である M2R はリンカーのサイズに関わらずチャネルを活性化した。さらに，蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）効率の計測から，M2R は受容体の近傍に存在することが明らかとなり，M2R はチャネルと複合体を形成すると考えられた。受容体のキメラ変異体を用いた実験から，複合体の形成には M2R の細胞内第 3 ループの中でも膜近傍の N 端と C 端のアミノ酸配列が重要であることを見出した。

G タンパク質共役型受容体による KCNK13 チャネルの機能修飾

立山充博，久保義弘
松原美紀（新潟大学医学部医学科）

2 ポアカリウムチャネルの一種である KCNK13 チャネルは，常時開口していることから背景電流を構成すると考えられている。我々は，小脳プルキンエ細胞において KCNK13 チャネル電流が代謝型 GABA 受容体の活性化により増加することを報告している。そこで，KCNK13 チャネルを HEK 細胞に発現させ，各種 G 蛋白質共役型授与体の作用を検討した。その結果，代謝型 GABA 受容体のみならず，代謝型グルタミン酸受容体 2 型やムスカリン性アセチルコリン受容体 2 型などの Gi/o 共役型受容体も KCNK13 チャネル電流増加作用を示すことが明らかとなった。これらの作用は，百日咳毒素により抑制されたことから，Gi/o 蛋白質を介すると考えられた。さらに，我々は，Gq 共役型受容体も KCNK13 チャネル電流増加作用を示すことを見出した。現在，KCNK13 チャネル電流を増加させるメカニズムを解明すべく研究を進めている。

QT 短縮を起こす変異が KCNQ1 チャネルのゲーティングに与える影響

中條浩一，久保義弘

心臓の電位依存性カリウムチャネルである KCNQ1 は，その修飾サブユニット KCNE1 とともに心臓の IKs 電流を担う。どちらの遺伝子の変異も心臓の不整脈の一種である QT 延長症候群を引き起こすことから，心臓の興奮性に重要な役割を果たしていると考えられている。そして非常にまれではあるが，KCNQ1 チャネルの機能を亢進する変異により，心房細動や QT 短縮症候群などの興奮性異常を引き起こすことも知られている。これらの機能亢進変異が，KCNQ1 の主に電位センサーに隣接する細胞外側に局在していることに注目し，電位センサーの動きとゲーティングにどのような影響を与えているのかについて，アフリカツメガエル卵母細胞を用いた二本刺し膜電位固定法と，Voltage clamp fluorometry 法により検討した。S1 セグメント上の S140G と S5 セグメント上の I274V に関しては，KCNE1 が存在しているときにのみ電位センサーが up state に安定化されることがわかった。一方で S140G の隣のアミノ酸である V141M に関しては，KCNE1 の存在の有り無しに関わらず，常に電位

センサーが up state に安定化されていることが明らかとなった。以上の結果は，これらの変異が興奮性異常を引き起こすメカニズムについて新たな知見を与えるとともに，KCNE1 が構造上どのような位置で KCNQ1 と相互作用しているかについても，重要な示唆を与えている。

全反射赤外分光法によるカリウムチャネル機能の解析

中條浩一，久保義弘
塚本寿夫，古谷祐詞（分子科学研究所）

赤外分光法はタンパク質のイオン結合状態を赤外差スペクトルの取得により解析する非常に鋭敏な方法で，ロドプシンを中心とした構造機能連関研究に大きな成果を上げてきている。この方法をイオンチャネル，特に哺乳類のイオンチャネルに適用し，イオンの透過機構や分子間相互作用などを明らかにすることを目指している。これまで KCNK1 とよばれる two-pore タイプのカリウムチャネルについて，全反射赤外分光法による解析を行ってきた。KCNK1 はカリウムチャネルでありながら，pH などの条件によってナトリウムイオンも通すことができる “緩い” 選択性フィルターを持つ。野生型とナトリウムを良く通す変異体（T118I）を比較することで，“緩い” 選択性フィルターがどのような構造的基盤あるいは分子相互作用によってもたらされるのかを赤外分光法によって解析，検討した。すでに発表済みのカリウムイオンに高い選択性を示す KcsA チャネルと比較すると，KCNK1 の特徴である “緩い” 選択性が，選択性フィルターとイオンとの結合様式の違いによるものであることを示唆するデータを得た。

ATP 受容体チャネル P2X2 の膜電位と ATP に依存する構造変化の光学的手法による検出

Rizki Tsari Andriani，Batu Keceli，久保義弘

ATP 受容体チャネル P2X2 は，膜電位依存性チャネルにみられる典型的な膜電位センサードメインが存在しないにも関わらず，膜電位依存的ゲーティングを示すことを，我々は示してきた。また，膜電位と ATP に依存する P2X2 の構造の変化を，点変異により導入した Cys 残基の Cys 修飾剤による修飾の速度の状況に依存する違いとして捉える実験を行い，膜電位と ATP 結合の有無に依存して，導入した Cys の修飾速度が変わること，すなわち，構造変化が確かに起きていることを明らかにした。

この手法では，Cys 修飾剤がアクセスしにくい膜貫通部位等の構造変化を解析することは困難である。また，Cys 残基に蛍光物質をラベルして，蛍光強度の変化として構造変化を捉える手法でも，ラベルがアクセスできない部位の情報は得られない。これらの問題を克服して構造変化の詳細に踏み込むために，今年度，コード領域中の任意の箇所を終止コドンに変異させ，ツメガエル卵母細胞に改変 tRNA と共発現させることにより，非天然蛍光アミノ酸を導入する実験を開始した。作成した変異体から，P2X2 チャネル電流が電気生理学的に記録され，また，卵母細胞表面に蛍光発現が観察されたことから，デザイン通りに，終止コドンの箇所に非天然蛍光アミノ酸を取り込んだ P2X2 タンパク質が細胞膜に発現し機能していることが確認された。今後，P2X2 の膜貫通部位を含む様々な個所に非天然蛍光アミノ酸を取り込ませ，膜電位変化，ATP の有無に伴う蛍光強度変化を網羅的に解析し，構造変化の詳細に迫る計画である。

相対発現量に依存した Kv4.2/DPP10 複合体のストイキオメトリーと性質の変化

北沢和寛，中條浩一，久保義弘

電位依存性 K^+チャネルの一つ Kv4.2 は，神経細胞の樹状突起等において興奮性を調節している。Kv4.2 はいく種類かの修飾タンパク質によって機能修飾を受けることが知られているが，そのうちのひとつ，一回膜貫通型の膜タンパク質 DPP10 について，Kv4.2 との相対発現量に依存した機能修飾量変化とストイキオメトリーについて検討した。さまざまな濃度の DPP10 の cRNA を Kv4.2 の cRNA とともにアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させたところ，主に電流量と不活性化からの回復速度が，DPP10 の cRNA 量に依存して変化した。この結果から，Kv4.2-DPP10 複合体のストイキオメトリーも相対発現量に依存して変化すると予想し，一分子イメージングによるサブユニットカウンティング法を適用することで解析，検討した。まず DPP に mEGFP をつないだコンストラクト mEGFP-DPP10 を作成し，DPP10 単独で発現させたときのストイキオメトリーを検討したところ, およそ 70%の DPP10 が細胞膜上で二量体として存在していた。これは細胞外ドメインが二量体構造をとりやすいことに由来していると考えられた。次に Kv4.2 と共発現させたところ, 最大 4 分子の DPP10 が結合できることがわかったが，特に DPP10 が 2 分子結合した状態，すなわち 4:2 のストイキオメトリーを取りやすいことがわかった。DPP10 が単独で二量体構造をとりやすいことが，ストイキオメトリー分布の偏りに影響を与えていることが示唆された。

hERG チャネルの脱活性化機構における S4-S5 リンカー-C リンカー間相互作用の研究

粂慎一郎，中條浩一，久保義弘

電位作動性 K^+チャネル（Kv）ファミリーに属する hERG チャネルは，ファミリー内の他のチャネルと比較して脱活性化が遅く，複数の細胞内ドメイン間相互作用がこれを制御することが示唆されている。これまでに，電位センサードメイン-ポア形成ドメイン間を繋ぐ S4-S5 リンカーへの変異によって遅い脱活性化が速くなることが知られている。また，この領域は他の細胞内ドメインと相互作用することが示唆されているが，未だ制御機構の解明には至っていない。今回, 我々は S4-S5 リンカーと相互作用している新しい領域の候補の 1 つとして，C 末端側細胞内領域に存在する C リンカーについての研究を行った。S4-S5 リンカーおよび C リンカーには，それぞれ負電荷アミノ酸であるグルタミン酸が存在するが，このいずれか片方のみを正電荷アミノ酸であるリシンに置換した際，脱活性化は著しく速くなる。しかし，両領域の各グルタミン酸を同時にリシンに置換した場合，ふたたび脱活性化が遅くなることが分かった。この結果から，遅い脱活性化の制御機構には，S4-S5 リンカーと C リンカーの間の相互作用が影響している可能性が示唆された。

分子神経生理研究部門

【概要】

分子神経生理部門では以下に示す３つのテーマに関して研究している。

1）グリア細胞の機能とその病態解明。

2）哺乳類神経系の発生・分化。

3）脳神経機能発現における糖鎖の役割。

1）グリア細胞は神経回路同様にネットワークを作っ

ているが,その情報伝達様式は神経伝達と全く異なっており，しかも神経回路とは独立している。このネットワークがどのように脳機能を制御しているのか研究する。

2）神経幹細胞からどのようにして全く機能の異なる細胞種（神経細胞，アストロサイト，オリゴデンドロサイトなど）が分化してくるのか，について研究を進めている。特に，プロテオグリカンがモルフォゲンの分布を制御することにより神経発生を調節している可能性について検討している。

3）糖蛋白質糖鎖解析法を開発し極めて微量な試料からの構造解析が可能となった。脳神経系において，新しい糖鎖構造を発見し，その生理学的意義について検討している。

オリゴデンドロサイトの機能と病態

清水健史，長内康幸，國澤和生，Wilaiwan Wisessmith，李　佳益，池中一裕

オリゴデンドロサイト（以下 OL）は，ミエリン形成後もニューロンの活動電位の伝導速度を調節していることが明らかとなり，また一つの OL は複数の軸索に対してミエリンを形成することから，OL がニューロン間の情報伝達を仲介し,ひいては脳高次機能の発現に寄与している可能性が考えられる。この課題に取り組むため，OL-ニューロン間相互作用の分子機構の解析と，それら相互作用をマウス生体内で可視化する新しい技術の開発を行った。その結果 OL は，ニューロンのサブタイプに依存して軸索を選別している可能性が示唆された。また OL-ニューロン間相互作用に破綻をきたすノックアウトマウスを用いて，ミエリン依存的なニューロン遺伝子の発現変動を解析し，同定した候補遺伝子の機能解析を行っている。さらに脱髄性疾患の病態解明に取り組むため，我々は髄鞘巣のミクログリア，および好中球で特異的に発現するシスタチン F とカテプシン C を同定し，それら遺伝子発現を人為的に操作できる遺伝子改変マウスを作製し，脱髄性疾患への作用を明らかにしつつある。それと並行して，脱髄誘導時にミクログリア依存的に活性化される Wnt シグナルの機能解析も行っている。

アストロサイトの機能と病態

稲村直子，杉尾翔太，菊地原沙織，池中一裕

近年，神経伝達物資がアストロサイトから放出され，シナプス伝達を調節することが提唱されているが，そのメカニズムについては不明な点が多い。我々は，名古屋大学曽我部正博教授のグループ，国立医薬品食品衛生研究所関野祐子部長との共同研究により，ルシフェリン発光を利用して，培養アストロサイトまたは海馬スライスをグルタミン酸で刺激することにより多量の ATP 放出が見られることを観察した。薬理学的実験から，この爆発的な ATP 放出には複数のチャネルが協調的に関わっていること，そして興味深いことに開口放出が関与していないことを明らかにした。

近年，ヒトにおいてアストロサイト異常に起因して発症する白質脳症が複数報告されてきており，アストロサイトが脳白質の形成・維持に関与することが指摘されている。そこで我々はアストロサイトの病態と白質脳症の関連を明らかにしようと考えた。当該白質脳症の一つである MLC 病に着目し，その原因遺伝子である Mlc1 の遺伝子改変マウスを慶應義塾大学田中謙二准教授との共同研究により作成して，アストロサイトと白質脳症の病態との関連について解析を行なった。Mlc1 遺伝子改変マウスでは，生後１週から２週目にかけて白質脳症を発症すること，白質脳症がアストロサイトの膨化を起点として生じることを明らかにした。加えて，新たな Mlc1 遺伝子改変マウスの表現型として小脳形成不全を見出した。野生型マウスの小脳において Mlc1 の発現を解析したところ，アストロサイトの一種であるバーグマングリ

アに強い発現が認められ，その細胞内局在が小脳発生に伴って変化することを明らかにした。さらに Mlc1 遺伝子改変マウスでは，小脳プルキンエ細胞−登上線維間シナプスの除去と移行が抑制されていることがわかった。この結果より，バーグマングリアに発現する Mlc1 が小脳回路形成・精緻化に関与することが示唆された。

脊髄神経発生における硫酸化プロテオグリカンの役割

橋本弘和，江　文，吉村　武，池中一裕

胎生期の脊髄では Wnt，BMP や Shh といったモルフォゲンが分泌される。これら分泌性因子は濃度勾配を形成し，その濃度に応じて様々な細胞応答を引き起こすことが知られている。しかしながら，モルフォゲンの濃度勾配形成機構についてはいまだ不明な点が多い。

本研究室では新しいモルフォゲンの濃度勾配形成機構として硫酸化糖鎖による制御について提唱している。これまでにコンドロイチン硫酸，ヘパラン硫酸，ケラタン硫酸といった糖鎖に着目し，細胞の分化異常や Shh シグナリングの異常を明らかにしている。本年度は Shh シグナリング変異マウスを用い胎生期脊髄の発生への影響や硫酸化糖鎖の分布を解析した。Shh シグナリング変異マウス（Bromi マウス）において Shh の分泌源となる底板が消失しており，Shh シグナリングレポーター遺伝子の発現についても確認したところ Patched1 のシグナルは残っていたが Gli1 の発現は消失していた。分化に関しては胎生 12.5 日 Bromi マウスにおいてオリゴデンドロサイト前駆細胞の産生が著しく遅れており，代わりに運動神経細胞の産生が増加していた。また，ヘパラン硫酸脱硫酸化酵素の発現パターンにも変化を与えていることが明らかとなった。この表現系はこれまでに解析を行った糖転移酵素欠損マウスのものと類似している。以上のことから硫酸化糖鎖−Shh の相互作用が腹側脊髄の発生に関与していることが考えられる。

N結合型糖鎖の構造決定と機能解析

吉村　武，半田（鳴海）麻衣，加納雄一郎，池中一裕

糖鎖を有する分子は細胞表面や細胞外に存在し，細胞間相互作用やシグナル伝達に深く関わる。これまでに我々は糖鎖解析手法を改良し，脳内に発現しているN結合型糖鎖構造および糖鎖生合成過程に関わる遺伝子発現を網羅的に解析してきた。本年度は，マウス脳内のN結合型糖鎖のシアル酸結合様式の詳細な解析を行い，脳発達期において新規シアル酸化糖鎖構造[Gal β (1-3) {NeuAc α (2-6)}GlcNAc-]の発現レベルが上昇することを見出した（Torii*, Yoshimura*, et al., Glycoconj J, 2014; *, equal contribution）。また，この新規シアル酸構造が特定の蛋白質に結合していることを見出した。解析手法をさらに改良し，髄鞘の酸性糖鎖を網羅的に解析した結果，中枢神経系と比べて末梢神経系の髄鞘に硫酸化N結合型糖鎖が豊富に存在することを見出した。硫酸化N結合型糖鎖の詳細な構造解析や mRNA 発現量などから，硫酸化糖鎖の合成に関わる硫酸転移酵素を突き止めた。硫酸転移酵素ノックアウトマウスの座骨神経において，髄鞘構造の異常や軸索変性が観察された。

細胞器官研究系

生体膜研究部門

【概要】

本研究部門では，脳高次機能の基本機能単位であるシナプス伝達を制御する中心的分子機構，さらには脳病態におけるその破綻機構について明らかにすることを目指している。具体的には，記憶や学習の分子基盤をなすと考えられている AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の制御機構に着目している。我々はこれまでに，特異性と定量性を重視した生化学的手法に基づいて，２種類の AMPA 受容体制御分子（パルミトイル化脂質修飾酵素 DHHC と，てんかん関連リガンド・受容体である LGI1・ADAM22）を独自に発見した。さらに，パルミトイル化酵素ライブラリースクリーニング法やパルミトイル化蛋白質の可視化プローブなど新しい実験手法を開発し，超解像顕微鏡イメージング，マウス遺伝学，電気生理学などを組み合わせて，これら AMPA 受容体制御分子の生理機能と脳病態（てんかんや自己免疫性脳炎）における機能破綻のメカニズムの一端を先導的に明らかにしてきた。現在，これら AMPA 受容体制御分子がいかにしてシナプス伝達の可塑的側面，さらにはマウス・ヒトの記憶，学習，認知機能を制御するのかを明らかにするため研究を展開している。

てんかん関連リガンド LGI1 の分子病態機構の解明

横井紀彦，加勢大輔（神経シグナル研究部門），大川都史香
井本敬二（神経シグナル研究部門），深田正紀，深田優子

当部門ではこれまでに，家族性側頭葉てんかんの原因遺伝子として考えられている LGI1 が ADAM22 を介して AMPA 受容体を制御することを独自に見出し，その分子機構の解明を進めている。今回，LGI1 の生理的意義を明らかにするために，家族性てんかん患者における LGI1 変異の解析を行い，その分子病態の解明を試みた。まず，報告されているすべての LGI1 ミスセンス変異を分泌型変異と分泌不全型変異に分類し，それぞれの型の LGI1 変異蛋白質を発現するてんかんモデルマウスを作製した。そして，このモデルマウス脳に発現する LGI1 変異蛋白質が構造異常を起こし，ADAM22 と結合不全となることが本てんかんの分子病態であることを明らかにした。さらに，ケミカルシャペロン（シャペロン活性を持つ低分子化合物）による LGI1 変異蛋白質の構造異常の修復が，てんかん治療に有効である可能性を見いだした。以上より，LGI1-ADAM22 結合が正常な脳機能，すなわち安定な脳興奮状態の維持に必須であることが示された。

Yokoi N et al (2015) Nat Med. 21:19-26.

自己免疫性辺縁系脳炎における新規抗原の同定

大川都史香，佐竹伸一郎（神経シグナル研究部門）
横井紀彦，渡邊　修（鹿児島大学），深田優子，深田正紀

ごく最近，亜急性の記憶障害やけいれん症状を主訴とする自己免疫性辺縁系脳炎の患者血清の多くに LGI1 に対する自己抗体が存在することが報告された。我々は鹿児島大学医学部の渡邊修博士との共同研究により，日本

国内の辺縁系脳炎の多くの患者血清中に抗 LGI1 抗体が存在することを報告した。一方，新規自己抗体の標的分子の同定も同時に試み，新たに 7 種類の自己抗体を発見した。今回は，抑制性シナプス伝達の中核を担う $GABA_A$ 受容体に対する自己抗体を世界に先駆けて同定した。さらに，抗 $GABA_A$ 受容体抗体の作用機序を細胞生物学，電気生理学的手法により明らかにし，抗 $GABA_A$ 受容体抗体が $GABA_A$ 受容体の機能を阻害することがけいれん症状を主訴とする病態機構であることを明らかにした。本研究は，自己免疫性辺縁系脳炎の診断や治療方針の決定に重要な知見と考えられる。

Ohkawa T et al (2014) J. Neusosci. 34:8151-8163.

PSD-95 パルミトイル化サイクルによるシナプス機能制御

深田優子，横井紀彦，関谷敦志，村上達郎，深田正紀

AMPA 受容体は外部からの刺激に応じて，シナプス後肥厚部（PSD）に輸送され，その PSD における AMPA 受容体の数の変化がシナプス可塑性に重要と考えられている。PSD-95 は PSD における主要な足場蛋白質で，附属サブユニットを介して，AMPA 受容体と結合する。我々はこれまでに, PSD-95 パルミトイル化酵素を同定し，PSD-95 のパルミトイル化レベルが外部刺激によってダイナミックに変化し，AMPA 受容体の局在を制御することを見出した。今回，我々は PSD-95 の脱パルミトイル酵素を同定するため，セリン加水分解酵素に着目し，PSD-95 に対し, 脱パルミトイル化活性を示す候補遺伝子を複数単離した。現在，これら酵素の機能欠損時の表現型を評価し，その生理的意義を明らかにしつつある。このようにして, PSD-95 のパルミトイル化サイクルの全容を明らかにし，AMPA 受容体を介したシナプス伝達の制御機構の一端を解明しようとしている。

脱パルミトイル化酵素ファミリーの探索と性状解析

村上達郎，関谷敦志，横井紀彦，深田優子，深田正紀

蛋白質パルミトイル化の修飾サイクルは DHHC ファミリーと脱パルミトイル化酵素群により制御されるが，脱パルミトイル化酵素の全容に関しては未だ議論されており，統一的な見解には至っていない。我々は脱パルミトイル酵素が酵素学的にセリン加水分解酵素に属することに着目し，機能未知のセリン加水分解酵素群を網羅的に単離し，過剰発現系を用いて様々なパルミトイル化基質蛋白質に対する活性（効果）を評価した。その結果，約 10 種類の蛋白質が脱パルミトイル化活性を示すことを見出した。現在，これら酵素の基質特異性やその生理的意義を解析している。

神経細胞構築研究部門

【概要】

本研究部門では神経細胞の極性や微小領域特性確立を支配する分子基盤解明を目指して研究を進めている。独自に開発した質量顕微鏡法を駆使して，極性決定や微小領域確立に寄与する物質，とりわけ脂質や脂質代謝物の特異的局在情報の蓄積を進めている。集められた膨大なデータを元に統計学的手法やバイオインフォマティクスを融合させ，これまでにない新しい視点から神経細胞の極性決定，微小領域確立に関与する分子基盤解明に挑戦している。加えて，極性決定や微小領域確立における細胞骨格の寄与にも注目し，アクチン繊維や微小管に

よる脂質局在の制御などを新しいテーマとして研究に取り組みだしている。また，傷害や変性疾患における神経細胞構築の破綻についても，脂質や代謝物に着目し，その分子基盤解明に向けた研究を展開している。

神経変性におけるリン脂質組成の質量顕微鏡解析

有馬秀幸（浜松医大），由木　大（ライオン），瀬藤光利

アルツハイマー病（AD）患者死後脳を質量顕微鏡で観察し，患者の疾患レベルと脂質組成の相関を解析した。AD 脳では，ドコサヘキサエン酸（DHA）を含有するホスファチジルコリン（PC）が灰白質において選択的に減少していた。さらに，DHA 含有 PC の減少率は AD 発症からの経過年数に非常に強く相関した。また，DHA 含有 PC の減少は後シナプスの減少を伴っていた。一方で，前シナプスの変化は伴わなかった。興味深いことに，DHA 含有 PC の減少は，Aβ の蓄積や神経細胞の脱落とは相関しなかった。これらの結果は， DHA 含有 PC の減少が，前シナプスの脱落と神経細胞の脱落の間に，後シナプスの脱落と同時に起こることを示している。本発見は，AD 脳における分子および細胞レベルの病態進行に新しい洞察を与えた（文献 1）。

インターロイキン 6 受容体をブロックする分子標的抗体薬 MR16-1 の脊髄損傷に対する作用機序探索を目指し，脊髄損傷マウスモデルに対し MR16-1 を投与し，質量顕微鏡で解析した。溶媒を投与した対照群では，損傷部位において DHA 含有 PC が顕著に減少した。MR16-1 を投与した個体では，損傷部位における DHA 含有 PC の減少が有意に抑制された。さらに，MR16-1 により DHA 含有 PC の減少が抑制された部位では，GFAP 陽性アストロサイトの集積が見られた。これらの結果より，MR16-1 の作用として，損傷部位において DHA 含有 PC を豊富に含むアストロサイトの増殖を高めることが示唆された。（文献 2）。

1. Yuki et al. Sci Rep (2014) 4: 7130.
2. Arima et al. Neuroscience (2014) 269: 1-10.

細胞生理研究部門

【概要】

細胞は，それを取り巻く環境の大きな変化の中で，その環境情報を他のシグナルに変換し，細胞質・核や周囲の細胞に伝達することによって環境変化にダイナミックに対応しながら生存応答を行っている。細胞が存在する臓器・組織によって細胞が受け取る環境情報は異なり，従って細胞が持っている環境情報を受信する機能も異なる。それらセンサー蛋白質は環境の変化に応じてダイナミックに感受性や発現等を変化させてセンシング機構の変化からよりよい生存応答を導く機能を有している。これらのセンサー蛋白質は種々の化学的，物理的情報を受容し，センサー間の相互作用を行い，多くは最終的に核への情報統合を行う。そして，それは細胞の，組織の，さらには個体の環境適応をもたらす。したがって，これらの細胞環境情報センサーの分子システム連関を解明していくことは，個体適応の理解のための基本単位である「細胞の生存応答」を解明するうえで極めて重要である。この細胞外環境情報を感知するイオンチャネル型のセンサー蛋白質の構造機能解析，活性化制御機構の解析を通して細胞感覚の分子メカニズムの解明を目指している。特に，侵害刺激，温度刺激，機械刺激の受容機構について TRP チャネルに焦点をあてて解析を進めている。また，センサーは進化の過程で環境変化に応じてその機能や発現を変化させて適応してきたと考えられ，センサー蛋白質の進化解析によっていかに生物が環境変化に適応してきたかも解析している。

モノテルペン化合物によるヒト TRPA1 阻害とその構造基盤

高石雅之，藤田郁尚，内田邦敏，富永真琴

ヒト TRPA1 の阻害剤は有望な鎮痛薬候補となることから，Ca^{2+}イメージング法を用いて天然由来物質でヒト TRPA1 阻害物質をスクリーニングして（いずれも 1 mM），borneol, 2-methylisoborneol, fenchyl alcohol を同定した。HEK293 細胞にヒト TRPA1 を発現させてパッチクランプ法を用いて解析し, 1 mM の borneol, 2-methylisoborneol, fenchyl alcohol はヒト TRPA1 活性化能をもたず，また，1 mM menthol, 100 μM flufenamic acid あるいは 20 μM AITC (allyl isothiocyanate)によって活性化されたヒト TRPA1 電流を完全に抑制することを見いだした。20 μM AITC による活性化電流の抑制に関する濃度依存性を検討したところ，borneol, 2-methylisoborneol, fenchyl alcohol による抑制の IC_{50} 値はそれぞれ 0.20 mM, 0.12 mM, 0.32 mM で既知の TRPA1 阻害剤である camphor (1.3 mM), 1,8-cineole (3.4 mM)より小さい値であった。また，点変異体を用いた解析により，ヒト TRPA1 の S873, T874, Y812 がその抑制に関与することが明らかになり，それら阻害剤の六員環構造の水酸基がヒト TRPA1 のアミノ酸に結合して阻害活性が生じる可能性が示唆された。

TRP チャネルと膀胱機能

水野秀紀，鈴木喜郎，渡邊成樹，富永真琴

マウス膀胱癌における温度感受性 TRP チャネルの意義を明らかにする目的で，C3H/He マウスの膀胱から調整した上皮細胞と C3H/He マウスに発癌物質 MBT-2 を投与して作成した膀胱癌から調整した上皮細胞で温度感受性 TRP チャネル遺伝子の発現を比較検討し，TRPV2, TRPM7 遺伝子の発現が癌細胞で増大し，TRPV4 遺伝子発現量が逆に減弱していることが分かった。TRPV2 の発現増大, TRPV4 の発現現象は特異的抗体を用いた免疫蛍光染色法でも確認された。膀胱癌細胞での TRPV2 の機能増強（刺激物質 2-APB, LPC）と TRPV4 の機能減弱（刺激物質 GSK1016790A）は Ca^{2+}イメージング法でも確認した。ヒト膀胱癌由来細胞 T24 細胞でも TRPV2, TRPV4, TRPM7 の遺伝子発現, TRPV2, TRPV4 の蛋白質発現を確認し，TRPV2 の機能が大きいこと，TRPV4 の機能が小さいことを観察した。さらに，マウス膀胱癌細胞 MBT-2 細胞の増殖が TRPV2 の dominant negative 体の共発現で増大し，TRPV2 刺激物質（LPC, 2-APB）で減弱するのを観察した。膀胱癌における TRPV2 発現増大は癌細胞の増殖抑制に働いている可能性が考えられた。

脳脈絡叢に発現する TRPV4 とアノクタミン１の機能連関

高山靖規，鈴木喜郎，内田邦敏，富永真琴

マウス脳における温度感受性 TRPV チャネル遺伝子および蛋白質の発現を解析して, TRPV4 が脈絡叢に強く発現することが分かった。この脳脈絡叢における TRPV4 の発現は BAC transgenic mice を作成して確認された。また，NaK/ATPase との共発現解析によって，TRPV4 がマウス脈絡叢のアピカル膜に発現することも明らかになった。マウス脈絡叢では TRPV4 を介して Ca^{2+}が流入し，その Ca^{2+}が Ca^{2+}活性化クロライドチャネルを活性化するのではないかと考えた。まず，単離マウス脳脈絡叢上皮細胞での Ca^{2+}活性化クロライドチャネルの機能的発現と Ca^{2+}活性化クロライドチャネルの１つアノクタミン１（ANO1）蛋白質の発現を確認した。次に HEK293 細

胞に TRPV4 と ANO1 を共発現させてクロライド電流を観察したところ, TRPV4 刺激物質 GSK1016790A（GSK）による細胞外 Ca^{2+}依存的なクロライド電流の活性化が観察された。HEK293 細胞での TRPV4 と ANO1 の物理的結合も生化学的実験で確認された。単離脈絡叢上皮細胞でも GSK による細胞外 Ca^{2+}依存的なクロライド電流の活性化と物理的結合が観察された。単離脈絡叢上皮細胞における 37 度下での低浸透圧によるクロライド電流の TRPV4 依存的な活性化も観察された。最後に，HEK293 細胞に TRPV4 と ANO1 を共発現させて, 陰性電位で GSK 依存的な細胞容積の減少を観察した。よって，単離脈絡叢上皮細胞では, TRPV4 の活性化を介して流下した Ca^{2+}が Ca^{2+}活性化クロライドチャネル ANO1 を活性化させてクロライド流出を引き起こし，それが駆動力となって水流出がもたらされているものと推定された。これは，脈絡叢からの脳脊髄液排出の分子メカニズムの一つと考えられた。

プロポフォールによるヒト TRPA1 チャネルの活性化

西本れい，加塩麻紀子，富永真琴

静脈麻酔薬 propofol は投与時に血管痛を惹起することが知られている。そこで, propofol による TRPA1, TRPV1 活性化を HEK293 細胞を用いてパッチクランプ法によって解析し，propofol はヒト TRPV1 を活性化しない（マウス TRPV1 は活性化する）が，ヒト TRPA1 を強く活性化する（マウス TRPA1 と比較して）ことが明らかになった。次に，マウス感覚神経細胞に Ca^{2+}イメージング法を適用して解析した。propofol による細胞内 Ca^{2+}濃度上昇は細胞外 Ca^{2+}依存的で，応答細胞の多くは TRPV1, TRPA1 刺激にも応答したが，TRPV1/TRPA1 double knockout マウスの感覚神経細胞でも観察されたことから, TRPV1, TRPA1 以外の関与も推測された。TRPV1/TRPA1 double knockout マウスの感覚神経細胞において, propofol による細胞内 Ca^{2+}上昇は $GABA_A$ 受容体阻害剤でかなり抑制され，T-type, L-type Ca^{2+}チャネル阻害剤によっても抑制された。TRPV1/TRPA1 double knockout マウスの感覚神経細胞を用いたパッチクランプ法による解析で, GABA, propofol とも陰性電位で内向き電流を活性化させ, propofol による活動電位発生が $GABA_A$ 阻害薬で消失した。感覚神経細胞内クロライド濃度は高く，クロライドチャネルの活性化はクロライド流出から脱分極をもたらす。よって，propofol は TRPA1, TRPV1 に作用するのみならず，$GABA_A$ 受容体に作用することによって脱分極をもたらし，その結果，電位作動性 Na+チャネル，電位作動性 Ca^{2+}チャネルを活性化して活動電位を発生させて痛みを惹起しているものと推定された。

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門

【概要】

感覚認知情報部門は視知覚および視覚認知の神経機構を研究対象としている。我々の視覚神経系は階層的に構築された複雑な並列分散システムである。そこでは低次領域で検出された比較的単純な特徴が高次領野で統合されて，生体にとって意味のある情報が取り出されて行動に利用される精巧な仕組みがあると考えられる。また視覚系で取り出された情報は，体性感覚や聴覚など他の感覚情報と統合されて外界の事物についての多感覚間で整合性のある理解が生み出される仕組みがあると考えらえる。視知覚に関するこれらの問題を解明するために，大脳皮質を中心とするニューロンの刺激選択性と特定の視覚情報の脳内分布様式および行動との関係を調べている。具体的な課題として（１）物体表面質感の重要な要素である光沢の表現，（２）素材識別のメカニズムに関するいくつかの研究，および（３）色情報処理メカニズムの研究を行った。

下側頭葉皮質における光沢選択性ニューロンの解剖学的結合

西尾亜希子，郷田直一，小松英彦，一戸紀孝（国立精神神経医療研究センター）

特定の光沢に選択性を持つ細胞は下側頭皮質上側頭溝下壁において 2-3mm の領域に限局して存在していた。そこで，光沢選択性細胞がどのような領域から入力を受けているのかを解剖学的に調べるため，この領野に逆行性のトレーサーを注入した。その結果，上側頭溝内の多くの細胞がラベルされたが，その他にも後中側頭溝の前端背側部付近や，後頭側頭溝の腹側部付近においてラベルされた細胞のクラスターが見られた。この後中側頭溝の前端背側部付近，後頭側頭溝の腹側部付近といった領域は，fMRI を用いた先行研究で，光沢の強い視覚刺激によって賦活した領域と良く一致している。これらの結果は，下側頭皮質上側頭溝下壁，後中側頭溝前端背側部付近，後頭側頭溝腹側部付近がネットワークを形成し，光沢情報の脳内処理を担っている可能性が高いことを示唆している。

サル視覚領野の物体素材情報表現に視触覚経験が与える影響：fMRI 研究

郷田直一，横井　功，小松英彦 ，橘　篤導（獨協医科大学），南本敬史（放射線医学総合研究所）

本研究では，サルを対象とした fMRI 実験により，金属，石材，木材などの素材に関する視覚情報が脳においてどのように処理されるかについて研究を行ってきた。前年度までに，サル V4 及び後部下側頭皮質（PIT）の活動が素材の多感覚的印象を反映していることを明らかにし (Goda et al., 2014)，さらに，これらサル脳領域の素材情報表現がどのように形成されるのかを明らかにするため，様々な素材の視触覚経験が脳の情報表現に与える影響を調べる新たな fMRI 実験を進めてきた。数ヶ月にわたり，サルに９種の素材で作られた棒状の実物体を掴む視触覚経験課題を課し，この視触覚経験課題の前後において，サルがそれら９種の素材を観察しているときの脳活動を計測した。マルチボクセルパターン解析法を用いて，脳の情報表現を調べたところ，PIT の活動パターンが視触覚経験によって大きく変化していることが明らかとなった。視触覚経験後においては，PIT の情報表

現は，素材の触覚的特性（硬さ，重さなど）の類似度を良く反映していた。すなわち，触覚入力を直接受けないサル高次視覚野の情報表現は，長期的な視触覚経験によって触覚特性を反映するように変化すると考えられる。

マカクサルＶ２ニューロンの自然テクスチャ選択性を説明する画像統計量

岡澤剛起，小松英彦

脳がどのように画像特徴を抽出することでテクスチャ知覚を行っているかについて明らかにするために，我々はこれまでに Portilla と Simoncelli（2000）の開発した自然テクスチャ統計量に基づく画像刺激を作成して，サルの V4 野ニューロンの記録を行い，この部位のテクスチャ選択ニューロンの活動がこれらの統計量の組み合わせである程度説明できることを示してきた。今年度は，同様の刺激を用いて注視課題を行っているサルの V2 野から記録を行いテクスチャ選択性を解析した。その結果，V2 野ニューロンの活動は V4 野と多くの点で類似しており，Portilla と Simoncelli の統計量の組み合わせで説明できることがわかった。ただし V4 野のニューロンに比べ単純なスペクトル統計量に反応するニューロンが多かった。この結果は，V2 野でテクスチャ高次統計量の計算が始まるという考えを支持する結果であると考えられる。

素材画像に対する下側頭葉皮質ニューロンの反応

横井　功，小松英彦

世の中に存在する物体は様々な素材によって構成されている。我々は対象がどのような素材によって構成されているのかを見ることだけで容易に判断することが出来る。これまでに下側頭葉皮質が素材知覚に関与していることが機能的 MRI の研究によって示されているが，個々のニューロンがどのように素材を表現しているかは明らかでない。９種類の素材カテゴリー（金属，ガラス，陶器，石材，樹皮，木目，皮革，布，毛）からなる素材画像セット（合計３６画像：９カテゴリー×各４サンプル）を注視課題遂行中のサルに視覚刺激として呈示し，単一細胞外電位記録を用いてサルの下側頭葉皮質のニューロンの反応を記録した。素材刺激に選択的な応答を示したニューロンのうち，多くのニューロンは同じカテゴリーに属する複数の刺激に対して強く反応する傾向があり，素材カテゴリーに対してある程度選択的な反応を示した。さらに個々のニューロンのカテゴリー選択性は複数種の素材カテゴリーに広がる傾向を示した。一方，数種類の素材画像に対してのみ強く反応し，鋭い選択性を示したニューロンも少数みられた。この結果は下側頭葉皮質のニューロンが素材知覚の基となる神経表現に関与している可能性を示唆する。

実物と画像の素材刺激を用いたサルの行動実験

横井　功，郷田直一，小松英彦

ヒトの素材知覚の神経メカニズムを明らかにする上でサルは有用なモデル動物である。サルがどのように素材を知覚しているかの手掛かりを得るために，実物素材刺激と画像素材刺激を用いてサルの行動実験を行った。

実物素材刺激を用いた実験では，９種類の素材カテゴリー（金属，ガラス，陶器，石材，木目，樹皮，皮革，布，毛）からなる実物素材刺激セット（合計３６個：９カテゴリー×各４サンプル）を，サルの前面に設置した実物素材提示装置を用いて呈示した。サルは実物素材を一定期間把持することで報酬を得る。サルの行動は素材のカテゴリーに依存し，簡単に触る素材（金属，ガラス，木目）と，触ることを避ける素材（毛）が存在することが明らかになった。実物素材を用いた実験が終了した後，画像素材刺激を用いた実験を行った。実物素材刺激を写真撮影して画像素材刺激セットを作成し，タッチパネルを装着したディスプレイ上に呈示した。サルは素材画像を一定期間タッチすることで報酬を得る。実物素材を用いた実験の結果とは異なり，素材間での成功率の差はほとんど見られなかった。これらの結果は，素材に対するサルの行動には過去に素材に触れた経験と，生物学的な重要性が反映されていることを示唆する。実物素材を用いたときにだけ明らかな行動の差が見られたことは，実物素材を実験に用いることの有用性を示している。

サル外側膝状体ニューロンの色選択性応答に対する輝度コントラスト極性の影響

波間智行，小松英彦

色刺激の輝度コントラスト極性の変化は色の見えに影響を与えることがあり，ニューロンの色選択応答における輝度コントラストの影響を明らかにすることは色の見えの神経基盤を理解する上で重要である。色情報を大脳に伝える中継地点である外側膝状体では，赤-緑反対色細胞と青-黄反対色細胞の二種類の色選択性細胞で色情報が表現されることが知られているが，輝度コントラストが色選択性に及ぼす影響を直接調べた研究は無い。そこで注視課題を行っているサルの外側膝状体から赤-緑反対色細胞の活動を記録し，背景よりも明るい色刺激セットと背景より暗い色刺激セットを用いて，輝度コントラストの極性変化が色刺激へのニューロン応答に与える影響を調べた。その結果，外側膝状体の個々のニューロンの色選択性は輝度コントラストの極性によって全く影響を受けないことが分かった。一方，色ごとに明るい色に対する神経活動と暗い色刺激に対する神経活動を比較した結果，無彩色を中心に相関の低い領域が見られ，この結果は以前に調べた V4 野および下側頭皮質と異なっていた。

大脳皮質 V4 野における色情報の空間的な統合

眞田尚久，小松英彦

私たちは，観察する環境が変わっても見ている物体固有の色が識別できているように感じるが，実際の色の見え方はその色単体だけでなく，照明環境や背景の色，その周辺の視覚情報によって影響を受ける。色知覚は，物体とその周辺を含めた色情報が視野空間上で統合された結果だと捉えることができる。これまでの色情報処理に関する生理学研究では，単一色刺激に対する神経細胞応答が主に調べられてきた。この手法では視覚野細胞の基本的な色選択性を調べることはできるが，複雑な情報処理をしていると考えられる色知覚の神経基盤を理解したとは言えない。そこで，複数色の組み合わせ刺激に対する神経細胞応答を定量的に調べることで，色情報が空間的にどのように統合されているのかを調べた。CIE-Luv 色度座標からサンプルした 8 色から 2 色をランダムに選び，サル V4 野細胞の受容野内外に同時に呈示することで，色の組み合わせに対する応答特性を網羅的に計測した。その結果，約半数の V4 野細胞が単色よりも色の組み合わせに強く応答することが分かった。また，その２色を呈示する位置を入れ替えると反応が減弱することから，色の組み合わせに対する応答には空間的な

特性があることが示唆された。これらのことから，V4 野において色情報が空間的に統合されていると考えられる。

神経シグナル研究部門

【概要】

当部門では分子，シナプス，神経回路からシミュレーションに至る幅広い視点から神経シグナル伝達の機構を詳細に捉え，さらに in vivo 標本を用いた解析や行動解析など統合的視点から，それら多様なシグナル伝達の生理的意義や個体や行動に及ぼす影響を明確にする独創的な研究を行っている。

神経シグナル伝達機構の詳細な解析を行うために，スライスパッチクランプ法にグルタミン酸の光遊離法を組み合わせたグルタミン酸輸送体機能評価システムを新規に導入し，小脳神経回路において Na ポンプ欠損に伴う輸送体の機能低下と病態，ジストニアの発症との関係を評価する系を構築した。また，シナプス小胞の局在を制御するシナプシン I のリン酸化，ERK1/2 キナーゼと神経活動との関係を分子レベルで捉える研究，更に，脳から脊髄に至る中枢神経広範に投射する神経核の 1 つである青斑核に着目し，光遺伝学や in vivo パッチクランプ法を用いて脳活動や意識レベルの制御，疼痛抑制など中枢機構の連関を統合的に捉える研究を遂行した。内臓から脊髄へ至る感覚シナプス応答を in vivo で捉え，その神経回路を同定した。

青斑核を介した覚醒と痛覚抑制の中枢連関機構

古江秀昌，井本敬二

青斑核は覚醒や意識レベルの調節に重要な役割を果たす神経核の 1 つであり，脳幹背側部より大脳皮質など上行性に投射してその活動を制御する。一方で下行性に脊髄へ投射し痛みの伝達を強烈に抑制することが知られている。しかし，青斑核を介した意識レベルと痛覚伝達調節の連関機構の詳細は不明である。そこで，ウィルスベクターなどを用い光遺伝学的に青斑核ノルアドレナリン神経の活動を制御し，大脳皮質の活動調節と痛覚抑制との連関を in vivo シナプスレベルで詳細に解析する研究に着手した。まず，痛みの記憶や情動的側面を担う前帯状回からの in vivo 細胞外や in vivo パッチクランプ記録を行い，青斑核の興奮と同時に皮質の活動を捉える記録・解析法を開発した。また，前年度から明らかにしてきた脊髄 GABA ニューロンを利用した下行性の青斑核ノルアドレナリン神経による痛覚抑制機構も同時に解析するなど，青斑核を介した覚醒と痛覚抑制の中枢連関機構の研究を進めた。

RuBi-glutamate を用いたグルタミン酸輸送体機能評価システムの構築：ジストニア病態モデルマウス（*Atp1a3*$^{+/-}$）への適用

佐竹伸一郎，井本敬二
川上　潔（自治医科大学分子病態治療研究センター）
池田啓子（兵庫医科大学医学部）

グルタミン酸輸送体（興奮性アミノ酸輸送体; excitatory amino acid transporter, EAAT）が担うグルタミン

酸 (Glu) 取り込み機構（回収機構）は，興奮性神経伝達物質 Glu のシナプス外拡散・蓄積過程に大きな影響をおよぼす。この影響を検討するため，caged-Glu の光遊離により EAAT の Glu 輸送機能を評価する実験系の構築を試みた。幼若マウス（2 週齢）から小脳の傍矢状断スライスを作成し，Glu/GABA 受容体阻害薬（NBQX, 100 μM; AIDA, 100 μM; bicuculline, 10 μM）ならびに Na チャネル阻害薬 tetrodotoxin（1 μM）とともに caged-Glu（RuBi-glutamate, 30μM）をスライス標本に灌流投与した。可視光パルス（430 nm, 5 ms）を照射して Glu を遊離させることにより，電位固定（V_H = −60 mV）したプルキンエ細胞から内向き電流を記録することに成功した。この内向き電流は，EAAT 阻害薬 TBOA（200 μM）の投与に伴い著しく減弱したことから，EAAT の Glu 輸送電流が記録できたと結論した。この評価系を Na ポンプα3 サブユニット遺伝子ヘテロノックアウトマウス（*Atp1a3*$^{+/-}$）に適用し，プルキンエ細胞の EAAT 機能が野生型よりも有意に低下していることを示唆する結果を得た。バーグマングリアの Glu 回収能も併せて評価するため，引き続き実験条件の最適化を進めている。

神経活動と ERK1/2-MAP キナーゼ・フォスファターゼ活性と基質蛋白質シナプシン I のリン酸化

山肩葉子，Angus C. Nairn (Yale University, Rockefeller University)，井本敬二

シナプシン I は神経終末におけるシナプス小胞結合蛋白のひとつで，複数のキナーゼ・フォスファターゼによってリン酸化・脱リン酸化を受け，リン酸化依存的にシナプス小胞の局在を制御する。我々はこれまで，様々な神経活動時におけるシナプシン I のリン酸化とそれを制御する複数のキナーゼの活性を解析してきた。本研究においては, シナプシン I の site 4/5 のリン酸化とそのキナーゼである ERK1/2 の活性が，神経活動の強弱によってどのように制御されるのか，統一的な解析を試みた。その結果，神経活動が軽・中・強度に上昇するに従って，site 4/5 の脱リン酸化・リン酸化・脱リン酸化が観察され，一方，ERK1/2 は中・強度の神経活動によって活性が上昇することが判明した。すなわち，生体内における基質蛋白質のリン酸化は，神経活動に依存したキナーゼ・フォスファターゼの活性のバランスによって制御を受けているものと考えられる。

下部尿路から脊髄に入力する感覚シナプス伝達機構の解析

秋元　望，古江秀昌，井本敬二

膀胱と尿道からなる下部尿路は蓄尿と排尿を司り，下部尿路から知覚神経を介して脊髄へ伝えられる感覚情報は尿意の発現や畜・排尿時の膀胱－尿道の協調機能の制御に重要な役割を果たす。しかし，痛みの入力を含む下部尿路から脊髄中枢への感覚入力様式やその情報処理機構の詳細は未だ不明なことが多い。そこで本研究では，in vivo パッチクランプ法や細胞外記録法を用いて脊髄の活動やシナプス応答を，また同時に膀胱機能も同時測定する手法を開発し，膀胱や尿道から脊髄へ入力する感覚シナプス応答の解析やその伝導路を同定した。下部尿路に神経トレーサーを注入して後根神経節を観察すると，異なるグループの後根神経節細胞が膀胱と尿道からそれぞれ情報を伝えることが明らかとなり，また脊髄後角においても異なる細胞に膀胱と尿道の感覚情報が運ばれることが見出されるなど，下部尿路の感覚や痛覚伝達機構を明確にする研究を遂行した。

視覚情報処理研究部門

【概要】

大脳皮質の情報処理はその神経回路を基盤として成立している。機能的な神経回路の形成には，遺伝的プログラムにより進む過程と，その神経回路の動作を体験・学習を通してより効率化する可塑的調整の２つの段階があり，前者は脳の安定した機能発現につながり，後者は個々の生存環境に適合した脳機能の獲得に重要と考えられる。本研究部門では，大脳皮質で行われている情報処理の基盤となる神経回路やその形成のメカニズムを明らかにすることを目指して研究を行っている。具体的には，ラットやマウスの大脳皮質を対象として，１）特異的な神経結合による微小神経回路網の形成メカニズムとその機能，２）発生期の細胞系譜に依存した神経結合特異性と視覚反応特性，３）発達期の視覚入力がシナプス可塑性と視覚反応可塑性に及ぼす影響，４）視覚誘発性の行動課題を担う神経活動の解析を行っている。人事としては４月から木村梨絵 特任助教と山本真理子総研大生が加わった。以下に本年度に行った研究内容の要約を記載する。

大脳皮質における細胞系譜依存的な神経細胞間結合の分子メカニズム

足澤悦子，宮下俊雄，吉村由美子
平林真澄，三寶　誠（遺伝子改変動物作製室）
八木　健（大阪大学大学院生命機能研究科）

我々は昨年度までに，バレル皮質４層星状細胞間の双方向性結合が細胞系譜依存的に形成されることを明らかにし，その細胞系譜依存性がクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）分子の欠損により消失することを示した。cPcdh 分子のアイソフォームは 58 種類存在し，大脳皮質の個々の神経細胞において個性的な発現パターンを示すことが報告されている。以上の知見から，cPcdh 分子が細胞系譜依存的に発現し，シナプス形成時の細胞認識に関与する可能性が示唆された。本年度は，in situ hybridization 法により大脳皮質における cPcdh 分子の発現と細胞系譜との関係を検証した。その結果，同じ細胞系譜の神経細胞では，同種の cPcdh 分子を発現する確率が高いことを明らかにした。以上の結果より，大脳皮質における細胞系譜依存的なシナプス結合には，同種の cPcdh 分子発現による細胞認識が関わる可能性が示唆された。

２光子励起顕微鏡を用いた，機能的な一次視覚野神経回路の形成メカニズム

宮下俊雄，足澤悦子，吉村由美子
平林真澄，三寶　誠（遺伝子改変動物作製室）
八木　健（大阪大学大学院生命機能研究科）

本研究ではマウス一次視覚野を対象とし，機能的な神経回路の形成メカニズムの解明を目指す。大脳皮質の神経回路を構成する細胞群は胎生期に神経前駆細胞より分裂し適切な皮質層へ移動したのちに各細胞の持つ遺伝プログラムに従い精緻な神経回路網を形成する。この過程に重要な働きを持つ分子として，胎生期に様々な遺伝子の発現制御をエピジェネティックに調整する DNA メチル基転移酵素をコードする Dnmt3b に注目した。Dnmt3b を欠損したマウス胎児より樹立した iPS 細胞を受精卵に移植することによって作製されたキメラマウスを使い，ノックアウト遺伝（KO）型及び野生型細胞の視覚応答を，麻酔下の同一個体より２光子顕微鏡を用い

た生体内カルシウムイメージングにより記録し，解析した。その結果 KO 型では野生型に比べ視覚反応性が低下していることが示唆された。今後は覚醒下のマウスにおいても同様の実験を行い，再検証する。

一次視覚野ニューロンにおける空間周波数選択性の経験依存的発達

西尾奈々，石川理子，吉村由美子

これまでに我々は，一次視覚野(V1)ニューロンが持つ空間周波数(SF)選択性が発達期の視覚経験に依存して可塑的に調整されることを見出している。本年度はその感受性期を特定する目的で実験を行った。生後 4 週目のマウスの両眼瞼を縫合し，形態視を遮断した状態で 1 週間飼育した。V1 を対象にフラビン蛍光によるマクロイメージングを行った結果，コントロールに比べ最適 SF が低空間周波数側にシフトしていた。このようなシフトは，より幼若な時期や成熟後には見られなかったため，生後 4 週から 5 週にかけてが SF 選択性の可塑性感受性期であると考えられる。また，発達期に形態視を遮断したマウスの V1 に 2 光子 Ca^{2+}イメージングを適用して，低 SF に応答選択性を示すニューロンの割合が高くなることを確認した。今後は遺伝子組換えマウスを使用して，最適 SF のシフトに伴う興奮性細胞と抑制性細胞のそれぞれの変化を明らかにする予定である。

視覚野可塑性における一酸化窒素の役割

山浦　洋，吉村由美子
小松由紀夫（名古屋大学環境医学研究所）

これまでに感受性期のラット一次視覚野より作成したスライス標本を用いた解析により，一酸化窒素(NO)合成酵素の基質であるアルギニン投与により，シナプス長期増強が阻害される結果を得ている。従って，NO が発達期の視覚経験に依存した視覚反応可塑性に関与している可能性が考えられる。そこで本研究では，感受性期に片眼遮蔽することにより誘導される一次視覚野の眼優位可塑性をモデルに，アルギニン投与の効果を検討した。ラット一次視覚野の神経細胞のスパイク活動を，多チャンネル電極を用いた電気生理学的手法により記録した。片眼遮蔽の期間，浸透圧ミニポンプにより一次視覚野にアルギニンを持続的に投与した視覚野では，眼優位可塑性が抑制されることを見出した。この結果は，視覚野での NO の増加が可塑性を抑えることを示唆する。

視知覚・運動連関に関する多領域・多細胞の神経活動

木村梨絵，吉村由美子

本研究では，学習を成立させるための神経回路変化を明らかにすることを目指す。そこで，課題の難易度，学習成績に応じて，どの脳領域で，どのような神経活動の変化が起こるかについて検討する。まず，行動実験系の確立を行った。頭部を固定したラット個体動物に，特定の視覚刺激（縦縞）のときにはレバーを押し，別の特定の視覚刺激（横縞）のときにはレバーを引くということを学習させた。二種類の視覚弁別刺激に対応して，二種類の運動出力を行わせた。あらかじめ，押すと引くの二種類の運動があることを学習させておくと，弁別開始から 10 日間近くで，視覚弁別誘発性の運動課題の学習が達成された。視覚刺激提示から運動開始までの時間（反

応時間）は，弁別の難易度に応じて，有意に長くなった。このような弁別課題遂行時に，一次視覚野，高次運動野から，多細胞の神経活動をマルチユニット記録しており，現在，その解析を進めている。

大脳皮質一次視覚野における経験依存的機能発達の層特異性

石川理子，吉村由美子

一次視覚野(V1)浅層（2-4 層）と深層（5-6 層）の神経細胞の同期発火性の発達を調べるために，正常な視覚環境で飼育した，開眼直後および生後 24-28 日齢のラット，24-28 日齢の暗室飼育ラットおよび両眼瞼縫合により形態視を遮蔽したラットを用いて解析を行った。上記ラットの V1 細胞から視覚刺激による神経活動を多チャネル電極により記録し，同期発火性を調べた。開眼直後では全層において同期発火する細胞ペアは稀であった。その後，正常な視覚体験を経ると，類似した視覚反応性をもつ浅層神経細胞ペアは高い割合で同期発火が強くなったが，その発達は暗室飼育や形態視遮断により阻害された。深層も発達に伴い同期発火性は上昇したが，その視覚特徴選択性は浅層に比べて弱かった。また，深層細胞の同期発火性は正常な視覚入力が遮断されたラットにおいても観察された。以上の結果は V1 の同期発火特性とその形成機構は層ごとに異なることを示唆する。

心循環シグナル研究部門

【概要】

心循環シグナル研究部門では，心血管組織が血行力学的負荷に対して適応する機構または適応できずに機能不全に陥る機構を，シグナル伝達の視点から明らかにしようとしている。筋肉細胞に物理的負荷がかかると，筋細胞は負荷に打ち勝つべく代償的に肥大する。しかし，過度な負荷に対して適応できなくなると，筋肉は拡張し，やがて機能不全に陥る。今年度は非代償性肥大のメカニズム解析を行い，非古典的 Ca^{2+}透過型カチオンチャネルである transient receptor potential canonical 3 (TRPC3) やミトコンドリア GTP 結合タンパク質 Dynamin-related protein 1 (Drp1)が筋細胞の修復・再生を制御する重要タンパク分子であることを見出した。また，プリン作動性 P2Y6 受容体が加齢に伴う高血圧の新たなリスク要因となることをマウスレベルで見出した。各タンパク質の病態生理学的意義に関する研究成果は以下に示す。

TRPC3 チャネルーNADPH オキシダーゼ機能的共役による心臓の線維化シグナル制御

北島直幸，冨田拓郎，西田基宏

TRPC3 欠損マウスにおいて，心臓の圧負荷により誘発される心肥大は抑制されないものの，間質の線維化がほぼ完全に抑制されることを見出した。そこで，ラット新生児心筋細胞に機械的伸展刺激を与え，炎症メディエーターである活性酸素（Reactive Oxygen Species; ROS）生成を調べたところ，伸展誘発性の ROS 生成が TRPC3 阻害により完全に抑制されることが分かった。このメカニズムとして，TRPC3 がチャネル活性非依存的に ROS 生成酵素（NADPH オキシダーゼ）の発現をタンパクレベルで安定化させることを明らかにした。さらに，TRPC3 を介した局所的な Ca^{2+}流入が NADPH オキシダーゼの活性化に必須となることも明らかにした。Ca^{2+}流入から ROS 生成へのシグナル変換が，TRPC3 が特異的に線維化を誘導する機序となる可能性が示された。

TRPC6 チャネルによる末梢循環制御

冨田拓郎，島内　司，西田基宏

閉塞性動脈硬化症（PAD）の末梢循環障害における骨格筋 TRPC3/6 チャネルの役割解析を進めている。今年度は，TRPC3/6 チャネルに対する選択的阻害化合物を新たに同定した。この化合物は多くの TRPC チャネル阻害薬に共通して見られる store-operated Ca^{2+} channel (SOC)阻害作用は全く持たなかった。大腿動脈結紮 1 週間後から TRPC3/6 阻害化合物を投与したところ，下肢虚血 3 週間以降の末梢血流量が有意に回復した。TRPC3/6 阻害化合物は，末梢血管平滑筋細胞の成熟だけでなく，骨格筋細胞の再生・修復も促進し，運動能力を上げることで末梢循環を著しく改善することがわかった。TRPC6 欠損マウスにおいても著しい末梢循環改善効果が観察されたことから，TRPC3/6 阻害化合物は TRPC6 を阻害することで抗 PAD 治療効果を示す可能性が示された。

ミトコンドリア分裂による心筋老化制御

外山喬士，西村明幸，西田基宏

心筋梗塞後の左室リモデリングの原因として新規院早期老化が示唆されている。心筋老化は，主に梗塞周辺領域の心筋細胞で起こっていることを新たに見出した。そこで心筋老化の前段階で起こる心筋細胞の形態変化を，電子顕微鏡を用いて観察したところ，ミトコンドリア分裂が促進していることに気づいた。梗塞周辺部位では血液は普通に灌流されているものの，一過的な低酸素状態となっており，これが Drp1 を活性化するトリガー刺激となることが示唆された。その一方で，低酸素から解除された心筋細胞では再酸素化刺激に伴う ROS 生成により Drp1 がジスルフィド 2 量体を形成し，むしろミトコンドリア分裂活性が抑えられることで心筋老化が誘導されることが明らかになった。さらに，国が安全性を保証する既承認薬の中から Drp1 阻害作用をもつ新たな薬を同定し，これが慢性心不全を抑制することをマウスレベルで明らかにした。

高血圧症の新たなリスク要因としての P2Y6 受容体

西村明幸，Caroline Sunggip，西田基宏

アンジオテンシン II（Ang II）は個体発生段階における血管新生や成熟の制御，および血圧調節に関わる重要な生理活性ポリペプチドである。しかし一方で，高血圧の原因物質としても注目されている。我々は，プリン作動性 P2Y6 受容体という炎症誘導性の膜タンパク質が加齢に伴って発現増加することで Ang II 受容体（AT1 受容体）とヘテロ２量体を形成し，Ang II 刺激による平滑筋細胞の表現型を増殖型から肥大型へと変換することで，Ang II による高血圧発症のリスクを増大させる要因となる可能性を新たに見出した。P2Y6 受容体阻害化合物である MRS2578 が AT1 受容体と P2Y6 受容体との相互作用を軽減し，Ang II 誘発性高血圧を軽減したことから，P2Y6 受容体を標的とする薬が副作用の少ない新たな高血圧治療薬となる可能性が期待される。

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門

【概要】

初めに 2014 年の人事異動を列挙する。国内では，4 月に鶴原亜紀さんが航空自衛隊航空医学実験隊に栄転された。新しい研究室での活躍を祈っている。また，坂本貴和子さんが広報室に，本多結城子さんが広島大学の URA に移動された。二人とも生理学研究所の所内での勤務であり，今後も緊密な連携を保っていく。Sumru KECELI さんは出産, 育児のためトルコに帰国中である。逆に１０月には木田哲夫君が特任准教授として教室に加わった。

2014 年も他施設との共同研究が順調に進んでいる。国内では中央大学文学部（山口教授），三重大学精神科（元村先生），神戸大学文学部（野口先生），愛知医科大学（牛田教授，西原先生），早稲田大学（木田先生），奈良女子大学（中田先生），千葉大学（桑原教授，大森先生, 磯瀬先生）, また国外では，ドイツ Munster 大学（Prof. Pantev），ドイツ Heidelberg 大学（Prof. Treede）との共同研究を行っている。

脳波と脳磁図を用いた研究が本研究室のメインテーマだが, 最近はそれに加えて機能的磁気共鳴画像(fMRI), 近赤外線分光法(NIRS)，経頭蓋磁気刺激(TMS)を用いた研究も行い成果をあげている。１つのテーマに固執せず, 各研究者の自主性に任せて研究を行っていることが本研究室の最大の特徴である。研究テーマの幅が非常に広いことは，以下の研究報告を読んでいただければ自明の事だと思う。

表皮内電気刺激法による皮膚 Aδ，C 線維機能障害評価

小平　農，乾　幸二，柿木隆介

表皮内電気刺激法（IES）により皮膚 Aδ，C 線維機能障害を評価できるかを，両側足背へリドカインテープもしくはプラセボを貼付し, 貼付前, 30 分後, 60 分後に Aδ, C 線維刺激の刺激反応時間，感覚閾値，誘発電位を計測することで検討した。Aδ，C 神経刺激は鋭い痛み，C 線維刺激は弱い痛みを誘発した。選択的 Aδ，C 線維刺激は刺激反応時間により明瞭に判別することが可能であった。Aδ，C 線維刺激ともにリドカインテープ貼付 30 分後より経時的に感覚閾値は上昇し，誘発電位の振幅は低下した。60 分後には C 線維の機能障害は Aδ 線維より強く認めた。プラセボでは各種計測項目に変化はなかった。IES は末梢神経細径線維障害の病態解明に有用である可能性がある。(*Clin Neurophysiol* **125:1870-1877, 2014**)

正立顔および倒立顔に対する定常的視覚誘発脳磁場の計測

鶴原亜紀，乾　幸二，柿木隆介

本研究では，正立顔を模した図と，それを上下反転させた倒立顔図を 11 名の健常者に刺激を 6Hz で提示し，定常的視覚誘発脳磁場（SSVEF）を解析した。脳磁場は 306 チャンネル全頭型脳磁計で計測し，204 チャンネルの平面型グラジオメーターの記録を分析した。その結果，正立顔と倒立顔で共通して刺激周波数の 6Hz およびその調和周波数にピークを持つ明瞭な SSVEF が記録された。6Hz の活動の各部位での Areal Mean を計算したところ，

正立顔と倒立顔で振幅の差は有意ではなかったが，位相は，右側頭部の Areal Mean では，倒立顔観察時で正立顔観察時よりも有意に遅かった。通常の顔刺激に対する誘発反応では，いわゆる倒立顔効果（倒立顔刺激に対する潜時の遅延と振幅増大）が見られるが，SSVEF では異なる傾向が見られたと言える。この結果は，誘発反応と SSVEF の反応の発生機序が異なること示唆するものであり，SSVEF 解析により，脳内の視覚情報処理の解明に新たな知見を得ることが期待される。

(*Neurosci Lett* **562:19-23,2014**)

雑音下での静寂に対する神経活動の適応

岡本秀彦，柿木隆介

本研究では音の呈示により惹起される神経活動と，連続雑音下に呈示された静寂により惹起される神経活動が，繰り返しによりどのように変化するかを調べた。その結果，実際に音刺激を与えた場合の神経活動も，静寂により惹起される神経活動も繰り返す事により減少が認められたが，その減少パターンは有意に異なっていた。会話や音楽の「間」のように静寂も音信号処理に重要な働きを担っていると考えられる。

(*Brain Behav* **4: 3927, 2014**)

静寂の軌跡が聴覚誘発脳磁場に与える影響

岡本秀彦，柿木隆介

聴覚誘発脳磁場反応の大きさは刺激音の直前の静寂の長さに依存することが知られている。しかしながら，さらに先行する静寂の持続時間の影響を受けるか否かは不明であった。本研究では 3 個以上前であっても先行する静寂の長さが聴覚誘発脳磁場反応の振幅に影響を与えることを明らかにした。静寂の軌跡は音信号処理に重要な役割を果たしていると考えられる。

(*Eur J Neurosci* **40: 3380-3386, 2014**)

外耳道へのカプサイシン刺激による咳嗽反射を用いた機能性嚥下障害の治療法

近藤英司（徳島大学），陣内自治（阿南共栄病院），大西皓貴（阿南共栄病院）
川田育二（阿南共栄病院），中野誠一（国立病院機構高知病院）合田正和（徳島大学），
北村嘉章（徳島大学），阿部晃治（徳島大学），星川広史（香川大学）
岡本秀彦，武田憲昭（徳島大学）

本研究では外耳をカプサイシンで刺激することで，咳嗽反射を誘発し誤嚥を防止できるのではないかと考えた。26 人の機能性嚥下障害の高齢者に対して 0.025%のカプサイシン軟膏 0.5 グラムを外耳道に塗布することで，嚥下機能の回復が認められた。高齢者の誤嚥は重篤な肺炎を引き起こすことも多いがその予防は難しい。そのため，耳咳嗽反射を用いた，副作用の少ない新しい嚥下機能障害の治療法は非常に重要であると考える。

(*Clin Interv Aging* **9: 1661-1667, 2014**)

耳鳴りに対する周波数除去音楽療法と経頭蓋直流電気刺激の効果

タイスマン・ヘンニング（ミュンスター大学），ウォルブリンク・アンドレアス（ミュンスター大学）
岡本秀彦，シュラウグ・ゴットフリード（ハーバード大学医学大学院）
ルダック・クラウディア（ミュンスター大学），パンテフ・クリスト（ミュンスター大学）

私達は先行研究において，周波数除去音楽を耳鳴り患者に聞かせることで症状を改善させることに成功した。本研究では周波数除去音楽療法に経頭蓋直流電気刺激を加えることで，治療効果を高めようと試みた。しかしながら，周波数除去音楽療法の治療効果は経頭蓋直流電気刺激の有無には影響を受けなかった。耳鳴りに対する音響療法に対して，経頭蓋直流電気刺激による相乗効果はあまり期待できないのではないかと考えられる。
(*PLoS ONE* **9: e89904, 2014**)

突発性難聴に対する音響療法

岡本秀彦，福嶋宗久（大阪労災病院）
タイスマン・ヘンニング（ミュンスター大学），ラーゲマン・ロター（ミュンスター大学）
北原　糺（大阪労災病院），猪原秀典（大阪大学）
柿木隆介，パンテフ・クリスト（ミュンスター大学）

本研究では音の呈示により惹起される神経活動と，連続雑音下に呈示された静寂により惹起される神経活動が，繰り返しによりどのように変化するかを調べた。その結果，実際に音刺激を与えた場合は，音刺激前の異なっていた静寂により惹起される神経活動は繰り返す事により減少するが，そのパターンは，会話や音楽の「間」のように静寂も音信号処理に重要な働きを担っていると考えられる。(*Sci Rep* **4: 3927, 2014**)

共感覚における単語色決定の脳内メカニズム

横山武昌（名古屋大学），野口泰基　（神戸大学）
古賀裕紀　（京都大学），齋木　潤　（京都大学）
柿木隆介，喜多伸一（神戸大学）

「共感覚（synaesthesia）」は限られた人にのみ見られる稀有な能力で，ある刺激に対して通常は起こり得ない感覚（無彩色の文字に対する幻の色など）が共起される現象を指す。従来は主に文字に対する共感色の発生メカニズムが調べられてきたが，個々の文字ではなく単語全体に対して知覚される共感色（単語共感色）の決定・発生の仕組みは不明な点が多かった。本実験では共感覚者を対象に，様々な文字や単語に対する脳磁場反応を記録した。その結果，単語共感色が当該単語の意味情報によって決定される場合（たとえば「blood」という単語を白黒で見せられた時に，単語全体をカバーする赤い共感色を知覚する場合），左半球側頭・前頭部の言語野の活動が共感覚の発生に関与していることが分かった。これらの結果は，従来文字レベルでの共感色で報告されていた腹側高次視覚野の活動だけでなく，前頭葉をも巻き込んだより広範な神経ネットワークが，単語レベルの共感色を発生させていることを示唆する。
（*NeuroImage* **94:360-371, 2014**）

道具刺激の無意識的認識によるμリズムの低下

鈴木恵美（神戸大学），野口泰基　（神戸大学）
柿木隆介

視覚腹側経路の顔ニューロンと同じく，視覚背側経路には道具刺激（ナイフやハンマーなど手の把握運動を誘発する刺激）に強い反応を示すニューロンの存在が示唆されている。先行研究は主に脳損傷患者を対象としてきたが，本研究では健常人を対象とし，この道具選択的反応の有無を検討した。特に症例報告では道具知覚の自動的・無意識的な特徴が記述されていたため，本実験では心理物理学的手法を用いて道具刺激を無意識的に提示し，その時の健常者の脳磁場反応を記録した。一般に道具刺激知覚時の特徴として，ヒトの脳では左半球におけるμリズム（8-13Hz）の抑制が見られる。今回，無意識提示された道具刺激への脳磁場反応を調べたところ，意識提示時と同様のμリズム（8-13Hz）抑制が見られた。これらの結果は，①道具刺激の知覚に特化した左半球背側の神経処理回路が，無意識状態においても機能し得ること，②このような無意識回路が脳損傷を受けていない健常者の脳にも既に存在すること，を示唆する。

（*Cortex* **50: 100-114, 2014**）

注意欠陥多動性障害のある子の表情観察時の脳血流反応

市川寛子（中央大学文学部・日本学術振興会），仲渡江美（大阪樟蔭女子大学学芸学部）
金沢　創（日本女子大学人間社会学部），島村圭一（獨協医科大学越谷病院子どものこころ診療センター）
作田由衣子（中央大学研究開発機構），作田亮一（獨協医科大学越谷病院子どものこころ診療センター）
山口真美（中央大学文学部），柿木隆介

学童期のADHD（注意欠陥多動性障害）のある児は表情認知に障害があることが近年報告されている。本研究では，ADHD児と定型発達児に幸福または怒り表情を観察させ，その時の脳活動をNIRSを用いて計測した。その結果，定型発達児では幸福および怒り顔に対して強い活動が見られたが，幸福表情には活動が見られなかった。一方，定型発達児では幸福顔に対しては脳活動の上昇が見られ怒り顔には見られなかった。さらに，ADHD児では右半球における脳血流増加のピークが，定型発達児よりも早いことがわかった。これらの結果から，ADHD児の表情認知の神経基盤の非定型性をNIRSを用いて明らかになった。(*Neuropsychologia* **63: 51-58, 2014**)

多チャンネルNIRS計測データを二群に識別する新規手法の提案：チャネル組み合わせを探る

市川寛子（中央大学文学部・日本学術振興会），北園　淳（東京大学新領域創成科学研究科）
永田賢二（東京大学新領域創成科学研究科），萬田　暁（東京大学新領域創成科学研究科）
島村圭一（獨協医科大学越谷病院子どものこころ診療センター）
作田亮一（獨協医科大学越谷病院子どものこころ診療センター）
岡田真人（東京大学新領域創成科学研究科，理研BSI），山口真美（中央大学文学部）
金沢　創（日本女子大学人間社会学部），柿木隆介

注意欠陥多動性障害（ADHD）と自閉性スペクトラム障害（ASD）は，共通する症状が多く，併存例が多いことからも一度きりの臨床面接からは鑑別が難しい。そこで客観的な指標である脳活動計測の結果から二群を鑑

別する試みを行った。島村らが行った，ADHD 児および ASD 児が母親顔を観察中の脳活動を NIRS 計測したデータを利用した。計測に用いた 24 チャンネルのうち，二群の鑑別に有効なチャネルを選び出すために機械学習（サポートベクタマシン）を利用し，チャネル組み合わせの全状態探索を行った。その結果，識別率 84%となるチャネルの組み合わせを選択できた。従来のチャネルごとの t 検定では抽出できない構造を抽出した。

(*Front Hum Neurosci* **8:480(pp. 1-10), 2014**)

他者による観察が自己顔認知へ与える情動的影響

守田知代（大阪大学），田邊宏樹（名古屋大学）
佐々木章宏（理化学研究所），島田浩二　（福井大学）
柿木隆介，定藤規弘（生理学研究所）

「他者による観察」により，自己顔を見た時に惹起される恥ずかしさ情動を操作し，それに応じた情動関連領域の活動変化について機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を用いて調べた。被験者は同性の 16 ペア（32 名）とした。2 名の被験者が視覚的に相互作用できる dual MRI を用い，相手被験者から観察されながら自身の顔写真を見る状況を設定した。その結果，観察に伴い，自己顔に対する恥ずかしさが有意に増大し，その増加量は右側前部島皮質の活動増加量と正の相関を示すことが分かった。また，観察されることで，エラー検出に重要な前部帯状回と，内省的自己の処理に関わる内側前頭前野との機能的結合が増大することが明らかとなった。これらの結果から，前部島皮質は主観的な情動経験の生成に重要であり，その一方で，前部帯状回は自己顔の認知および評価に必要な情報を統合するための中継点としての役割を果たすことが示唆された。

(*Social Cognitive Affective Neuroscience* **9 (5): 570-579, 2014**)

自閉症スペクトラムにおけるバイオロジカルモーション知覚処理に関する異なる脳反応

平井真洋（自治医科大学），軍司敦子（横浜国立大学）
井上祐紀（横浜市南部地域療育センター）
北　洋輔（国立精神神経センター），林　隆（医療法人テレサ会　西川医院）
西牧謙吾（国立障害者リハビリテーションセンター），中村みほ（愛知県心身障害者コロニー）
柿木隆介，稲垣真澄（国立精神・神経医療研究センター）

自閉症スペクトラム児におけるバイオロジカルモーション(BM)知覚処理の時間的機序について検討した。本研究では，8-22 歳の 12 名の自閉症スペクトラム(ASD)児・者ならびに統制群として 12 名の定型発達児・成人を対象に BM 知覚児の脳波計測を実施した。新たに開発した視覚刺激を用いることにより，運動視処理と BM 知覚処理における大域的な処理を分離した脳活動を計測した。結果，BM の大域的な処理に関するタイミングに関しては保たれていた。一方脳活動の振幅において，定型発達群では，右半球において BM 知覚時には，統制刺激のスクランブルモーション(SM)知覚処理に比べて有意に強い活動が見られたものの，ASD 児群においてはそのような有意差は認められなかった。これは ASD 児における運動処理の鋭敏性による可能性が考えられた。

(*Res. Autism Spectr. Disord.* **8: 1623-1634, 2014**)

エコイックメモリの時間分解能：オフセット応答を用いた検討

西原真理，牛田享宏（愛知医大痛みセンター）
元村英史（三重大学医学部神経精神科）
守田知代，小平　農，望月秀紀，大鶴直史，乾　幸二，柿木隆介

感覚刺激誘発脳活動は，先行する感覚入力履歴に影響を受けることが知られている。これには秒単位で変化する記憶が関与しており，感覚記憶と考えられる。本研究では，聴覚オフセット反応を指標に，エコイックメモリの時間分解能を検討した。感覚記憶は一般的に，写真に撮るような高い分解能を有すると考えられているが，実験的にこれを証明するのは難しい。1 秒間のクリック連発音を呈示し，脳磁図を用いて 50 ミリ秒付近のオフセット反応（P50）を記録した。クリック連発の頻度は，25Hz から 400Hz とした。オフセット P50 の潜時は，クリックの頻度と極めて高い相関を示した（r=0.99）。すなわち，オフセット応答がクリック頻度の記憶に依存すること，およびエコイックメモリが 5 ミリ秒程度の高い時間分解能を有すること，を示している。

(*PLOS ONE* **9: e106553, 2014**)

感覚不一致による自己身体所有感の喪失が一次体性感覚野に及ぼす影響

大鶴直史（広島大学），橋詰　顕（広島大学），仲村大地（広島大学），
遠藤勇輝（広島大学），乾　幸二，柿木隆介，弓削　類（広島大学）

脳磁図を用い，自己身体所有感の喪失状態が一次体性感覚野に及ぼす影響を検討した。被験者は健常成人 9 名とした。ミラーボックスを用い，左示指にリング電極で電気刺激を与えた際の体性感覚誘発磁場を記録した。実験条件は，1）右手の鏡像の位置と左手の位置が一致している条件（mirror 一致条件），2）右手の鏡像の位置と左手の位置が一致していない条件（mirror 非一致条件），3）1）と両手の位置は同じだが，鏡をプラスチックボードで覆った条件（cover 一致条件），4）2）と両手の位置は同じだが，鏡をプラスチックボードで覆った条件（cover 一致条件）の 4 条件とした。mirror 非一致条件においてのみ，視覚による身体位置と固有受容覚による身体位置に不一致が生じ，自己身体所有感が自分の手から喪失することを確認して実験を行った。結果，一次体性感覚野に活動源が推定される刺激後 50 ミリ秒の活動（M50）は，mirror 非一致条件において有意に振幅が増大がした。このことは，M50 成分が他感覚統合処理を受けた後の成分であることを示唆し，自己身体所有感に関連のある成分である可能性が示された。

(*Cortex* **58: 1-8, 2014**)

表情変化を超えた人物同定は生後７ヶ月頃に発達する

小林　恵，大塚由美子（School of Psychology, The University of Sydney）
金沢　創（日本女子大学人間社会学部），山口真美（中央大学文学部），柿木隆介

近赤外分光法（Near-infrared Spectroscopy; NIRS）を用いて，表情変化に不変な人物同定の神経基盤を検討した。

実験では生後 5-6 ヶ月児および生後 7-8 ヶ月児各 12 名を対象に，T5・T6 を中心とする後側頭領域の脳血流反応を計測した。神経順応パラダイムを適用し，「表情が変化する複数人物の顔」と「表情が変化する同一人物の顔」を提示した際に，複数人物の顔に比べ同一人物の顔に対して脳血流反応が低下するか検討した。その結果，

生後 7-8 ヶ月児では「表情が変化する複数人物の顔」に比べ「表情が変化する同一人物の顔」で両側頭領域の脳血流反応の低下が見られたが，生後 5-6 ヶ月児ではそのような反応は示されなかった。本研究の結果から，表情変化を超えた人物同定能力は生後 7-8 ヶ月頃に発達することが示唆された。(*BMC Neurosci* **15: 81, 2014**)

微弱な先行刺激の呈示による感覚処理における抑制系の評価

中川　慧，乾　幸二，柿木隆介
弓削　類（広島大学）

正中神経連発刺激時の脳磁場応答を記録し，連発刺激による脳磁場応答の減衰が持つ生理学的意義を検討した。健常成人 12 名を対象とし，テスト刺激の直前 100ms に，感覚閾値の 2.5 倍，1.5 倍，1.1 倍，0.9 倍の先行刺激を付加し，テスト刺激の脳磁場応答の減衰を記録した。結果，先行刺激の強度に応じて抑制率が大きくなること，そして辛うじて認知できる程度の微弱な刺激（1.1 倍）の先行によっても有意な抑制が生じることを確認した＜実験１＞。次に，実験１で観察された減衰の生理学的意義を検討するために，その後（500ms 後）の刺激応答への影響を検討した。結果，100ms 前に微弱な先行刺激を付加した条件ではテスト刺激の刺激応答が減衰したにも関わらず，その後の刺激への抑制率は先行刺激を付加しない条件と変わらなかった＜実験２＞。これらの結果より，先行刺激呈示によるテスト刺激の減衰は，疲労や慣れ等の皮質興奮性の経路とは異なる抑制系の神経回路の動態を反映している可能性が示唆された。
(NeuroImage. **101: 416-424, 2014***)*

表皮内電気刺激法による C 線維選択刺激の皮質応答

根木　潤（東京女子医科大学先端生命医科学研究所）
村垣善浩（東京女子医科大学先端生命医科学研究所）
乾　幸二，小平　農，柿木隆介

安定した C 線維選択刺激を実現するため，表皮内電気刺激電極の外筒から針の突出量を 100μm から 20μm に変更した電極を作成した。この電極 6 個を健常成人 7 名の両足背に貼付し C 線維選択刺激した時の皮質応答を脳磁計により計測した。結果は，被験者全員の両足で刺激対側，同側の弁蓋皮質，第一次体性感覚野に相当する位置に皮質応答が計測された。被験者全員両足の潜時はそれぞれ対側弁蓋皮質 1327±116ms，同側弁蓋皮質 1318±90ms，第一次体性感覚野 1326±131ms であった。この研究結果はレーザーによる先行研究と一致している。また，被験者が感じる感覚は，pricking が多かった。この結果は，一部の C 線維終末は Aδ 線維終末よりもより表皮の浅い場所に位置している可能性を示唆している。
(*Neurosci Lett* **570C:69–74, 2014**)

閾下意味プライミングにおける前頭−側頭部の領域間結合の変化

松本　敦（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター），柿木隆介

意味的に関連する語が直前に呈示されると，ターゲット語の処理が促進される意味プライミングという現象は先行呈示されるプライム語が閾下に呈示された場合でも起こることが示されている。本研究では閾下意味プ

ライミングにおいて領域間の情報連絡がどのように行われているのかを脳波を用いて検討した。ターゲット語の呈示から200msから400msではシータ帯域の活動を介して側頭部から前頭部にかけての情報の連絡が閾下意味プライミングによって変調するのが観察された。400ms以降では側頭部と前頭部の相互連絡が変調することが示され，閾下意味プライミングによって神経連絡が変化することが示された。

(*J Cogn Neurosci* **26: 165-174, 2014**)

生体システム研究部門

【概要】

私達を含め動物は，日常生活において周りの状況に応じて最適な行動を選択し，あるいは自らの意志によって四肢を自由に動かすことにより様々な目的を達成している。このような随意運動を制御している脳の領域は，大脳皮質運動野と，その活動を支えている大脳基底核と小脳である。逆にこれらの領域に異常があると，パーキンソン病やジストニアに見られるように，随意運動が著しく障害される。本研究部門においては，大脳皮質・大脳基底核を中心に，このような随意運動の脳内メカニズムおよびそれらが障害された際の病態，さらには病態を基礎とした治療法を探ることを目的としている。

そのために，①大脳基底核を巡る線維連絡を調べる，②課題遂行中の霊長類の神経活動の記録を行う，③大脳基底核疾患を中心とした疾患モデル動物（霊長類・げっ歯類）からの記録を行う，④このような疾患モデル動物に様々な治療法を加え，症状と神経活動の相関を調べる，⑤様々な遺伝子改変動物の神経活動を記録することにより，遺伝子・神経活動・行動との関係を調べる，⑥霊長類の大脳皮質に電極を埋め込み，フィールド電位を記録・解析し，随意運動や意志・判断・学習・睡眠などの中枢神経機構を調べる，ことを行っている。

睡眠中の海馬における律動波の研究

遠本　徹，竹内佐織，金沢星慶

脳内の律動的神経活動が多様な情報処理過程の基盤として役立っている可能性が指摘されているが，その詳細については未解明な点が多い。そこで，律動的神経活動の発生部位とその性状についての基礎的データを取得する目的で，ケージ内で自由行動中のニホンザルの大脳皮質フィールド電位を記録解析する実験を計画した。そのためにまず，サルの頭部に設置できる小型増幅器と無線テレメータと，テレメータと同期をとって撮影できる近赤外線ビデオ装置を開発製作した。そして手始めに睡眠中の電位活動を記録しその律動波の特徴を解析した。その結果，海馬脳波におけるガンマ波とデルタ・シータ波について以下の特徴が明らかになった。ガンマ波はREM睡眠中に増加しNREM睡眠中に減少する。これに対して，デルタ・シータ波はREM睡眠中に減少しNREM睡眠中に増加する。このためガンマ波とデルタ・シータ波の振幅は全体としては逆相関する。ところがNREMステージ4だけに限ると，ガンマ波とデルタ・シータ波の振幅は正の相関をしめす。また，デルタ・シータ波の位相とガンマ波の振幅は相関を示し，この相関はREM睡眠よりもNREM睡眠の方が高く，NREMステージ4で最も高い。このことは，ガンマ波とデルタ・シータ波の周波数間結合がNREMステージ4で最も高いことを示唆している。記憶固定の二段階モデルに基づいて，NREM睡眠では短期記憶から長期記憶への転送がなされ，REM睡眠ではシナプス結合が増強されるという仮説が提唱されている。今回見つかったガンマ波とデルタ・シータ波の周波数間結合は，このような記憶転送のメカニズムに関係している可能性がある。

パーキンソン病モデルマーモセットにおける視床の神経活動

若林正浩，近藤秀樹，畑中伸彦，南部　篤

1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine（MPTP）を動物に投与すると，中枢神経系ドーパミンニューロンの特異的な脱落を引き起こし，パーキンソン病様の症状を引き起こすことが知られている。これまでわれわれは，マカクサルを用いてパーキンソン病モデル動物とし，病態生理学的な研究に用いてきた。しかし筋固縮や寡動などは非常によく再現できるが，振戦はほとんど観察されなかった。ところが，小型の新世界サルであるマーモセットを MPTP で処理し，パーキンソン病モデルにすると，マカクよりも振戦が多く観察されることがわかった。平成２６年度はマーモセットの慢性実験のセットアップを行った。今後は，１）マーモセット大脳皮質の運動関連領野を皮質内微小刺激法で同定し，大脳基底核への投射様式を調べる。２）大脳基底核の出力核である淡蒼球内節と，小脳の出力核である歯状核に慢性刺激電極を埋め込み，両者からの入力を確認しながら，運動性視床のニューロン活動と，腕に取り付けた加速度センサーのデータとの間に相関があるか調べる予定である。

大脳基底核における上肢運動ストップ課題遂行中の活動調節

金子将也，畑中伸彦，南部　篤

淡蒼球内節は大脳基底核の出力核であり，淡蒼球外節は大脳基底核を構成する全ての核と連絡する中継核である。よって，それらの活動は大脳基底核ループに大きな影響を与えると考えられている。これまでわれわれは，淡蒼球の内節と外節は両者とも視床下核から興奮性の入力，線条体から抑制性の入力を受けるため，そのバランスによってその活動が調節される事を調べてきた。その際に用いた運動課題は，Go もしくは No-go の手がかり刺激ののちに，ランダムな遅延期間を置き，その後 Go 刺激を与える課題であった。その結果，No-go 課題では淡蒼球内節・外節どちらでも，ほとんど活動の変化が認められなかった。今回われわれは，Hamker らによる大脳基底核の計算論モデルにおいて，淡蒼球外節が運動のストップに大きな役割を担っている仮説に注目し，手がかり刺激の提示後，Go もしくは Stop 刺激を与えることで，No-go 課題では観察できなかった，運動停止時の活動変化を観察しようとしている。平成 26 年度は４種類の課題（Global-go，Global-stop，Local-go および Local-stop）をサルに訓練した。今後は淡蒼球内節・外節の単一ユニット記録を行う予定である。

パーキンソン病モデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核経路の情報伝達異常

知見聡美，長谷川拓，Wongmassang Worana，高田昌彦（京大・霊長研），南部　篤

パーキンソン病の病態を明らかにするため，ドーパミン選択的神経毒 MPTP の投与により作製したモデルサルの神経活動を覚醒下で記録した。大脳基底核の出力部である淡蒼球内節では，自発発火頻度に変化はなく，大脳皮質の電気刺激に対する応答が変化していた。この結果は，平均発火頻度の変化ではなく，大脳皮質－大脳基底核経路における phasic な伝達様式の異常が，パーキンソン病症状の発現に寄与していることを示唆している。

淡蒼球内節は GABA 作動性の抑制性ニューロンで構成され，常時連続発火することによって，その投射先である視床と大脳皮質を抑制している。正常な状態では，直接路を介した入力によって淡蒼球内節が一時的に抑制されると，脱抑制によって視床と大脳皮質の活動が増大し運動を起こすが，パーキンソン病では大脳皮質から

の入力によって淡蒼球内節が十分に抑制されず，視床と大脳皮質に対する抑制を解除出来ないため，無動や寡動が起こると考えられる。

大脳皮質−線条体経路による大脳基底核の神経活動の調節

佐野裕美，小林憲太，加藤成樹（福島県立医科大学），知見聡美，小林和人（福島県立医科大学），南部　篤

大脳皮質−線条体経路と大脳皮質−視床下核経路は大脳基底核への入力経路である。各々の経路には特異的に発現する受容体やマーカー分子が知られておらず，各々の経路の選択的な神経生理学的役割の解析は限られてきた。そこで，注入部位から逆行性に遺伝子導入が可能なレンチウイルスベクター（FuGC ベクター）とアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターの二重感染を利用した Cre-loxP システムによる遺伝子導入法を用い，光駆動性イオンチャネルであるチャネルロドプシンを大脳皮質−線条体経路に特異的に発現させた。そして，大脳皮質に光刺激用の光ファイバー，淡蒼球外節や黒質網様部に記録電極を刺入し，大脳皮質−線条体経路の興奮を特異的に誘導したときの応答を記録した。その結果，大脳皮質への電気刺激により大脳皮質−線条体経路と大脳皮質−視床下核経路の両方を電気刺激した場合と異なるパターンの一過性の応答が認められた。

線条体−淡蒼球外節投射ニューロンによる大脳基底核の神経活動調節と運動制御

佐野裕美，田中謙二（慶応義塾大学），知見聡美，南部　篤

線条体には，線条体−黒質投射ニューロンと線条体−淡蒼球外節投射ニューロンの二種類の投射ニューロンが存在する。線条体−淡蒼球外節投射ニューロンによる大脳基底核の神経活動の調節と運動制御との関係を解明するため，線条体−淡蒼球外節ニューロンにチャネルロドプシンを発現するマウス（Drd2-tTA::tetO-ChR2 マウス）を利用した。線条体に光ファイバー，淡蒼球外節あるいは黒質網様部に記録電極を刺入し，線条体−淡蒼球外節投射ニューロンの興奮を誘導した時の応答を記録したところ，淡蒼球外節では抑制−興奮あるいは抑制，黒質網様部では遅い興奮などの一過性の応答が認められた。さらに，片側の線条体に光ファイバーを刺入し，自由行動下で光刺激したときの行動変化を観察したところ，光刺激と同側への回転運動を数回示したあと，運動を停止した。線条体−淡蒼球外節投射ニューロンは単に運動を抑制するだけではないことが示唆された。

ジストニン欠損マウスの病態生理学的解析

佐野裕美，堀江正男（新潟大学），知見聡美，竹林浩秀（新潟大学），南部　篤

Dystonin-a アイソフォームを欠損するジストニン欠損マウスでは上肢の捻転，下肢の伸展，歩行時の体幹捻転が認められ，典型的なジストニアの表現型を示す。筋電図の記録から，ジストニン欠損マウスでは周期的な筋収縮が認められ，さらに伸筋と屈筋が同時して収縮することが多いことが明らかになっており，ジストニアにおける筋収縮の特徴とよく一致していた。この運動異常の原因を解明するため，大脳基底核から神経活動を記録した。淡蒼球外節，黒質網様部において自発発火および大脳皮質運動野を電気刺激したときの応答を記録した。その結果，野生型マウスと比較して顕著な差は認められなかった。ジストニン欠損マウスの運動異常は小脳など大脳基

底核以外の脳領域の異常に起因することが示唆された。

Horie M, Watanabe K, Bepari AK, Nashimoto J, Araki K, Sano H, Chiken A, Nambu A, Ono K, Ikenaka K, Kakita A, Yamamura K, Takebayashi H, Disruption of actin-binding domain-containing Dystonin protein causes dystonia musculorum in mice. *Eur J Neurosci*. **40(10)**, 3458-71, 2014

ゾニサミドが神経栄養因子に与える影響の解析

佐野裕美，村田美穂（国立精神・神経医療研究センター），南部　篤

ゾニサミドは元々てんかんの薬として開発された薬剤であるが，パーキンソン病の運動障害も改善することから，現在では抗パーキンソン病薬としても認可されている。これまでの我々の実験で，ドーパミン神経細胞が脱落していくパーキンソン病モデルマウスにゾニサミドを投与したところ，ドーパミン神経細胞の細胞死を防ぐ作用があることが分かってきた。ゾニサミドの神経保護作用のメカニズムを解明するため，ゾニサミド投与が神経栄養因子に与える影響を解析した。その結果，ゾニサミドを投与した野生型マウスおよびパーキンソン病モデルマウスは生理食塩水を投与した野生型マウスおよびパーキンソン病モデルマウスと比較して，線条体および中脳腹側領域において神経栄養因子の含有量が有意に増加していた。ゾニサミドの神経保護作用に神経栄養因子が関わっていることが示唆された。

Sano H, Murata M, Nambu A, Zonisamide reduces nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in a mouse genetic model of Parkinson’s disease. *J Neurochem*. **134**, 371-381, 2015

L-DOPA 誘導性ジスキネジアの病態生理学的解析

Dwi Wahyu Indriani，佐野裕美，知見聡美，南部　篤

パーキンソン病は中脳黒質のドーパミンニューロンが選択的に脱落することに起因する神経変性疾患で，無動や寡動などの運動障害を主症状とする。治療にはドーパミンを補う L-DOPA の投与が有効であり，運動障害が改善する。しかし，長期間の L-DOPA の投与によりジスキネジアと呼ばれる不随意運動が出現する。このジスキネジアの病態生理学的解析を行うため, 6-hydroxydopamine をマウスに投与してパーキンソン病モデルマウスを作製し，このマウスに L-DOPA を連日投与してジスキネジアを誘導した。L-DOPA 投与後のジスキネジアが出現しているとき（on）と L-DOPA 投与後から数時間以上経過してジスキネジアが認められないとき（off）において，淡蒼球外節や黒質網様部から神経活動を記録した。その結果，on と off では大脳皮質運動野を電気刺激したときの淡蒼球外節や黒質網様部における応答パターンが異なっていた。

計算神経科学研究部門

【概要】

計算神経科学研究部門では，神経細胞・神経回路網の非線形ダイナミクスが，脳機能にいかに関わっているかを解明し脳型コンピュータの基本原理を構築することを目指している。中でも記憶や注意などの高次機能の発現に，多安定性，引き込み，カオス，遷移ダイナミクスなど，非線形動力学系の豊かな特質がいかに活かされて

いるかについて，数理モデルによる解析を行い，実験的に検証可能な諸特性を明らかにしてきている。多様な神経活動の時系列データに基づく神経回路網モデルの構築手法や，脳科学ビッグデータの非線形解析手法の開発なども行い，現実に即した数理モデル化・数理解析の方法を探求している。

短期的シナプス可塑性と新しい神経ダイナミクスの描像

香取勇一（東京大学），合原一幸

脳内では多数の神経細胞（ニューロン）が，シナプスを介して結合し信号を伝達することで，多様な神経ダイナミクス，柔軟な情報処理機構を生み出している。近年シナプスの信号伝達強度が様々な要因により短期間のうちに変化することが明らかになってきた。シナプスの信号伝達効率が短時間のうちに大きく増大（促進型シナプス）あるいは減少（減衰型シナプス）する短期的シナプス可塑性の特性は，神経ネットワークのダイナミクス，脳の情報処理に大きな影響を与えると考えられるが，その詳細は明らかではない。我々は短期的シナプス可塑性の影響を数理モデルを用いた数値解析や非線形動力学などの理論解析により検証している。セル・アセンブリ，すなわちシナプスを介して互いに強く結合したニューロンのグループが活動する状態は，脳内での情報処理の基本単位とも解釈することが出来，力学系のアトラクタ状態として特徴付けられる。我々は短期的シナプス可塑性による実効的なネットワーク構造の変化にともない，セル・アセンブリの構成とアトラクタ構造が動的に変化するという描像を提案し，神経ダイナミクスを新しいアプローチで理解しようと試みている。スパイキング・ニューロンを基に構成した神経ネットワークモデルの数値実験や神経集団のダイナミクスを扱うための平均場モデルを用いて，その特性を解析した。特に前頭前野の柔軟な情報表現に関する研究では，ネットワーク構造・アトラクタ構造の変化にともない，局所的な神経ネットワークの情報表現における役割が動的に変化することを示し，生理実験データと併せて検証し，その妥当性を示した。また前頭前野における行動の計画・実行に関する数理モデルの研究では，短期的シナプス可塑性がワーキング・メモリー機能を実現し，系列的動作の生成に重要な役割を担う可能性を示している。

また我々はニューロンの状態が 2 値変数で表されるスピン・モデルを基に短期的シナプス可塑性を持つ神経ネットワークモデルを構築，対応する平均場モデルを導出することで，その特性を多面的に解析している。連想記憶ネットワーク，興奮性・抑制性ニューロンからなるネットワークなど様々な神経ネットワークの特性，分岐構造を解析し，短期的シナプス可塑性が振動現象，記憶パターンの間の状態遷移などの多様な神経活動ダイナミクスを生じさせることを示した。さらに短期的シナプス可塑性を機械学習に応用し，新しい情報処理機構の枠組みを構築することも試みている。

これらの神経ダイナミクスの研究は，生理・医学的な観点からの脳の理解をとおして，関連する疾患の理解・治療などへの臨床的応用の可能性があるだけでなく，脳の柔軟な情報処理装置としての側面を，新しい脳型コンピュータなどへ応用するなど，工学・情報科学的な応用へと発展していくものと期待される。

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門

【概要】

脳形態解析研究部門では，IST Austria に転出した重本隆一教授の後任として平成 26 年 4 月に古瀬が着任し，新しい研究室をスタートさせた。我々の体の様々な器官を形作る上皮は，二つのコンパートメントを隔てるバリアとしてはたらくとともに，それらの間で選択的な物質輸送を行っている。上皮を横切る物質の輸送は，細胞膜上のトランスポーター等と細胞質を介する経細胞輸送と細胞間隙を介する受動的な傍細胞輸送に分けられる。このうち傍細胞輸送は細胞間接着装置により制限されているが，傍細胞輸送の特性は各器官の生理機能に応じて異なっており，その調節機構を解明することは上皮輸送研究における重要な課題の一つである。当部門では，上皮細胞に特徴的な構造である細胞間接着装置の構成分子および制御分子群の同定とその機能解析を通じて，上皮における傍細胞輸送の制御とそれに伴う上皮バリア機能形成の分子機構の解明に取り組んでいる。

トリセルラータイトジャンクションにおけるアクチン線維制御

小田裕香子（京都大学ウイルス研究所），古瀬幹夫

上皮には，2 細胞間の間隙以外に，3 つの細胞が接する狭い領域の細胞間隙が存在する。この領域にはトリセルラータイトジャンクション（tTJ）とよばれるタイトジャンクションに付随する特殊な接着構造が観察される。我々は，培養上皮細胞において tTJ の構成分子トリセルリンの発現抑制が細胞間接着形成時のアクチン線維に影響を及ぼすことを見出した。そこでトリセルリンの結合分子の探索を行った結果，低分子量 GTPase である Cdc42 の活性化因子 Tuba を同定した。培養細胞を用いた強制発現実験において，トリセルリンは Tuba 依存的に Cdc42 を活性化した。さらに，Tuba との結合能を欠いたトリセルリンの変異分子はトリセルリン発現抑制上皮細胞のアクチン線維形成異常を回復できなかった。以上の研究から，tTJ の構成分子であるトリセルリンがアクチン線維形成を制御するメカニズムが明らかになった。

トリセルラータイトジャンクションの異常と難聴

東　智仁（University of Michigan），勝野達也（京都大学大学院医学研究科）
北尻真一郎（京都大学大学院医学研究科），古瀬幹夫

我々が同定した tTJ の構成分子アンギュリンファミリー（アンギュリン 1/LSR, アンギュリン 2/ILDR1，アンギュリン 3/ILDR2）の個体における機能を解明するために *Ildr1* 遺伝子欠失マウスの表現型を解析した結果，*Ildr1* null マウスは内耳コルチ器の有毛細胞が生後アポトーシスにより変性することにより重度の難聴を示すことを明らかにした。蛍光抗体法による観察では，野生型マウスのコルチ器の tTJ にはアンギュリン 2/ILDR1 が発現し，アンギュリン 1/LSR はほとんど検出されない。ところが，*Ildr1* null マウスのコルチ器ではアンギュリン 1/LSR が代償的に tTJ に発現していることがわかった。本研究から，聴覚におけるアンギュリン 2/ILDR1 の役割に加え，内耳においてアンギュリン 1/LSR はアンギュリン 2/ILDR1 の機能を補完できないことが示された。

ゲノム編集技術による細胞間接着装置構成分子欠失培養上皮細胞の作製

徳田深作（神戸大学大学院医学研究科），古瀬幹夫

上皮バリア機能における細胞間接着装置の機能解析において，培養上皮細胞は依然重要な実験系であり，発展の著しいゲノム編集技術を培養上皮細胞に適用して特定の遺伝子を不活化させた細胞株を取得する具体的な方法の確立が望まれる。我々は，培養上皮細胞として広く用いられている MDCK 細胞において，TALEN によるゲノム編集と蛍光抗体法によるスクリーニングにより，タイトジャンクションの裏打ちタンパク質である ZO-1 の遺伝子を不活化させたクローンを複数樹立することに成功し，その方法と細胞の表現型を報告した。この ZO-1 ノックアウト MDCK 細胞では，従来の RNAi 干渉法による ZO-1 の発現抑制では見られなかったアクチン細胞骨格の顕著な表現型が見られたことから，細胞間接着装置の構造タンパク質の機能解析におけるゲノム編集技術による遺伝子ノックアウトの優位性が確認された。

大脳神経回路論研究部門

【概要】

大脳皮質は多くの領域から構成され，それらが機能分担をすることで知覚，運動，思考といった我々の知的活動を支えている。大脳皮質がどのようにしてこのような複雑な情報処理をしているかは未だに大きな謎になっている。この仕組みを知るためには，皮質内神経回路の構造と機能を明らかにする必要がある。新皮質回路を構成するニューロンは形態的に極めて多様であることが知られているが，この多様性を理解することが皮質機能の解明には不可欠であると考えている。本部門では，皮質出力がどのように作られるという観点から，皮質局所回路の構築原理を解明することを目標としている。そのために，多様な皮質領域や皮質下構造に投射する前頭皮質を構成する錐体細胞や，GABA 作働性介在細胞のニューロンタイプを，分子発現・生理的性質・軸索投射・樹状突起形態など多方面から同定した上で，これらの神経細胞間のシナプス結合を電気生理学・形態学の技術を組み合わせて調べている。本年度は，抑制性シナプスの細胞表面部位（ドメイン）ごとの構造・作用分化，錐体細胞軸索の投射サブタイプごとの分布様式，錐体細胞から GABA 細胞への入力様式，錐体細胞と GABA 細胞の相互作用で起きる皮質内振動の解析や，錐体細胞の発生系譜解析の条件検討を行った。

大脳皮質錐体細胞に分布する抑制性シナプスの形態・機能分化

窪田芳之，山口　登，畑田小百合，北　啓子，川口泰雄
根東　覚（九州大学）
野村真樹（理化学研究所）
苅部冬紀（同志社大学）
Joachim Lübke（ユーリッヒ研究所（ドイツ））

大脳皮質の多様な抑制性細胞で軸索終末構造を解析したところ，シナプス接合部面積と標的の大きさには非常にきれいな相関があった。一方，単一抑制性細胞の軸索が多様な構造にシナプスを作る場合が多く見られた。実際，主要な抑制性細胞である FS バスケット細胞は細胞体だけでなく，樹状突起シャフト，スパインのいずれにもシナプスしていた。FS バスケット細胞の標的多様性と，シナプス前後部のサイズ整合性の機能的意味を理解

するために，先ず，錐体細胞へのシナプス結合様式を in vitro で解析し，単位接合部面積あたりの抑制性コンダクタンスを求めた。これと，シナプス後細胞の樹状突起分枝・シナプス位置と，各シナプスの後構造サイズ・接合部面積を定量化し，抑制の空間的広がりを検討した。その結果，細胞体抑制が極めて強いことや，樹状突起シャフト・スパインへの抑制作用は弱く，それぞれ近傍や棘突起頭部のみに限局されることが分かった。

光刺激によって誘発される皮質回路のオシレーション活動

大塚　岳，川口泰雄

高次機能に関与する皮質のオシレーション活動の発生機構について，子宮内電気穿孔法を用いてチャネルロドプシン(ChR2)を発現させた脳切片（前頭皮質）を用いて検討した。ChR2 を 2/3 層錐体細胞群に発現させた場合，光刺激によって 5 層錐体細胞と Fast-spiking (FS) 細胞において膜電位のオシレーション活動が観察された。この活動は，錐体細胞間や錐体細胞/FS 細胞間で同期していたが，錐体細胞/FS 細胞間では同期性に時差が見られた。さらに，逆行性トレーサを用いて 5 層錐体細胞の投射先を同定し解析を行った結果，振動活動は特定の錐体細胞サブタイプで観察されることがわかった。また，ChR2 を 5 層錐体細胞サブタイプ特異的に発現させ光刺激を行うとサブタイプに依存して振動活動が発生した。オシレーションの発生に特定の錐体細胞サブタイプと FS 細胞間の結合が関与していると考えられる。

前頭皮質 5 層錐体細胞から抑制性細胞へのシナプス結合特性

森島美絵子，川口泰雄

前頭皮質 5 層には投射先が異なる 2 種類の錐体細胞，橋核投射細胞と対側線条体投射細胞がある。この二種類では，錐体細胞への興奮性結合選択性とシナプス伝達特性が異なる。近年，新皮質 GABA 細胞が錐体細胞に対してランダムに抑制性シナプスを作ることが報告されている。一方，GABA 細胞への興奮性入力様式がシナプス前錐体細胞の種類によって異なるかは不明である。この点を検討するため，逆行性標識法により同定した錐体細胞サブタイプと，GABA 細胞の主要なサブタイプである FS 細胞または LTS 細胞から二細胞ホールセル記録法を行い，興奮性結合様式と伝達特性を解析した。LTS 細胞では錐体細胞サブタイプによって興奮性結合確率に違いがあった一方, FS 細胞ではサブタイプ依存性は見られなかった。前頭皮質 GABA 細胞への興奮性再帰結合様式は，シナプス前錐体細胞，GABA 細胞両方の種類に依存して決定されることが分かった。

大脳皮質興奮性細胞の分類とその細胞系譜

畠中由美子，服部宣子，川口泰雄

大脳皮質興奮性神経細胞の投射は，皮質外・皮質内の 2 つの出力様式に分類することができる。これまでに，これら細胞が，発生初期にはそれぞれ外側，ならびに内側投射を形成すること，外側投射細胞のほうが内側投射細胞よりも早い時間枠で生まれることを明らかにしてきた。しかし，2 つの細胞の誕生日は完全に分離せず，どのような様式で順次産生されるのかに疑問が残った。そこで本年度は，皮質幹細胞からこれら細胞が産生され

る過程を調べるため，脳室帯細胞で時期特異的に遺伝子組換えを誘導できるマウス（Nestin-CreERT2:京大影山・今吉先生より供与）と，相同染色体間組換え(MADM)によって標識されるレポーターマウスを導入した。条件検討の結果，幹細胞にレポーターを散在的かつ時期依存的に発現させることが出来る様になり，細胞系譜解析が可能になった。

錐体細胞サブタイプの軸索層分布様式

植田禎史，川口泰雄

前頭皮質 5 層の錐体細胞は大きく，同側橋核投射細胞（CPn 細胞）と対側皮質投射細胞（COM 細胞）に分かれる。この二つのサブタイプはどちらも，同側皮質領野にも投射する。この二つのサブタイプの間で，前頭皮質内の共通投射領域での軸索終止様式を比較した。一つは，ラット二次運動野(M2)から一次運動野(M1)へのフィードバック投射における軸索分布様式で，それと二次運動野内での分布とを比較した。M2 から M1 への軸索は，特に 1 層から 2/3 層上部に多く見られたが，COM・CPn 細胞の間で深さ方向の分布が異なっていた。COM 細胞の軸索は 1 層下部・2/3 層上部で密だったのに対して，CPn 細胞のものは 1 層上部に多かった。M2 内においても，その COM 細胞は 1 層下部・2/3 層上部を，CPn 細胞は 1 層上部を好んでいた。これらから，標的領野にかかわらず，第 5 層錐体細胞ごとに好んで神経支配する層構造があることが分かった。

心理生理学研究部門

【概要】

認知，記憶，思考，行動，情動などに関連する脳活動を中心に，ヒトを対象とした実験的研究をすすめている。脳神経活動に伴う局所的な循環やエネルギー代謝の変化をとらえる脳機能イメーシング（機能的 MRI）と，時間分解能にすぐれた電気生理学的手法，更には眼球カメラや motion capture による定量的行動計測手法を統合的にもちいることにより，高次脳機能を動的かつ大局的に理解することを目指す。言語・非言語性のコミュニケーションを含む人間の社会行動の神経基盤を明らかにするため，3 テスラ MRI 2 台を用いて，社会的相互作用時の 2 個体同時脳機能計測を行い，共同注意を始めとする共同作業の神経基盤をあきらかにしつつある。これと並行して超高磁場 7 テスラ MRI の導入を進めている。

統合失調症と脳皮質下構造変化の横断的検討 −多施設 MRI 研究−

福永雅喜，岡田直大（東京大学大学院･医学系研究科），越山太輔（東京大学大学院･医学系研究科）
橋本亮太（大阪大学大学院･連合小児発達学研究科）

統合失調症の神経基盤は，未だ不明な部分が多い。注意や感情などの機能のほか，抑制機能や実行機能等の高次処理の役割を持つ大脳皮質下領域との関連が注目されているが，統合失調症におけるこれら脳領域の構造変化に関する報告は一定しない。本研究では，11 施設の健常者 1,683 名および統合失調症患者 884 名の T1 強調 MRI 画像を用いて，大脳皮質下領域構造における体積変化のメタ解析を実施した。統合失調症では，海馬，扁桃体，

視床などで体積減少，淡蒼球，尾状核，被殻などで体積増加を認めた。統合失調症，健常群とも視床，尾状核，海馬，扁桃体などで右側優位，淡蒼球では，統合失調症においてのみ左側優位の非対称性がみられた。淡蒼球は，強調運動や報酬系に関連する部位と言われており，前頭葉との回路が報告されている。淡蒼球の左側優位の体積増加は，統合失調症における神経回路やコネクティビティの側性の異常を示唆すると考えられた。

視覚脱失が線条体外身体領域の形成に与える影響

北田　亮，吉原一文（九州大学病院心療内科），佐々木章宏（理化学研究所），橋口真帆
河内山隆紀（ATR promotions），定藤規弘

高次視覚野には体部位に対し選択的に強く活動する領域（線条体外身体領域, EBA)が存在する。晴眼者のEBAは触覚を用いて認識した体部位に対しても選択性を示すことを応用し，視覚脱失が EBA の形成に与える影響を検討した。視覚障害者が物体模型（身体部位・車・急須）を識別しているときの脳活動を fMRI で測定した。背側部の体部位選択性は失明年齢と無関係であり，晴眼者と差がなかった。腹側部は失明年齢に正相関した体部位選択性を示し，中後頭回では失明年齢によらず体部位選択性が失われていた。これらの結果は，EBA は視覚経験に依存する領域としない領域から形成されていることを示している。本研究成果は The Journal of Neuroscience 誌に採択された。

素材の視触覚の不一致性に関わる神経基盤

北田　亮，佐々木章宏（理化学研究所）
岡本悠子（福井大学子どものこころの発達研究センター）
橋口真帆，河内山隆紀（ATR promotions），定藤規弘

我々の周りにある物体のほとんどが人工物であり，質感を高めるためのコーティングが施されている。そのためレンガに見える壁紙のように，見た目の質感は本物そっくりだが，手触りが全く異なることが多い。では我々はどのようにして見た目と手触りの違いを検知するのだろうか？本実験では，実験参加者が視覚と触覚で物体を知覚している最中の脳活動を計測した。参加者は知覚した刺激の (1)素材が視覚と触覚で同じかどうか(2)方位が視覚と触覚で同じかどうか，について回答した。方位に比べて素材の比較を行っている条件では，側頭葉内側部の活動が見られた。さらに楔前部は視触覚で素材特徴が異なる場合に特異的に強い反応を示した。これらの結果から，側頭葉内側部と楔前部を含む脳内ネットワークが視覚と触覚の素材の情報の比較に重要な役割を果たすことが分かった。本研究成果はNeuropsychologia誌に採択された。

幸福及び悲しみの顔表情による情動伝染の神経基盤

原田宗子，林亜希子（名古屋大学大学院医学系研究科），定藤規弘
飯高哲也（名古屋大学大学院医学系研究科）

顔表情は，他者に自己の感情を伝えたり，他者の感情を推測する上で重要な情報の一つである。これまでに，

他者が感情を表出した顔表情を見た際に，観察者に同じ感情が惹起されることが示されており，情動伝染と呼ばれている。本研究では，fMRI を用いて情動伝染の神経基盤を幸福と悲しみの顔表情の条件間で比較した。解析の結果，幸福な顔表情では悲しみの顔表情と比較して左の前部帯状回がより活動し，悲しみの顔表情では幸福な顔表情と比較して右の上側頭回及び両側の下頭頂葉がより活動することが示された。また，右の下前頭回は幸福な顔表情と悲しみの顔表情とで共通に活動が見られた。これらの結果は，顔表情による情動伝染に共通した神経基盤が存在する一方で，表出された情動の種類によって異なる神経基盤が関与することを示唆している。本研究の結果は Journal of Psychophysiology に投稿し，現在査読中である。

コミュニケーションのオンライン性検出に対応した脳領域：Hypersacanning fMRI を用いて

小池耕彦，中川恵理，角谷基文，岡崎俊太郎，定藤規弘

多くの先行研究が，ヒトはコミュニケーションがオンラインであるか否かに非常に敏感であることを示唆しているが，どの脳領域がコミュニケーションのオンライン性を検出しているかは明らかになっていない。我々は，みつめあいという最小限のコミュニケーション状態を用いて，オンライン性検出に関連した脳領域を描出した。2 名の実験参加者は生理研の 2 者同時記録 MRI 装置に入り，ビデオコミュニケーション装置を介してみつめあいをおこなう（オンライン条件）。また参加者には知らせずに見つめ合い中のビデオ映像を短時間録画しておき，その映像とみつめあう条件もおこなわせた（オフライン条件）。実験参加者は２条件の違いに気が付かなかったにも関わらず，オンライン条件において小脳半球Ⅵ野および前補足運動野が高い活動を示した。この結果は，これらの領域がコミュニケーションのオンライン性検出に深く関わっている可能性を強く示唆するものである。

体動の無意識な同期に対する視界と注意の影響

岡崎俊太郎，吉本隆明，小池耕彦，廣谷昌子(Carleton University)，定藤規弘

複数のヒトが存在する場面において，我々は特定の相手とのみ相互作用しているのか。見つめ合って直立する二者の体動は同期するが，この同期が視界や注意の影響を受けるか調べるため，対面で静立する被験者ペア（38 名 19 組）の体動を重心動揺計を用いて計測した。実験条件は視界条件と注意条件とした。視界条件では視線を相手の前額部か脇に配置したモニタに向けた。注意条件では同モニタに呈示された十字の色変化を数えるか，相手について考えるか，とした。二者間に存在するの因果的影響量は，視界の影響が有意で，相手の体動が中心視野から外れると小さくなったが，目隠しした場合よりは有意に大きかった。一方，相手からの影響に対する注意の影響は非有意で視界と注意の相互作用も見られなかった。

これらの結果から，二者の体動の無意識的な同期は前注意的な視覚体動制御プロセスを基盤としており，視界内に存在していれば引き起こされることがわかった。

系列運動技能の睡眠依存的改善と線条体活動の関連性

菅原　翔，小池耕彦，川道拓東（群馬大学），牧田　快（広島大学大学院）
濱野友希，高橋陽香，中川恵理，山崎英明，定藤規弘

タイピングで見られる手指の系列運動は，繰り返し練習により速く正確に遂行出来るようになる。習得された技能は夜間睡眠により定着し，その際に皮質線条体路が中心的な役割を担うことが報告されている。しかし，皮質線条体路が速度と正確性のいずれの改善に関与しているのかは不明であった。手指の系列運動学習後に 1 時間の昼寝をした群と通常の夜間睡眠を取った群で，睡眠前後の課題成績を比較したところ，両群で有意に速度が速くなった一方，正確さは夜間睡眠群のみ有意に改善していた。また，両側被殻の課題関連活動は，昼寝群では睡眠後低下したが，夜間睡眠群では上昇した。さらに，右側被殻の活動量は，正確さの改善率と正の相関があることが示された。これらの結果から，線条体は夜間睡眠による運動技能の正確性の改善に関与していることが明らかとなった。

運動速度条件の異なる練習の組み合わせによる系列運動技能固定化の妨害

菅原　翔，濱野友希，青木直哉，山崎英明，吉本隆明，定藤規弘

手指の系列運動は練習終了後に何もしなくとも定着し，速度と精度が共に大きく改善する。しかし，練習終了後に起こる定着が練習中に起こる獲得過程とどのような関係にあるかは，未だ明らかになっていない。多くの研究は最大速度での練習を採用しているが，練習条件の違いが定着過程に与える効果を明らかとするため，最大速度と一定速度の練習の組み合わせた実験群と，速度のみに焦点を当てた統制群を設定した。結果として，練習終了時点で実験群は統制群に比べて有意に高い運動精度を示した。しかし，翌日の再テストでは統制群が速度および精度の有意な上昇を示した一方で，実験群では有意な上昇は認められなかった。これらの所見は，速度と精度に焦点を当てた練習を組み合わせることにより，練習終了後に起こる固定化が妨害されることが示唆される。本研究により，練習中の獲得過程の違いが，後の定着過程に影響することが明らかとなった。

日本人英語学習者による統語処理プロセスの神経基盤：fMRI による解明

中川恵理，横川博一（神戸大学），小池耕彦，牧田　快（広島大学）
島田浩二（福井大学），定藤規弘

日本人英語学習者は，Double Object（DO）構文（*give B A*）よりも Prepositional Object（PO）構文（*give A to B*）に対する強い選好性を持つ。また，英語母語話者では同一構文に繰り返し接触した際のプライミング効果は PO と DO で同程度に起こるが，日本人では DO プライミングは起こりにくい。日本人では動詞の直後に間接目的語を置く DO 構文の表象が未完成という仮説を検証するため 41 名を対象に fMRI 実験を実施した。絵の内容を PO または DO 構文で表現するという課題を行ったところ，DO 構文産出開始までの反応時間は PO より長く，PO 構文のみプライミング効果がみられた。また，背側の運動前野および左下前頭回では，PO と比べ DO 産出時に強い活動がみられた。これらは DO 構文を産出する際には PO 構文と比べ余分な処理負荷がかかり，PO からの変換により DO が産出される可能性を示唆している。

描画時における視線先行と書字習熟度の関係

宍戸恵美子（名古屋大学大学院医学系研究科，精神医学分野）
福村直博（豊橋技術科学大学　情報・知能工学系）
尾崎紀夫（名古屋大学大学院医学系研究科，精神医学分野），岡崎俊太郎，定藤規弘

ヒトが線や円を正確になぞって描くような運動の場合，手先位置に関する情報が重要な役割をなす。本研究ではこの視覚―運動協調の仕組みを調べるために，線をなぞるときの腕運動と視線の同時計測を行った。書字習熟度が違う複数の被験者に，顔から約 50cm 離れたディスプレイに提示された軌跡を，手に持ったペンでなぞるように指示した。目標軌跡にはジャーク最小軌道を利用し，ペン先の位置を感圧式のタチパネルで検知した。眼球運動の解析の結果，サッケードのタイミングがペンのスピードに依存することや，サッケードで移動する距離がペンのスピードに依存していることがわかった。ターゲットを早くなぞるように指示すると，正確さが損なわれ，パラメータ間のばらつきが大きくなることがわかった。これらの結果から，ヒトは線をなぞる運動を行うときに，ペンスピードやサッケードタイミングを巧妙にコントロールしていることがわかった。

他者の感情推定時における涙と顔表情の統合に関わる神経基盤

高橋陽香，北田　亮，佐々木章宏（理化学研究所），川道拓東（群馬大学），岡崎俊太郎
河内山隆則（BAIC 脳活動イメージングセンター），定藤規弘

円滑な対人関係を築くために，他者の感情を推測することはとても重要である。感情を正確に推測するためには，一つの社会的情報だけではなく，複数の社会的情報を統合する必要がある。しかし，この統合が脳のどこで行われているかについてはよく分かっていなかった。本研究では，機能的磁気共鳴画像法を用いて，「顔表情」と日常生活でよく観察される強力な社会的情報である「涙」が統合されるときの脳の働きを調べた。その結果，内側前頭前野と後部帯状回が，観察した顔表情と涙の統合に関わることを明らかにした。その一方で，先行研究で他者の感情を推測する時に重要な部位とされている側頭-頭頂領域では統合に関わる証拠は観察されなかった。このことは，脳の内側部と外側部では他者の感情を推測するときの機能的な役割が異なるということを示す。本成果は「他者の感情はどのように推測されるのか」という問いに対する重要な知見となった。

手指の順序運動学習の神経基盤　機能的 MRI を用いた研究

濱野友希，菅原　翔，青木直哉，山崎英明，定藤規弘

運動技能の学習が進むと運動をより素早く，より正確に遂行できるようになる。これまでヒトの運動学習の神経基盤を明らかにするために行われた研究では，神経活動変化が学習そのものに関連するのか，あるいはより素早い，またはより正確な動作に関連するのかの区別は明確ではなかった。この問題を明らかにするため，手指の系列運動学習を用いた機能的 MRI 実験を実施した。その際，最大速度での学習課題と一定速度で同じ運動技能を行う課題を交互に行ってもらい，学習に伴う動作特性の変化による影響を除くため一定速度条件での神経活動変化のみを解析した。結果として，右一次運動野および両側被殻の課題関連活動が，学習が進むにつれて増加した。この所見は，早期の運動技能学習においても技能に関する記憶が，皮質線条体路で表象されることを示唆す

る。本研究により，これまで不明確であった，早期の運動技能学習に関する神経基盤の一端が明らかとなった。

口頭復唱による外国語単語学習定着の促進

青木直哉，菅原　翔，廣谷昌子（Carleton University），岡崎俊太郎，山崎英明
吉本隆明，吉田春世（大阪教育大学），横川博一（神戸大学），定藤規弘

本研究では外国語単語学習時の学習定着における口頭復唱の役割，またその睡眠との関係を検証した。行動実験において，28 名の日本語話者に英語の無意味音声と無意味図形の連合を単語として学習してもらった。そして，単語学習の定着率を確認するために，12 時間後に再テストをおこなった。単語学習の際には (a)聞いた音声を復唱する，(b)音声を聞く，(c)聞いた音声とは無関係の音声(3 桁の数字)を復唱する，の 3 条件で学習してもらった。睡眠の効果を合わせて検証するため，半数の参加者には再テストまでの 12 時間の間に睡眠を取ってもらった。残りの参加者には 12 時間起きたままで過ごしてもらった。実験の結果，口頭復唱と睡眠は独立して単語学習の定着を促進することを示した。本研究によって，単語学習の定着には従来提唱されていた睡眠に依存する過程に加え，睡眠に依存しない過程が存在することが示唆される。

第二次体性感覚野に対する経頭蓋直流電気刺激が痛み感覚に与える影響

小山総市朗，中川　慧（広島大学），定藤規弘，田中悟志（浜松医科大学）

痛みの知覚には第二次体性感覚野 (secondary somatosensory cortex，S2)が重要である。本研究は S2 への経頭蓋直流電気刺激 (transcranial direct current stimulation，tDCS)によって主観的な痛みの強度が軽減するか 13 名の健常者を用いて検討した。研究は三重盲検化，クロスオーバーデザインを用いた。被験者は右 S2 陽極刺激/左 S2 陰極刺激群，右 S2 陰極刺激/左 S2 陽極刺激群，偽刺激群の 3 条件に参加した。tDCS 刺激中と刺激後 10 分間に痛み刺激を与え，被験者に主観的な痛み強度を numerical rating scale を用いて評価させた。痛み刺激は表皮内刺激電極を用いた。結果，刺激中と刺激後 10 分間では，条件間に被験者の痛み感覚に有意差を認めなかった。今後は，S2 への tDCS に対する生理学的影響も検討する。

聞き手の肯定的反応が話し手に与える影響の神経基盤

角谷基文，小池耕彦，岡崎俊太郎，北田　亮，定藤規弘

我々はなぜ会話を楽しむことができるのか？これまでの研究で，自分の行動に肯定的な結果が随伴することで，線条体などの報酬関連領域が活動することが示されている。これに基づいて我々は，「話し手にとって，自身の発話に伴う聞き手の肯定的な反応が報酬として機能することで会話の楽しさが生じている」という仮説を立てた。MRI の中の実験参加者または PC がユーモアを発し，それに対して MRI 外部の聞き手が笑い声という肯定的反応を返すという実験を実施した。その結果，自身が発したユーモアに対して笑い声が随伴したときに主観的嬉しさが最も高く，かつ報酬関連領域である腹側線条体の活動が高くなることが示された。また自分の行動の結果を符号化する内側前頭前皮質の活動が，笑い声を符号化する聴覚野から腹側線条体への機能的結合の強

さに影響することが示された。本研究は，会話の中で他者の肯定的な反応が自身の報酬となる神経ネットワークを明らかにした。

歌唱におけるピッチ制御の学習メカニズム

山崎英明，岡崎俊太郎，菅原　翔，小山総市郎，定藤規弘

正しい音程に合わせることは歌唱を行う上で最も基本的で重要な要素である。本研究では，異なる音高（ピッチ）を繰り返し発声することにより，発声音の精度がどのように改善するかを検討した。被験者に対し，音刺激（教師音 : 2 オクターブ以内から 12 音を選択）に発声音を一致させるピッチマッチング課題を行った。これまでの研究では聴覚運動学習という枠組みで十分に統制された条件で検討したものがほとんどないことから，繰り返し発声を行う実験群と教師音を聴取するだけの統制群に分けて学習経過を比較した。発声音が教師音のピッチからどの程度逸脱しているかを標準化されたエラー率として算出し，学習効果を検討した。現在も計測が継続中であるが，発声音の精度における学習は実際の発声を要すること,普段発声することの少ない高音域に対して学習が起こりやすいこと,翌日まで保持される点などが見られる傾向にあった。

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門

【概要】

平成２６年度は，新たに４名の総研大の大学院生（徳岡広太，中尾弥起，辻本憲吾，Griffin St. Clair）が入学。博士研究員として，Richard Veale, Denis Matrov, 石野誠也が参加した。また，総研大博士課程を修了した加藤健治が博士研究員となった。外国人研究員として Alstermark 教授（スウェーデン・ウメオ大学）, Sooksawate 准教授（タイ・チュラロンコン大学）が長期滞在し，共同研究を行った。また，受託大学院生の澤田真寛（京都大学脳外科）が博士課程を修了した。研究においては，脊髄損傷後の手指の機能回復機構と人工神経接続による上肢運動，下肢歩行運動の機能補綴に関する研究，盲視の神経機構，２光子レーザー顕微鏡による上丘局所回路の研究を継続・発展させるとともに，前頭眼窩皮質の光遺伝学的活動操作による学習機構の研究（小川），大規模シミュレーションによる上丘局所回路の研究（Veale），ゲノム解析による精神神経疾患関連遺伝子保有サルの探索（郷），マーモセットの皮質注意制御回路の研究（Matrov）など，研究領域が広がりを見せてきている。また，伊佐が北米神経科学会（ワシントン）にて数千人の聴衆を前に“The brain is needed to cure spinal cord injury”と題する特別講演を行った。

ヒト精神疾患・高次認知機能解明のための霊長類モデル動物の開発

郷　康広，渡我部昭哉（基礎生物学研究所），山森哲雄（基礎生物学研究所）
大石高生（京都大学霊長類研究所），豊田　敦（国立遺伝学研究所）
藤山秋佐夫（国立遺伝学研究所），伊佐　正

ヒトの高次認知機能やその破綻として現われる精神・神経疾患の本質的な理解には，マウスなどのげっ歯類に代わる，ヒトにより近縁な霊長類モデルの開発が必要不可欠である。ヒトの疾患，特に高次認知機能に関わる病態機序の解明には，そもそもヒト脳との形態や機能分化の程度において大きな差異があるマウス脳やラット脳で得られた結果をヒトに外挿する方法論の限界も指摘されている。一方，ヒトにおいては，病態と遺伝子・分子の相関関係は明らかにできるが，実験的な操作や侵襲的な実験が不可能なため，因果律の解明まで踏み込む事が極めて難しい。そこで，本研究では，マカクザルおよびマーモセットを対象としたマルチオミックス解析を実施することで霊長類モデル動物の開発を行った。具体的には,マカクザル・マーモセットの数百個体規模の全遺伝子配列解析（エキソーム解析）および精神・神経疾患関連候補遺伝子ターゲット配列解析を行うことにより，遺伝子異常を持つ個体や家系の同定を行った。また，精神・神経疾患の分子基盤理解のための標準脳発現アトラス作製のために，マカクザル発達脳発現解析を行った。

マカクザルを用いた半側空間無視動物モデルの確立

吉田正俊，辻本憲吾，澤田真寛，福永雅喜（生理研 心理生理学）
関野正樹（東京大学工学系研究科電気系工学専攻）
金　東珉（東京大学工学系研究科電気系工学専攻）

【目的】半側空間無視とは主に右大脳半球の損傷によって引き起こされる，損傷と反対側の空間の感覚刺激に対する反応が欠如・低下する現象のことを指す。本研究はマカクザルによる半側空間無視の動物モデルの確立を最大の目的とした。

【方法】二頭のニホンザルを使用した。一頭のサルでは頭頂連合野と前頭連合野とを離断するために右上縦束を切断した。もう一頭のサルでは，側頭連合野と前頭連合野とを離断するために右上側頭回を損傷させた。手術はイソフルレンによる全身麻酔下で行い，あらかじめ撮影した核磁気共鳴画像に基づいて，脳溝などの位置を指標として損傷目標部位を決定した。

【結果・考察】回復後に行動評価を行った。ケージ内での行動観察からは，二頭とも顕著な運動麻痺などは見受けられなかった。また，目の前に餌を提示してやると，それを目で追い，顔を向けることができることを確認した。これらのことは視覚，運動機能への直接的な影響がないことを示している。右上縦束切断動物では損傷対側の身体に触れられても反応しない，といった身体無視様の症状が見られた。一方で右上側頭回損傷動物では，損傷側に餌を提示した場合にはそれを長時間無視する空間無視様の症状が見られた。また，核磁気共鳴画像法を用いて構造画像を撮影して，目的の部位に損傷が作成されていることを確認した。また，右上側頭回損傷動物では resting-state fMRI 法を用いることで頭頂連合野と前頭連合野の間の機能的結合が術後に低下していることを示唆する結果を得た。以上の結果はマカクザルが半側空間無視の動物モデルのために有効であることを示している。

刺激ー報酬間連合学習における前頭前野神経回路機能の解明

小川正晃，伊佐　正

前頭前野の一部である眼窩前頭皮質（OFC）は，刺激ー報酬間の連合学習の結果得られたそれらの関係の特異的情報をコードし，報酬関連行動の柔軟な制御に寄与していると考えられている。近年の研究で OFC の神経活動様式は明らかになってきたものの，行動制御に果たす OFC 活動の時間，神経回路特異的な役割は未解明である。本研究は，最先端の光遺伝学法を用いて刺激ー報酬間の連合学習中のげっ歯類 OFC の活動を時間，神経回路特異的に制御し，その活動が行動に及ぼす影響，ならびに，下流の領域の活動におよぼす影響について検討することにより，OFC 神経回路の役割について統合的に明らかにする。

マウスを用いた，条件刺激と報酬の有無の関係が逆転する逆転学習課題において，逆転時の新たに報酬なしと条件づけされた刺激提示時，または，報酬なしの状況を認識する各々のタイミングで OFC 神経活動を抑制したところ，その条件刺激に対する反応行動に効果は認められなかった。しかしながらその後の，新たに報酬ありと条件づけされた刺激に対する反応行動に，OFC 抑制のタイミング特異的，かつ逆の効果が認められた。また，頭部固定のラットを用いて，刺激ー反応行動ー報酬間の関係を学習する課題，ならびに電気生理学法による神経活動記録法の立ち上げを行った。

「盲視」サルにおける視覚—運動変換の皮質神経機構

加藤利佳子，吉田正俊，伊佐　正，池田琢朗（京都大学霊長類研究所），
林　拓也，河原正幸，尾上嘉代，尾上浩隆（理化学研究所 分子イメージング科学研究センター），
高浦加奈（理化学研究所 脳科学総合研究センター），塚田秀夫（浜松ホトニクス）

第一次視覚野(V1)を損傷すると，その障害視野に提示された視覚刺激に対し「見えた」という視覚意識が無いにもかかわらず，その提示位置に手を伸ばしたり，目を向けたりすることが出来る。この視覚意識と視覚運動変換の乖離現象は「盲視」と呼ばれている。我々は，ニホンザルの片側の V1 を吸引除去した「盲視」のモデル動物を作成し，その視覚運動変換に関わる脳領域を明らかにするために，視覚誘導性サッケード課題遂行中の脳血流量を陽電子断層撮影装置（PET）により計測した。結果，V1 損傷前に見られた，V1, V2, V3, V4, STP を含む広範な視覚関連領域における視覚誘導性サッケードと関連した活動が，損傷後には消失した。損傷後には，損傷側の superior colliculus（SC）および MST，両側の lateral intraparietal area（LIP）でサッケードと関連した活動が見られた。そこで，V1 損傷サルの LIP より，微小電極により単一ニューロンの活動を記録した。結果，V1 損傷側の LIP においても，視覚刺激提示後，120~140 ms の潜時で視覚応答が観察された。また，サッケードに関連した活動も観察された。これらの結果から，V1 損傷後には，視覚情報は網膜から SC への直接投射である retinotectal pathway を介して SC 浅層に入り，おそらく視床枕（pulvinar）を介し，MST，LIP へと送られることが示唆された。

In vivo ２光子イメージングをもちいた上丘浅層，側方抑制機構の解明

笠井昌俊，伊佐　正

上丘は，網膜からの視覚情報を直接処理し，眼球運動をはじめとする，orienting movements の生成・制御をになう神経核である。我々はこれまでに，２光子顕微鏡による *in vivo* カルシウムイメージング法により，上丘浅層の細胞集団の視覚応答を記録することに成功してきた。

空間的に離れた２点の刺激を提示した場合，刺激間の距離に応じた興奮・抑制の影響を確認した。これらの結果から，上丘浅層に側方抑制が，細胞集団としても表現されており，メキシカンハット型の中心興奮・周辺抑制が実際に起こっていることを示す結果を得た。

上丘浅層には非常に多くの抑制性神経細胞が存在しており，抑制性細胞がこの抑制メカニズムにどのように関わっているかは不明であった。そこで，GAD67-GFP knock-in マウスをもちいて，興奮性細胞，抑制性細胞の視覚応答パタンを別々に記録し，解析をおこなった。その結果，いずれのタイプもほぼ同様の抑制応答パタンを示すことを明らかにした。さらに，ターゲットパッチクランプ法により，２光子顕微鏡下で，上丘浅層の抑制性細胞を細胞内染色し形態を確認したところ，染色されたほとんどの細胞は，horizontal cell と呼ばれる水平に長い樹状突起をのばすタイプであることが確認された。これらの結果は，上丘浅層における側方抑制が， horizontal cell による long-range の抑制機構によって作られていることを示唆している。

脳梗塞モデルサルにおける大脳皮質⇒筋間の人工神経接続による運動機能の再建

加藤健治，澤田真寛，西村幸男

脳梗塞後の運動麻痺は，皮質脊髄路の障害に起因する。しかしながら，損傷上位に位置する大脳皮質や，下位に位置する脊髄・末梢神経・筋の一部の機能は残存している可能性があり，残存した神経構造間で人工神経接続することで，失った運動機能を再建できる可能性がある。本研究では，脳梗塞モデルサルを用いて，大脳皮質から記録された脳活動依存的な電気刺激を筋へ送ることで，「大脳皮質⇒筋間の人工神経接続」を形成し，傷害された上肢運動制御を再建できるか検討した。人工神経接続は，以下のパラダイムで構成される。(i) 大脳皮質運動関連領野に留置した 45 極の低侵襲性シート状電極より任意の 1 極を選び，そこから記録された脳活動を，運動関連周波数帯域 (high-γ 帯域：80-120 Hz) でフィルタリングする。(ii) high-γ 帯域脳活動における特徴的波形を検出し，検出波形頻度に応じて筋への電気刺激の強度と周波数を調整する。

人工神経接続後，サルは自らの脳活動を変化させながら電気刺激を反復的に増幅・減少させ，随意的に麻痺した筋を運動制御することができた。人工神経接続を施した 20 分間で，手首の力制御タスクのパフォーマンスは有意に向上し，脳梗塞後においても人工神経接続に対して学習できることが明らかになった。また，人工神経接続に用いられる入力信号が，運動前野，一次運動野，一次体性感覚野のどの領域においても，有効利用するよう学習できることがわかった。

これらの結果は，サルが自ら脳活動を変化させて大脳皮質⇒筋間の人工神経接続を学習することで，失った手首運動機能の随意制御を再建できることを示唆している。

Parameterization of Large-Scale Simulations of Superior Colliculus

Richard Veale，Tadashi Isa，Masatoshi Yoshida

We are using data from in vitro slice experiments involving horizontal slices of mouse superior colliculus to parameterize large-scale spiking neuron circuit models of the colliculus. Due to the complexity of the model and large number of hyper-parameters (>30) that we are fitting, we are applying Differential Evolution Markov Chain Monte Carlo (DE-MCMC) methods to the problem, specifically the MT-DREAM-z algorithm. By running 50 million simulations to estimate the most likely parameter distribution that explains the data, we have determined that despite a flat prior, the most likely values for anatomical parameters representing lateral width of dendrites of inhibitory and excitatory cell types in the superficial colliculus match that observed in previous anatomical studies. Specifically, wide-dendrite inhibitory cells that receive input from cells up to 1 cm away, while narrow excitatory cells receiving only from the local 200 μm region. We have furthermore fit other parameters such as synaptic depression and facilitation time constants and weights for the various synapse types in the model, and our future work will focus on understanding the function of these parameters on the behavior of the circuit, and on applying these circuits to predict eye movements and understand visual attention.

皮質盲視野に提示された条件刺激に対する中脳ドーパミンニューロンの応答

高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave（University of Sheffield），伊佐　正

大脳基底核黒質緻密部（SNc）などのドーパミン（DA）ニューロンは連合学習（古典的条件付け）の過程において，応答の対象を報酬から報酬を予測させる感覚刺激に変化させるため，連合学習において重要な役割を持つとされている。しかし，その感覚刺激がどの経路によって伝達され DA ニューロンを駆動しているかはよくわかっていない。以前に我々の研究によって，視覚刺激に対する DA ニューロンの応答には上丘経由の視覚情報が寄与している可能性が示唆された。本研究ではより直接的に上丘の寄与を検証するため，片側第一次視覚野を損傷したニホンザルを用いて古典的条件付け課題遂行中に上丘の不活性化（muscimol の注入）を行い，上丘経由の視覚情報の課題遂行への寄与について検証した。その結果，上丘の不活性化により皮質盲視野に提示された視覚情報を手がかりとする予測的な行動を行えなくなることが判った。これは，古典的条件付け課題の遂行に上丘経由の視覚情報が使用されていることを示している。

モチベーションと運動パフォーマンスを繋ぐ神経因果律の解明

鈴木迪諒，伊佐　正，西村幸男

心すなわち精神と身体の間には密接な関係性があり双方向性に影響を及ぼすと考えられているが，その神経科学的な根拠は不明な点が多い。情動やモチベーションの制御には辺縁系，なかでも中脳辺縁系の関与が指摘されている。中脳辺縁系は大脳皮質および皮質下の領域と大規模な神経ネットワークを形成し，行動の発現や組織化を制御していると考えられているがその全容は明らかとなっていない。そこで我々は，麻酔下のサルを用いて，中脳辺縁系を構成する腹側線条体および腹側被蓋野をそれぞれ電気刺激し，大規模な大脳皮質領域との機能的神経結合を明らかとした。腹側線条体を電気刺激すると，情動やモチベーションの生成に関わる眼窩前頭皮質での神経活動が誘発された。一方で，腹側被蓋野に電気刺激を与えると，眼窩前頭皮質だけでなく，感覚運動野においても神経活動が誘発された。さらに，筋電図の同時記録を行い，腹側被蓋野の電気刺激によって筋活動も誘発されることを見出した。これらの結果は，中脳辺縁系が情動・モチベーションだけでなく運動関連領域の神経活動も同時に操作可能な起源となり，運動パフォーマンスに寄与する神経基盤を示唆している。

随意運動時における皮質活動と体性感覚情報を用いた筋活動推定

西原陽子 [1,2]，梅田達也 [3]，伊佐　正 [1,2]，西村幸男 [1,2,4]
（[1] 生理学研究所　発達生理学研究系，[2] 総合研究大学院大学生命科学研究科
[3] 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 モデル動物開発研究部
[4] 科学技術振興機構 さきがけ）

随意運動中の筋活動は，運動の意図だけでなく外界からもたらされる体性感覚情報が統合された結果として生成される。脊髄前角の α-motoneruon は一次運動野（M1）と体性感覚の 1 次ニューロンである後根神経節（DRG）からの投射を直接ないし間接的に受けており，筋活動パターン生成のための最終共通路とされている。本研究では，随意運動時における筋活動に対する下行性入力と末梢体性感覚入力の貢献度を明らかにすることを目的と

した。到達把持（reach-to-grasp）運動遂行中の 1 頭のサルから，M1 から 7Ch の electrocorticogram（ECoG），DRG からの 16 個の単一ニューロンの活動，および上肢の 7 個の筋活動の同時計測を行った。M1 と DRG ニューロン活動の両方から，スパース回帰モデルを用いて筋活動を推定し，筋活動に対する M1 と DRG それぞれのついて貢献度を求めた。

その結果，到達把持運動において，M1 が約 76%，DRG が約 24%の割合で筋活動に寄与していることが明らかになった。この結果から，随意運動中に時々刻々を変化する筋活動は M1 からの下行性入力だけでなく，末梢体性感覚入力からの脊髄反射によって作り出されることが示唆された。

脊髄損傷患者に対する上肢筋活動依存的な経脊椎磁気刺激による随意的歩行機能回復の試み

中尾弥起[1]，笹田周作[1]，加藤健治[1]，村山尊司[2]，門脇　傑[3]
吉田　晋[4]，飯塚正之[2]，小宮山伴与志[5]，宇川義一[3]，西村幸男[1]
（[1]生理学研究所 認知行動発達機構研究部門，[2]千葉リハビリテーションセンター，
[3]福島県立医科大学 神経内科，[4]北海道医療大学 リハビリテーション科学部，[5]千葉大学 教育学部）

重度脊髄損傷では上位中枢から腰髄への神経支配が失われ永続的な下肢麻痺をきたす。しかし，歩行に関わる神経回路網が存在する腰髄が損傷されていなければ，上位中枢と腰髄内神経回路網を再接続し損傷領域を越えた神経伝達を行うことで患者は歩行能力を再獲得できる可能性がある。本研究では機能の保たれた上肢筋の随意筋活動により制御される連発磁気刺激を腰髄の歩行中枢へ行う事により上肢筋－腰髄間の人工神経経路を形成し（人工神経接続），随意歩行を再建することを目指している。本年度は上肢筋－腰髄間の人工神経接続を 5 名の重度脊髄損傷者に適用し，歩行機能の回復に及ぼす影響について検証した。

5 名の対象被験者はいずれも受傷から半年以上を経過した慢性期の状態にあった。損傷レベルはそれぞれ第 3 胸髄から第 1 腰髄レベルにわたり，いずれの被験者も 3 ヶ月以上にわたる標準的なリハビリテーションによっても自立歩行は出来ない状態であった。側臥位姿勢で上肢筋―腰髄間の人工神経接続を付加すると，被験者は上肢筋活動によって腰髄刺激を生み出し歩行運動を随意的に制御することができる。この人工神経接続による下肢歩行運動の随意制御を数ヶ月にわたって繰り返しトレーニング効果を検討した。

実験の繰り返しにより 5 名の被験者のうち 3 名で刺激を用いなくても下肢運動を随意的に制御することが可能となった。3 名のうち 1 名は胸髄レベルの不全損傷を負った被験者で，残る 2 名は腰髄レベルの損傷で臨床的に完全運動知覚麻痺と考えられていた。

この結果は上肢筋－腰髄間の人工神経接続により，神経活動依存的な磁気刺激を腰髄へ繰り返しもたらすことで，慢性期重度脊髄損傷者であっても下肢運動を随意的に制御できるまでに回復可能であることを示している。

運動機能回復を支えるモチベーションの神経基盤

澤田真寛，加藤健治，伊佐　正，西村幸男
尾上浩隆（理化学研究所）

脳，脊髄損傷の患者は四肢の運動麻痺だけでなく，抑うつ症状を併発することがしばしば見られ，うつ症状によるモチベーションの減退は運動機能回復を妨げることが報告されている。しかしながら，その機能回復を支えるモチベーションの神経機序について未だ不明である。近年，われわれは脊髄損傷後に，モチベーションを

制御するといわれる側坐核(NAc)を不活性化することによって，一度回復した手指の巧緻性が再び障害され，一次運動野(M1)の活動も大きく変化すること示した。そこで，NAc と M1 の活動の因果関係をさらに詳細に調べるため，2 頭のサルにおいて脊髄損傷後の機能回復過程のさまざまな時期で，精密把持運動中の NAc と M1 の電気的活動を同時記録し，情報の流れを Granger causality 法にて解析した。すると，脊髄損傷前は NAc から M1 への causality はみられなかったが，機能回復中に NAc から M1 への 115 から 400Hz での causality が上昇し，機能が完全回復すると再び認められなくなった。この機能回復中における causality の一過性の出現は NAc の不活性化によって M1 の活動が変化するという結果と一致しており，Vst が M1 の活動を生成することが脊髄損傷からの機能回復に重要であることを示唆している。

サル皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復における脊髄固有ニューロンの寄与の検証

當山峰道，伊佐　正
木下正治（弘前大学），松井亮介，渡邉　大（京都大学）
加藤茂樹，小林和人（福島県立医科大学）
里宇明元（慶應義塾大学）

マカクザルには，大脳皮質一次運動野から脊髄運動ニューロンへの下行路として，直接経路と頚髄中部に存在する脊髄介在ニューロン（PNs）を介した間接経路の少なくとも 2 つが存在する。このうち，系統発生的に新しい直接経路が手指巧緻性に重要であると考えられてきた。しかし皮質脊髄路を第 5 頚髄で切断すると 1-3 ヶ月後に精密把持は回復する一方，第 2 頚髄で切断すると回復しなかった。この結果から，手指巧緻性の回復に PNs を介する間接経路の寄与が示唆されていた。そこで我々は，PNs が回復に寄与することを明らかにするため，第 5 頚髄で皮質脊髄路を損傷したサル 4 頭に対して，ウイルスベクター2 重感染法により PNs に選択的に遺伝子導入を行い，破傷風毒素を発現させることでその神経伝達を阻害した（Kinoshita et al. Nature. 2012）。そのうち 2 頭は，PNs の神経伝達を遮断した状態で皮質脊髄路を損傷させ，その後も PNs を阻害し続けた。すると 3-4 ヶ月半経っても精密把持は回復しなかった。他の 2 頭は，皮質脊髄路を損傷させた 1 ヶ月後に精密把持が回復した状態で PNs を阻害した。すると一旦回復した精密把持が部分的に障害された。これらより PNs が皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復に寄与することが示された。

経路選択的光遺伝学的活性化による上丘出力系回路の操作；指向運動と恐怖反応の誘導

Thongchai Sooksawate（Chularongkong University），小林憲太，伊佐かおる，伊佐　正

これまでの研究により，げっ歯類においては，中脳上丘から下流の脳幹網様体への出力経路のうち，反対側の網様体へ投射する経路は視覚刺激等に対して視線を向ける指向運動を制御しているのに対し，同側の網様体へ投射する経路は逃避行動を制御しているという仮説が提唱されてきた（Redgrave ら，1986）。前者は上丘の尾外側部に由来し，後者は吻内側部に由来するとされてきたが，その実験的証拠はあくまで間接的だった。本研究では，これら中脳上丘からの出力経路を，ウィルスベクターのみを用いて経路選択的にチャネルロドプシンを発現させて活動を操作する技術の開発を行い，それによってそれぞれの経路選択的に特異的な行動が観察されるかどうかを観察することで，上記の仮説を検証することを目的とした。

まず，AAV-CAG-ChR2-tdTomato をマウスの上丘右側に注入し，5-7 週間後に波長 473nm の青色レーザーを

500μm と 250μm の 2 種類のファイバーを用いて上丘で照射した。すると，細いファイバーで上丘尾外側部を刺激した際には，反対側への指向運動が誘発され，吻内側部の刺激では逃避行動が観察された。一方で，太いファイバーで上丘全体を強く刺激した際には，竦むような逃避行動が観察された。以上の結果から，細いファイバーでの刺激は，それぞれの視野空間の特定の場所への指標の出現と解釈され，その部位への頭部の指向運動や逃避行動に示される恐怖反応が誘発されるのに対し，太い光ファイバーでの刺激は巨大な捕食者が近づいてきているという情報と解釈され，動きを止めるような恐怖反応を誘発するのではないかと考えられた。

次に第二段階として，左右いずれかの橋・延髄網様体に逆行性のウィルスベクターである FuGC- MSCV-Cre を注入し，その後右側上丘に AAV-EF1a-DIO-ChR2-YFP を注入し，交叉性或いは非交差性の上丘―網様体投射経路に選択的にチャネルロドプシンを発現させた。これらのマウスの右側上丘に波長 473nm の青色レーザー光を照射したところ，交差性経路を刺激すると左側(上丘の反対側)への指向運動，非交差性経路を刺激すると逃避行動を選択的に誘発することができた。また，ウレタン麻酔下でレーザーを照射すると，上丘中間層のニューロンがレーザー刺激にロックして発火応答していることが確認できた。このようにして，遺伝子改変動物を作製することなく，2 種類のウィルスベクターの組み合わせのみで，経路選択的な光遺伝学的手法による活性化に成功し，さらに行動に影響を与えることにより，Redgrave らの仮説を実証できた。

生体恒常機能発達機構研究部門

【概要】

当部門は，発達および障害回復の過程で一旦形成された機能的神経回路に起こる再編成のメカニズムを回路レベルで解明することを主な目標に研究をしている。そのため，３つのサブテーマについて研究を進めている。

１）フェムト秒パスルレーザーを用いた多光子励起法を利用して，マウス脳内微細構造の可視化技術の確立および技術向上をおこなった。これらの技術を利用して，発達期や障害における大脳皮質神経回路の変化を検討するために，シナプスの長期変化の観察およびその制御機構の解明を行っている。慢性疼痛発症および痛覚過敏の持続に係わる大脳皮質感覚野の神経回路再編をシナプスレベルで検討するとともに，これらのシナプス再編に対するアストロサイトによる制御について検討を行っている。２）脳内免疫細胞であるミクログリアについて，発達期の大脳皮質バレル野におけるシナプス形成への関与について生体イメージング法を用いて検討を行っている。３）GABA 応答の脱分極―過分極を制御している細胞内クロール濃度を調節する分子 KCC2 の過剰発現マウスを用いて，運動学習能力獲得への関与，運動神経損傷後の再生過程でおこる GABA 興奮性と軸索再生関連を検討している。人事として，本年度中に和氣弘明准教授，江藤圭特任助教が着任した。加藤大輔氏が特別訪問研究員として加わった。また，戸田拓弥氏が大学院博士後期課程に入学した。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いた慢性疼痛形成期における大脳皮質体性感覚野神経回路再編

江藤　圭，石川達也，金　善光（Kyung Hee Univeristy　韓国），鍋倉淳一

慢性疼痛時における大脳皮質神経回路の再編機構を２光子顕微鏡や電気生理学的アプローチを駆使して行った。

末梢感覚神経の部分傷害後に末梢感覚神経の過剰活動と痛覚過敏が持続する。痛覚過敏形成時に限定して，大脳皮質錐体細胞のシナプスの新生・消失が更新し，その後ターンオーバー率は傷害前の値に戻るが感覚過敏は長期にわたり持続する。慢性疼痛時には，大脳皮質感覚野細胞の活動の増強が観察された。これらから，慢性疼痛時における大脳皮質感覚野における回路再編によ

る過剰応答回路の形成が持続する慢性疼痛発症の一因である可能性が示唆される。さらに，大脳皮質神経回路再編時にはアストロサイトの活動が亢進していることが判明し，アストロサイトによるシナプス再編の関与について検討を行い，アストロサイトから放出されるトロンボスポンジンが時期限定のシナプス再編を惹起していることが判明した。また，障害末梢側と同側大脳皮質においてもアストロサイト活動と抑制性神経活動が上昇していることが判明し，同部位におけるシナプス再編と障害末梢と対側末梢に発症するミラーペインとの関連を検討している。

細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能

Andrew Moorhouse（University of New South Wales，オーストラリア）
中村佳代，戸田拓弥，鍋倉淳一

未熟期および虚血や痙攣時に GABA は興奮性伝達物質としての作用を獲得する。GABAA 受容体の細胞応答はに内蔵するチャネルを流れる Cl^-イオンの向きによって決定されるため，細胞内 Cl^-イオン濃度によって GABA は興奮性／抑制性が決定される。この細胞内 Cl^-イオン濃度は神経細胞特異的に発現する K^+-Cl^-トランスポーターである KCC2 によって主に制御されている。ドキシサイクリンにより KCC2 発現をコントロール可能な tetO マウスを作成し，CaMK2-tTA マウスと交配し，大脳皮質および海馬錐体細胞における KCC2 の発現をコントロール可能なマウスを作成した。現在，痙攣モデル動物を用いて，KCC2 強制発現により痙攣の軽減が可能なのか検討を加えている。また，視床下部に存在するゴナドトロピン放出ホルモン産生神経細胞（GnRH ニューロン，成熟期でも GABA に対して脱分極性応答を示す）に特異的に KCC2 を強制発現させ，視床下部からの黄体化ホルモンのパルス状分泌の変化，および排卵制御のメカニズムを検討している。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いたミクログリア・アストロサイトによる大脳皮質神経回路再編機構の解析

和気弘明，宮本愛喜子，加藤大輔，穐吉亮平，鍋倉淳一

発達期における神経回路構築・再編を観察する目的にて，幼若期の大脳皮質錐体細胞とミクログリア細胞を 2 光子顕微鏡法による同時可視化する技術を構築した。ミクログリアの樹状突起への接触によりフィロポディアの形成が誘発されることを生体リアルタイムイメージング法を用いて観察した。さらに，ジフテリアトキシンをミクログリアに発達時期特異的に発現させ，ミクログリア細胞の大部分を生後 1 週後期に死滅させると大脳皮質体性感覚野におけるシナプス数の減少が観察され，ミクログリアによるシナプス新生という新たな機能を見出した。また，ミクログリアによる障害神経細胞の軸索のラッピングにより神経細胞の膜電位の過剰脱分極から静止膜電位への戻ることが明らかになり，ミクログリアのよる障害細胞への接触は過剰興奮による細胞死の抑制作用を示すことが判明した。

運動学習獲得時における大脳皮質運動野細胞活動の同調性調節について，オリコデンドロサイト発現蛋白異常遺伝子改変マウスにレバー引き学習タスクを用いて，同領域における軸索および神経細胞のカルシウム上昇を指標として検討している。

生体イメージングのためのデバイスの開発

平等拓範（分子研），澤田和明（豊橋技術科学大），和気弘明，江藤　圭，稲田浩之，鍋倉淳一

2 つのデバイス開発を共同で進めている。分子研の平等准教授が作成した透明アパタイトシートがアパタイトシートが骨と融合し頭蓋骨の一部と置換することにより長期留置脳内観察窓を作成できるのか，検討を行っている。アパタイトシートはレーザー増幅器としても期待できるので，生体装着型レーザーとして期待が持てる。また，豊橋技術大学の澤田教授が開発し改良を加えているイオンイメージセンターの生体適用技術開発を開始しした（CREST 研究；平成 26 年度～平成 31 年度として）。

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

本研究部門は，視床下部による摂食行動の調節と末梢組織における代謝調節機構の解明を目指して研究を行っている。視床下部は，摂食行動（エネルギー摂取）とエネルギー消費機構（栄養代謝）を巧みに調節することによって生体エネルギーを一定に保つ重要な働きを担う。しかし，近年，この調節機構の異常が肥満，糖尿病，高血圧など，生活習慣病の発症と密接に関連することが明らかとなってきた。当部門では，視床下部における生体エネルギー代謝の調節機構を分子レベルで解明し，その分子機構を通して生活習慣病など様々な疾患の原因・治療法を明らかにしたいと考えている。本年度実施した主たる研究課題は次の通りである。１）視床下部室傍核 AMPK による摂食調節機構，２）交感神経系による脂肪組織マクロファージの TNF-α 発現調節機構，３）加齢依存性の体重増加に及ぼす視床下部 SIRT1 の調節作用。

視床下部室傍核 AMPK による摂食調節機構

岡本士毅，箕越靖彦

AMPK（AMPK-acitavted protein kinase）は，代謝センサーとして知られており，視床下部においては摂食調節に関与する。本研究では，視床下部室傍核ニューロンの AMPK による摂食調節作用を調べた。レンチウイルスを用いてマウス視床下部室傍核ニューロンに活性型 AMPK を発現させたところ，マウスは通常食に対して過食となり肥満することを見出した。興味深いことに，このマウスは通常食のような炭水化物中心の食餌に対して過食となり，高脂肪食では過食，肥満とならなかった。マウスを絶食後に再摂食させると，高脂肪食よりも炭水化物食の選択が高まることが知られている。そこで，絶食後の再摂食における炭水化物食の選択行動に視床下部室傍核 AMPK が関与するかどうかを調べた。その結果，絶食によって視床下部室傍核の AMPK が活性化し，さらに AMPK に対する shRNA を室傍核に発現させると，マウスは再摂食においても炭水化物食を選択せず，高脂肪食を選択，摂取した。このことから，絶食後の再摂食における炭水化物食の選択行動に，視床下部室傍核 AMPK が必須であることが明らかとなった。次に，炭水化物食の選択行動に室傍核のどのニューロンが関与するかを調べた。その結果，CRH (corticotropin-releasing hormone) ニューロンが AMPK を介して炭水化物食の選択行動に関与することを見出した。

交感神経系による脂肪組織マクロファージの TNF-α 発現調節機構

唐　麗君，岡本士毅，箕越靖彦

脂肪組織に存在するマクロファージは，脂肪組織内の微小環境において様々な調節を受け，組織内での機能を保つと考えられるが，その作用はいまだ不明な点が多い。これまでの研究において，我々は，交感神経－β2-受容体が褐色脂肪組織（BAT）と白色脂肪組織のマクロファージに作用を及ぼし, TNF-α mRNA 発現を抑制することを見出した。この機構は，正常な脂肪組織において TNF-α の発現量を低値に保つ恒常性維持機構の一つと考えられる。本研究では，白色脂肪組織マクロファージにおいて β2-受容体が TNF-α mRNA の発現を抑制するシグナル経路を調べた。その結果，β2-受容体が活性化すると，protein kinase A（PKA）を介して lipopolysaccharide（LPS）による TNF-α mRNA の発現亢進作用を抑制することを見出した。同じく cyclic AMP の下流シグナル分子である Epac（exchange protein directly activated by cyclic AMP）は関与していなかった。さらに, cyclic AMP は ERK1/2, JNK, NF-κB シグナルを抑制することによって LPS による TNF-α mRNA の発現亢進作用を抑制することを見出した。以上のように，交感神経から分泌されたノルエピネフリンは，白色脂肪組織に存在するマクロファージに直接作用し，β2-受容体-cyclic AMP-PKA を介して LPS による ERK1/2, JNK, NF-κB シグナルの活性化を抑制し, これによって TNF-α の発現を抑制することが明らかとなった。

加齢依存性の体重増加に及ぼす視床下部 SIRT1 の調節作用

佐々木努，北村忠弘（群馬大学生体調節研究所）
唐　麗君，箕越靖彦

NAD^+依存性脱アセチル化酵素 SIRT1 は，近年，加齢に伴う様々な機能異常と関連することが明らかになっている。本研究では，摂食・エネルギー代謝調節に関与する視床下部弓状核 AgRP (Agouti-related peptide)ニューロンと POMC (Proopiomelanocortin)ニューロンに SIRT1 を過剰発現させ，加齢に伴う体重増加にどのような効果をもたらすかを調べた。その結果，POMC ニューロンに過剰発現させたマウスは，交感神経系を活性化し，エネルギー消費を増加させることによって加齢に伴う肥満を防止した。これに対して，AgRP ニューロンに過剰発現させたマウスは，レプチン感受性を高めることによって摂食量を低下させ，肥満を防止した。一方，高脂肪食を摂取したマウスの視床下部弓状核では，SIRT1 の蛋白発現，SIRT1 の活性化因子である NAD^+量が低下していた。以上の実験結果から，視床下部弓状核 SIRT1 は，加齢に伴う体重増加を抑制すること，逆に高脂肪食によって強制的に肥満させたマウスの弓状核では SIRT1 の機能が低下することが明らかとなった。

環境適応機能発達研究部門

【概要】

本研究部門は摂食調節・糖代謝調節機構，肥満・糖尿病の成因を解明するために，全身-脳連関，中枢による摂食・代謝制御，膵島インスリン分泌のメカニズムを明らかにすることを目的としている。本年度実施した主たる研究課題は 1) 末梢投与オキシトシンの迷走神経を介した脳情報伝達，摂食抑制と肥満改善，および，2) Kv2.1

チャネル阻害の併用による GLP-1 関連薬のインスリン分泌促進・血糖改善効果の増強である。

末梢投与オキシトシンの迷走神経を介した脳情報伝達，摂食抑制と肥満改善

岩﨑有作，矢田俊彦

下垂体後葉ホルモンとして知られるオキシトシンは，脳内では神経伝達物質として作用し，摂食行動・社会性行動を制御している。我々は，オキシトシンの末梢投与が，摂食を抑制し肥満を改善することを報告してきた。最近，肥満および自閉スペクトラム症患者に対するオキシトシンの末梢投与（経鼻）の臨床試験が行われている。しかし，血中のオキシトシンは脳内に移行しにくいとの報告がある。そこで，本研究では，末梢投与したオキシトシンの脳への情報伝達経路を明らかにすることを目的とした。

オキシトシンは，マウスから単離した求心性迷走神経細胞を活性化した。さらに，オキシトシンをマウスの腹腔内へ投与すると，求心性迷走神経の投射先である延髄孤束核を活性化し，摂食を抑制した。これらの作用は求心性迷走神経の遮断により消失した。脂肪細胞由来ホルモンのレプチンは食欲抑制・代謝亢進作用を持ち，レプチン抵抗性が肥満の成因に深く関わっている。レプチン抵抗性の db/db マウスにおいても，オキシトシンは求心性迷走神経を活性化し，過食を抑制し，肥満を改善した。

本研究は，オキシトシン末梢投与による求心性迷走神経の活性化が摂食を抑制し，肥満・過食に対する有効な治療経路となることを示している。ヒトでのオキシトシン経鼻投与による肥満および自閉スペクトラム症の治療において，迷走神経が脳への情報伝達の主要な経路となっている可能性が示唆される。

1. Iwasaki Y, et al. ***Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol*** 308:R360-R369, 2015.

Kv2.1 チャネル阻害の併用による GLP-1 関連薬のインスリン分泌促進・血糖改善効果の増強

出崎克也，RauzaSukma Rita，矢田俊彦

Glucagon-like peptide-1（GLP-1）は，食事により腸から放出されてインスリン分泌を促進する消化管ホルモンであり，食後のグルコース誘発インスリン分泌を促進する。GLP-1 が血糖値依存的にインスリン分泌を促すことから，GLP-1 受容体活性化薬（GLP-1 アナログ）や GLP-1 分解酵素（DPP-4）阻害薬等の GLP-1 関連薬は，近年，低血糖の危険性の低い新規糖尿病治療薬として注目されている。

本研究は，マウスを用いた実験から，電位依存性 Kv2.1 チャネルが膵β細胞の GLP-1 受容体シグナル伝達機構に関わっており，Kv2.1 チャネルの軽度の抑制により GLP-1 作用の感受性が亢進し，単独では作用しない閾濃度の GLP-1 アナログがインスリン分泌を惹起することを明らかにした。さらに，Kv2.1 チャネル阻害薬と GLP-1 アナログのそれぞれ低用量の併用投与により，2 型糖尿病モデルマウスのインスリン分泌が飛躍的に増大し，血糖値を低下させることを見出した。

本研究結果は，Kv2.1 チャネル阻害が GLP-1 関連薬の有効用量を低下させ，嘔吐などの副作用を低減させるより優れた糖尿病治療に繋がることを示唆する。

2. Rita R et al. ***Endocrinology*** 156(1):114-123, 2015.

個別研究

個別研究（村上グループ）

【概要】

複数の細胞からなる上皮膜レベルでの水・基質輸送を主眼に研究している。ことに外分泌腺のモデルとして水分分泌の多い唾液腺の輸送機構を研究している。腺レベルでの水分分泌は，刺激開始直後には，細胞内を通過し分泌される水分が大部分であるが，持続刺激中には細胞間隙をタイト結合を越えて輸送される水分量が多くなることを発見し，傍細胞水輸送を重点的に研究している。

細胞構築を破壊せずに，分泌中の生理活動を測定するために，できるだけ摘出血管灌流顎下腺の実験系に限定詞，複数の観測データを重ね合わせて検討している。具体的には Wistar/ST 雄性ラットの顎下腺を麻酔下に摘出し，動脈にカニューレを挿管して血管灌流を行う。また，分泌導管にも挿管し，分泌する唾液を経時的に電子天秤で秤量し，時系列データを微分して分泌速度を求めている。この手法によりタイト結合を破壊せず，傍細胞水輸送と経細胞輸送を分離して観測できる。

現在，東京歯科大学および日本大学と共同で高速共焦点レーザ顕微鏡により，1-2 秒毎の唾液腺腺房の 3D 像解析を進めており，色素の選択，拍動ポンプ振動除去などの技術を開発している。

2014 年 Cape Town で開催の国際歯科研究学会 IADR で meet a mentor のテーブルにつき若手研究者から研究テーマの見つけ方，将来の切り開き方などの質問を受け討論した。

魏飛は 9 月末をもって５年間の大学院課程を修了し，学位を授与され，現在南京に戻り，南京医科大学中西医結合研究所にて助手として勤務している。

唾液分泌における傍細胞輸送と細胞内信号による調節

村上政隆，魏　飛
成田貴則（日大生物資源）
福島美和子（昭和大歯）
橋本貞充，澁川義幸，佐藤正樹（東京歯大）

これまで，唾液腺腺房レベルで傍細胞水輸送を推定するために，共焦点レーザ顕微鏡ステージに血管灌流ラット顎下腺を設置し，mw=500 程度の蛍光物質が細胞間分泌細管に出現することを観測してきた。ことに 3D 再構成画像を回転させ，細胞間隙が display に平行な面で観察できた。その結果，細胞間隙において，蛍光色素は不均一に分布し，basal infolding などの構造により蛍光色素が排除されていることが示された。しかし，細胞間隙を平面として含む 2D 像のムービーを作成し，細胞間隙内の蛍光色素の運動を観察しようとした場合，血管灌流に用いる拍動ポンプの振動が画像の動きに重畳し，色素運動の観察を妨げていた。

１）今回，直径２μm の蛍光ビーズを動脈より導入し腺内に留まっている球形のビーズを３次元的に補足し灌流中の時間経過を追跡する事が可能になった。観測したビーズの運動を３次元画像の中心に固定したムービーを作成し，拍動ポンプの振動による画像のブレを排除した。現在，この方法により細胞間隙の色素運動を観測している。

２）唾液腺刺激中の NO 産生により cyclic GMP を細胞内で増加し細胞内 Ca^{2+}濃度の増加を介して，水分分泌に影響するとされていたが，L-NAME により Nosynthase を阻害しても，水分分泌は影響されない事が判明した。

３）漢方薬，丹参は，単独投与でも水分分泌を緩やかに増加させ，緩やかに減少させる。このとき同様の時間経過で蛍光色素 Lucifer Yellow が唾液に分泌され，傍輸

送の活性化が示唆されている。一方，傍輸送の駆動力の基盤は，動静脈シャントが閉鎖され，微小循環系が開き，腺房周囲の毛細血管の循環が増加すると想定される。一定灌流流速での動静脈圧差の減少が毛細血管循環の増加を示す。丹参投与後すぐに動静脈圧差は低下した。その後水分泌と蛍光色素の分泌が緩やかに増加した。即ち，傍細胞輸送の駆動力が増加しても，分泌は増加せず，傍細胞輸送を増加させるためには　細胞間結合の透過性が増加する事が必要である事が示された。

個別研究（大橋グループ）

【概要】

当研究室では細胞内膜系の生理機能とそれを担うメカニズムをテーマに研究を行なっている。細胞内膜系では，生体膜の分裂・融合によってオルガネラを行き来するメンブレントラフィックにより物質の輸送，分配が行われている。分子は，その機能を発揮すべき細胞内外の正しい場所に送り届けられる。この「古典的な」機能に加え，近年，メンブレントラフィックが，一見無関係な細胞間，細胞内のシグナル伝達において，これまで考えられてきた以上に様々な役割を担っていることが注目され始めた。すなわち，分子の輸送選別が，シグナル伝達の分岐選別に直結しており，細胞内膜系が位置情報を介してシグナル伝達の動的な制御の場を提供していることが，はっきりと意識されている。

我々は，発生過程の形態形成における平面細胞極性（PCP）形成のシグナル制御に注目し，PCP シグナル伝達において，メンブレントラフィックに代表される細胞内膜系の動態がはたす役割と，その背後にあるメカニズムの研究を進めている。PCP シグナルは，内耳の有毛細胞が一貫した方向性を示すように，組織全体のグローバルな極性を感知して個々の細胞の極性を生み出す役割を果たしており，空間情報制御をになう特徴から，位置情報とシグナル制御の重層的関係が興味深い系である。組織レベルと細胞内レベルの時空間情報をつなぐインターフェイスとしての細胞内膜系の役割を解明することが現在の主要テーマである。

細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと発生シグナル制御

大橋正人，木下典行（基生研）

上皮系細胞の細胞内膜系分子の，fluorescence localization-based retrovirus-mediated expression cloning 法による探索をすすめた。得られた分子から，哺乳動物モデル細胞系とアフリカツメガエルの発生実験系を利用し，PCP シグナルを制御する細胞内膜系タンパク質の候補を得た。これまでに，これらの制御機能分子のいくつかについて細胞内局在を規定する配列構造を同定した。また，これらの機能分子の作用が，PCP シグナル下流の細胞骨格制御と関連していることを示唆するデータを得た。現在，制御を担う分子間相互作用の知見を得ようとしているところである。また，タンパク質機能阻害実験系を工夫し，これら制御分子の細胞内局在と機能の相関を解析するとともに，関連する新たな制御因子の探索を可能とするため，実験系の最適化を進めている。

個別研究（毛利グループ）

【概要】

受精現象とは雄性配偶子（精子）が雌性配偶子（卵）を活性化させるという普遍的な現象である。生物学的には精子が卵に近づき卵を活性化させる現象に引き続いて起こる多様な細胞内現象を受精と呼んでいる。しかしながら，受精機構の詳細はいまだに謎に満ちている。どのように精子が卵に近づいてどのように卵を活性化させるのか，その刺激のシグナルは何でどのように卵に伝えられるのか，その後，卵内でどのような反応が引き起こされて発生のプログラムがどのように実行されるのか不明な部分が多い。また，卵が活性化されるためにはどのように雌雄両配偶子が成熟するのかも，まだ謎が多い。普遍的な現象として受精時には卵内の Ca^{2+} が著しく増加することが知られている。哺乳類や鳥類については卵内で細胞内 Ca^{2+} 変化が何によってどのように起こるのかある程度わかってきたが，もっと単純なはずの海産無脊椎棘皮動物ウニやヒトデではまだ不明である。昨年に引き続きミトコンドリアの活性化，ATP の産生について検討し，さらにヒトデ卵母細胞の成熟過程ににについてこれまで調べられていなかった活性電流と細胞内カルシウムの関係について研究を始めた。

ウニ卵受精時のミトコンドリア活性化と一酸化窒素遊離

毛利達磨，経塚啓一郎

昨年度までの研究からミトコンドリア阻害剤 CCCP, FCCP, rotenone, antimycin A, oligomycin などは NO 遊離を阻害した。NO 遊離は Ca^{2+}増加のピーク以降から起こること，また NO 吸収剤 PTIO のよる NO 遊離阻害はミトコンドリア活性化を阻害しないことからからミトコンドリアの活性化は NO 遊離の上流にあることが示唆された。さらに Ca^{2+}遊離とミトコンドリア活性化との関係を詳しく見るために共焦点顕微鏡による Ca 蛍光色素（Ca Green dextran）とミトコンドリア電位依存性蛍光色素（MitTracker Red CMXR）の同時測定を試みた。ミトコンドリア活性化はCa^{2+}増加の後に起こることがはっきりした。他のミトコンドリア色素 JC-1 や TMRE などを用いて CN^-処理によるミトコンドリア活性化を測定した。確かに CN^-によって NO もミトコンドリア電位変化も抑制は起こるがバラつきが大きく詳細に解析することが困難なことがわかったのでこのプロジェクトの中止を決定した。受精時にミトコンドリアが活性化しその際 NO も遊離されるということは確かだとわかった。

ウニ卵受精時の ATP 生成の探査

毛利達磨，井尻貴之，佐藤賢一

ミトコンドリアの活性化に伴い ATP 産生変化との関係を探るため CFP と YFP の FRET-ベース ATP プローブ (ATeam)をウニ卵に注入して受精時細胞内 ATP の変化を測定したところ，増加が見られた。この変化はミトコンドリアの活性化パターンに良く似ていた。CFP と YFP それぞれも受精時には増加傾向を示し，その比 YFP/CFP も増加した。これまで生化学的分析では，受精時には ATP は大きな変化は見られないと報告されている。一方，受精時にウニ卵では細胞内 pH が増加することが知られている。共焦点顕微鏡により詳細に結果を調べ，さらに細胞内 pH の変化を調べて比較をした。残念ながら CFP も YFP も卵の pH 変化と同じくらいの変化に敏感で ATP の増加と認めるには困難だとわかった。しかし，ATP の増加が本当にあるのかどうかを確かめるために ATP 増加を阻害する 2-DG や oligomycin の注射後の受精を確かめる実験を計画中である。

ヒトデ卵母細胞成熟におけるカルシウム遊離機構と活性電流の研究

毛利達磨，経塚啓一郎

イトマキヒトデ卵母細胞成熟過程における媒精刺激に対する細胞内カルシウム遊離機構と活性電流の測定を試みた。イトマキヒトデでは閾値以下(0.02-0.04 μM)の卵成熟ホルモン 1―メチルアデニン処理により成熟途上の表層成熟卵を得ることができる。これまで卵母細胞の成熟度による電位固定下での活性電流については全く報告がなかった。活性電流とは電位固定下における受精時の膜電流であり，ウニ卵では受精時の細胞内外のイオン動態を知る重要な手がかりを与える。ウニ卵ではその一部は細胞内カルシウム依存性であることが知られている。細胞内カルシウムと活性電流の同時測定も試みた。未成熟卵母細胞，表層成熟卵，成熟卵でのそれぞれの活性電流には細胞内カルシウム濃度に対応した特徴的なパターンがあることがわかった。今後更に阻害剤を使った実験など，さらに詳しくカルシウム遊離機構と活性電流の関係について実験を進めているところである。

個別研究（樫原グループ）

【概要】

胎生期の運動神経細胞の生存は，その支配標的器官である筋との結合に依存することは古くよりよく知られている。この依存性は，運動神経細胞から筋へ作用する因子と共に，筋から運動神経細胞へ作用する因子の相互作用によると考えられている。生後，骨格筋は，速筋と遅筋に分化するが，これらに結合している運動神経細胞の種々の電気的性質も変化する。例えば，生後直後では速筋を支配する運動神経細胞と遅筋を支配する運動神経細胞の活動電位に続く後過分極（AHP）の期間に差は無いが，筋の発達に伴い， 遅筋を支配する運動神経細胞の AHP の期間は，速筋を支配する運動神経細胞のそれより長くなる。さらに，遅筋を支配する運動神経細胞の AHP の期間は，運動神経細胞と筋との結合を絶つと短くなり，筋と再支配すると正常に戻る。すなわち，生後において運動神経細胞の AHP の期間は，運動神経細胞と筋の結合に依存する。我々は，この電気生理学的知見に基づいて，生後動物の運動神経細胞の機能分化の支配標的筋依存性を運動神経細胞の AHP に関与する分子発現を手がかりに解析している。

生後運動神経細胞のチャネル発現の支配標的筋依存性

樫原康博，野村智美

生後ラットの運動神経細胞の活動電位に続く後過分極（AHP）に関与すると考えられチャネル分子の発現が，支配する筋に依存するかを検討した。この目的のために，長指伸筋，内側腓腹筋或はヒラメ筋から逆向性に蛍光色素取り込ませることで標識した支配運動神経細胞のチャネル分子の発現及び分布を調べた。次に，成熟ラットの長指伸筋，ヒラメ筋，内側腓腹筋の個々の筋線維を支配する運動神経細胞終末のチャネル発現が，個々の筋線維タイプに依存しているかを検討した。さらに，運動神経細胞終末チャネル発現開始が，筋線維タイプの分化時期に依存するかを幼若期から成熟期の筋で検討した。最後に，これらの運動神経細胞体での AHP 関連チャネルの分子発現が運動神経細胞の筋支配の有無に依存するかを検討した。生後の運動神経細胞のチャネル分子発現が，支配する筋，さらに微細に，個々の筋線維の結合に依存する可能性が示唆された。

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室

【概要】

個体レベルで各種生理機能を研究する際，分子生物学的・発生工学的技術を駆使して作製した遺伝子改変動物が有効である。小実験動物の主流であるマウスでは遺伝子改変技術が確立されているが，体が小さいためサンプルの採取や生理学実験，とくに臓器移植などの外科的手技には向いていない。一方，生物・医学分野の生理学的研究において豊富な実験データの蓄積があるラットでは，近年 ES 細胞株が樹立できたこともあって逆遺伝学的研究への利用が増えている。最近，人工ヌクレアーゼや RNA 誘導型ヌクレアーゼを利用してゲノム配列の任意の場所を削除，置換，挿入する新・遺伝子改変技術が普及してきたので，比較的容易にかつ短時間でノックアウト（KO）/ ノックイン（KI）ラットが作製できるようになっている。遺伝子改変動物作製室では，マウスとラットの両方において新・遺伝子改変技術を提供して KO/KI 動物を作製している。ここでは，フォルスコリン添加がラット ES 細胞株の樹立や生殖系列キメラへの寄与に及ぼす影響を調べた研究について紹介する。

フォルスコリンの 2i 培地への添加はラット ES 細胞株の樹立に有効か

平林真澄

MEK 阻害剤と GSK3 阻害剤を含む 2i 培地でラット胚盤胞を培養すれば ES 細胞株を樹立することができる。数報の公表論文に基づく限り，ラット ES 細胞株の樹立に培地への LIF の添加は必須ではなさそうだが，ヒトやブタではフォルスコリンを添加することにより Naïve な ES コロニーが形成されている。そこで，フォルスコリンの 2i 培地への添加がラット ES 細胞株の樹立にどう影響するか，検討した。フォルスコリンを 2i 培地に添加するとラット胚盤胞の Outgrowth 率が良く，結果的に ES 細胞の樹立効率が高くなった。しかし，フォルスコリン添加の有無によって樹立できる ES 細胞コロニーの形態に差は認められず，各種未分化マーカー遺伝子の発現レベルも同等であった。また，ES 細胞樹立までの培地プロファイルはキメラ個体の作製効率や生殖系列への寄与といった指標にも影響を及ぼさなかった。

代謝生理解析室

【概要】

研究所内外が作成，保有する遺伝子改変マウス及びラットの代謝，生理機能を詳しく解析し，標的遺伝子の機能と行動変異のメカニズムを明らかにすることを目的に本年度より新たに開設された。計測する代謝・生理機能と担当者は以下の通りである。（１）運動系を中心とした，覚醒下での単一ニューロン活動など神経活動の計測　(担当：生体システム研究部門，南部教授)，（２）自由行動下における脳内特定部位での神経伝達物質の分泌計測　(担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門，箕越教授)，（３）フラビンおよびヘモグロビン由来の内因性シグナルを利用した脳領域活動と膜電位感受性色素を用いた回路活動のイメージング（担当：生体恒常機能発達機構研究部門，鍋倉教授），（４）自由行動下における摂食行動，エネルギー消費の計測（担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門，箕越教授），（５）自由行動下における体温，脈拍数，血圧の計測（担当：細胞生理

研究部門，富永教授，鈴木喜郎助教），（６）摘出灌流心臓または麻酔マウスを用いた心機能，循環血流量の測定（担当：心循環シグナル研究部門，西田教授）。当面はマウスの解析を中心に行う。

環境汚染物質による心臓リスク増加のメカニズム

外山喬士，石原博美，西村明幸，西田基宏

水俣病の原因である有機水銀やタバコの煙に含まれる 1,2-ナフトキノンなど，環境汚染物質の多くは親電子性の高い物質である。これらは生体を構成するシグナルタンパク質と非特異的に結合することでタンパク質の構造・機能を変え，シグナル伝達異常を引き起こす。我々は神経毒性を起こさない低濃度のメチル水銀が心臓の圧適応性を低下させることで突然死や心不全のリスクを増加することをげっ歯類の心臓で明らかにした。ラット心臓を摘出し，ランゲンドルフ灌流法により容量負荷に対する心収縮力増加（Frank-Starling）を調べたところ，通常の食餌摂取量の 10 倍程度のメチル水銀を 1 週間曝露しただけでは Frank-Starling 効果に影響はなかった。一方，マウスの胸部大動脈を狭窄し，心臓に強い圧負荷（後負荷）を与えたところ，メチル水銀に曝露されたマウスの約 50%が突然死を起こし，かろうじて生き残ったマウスについても，心拡張を起こさないまま左室機能不全になることがわかった。電子顕微鏡（TEM）を用いてメチル水銀投与マウスの心臓組織の形態観察を行ったところ，ミトコンドリアが過剰に分裂していることがわかった。初代培養ラット単離心筋細胞にメチル水銀を処置したところ，ミトコンドリア分裂促進 G タンパク質 dynamin-related protein 1（Drp1）が強く活性化した。メチル水銀曝露した心筋細胞に機械的伸展刺激を与えたところ，強い細胞死が誘導された。メチル水銀曝露と同じタイミングで Drp1 阻害剤 Mdivi-1 処置すると，機械的伸展刺激による心筋細胞死がほぼ完全に抑制された。メチル水銀に限らず，いろいろな内因性・外因性親電子物質によっても心筋ミトコンドリア分裂が誘導され，これらは求核性の高い硫化二水素（HSSH）を投与することで，ほぼ完全に抑制された。以上の結果は，有機水銀などの親電子性環境汚染物質はミトコンドリア品質管理の異常を起こすことで，心臓リスクを高めることが明らかとなった。さらに，求核物質が親電子修飾を可逆的にすることで心臓リスクを軽減できたことから，生体内求核性の保持を主眼とする新たな創薬ストラテジーの可能性も示された。

環境汚染物質による心臓リスク増加のメカニズム

渡邊成樹（旭川医科大学・腎泌尿器外科）
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

膀胱上皮は蓄尿時から排尿時にかけてダイナミックな形態変化を起こす極めてユニークな組織である。またそれに加えて，伸展刺激を受容した後，ATP などを放出することで周辺の感覚神経にその情報を伝達していると考えられている。我々は伸展刺激を受容し得る TRP チャネルに着目し，膀胱上皮特異的な TRP チャネル欠損マウスに対する *in vivo* cystometry 法，および排尿代謝ケージを用いて排尿行動を観察することによって膀胱機能に対する影響を解析した。その結果，一部の欠損マウスにおいて野生型との有意な違いが観察された。現在その詳細なメカニズムの解析を進めている。

中枢性呼吸調節における TRP チャネルの役割

平田　豊（兵庫医科大学・生理学生体機能部門）
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

中枢性呼吸調節の役割の１つは，換気応答によって生体内の二酸化炭素分圧(P_{CO2})/pH を厳密に調節することであるが，その調節機構の鍵となる中枢 CO_2 および pH センサーの分子実体は未だ不明な点が多い。我々は環境変化を受容しうる TRP チャネルに着目し, TRP チャネル欠損マウスに対する各種CO_2負荷における換気応答の変化を plethysmography 法にて解析した。その結果，一部のマウスにおいて換気応答の違いが観察された。現在はそのメカニズムの解析を進めるとともに，本応答の O_2 濃度変化に対する影響を解析している。

エネルギー消費に及ぼす脱共役タンパク質１と骨格筋 AMPK の調節作用

高木一代，岡本士毅，箕越靖彦

マウスの熱産生組織として，褐色脂肪組織（BAT）の他，骨格筋が知られている。しかし，寒冷曝露に伴う熱産生に，骨格筋での非震え熱産生がどの程度関わっているかは不明である。本研究では，寒冷曝露誘導性熱産生に及ぼす褐色脂肪細胞の脱共役タンパク質（UCP1）と骨格筋 AMPK（AMP-activated protein kianase）の調節作用を調べた。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），両者をかけ合わせ得たマウス（KO x Tg）及びコントロールマウスに寒冷刺激（４℃）を与え，体温とエネルギー消費量（EE）の変化を調べた。その結果，KO x Tg マウスでは体温が低下した。また EE の上昇も他の３群に比べて有意に少なかった。運動量は４群で差は無かった。また，筋電図においても差は認め無かった。以上の結果から, 寒冷曝露誘導性熱産生は, UCP1 および骨格筋 AMPK の両方が関与することが明らかとなった。

ジストニアモデルマウスの病態解析

佐野裕美, 知見聡美，南部　篤
堀江正男，竹林浩秀（新潟大学，医歯学，神経生物･解剖）

ジストニアは筋緊張亢進と不随意運動を特徴とし，治療も難しいことが多い神経難病である。適切なモデル動物がいないことからも，病態解明が遅れている。一方，ジストニンは細胞接着に関係するタンパク質であり，神経・筋組織，上皮組織に広く分布する。今回，新潟大学竹林研究室で，ジストニン遺伝子のアクチン結合部位を阻害した遺伝子変異ホモマウスを作成したところ，不随意運動を生じることがわかった。しかし，肉眼観察だけでは不随意運動の性質を特定することが難しいため，代謝生理解析室で筋電図の解析を行った。

その結果，主動筋と拮抗筋の同時収縮が観察され，本モデルマウスがジストニアに特徴的な筋電図初見を示していることが明らかになった。また，組織学的な解析により，異常ジストニンタンパクが末梢神経，中枢神経に広く発現しており，最初期遺伝子の解析で小脳−視床−線条体路の活動性低下が示唆された。

行動様式解析室

【概要】

マウスの遺伝子の 99%はヒトにもホモログ（対応する遺伝子）があり，さらに遺伝子ターゲティングなどの技術を応用することで，遺伝子を自由自在に操作することができる。マウスでは心理学的な解析をはじめとして，個体レベルでの多彩な解析技術が適用でき，ヒト脳の統合的理解のためのモデル動物として最適であると考えられる。全ての遺伝子の 80%以上は脳で発現していると言われており，脳で発現する遺伝子の機能を調べるためにはその最終アウトプットである行動を調べることが必要だと考えられる。我々は各種の遺伝子改変マウスに対して，知覚・感覚，運動機能，情動性などから記憶学習や注意能力など高次認知機能まで，幅広い領域をカバーした行動テストバッテリーを用いて解析し，各種遺伝子の新規機能の探索を行っている。国内外の多数の研究室との共同研究を行っており，これまでに行動様式解析室として 79 系統，4227 匹のマウスを解析している。この中には，精神疾患のモデルマウスとなるような系統も複数見つかっている。

精神疾患の中間表現型「未成熟脳」のメカニズム解明と制御法の探索

高雄啓三，宮川　剛

これまでに精神疾患様の行動異常を示すマウス系統を多数同定してきた。その中でも特に顕著な統合失調症様の行動異常を示す複数系統のマウスで共通して海馬歯状回の顆粒細胞が擬似的な未成熟状態にあるという「未成熟歯状回（immature Dentate Gyrus; iDG）」と呼ぶべき現象が見られることが明らかになった（Yamasaki et al., ***Mol Brain***, 2008; Ohira et al., ***Mol Brain***, 2013; Takao et al., ***Neuropsychopharmacology***., 2013）。 この未成熟歯状回という現象は統合失調症や双極性気分障害の患者死後脳でも生じていることが示唆されており（Walton et al., ***Transl Psychiatry***, 2012），精神疾患の新たな中間表現型として非常に有望である。また，統合失調症患者では海馬歯状回以外に前頭皮質も擬似的な未成熟状態にあることが示唆されており（Hagihara et al., ***Mol Brain***, 2014），統合失調症を含む精神疾患の発症には脳の様々な領域の細胞の成熟度異常が関係していると考えられる。マウスを用いた研究では，歯状回の成熟した神経細胞が薬の投与やけいれん発作の誘導などによって疑似的な未成熟状態に戻ってしまうこと（脱成熟）も明らかとなっている（Kobayashi et al., ***PNAS***, 2010; Shin et al., ***Bipolar Disord***, 2013）。このような双方向性の成熟度変化は内的・外的撹乱に対する細胞レベルでのホメオスタティック可塑性によって起こっていると考えられる。行動様式解析室では，光遺伝学や薬理遺伝学などの手法を用いて神経細胞の活動性を操作し，その成熟度変化を調べることで海馬歯状回の神経細胞をはじめとする各種の脳細胞の成熟度変化が起こるメカニズムの解明を目指している。また，神経細胞成熟度の制御法を確立することができれば，統合失調症やうつ病などの精神疾患の新たな予防・治療法の創出に大きく貢献すると期待できる。

ヒト炎症性疾患のモデル動物としてのマウスの再評価

高雄啓三，宮川　剛

マウスはヒト疾患のモデル動物として広く使われているが，炎症性疾患のヒト患者で発現変化している遺伝子と，それらに対応する実験的操作を受けたマウスで発現変化している遺伝子との間では発現量の変化倍率の相関は極めて低いという報告が，米国の研究機関を中心とした研究コンソーシアムによって報告された（Seok J,

et al., ***Proc Natl Acad Sci USA***, 2013）。この論文では，ヒトで重篤な炎症が起きた時に発現が変化する遺伝子群はマウスでは全く異なるふるまいをしており，この観点からヒトとマウスはほとんど似ていないと結論していた。この報告はマウスをヒト疾患のモデル動物として使うことの有効性や妥当性などについて大きな議論を巻き起こした。我々は，解析対象とする遺伝子を絞り込み，適切な統計手法と感度の高いバイオインフォマティクスの手法を用いて，以前の報告で解析されたのと同じ遺伝子発現データの再解析を行った。その結果，炎症性疾患に対応する実験操作を受けたマウスモデルで見られた遺伝子発現の変化倍率は，ヒト炎症性疾患患者で見られる遺伝子発現の変化倍率と相関が非常に高く，ヒトとマウスはよく似ている部分があるということが示された（Takao & Miyakawa, ***Proc Natl Acad Sci USA***, 2014）。これにより，マウスはヒトの炎症性疾患のモデルになり得ることをあらためて確認することができた。この研究成果は，炎症性の疾患に限らず，ヒト疾患のモデルとしてマウスを用いて病態・病因の解明や治療法の開発を行う際に，ヒトとマウスの共通している部分に注目して研究を進めることが有効であることを示唆する。

マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用

高雄啓三，宮川　剛

藤田保健衛生大学や京都大学などでの活動を合わせ，これまでに国内外 100 以上の研究室との共同研究で 179 系統 10000 匹以上の遺伝子改変マウスや各種薬物投与マウスなどについて網羅的行動データを取得している。個体ごとの生データはデータベースに登録しており，これらを用いて各種行動の指標となる数値間にどのような関連性があるか，実験における各種のパラメータが行動データに及ぼす影響などについてインフォマティックス的解析を行うことが出来る。このデータベースを活用し，遺伝子改変マウスのバックグラウンド系統として最も多く使われている C57BL/6 J 系統についてのデータをまとめて，実験を行う時間や実験時の週齢，ケージ内の同居マウスの匹数などの各種変数が実験結果に与える影響を解析している。実験を行う時間が活動性に影響を与えることや，週齢が進むにつれて痛覚感受性が鈍くなることなどが明らかとなっている。これらの実験時における各種変数が行動に与える影響を明らかにすることで行動解析のプロトコルの改良や標準化を推進していく。現在，論文発表された 55 系統 3851 匹分のデータおよび各種遺伝子改変マウスの野生型コントロールとして使用された C57B/6 亜系統のマウスのデータ（1965 匹分）についてはデータベース　http://www.mouse-phenotype.org/で公開している。この Web サイトではマウス用行動解析ソフトウェアの公開も行っている。この他，行動実験後の各個体の行動データが付属したマウスの脳や血漿サンプルについてもリソース化を進めている。

多次元共同脳科学推進センター

【概要】

多次元共同脳科学推進センターは，全国の異分野研究者が参加し，脳内の様々な階層で生成されている情報を解析・操作する研究や社会性をもたらす脳活動を明らかにする研究の基盤的技術の研究開発，及び，異分野をまたぐ若手脳科学研究者の育成を行うネットワーク機構を構築し，サバティカル研究者の受け入れも行いながら，研究プロジェクトを推進するとともに人材養成を行う事業を推進している。

本センターは 2008 年 4 月に設置され，自然科学研究機構（生理学研究所，基礎生物学研究所）の複数の教授が併任し運営を開始した。併任教授に加えてプログラムオフィサーとして特任教授を置き，外部研究機関からも基礎的な脳科学及びその関連分野（臨床医学，工学，心理学，倫理学）を専門とする客員教授，客員准教授を選任し，外部の研究機関と連携した研究環境を整え運営されている。

2009 年度には流動連携研究室を新設し，客員教授，客員准教授，客員助教を募集し，サバティカル的な制度を活用した長期滞在型共同研究の推進を図っている。

2012 年度には本センターの脳内情報抽出表現研究室，霊長類脳基盤研究開発室及び NBR 事業推進室を廃止し，霊長類脳基盤研究開発室及び NBR 事業推進室の役割は，発展的に新設された脳機能計測・支援センターにウイルスベクター開発室及び霊長類モデル動物室へと引き継がれた。 そして脳内情報抽出表現研究室を拡大した脳情報基盤研究開発室と社会的脳表現解析開発室を新設した。

さらに，2013 年度には脳科学研究戦略推進室を新設し，昨年度まで認知行動発達機構研究部門において運営していた文部科学省「脳科学研究戦略推進プログラム」事務局業務を引き継いだ。

2014 年度，脳科学戦略室においては，文部科学省脳科学研究戦略プログラム事務局として，プログラム内部会議の運営，公開シンポジウムやサイエンスカフェなど一般国民向け行事の企画・運営，成果に関するプレスリリース支援，広報冊子物の発行などの活動を行った。尚，平成 27 度より脳科学研究戦略推進プログラムの実施主体は日本医療研究開発機構（AMED）となるため，生理学研究所に設置されてきた脳科学研究戦略プログラム事務局の活動は平成 26 年度末をもって終了し，AMED 内の事務局に円滑に業務を引き継ぐ予定である。

〈多次元ブレインストーミング・脳科学新分野探索フォーラム〉

自然科学研究機構新分野創成センターブレインサイエンス研究分野との連携強化を進め, 3 つのテーマでブレインストーミングを実施した。将来の脳科学研究の方向性について,全国の様々な専門家から事前にインタビューを行い,そこで得られた情報にもとづいて，離散的・確率的変動による神経系の情報表現」をテーマにブレインストーミングを行い,新たな脳科学研究の方向性について議論を行った。

〈2014 多次元トレーニング＆レクチャー「ヒト，サル，ラットの脳解剖学から神経回路を観察・解析・操作する技術へ」〉

脳の研究を進めるに当たり, 脳の解剖学的知識は非常に重要だが, 若手研究者や様々な分野から参入しようとする異分野の研究者にとっては十分な講義や実習を受ける機会がない。モデル動物としてマウス，ラット，サルが多くの研究に用いられているが, 異なるモデル動物間やヒトとの種間の解剖学的な比較について学習する機会が殆どない。このような状況を踏まえて,脳の構造と機能に関する講義・実習を実施し，さらに近年急速に進展している脳機能イメージングや神経回路操作技術についての講義をデモを行った。

〈流動連携室の新設によるサバティカル事業の実施〉

今年度は, 客員准教授としてタイ国チュラロンコン大学の Thongchai Sooksawate 准教授がサバティカル制度を利用して滞在し，共同研究を実施した。

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室

【概要】

形態情報解析室では，医学生物学専用超高圧電子顕微鏡（Biomedical-HVEM），低温位相差電子顕微鏡（Cryo-PCTEM），連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）などを使用して，バクテリアや生体組織などの比較的大きな試料の立体形態観察や，細胞，ウイルス，タンパク質などの無染色氷包埋試料からの高分解能三次元構造解析などを行っている。Biomedical-HVEM は，生理研を代表する共同利用実験機器の一つであり，毎年これを利用した研究課題を全国から募集している。平成 26 年度は，細胞から神経組織の観察にいたるさまざまな生体試料の三次元形態研究について，合計 10 課題が採択され実施された。また，Cryo-PCTEM では，膜タンパク質やウイルス粒子の高分解能単粒子構造解析, SBF- SEM では，神経細胞や寄生原虫の立体形態解析などの共同研究が多数行われた。本研究室では，これらの共同研究を通じて，それぞれの課題を達成するための付属装置の開発や電顕画像からの最適な立体再構成法の開発研究も合わせて行っている。

超高圧電子顕微鏡トモグラフィーによる出芽酵母細胞丸ごとの超微形態解析

村田和義
江崎雅俊，小椋　光（熊本大学発生医学研究所）
荒井重勇，山本悠太，田中信夫（名古屋大学エコトピア科学研究所）

細胞や組織などを丸ごと一つ超微形態解析することは，生物電顕の一つの目標である。我々は，生理研の超高圧電子顕微鏡 H-1250M と名古屋大学に新しく導入された 1000kV 反応科学超高圧電子顕微鏡 JEM-1000K RS とを用いて，厚さが 3 μm を超える出芽酵母 1 固体の樹脂切片試料を TEM と STEM で観察した。そして，STEM では従来の TEM よりも明瞭なトモグラフィーによる細胞丸ごとの立体像が得られること見いだした。

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae*（全長約 3 μm）を培養後，集菌してグルタールアルデヒドならびに過マンガン酸カリウムで固定して，樹脂に包埋した。そして，細胞一つが入るサイズの~5μm の厚さで薄切片を作製し，これをダブルメッシュに挟んで超高圧電子顕微鏡に装填し，加速電圧 1000kV の TEM と STEM（明視野 BF／暗視野 ADF）で像を取得して，それぞれの連続傾斜像から酵母一個体を含む三次元再構成を行った。

その結果，STEM 像およびそのトモグラフィーからの断層像では, TEM 像に比べてよりシャープで高いコントラストの像が得られた。特に STEM-BF において顕著であった。三次元再構成像からは，ミトコンドリアなどの酵母オルガネラの空間構造を明らかにすることができた。

Murata K, Esaki M, Ogura T, Arai S, Yamamoto Y & Tanaka N (2014). Whole-cell imaging of the budding yeast Saccharomyces cerevisiae by high-voltage scanning transmission electron tomography. Ultramicroscopy 146, 39.

連続ブロック表面走査型電子顕微鏡によるマラリア感染赤血球の三次元形態観察

宮崎直幸，村田和義
坂口美亜子，金子　修（長崎大学）
藤岡　壽（ケースウェスタンリザーブ大学）

マラリアは, 年間 70 万人の死者が報告されている蚊媒介性の病原原虫性感染症である。マラリアの原因となる原虫は，蚊の刺咬の際に蚊の唾液と共にヒトの血中に侵入する。ヒト体内に侵入したマラリアは血流によって速やかに肝臓に移行し，肝細胞内で増殖したのち，血中に放出され赤血球での増殖サイクルに移行する（赤内期）。赤血球に侵入した原虫は, 赤血球内でリング（輪状態），トロフォゾイト（成熟栄養体），シゾント（分裂体）へと形態を変えながら成熟・分裂し，分裂した多数の原虫は赤血球を破壊することで血中に放出される。このように，マラリア原虫は，蚊とヒト体内で増殖する複雑な生活環をもち，その過程で形態を多様に変化させる。

本研究では，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（Serial block-face scanning electron microscopy: SBF-SEM）を用いて，熱帯熱マラリア（P. falciparum）の赤内期の各ステージにおける感染赤血球の連続断層像を取得し，その連続断層像から３次元構造を再構築した。そして，３次元形態の定量解析を行った結果，原虫が赤内期の増殖過程においてどの様に原虫の形態が変化しているのかということが詳細に分かった。

生体機能情報解析室

【概要】

ニホンザルを実験対象として，随意運動や意志・判断・学習・睡眠などの中枢神経機構についての研究を継続している。大脳皮質に埋め込まれた電極から記録されるフィールド電位の解析を行った。

多光子顕微鏡室

【概要】

多光子顕微鏡室では，主に 2 光子蛍光顕微鏡や 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いて研究を推進している。2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いることで，脳組織等の組織深部においても，細胞やシナプス内で起こるシグナル伝達や分子間相互作用などの生化学反応をを高空間分解能でイメージングすることができる。この方法を用いて，シナプス内の生化学反応を可視化することにより，シナプス可塑性機構を調べている。また，顕微鏡を軸とした最先端の光学技術に加え，新規蛍光タンパク質や光制御可能なタンパク質分子などのプローブの開発も行っており，これらの技術を顕微鏡や電気生理学的手法と組合せることで，神経細胞およびグリア細胞の機能に関する研究を推進している。

FRET プローブのフォールディング効率改善法の確立

柴田明裕，中畑義久，鍋倉淳一，村越秀治

細胞内のタンパク質分子の活性化や相互作用を検出する方法として蛍光共鳴エネルギー移動法（FRET）がよく用いられる。この方法でタンパク質の活性化を可視化するためには，FRET プローブを細胞に発現させる必要がある。しかしながら，蛍光タンパク質を用いた FRET プローブはサイズが比較的大きくなってしまうため，細胞内で凝集してしまうことが頻繁に起こることが問題であった。そこで本研究ではこのような不適切なフォールディングによる凝集が起こらないようにするための方法を確立することにした。まず，フォールディング効率を改善したいタンパク質を鋳型にしてエラー誘発 PCR を行い，赤色蛍光タンパク質の N 末端に融合し，大腸菌に形質転換する。このようにしてライブラリーを作製したのち，大腸菌コロニーの蛍光を観察することにより明るい赤蛍光をもつコロニーをピックアップする。明るい赤蛍光は鋳型の大腸菌内での可溶性が改善されたことを意味する。続いて，変異が導入された鋳型で FRET プローブを作製し，その反応性を確認したところ，反応のバラつきが劇的に減少しており，高感度に分子の活性化を検出することができた。

光応答性 CaMKII 阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用

村越秀治，柴田明裕，安田涼平（マックスプランクフロリダ研究所）

シナプスの可塑性に必須な分子である CaMKII の活性化を光照射依存的に阻害可能な光応答性分子の開発を行っている。これまでに，植物の光受容タンパク質キナーゼである Phototropin1 の LOV2 ドメインに CaMKII 阻害ペプチドを融合さることによって，光制御可能な CaMKII 阻害分子を作製することに成功した。この分子は青色光照射によって，LOV2 に結合していた阻害ペプチドが解離し，CaMKII のキナーゼドメインに結合することで活性を阻害する。現在までに，この分子を用いて，刺激依存的なスパイン形態の変化や長期増強を光照射依存的に阻害できることを確認することができた。今後は，トランスジェニックマウスを作製し，学習における CaMKII の機能を調べる予定である。

光応答性 CaMKII 分子の開発とシナプス可塑性研究への応用

柴田明裕，村越秀治

本研究では，シナプスの可塑性にとって重要な分子である CaMKII を青色光照射によって活性化することができる光応答性分子の開発を行っている。現在までに，CaMKII のヒンジ領域に植物の光受容タンパク質キナーゼである Phototropin1 の LOV2 ドメインを挿入することによって，光制御可能な CaMKII 分子を作製することに成功した。この分子は青色光照射によって，分子構造が大きく変化し，キナーゼ活性が上昇する。今年度はこの分子を用いて，単一スパイン光刺激によってスパイン形態の変化を誘発することに成功した。今後は，AMPA 受容体のリクルートや長期増強が光照射依存的に惹起できるかどうかを調べる予定である。

分子間相互作用検出のための高感度蛍光タンパク質の開発

村越秀治，鍋倉淳一，柴田明裕

本研究では，2 光子蛍光寿命イメージングによる蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の観察を高感度で行うことができる蛍光タンパク質の開発を行っている。エラー誘発 PCR をおこない EYFP に変異を導入し，大腸菌に形質転換しライブラリーを作製したのち，大腸菌コロニーの蛍光を観察することによりスクリーニングを行った。これによって，従来 FRET のアクセプターとしてよく用いられてきた sREACh と比べてフォールディング効率の優れたプローブを得ることに成功し，ShadowG と名付けた。今年度はこの分子の吸光計数，量子収率，スペクトル測定を行い，さらにいくつかの既存の FRET プローブに応用することにより，この蛍光タンパク質が極めて優れた特性を持っていることが確認できた。

ウイルスベクター開発室

【概要】

ウイルスベクターは，げっ歯類から霊長類に至まで広範な哺乳類に適用可能な非常に優れた遺伝子改変ツールである。ウイルスベクター開発室では，現在主に研究利用されているアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターあるいはレンチウイルスベクターの大量精製システムが確立しており，これらのウイルスベクターの効率的な提供体制も整備されている。本研究室は，ウイルスベクターの提供拠点としての役割を担い，国内外の研究機関からの要望に応じて高品質なウイルスベクターの提供を行うことによって共同研究を推進している。また，これらのウイルスベクターを駆使して，脳の複雑な神経回路網を構成する特定神経路の機能解析に取り組んでいる。

脳機能解析に有用なウイルスベクターの開発・提供と共同研究の推進

小林憲太

国内外の研究室からの要望に応じて，延べ 180 件のウイルスベクターの提供を行い，共同研究を進めている。共同研究の中には，今年度に論文として発表されたものや，投稿中のものなども含まれており，引き続き活発な共同研究を推進する。また，新たな高頻度逆行性レンチウイルスベクターとして NeuRet（FuG-E）ベクターを開発した。このベクターは，大脳皮質-線条体路において，従来の NeuRet（FuG-C）ベクターよりも高い逆行性の遺伝子導入効率を示すことが分かった。

特定の神経路あるいは神経領域の機能解析

小林憲太

AAV ベクターと NeuRet（FuG-E）ベクターを組み合わせた二重遺伝子導入システムを利用することにより，大

脳皮質−線条体路において特異的に低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho の活性を抑制することに成功した。現在，大脳皮質−線条体路における Rho の機能解析を進めている。

霊長類モデル動物室

【概要】

平成 14 年に開始され，自然科学研究機構が代表機関となって京都大学霊長類研究所（分担機関）と共同推進してきた文部科学省補助事業ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）「ニホンザル」は，優れた認知能力を持ち，我が国の高次脳機能研究に不可欠なモデル動物であるニホンザルを，病原微生物学的にも安全かつ付加価値の高い実験用動物として繁殖育成し，国内の研究者を対象に安定的に供給する体制を構築することを目的としている。事業推進の柱として平成 26 年度は以下４つの業務を行った。

（１）研究用ニホンザルの繁殖・育成体制の整備

事業集約のために（年間 80〜90 頭を生産して年間 70 頭を出荷する体制へ移行），生理学研究所の繁殖事業を停止した。既に平成 25 年度の 2 月からオスとメスの隔離作業を開始しているが，隔離前に妊娠した個体がいるため，平成 26 年度も 21 頭の仔ザルが生まれた。

（２）研究用ニホンザルの供給事業の実施

提供数については，34 件 100 頭の応募があり，当初 85 頭としていた目標値は達成できたと思われた。提供予定の 100 頭は 3 回に分けて分担機関で検疫後出荷する予定であったが，生理学研究所の繁殖コロニーにおいて SRV 感染症が発生したため，3 回目の出荷 42 頭（生理学研究所の個体）を中止・延期とした。そのため，年度内の提供は 58 頭（代表機関 31 頭，分担機関 27 頭）となり，残りの 42 頭は平成 27 年度に分担機関から出荷の予定である。

（３）研究用ニホンザルの組織試料提供の実施

リソース事業がより広く周知されるに伴い，血液などの生体試料を要望する研究者からの問い合わせが増えたため，平成 26 年度からは生体試料の提供を試験的に開始した。生体試料の確保や輸送方法など解決すべき課題が多くあるため，年度内では血液サンプルと臓器の一部しか提供できなかったが，来年度以降も問題の解決を図りつつ，試験的ではあるが提供を続ける。

応募数 ： 15 件（血液 5 件，臓器 3 件，神経系 1 件，皮膚 1 件，全身 1 件，後肢 1 件，手 2 件，検疫データ 1 件）

（４）プロジェクトの総合的推進

プロジェクトの円滑な運営のために運営委員会を 4 回開催した。供給検討委員会を開催して（6 月，9 月，12 月（書面会議））応募書類の審査結果を運営委員会へ報告すると共に，申請書類の訂正・質問をとおして申請者のニホンザル実験・飼育環境の改善に貢献した。ＳＲＶ感染症が発生したため，1 月に疾病検討員会委員を開催した。また，B ウイルスワーキンググループを設置して飼育管理の方法を検討した。

岡崎統合バイオサイエンスセンター

オリオンプロジェクト
生体制御シグナル研究部門

【概要】

外界には何十万とも言われる多種多様な化学物質が存在し，動物はそれらを嗅覚または味覚の化学感覚系を用いて認識している。嗅覚は，動物の持つ最も優れた化学センサーであり，例えば，人間の鼻は 1 兆種以上の匂いを嗅ぎ分けることができ，イヌの鼻の感度は，ヒトのおよそ 100 万倍であると言われている。匂いの識別過程ではまず，匂い物質が嗅神経細胞表面に分布する匂い受容体と結合する。しかし培養細胞で再構成した匂い受容体は匂い物質に対して，鼻のような高感受性やリガンド選択性を備えておらず，嗅覚の優れた特性に関わる分子基盤は不明である。

当研究室は，末梢における匂い認識の分子基盤の全容解明を目的とし，2014 年 3 月に発足した。近年，受容体表面を覆う嗅粘液やリンパ液が，匂いの認識に関わることが注目されつつある。このような分泌成分には数多くの機能性分子が含まれていることがわかっているが，現在の微小加工技術を用いても嗅覚器表面で構成される気液界面を再現することができないため，匂い認識における嗅粘液の機能はほとんどわかっていない。現在，細胞外構成成分の匂い認識における役割を明らかにするために，嗅覚器表面を模した遺伝子再構成系の開発を進めている。

匂い認識における嗅粘液の役割の解明

佐藤幸治

これまで哺乳類培養細胞を用いた嗅覚受容体の再構成系では，マイクロメータースケールでの気液界面の制御ができなかったため，匂い刺激は匂い物質の水溶液を用いて行われていた。以前より，この手法では生体の嗅覚器が行う様な，気体状匂い分子に対する特性が解析できないことが指摘されていた。また，この方法論で測定される嗅覚受容体の匂い物質に対する濃度閾値はおよそ nM レベルであり，行動実験で見られる様な嗅覚の高感受性を説明するには不十分であることから，生体での特性を再現できる遺伝子再構成系が求められていた。そこで本研究では微小電気機械システム技術を用いて，嗅覚受容体を発現した培養細胞に気体状匂い刺激を行う装置を開発した。この技術を用いて受容体と匂い物質の対応関係を調べたところ，嗅粘液構成成分が匂い物質の選択性に影響を与えることが明らかになった。現在，装置を改良し，スループット性を高めることを検討している。今後，開発した装置を用いて，匂い認識における嗅粘液の役割を明らかにするとともに，嗅覚受容体を利用したバイオセンサー開発へ向けた応用展開を試みる。

光によるカルシウムシグナル伝達系の制御

佐藤幸治

細胞内カルシウムは受精から発生を通じた遺伝子発現制御，神経活動や内分泌など，多種多様な細胞活動に関与する重要なシグナル伝達分子である。本研究では青色光照射により高カルシウム選択性 Orai1 チャネルを活性化させる光スイッチ，BACCS を開発した。BACCS を発現した細胞では，青色光照射により細胞内カルシウム濃度が上昇し，NFAT を介した転写活性が上昇する。今後，光刺激条件とプロモータ活性の検討を行い，立体構築した細胞組織での，光による遺伝子発現制御を試みる。

神経分化研究部門

【概要】

ゼブラフィッシュを用い，脊髄・脳幹神経回路の形成機構および，回路の作動機構の解析を進めている。特定のクラスの神経細胞を GFP 等の蛍光タンパク質により可視化し，それら蛍光タンパク質陽性細胞の発生と機能を追求している。また，チャネルロドプシンやハロロドプシンなどの光遺伝学的ツールを積極的に用いて運動系神経回路の機能解析を進めている。

CRISPR/Cas9 システムによる高効率ノックイン法の確立

木村有希子，東島眞一

CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集は，その簡便さから急速に利用が広がっている。本研究では，ゼブラフィッシュを用いて CRISPR/Cas9 システムによるノックイントランスジェニックフィッシュの作製が可能かどうかを検討した。ノックインフィッシュを作製する際には, ゲノムの目的配列を標的とする sgRNA1 と, ドナープラスミドを標的とする sgRNA2，ドナープラスミド，Cas9 mRNA を受精卵に注入した。効率の良い sgRNA を用いた場合には，5-10%の注入胚で，レポーター遺伝子の発現が，内在性遺伝子の発現領域において幅広く観察された。これらの胚を選択して育てたところ，25%以上という高い効率で次世代にノックインフィッシュを得ることができた。４種類の内在性ゲノム配列を標的としたノックインを試み，それぞれ，特定の神経細胞群にレポーター遺伝子を発現するノックインフィッシュ系統を複数得ることに成功した。今回の我々の結果は，CRISPR/Cas9 システムを用いて，レポーター遺伝子を内在性ゲノム配列にノックインしたトランスジェニックフィッシュ作製の初めての報告である。CRISPR/Cas9 システムを用いたノックインフィッシュの作製は，簡便，かつ高効率であり，今後，トランスジェニックフィッシュ作製の標準的な手法の一つとなると予想される。

胸びれのリズム運動司る神経回路の解析

東島眞一

胸びれは哺乳動物前肢の相同器官であり，シンプルな胸びれの運動は，陸上脊椎動物四肢の運動のプロトタイプと考えることができる。しかし，数多くの屈筋伸筋の複雑な活動からなるほ乳類の歩行運動と比べ，ゼブラフィッシュの胸びれリズム運動は，外転筋と内転筋の左右交互のシンプルな運動からなる。したがって，それを司る神経回路は比較的単純であると期待され，四肢リズム運動を司る神経回路の根源的な理解に迫れるものと期待している。

まず，外転筋運動ニューロン，内転筋運動ニューロン 3 日目のゼブラフィッシュ幼魚を用い，仮想遊泳運動中の外転筋運動神経の活動と内転筋運動神経の活動を，体幹運動神経の活動と同時にモニターした。その結果，仮想遊泳中には，(i) 外転筋運動ニューロン，(ii) 体幹運動ニューロン，(iii) 内転筋運動ニューロンの順に，リズミックに活動することが分かった。この胸びれ運動ニューロンの神経活動がどのようなシナプス入力を受けて作り上げられるかを調べるため，外転筋運動ニューロン，内転筋運動ニューロンの全細胞記録を行った。その結果，双方とも，それらの細胞が発火するフェーズにリズミックな興奮性入力を受けていることが明らかとなった。また，発火すべきでないフェーズにおいては，抑制性の入力を受けていることが分かった。すなわち，リズミックに興奮性入力と抑制性入力を交互に受けることが，胸びれ運動ニューロンのリズミックな神経活動の主たる原因と考えられる。

今後，これら外転筋運動ニューロン，内転筋運動ニューロンにリズミックな入力を送る介在ニューロン群を絞り込んでいく予定である。

動物実験センター

【概要】

動物実験センター（以下「センター」と略す）は，適正な実験動物を用いて再現性の高い正確な動物実験成績を得ることをめざして，実験動物と動物実験に関する四つの柱である管理運営，研究，教育及び社会貢献を適切に行うべくその責務を果たした。

第一の管理運営は，特に微生物学的品質管理の面について，微生物モニタリング，コントロール，クリーニングを行い，その結果，明大寺地区ではラットから *Clostridium piliforme*（Tyzzer 菌）および Trichomonads etc が検出され，そこで微生物コントロールを実施した。山手地区ではマウスから非病原性の原虫が検出され，そこで疫学調査及び飼育管理体制の見直し等を行った。その他に，サル類の受入基準と検疫体制の作成，サル類の定期的健康診断，マウスの検疫業務の強化などを進めた。

第二の研究は，サル類の馴化や下痢性大腸菌及び飼育管理方法について行った。

第三の教育は，主に山手地区の実験者を対象に，利用者講習会を行った。

第四の社会貢献は，研究所外では各種学協会等での理事長，理事，委員等の役割を担っての活動，さらに文部科学省等の行政との間で情報交換等の活動を行った。

【管理運営】

1. 動物飼育数および入館者数

明大寺地区の動物種別の 1 日当たり飼育数は，マウス 4,609 匹，ラット 64 匹，魚類 17,478 匹，両生類 50 匹，サル類 33 頭であった。

山手地区の動物種別の 1 日当たり飼育数は，マウス 3,865 匹，ラット 412 匹，魚類 4,728 匹，両生類 234 匹であった。年間入館者数は 13,626 人（延べ），登録者数 193 名であった。

2. 飼育室の使用状況

明大寺地区の陸生動物の飼育室使用部門数は，17 部門（生理研 14 部門，基生研 2 部門，共通研究施設 1 部門）であった。山手地区陸生動物の飼育室使用部門数は，14 部門（生理研 8 部門，基生研 2 部門，統合バイオサイエンスセンター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。水生動物の使用状況は，明大寺地区の使用部門数は，9 部門（生理研 1 部門，基生研 8 部門）で，山手地区では 5 部門（生理研 1 部門，統合バイオサイエンスセンター4 部門）が水槽を使用していた。

3. 微生物学的品質管理

(1) 微生物モニタリングの項目

センター内及びセンター外（センターの外部にある部門に設置されている飼育室）で飼育しているマウス，ラットを対象し，微生物モニタリングを年に 4 回の割合で定期的に行った。検査項目はウイルス感染症：MHV, Sendai virus, Ectromelia virus, Lymphocytic choriomeningitis virus, SDAV, Hantavirus；細菌性感染症：*Mycoplasma pulmonis*；*Salmonella spp*., *Clostridium piliformis*, *Pasteurella pneumotropica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus pneumoniae*；内部寄生虫：Giardai muris, Spironucleus muris, Trichomonads etc., Pinworms と外部寄生虫を対象に検査した。

(2) 微生物モニタリングの件数

明大寺地区での検査件数は，マウス 141 件とラット 32 件であった。山手地区での検査件数は，マウス 73 件とラット 20 件であった。

(3) 微生物モニタリングとコントロールの成績

1) 明大寺地区ラットでの *Clostridium piliforme*（Tyzzer 菌）汚染事故

A. 経緯

2014 年 4 月 21 日に行った微生物モニタリングで，センター内 205 室のラットから *Clostridium piliforme* 偽陽性が検出され，確認検査を行ったところ陽性と診断された。

B. 防除対策

a. 汚染状況把握

まず，センター内の 204 室と 205 室で飼育されている全てのケージのラット 1 匹から部分採血して検査した。つぎに，205 室は 204 室と前室が同じ飼育室となっていることから，そこで，両室のラットと関連する部門を対象にして，センター外にある部門の飼育室のラット，マウス 1 匹/ケージについても検査した。

b. 疫学調査

センター全体の疫学調査をするため，センター内の

各飼育室に囮動物として，マウスはCBA/NSlcの3週齢，ラットはSlc:SDの3週齢2匹を搬入し，ついで病原微生物の検出感度を上げるため，全ケージから糞便を採取した後に囮動物に暴露させるトランスファーベッディングによる飼育を行った。一か月ごと二ヶ月間，部分採血を行い，*Clostridium piliforme*の有無を調べた。

c. 汚染物消毒と動線管理

飼育室の入口に長靴，踏み込み槽を設置した。白衣，マスク，手袋，キャップを着用して，マスク，手袋，キャップはディスポで廃棄した。白衣は前室に掛けてその都度着脱し，床換え時に滅菌缶に入れて滅菌・洗濯した。消毒薬は塩素系消毒薬を使用し，使用器材や廃棄物は滅菌缶に入れて，高圧蒸気滅菌後に洗浄や廃棄を行った。*Clostridium piliforme*の感染が終息するまで，ラットの搬入，搬出は禁止し，205 室の動線は最後とした。

d. 除去成功

2014 年 8 月までセンター全体を対象にして毎月実施していた微生物モニタリングで *Clostridium piliforme* が全て陰性であることが確認されたことから，同年 8 月に本菌汚染は終息したと結論した。しかし，*Clostridium piliforme*の汚染源及び侵入経路は特定できなかった。

2) 山手地区マウスでの非病原性原虫汚染事故

2014年11月18日に行った微生物モニタリングにおいて，山手地区のセンターSPF2飼育室のマウス1匹から，非病原性の原虫が検出された。SPF2室を対象にして隔離対策を実施し，その後，SPF2室を含むセンター内飼育室すべてに囮動物を設置し，1 ヶ月後に囮動物の微生物モニタリングを行ったが，すべて陰性が確認されたため，2015 年 1 月 13 日に汚染は終息したと結論した。

3) 明大寺地区マウスでの Trichomonads etc.汚染事故

明大寺地区において，センター外にある部門のマウス飼育室 418 室において，定期モニタリングで Trichomonads etc.が検出された。418室を隔離飼育等の微生物コントロールを行い，その後，部門のマウス飼育室418室以外に，さらにセンター内にある同部門が関与しているセンター飼育室333室についても囮動物を設置した。両者について1ヶ月後および2ヶ月後に囮動物の微生物モニタリングを行ったが，すべて陰性が確認されたため，2015 年 3 月 16 日に汚染は終息したと結論した。

4. マウス受精卵凍結胚操作・融解・クリーンアップ実績

受精卵凍結保存は 23 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は2件，融解・移植は5件，それぞれ実施した。

5. 空調機等の補修管理

(1) 明大寺地区での主な工事修理

1) 動物棟 I（本館）の空調機は，経年劣化が原因となり，自動運転では安定した運転が困難となったため，強制的に手動運転を行った。
2) 動物棟 II（新館）の 1，2 階の空調ダンパーが原因不明で落下し，火災報知器が鳴動する誤報があった。
3) 本館 118 室天井温水配管の目くら栓より水漏れした。
4) 台風により新館 333 室壁亀裂部分から雨水侵入があった。

(2) 山手地区での主な工事修理

1) 1 号館設備室の空調用熱交換器の蒸気配管漏れがあった。
2) オートクレーブ 2 号機モーターバルブの交換とオートクレーブ3号機のフレキシブル給水配管に穴があき漏水した。オートクレーブのトラブルは滅菌作業に支障をきたし，山手地区で飼育動物が増加したことも手伝って，飼育管理に重大な影響を与えた。

6. サル類の受入基準と検疫体制

奄美大島で繁殖・育成されている NBR のニホンザルは，京都大学霊長類研究所を経由した後当センターに搬入されることとなったため，センターでのサル類の検疫体制と受け入れ基準を見直した。また，実験者及び飼育者は BCG ワクチン接種歴，ツベルクリン検査結果または胸部レントゲン検査結果，麻疹罹患歴，麻疹予防接種歴，麻疹抗体価を実験動物管理者に自己申告することになった。同時に，マーモセットを適正に飼育できるように，ネコの飼育室を改修してマーモセット用に環境整備を行った。また，マーモセット担当の技術支援員を配置した。

7. サル類の定期的健康診断

サル類の定期的健康診断を実施した。全頭（62 頭）を対象として，血液学的検査，血清生化学的検査，糞便検

査（寄生虫，細菌性赤痢，サルモネラ菌），ツベルクリン反応による結核症の感染検査，B ウイルス抗体検査，SRV 抗体検査・核酸検出，麻疹ワクチン予防接種及びイベルメクチン予防投与を行った。

8. マウス検疫業務の強化と検疫室の整備

マウス導入時に書類審査で導入基準に適合した場合，これまでは直接飼育室に導入していたが，検疫強化の一環として，導入基準に適合した場合でも隔離飼育し，糞便による MHV 検査を行った上で導入することとした。しかし，MHV の糞便検査は外注していることから時間と費用がかかるため，センターで MHV の糞便による PCR 自家検査の検討を行った。同時に，センターで MHV 糞便検査が行える環境を整えるよう整備を進めた。また，明大寺地区検疫室，クリーンアップ室では安全キャビネットを導入，山手地区検疫室では安全キャビネットと個別換気システムを導入して環境整備を行った。

9. 明大寺地区のセンターの改築・改修計画

明大寺地区のセンターが老朽化して空調設備等に多くのトラブルが発生し，飼育環境を適正に維持することが困難となってきたことから，本格的な改修・改築工事をすべく，様々な角度から検討を加えた。その結果，本館をマウス・ラットの SPF 施設に改築，新館を中型・大型実験動物施設に改修することで検討した。検討した改築・改修計画案については，文部科学省とのヒアリングも行い，その結果を踏まえてさらに検討を進めた。

【研究】

1. サル類の馴化期間に関する研究

明大寺地区のセンターでは，搬入されたサル類について約２ヶ月隔離し，この間に臨床症状の観察や，血液，尿及び寄生虫検査等の検疫を行うことにしている。搬入時の輸送の影響によるストレスを重視し，センターへの搬入時と検疫終了時における血液生化学的検査結果を検討した。

2. サル類の下痢原性大腸菌に関する研究

センターで飼育中のニホンザルは，日常の飼育管理で軟便・下痢の臨床症状が比較的多く観察される。下痢の原因は非感染性（過敏性腸症候群）と感染性（細菌性，寄生虫性など）のものがある。近年，非ヒト霊長類の下痢の発症に大腸菌，ヘリコバクター，カンピロバクターの感染が関わることが知られている。そこで，下痢発症ニホンザルの新鮮糞便から分離された大腸菌について，特定病原遺伝子を標的として，マルチプレックス PCR 検査方法による下痢原性大腸菌の疫学調査を行った。

3. 飼育管理方法に関する研究

(1) Windows XP のサポート終了に伴い，Windows PC の更新を行う必要が生じたため，センターで動物発注や施設予約などの各種サービスを行っているサーバーPC も更新することとした。将来のサーバー保守・管理も考慮して，ブログ形式ホームページを作成できるツールを利用する有効性について検討を行った。

(2) 明大寺施設は改築・改修が計画されており，その中で齧歯類の SPF 化を検討している。SPF 化にあたり，業務の増加が予想され，そこで労力軽減の一環として自動給水導入を考え，給水瓶との比較検討を行った。

(3) 個別換気ケージシステムを検疫飼育に使用することを目的として，本システム及び通常のケージシステムとの間で，各種の飼育環境に関して比較検討を行った。

【教育】

1. 教育訓練

山手地区において初めてセンターを利用する実験者を対象にして，利用者講習会を毎月開催した。受講者数は合計 17 名であった。

【社会貢献】

1. 研究所外での役員等

日本実験動物学会，ICLAS モニタリングセンター運営検討委員会，NPO 動物実験関係者連絡協議会，日本実験動物協会，国立大学法人動物実験施設協議会，全国医学部長病院長会議，日本実験動物技術者協会，日本大学動物実験委員会等の実験動物と動物実験に関係した種々の組織において，理事長，理事，委員等の役割を担って活動した。また，熊本大学，首都大学東京，中国・広東省医学実験動物中心，中国・中国医科大学において，名誉教授，客員教授として活動した。

2. 行政

文部科学省，農林水産省，環境省，内閣府等との間で情報交換を行った。

技術課

大河原浩

【概要】

今年度は，古瀬幹夫教授の着任に伴い永田治係長を脳形態解析研究部門に配属させ，神谷絵美技術係員を動物実験センター強化のために当該センターに異動させた。また，石原博美技術係員を心循環シグナル研究部門に配属させ，神経シグナル研究部門を併任させた。研究力強化戦略室広報担当強化のため，内山千保美を特任専門員として採用し，配属させた。そのほか，小原正裕課長補佐を国際連携研究室に，市川修班長を点検連携資料室と医学生理学教育開発室に兼務させた。

課の研究活動への寄与と貢献を一層進めるため下記の事業を実施した。

① 生理科学実験技術トレーニングコースでの技術指導

生理学研究所が毎年主催し，実施している生理科学実験技術トレーニングコースで，『生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング』をテーマに，『生体アンプとバスチェンバーの作製』と『Ｃ言語によるＰＩＣプログラミング』の 2 コースを企画し，前者に 2 名の受講者を受け入れ，指導した。

② 生理学技術研究会の開催

全国の大学等技術職員の技術連携と交流を目的に第 37 回を，基礎生物学研究所・技術課と合同で 2015 年 2 月 19 日－20 日の 2 日間にわたり開催した。会では，口演発表が 24 題（含む奨励研究採択課題技術シンポジウム口演発表），ポスター発表が 46 題あり，研修講演として『ケミカルバイオロジーを駆使した心循環シグナル評価法』（西田基宏，生理学研究所 心循環シグナル研究部門 教授）を行った。これらの報告は『生理学技術研究会報告（第 37 号）』にまとめた。

③ 奨励研究採択課題技術シンポジウムの開催

時代要請に対応した技術認識と向上に立った技術職員の業務の社会的開示を推進するために奨励研究採択者による第 11 回の報告会（2015 年 2 月 20 日）を 12 演題で行った。この報告は『生理学技術研究会報告（第 37 号）』にまとめた。

④ 自然科学研究機構技術研究会の参加

自然科学研究機構技術職員の業務の紹介と技術連携を目的に，第 9 回を基礎生物学研究所で開催した（2014 年 6 月 19－20 日）。会では 20 演題の発表があり，詳細は『第 9 回自然科学研究機構技術研究会集録』としてまとめた。

⑤ 東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修等の受講と参加

東海北陸地区大学等の技術職員の技術交流と向上を目的に，毎年当番校により東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修が行われており，本年は複合領域コース（名古屋工業大学，1 名）を受講した。また，東海・北陸地区技術職員合同研修に係わる技術職員代表者会議（三重大学，1 名）に参加し，今後の研修会開催について議論を進めた。さらに，富山大学技術職員研修（1 名）に参加し，講演を行った。

また，第 40 回国立大学法人動物実験施設協議会総会（佐賀，1 名），日本実験動物技術者協会東海支部基本的実技講習会（藤田保健衛生大学，1 名），実験動物関係教職員高度技術研修（新潟大学，1 名），大阪大学医学部附属動物実験施設イノベーション棟視察（大阪大学，1 名），マーモセット飼育施設視察（岐阜，1 名），飼育施設視察とレナテック脱臭装置調査（神奈川，2 名），ウルトラミクロトームコース講習会（東京，1 名），CREST 会議（大阪大学，1 名），新学術領域シンポジウム（東京医科歯科大学，1 名），日本解剖学会及び日本生理学会大会（神戸，1 名），研究倫理に関する講演会（東京，3 名）などに参加し，業務の研究支援力の強化を図った。

⑥ 放送大学利用による専門技術研修の受講

研究の高度化と多様化に対応するため，放送大学を利用した技術職員の研修を推進している。今年度は，放送大学研修の受講を一時休止させた。

⑦ 科学研究費補助金（奨励研究）等の採択

業務を展開，推進していくための問題意識の養成，その解決のための計画および方法の企画能力の養成，さらにはその表現力と説明力の養成を通じて，業務上の技術力の総合的な向上を図ることを目的に標記の申請を行い，下記の 2 課題の採択を得た。

(1) 前橋 寛：新規光応答性シグナル伝達分子による神経細胞入出力関係の自動検出

(2) 齊藤 久美子：非放射性試薬による in vivo ナトリ

ウム依存性グルコース輸送体の活性測定法の開発

⑧　業務報告会とデータベース化事業の促進，および表彰制度の整備

課員の配属先研究部門での業務成果は技術課業務報告会で報告され，情報の共有化が図られている。また，その成果は技術課主催の生理学技術研究会，配属出向先部門での学会発表により所外に発信されているが，より広く活用され，即時的に発信するために，優れた成果をデータベース化する事業を技術課が研究部門と進め，その一部を技術課ホームページで公開している。今年度も，その編集を技術班長による専任とし，その更新を進めた。こうした事業の推進のなかで，優れたデータベースにはデータベース賞として表彰授与を所長より行った。こうした事業の推進により，研究者との連携を深め，業務の活性化を進めた。

⑨　安全衛生技能講習等の受講と参加

研究所の安全衛生を課業務として充実するために，第 10 回労働安全衛生に関する情報交換会（核融合研，1 名），東海北陸地区国立大学法人等安全衛生担当者連絡会（富山大学，1 名）労働災害防止講習会（岡崎，3 名），局所排気装置等定期自主検査講習会（名古屋大学，1 名），化学物質リスクアセスメント実務研修（東京，1 名），高圧ガス製造第二種 CE 設置事業所保安講習会（名古屋，1 名），自衛消防業務再講習（名古屋，1 名），防災管理再講習（岡崎，1 名）を受講した。

安全衛生相互巡視を受け入れた。

⑩　岡崎 3 機関技術課長会と機構技術代表者会議の開催

岡崎 3 機関の三技術課長と事務センターの総務課長，施設課長，各課課長補佐を交え，毎月 1 回，岡崎 3 研究所の動向や今後の計画，問題点などの意見交換を行った。また核融合科学研究所，国立天文台も交え毎月 1 回，相互訪問またはテレビ会議による情報交換を行った。

⑪　職場体験の受入れ等

広報展開推進室が推進する地域貢献活動を支援するため，岡崎市近郊の中学校生徒（5 中学校，11 名）の職場体験を受入れ，ネットワーク管理室，機器研究試作室，動物実験センター，遺伝子改変動物作製室，電子顕微鏡室の技術職員が指導した。また，ひらめき☆ときめきサイエンス，サイエンスアゴラ 2012，スーパーサイエンススクール，せいりけん市民講座，岡崎市理科作品展，大学共同利用機関シンポジウム，自然科学研究機構シンポジウムなどのアウトリーチ活動の支援を行った。

施設の運営状況

①統合生理研究系

(1) 生体磁気計測装置

竹島康行

【概要】

今年度の生体磁気計測装置における研究成果については，統合生理研究系 感覚運動調節研究部門の研究活動報告と生体磁気計測装置共同利用実験報告に記載されている。

生体磁気計測装置の稼動率を下表に示す。本装置は計測システムと解析システムから成るが，使用日数に解析システムの使用分は含んでいない。システム全体の保守は三ヶ月毎の定期点検を基本としている。

実験計画に大きな影響は無かったが，データ収集プロセッサのハードウエアの不具合により計測不可のセンサーが数回発生した。計測装置本体内部のセンサーに問題は無く，信号処理ボードの交換調整で改善している。

昨年度末におこなったエレクトロニクス関連のアップグレードによる計測データの増加に伴い，解析システムの処理能力とデータサーバーの保守性を図るため，装置の一部を Linux システムの PC に移行中である。

平成 2014 年度　生体磁気計測装置稼働率

年　月	日数	休日	点検調整日数	使用日数	稼働率（%）	使用者数（人）		備考
						延べ総数	所外	
2014 年　4 月	30	9	5	6	38	7	5	MEG 調整，定期点検
5 月	31	11	0	12	60	13	8	
6 月	30	9	0	17	81	24	18	
7 月	31	9	2	17	85	17	13	定期点検，SQC ボード交換
8 月	31	10	0	15	71	20	16	
9 月	30	10	2	12	67	12	8	定期点検
10 月	31	9	1	19	90	29	11	SQC ボード交換
11 月	30	12	0	10	56	12	8	
12 月	31	12	2	14	82	18	13	定期点検
2015 年　1 月	31	12	0	7	37	8	8	
2 月	28	9	2	13	76	16	10	データサーバー保守
3 月	31	9	2	11	55	15	8	定期点検
計	365	121	16	153	67	191	126	（稼働率は平均値）

*利用日数は装置を計測に使用した日数であり，保守作業などの計測外での使用は含んでいない。
*稼働率 ＝ 使用日数／(日数－(休日数＋点検日数))×100
*延べ総使用者数は所内使用者と所外使用者(共同研究，研究協力など)を合算したものである。

②大脳皮質機能研究系

(1) 磁気共鳴装置

伊藤嘉邦

【概要】

今年度の磁気共鳴画像装置における研究成果については，大脳皮質機能研究系　心理生理学部研究部門の研究活動報告と生体機能イメージング共同利用実験報告に記載されている。

磁気共鳴装置は，今年度新たに独シーメンス社の 7T（テスラ）-MRI が導入され，これまでの独シーメンス社の 3T の物 3 台と合わせて 4 台となった。

3T-MRI 装置は 2001 年度から共同利用実験に供されている Allegra と，2010 年度に導入された 2 台の Verio からなる世界初の Dual fMRI 実験装置がある。

7T-MRI 装置は，3T-MRI に比べてより高解像度の脳機能画像計測や新規の実験が期待されている。今後は装置の調整や周辺の実験機器の整備を行い 2016 年度より共同研究に供される予定である。

また，今年度は各 MRI 装置や MRI 実験に関連する PC を生理研のネットワークと独立させたネットワーク上に集約する作業を行った。これにより，データ転送速度の高速化やデータの安全性を向上させることができた。

各 MRI 装置の保守に関しては，三ヶ月毎にメーカーによる定期保守が行われている。MRI 装置以外の実験用 PC を含む実験装置の更新や保守は，実験計画の空き時間を利用して行っている。

それぞれの装置ごとの稼働率を下表に示す。なお 2014 年 4 月より Allegra は動物実験を主に行うようになった。また，2 台の Verio に関しては単体でも実験に使用できるため，便宜上 Verio-A，Verio-B として個々の稼働率を算出している。7T-MRI に関しては，機器調整中のため今年度は稼働率表を省略する。

2014 年度　磁気共鳴装置稼働率

Allegra

年　月	日数	休日	保守	使用可能日数	稼働率（%）	使用		備考
						所内	所外	
2014 年　4 月	30	9	2	19	11	2	0	
5 月	31	11	0	20	0	0	0	
6 月	30	9	3	18	44	8	0	定期保守，液体ヘリウム補給
7 月	31	9	2	20	15	3	0	
8 月	31	10	4	17	18	3	0	
9 月	30	10	1	19	32	6	0	
10 月	31	9	6	16	31	5	0	定期保守，液体ヘリウム補給
11 月	30	12	3	15	20	3	0	
12 月	31	12	4	15	53	8	0	液体ヘリウム補給
2015 年　1 月	31	12	1	18	22	4	0	
2 月	28	9	4	15	33	5	0	定期保守，液体ヘリウム補給
3 月	31	9	4	18	11	2	0	
計	365	121	34	210	24	49	0	

Verio_A

年　月	日数	休日	保守	使用可能日数	稼働率（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2014 年　4 月	30	9	1	20	95	15	4	
5 月	31	11	1	19	63	11	1	
6 月	30	9	1	20	63	8	4	
7 月	31	9	3	19	66	7	5	定期保守
8 月	31	10	0	21	67	13	1	
9 月	30	10	2	18	44	4	4	
10 月	31	9	2	20	23	1	3	
11 月	30	12	1	17	76	4	9	定期保守
12 月	31	12	0	19	58	6	5	
2015 年　1 月	31	12	0	19	53	10	0	
2 月	28	9	0	19	92	12	5	
3 月	31	9	2	20	70	10	4	定期保守
計	365	121	13	231	64	101	45	

Verio_B

年　月	日数	休日	保守	使用可能日数	稼働率（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2014 年　4 月	30	9	1	20	95	15	4	
5 月	31	11	1	19	68	13	0	定期保守
6 月	30	9	0	21	98	18	2	
7 月	31	9	2	20	60	7	5	
8 月	31	10	0	21	67	9	5	
9 月	30	10	3	17	35	4	2	定期保守
10 月	31	9	2	20	28	2	3	
11 月	30	12	2	16	56	2	7	
12 月	31	12	1	18	56	6	4	
2015 年　1 月	31	12	2	17	47	5	3	定期保守
2 月	28	9	0	19	87	13	3	
3 月	31	9	1	21	86	10	8	
計	365	121	15	229	66	104	46	

③脳機能計測・支援センター

(1) 形態情報解析室

小原正裕，山田　元，加藤勝己

【超高圧電子顕微鏡利用状況】

今年度における超高圧電子顕微鏡共同利用実験は，合計９課題が採択され，ほぼ全課題が実施された。これらの共同実験の成果は，超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告の章に記述されている。超高圧電子顕微鏡の年間の利用状況を表にまとめたので下記に示す。稼働率は，利用日数と使用可能日数より求めている。なお，調整日は，定期調整（含清掃）日と修理・改良と停電後のイオンポンプベーク等に要した日数を合わせた数である。長い間念願であった高度化の一環として CMOS カメラが導入されてから，今までのフィルム写真撮影にかわり，より効率的な観察がなされ，予定より早く観察日程を終了する様になった。今後，SBF-SEM などを組み合わせた研究で，益々の成果が期待される。

2014 年度　超高圧電顕月別稼働率

年　月	総日数	休 日	調整日	使用可能日数	所内利用	所外利用	計	稼働率（%）	備　考
2014 年 4 月	30	9	4	17	1	0	1	6	
5 月	31	11	4	16	2	2	4	25	
6 月	30	9	5	16	3	0	3	19	
7 月	31	9	5	17	5	0	5	29	
8 月	31	10	7	14	3	0	3	21	修理　３日
9 月	30	10	5	15	1	0	1	7	
10 月	31	9	5	17	2	0	2	12	修理　１日
11 月	30	12	4	14	0	0	0	0	
12 月	31	12	4	15	0	2	2	13	

年　月	総日数	休 日	調整日	使用可能日数	所内利用	所外利用	計	稼働率（%）	備　考
2015 年 1 月	31	12	5	14	0	2	2	14	
2 月	28	9	4	15	0	2	2	13	
3 月	31	9	5	17	0	6	6	35	
計	365	121	57	187	17	28	31	17	

フィラメント点灯時間　　98.7 時間
使用 CMOS イメージ枚数　1468 枚
使用フィルム枚数　　0 枚

【クライオ位相差電子顕微鏡利用状況】

今年度におけるクライオ位相差電子顕微鏡の共同利用実験は合計 14 課題が採択され, 全課題が実施された。これに加え，テラベース(株)による受託観察も行われた。

クライオ位相差電子顕微鏡の年間利用状況と利用者の所属，部署，共同研究者，観察方法，研究テーマの一覧を下記の表にまとめた。なお，稼働率は利用日数と使用可能日数より求めている。また，今年度から位相差像観察用位相板ホルダーを Air Lock 式ホルダーに更新して交換時間が数時間と短縮されたため，位相板交換は保守日数に含まれていない。

今年度は，昨年度一旦改善した Tietz 製 CCD カメラからのノイズ発生が再発し，その調整などの保守に時間を取られた。この問題は，今後修理に出すなどにより対応予定である。

昨年度，以前からの懸案であった位相差像観察用位相板ホルダーを Air Lock 式ホルダーに更新したことにより，グリッド枚数は 4 枚から 2 枚装填型と少なくなったものの，使用頻度が高い利用者に対しては頻繁に位相板を交換する必要があり，その際には位相板交換の時間短縮に貢献することが出来た。しかし，依然として位相板グリッドを搭載するブレード部分の形状とグリッドを固定する部分の作りに問題があるため，長期間安定して使用できるまでには至っていない。今後はより安定して使用できるよう，さらなる調整と改善が望まれる。

2014 年度　クライオ位相差電子顕微鏡年間利用状況

年月	総平日数	保守	使用可能日数	所内利用日数	所外利用日数	計	利用率（%）	フィラメント点灯時間	備考
2014 年 4 月	21	0	21	13	0	13	61.9	64	位相板交換　2 回
5 月	20	2	18	12	3	15	83.3	35	位相板交換　1 回 コンプレッサー停止 ベイキング OLA 交換 コンディショニング Tietz カメラノイズ
6 月	21	3	20	7	2	9	45	53	位相板交換　3 回 ACD Heat で system down，restart 位相板ホルダー接触 Tietz カメラノイズ
7 月	22	0	22	11	0	11	50	23	位相板交換　2 回 電顕停止，再起動 コンプレッサー水抜き Tietz カメラノイズ
8 月	21	0	21	9	6	15	71.4	63	位相板交換　2 回 Tietz カメラノイズ

年月	総平日数	保守	使用可能日数	所内利用日数	所外利用日数	計	利用率（%）	フィラメント点灯時間	備考
9 月	20	0	20	5	6	11	72.7	43	位相板交換　1 回 瞬時停電，再起動
10 月	22	0	22	7	9	16	72.7	78	位相板交換　4 回 Air Lock ホルダー ブレード交換 位相板駆動用ソフト 停止，再起動で回復
11 月	18	0	18	13	8	20	111.1	128	位相板交換　1 回 カラムベイク 休日も使用
12 月	19	0	19	7	2	9	47.4	67	位相板交換　2 回 Air Lock ホルダー可動範囲チェック 対物絞りメンテナンス
2015 年 1 月	19	0	19	9	4	13	68.4	81	位相板交換　1 回 カラムベイク
2 月	19	0	19	7	6	13	68.4	68	位相板交換　2 回 CLA2 交換
3 月	22	0	22	13	3	16	72.7	144	位相板交換　1 回
計	244	3	241	113	49	161	66.8	847	

2014 年度　共同利用者の所属，部署，共同研究者，観察方法，研究テーマ一覧

所　属	部　署	共同研究者	観察方法※		研究テーマ
			クライオ	位相差	
国立感染症研究所	ウイルス第二部	片山和彦	○	○	下痢症ウイルスの高分解能構造解析
東京農工大	大学院工学研究院	箕田弘喜	○	○	電子顕微鏡用環境制御セルの開発とその応用
結核研究所		山田博之	○		Cryo-TEM による抗酸菌の基礎的形態サイズデータの取得
兵庫県立大大学院	生命理	峰雪芳宣	○	○	酢酸菌の合成するセルロースフィブリルの 3 次元構造解析
Yale Univ. USA		重松秀樹, Fred Sigworth	○	○	位相差電子顕微鏡による AMPA 型グルタミン酸受容体機能構造の可視化
崇城大学		國安明彦	○	○	骨格筋トライアドジャンクションの三次元構造解析
テラベース（株）		香山容子, 甲斐憲子	○	○	受託研究「無帯電位相板の開発」
分子科学研究所	生命環境研究領域	加藤晃一	○		Structural study of the folding sensor: UDP-glucose glycosyltransferase (UGGT)
大阪大学	蛋白質研究所	東浦彰史	○	○	PBCV-1 ファイバー状構造体の低温位相差顕微鏡による観察
名古屋大学	細胞生理学研究センター	大嶋篤典	○	○	イネキシンの構造解析に向けた位相差電子顕微鏡の応用
Academia Sinica, Taiwan	Institute of Chemistry	Wei-Hau　Chang	○	○	Apply Zernike in-focus cryo-EM to visualize the architecture of eukaryotic transcription complex
高知大学	教育研究部医療学系基礎医学部門	内山淳平	○	○	新規巨大黄色ブドウ球菌バクテリオファージの低温位相差電子顕微による 3 次元構造解析と構造学的アプローチによる生命起源の探索
基礎生物学研究所		皆川　純	○	○	緑藻クラミドモナスの光化学系 II 超分子複合体の構造解析
分子科学研究所		飯野亮太	○	○	腸内連鎖球菌 V-ATPase の電子顕微鏡単粒子構造解析

所　属	部　署	共同研究者	観察方法※		研究テーマ
			クライオ	位相差	
テラベース（株）		香山容子， 甲斐憲子	○	○	受託観察
国立感染症研究所	ウイルス第二部	片山和彦	○	○	下痢症ウイルスの高分解能構造解析
東京農工大	大学院工学研究院	箕田弘喜	○	○	電子顕微鏡用環境制御セルの開発とその応用
結核研究所		山田博之	○		Cryo-TEM による抗酸菌の基礎的形態サイズデータの取得

※ 観察方法でクライオ，位相差共に○がないものは，通常の透過型電子顕微鏡として観察

(2) 多光子顕微鏡室

前橋　寛

【概要】

今年度の多光子顕微鏡室における研究成果については，研究活動報告に記載されている。

多光子顕微鏡室では，2011 年 7 月より，2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を構築してきた。これによって，生きた細胞内で起こるシグナル伝達や分子間相互作用をイメージングできるようになった。2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡は市販品のものが極めて高価であり，また，使い勝手があまり良くない。そのため，多光子顕微鏡室では顕微鏡を自作しているが，その画像解析ソフトウェアの改良（ウインドウ内 ROI 選択ボタンの追加，ROI 選択番号表示の改善，タイムラプスイメージ計算の自動化など）や入力等のサポートを行った。これらに加えて，試料台等の試作（金属工作），LED 回路の試作（電子工作），Image J を用いた画像計測等を行った。

また，多光子顕微鏡室における遺伝子実験において，トランスフォーメーション，大腸菌培養，DNA 精製のサポートを行った。

(3) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）

小原正裕，山田　元

【概要】

今年度の電子顕微鏡室の活動の概要は以下の通りである。

昨年まで行われてきた明大寺地区電子顕微鏡室の改修工事が完了し，工事期間中に移設していた機器を新しい明大寺電顕室に戻し，順次稼働させた。

なお，当初改修工事期間の仮設予定だった走査型電子顕微鏡ΣIGMA はそのまま山手地区に残してほしいとの希望があったため，生理学研究所，基礎生物学研究所への全職員アンケートの結果に従い，山手地区電子顕微鏡室に残すこととなった。また，基礎生物学研究所の小林　悟教授の転出に伴い，ウルトラミクロトーム（ULTRACUT UCT）とクライオ装置など一式を譲り受けたので，新たに山手地区電子顕微鏡室に設置した。なお，これまで利用してきた ULTRACUT E は譲渡頂いた機器よりも旧式であったため，形態情報解析室に移設した。

また，同じように基礎生物学研究所からウルトラミクロトーム（ULTRACUT UCT）を譲り受けたため，こちらは明大寺地区電子顕微鏡室に移設した。

これにより，山手地区電子顕微鏡室，明大寺地区電子顕微鏡室ともにウルトラミクロトームが 2 台ずつ常設されることとなった。

電子顕微鏡関連として，明大寺地区電子顕微鏡室には透過型電子顕微鏡 JEM-1010 が，山手地区に透過型電子顕微鏡 JEM-1010，走査型電子顕微鏡としてカールツァイス社製 ΣIGMA が導入されている。

以前導入された電子顕微鏡試料の 3 次元再構築が可能な SBF-SEM（ΣIGMA/VP），2 台目の SBF-SEM（MERLIN）は，現在ともに安定して稼働している。

【活動】

明大寺電子顕微鏡室は，電子顕微鏡室のある共通施設棟 I の改修工事が完了し，改修工事期間中，移設してい

た様々な機器をそれぞれの場所から新しい電子顕微鏡室へと移設した。同時にこれらの機器の稼働調査を行い，利用者の用に供することができるようにした。

現在はこれらの機器の保守管理，並びに利用者講習会等を行っている。

山手地区電子顕微鏡室では，前述の通り 2 台の SBF-SEM と走査型電子顕微鏡が稼働しており，所内外からの予約状況の管理とそれらの関連機器であるガラスナイフ作製器，ウルトラミクロトーム，真空蒸着装置，プラズマ製膜装置等の使用法指導と保守・管理を既存の業務と併せて行っている。

【研究内容一覧表】

本年度は明大寺電子顕微鏡室の移設工事があったため，利用者数の正確な把握を行うことが出来なかったが，大凡の利用者数は前年度とほぼ横ばいの状態であった。

特徴的だったのはこれまでの利用実績の少ない研究部門からの利用者が多くなったことである。これは SBF-SEM への関心の高まりに比例し，透過型，走査型両電子顕微鏡での観察にも関心が集まったためと考えられる。

以下，代表的な利用者の研究課題を掲載する。

研究所・大学	研究部門	研究内容
生理学研究所	生体恒常機能発達機構	大脳皮質一次体性感覚野のアストロサイトにおける代謝型グルタミン酸受容体 5 の局在解析
	細胞生理	小脳プルキンエ細胞のシナプス構造観察
		膀胱上皮細胞の微小構造形成における TRPM7 の役割の検討
	心循環シグナル	マウス心臓の病態形成時における心筋オルガネラ形態の経時変化観察
基礎生物学研究所	生物進化	ハナカマキリ色素顆粒の構造解析
		ヒメツリガネゴケの葉の表面構造を観察
		シロイヌナズナの花器官の観察
	行動･代謝分子解析センター	精神疾患モデルマウス脳の３次元微細構造を観察し，コントロール群との違いを明らかにする
	形態形成	ホヤ胚の表皮細胞の構造の観察のため

(4) 機器研究試作室（生理研・基生研共通施設）

佐治俊幸

【概要】

機器研究試作室は多種多様な医学・生物学用実験機器の開発と改良，それに関わる技術指導，技術相談を室の役割とし，生理研・基生研の共通施設として運営されている。

新しい研究には新しい研究機器を作るという『ものづくり』が希薄になっている状況下，一方では，研究の多様化は室に新たな役割の模索が迫られている。そうした認識のもと，『ものづくり』能力の重要性の理解と機械工作ニーズの新たな発掘と展開を目指すために，2000 年度から，医学・生物学の実験研究に使用される実験装置や器具を題材にして，機械工作の基礎的知識を実習主体で行う機械工作基礎講座を開講してきた。本年も汎用工作機械の使用方法を主体に実習するフライス盤コース（リキャップ台）と旋盤コース（小物入れ），CAD コースの 3 コースを開講した。参加希望者は，3 コース合わせ生理研 16 名，基生研 19 名で，各コース共に半日の講習を行った。

今年度は，動物実験センターから譲り受けた帯鋸盤を一般工作室に設置し，老朽化していた帯鋸盤を廃棄した。また，科研費により購入した卓上旋盤と小型フライスも金工室に設置された。

なお，機器研究試作室の今年度の利用状況は，以下の通りである。

2014 年度　機器研究試作室　利用報告

機器研究試作室　部門別のべ利用状況

認知行動発達機構	85　名	多光子顕微鏡	47　名	感覚認知情報	40　名
生体恒常機能発達機構	38　名	大脳神経回路論	19　名	視覚情報処理	11　名
生体システム	9　名	生理研技術課	5　名	分子神経生理	2　名
形態情報解析室	1　名	心理生理学	1　名	動物実験センター	1　名
バイオリソース	8　名	環境光生物	8　名	生物進化	7　名
ＲＩ実験センター	4　名	光学解析室	4　名	光脳回路	3　名
時空間制御	3　名	IBBP	2　名	季節生物	1　名
基生研技術課	1　名	光情報	1　名	構造多様性	1　名
生物機能情報分析室(重信)	1　名				

機器研究試作室　利用人数表

月	生理研	基生研	合計	延べ時間
4	15	2	17	24
5	21	3	24	26
6	17	5	22	38
7	27	8	35	73
8	25	6	31	55
9	30	13	43	67
10	32	4	36	27
11	27	0	27	46
12	31	4	35	49
1	27	1	28	22
2	21	0	21	24
3	37	5	42	38
合計	310	51	361	489

機器研究試作室　利用機器表（件数）

月	フライス盤	ボール盤	横切盤	コンターマシン	NCフライス	旋盤	ベルトグラインダー	切断機	その他
4	15	11	7	6	0	0	0	2	2
5	12	10	4	2	0	3	0	1	0
6	15	16	8	7	0	7	1	5	4
7	13	13	8	16	0	6	3	2	4
8	14	9	4	10	3	2	2	2	4
9	21	26	10	16	0	10	3	7	5
10	25	17	11	12	0	5	5	5	10
11	4	1	1	1	1	5	0	0	1
12	14	5	0	7	1	6	2	0	5
1	6	9	7	1	0	3	0	0	5
2	9	3	6	8	0	1	2	0	2
3	9	7	7	3	0	1	1	2	3
合計	157	127	73	89	5	49	19	26	45

機器研究試作室　依頼製作品

オーサイト用チェンバー	キュベット用保温ジャケット	マウス固定器
マウス用麻酔マスク	可変容量計量スプーン	ドライジッパー温度ロガー
超高輝度ＬＥＤ照明	藻培養用流水水槽	メダカ追従実験用回転水槽

④情報処理・発信センター

(1) ネットワーク管理室

吉村伸明，村田安永

【概要】

生理学研究所における当施設の利用形態は，生体情報解析システム（後述），情報サービス（e-mail, WWW 等），プログラム開発などに分類することができる。また，これらを円滑に運用していくためには，所内 LAN の管理，整備や情報セキュリティの確保も重要である。このような現状をふまえたうえで，岡崎情報ネットワーク管理室とも連携しながら，施設整備を進めている。

生体情報解析システムは，データ解析・可視化，信号処理，画像処理，数式演算，統計処理，電子回路設計などの多くのネットワークライセンス用アプリケーションを備えている。ネットワーク認証により各部門施設の PC 上でこれらアプリケーションが供用できる。登録者は 115 名で，研究推進のための積極的な利用がある。

岡崎情報ネットワークは，MAC アドレスベース，もしくは Web 認証ベースの動的 VLAN 機能を有する 1000BASE-T ネットワークで，利便性の向上とサイバーセキュリティの確保を両立している。また，構内全域での無線 LAN の利用が可能である。セキュリティインシデントは今年度も自然科学機構内外で発生しており，引き続きこれに対応するため，昨年度改訂したサイバーセキュリティポリシーに基づいて，サイバーセキュリティ実施手順書の改訂を行った。併せて，ネットワーク脅威対策プラットフォームを調達し運用を開始するなど，サイバーセキュリティ対策の強化を進めた。

生理学研究所のネットワーク利用状況は，メール登録者が 460 名。WWW 登録者が 90 名。LAN の端末数が 2,042 台。所外からのメール受信数は 2,700 通／日，所外へのメール発信数は 3,400 通／日であった。WWW は 2,700 IP ／日の端末から 9,800 ページ／日の閲覧があった。

⑤岡崎共通研究施設

(1) 動物実験センター

伊藤昭光，廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美

【概要】

今年度は，明大寺地区において Tyzzer 菌が検出，山手地区 SPF 室において非病原性原虫が検出され，それぞれに感染対策を実施した。その他に，両地区において，マウス検疫業務の強化を進めた。

明大寺の動物棟Ｉは，建設されてから 35 年あまりを経過しており，設備の老朽化が著しく，また，研究現場の現状にそぐわなくなってきている。動物棟Ｉ（マウス，ラット）と動物棟Ⅱ（マウス，サル，イヌ，ネコ等）を含む施設の機能改善および機能高度化を目的に，改築・改修に向けた話し合いが引き続き行われている。

実験動物の授受に関し，年間でのべ 79 件の導入と 88 件の供与があった。平均すると毎週約 3 件の授受が行われており，昨年よりやや少ない件数となった。また，授受の条件や書類内容の確認，利用者へのアドバイスなどに時間を多く費やしている。

【受精卵凍結・クリーンアップ事業】

実施件数は，明大寺と山手を合わせ，受精卵凍結保存は 23 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 2 件，融解・移植は 5 件それぞれ実施した。昨年度と比較してク

リーンアップ及び融解・移植件数が減少した。クリーンアップ件数が減少したのは，マウス導入時の書類審査内容が変更され，検疫室へ回る系統が増えたためと考えられた。

マウス凍結精子による系統の導入は 2 件行った。凍結精子によるマウス系統の導入は，マウス個体で導入するより，輸送費用が安くなることや，微生物学的な問題が解決するため，相談が増加しており，今後も増える傾向にあると考えられた。

【明大寺地区　陸生動物室】

今年度の陸生動物の飼養保管室利用部門数は，17 部門（生理研 14 部門，基生研 2 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

動物のべ飼育数は，昨年度と比べ，マウスは年度の途中で脳生物学部門が異動し，飼育頭数が 0 匹になったがマウスはほぼ横ばいであった。ラットは年度の途中で，国際連携研究室が異動し 0 匹となったため，全体としては減少した。イヌは 0 頭になった。サルは昨年と比べ増加している。

マウス，ラットの一般飼養保管室では，3 ヶ月に 1 度の微生物モニタリングを各飼養保管室で行っている。2014 年 4 月の定期モニタリングにおいて，明大寺地区 205 ラット室で *Clostridium piliforme*（Tyzzer 菌）が検出された。前室を同じくする飼育室を隔離飼育等の微生物コントロールを行い，その後，　全ケージから検体を採取し，モニタリングを行ったが，すべて陰性が確認された。同時に 205 室を含むセンター内飼育室すべてに囮動物を設置し，1 ヶ月後および 2 ヶ月後に囮動物の微生物モニタリングを行ったが，すべて陰性が確認されたため，2014 年 8 月 26 日感染症終息とした。その後は，カテゴリーA,B に関する病原微生物は確認されていない。

マウス地下 SPF 室は, 3 部門 2 飼養保管室の利用があった。3 ヶ月に 1 度の微生物モニタリングを行っているが，病原微生物は検出されていない。

施設の運用面としては，昨年度マウス搬入時に MHV 糞便検査を行うために検疫室を設置したが，オープンラックで飼育しており，複数の検疫件数に対応すべく，安全キャビネットを導入し，整備を行った。またクリーンアップ室も床換えや採材等の作業を安全に行うために，安全キャビネットを設置し，整備を行った。

センター利用者より，マーモセット飼育の要望があったため，ネコ飼養保管室を改修し，マーモセットを飼養保管できるよう環境整備を行った。また，マーモセットの飼育管理業務が新たに増えるため，担当する技術支援員の新採用を進めるとともに，他の技術支援員の再配置を含む，業務分担の見直しも進めた。

主な工事及び修理について，

1) 動物棟Ⅱの 1,2 階の空調ダンパーが落ち，火災報知器が鳴動する誤報があった。
2) 動物棟Ⅰの空調機は，真夏及び真冬の時期に，自動運転では安定した運転が出来ないため，強制的な手動運転を行う必要が出てきている。経年劣化が原因と考えられるため，改修・改築と併せて，整備していくことが必要である。
3) 主にサルの検疫や一般健康診断で用いている血液算定機器の不具合のため修理を行った。
4) マーモセット飼育装置を搬入するにあたり, 電源工事を行い，飼育装置の設置工事を行った。
5) 本館 118 室天井温水配管の盲栓より水漏れがあり，修理を行った。
6) 台風により新館 333 室壁亀裂部分から雨水侵入があった。

【山手地区 陸生動物室】

今年度の陸生動物の飼養保管室利用部門数は，14 部門（生理研 8 部門，基生研 2 部門，統合バイオサイエンスセンター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。2 部門が明大寺から移動, 1 部門が転出, 1 部門が新規に利用を開始した。

利用者講習会を毎月開催するとともに，実際の利用方法について別途実務講習会を実施している。利用者講習受講者は 17 名であった。

全 SPF 飼育室およびマウス一時保管室 1，マウス一時保管室 2 の病原微生物モニタリングを 3 ヶ月に 1 回のペースで実施したところ, 12 月の検査において SPF 飼育室の 1 室で非病原性原虫が確認された。その部屋を隔離飼育とし，全飼育室に囮動物を設置しモニタリングを行った。その後の検査において非病原性原虫の検出はなかったため, 1 月に対策を終了した。

感染症対策強化のため，SPF エリアに検疫室を設け，他施設から動物を導入する際には，糞便による MHV 検

査を行っていたが，オープンケージであったため，IVC 個別換気ケージシステムおよび安全キャビネットを購入し，検疫機能の強化を図った。

主な工事及び修理について，

1) 1 号館設備室の空調用熱交換器の蒸気配管漏れがあった。
2) オートクレーブ 2 号機モーターバルブの交換とオートクレーブ 3 号機のフレキシブル給水配管に穴があき漏水した。オートクレーブのトラブルは滅菌作業に支障をきたし，山手地区で飼育動物が増加したことも手伝って，飼育管理に重大な影響を与えた。

施設の運用が 10 年を越えてきたため，空調機器類の経年劣化による不具合が増えつつあり，部品交換等で対応している。

【明大寺及び山手地区 水生動物室】

今年度の明大寺地区の利用状況は，生理研 1 部門，基生研 8 部門となっている。

山手地区の利用状況は，生理研 1 部門，統合バイオサイエンスセンター4 部門，が水槽を利用している。

主な修理として，水槽用冷凍機 1 台でモーターバルブの交換を行った。

陸生動物　部門別・動物種別搬入数（2014 年度）

部門＼動物種	明大寺地区							山手地区	
	マウス	ラット	スナネズミ	ハムスター	モルモット	ウサギ	サル	マウス	ラット
神経機能素子									
生体膜	62							127	41
国際連携研究室		4						22	
分子神経生理	128							81	16
神経シグナル		9						45	305
感覚認知情報									
生体システム	344	8					3	3	
認知行動発達	431	20					9		
脳形態解析									
大脳神経回路論								185	166
形態情報解析室									
生体機能情報解析室									
広報展開推進室									21
生殖内分泌系	347								
生体恒常機能	775	40							
行動様式解析室	40							10	
多光子顕微鏡室		46							
動物実験センター	77	11						287	14
統合神経生物学									7
脳生物学	314							34	
光脳回路	585								
核内ゲノム動態								243	
視覚情報処理	295	151						44	
個別研究									35
分子環境生物学								23	
細胞生理								797	7
遺伝子改変動物作製室								1,318	623
心循環シグナル	21							896	110
合計	3,419	289					12	4,115	1,345

【研　究　発　表】

a. 発表論文

b. 学会発表

a.　発表論文

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 104
分子神経生理研究部門 104
生体膜研究部門 105
細胞生理研究部門 105
感覚認知情報研究部門 107
神経シグナル研究部門 107
視覚情報処理研究部門 108
心循環シグナル研究部門 108
感覚運動調節研究部門 109
生体システム研究部門 111
脳形態解析研究部門 111
旧 脳形態解析研究部門 112
大脳神経回路論研究部門 113
心理生理学研究部門 113
認知行動発達機構研究部門 115
生体恒常機能発達機構研究部門 116
生殖・内分泌系発達機構研究部門 117
個別研究（村上グループ） 117
個別研究（毛利グループ） 118
遺伝子改変動物作製室 118
行動様式解析室 118
形態情報解析室 119
多光子顕微鏡室 120
ウイルスベクター開発室 120
生体制御シグナル研究部門 120
神経分化研究部門 120
動物実験センター 121

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1）　英文原著

1. Nagase M, Takahashi Y, Watanabe AM, Kubo Y, Kato F (2014) On-site energy supply at synapses through monocarboxylate transporters maintains excitatory synaptic transmission. J Neurosci 34(7):2605-2617. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4687-12.2014.
2. Kitazawa M, Kubo Y, Nakajo K (2014) The stoichiometry and biophysical properties of the Kv4 potassium channel complex with K^+ channel-interacting protein (KChIP) subunits are variable, depending on the relative expression level. J Biol Chem 289(25):17597-17609. doi: 10.1074/jbc.M114.563452.
3. Keceli B, Kubo Y (2014) Signal transmission within the P2X2 trimeric receptor. J Gen Physiol 143(6):761-782. doi: 10.1085/jgp.201411166.
4. Nakajo K, Kubo Y (2014) Steric hindrance between S4 and S5 of the KCNQ1/KCNE1 channel hampers pore opening. Nat Commun 5:4100. doi: 10.1038/ncomms5100.
5. Keceli B, Kubo Y (2014) Voltage and ATP dependent structural rearrangements of the P2X2 receptor associated with the gating of the pore. J Physiol 592(21):4657-4676. doi: 10.1113/jphysiol.2014.278507.
6. Kurogi M, Kawai Y, Nagatomo K, Tateyama M, Kubo Y, Saitoh O (2015) Auto-oxidation products of epigallocatechin gallate activate TRPA1 and TRPV1 in sensory neurons. Chem Senses 40(1):27-46. doi: 10.1093/chemse/bju057.

2）　研究関係著作

1. 立山充博, 久保義弘 (2014) GPCR の構造変化を FRET により捉える. 日本薬理学雑誌 143(5):249-253.

《分子神経生理研究部門》

1）　英文原著

1. Torii T, Yoshimura T, Narumi M, Hitoshi S, Takaki Y, Tsuji S, Ikenaka K.（2014）Determination of major sialylated N-glycans and identification of branched sialylated N-glycans that dynamically change their content during development in the mouse cerebral cortex. Glycoconj J. doi: 10.1007/s10719-014-9566-2
2. Horie M, Watanabe K, Bepari AK, Nashimoto JI, Araki K, Sano H, Chiken S, Nambu A, Ono K, Ikenaka K, Kakita A, Yamamura KI, Takebayashi H (2014) Disruption of actin-binding domain-containing Dystonin protein causes dystonia musculorum in mice. Eur J Neurosci,40：3458-71 doi: 10.1111/ejn.12711.
3. Zheng LS, Hitoshi S, Kaneko N, Takao K, Miyakawa T, Tanaka Y, Xia H, Kalinke U, Kudo K, Kanba S, Ikenaka K, Sawamoto K (2014) Mechanisms for interferon-α-induced depression and neural stem cell dysfunction. Stem Cell Reports. 73-84 doi: 10.1016/j.stemcr. 2014.05. 015.
4. Fujii S, Tanaka KF, Ikenaka K, Yamazaki Y (2014) Increased adenosine levels in mice expressing mutant glial fibrillary acidic protein in astrocytes result in failure of induction of LTP reversal (depotentiation) in hippocampal CA1 neurons. Brain Res, 1578:1-13 doi: 10.1016/j.brainres.2014.07.005.
5. Ono K, Clavairoly A, Nomura T, Gotoh H, Uno A, Armant O, Takebayashi H, Zhang Q, Shimamura K, Itohara S, Parras CM, Ikenaka K (2014) Development of the prethalamus is crucial for thalamocortical projection formation and is regulated by Olig2. Development, 141:2075-84 doi: 10.1242/dev.097790.
6. Yamazaki Y, Fujiwara H, Kaneko K, Hozumi Y, Xu M, Ikenaka K, Fujii S, Tanaka KF (2014) Short- and long-term functional plasticity of white matter induced by oligodendrocyte depolarization in the hippocampus. Glia, 62:1299-312 doi: 10.1002/glia.22681.
7. Shibasaki K, Ikenaka K, Tamalu F, Tominaga M, Ishizaki

Y (2014) A novel subtype of astrocytes expressing TRPV4 regulates neuronal excitability via release of gliotransmitters. J Biol Chem, 289:14470-80 doi: 10.1074/jbc.M114.557132.

8. Ishino Y, Hayashi Y, Naruse M, Tomita K, Sanbo M, Fuchigami T, Fujiki R, Hirose K, Toyooka Y, Fujimori T, Ikenaka K, Hitoshi S (2014) Bre1a, a histone H2B ubiquitin ligase, regulates the cell cycle and differentiation of neural precursor cells. J Neurosci, 34:3067-78. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3832-13.2014.
9. Seto Y, Nakatani T, Masuyama N, Taya S, Kumai M, Minaki Y, Hamaguchi A, Inoue YU, Inoue T, Miyashita S, Fujiyama T, Yamada M, Chapman H, Campbell K, Magnuson MA, Wright CV, Kawaguchi Y, Ikenaka K, Takebayashi H, Ishiwata S, Ono Y, Hoshino M (2014) Temporal identity transition from Purkinje cell progenitors to GABAergic interneuron progenitors in the cerebellum. Nat Commun. 2014;5:3337 doi: 10.1038/ncomms4337.
10. Ono K, Clavairoly A, Nomura T, Gotoh H, Uno A, Armant O, Takebayashi H, Zhang Q, Shimamura K, Itohara S, Parras CM, Ikenaka K (2014) Development of the prethalamus is crucial for thalamocortical projection formation and is regulated by Olig2. Biologists1-10

《生体膜研究部門》

1） 英文原著

1. Ohkawa T, Satake S, Yokoi N, Miyazaki Y, Ohshita T, Sobue G, Takashima H, Watanabe O, Fukata Y, Fukata M (2014) Identification and characterization of $GABA_A$ receptor autoantibodies in autoimmune encephalitis. J. Neurosci. 34:8151-8163. doi: 10.1523/JNEUROSCI. 4415-13.2014.
2. Kegel L，Jaegle M，Driegen S，Aunin E，Leslie K，Fukata Y，Watanabe M，Fukata M，Meijer J (2014) Functional phylogenetic analysis of LGI proteins identifies an interaction motif crucial for myelination. Development 141:1749-1756. doi: 10.1242/dev.107995.
3. Gory-Fauré S，Windscheid V，Brocard J，Montessuit S，Tsutsumi R，Denarier E，Fukata Y，Bosc C，Delaroche J，Collomb N，Fukata M，Martinou J，Pernet-Gallay K，Andrieux A (2014) Non-Microtubular Localizations of Microtubule-Associated Protein 6 (MAP6). PLoS One, 9:e114905. doi:10.1371/journal.pone.0114905.

2） その他

1. 横井紀彦，深田優子，深田正紀（2014）ケミカルシャペロンによるタンパク質の構造異常の修復はてんかんモデルマウスにおいてけいれん感受性を軽減する．ライフサイエンス新着論文レビュー http://first.lifesciencedb.jp/archives/9607.

《細胞生理研究部門》

1） 英文原著

1. Takaishi M, Uchida K, Fujita F, Tominaga M (2014) Inhibitory effects of monoterpenes on human TRPA1 and the structural basis of their activity. J Physiol Sci 64(1):47-57. doi: 10.1007/s12576-013-0289-0, 2014.
2. Hirai T, Enomoto M, Kaburagi H, Sotome S, Yoshida-Tanaka K, Ukegawa M, Kuwahara H, Yamamoto M, Tajiri M, Miyata H, Hirai Y, Tominaga M, Shinomiya K, Mizusawa H, Okawa A, Yokota T (2014) Intrathecal AAV serotype 9-mediated delivery of shRNA against TRPV1 attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of peripheral nerve injury. Molecular Therapy 22(2):409-419. doi: 10.1038/mt.2013.247.
3. Kurganov E, Zhou Y, Saito S, Tominaga M (2014) Heat and AITC activate green anole TRPA1 in a membrane-delimited manner. Pflüger Archiv Eur J Physiol 466(10): 1873-1884. doi: 10.1007/s00424-013- 1420-z.
4. Saito S, Banzawa N, Fukuta N, Saito TC, Takahashi K, Imagawa T, Ohta T, Tominaga (2014) Heat and noxious chemical sensor, chicken TRPA1, as a target of bird

repellents and identification of its structural determinants by multispecies functional comparison. Molec Biol Evol 31(3):708-722. doi: 10.1093/molbev/msu001.

5. Terada Y, Horie S, Takayama H, Uchida K, Tominaga M, Watanabe T (2014) Voacangine, an alkaloid contained in *Voacanga africana*, is menthol-competitive and stimulus selective TRPM8 antagonist. J Nat Prod 77(2): 285-297. doi: 10.1021/np400885u.
6. Sato A, Sokabe T, Kashio M, Yasukochi Y, Tominaga M, Shiomi K (2014) Embryonic thermosensitive TRPA1 determines transgenerational diapause phenotype of the silkworm, *Bombyx mori*. Proc Natl Acad Sci USA 111(13): E1249-1255. doi: 10.1073/pnas.1322134111.
7. Takayama Y, Shibasaki K, Suzuki Y, Yamanaka A, Tominaga M (2014) Modulation of water efflux through functional interaction between TRPV4 and TMEM16A/anoctamin 1. FASEB J 28:2238-2248. doi: 10.1096/fj.13-243436.
8. Tabuchi S, Tsunematsu T, Wurts Black S, Tominaga M, Maruyama M, Takagi K, Minokoshi Y, Sakurai T, Kilduff T, Yamanaka A (2014) Conditional ablation of orexin/hypocretin neurons: A new mouse model for the study of narcolepsy and orexin system function. J Neurosci 34(19):6495-6509. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0073-14.2014.
9. Shibasaki K, Ikenaka K, Tamalu F, Tominaga M, Ishizaki1 Y (2014) A novel subtype of astrocytes expressing TRPV4 regulates neuronal excitability via release of gliotransmitters. J Biol Chem 289(21):14470-14480. doi: 10.1074/jbc.M114.557132.
10. Miyamoto T, Mochizuki T, Nakagomi H, Kira S, Watanabe M, Takayama Y, Suzuki Y, Koizumi S, Takeda M, Tominaga M (2014) Functional role for Piezo1 in stretch-evoked Ca^{2+} influx and ATP release in urothelial cell cultures. J Biol Chem 289(23):16565-16575. doi: 10.1074/jbc.M113.528638.
11. Mizuno H, Suzuki Y, Watanabe M, Sokabe T, Yamamoto T, Hattori R, Gotoh M, Tominaga M (2014) Potential role of transient receptor potential (TRP) channels in bladder cancer cells. J Physiol Sci 64:305-314. doi: 10.1007/s12576-014-0319-6.
12. Yamawaki H, Mihara H, Suzuki N, Nishizono H, Uchida K, Watanabe S, Tominaga M, Sugiyama T (2014) Role of Transient Receptor Potential Vanilloid 4 activation in indomethacin-induced intestinal damage. Am J Physiol Gstrointest Liver Physiol 307(1):G33-40. doi: 10.1152/ajpgi.00105.2013.
13. Okada Y, Shirai K, Reinach P, Kitano A, Miyajima M, Flanders K, Jester J, Tominaga M, Saika S (2014) TRPA1 is required for TGFβ-signaling and its loss blocks inflammatory fibrosis in mouse corneal stroma. Laboratory Investigation 94:1030-1041. doi: 10.1038/labinvest.2014.85.
14. Yoshida M, Dezaki K, Uchida K, Kodera S, Lam NV, Shimomura K, Ishikawa E, Sugawara H, Kawakami M, Tominaga M, Yada T, Kakei M (2014) Involvement of cAMP-EPAC activation in glucose- and incretin-induced insulin secretion. Diabetes 63(10):305-314. doi: 10.2337/db13-1868.
15. Yamaoka M, Maeda N, Takayama Y, Sekimoto R, Tsushima Y, Matsuda K, Mori T, Inoue K, Nishizawa H, Tominaga M, Funahashi T, Shimomura I (2014) Adipose Hypothermia in Obesity and Its Association with Period Homolog 1, Insulin Sensitivity, and Inflammation in Fat. PLoS ONE 9:e00112813. doi: 10.1371/journal.pone.0112813.
16. Banzawa N, Saito S, Imagawa T, Kashio M, Takahashi K, Tominaga M, Ohta T (2014) Molecular basis determining inhibition/activation of nociceptive receptor TRPA1: A single amino acid dictates species-specific actions of the most potent mammalian TRPA1 antagonist. J Biol Chem 289(46): 31927-31939. doi: 10.1074/jbc.M114.586891.
17. Aijima R, Wang B, Takao T, Mihara H, Kashio M, Ohsaki Y, Zhang J-Q, Mizuno A, Suzuki M, Yamashita Y, Masuko S, Goto M, Tominaga M, Kido AM (2014) The thermosensitive TRPV3 channel contributes to rapid wound healing in oral epithelia. FASEB J. 29(1):182-92. doi:10.1096/fj.14-251314.

2）英文総説

1. Tominaga M, Takayama Y (2014) Interaction between TRP and Ca^{2+}-activated chloride channels. Channels 8:3.
2. Uchida K, Tominaga M (2014) The role of TRPM2 in pancreatic β-cells and the development of diabetes. Cell

Calcium 56:332-339. doi: 10.1016/j.ceca.2014.07.001.

3） 研究関係著作

1. 富永真琴 (2014) TRP チャネルと疼痛. ファインケミカル 43(1):6-11.
2. 富永真琴 (2014) TRP チャネルの新たな役割. 脳 21 17(2):39-43.
3. 富永真琴 (2014) 脳内温度・浸透圧の感知メカニズムとその破綻. “脳内環境-維持機構と破綻がもたらす疾患研究 遺伝子医学 MOOK 26 号” (高橋良輔, 漆谷真, 山中宏二, 樋口真人 編), メディカルドゥ, 大阪, pp.136-141.
4. 加塩麻紀子, 富永真琴 (2014) レドックス・センサーTRP チャネルと炎症. 臨床免疫・アレルギー 62(6):649-653.

《感覚認知情報研究部門》

1） 英文原著

1. Fujisaki W, Goda N, Motoyoshi I, Komatsu H, Nishida S (2014) Audiovisual integration in the human perception of materials. J Vis 14(4):12, 1-20. doi: 10.1167/14.4.12.
2. Goda N, Tachibana A, Okazawa G, Komatsu H (2014) Representation of the material properties of objects in the visual cortex of nonhuman primates. J Neurosci 34:2660-2673. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2593-13.2014
3. Nishio A, Shimokawa T, Goda N, Komatsu H (2014) Perceptual gloss parameters are encoded by population responses in the monkey inferior temporal cortex. J Neurosci 34:11143-11151. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1451-14.2014.
4. Namima T, Yasuda M, Banno T, Komatsu H (2014) Effects of luminance contrast on the color selectivity of neurons in the macaque area V4 and inferior temporal cortex. J Neurosci. 34:14934-14947. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2289-14.2014.

2） 研究関係著作

1. 小松英彦 (2014) 質感認知の情報学の進展と将来. 光学 43(7):298-306.

3） その他

1. 郷田直一 (2014) カンデル神経科学 第21章 感覚の符号化 (訳). メディカル・サイエンス・インターナショナル, pp. 443-467.

《神経シグナル研究部門》

1） 英文原著

1. Takeuchi Y, Asano H, Katayama Y, Muragaki Y, Imoto K, Miyata M (2014) Large-scale somatotopic refinement via functional synapse elimination in the sensory thalamus of developing mice. J Neurosci 34:1258-1270. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3865-13.2014.
2. Satake S, Imoto K（2014) $Ca_v2.1$ channels control multivesicular release by relying on their distance from exocytotic Ca^{2+} sensors at rat cerebellar granule cells. J Neurosci 34:1462-1474. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2388-13.2014.
3. Ohtani Y, Miyata M, Hashimoto K, Tabata T, Kishimoto Y, Fukaya M, Kase D, Kassai H, Nakao K, Hirata T, Watanabe M, Kano M, Aiba A (2014) The synaptic targeting of mGluR1 by its carboxyl-terminal domain is crucial for cerebellar function. J Neurosci 34:2702-2712. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3542-13.2014.
4. Funai Y, Pickering AE, Uta D, Nishikawa K, Mori T, Asada A, Imoto K, Furue H (2014) Systemic dexmedetomidine augments inhibitory synaptic transmission in the superficial dorsal horn through activation of descending noradrenergic control: an in vivo patch-clamp analysis of analgesic mechanisms. Pain 155:617-628. doi: 10.1016/j.pain.2013.12.018.
5. Hickey L, Li Y, Fyson SJ, Watson TC, Perrins R, Hewinson J, Teschemacher AG, Furue H, Lumb BM, Pickering AE (2014) Optoactivation of locus ceruleus neurons evokes bidirectional changes in thermal

nociception in rats. J Neurosci 34:4148-4160.
doi: 10.1523/JNEUROSCI.4835-13.2014.

6. Kon N, Yoshikawa T, Honma S, Yamagata Y, Yoshitane H, Shimizu K, Sugiyama Y, Hara C, Kameshita I, Honma K, Fukada Y (2014) CaMKII is essential for the cellular clock and coupling between morning and evening behavioral rhythms. Genes Dev 28:1101-1110.
doi: 10.1101/gad.237511.114.
7. Nishida K, Matsumura S, Taniguchi W, Uta D, Furue H, Ito S (2014) Three-dimensional distribution of sensory stimulation-evoked neuronal activity of spinal dorsal horn neurons analyzed by in vivo calcium imaging. PLoS One 9:e103321.
doi: 10.1371/journal. pone. 0103321.

2） 研究関係著作

1. 古江秀昌 (2014) 下行性制御機構：セロトニン系、ノルアドレナリン系. 日本医師会雑誌 143 巻特別号 (1) 痛みのマネジメント update 42-43.
2. 古江秀昌，歌 大介，秋元 望 (2014) 脊髄における侵害受容機構. ファインケミカル 43:17-21.
3. 歌 大介，吉村 惠，井本敬二 (2014) TRPA1 発現線維が入力するラット脊髄後角膠様質細胞の発火パターン解析 （第 35 回 脊髄機能診断研究会）.脊髄機能診断学 35:3-9

3） その他

1. 山肩葉子 (2014) シナプシン. 脳科学辞典
doi: 10.14931/bsd.5428

《視覚情報処理研究部門》

1） 英文原著

1. Ishikawa AW, Komatsu Y, Yoshimura Y (2014) Experience-dependent emergence of fine-scale networks in visual cortex. J Neurosci 3: 12576-12586.
doi: 10.1523/JNEUROSCI.1346-14.2014.
2. Horibe S, Tarusawa E, Komatsu Y, Yoshimura Y (2014) Ni^{2+}-sensitive T-type Ca^{2+} channel currents are regulated in parallel with synaptic and visual response plasticity in visual cortex. Neurosci Res 87: 33-39.
doi:10.1016/ j.neures.2014.07.001.
3. Toyoda S, Kawaguchi M, Kobayashi T, Tarusawa E, Toyama T, Okano M, Oda M, Nakauchi H, Yoshimura Y, Sanbo M, Hirabayashi M, Hirayama T, Hirabayashi T, Yagi T (2014) Developmental epigenetic modification regulates stochastic expression of clustered Protocadherin genes, generating single neuron diversity. Neuron 82: 94-108. doi: 10.1016/j.neuron.2014.02.005.
4. Mizuno H, Luo W, Tarusawa E, Saito YM, Sato T, Yoshimura Y, Itohara S, Iwasato T (2014) NMDAR-regulated dynamics of layer 4 neuronal dendrites during thalamocortical reorganization in neonates. Neuron 82: 365-379. doi:10.1016/j.neuron. 2014.02.026.

《心循環シグナル研究部門》

1） 英文原著

1. Yamada Y, Kinoshita H, Kuwahara K, Nakagawa Y, Kuwabara Y, Minami T, Yamada C, Shibata J, Nakao K, Cho K, Arai Y, Yasuno S, Nishikimi T, Ueshima K, Kamakura S, Nishida M, Kiyonaka S, Mori Y, Kimura T, Kangawa K, Nakao K. (2014) Inhibition of N-type Ca^{2+} channels ameliorates an imbalance in cardiac autonomic nerve activity and prevents lethal arrhythmias in mice with heart failure. Cardiovasc Res. 104(1):183-193.
doi: 10.1093/cvr/cvu185.

2） その他

1. Nishida M, Toyama T, Akaike T. Role of 8-nitro-cGMP and its redox regulation in cardiovascular electrophilic signaling. J Mol Cell Cardiol. 2014 73: 10-17.
doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.02.003.
2. Nishida M, Toyama T, Kumagai Y, Numaga-Tomita T. （2014）Establishment of a novel therapeutic strategy for heart failure based on the mechanism underlying

maintenance of redox homeostasis by reactive sulfur species. Yakugaku Zasshi. 134(12):1239-1243.

3. 北島直幸, 西田基宏　心臓における TRP チャネルの多様な役割　実験医学　Vol.32, No.4, 527-533 (2014).

《感覚運動調節研究部門》

1）英文原著

1. Okamoto H, Kakigi R (2014) Neural adaptation to silence in the human auditory cortex: a magnetoencephalographic study. Brain and Behavior 4:858-866.
doi: 10.1002/brb3.290
2. Hirai M, Gunji A, Inoue Y, Kita Y, Hayashi T, Nishimaki K, Nakamura M, Kakigi R, Inagaki M (2014) Differential electrophysiological responses to biological motion in children and adults with and without autism spectrum disorders. Research in Autism Spectrum Disorders 8:1623-1634.
doi: org/10.1016/j.rasd.2014.08.014.
3. Ichikawa H, Nakato E, Kanazawa S, Shimamura K, Sakuta Y, Sakuta R, Yamaguchi MK, Kakigi R (2014) Hemodynamic response of children with attention-deficit and Hyperactive disorder (ADHD) to emotional facial Expressions. Neuropsychologia 63: 51-58.
doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2014.08.010.
4. Okamoto H, Kakigi R (2014) History of silence affects auditory evoked fields regardless of intervening sounds: a magnetoencephalographic study. European Journal of Neuroscience 40:3380-3386. doi: 10.1111/ejn.12718.
5. Nishihara M, Inui K, Morita T, Kodaira M, Mochizuki H, Otsuru N, Motomura E, Ushida T, Kakigi R (2014) Echoic memory: Investigation of its temporal resolution analyzed by auditory offset cortical responses. PLOS ONE 9:e106553. doi: 10.1371/journal.pone.0106553.
6. Nakagawa K, Inui K, Yuge L, Kakigi R (2014) Inhibition of somatosensory-evoked cortical responses by a weak leading stimulus. NeuroImage 101: 416-424.
doi: 10.1016/j.neuroimage.2014.07.035.
7. Kondo E , Jinnouchi O, Ohnishi H, Kawata I, Nakano S, Goda M, Kitamura Y, Abe K, Hoshikawa H, Okamoto H, Takeda N (2014) Effects of aural stimulation with capsaicin ointment on swallowing function in elderly patients with non-obstructive dysphagia. Clinical Interventions in Aging 9:1661–1667.
doi：10.2147/CIA.S67602.
8. Ichikawa H, Kitazono1 J, Nagata K, Manda A, Shimamura K, Sakuta R, Okada M, Yamaguchi MK, Kanazawa S, Kakigi R (2014) Novel method to classify hemodynamic response obtained using multi-channel fNIRS measurements into two groups: Exploring the combinations of channels. Frontiers in Human Neuroscience 8:480. doi: 10.3389/fnhum.2014.00480.
9. Kobayashi M, Otsuka Y, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2014) The processing of faces across non-rigid transformation develops at 7 Month of age: A fNIRS-adaptation study. BMC Neuroscience 15: 81.
doi: 10.1186/1471-2202-15-81.
10. Otsuru N, Hashizume A, Nakamura D, Endo Y, Inui K, Kakigi R, Yuge L (2014) Sensory incongruence leading to hand disownership modulates somatosensory cortical processing. Cortex 58C:1-8.
doi: 10.1016/j.cortex.2014.05.005.
11. Motogi J, Kodaira M, Muragaki Y, Inui K, Kakigi R (2014) Cortical responses to C-fiber stimulation by intra-epidermal electrical stimulation: an MEG study. Neuroscience Letters. 570C:69-74.
doi: 10.1016/j.neulet.2014.04.001.
12. Okamoto H, Fukushima M, Teismann H, Lagemann L, Kitahara T, Inohara H, Kakigi R, Pantev C (2014) Constraint-induced sound therapy for sudden sensorineural hearing loss–behavioral and neurophysiological outcomes. Scientific Reports 4:3927.
doi: 10.1038/srep03927.
13. Teismann H, Wollbrink A, Okamoto H, Schlaug G, Rudack C, Pantev C (2014) Combining transcranial direct current stimulationt and tailor-made notched music training to decrease tinnitus-related distress - a pilot study. PLoS ONE 9:e89904.
doi: 10.1371/journal.pone.0089904.

14. Kodaira M, Inui K, Kakigi R (2014) Evaluation of nociceptive A-delta and C-fiber dysfunction with lidocaine using intraepidermal electrical stimulation. Clinical Neurophysiology 125:1870-1877. doi: 10.1016/j.clinph.2014.01.009.
15. Yokoyama T, Noguchi Y, Koga H, Tachibana R, Saiki J, Kakigi R, Kita S (2014) Multiple neural mechanisms for coloring words in synesthesia. NeuroImage. 94:360–371. doi: 10.1016/j.neuroimage.2014.01.039.
16. Tsuruhara A, Inui K, Kakigi R (2014) Steady-state visual-evoked response to upright and inverted geometrical faces: A magnetoencephalography study. Neuroscience Letters 562:19-23. doi: 10.1016/j.neulet.2014.01.001.
17. Matsumoto A, Kakigi R (2014) Subliminal semantic priming changes the dynamic causal influence between the left frontal and temporal cortex. Journal of Cognitive Neuroscience. 26:165-174. doi: 10.1162/jocn_a_00472.
18. Suzuki M, Noguchi Y, Kakigi R (2014) Temporal dynamics of neural activity underlying unconscious processing of manipulable objects. Cortex. 50:100-114. doi: 10.1016/j.cortex.2013.09.005.
19. Morita T, Tanabe HC, Sasaki AT, Shimada K, Kakigi R, Sadato N. (2014) The anterior insular and anterior cingulate cortices in emotional processing for self-face recognition Social Cognitive and Affective Neuroscience. 9:570-579. doi: 10.1093/scan/nst011.

2）　その他

1. Nakata H, Sakamoto K (2014) Relative age effects in Japanese athletes. Journal of Physical Fitness and Sports Medicine 3:467-476. doi: 10.7600/jpfsm.3.467.
2. Miki K, Kakigi R (2014) Magnetoencephalographic study on facial movements. Frontiers in Human Neuroscience 8:550. doi: 10.3389/fnhum.2014.00550.
3. Nakata H, Sakamoto K, Honda Y, Kakigi R (2014) Somato-motor inhibitory processing in humans: evidence from neurophysiology and neuroimaging. Journal of Physiological Sciences. 64(4):233-252. doi: 10.1007/s12576-014-0320-0.
4. Kakigi R Yamaguchi M.K. (2014) Editorial: Face perception and recognition. Japanese Psychological Research 56: 1: 1-1. doi: 10.1111/jpr.12037.
5. Miki K, Kakigi R (2014) Studies of face perception in humans using magneto- and electro-encephalography. Japanese Psychological Research. 56:46-57. doi: 10.1111/jpr.12023.
6. 柿木隆介（2014）知覚障害,脳神経外科医のための脳機能と局在診断,三國信啓,深谷親　編者,文光堂,東京,21-26.
7. 岡本秀彦 (2014) 聴覚中枢の伝達と可塑性：新しい耳鳴と難聴治療,脳 21,遠山正彌編者,㈱金宝堂,京都,22-27.
8. 乾幸二（2014）痛み診療キーポイント　基礎編 D.脳　前頭前野　編集　川真田樹人,文光堂　東京,68.
9. 乾幸二 (2014) 痛み診療キーポイント　基礎編 D.脳運動野　編集　川真田樹人,文光堂　東京,69.
10. 望月秀紀,柿木隆介 : 超の世界　痒いところと掻くと気持ちよくなる脳内メカニズム (2014) Journal of Society of Automotive Engineers of Japan 68:80-83.
11. 乾幸二,柿木隆介（2014）気になる脳部位　前部帯状回　分子精神医学 14：40-43.
12. 柿木隆介 (2014) fMRI による痛みの画像.　日本医師会雑誌　第143巻・特別号.　痛みのマネジメント update.　S13-16. S104-105.
13. 乾幸二（2014）電気生理学的検査.　日本医師会雑誌　第 143 巻・特別号.　痛みのマネジメント update. 94-96.
14. 柿木隆介 (2014) 新春特集　疼痛研究の最前線　脳における痛覚受容機構　月刊ファインケミカル 43：22-28.
15. 柿木隆介 (2014) 特集　痛みの臨床　心身医療からのアプローチ　「痛み」と「心の痛み」の脳内認知機構　内科系総合雑誌 Modern Physician 34：9-12.

《生体システム研究部門》

1） 英文原著

1. Horie M, Watanabe K, Bepari AK, Nashimoto J, Araki K, Sano H, Chiken S, Nambu A, Ono K, Ikenaka K, Kakita A, Yamamura K, Takebayashi H (2014) Disruption of actin-binding domain-containing Dystonin protein causes dystonia musculorum in mice. Eur J Neurosci 40:3458-3471. doi: 10.1111/ejn.1271.
2. Miyachi S, Hirata Y, Inoue K, Lu X, Nambu A, Takada M (2013) Multisynaptic projections from the ventrolateral prefrontal cortex to hand and mouth representations of the monkey primary motor cortex. Neurosci Res 76:141-149. doi: 10.1016/j.neures.2013.04.004.

2） 英文総説

1. Chiken S, Nambu A (2014) Disrupting neuronal transmission: mechanism of DBS? Front Syst Neurosci 8:33. doi: 10.3389/fnsys.2014.00033.
2. Nambu A, Tachibana Y (2014) Mechanism of parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia: some considerations based on our recent work. Front Syst Neurosci 8:74. doi: 10.3389/fnsys.2014.00074

3） 研究関係著作

1. Nambu A (2014) Functional circuitry of the basal ganglia. “Deep Brain Stimulation for Neurological Disorders” (Ed. Itakura T), Springer, pp. 1-11.
2. Nambu A, Chiken S (2014) Mechanism of DBS: Inhibition, Excitation, or Disruption? “Deep Brain Stimulation for Neurological Disorders” (Ed. Itakura T), Springer, pp. 13-20.
3. 橘吉寿, 彦坂興秀, 南部篤 (2014) 大脳基底核の神経回路と行動選択. Clinical Neuroscience 32:33-35.
4. 佐野裕美, 南部篤 (2014) 無動、寡動、舞踏運動の病態生理. Clinical Neuroscience 32:80-82.
5. 南部篤, 橘吉寿 (2014) パーキンソン病と脳のオシレーション. Clinical Neuroscience 32:768-771.
6. 畑中伸彦 (2014) DBS. Clinical Neuroscience 32:777-779.
7. 南部篤 (2014) 大脳皮質と大脳基底核. 標準生理学第 8 版, 医学書院, pp 342-366.
8. 南部篤 (2014) 大脳基底核. カンデル神経科学（翻訳）, メディカル・サイエンス・インターナショナル, pp 963-978.

4） その他

1. 南部篤 (2013) 真のオリジナリティとは？－私が大学院生だった頃－. “国立大学法人総合研究大学院大学創立 25 周年記念誌 ：1988-2013”, pp. 19-20.

《脳形態解析研究部門》

1） 英文原著論文

1. Oda Y, Otani T, Ikenouchi J, Furuse M (2014) Tricellulin regulates junctional tension of epithelial cells at tricellular contacts via Cdc42. J Cell Sci 127:4201-4212. doi: 10.1242/jcs.150607.
2. Tokuda S, Higashi T, Furuse M (2014) ZO-1 knockout by TALEN-mediated gene targeting in MDCK cells: involvement of ZO-1 in the regulation of cytoskeleton and cell shape. PLoS One 9:e104994. doi: 10.1371/journal.pone.0104994.
3. Nakatsu D, Kano F, Taguchi Y, Sugawara T, Nishizono T, Nishikawa K, Oda Y, Furuse M, Murata M (2014) JNK1/2-dependent phosphorylation of angulin-1/LSR is required for the exclusive localization of angulin-1/LSR and tricellulin at tricellular contacts in EpH4 epithelial sheet. Genes Cells 19:565-81. doi: 10.1111/gtc.12158.
4. Kitajiri S, Katsuno T, Sasaki H, Ito J, Furuse M, Tsukita S (2014) Deafness in occludin-deficient mice with dislocation of tricellulin and progressive apoptosis of the hair cells. Biol Open 3:759-66. doi: 10.1242/bio.20147799.

2） 英文総説

1. Furuse M, Izumi Y, Oda Y, Higashi T, Iwamoto N (2014) Molecular organization of tricellular tight junctions. Tissue Barriers 2:e28960. doi: 10.4161/tisb.28960.
2. Izumi Y, Furuse M (2014) Molecular organization and

function of invertebrate occluding junctions. Semin Cell Dev Biol 36C:186-193. doi: 10.1016/j.semcdb. 2014. 09. 009.

《旧 脳形態解析研究部門》

1） 英文原著

1. Wang W, Nakadate K, Masugi-Tokita M, Shutoh F, Aziz W, Tarusawa E, Lorincz A, Molnár E, Kesaf S, Li YQ, Fukazawa Y, Nagao S, Shigemoto R (2014) Distinct cerebellar engrams in short-term and long-term motor learning. Proc Natl Acad Sci USA 111:E188-93. doi: 10.1073/pnas.1315541111.
2. Aziz W, Wang W, Kesaf S, Mohamed AA, Fukazawa, Shigemoto R (2014) Distinct kinetics of synaptic structural plasticity, memory formation, and memory decay in massed and spaced learning. Proc Natl Acad Sci USA 111:E194-202. doi: 10.1073/pnas.1303317110.
3. Matsukawa H, Akiyoshi-Nishimura S, Zhang Q, Luján R, Yamaguchi K, Goto H, Yaguchi K, Hashikawa T, Sano C, Shigemoto R, Nakashiba T, Itohara S (2014) Netrin-G/NGL Complexes Encode Functional Synaptic Diversification. J Neurosci 34:15779-15792. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1141-14.2014.
4. Chen T, Wang W, Dong YL, Zhang MM, Wang J, Koga K, Liao YH, Li JL, Budisantoso T, Shigemoto R, Itakura M, Huganir RL, Li YQ, Zhuo M (2014) Postsynaptic insertion of AMPA receptor onto cortical pyramidal neurons in the anterior cingulate cortex after peripheral nerve injury. Mol Brain 7:76. doi: 10.1186/s13041-014-0076-8.
5. García-Negredo G, Soto D, Llorente J, Morató X, Galenkamp KM, Gómez-Soler M, Fernández-Dueñas V, Watanabe M, Adelman JP, Shigemoto R, Fukazawa Y, Luján R, Ciruela F (2014) Coassembly and coupling of SK2 channels and mGlu5 receptors. J Neurosci 34:14793-14802. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2038-14.2014.
6. Edamura M, Murakami G, Meng H, Itakura M, Shigemoto R, Fukuda A, Nakahara D (2014) Functional deficiency of MHC class I enhances LTP and abolishes LTD in the nucleus accumbens of mice. PLoS One 9:e107099. doi: 10.1371/journal.pone.0107099.
7. Rubio ME, Fukazawa Y, Kamasawa N, Clarkson C, Molnár E, Shigemoto R (2014) Target- and input-dependent organization of AMPA and NMDA receptors in synaptic connections of the cochlear nucleus. J Comp Neurol 522:4023-4042. doi: 10.1002/cne.23654.
8. Mandikian D, Bocksteins E, Parajuli LK, Bishop HI, Cerda O, Shigemoto R, Trimmer JS (2014) Cell type-specific spatial and functional coupling between mammalian brain Kv2.1 K^+ channels and ryanodine receptors. J Comp Neurol 522:3555-3574. doi: 10.1002/cne.23641.
9. Hatakeyama J, Wakamatsu Y, Nagafuchi A, Kageyama R, Shigemoto R, Shimamura K (2014) Cadherin-based adhesions in the apical endfoot are required for active Notch signaling to control neurogenesis in vertebrates. Development 141:1671-1682. doi: 10.1242/dev.102988.
10. Beppu K, Sasaki T, Tanaka KF, Yamanaka A, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K (2014) Optogenetic countering of glial acidosis suppresses glial glutamate release and ischemic brain damage. Neuron 81:314-320. doi: 10.1016/j.neuron.2013.11.011.
11. Ballesteros-Merino C, Watanabe M, Shigemoto R, Fukazawa Y, Adelman JP, Luján R (2014) Differential subcellular localization of SK3-containing channels in the hippocampus. Eur J Neurosci 39:883-92. doi: 10.1111/ejn.12474.
12. Nakamura Y, Harada H, Kamasawa N, Matsui K, Rothman JS, Shigemoto R, Silver RA, DiGregorio DA, Takahashi T (2015) Nanoscale Distribution of Presynaptic Ca^{2+} Channels and Its Impact on Vesicular Release during Development. Neuron 85:145-158. (Epub 2014 Dec 18) doi: 10.1016/j.neuron.2014.11.019.
13. Mansouri M, Kasugai Y, Fukazawa Y, Bertaso F, Raynaud F, Perroy J, Fagni L, Kaufmann WA, Watanabe M, Shigemoto R, Ferraguti F (2015) Distinct subsynaptic

localization of type 1 metabotropic glutamate receptors at glutamatergic and GABAergic synapses in the rodent cerebellar cortex. Eur J Neurosci 41:157-167. (Epub 2014 Nov 6) doi: 10.1111/ejn.12779.

14. Gómez-Gonzalo M, Navarrete M, Perea G, Covelo A, Martín-Fernández M, Shigemoto R, Luján R, Araque A (2014) Endocannabinoids Induce Lateral Long-Term Potentiation of Transmitter Release by Stimulation of Gliotransmission. Cereb Cortex (first published online: September 26, 2014). doi: 10.1093/cercor/bhu231

《大脳神経回路論研究部門》

1） 英文原著

1. Ueta Y, Otsuka T, Morishima M, Ushimaru M, Kawaguchi Y (2014) Multiple layer 5 pyramidal cell subtypes relay cortical feedback from secondary to primary motor areas in rats. Cereb Cortex 24:2362-2376. doi: 10.1093/cercor/bht088.
2. Kamijo TC, Hayakawa H, Fukushima Y, Kubota Y, Isomura Y, Tsukada M, Aihara T (2014) Input integration around the dendritic branches in hippocampal dentate granule cells. Cogn Neurodyn 8:267-276. doi: org/10.1007/s11571-014-9280-6.

2） 英文総説

1. Kubota Y (2014) Untangling GABAergic wiring in the cortical microcircuit. Curr Opin Neurobiol 26:7-14. doi: org/10.1016/j.conb.2013.10.003.

3） 研究関係著作

1. 窪田芳之 (2014) 大脳皮質の神経細胞と局所神経回路. 日本神経回路学会誌 21:122-131.

4） その他

1. Kawaguchi Y, Kano M (2014) Neural Circuits: Japan. Front Neural Circuits 8:135. doi: 10.3389/ fncir. 2014. 00135.

《心理生理学研究部門》

1） 英文原著

1. Anme T, Tanaka E, Tokutake K, Watanabe T, Tomisaki E, Mochizuki Y, Wu B, Shinohara R, Sugisawa Y, Okazaki S and Sadato N (2014) Assessing gender differences in sociabillity towards strangers over time using the Interaction Rating Scale Advanced (IRSA). International Journal of Applied Psychology, 4: 50-56. doi:10.5923/j.ijap.20140402.02.
2. Anme T, Tokutake K, Tanaka E, Watanabe T, Tomisaki E, Mochizuki Y, Wu B, Shinohara R, Sugisawa Y, Okazaki S and Sadato N (2014) Validity and reliability of the Interaction Rating Scale Advanced (IRSA) as an index of social competence development. Public Health Research, 4:25-30. doi:10.5923/j.phr.20140401.05.
3. Hashimoto R, Ikeda M, Yamashita F, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Fukunaga M, Nemoto K, Takahashi T, Tochigi M, Onitsuka T, Yamasue H, Matsuo K, Iidaka T, Iwata N, Suzuki M, Takeda M, Kasai K, Ozaki N (2014) Common variants at 1p36 are associated with superior frontal gyrus volume. Transl Psychiatry, 4:e472. doi: 10.1038/tp.2014.110.
4. Iidaka T, Harada T, Sadato N (2014) False memory for face in short-term memory and neural activity in human amygdala. Brain Res, 1591:74-85. doi: 10.1016/j.brainres.2014.10.003.
5. Jung M, Kosaka H, Saito DN, Ishitobi M, Morita T, Inohara K, Asano M, Arai S, Munesue T, Tomoda A, Wada Y, Sadato N, Okazawa H, Iidaka T (2014) Default mode network in young male adults with autism spectrum disorder: relationship with autism spectrum traits. Mol Autism, 5:35. doi:10.1186/2040-2392-5-35.
6. Kitada R, Sasaki AT, Okamoto Y, Kochiyama T, Sadato N (2014) Role of the precuneus in the detection of incongruency between tactile and visual texture information: a functional MRI study. Neuropsychologia, 64:252-262.

doi:10.1016/j.neuropsychologia.2014.09.028.

7. Kitada R, Yoshihara K, Sasaki A, Hashiguchi M, Kochiyama Tand Sadato N (2014) The brain network underlying the recognition of hand gestures in the blind: the supramodal role of the extrastriate body area. The Journal of Neuroscience, 34:10096-10108. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0500-14.2014.
8. Miura K, Hashimoto R, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Ohi K, Umeda-Yano S, Fukunaga M, Iwase M, Takeda M (2014) An integrated eye movement score as a neurophysiological marker of schizophrenia. Schizophr Res. 160:228-9. doi:10.1016/j.schres.2014.10.023.
9. Mochizuki H, Tanaka S, Morita T, Wasaka T, Sadato N, Kakigi R (2014) The cerebral representation of scratching-induced pleasantness. J Neurophysiol, 111:488-498. doi:10.1152/jn.00374.2013.
10. Morita T, Tanabe HC, Sasaki AT, Shimada K, Kakigi R, Sadato N （2014） The anterior insular and anterior cingulate cortices in emotional processing for self-face recognition. Soc Cogn Affect Neurosci., 9:570-579. doi: 10.1093/scan/nst011.
11. Mueller JL, Rueschemeyer SA, Ono K, Sugiura M, Sadato N, Nakamura A (2014) Neural networks involved in learning lexical-semantic and syntactic information in a second language. Front Psychol, 5:1209. doi: 10.3389/fpsyg.2014.01209.
12. Nakajima K, Minami T, Tanabe HC, Sadato N, Nakauchi S (2014) Facial color processing in the face-selective regions: An fMRI study. Hum Brain Mapp., 35:4958-4964. doi: 10.1002/hbm.22535.
13. Ohi K, Hashimoto R, Ikeda M, Yamashita F, Fukunaga M, Nemoto K, Ohnishi T, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Watanabe Y, Iwata N, Weinberger DR, Takeda M (2014) Genetic risk variants of schizophrenia associated with left superior temporal gyrus volume. Cortex, 58:23-26. doi:10.1016/j.cortex.2014.05.011.
14. Okamoto Y, Kitada R, Tanabe HC, Hayashi MJ, Kochiyama T, Munesue T, Ishitobi M, Saito DN, Yanaka HT, Omori M, Wada Y, Okazawa H, Sasaki AT, Morita T, Itakura S, Kosaka H, Sadato N (2014) Attenuation of the contingency detection effect in the extrastriate body area in autism spectrum disorder. Neuroscience Research, 87:66-76. doi: 10.1016/j.neures.2014.06.012.
15. Okazaki S, Mori K, Okada M (2014) Principal component analysis reveals attentional modulation of the vocal response to pitch perturbation. Journal of Acoustical Society of America, 136: 334-340. doi: 10.1121/1.4881921.
16. Pascual-Marqui RD, Biscay RJ, Bosch-Bayard J, Lehmann D, Kochi K, Kinoshita T, Yamada N and Sadato N (2014) Assessing direct paths of intracortical causal information flow of oscillatory activity with the isolated effective coherence (iCoh). Front. Hum. Neurosci., 8:448. doi: 10.3389/fnhum.2014.00448.
17. Sakai H, Uchiyama Y, Tanaka S, Sugawara SK, Sadato N (2014) Prefrontal transcranial direct durrent stimulation improves fundamental vehicle control abilities. Beharioural Brain Research,273:57-62. doi:10.1016/j.bbr.2014.07.036.
18. Sasai S, Homae F, Watanabe H, Sasaki AT, Tanabe HC, Sadato N, Taga G (2014) Frequency-specific network topologies in the resting human brain. Front Hum Neurosci., 8:1022. doi:10.3389/fnhum.2014.01022.
19. Sugawara SK, Tanaka S, Tanaka D, Seki A, Uchiyama HT, Okazaki S, Koeda T, and Sadato N (2014) Sleep is associated with offline improvement of motor sequence skill in children. PLoS ONE, e111635. doi: 10.1371/journal.pone.0111635.
20. Watanabe Y, Tanaka H, Tsukabe A, Kunitomi Y, Nishizawa M, Hashimoto R, Yamamori H, Fujimoto M, Fukunaga M, Tomiyama N (2014) Neuromelanin magnetic resonance imaging reveals increased dopaminergic neuron activity in the substantia nigra of patients with schizophrenia. PLoS One, 9:e104619. doi:10.1371/journal.pone.0104619.

2） 英文総説

1. Shishido E, Aleksic E, Ozaki N (2014) Copy-number variation in the pathogenesis of autism spectrum disorder. Psychiatry and Clinical Neurosciences, 5-95.

3） 研究関係著作

1. Kawamichi H, Yoshihara K, Kitada R, Matsunaga M, Sasaki A, Yoshida Y, Takahashi H, Sadato N (2014) Sense of Acceptance: Key Factor of Social Learning.

"Dynamics of Learning in Neanderthals and Modern Humans" Volume 2 Replacement of Neanderthals by Modern Humans Series 2014, pp 217-220.（分担執筆）

2. 島田浩二, 定藤規弘 (2014) 外国語の産出と理解プロセスの熟達化に関わる脳内メカニズム: fMRI による検討. 横川博一, 定藤規弘, 吉田晴世(編) 外国語運用能力はいかに熟達化するか: 言語情報処理の自動化プロセスを探る, 松柏社, pp 253-267.（分担執筆）
3. 中川恵理 (2014) 外国語学習者の文産出プロセスにおいて語彙検索処理の負荷はどのように影響するか. 横川博一、定藤規弘、吉田晴世（編）. 外国語運用能力はいかに熟達化するか：言語情報処理の自動化プロセスを探る. 松柏社. pp 136-153.（分担執筆）
4. Mrazek AJ, Harada T, Chiao JY (2014): Cultural neuroscience of identity development. In: McLean KC, Syed M, editors. The Oxford Handbook of Identity Development. New York: Oxford University Press. pp 423-436.

4） 和文総説

1. 北田亮（2014）触覚認知の心理学. Clinical Neuroscience, 32: 183-186.
2. 宍戸恵美子（2014）ゲノム関連の最新のトピック. 分子精神医学, 14: 40-46.
3. 定藤規弘（2014）機能的 MRI による社会能力発達における神経基盤の解明. 脳神経外科ジャーナル, 23: 318-324.
4. 定藤規弘 (2014) 「私たち」の脳科学に向けて：2 個人同時計測 MRI 研究. 臨床神経科学, 32: 797-799.
5. 福永雅喜 (2014) fMRI/VBM―臨床応用への展望と課題. インナービジョン, 29:15-18.

《認知行動発達機構研究部門》

1） 英文原著

1. Sasada S, Kato K, Kadowaki S, Groiss SJ, Ugawa Y, Komiyama T, Nishimura Y (2014) Volitional walking via upper limb muscle-controlled stimulation of the lumbar locomotor center in man. J Neurosci 34:11131-11142. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4674-13.2014.
2. Phongphanphanee P, Marino R, Kaneda K, Yanagawa Y, Munoz DP, Isa T (2014) Distinct local circuit properties of the superficial and intermediate layers of the rodent superior colliculus. Eur J Neurosci 40:2329-2343. doi: 10.1111/ejn.12579.
3. Umeda T, Watanabe H, Sato MA, Kawato M, Isa T, Nishimura Y (2014) Decoding of the spike timing of primary afferents during voluntary arm movements in monkeys. Front Neurosci 8:97. doi: 10.3389/fnins.2014.00097.
4. Watanabe H, Sakatani T, Suzuki T, Sato MA, Nishimura Y, Nambu A, Kawato M, Isa T (2014) Reconstruction of intracortical whisker-evoked local field potential from electrocorticogram using a model trained for spontaneous activity in the rat barrel cortex. Neurosci Res 87:40-48. doi: 10.1016/j.neures.2014.06.010.
5. Chen C, Shin D, Watanabe H, Nakanishi Y, Kambara H, Yoshimura N, Nambu A, Isa T, Nishimura Y, Koike Y (2014) Decoding grasp force profile from electrocorticography signals in non-human primate sensorimotor cortex. Neurosci Res 83:1-7. doi: 10.1016/j.neures.2014.03.010.
6. Yoshida M, Veale R (2014) Saliency-guided neural prosthesis for visual attention: design and simulation. Neurosci Res 78:90-94. doi: 10.1016/j.neures.2013.07.007.
7. Umeda T, Isa T, Nishimura Y (2014) Proprioceptive information coded by populational sensory afferents. J Phys Fitness Sports Med 3(5):477-482. doi:10.7600/jpfsm.3.477.
8. Watanabe H, Tsubokawa H, Tsukada M, Aihara T (2014) Frequency-dependent signal processing in apical dendrites of hippocampal CA1 pyramidal cells. Neuroscience 278:194-210. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.07.069.
9. Oishi T, Imai H, Go Y, Imamura M, Hirai H, Takada M (2014) Sporadic premature aging in a Japanese monkey: a primate model for progeria. PLOS One 9:e111867.

doi: 10.1371/journal.pone.0111867.
10. Hayakawa T, Suzuki-Hashido N, Matsui A, Go Y (2014) Frequent expansions of the bitter taste receptor gene repertoire during evolution of mammals in the Euarchontoglires clade. Mol Biol Evol 31:2018-2031. doi: 10.1093/molbev/msu144.
11. Uesaka M, Nishimura O, Go Y, Nakashima K, Agata K, Imamura T (2014) Bidirectional promoters are the major source of gene activation-associated non-coding RNAs in mammals. BMC Genomics 15:35. doi: 10.1186/1471-2164-15-35.

2）　和文原著（査読有）

1. 澤田真寛, 加藤健治, 尾上浩隆, 伊佐正, 西村幸男 (2014) 脊髄損傷からの回復期における側坐核の役割. 脊髄外科 28(1):77-79.

3）　英文総説

1. Hutchinson M, Isa T, Molloy A, Kimmich O, Williams L, Molloy F, Moore H, Healy DG, Lynch T, Walsh C, Butler J, Reilly RB, Walsh R, O'Riordan S（2014）Cervical dystonia: a disorder of the midbrain network for covert attentional orienting. Front Neurol 5:54. doi: 10.3389/fneur.2014.00054.
2. Isa T, Nishimura Y (2014) Plasticity after partial spinal cord injury --Hierarchical organization. Neurosci Res 78:3-8. doi:10.1016/j.neures.2013.10.008.
3. Umeda T, Funakoshi K (2014) Reorganization of motor circuits after neonatal hemidecortication. Neurosci Res 78:30-37. doi: 10.1016/j.neures.2013.08.011.

4）　研究関係著作

1. 加藤健治, 西村幸男 (2014) 脳と脊髄との神経結合を人工的に強化する. BRAIN and NERVE 66(12): 1481-1486.
2. 西村幸男 (2014) 再生・再建の工夫 人工神経接続による神経補綴. JOHNS 30(10):1483-1487.
3. 西村幸男, 伊佐正 (2014) 大脳皮質と筋肉での振動性活動から脊髄損傷からの機能回復をみる. Clinical Neuroscience 32(7):773-776.
4. 吉田正俊 (2014) 視覚顕著性(視覚サリエンシー)の神経ネットワーク. 神経心理学 30(4):268-276.
5. 吉田正俊 (2014) 盲視の神経現象学を目指して. 東北大学倫理学研究会 MORALIA 20-21:171-188.
6. 吉田正俊 (2014) 意識の神経相関. Clinical Neuroscience 32(8): 856-860.
7. 吉田正俊 (2014) サリエンシー・マップの視覚探索解析への応用. 日本神経回路学会誌 21(1):3-12.
8. Veale RE, Isa T, Yoshida M (2014) Large-scale spiking circuit simulation of spatio-temporal dynamics in superior colliculus. BMC Neuroscience 15(1):1-2.
9. Watanabe H, Takahashi K, Nishimura Y, Isa T. (2014) Phase and magnitude spatiotemporal dynamics of β oscillation in electrocorticography (ECoG) in the monkey motor cortex at the onset of 3D reaching movements. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc2014: 5196-9. doi: 10.1109/EMBC.2014.6944796.
10. Higo N, Isa T (2014) Strategies to understand and overcome brain/spinal cord injury. Neurosci Res 78:1-2. doi: 10.1016/j.neures.2013.11.001.

《生体恒常機能発達機構研究部門》

1）　英文原著

1. Zhao H, Aoshi T, Kawai S, Mori Y, Konishi A, Ozkan M, Fujita Y, Haseda Y, Shimizu M, Kohyama M, Kobiyama K, Eto K, Nabekura J, Horii T, Ishino T, Yuda M, Hemmi H, Kaisho T, Akira S, Kinoshita M, Tohyama K, Yoshioka Y, Ishii KJ, Coban C (2014) Olfactory plays a key role in spatiotemporal pathogenesis of cerebral malaria. Cell Host Microbe 15(5):551-563. doi: 10.1016/j.chom.2014.04.008.
2. Takatsuru Y, Nabekura J, Koibuchi N (2014) Contribution of neuronal and glial circuit in intact hemisphere for functional remodeling after focal ischemia. Neurosci Res 78:38-44. doi: 10.1016/j.neures.2013.07.004.

2）　英文総説

1. Fields RD, Araque A, Johansen-Berg H, Lim SS, Lynch G, Nave KA, Nedergaard M, Perez R, Sejnowski T, Wake H (2014) Glial Biology in Learning and Cognition.

Neuroscientist 20:5. doi: 10.1177/1073858413504465.
2. Watanabe M, Fukuda A, Nabekura J (2014) The role of GABA in the regulation of GnRH neurons. Front Neurosci 8:387. doi: 10.3389/fnins.2014.00387

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1） 英文原著

1. Inagaki-Ohara K, Mayuzumi H, Kato S, Minokoshi Y, Otsubo T, Kawamura YI, Dohi T, Matsuzaki G, Yoshimura A (2014) Enhancement of leptin receptor signaling by SOCS3 deficiency induces development of gastric tumors in mice. Oncogene 33:74-84.
2. Sasaki T, Kikuchi O, Shimpuku M, Susanti VY, Yokota-Hashimoto H, Taguchi R, Shibusawa N, Sato T, Tang L, Amano K, Kitazumi T, Kuroko M, Fujita Y, Maruyama J, Lee YS, Kobayashi M, Nakagawa T, Minokoshi Y, Harada A, Yamada M, Kitamura T (2014) Hypothalamic SIRT1 prevents age-associated weight gain by improving leptin sensitivity in mice. Diabetologia 57: 819-831.
3. Tabuchi S, Tsunematsu T, Black SW, Tominaga M, Maruyama M, Takagi K, Minokoshi Y, Sakurai T, Kilduff TS, Yamanaka A (2014) Conditional ablation of orexin/hypocretin neurons: a new mouse model for the study of narcolepsy and orexin system function. J Neurosci 34: 6495-6509.

2） その他

1. 箕越靖彦 (2014) 食欲制御の分子機構. アンチ・エイジング医学　日本抗加齢医学会雑誌 10:200-205.
2. 箕越靖彦 (2014) 視床下部研究の進歩. 日本臨床増刊号最新肥満症学 72:109-114.
3. 箕越靖彦 (2014) 視床下部と骨格筋における AMPK の代謝調節作用. 医学のあゆみ 250:766-772.
4. 箕越靖彦 (2014) 血糖値制御. Clinical Neuroscience 32:1379-1382.
5. 箕越靖彦 (2014) 肥満と摂食調節機構. Surgery Frontier 21:381-384.
6. 箕越靖彦 (2014) 巻頭言「解明したい今後の研究課題」. 日本糖尿病・肥満動物学会 NEWS LETTER 18: 1-2.

《個別研究（村上グループ）》

1） 英文原著

1. Seo E, Ohishi K, Maruyama T, Imaizumi-Ohashi Y, Murakami M, Seo Y (2014) Testing the constant-volume hypothesis by magnetic resonance imaging of *Mytilus galloprovincialis* heart. J Exp Biol 217:964-973, doi: 10.1242/jeb.092577.
2. Seo E, Ohishi K, Maruyama T, Imaizumi-Ohashi Y, Murakami M, Seo Y (2014) Magnetic resonance imaging analysis of water flow in the mantle cavity of live *Mytilus galloprovincialis*. J Exp Biol 217: 2277-2287, doi: 10.1242/jeb.101949.

2） その他

1. 村上政隆 (2014) IADR Distinguished Scientist on Salivary Research 2013 を受賞して. 日本生理学雑誌 76(2):43-57.

《個別研究（毛利グループ）》

1）　研究関係著作

1. 1. Mohri T, Kyozuka K (2014) Mitochondrial activation and nitric oxide (NO) release at fertilization in echinoderm eggs. “Sexual Reproduction in animals and plants” (eds. Sawada H, Inoue N, Iwano M) Springer, Japan, pp.187-197.

《遺伝子改変動物作製室》

1）　英文原著

1. Hirabayashi M, Goto T, Tamura C, Sanbo M, Hara H, Kato-Itoh M, Sato H, Kobayashi T, Nakauchi H, Hochi S (2014) Derivation of embryonic stem cell lines from parthenogenetically developing rat blastocysts. Stem Cell Dev 23:107-114. doi: 10.1089/scd.2013.0200.
2. Hirabayashi M, Goto T, Tamura C, Sanbo M, Hochi S (2014) Effect of leukemia inhibitory factor and forskolin on establishment of rat embryonic stem cell lines. J Reprod Dev 60:78-82. doi: 0.1262/jrd.2013-109.
3. Toyoda S, Kawaguchi M, Kobayashi T, Tarusawa E, Toyama T, Okano M, Oda M, Nakauchi H, Yoshimura Y, Sanbo M, Hirabayashi M, Hirayama T, Hirabayashi T, Yagi T (2014) Developmental epigenetic modification regulates stochastic expression of clustered protocadherin genes, generating single neuron diversity. Neuron 82:94-108. doi: 10.1016/j.neuron.2014.02.005.
4. Hara H, Tagiri M, Hwang IS, Takahashi M, Hirabayashi M, Hochi S (2014) Adverse effect of cake collapse on the functional integrity of freeze-dried bull spermatozoa. Cryobiology 68:354-360. doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.04.005.
5. Hayama T, Yamaguchi T, Kato-Itoh M, Hamanaka S, Kawarai M, Sanbo M, Tamura C, Lee YS, Yanagida A, Murayama H, Mizuno N, Umino A, Sato H, Yamazaki S, Masaki H, Kobayashi T, Hirabayashi M, Nakauchi H (2014) Generation of mouse functional oocytes in rat by xeno-ectopic transplantation of primordial germ cells. Biol Reprod 91:89. doi: 10.1095/biolreprod.114.121640.
6. Hara H, Yamane I, Noto I, Kagawa N, Kuwayama M, Hirabayashi M, Hochi S (2014) Microtubule assembly and in vitro development of bovine oocytes with increased intracellular glutathione level prior to vitrification and in vitro fertilization. Zygote 22:476-482. doi: 10.1017/S0967199413000105.

《行動様式解析室》

1）　英文原著

1. Kobayashi M, Nakatani T, Koda T, Matsumoto K, Ozaki R, Mochida N, Takao K, Miyakawa T, Matsuoka I (2014) Absence of BRINP1 in mice causes increase of hippocampal neurogenesis and behavioral alterations relevant to human psychiatric disorders. Mol Brain 7:12. doi: 10.1186/1756-6606-7-12.
2. Koshimizu H, Takao K, Matozaki T, Ohnishi H, Miyakawa T (2014) Comprehensive behavioral analysis of cluster of differentiation 47 knockout mice. PLoS One 9(2):e89584. doi: 10.1371/journal.pone.0089584.
3. Shoji H, Takao K, Hattori S, Miyakawa T (2014) Contextual and cued fear conditioning test using a video analyzing system in mice. J Vis Exp 85:e50871. doi: 10.3791/50871.
4. Onouchi T, Kobayashi K, Sakai K, Shimomura A, Smits R, Sumi-Ichinose C, Kurosumi M, Takao K, Nomura R, Iizuka-Kogo A, Suzuki H, Kondo K, Akiyama T, Miyakawa T, Fodde R, Senda T (2014) Targeted deletion of the C-terminus of the mouse adenomatous polyposis coli tumor suppressor results in neurologic phenotypes related to schizophrenia. Mol Brain 7:21.

doi: 10.1186/1756-6606-7-21.
5. Fujioka R, Nii T, Iwaki A, Shibata A, Ito I, Kitaichi K, Nomura M, Hattori S, Takao K, Miyakawa T, Fukumaki Y (2014) Comprehensive behavioral study of mGluR3 knockout mice: implication in schizophrenia related endophenotypes. Mol Brain 7:31. doi: 10.1186/ 1756-6606-7-31.
6. Hagihara H, Ohira K, Takao K, Miyakawa T (2014) Transcriptomic evidence for immaturity of the prefrontal cortex in patients with schizophrenia. Mol Brain 7:41. doi: 10.1186/1756-6606-7-41.
7. Hayashi Y, Nabeshima Y, Kobayashi K, Miyakawa T, Tanda K, Takao K, Suzuki H, Esumi E, Noguchi S, Matsuda Y, Sasaoka T, Noda T, Miyazaki J, Mishina M, Funabiki K, Nabeshima Y (2014) Enhanced stability of hippocampal place representation caused by reduced magnesium block of NMDA receptors in the dentate gyrus. Mol Brain 7:44. doi: 10.1186/1756-6606-7-44.
8. Zheng LS, Hitoshi S, Kaneko N, Takao K, Miyakawa T, Tanaka Y, Xia H, Kalinke U, Kudo K, Kanba S, Ikenaka K, Sawamoto K (2014) Mechanisms for interferon-α-induced depression and neural stem cell dysfunction. Stem Cell Reports 3(1):73-84. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.05.015.
9. Takao K, Miyakawa T (2014) Genomic responses in mouse models greatly mimic human inflammatory diseases. Proc Natl Acad Sci USA 112(4):1167-72. doi: 10.1073/pnas.1401965111.
10. Watanabe S, Ageta-Ishihara N, Nagatsu S, Takao K, Komine O, Endo F, Miyakawa T, Misawa H, Takahashi R, Kinoshita M, Yamanaka K (2014) SIRT1 overexpression ameliorates a mouse model of SOD1-linked amyotrophic lateral sclerosis via HSF1/HSP70i chaperone system. Mol Brain 7:62. doi: 10.1186/s13041-014-0062-1.
11. Yasumura M, Yoshida T, Yamazaki M, Abe M, Natsume R, Kanno K, Uemura T, Takao K, Sakimura K, Kikusui T, Miyakawa T, Mishina M (2014) IL1RAPL1 knockout mice show spine density decrease, learning deficiency, hyperactivity and reduced anxiety-like behaviours. Sci Rep 4:6613. doi: 10.1038/srep06613.

2） 研究関係著作

1. Hagihara H, Shoji H, Takao K, Walton NM, Matsumoto M, Miyakawa T (2014) Immaturity of brain as an endophenotype of neuropsychiatric disorders. 日本神経精神薬理学雑誌 34(3):67-79.

3） その他

1. Takao K, Hagihara H, Miyakawa T (2014) Reply to Davis et al. and Shay et al.: Commonalities across species do exist and are potentially important. Proc Natl Acad Sci USA 112(4):347-348. doi: 10.1073/pnas.1417369111.

《形態情報解析室》

1） 英文原著

1. Yoshioka-Nishimura M, Nanba D, Takaki T, Ohba C, Tsumura N, Morita N, Sakamoto H, Murata K, Yamamoto Y (2014) Quality control of photosystem II: direct imaging of the changes in the thylakoid structure and distribution of FtsH proteases in spinach chloroplasts under light stress. Plant Cell Physiol 55:1255-1265. doi: 10.1093/pcp/pcu079.
2. Murata K, Esaki M, Ogura T, Arai S, Yamamoto Y, Tanaka N (2014) Whole-cell imaging of the budding yeast Saccharomyces cerevisiae by high-voltage scanning transmission electron tomography. Ultramicroscopy 146: 39-45. doi:10.1016/j.ultramic.2014.05.008.
3. Miyazaki N, Esaki M, Ogura T, Murata K (2014) Serial block-face scanning electron microscopy for three-dimensional analysis of morphological changes in mitochondria regulated by Cdc48p/p97 ATPase. J Struct Biol 187:187-193. doi:10.1016/j.jsb.2014.05.010.

2） その他

1. 村田和義 (2014) 超高圧電子顕微鏡による分析. “マイクロビーム アナリシ ス・ハンドブック” (日本学術振興会 マイクロビームアナリシス第 141 委員会 編), 東京, オーム社, pp. 459-464.
2. 村田和義 (2014) 電子顕微鏡によるバイオイメージング. 画像ラボ 25(4):6-13.

《多光子顕微鏡室》

1）　その他（総説（英文、邦文）、著作、邦文論文など）

1. 村越秀治,（2014）組織深部の細胞内シグナル伝達を可視化する　―2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法―．免疫ニュースレター No.23-1：13.

《ウイルスベクター開発室》

1）　英文原著

1. Kato S, Kobayashi K, Kobayashi K (2014) Improved transduction efficiency of a lentiviral vector for neuron-specific retrograde gene transfer by optimizing the junction of fusion envelope glycoprotein. J Neurosci Methods 227:151-158.
   doi: 10.1016/j.jneumeth.2014. 02. 015.
2. Wahl AS, Omlor W, Rubio JC, Chen JL, Zheng H, Schröoter A, Gullo M, Weinmann O, Kobayashi K, Helmchen F, Ommer B, Schwab ME (2014) Asynchronous therapy restores motor control by rewiring of the rat corticospinal tract after stroke. Science 344:1250-1255. doi: 10.1126/science.1253050.

2）　その他

1. 小林憲太 (2014) レンチウイルス. “遺伝子治療・診断の最先端技術と新しい医薬品・診断薬の開発” 技術情報協会, pp. 224-227.

《生体制御シグナル研究部門》

1）　英文原著

1. Sato K, Takeuchi S. (2014) Chemical vapor detection using a reconstituted insect olfactory receptor complex. Angew Chem Int Ed Engl 53:11798-11802.
   doi: 10.1002/anie.201404720. Selected as the Hot Paper and Inside Back Cover of the issue.
2. Tonooka T, Sato K, Osaki T, Kawano R, Takeuchi S (2014) Lipid bilayers on a picoliter microdroplet array for rapid fluorescence detection of membrane transport. Small 10:3197-3420. doi: 10.1002/smll.201303332.
   Selected front cover of the issue.

《神経分化研究部門》

1）　英文原著

1. Amo, R., Fredes, F. Kinoshita, M., Aoki, R., Aizawa, H., Agetsuma, M., Aoki, T., Shiraki, T., Kakinuma, H., Matsuda, M., Yamazaki, M., Takahoko, M., Tsuboi, T., Higashijima, S., Miyasaka, N., Koide, T., Yabuki, Y., Yoshihara, Y., Fukai, T., and Okamoto H. (2014). The habenulo-raphe serotonergic circuit encodes an aversive expectation value essential for adaptive active avoidance of danger. *Neuron* 84, 1034-1048.
2. Kimura, Y., Hisano, Y., Kawahara, A., and Higashijima, S. (2014). Efficient generation of knock-in transgenic zebrafish carrying reporter/driver genes by CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Scientific Reports* 4, 6545.
3. Okigawa, S., Mizoguchi, T., Okano, M., Tanaka, H., Isoda, M., Jiang, Y., Suster, M., Higashijima, S., Kawakami, K., and Itoh, M. (2014). Different combinations of Notch ligands and receptors regulate V2 interneuron progenitor proliferation and V2a /V2b cell fate determination. *Developmental Biology* 391, 196- 206.

《動物実験センター》

1） 英文原著

1. Kimura T (2014) The early diagnostic and prognostic values of blood lactate concentrations in Japanese monkeys with acute gastric dilation. Vet Sci Develop 4:8-12.

b.　学会発表

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 124
分子神経生理部門 124
生体膜研究部門 126
細胞生理研究部門 127
感覚認知情報研究部門 128
神経シグナル研究部門 129
視覚情報処理研究部門 131
心循環シグナル研究部門 131
感覚運動調節研究部門 132
生体システム研究部門 133
脳形態解析研究部門 135
大脳神経回路論研究部門 135
心理生理学研究部門 136
認知行動発達機構研究部門 139
生体恒常機能発達機構研究部門 142
生殖・内分泌系発達機構研究部門 144
個別研究（村上グループ） 145
個別研究（毛利グループ） 145
遺伝子改変動物作製室 145
行動様式解析室 146
形態情報解析室 147
多光子顕微鏡室 149
ウイルスベクター開発室 149
生体制御シグナル研究部門 149
神経分化研究部門 149
動物実験センター 150

学　会　発　表

《神経機能素子研究部門》

1. Koichi Nakajo & Yoshihiro Kubo (2014.2.16) A pair of phenylalanine residues on the S4 and S5 segments create a physical and energy barrier for the voltage sensor in KCNQ1/KCNE1 channel. Biophysical Society 58th annual meeting (San Francisco, USA)
2. Batu Keceli, Yoshihiro Kubo (2014.2.16) Signal transmission within the trimeric P2X2 receptor upon voltage- and [ATP] dependent gating. Biophysical Society 58th annual meeting (San Francisco, USA)
3. 立山充博, 久保義弘 (2014.3.16) Stabilization effects of G protein on the active conformation of the adenosine receptor type 1a differ depending on the type of G protein. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
4. 中條浩一，久保義弘 (2014.3.16) A pair of phenylalanine residues on the S4 and S5 segments create a physical and energy barrier for the voltage sensor before opening in KCNQ1/KCNE1 channel. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
5. Batu Keceli，久保義弘 (2014.3.16) Structural rearrangements of the linker beta strands in P2X2 are coupled to the pore in a voltage dependent manner. 第91回日本生理学会大会（鹿児島）
6. 山本泉，今野幸太郎，山本友美，渡辺雅彦，久保義弘 (2014.3.16) Expression patterns of an orphan metabotropic receptor Prrt3 in mice. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
7. 粂　慎一郎，中條浩一，久保義弘 (2014.3.16) The interaction between S4-S5 linker and C-linker regulates the slow deactivation of hERG channel. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
8. 北沢和寛，中條浩一，久保義弘 (2014.3.16) Stoichiometry and biophysical properties of the Kv4-ChIP complex depending on the expression level of KChIP. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
9. 山本友美，服部聡子，清成寛，中尾和貴，宮川剛，久保義弘 (2014.3.16) Comprehensive behavioral test battery analyses of the gene targeted mice of Prrt3, an orphan metabotropic receptor. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
10. 立山充博，久保義弘 (2014.9.11) Activation efficiency of the G protein gated inwardly rectifying potassium channel depends on distance from the Gq but not Gi/o coupled receptors. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
11. 山本泉，山本友美，今野幸太郎，渡辺雅彦，久保義弘 (2014.9.11) An investigation of post-translational cleavage of an orphan metabotropic receptor, Prrt3. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
12. 塚本寿夫, 中條浩一, 久保義弘, 古谷祐詞 (2014.9.26) Two-pore 型カリウムチャネル TWIK-1 の特徴的なイオン選択性を生み出すメカニズムについての全反射赤外分光解析　日本生物物理学会第 52 会年会（札幌）

《分子神経生理部門》

1. 池中一裕（2014.1.10）グリアアセンブリが脳を操る。新学術領域研究「グリアアセンブリによる脳機能発現の制御と病態」公開シンポジウム（名古屋）
2. 橋本弘和（2014.2.14）Keratan sulfate affects Shh signaling and regulates oligodndrocyte development in the embryonic spinal cord.　第 6 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府）
3. Wilaiwan Wisessmith（2014.2.14）Role of Cathepsin C and Cystatin F in demyelinating diseases. 第 6 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府）
4. 池中一裕（2014.2.17）脳白質における神経情報の統合と精神疾患。第 3 回病態グリア研究会（浜松）
5. Wilaiwan Wisessmith（2014.2.28）Role of Cathepsin C and Cystatin F in demyelinating diseases. 第 19 回グリ

アクラブ（湯沢）

6. 長内康幸（2014.2.28）Evaluation of oligodendrocyte myelination depending on neuronal subtype or activity. 第 19 回グリアクラブ（湯沢）
7. 國澤和生（2014.2.28）Identification of neuronal genes whose expression is dependent upon neuro-glial interaction. 第 19 回グリアクラブ（湯沢）
8. 鳴海麻衣（2014.2.28）Studies on the novel sialylated N-glycan expressed in the mouse brain. 第 19 回グリアクラブ（湯沢）
9. 菊池原沙織（2014.2.28）Mechanisms underlying position determination of Bergmann glia in the Purkinje cell layer. 第 19 回グリアクラブ（湯沢）
10. 江文（2014.3.13）Role of Sulfatase1 and Sulfatase2 in the ventral spinal cord development. 第 7 回神経発生討論会（大阪）(ポスター)
11. 橋本弘和（2014.3.13）Keratan sulfate affects Shh signaling and regulates oligodndrocyte development in the embryonic spinal cord. 第 7 回神経発生討論会（大阪）
12. 池中一裕（2014.5.21）Roles of cathepsin C/cystatin F in chronic demyelinating lesions. 第 55 回日本神経学会（福岡）
13. 鳴海麻衣（2014.5.24）Studies on a novel sialylated N-glycan expressed in the mouse brain 日本生化学会中部支部例会・シンポジウム（名古屋）（ポスター）
14. 橋本弘和（2014.5.24）Keratan sulfate regulates mouse spinal cord development by modulating sonic hedgehog signaling 日本生化学会中部支部例会・シンポジウム （名古屋）（ポスター）
15. 江 文 （ 2014.5.24 ） Abnormal development of oligodendrocyte in the spinalcord of Sulfatase 1 and/or 2 knock out mice 日本生化学会中部支部例会・シンポジウム （名古屋）（ポスター）
16. 池中一裕（2014.6.28）グリア細胞と N-結合型糖鎖。第 55 回新潟生化学懇話会（新潟）
17. 橋本弘和，石野雄吾，江文，吉村武，内村佳子，内村健治，門松健治，池中一裕（2014.8.10）ケラタン硫酸による Shh シグナリングを介した胎生期脊髄の発生制御。第 33 回日本糖質学会（名古屋）（ポスター）
18. 鳴海麻衣，吉村武，鳥居知宏，小西博之，木山博資，池中一裕（2014.8.10）マウス脳内における新規 N 結合型糖鎖の解析。第 33 回日本糖質学会（名古屋）（ポスター）
19. 江文，石野雄吾，橋本弘和，枡和子，枡正幸，池中一裕（2014.8.10）Sulfatase KO マウスにおける胎生期脊髄オリゴデンドロサイトの発生異常。第 33 回日本糖質学会（名古屋）（ポスター）
20. Narumi M（2014.8.25）Studies on a novel sialylated N-glycan expressed in the mouse brain.12th Meeting of The Asian-Pacific Society for Neurochemistry (Taiwan)（ポスター）
21. Wisessmith W（2014.8.25）Role of Cathepsin C and Cystatin F in demyelinating diseases. 12th Meeting of The Asian-Pacific Society for Neurochemistry (Taiwan)
22. W. Jiang （2014.8.25）Abnormal development of oligodendrocyte in the spinal cord of Sulfatase1 and/or 2 knock out mice. 12th Meeting of The Asian-Pacific Society for Neurochemistry (Taiwan)
23. H. Hashimoto （2014.8.25）Keratan sulfate regulates mouse spinal cord development by modulating sonic hedgehog signaling. 12th Meeting of The Asian-Pacific Society for Neurochemistry (Taiwan) (ポスター)
24. J. Li （2014.8.25）Cathepsin C and Cystatin F gene interaction during demyelination. 12th Meeting of The Asian-Pacific Society for Neurochemistry (Taiwan)（ポスター）
25. 池中一裕（2014.9.25）脳白質異常と精神疾患。創薬薬理フォーム第 22 回シンポジウム（東京）
26. 池中一裕（2014.9.29）白質と神経疾患。第 57 回日本神経化学会（奈良）
27. 菊地原沙織，稲村直子，杉尾翔太，田中謙二，渡辺雅彦，池中一裕（2014.9.29）小脳の発生に伴う MLC1 の発現解析。第 57 回日本神経化学会（奈良）
28. 國澤和生，清水健史，長内康幸，小林憲太，Manzoor A.Bhat，池中一裕（2014.9.29）ミエリン-軸索間相互作用に依存して発現変化するニューロン遺伝子の同定。第 57 回日本神経化学会（奈良）
29. 長内康幸，清水健史，森琢磨，吉村由美子，畑中伸彦，南部篤，小林憲太，池中一裕（2014.9.29） 神経サブタイプ及び活動電位に依存したオリゴデンドロサイトによる髄鞘形成の解析。第 57 回日本神経化学会（奈良）
30. 李佳益, Wilaiwan Wisessmith, 清水崇弘, 田中謙二,

池中一裕（2014.9.29）脱髄時におけるカテプシン C シスタチン F の遺伝子相互作用。第 57 回日本神経化学会（奈良）

31. 清水健史，Smits Ron，池中一裕（2014.9.29）脱髄性疾患モデルマウスにおける活性化型ミクログリア依存性シグナルの解析。第 57 回日本神経化学会（奈良）
32. Wilaiwan Wisessmith，李佳益，清水崇弘，田中謙二，池中一裕（2014.9.29）脱髄性疾患におけるカテプシン C とシスタチン F の役割。第 57 回日本神経化学会（奈良）
33. 池中一裕（2014.10.13）Regulation of oligodendrocyte development by proteoglycans. First Meeting of the DFG Priority Programe 1757(ドイツ)
34. Jiayi Lih,Wilaiwan Wisessmith, Takahiro Shimizu, Kenji Tanaka,Yoshitake Kimori,Kazuhiro Ikenaka (2014.11.7)Cathepsin C and Cystatin F gene interaction during demyelination.第 61 回中部日本生理学会　（名古屋）
35. 國澤和生，清水健史，長内康幸，小林憲太，Manzoor A.Bhat，池中一裕（2014.11.7）ミエリン-軸索間相互作用に依存して発現変化するニューロン遺伝子の同定。第 61 回中部日本生理学会　（名古屋）
36. 橋本弘和（2014.11.22）Comprehensive analysis on roles of proteoglycan network on the embryonic spinal cord development.　第４回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）（ポスター）
37. 國澤和生（2014.11.22）Analysis of neuronal responses against disruption of neuro-glial interaction and its effect on brain functions. 第４回生理研・名大合同シンポジウム　（名古屋）（ポスター）
38. 池中一裕（2014.11.25）Regulation of oligodendrocyte development by proteoglycans.International Conference on Frontiers in Comparative Endocrinology and Neurobiology-2014 (India)
39. 池中一裕（2014.12.4）オリゴデンドロサイト発生におけるプロテオグリカンの関与。薬学シンポジウム（金沢）
40. 杉尾翔太（2014.12.6）脳白質形成におけるアストロサイトの関与。第 19 回グリア研究会　（東京）
41. 長内康幸，清水健史，池中一裕（2014.12.6）神経サブタイプおよび神経活動に依存した髄鞘形成の解析。第 19 回グリア研究会（東京）
42. 池中一裕（2014.12.19）プリテオグリカンによるマウス脊髄オリゴデンドロサイト発生制御。新学術領域研究班会議（京都）

《生体膜研究部門》

1. 関谷敦志，村上達郎，小林憲太，深田優子，深田正紀（2014・2・26）新規 PSD-95 脱パルミトイル化酵素の同定. 第 3 回新潟脳研-生理研合同シンポジウム（岡崎）
2. Tatsuro Murakami, Atsushi Sekiya, Yuko Fukata, Masaki Fukata（2014・7・2）Bi-directional trafficking of HRas regulated by the novel depalmitoylating enzyme family. 2014 NIPS-KU/YU symposium（岡崎）
3. 深田正紀（2014・8・2）免疫性脳炎:自己抗体によるシナプス機能異常. 第 44 回新潟神経学夏期セミナー（新潟）
4. Masaki Fukata（2014・9・12）Postsynaptic nanodomains generated by local palmitoylation cycles. Biochemical Society Focused Meeting “Protein Acylation: from Mechanism to Drug Discovery”（Edinburgh UK）
5. Norihiko Yokoi，Yuko Fukata，Daisuke Kase，Taisuke Miyazaki，Martine Jaegle，Keiji Imoto，Dies Meijer，Masahiko Watanabe，Masaki Fukata（2014・9・12）Molecular mechanisms for LGI1 mutation-related epilepsy and new strategy for human epilepsy. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
7. Tatsuro Murakami, Atsushi Sekiya, Yuko Fukata, Masaki Fukata（2014・9・12）The novel depalmitoylating enzyme family regulates bi-directional trafficking of HRas between the Golgi apparatus and the plasma membrane. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
8. Masaki Fukata，Toshika Ohkawa，Norihiko Yokoi，Yuko Fukata（2014・10・3）LGI1 autoantibodies in autoimmune-mediated limbic encephalitis. 第 48 回日本てんかん学会学術集会（東京）
9. 関谷敦志，村上達郎，小林憲太，深田優子，深田正紀（2014・10・17）ポストシナプスに局在する脱パ

ルミトイル化酵素の同定と性状解析. 第 87 回日本生化学会大会（京都）

10. Yuko Fukata，Toshika Ohkawa，Shin’Ichiro Satake，Norihiko Yokoi，Osamu Watanabe，Masaki Fukata（2014・11・15）Pathological roles of autoantibodies to synaptic proteins in encephalitis．44th annual meeting of Society for Neuroscience（Washington DC, USA）
11. Masaki Fukata（2014・11・16）Synaptic organization regulated by palmitoylating and depalmitoylating enzymes of PSD-95．44th annual meeting of Society for Neuroscience（Washington DC, USA）
12. 横井紀彦，深田優子，加勢大輔，宮崎太輔，Martine Jaegle，井本敬二，Dies Meijer，渡辺雅彦，深田正紀（2014・11・22）Chemical Correction of Missense LGI1 Functions Ameliorates Seizure Phenotype in a Mouse Model of Human Epilepsy．第 4 回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）
13. 深田優子，横井紀彦，深田正紀（2014・11・25）てんかん原因遺伝子 LGI1 の先天的および後天的分子異常による脳機能障害. 第 37 回日本分子生物学会年会ワークショップ（横浜）
14. 横井紀彦，深田優子，加勢大輔，宮崎太輔，Martine Jaegle，井本敬二，Dies Meijer，渡辺雅彦，深田正紀（2014・12・1）Chemical Correction of Missense LGI1 Functions Ameliorates Seizure Phenotype in a Mouse Model of Human Epilepsy. 第3回 NINS colloquium（箱根）

《細胞生理研究部門》

1. 富永真琴（2014.2.7）セルセンサーの生物学ー温度感受性 TRP チャネルの生理機能と進化ー．熊本和光ライフサイエンスフォーラム（熊本）
2. 内田邦敏（2014.2.15）The functional analysis of a thermosensitive channel TRPM5．第 6 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府）
3. 富永真琴（2014.2.15）消化管伸縮の謎解明．第 10 回日本消化管学会（福島）
4. 富永真琴（2014.3.17）温度感受性 TRP チャネルの機能制御機構．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
5. 鈴木喜郎（2014.3.17）TRPM6/TRPM7 ヘテロ 4 量体の母子間カルシウム輸送への関与．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
6. 内田邦敏（2014.3.17）温度感受性チャネル TRPM2 の生理的役割．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
7. 齋藤茂（2014.3.17）ツメガエルの温度環境適応に関連した高温受容体 TRPV1 チャネル特性の種間差とその分子基盤．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
8. 加塩麻紀子（2014.3.17）レドックスシグナルによる TRPM2 感作は膵臓 β 細胞からのインスリン分泌を調節する．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
9. 高山靖規（2014.3.17）TRPV1 関連疼痛に対する TMEM16A 阻害剤による鎮痛効果．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
10. 周一鳴（2014.3.17）パルミトイル化の TRP チャネル機能への影響の研究．第91回日本生理学会大会（鹿児島）
11. Sun Wuping（2014.3.17）Activation of TRPV2 may inhibit the differentiation of mouse brown adipocytes. 第 91 回日本生理学会（鹿児島）
12. Gupta Rupali（2014.3.17）Identification of amino acid residues involved in the TRPA1 inhibition by utilizing specific difference．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
13. Kurganov Erkin（2014.3.17）Heat and AITC activate green anole TRPA1 in a membrane-delimited manner. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
14. 橘髙裕貴（2014.3.18）マウスの末梢性かゆみ感覚へのリゾフォスファジン酸による TRPA1 および TRPV1 活性化の関与．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
15. 富永真琴（2014.5.8）温度感受性 TRP チャネルの生理機能．第 51 回日本小児外科学会学術大会（大阪）
16. Tominaga Makoto（2014.5.12）Molecular mechanisms of thermosensation through TRP channels. 39th World Congress of ISMH (Kyoto)
17. Saito Shigeru（2014.6.10）Molecular basis for the species specific differences in heat receptor TRPV1 related to

thermal adaptation in Xenopus species. SMBE2014 (San Juan, Puerto Rico)

18. 鈴木喜郎（2014.6.15）ワサビ受容体 TRPA1 の新規バリアントによるチャネル活性制御.　第9回トランスポーター研究会（名古屋）
19. 富永真琴（2014.6.20）TRPV1,TRPA1 による侵害刺激受容機構. 第 36 回日本疼痛学会（大阪）
20. 高山靖規（2014.6.21）末梢神経における TRPV1 とアノクタミン 1 の相互作用による疼痛とその制御. 第 36 回日本疼痛学会（大阪）
21. Tominaga Makoto（2014.7.14）A pain-enhancing mechanism through interaction between TRP channels and anoctamines. 9th International Conference for Neurons and Brain Disease (Madrid, Spain)
22. 齋藤茂（2014.8.21）　温度センサー分子の機能変化による温度感覚の進化機構：至適温度が異なるツメガエル種間の比較解析.　日本進化学会第 16 回大阪大会（大阪）
23. 高山靖規（2014.9.12）アノクタミン 1 活性化による TRPV1 関連疼痛の増強. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
24. 齋藤茂（2014.9.19）脊椎動物種の温度感受性 TRP チャネルの機能比較。ツメガエルの温度適応に関連した温度感受性 TRP チャネルの機能比較.　日本遺伝学会第 86 回大会（長浜）
25. 富永真琴（2014.9.27）TRP チャネルと痛覚を含む口腔内感覚.　第 56 回歯科基礎医学会学術大会（福岡）
26. Kittaka Hiroki（2014.10.18）Involvement of lysophosphatidic acid-evoked activation of TRPA1 and TRPV1 in peripheral itch sensation in mice. 24th International Symposium of Itch (Tokyo)
27. 富永真琴（2014.10.23）温度感受性 TRP チャネルの生理機能.　横浜北部消化器病研究会（横浜）
28. 鈴木喜郎（2014.11.1）Modulation of ion and water transport through functional interaction of TRP channels. 上皮バリア・輸送に関するシンポジウム（草津）
29. Tominaga Makoto（2014.11.3）Functional Interaction between TRP channels and Anoctamin1.　The 12th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception（Fukuoka）
30. 橘髙裕貴（2014.11.7）マウス末梢神経性痒み感覚へのリゾフォスファチジン酸による TRPA1 および TRPV1 活性化の関与.　第 61 回中部日本生理学会（名古屋）
31. 内田邦敏（2014.11.8）脂質平面膜法を用いた TRP チャネルの機能解析.　第 61 回中部日本生理学会（名古屋）
32. 富永真琴（2014.11.8）温度感受性チャネル・機械刺激感受性チャネルの生理機能.　第 87 回日本泌尿器科学学会山梨地方会サテライトシンポジウム（山梨）
33. Takayama Yasunori（2014.11.16）A pain-enhancing mechanism through TRPA1-ANO1 interaction, and its inhibition effect by drag. Neuroscience2014（Washington D.C. USA）
34. 内田邦敏（2014.11.22）Single channel analysis of the TRPM3 channel in planar lipid bilayers. 第 4 回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）
35. 高山靖規（2014.11.22）A pain-enhancing mechanism through TRPV1-ANO1 interaction in primary sensory neurons.　第 4 回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）
36. Tominaga Makoto（2014.12.4）Molecular mechanisms for detecting noxious stimuli in the peripheral nerve endings. New Directions in Pain Neuroscience（Osaka）

《感覚認知情報研究部門》

1. 波間智行, 安田正治(National Eye Institute), 坂野 拓(国立精神・神経医療研究センター), 岡澤剛起, 小松英彦 (2014.7.19) Effects of luminance contrast on the color selective responses in macaque V4 and inferior temporal cortex. The 10th Asia-Pacific Conference on Vision (高松)
2. 西尾亜希子, 下川丈明(ATR：株式会社 国際電気通信基礎技術研究所), 郷田直一, 小松英彦 (2014.7.19) Population responses in the macaque inferior temporal cortex encode perceptual gloss parameters. The 10th

Asia-Pacific Conference on Vision (高松)

3. Fujisaki W, Goda N, Motoyoshi I, Komatsu H, Nishida S (2014.7.20) Optimal audiovisual integration of object appearance and impact sounds in human perception of materials. The 10th Asia-Pacific Conference on Vision (高松)
4. Goda N (2014.7.20) Neural representation of materials of objects in human and monkey visual cortex. The 10th Asia-Pacific Conference on Vision (高松)
5. 眞田尚久, Gregory C. DeAngelis (Center for Visual Science, University of Rochester) (2014.7.20) Neural mechanisms underlying motion-in-depth selectivity in macaque area MT. The 10th Asia-Pacific Conference on Vision (高松)
6. 岡澤剛起, 田嶋達裕, 小松英彦 (2014.9.11) Image statistics explaining the natural texture selectivity in macaque V4. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
7. 横井 功, 橘 篤導 (獨協医科大学), 南本敬史 (放射線医学総合研究所), 郷田直一, 小松英彦 (2014.9.11) 実物把持課題における素材カテゴリーに依存したサルの行動. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
8. 眞田尚久, Gregory C. DeAngelis (Center for Visual Science, University of Rochester) (2014.9.11) Nonlinear mechanisms for motion-in-depth selectivity in macaque area MT. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
9. 波間智行, 眞田尚久, 小松英彦 (2014.9.12) 二種類の色空間におけるサル V4 ニューロンの色選択性の比較. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
10. 西尾亜希子, 一戸紀孝(国立精神・神経医療研究センター), 郷田直一, 小松英彦 (2014.9.12) Anatomical connections of the gloss selective region in the inferior temporal cortex of the monkey. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
11. 郷田直一, 横井 功, 橘 篤導(獨協医科大学), 南本敬史(放射線医学総合研究所), 小松英彦 (2014.9.13)サル視覚野における物体素材表現に視触覚経験が及ぼす効果: fMRI 研究, 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
12. 下川丈明 (ATR : 株式会社 国際電気通信基礎技術研究所), 西尾亜希子, 佐藤雅昭 (ATR：株式会社 国際電気通信基礎技術研究所), 川人光男 (ATR：株式会社 国際電気通信基礎技術研究所), 小松英彦 (2014.9.13) 3D shape estimation from a single glossy object image. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
13. 小松英彦 (2014.9.20) 視野のギャップをまたいでものが見える充填知覚のメカニズム. 第25回日本緑内障学会 (大阪)
14. 眞田尚久, Gregory C. DeAngelis (Center for Visual Science, University of Rochester) (2014.11.7) 大脳皮質高次視覚領野における奥行き運動情報(Motion-in-depth)の符号化.中部日本生理学会 (名古屋)

《神経シグナル研究部門》

1. Furue H (2014.2.21) Descending modulation of nociceptive synaptic transmission: in vivo electrophysiological (patch-clamp) and optogenetic approaches. Korea Pain Research Consortium Workshop (Seoul, Korea)
2. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2014.3.16) Differential role of kinase activity of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase IIα in hippocampus- and amygdala-dependent memory. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
3. Ueda Y, Ishii R, Uta D, Imoto K , Furue H (2014.3.17) Spinal neuronal responses elicited by intradermal pruritogen injection in hairless mice. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
4. Takayama Y, Uta D, Tominaga M (2014.3.17) Reduction of TRPV1-mediated pain sensation by TMEM16A inhibition. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
5. Furue H, Anthony P, Imoto K (2014.3.18) Facilitation of spinal inhibitory synaptic transmission by optoactivation of the locus coeruleus in the brain stem. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
6. Uta D, Andoh T, Kuraishi Y, Imoto K, Furue H (2014.3.18) Firing pattern of spinal dorsal horn neurons receiving pruriceptive afferents in the adult rat spinal

cord. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）

7. Akimoto N, Uta D, Honda K, Takano Y, Imoto K, Noda M, Furue H (2014.3.18) Effect of CCL-1 on synaptic transmission in the spinal superficial dorsal horn. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
8. Ikeda A, Imoto K, Furue H (2014.3.18) Effect of dopamine on excitatory synaptic transmission in the rat spinal parasympathetic preganglionic nuclei. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
9. Koga K, Tsuda M, Inoue K, Imoto K, Furue H (2014.3.18) Role of presynaptic P2X3 receptor in excitatory inputs onto GABAergic inhibitory interneurons in substantia gelatinosa of rat spinal cord. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
10. Hakozaki A, Imoto K, Hayashi Y, Sasaki E, Kawatani M, Furue H（2014.3.18）In vivo analysis of sensory synaptic responses evoked in parasympathetic preganglionic neurons in the rat spinal cord. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
11. 古江秀昌, 歌大介（2014.3.21）痒みの脊髄シナプス伝達と下行性抑制機構. 第 87 回日本薬理学会年会（宮城）
12. 古江秀昌 (2014.6.7) 生理学からみた内因性の鎮痛メカニズム. 第 6 回信州 Opioid 研究会（長野）
13. 古江秀昌（2014.6.20）下行性疼痛制御機構解明のためのマイルストーン研究. 第 36 回日本疼痛学会（大阪）
14. 歌大介, 井本敬二,古江秀昌（2014.6.20）電気生理学的及び形態学的解析を用いたラット脊髄膠様質における TRPA1 及び TRPV1 作動薬の作用比較. 第 36 回日本疼痛学会（大阪）
15. 秋元望, 歌大介, 本多健治, 高野行夫, 井本敬二, 野田百美, 古江秀昌（2014.6.20）脊髄後角シナプス伝達に対するCCL-1の作用と疼痛発現機構. 第36回日本疼痛学会（大阪）
16. 古賀啓祐, 津田誠, 井上和秀, 井本敬二, 古江秀昌 (2016.6.20）ラット脊髄後角表層 GABA ニューロンへの興奮性シナプス入力に対する P2X3 受容体の役割. 第 36 回日本疼痛学会（大阪）
17. 舟井優介, 井本敬二, 古江秀昌（2014.6.21）低用量デクスメデトミジンは逆説的にノルアドレナリン下行性抑制系を賦活化する. 第36回日本疼痛学会（大阪）
18. 高山靖規，歌大介，古江秀昌，富永真琴（2014.6.21）末梢神経における TRV1 とアノクタミン１の相互作用による疼痛とその抑制. 第 36 回日本疼痛学会（大阪）
19. Akimoto N (2014.7.1) Action of Chemokine (C-C motif) ligand 1 on synaptic transmission in the spinal superficial dorsal horn. 2014NIPS-KU/YU Symposium （岡崎）
20. 佐竹伸一郎 (2014.8.30) $G_{i/o}$ 共役型受容体が仲介するシナプス前抑制における多様性. 第18回活性アミンに関するワークショップ（高松）
21. Kawakami K, Satake S, Sugimoto H, Ikeda K (2014.8.30-9.5) Altered motor memory in behaviour and electorphysiological analyses in *Atp1a3* heterozygous knockout mice. 14th International Conference. Na,K-ATPase and Related Transport ATPases: Structure, Mechanism, Cell Biology, Health and Disease. (Lunteren, Netherlands)
22. Yao I, Matsumura S, Katano T, Yamagata Y, Imoto K, Ito S (2014.9.11) Synaptic localization of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II in the spinal dorsal horn of kinase-dead knock-in mouse in the neuropathic pain model. 第 37 回日本神経科学大会, Neuroscience 2014（横浜）
23. Satake S, Imoto K (2014.9.12) Ca_v2 channel subtype-dependent Ca^{2+} nano-/micro-domain signaling at rat cerebellar granule cell axons. 第 37 回日本神経科学大会, Neuroscience 2014（横浜）
24. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2014.9.12) Differential involvement of kinase activity of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase IIα in maze learning tasks. 第 37 回日本神経科学大会, Neuroscience 2014（横浜）
25. Uta D, Andoh T, Kuraishi Y, Imoto K and Furue H. (2014.9.12) Electrophysiological analysis of spinal dorsal horn neurons receiving pruriceptive afferents in the adult rat spinal cord. 第 37 回日本神経科学大会, Neuroscience 2014（横浜）
26. Tonomura S, Ebara S, Meir I, Bagdasarian K, Kuroda D, Uta D, Furue H, Furuta T, Ahissar E, Kumamoto K (2014.9.13) Three dimensional reconstruction of trigeminal ganglion cell processes labeled by intracellular injection: Emphasis on club-like endings. 第 37 回日本神経科学大会, Neuroscience 2014（横浜）

27. Furue H (2014.9.13) In vivo patch-clamp analysis of spinal nociceptive transmission and descending noradrenergic inhibitory system. 4th Joint CIN-NIPS Symposium (Tübingen, Germany)
28. Fukata Y, Ohkawa T, Satake S, Yokoi N, Watanabe O, Fukata M (2014.11.16) Pathological roles of autoantibodies to synaptic proteins in encephalitis. Neuroscience 2014 (Society for Neuroscience 44th Annual Meeting) (Washington, DC.)

《視覚情報処理研究部門》

1. Yoshimura Y. (2014.9.12) The effect of visual deprivation on the maturation of secondary visual cortex. The 36th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. (Yokohama)
2. Mori T, Yoshimura Y. (2014.9.13) Distinct patterns of synaptic inputs onto pyramidal cell and interneuron subtypes in mouse hippocampal CA1. The 36th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. (Yokohama)

《心循環シグナル研究部門》

1. 西田基宏（2014 年 7 月 15 日）「Covalent modification of H-Ras by nitric oxide-derived reactive species underlies development of chronic heart failure in mice」17th World Congress of Basic & Clinical Pharmacology (WCP2014), Cape Town, South Africa.
2. 西田基宏（2014 年 6 月 21 日）「心臓のストレス適応・不適応のシグナル制御機構」第一回仙台先進循環器研究会（仙台）
3. 西田基宏（2014 年 10 月 1 日）「Establishment of a novel strategy for the treatment of heart failure focusing on the regulation of muscular homeostasis」熊本大学リーディング大学院セミナー（熊本）
4. 冨田拓郎，角田将明，島内司，喜多紗斗美，岩本隆宏，西田基宏（2014 年 3 月 20 日）「TRPC チャネルによる末梢循環調節とその治療応用」第 87 回日本薬理学会年会（仙台）
5. 西田基宏（2014 年 3 月 17 日）「心臓の mechano-chemo transduction における TRPC3 チャネルの役割」第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
6. 西田基宏，冨田拓郎，島内司，松金良祐，武吉恭子（2014 年 3 月 30 日）「TRPC チャネルを標的とした新規末梢循環改善薬の探索」日本薬学会第 134 年会（熊本）
7. 西田基宏（2014 年 3 月 29 日）「活性硫黄種によるレドックス恒常性維持機構に基づいた新規心不全治療戦略の構築」日本薬学会第 134 年会（熊本）
8. 西田基宏，外山喬士，赤池孝章，熊谷嘉人（2014 年 9 月 19 日）「活性イオウ分子による心臓レドックス恒常性制御」日本薬学会環境・衛生部会フォーラム 2014（つくば）
9. 外山喬士，熊谷嘉人，鍛冶利幸，赤池孝章，西田基宏（2014 年 9 月 20 日）「メチル水銀による心臓リスク増大の分子メカニズム」日本薬学会環境・衛生部会フォーラム 2014（つくば）
10. 西田基宏，外山喬士，冨田拓郎，西村明幸（2014 年 7 月 3 日）「G タンパク質の親電子修飾による心臓のストレス適応・不適応調節」第 41 回日本毒性学会学術集会（神戸）
11. 西田基宏（2014 年 3 月 19 日）「G 蛋白質の酸化修飾による心血管リモデリング制御」第 87 回日本薬理学会年会（仙台）
12. 西田基宏，外山喬士，北島直幸，西村明幸，冨田拓郎，石川達也（2014 年 12 月 5 日）「梗塞巣周辺領域の心筋老化誘導におけるミトコンドリア GTP 結合タンパク質 Drp1 の役割」第 24 回日本循環薬理学会（山形）
13. 重松智博, 西村明幸, Caroline Sunggip, 西田基宏（2014 年 11 月 23 日）「P2Y6 受容体阻害化合物 MRS2578 の化学特性に着目した新たな心血管病治療薬の探索」第 67 回日本薬理学会西南部会（福岡）

14. 永井直杜，外山喬士，石川達也，西田基宏（2014 年 11 月 23 日）「ミトコンドリアリモデリング抑制を主眼とした新規心不全治療薬の同定」第 67 回日本薬理学会西南部会（福岡）
15. 松金良祐，島内司，冨田拓郎，西田基宏（2014 年 11 月 23 日）「末梢循環障害を改善する新規 TRPC3/6 選択的阻害薬の同定」第 67 回日本薬理学会西南部会（福岡）
16. 冨田拓郎（2014 年 3 月 16 日）「皮膚表皮角化細胞における STIM1-Orai1 を介したカルシウム流入の生理的意義」第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
17. 西田基宏，外山喬士，西村明幸，冨田拓郎（2014 年 5 月 16 日）「心臓リモデリングにおける NO シグナリングの時空間制御」第 14 回日本ＮＯ学会（佐賀）
18. 冨田拓郎，島内司，西田基宏（2014 年 8 月 8 日）「TRPC チャネルによる末梢循環調節とその治療応用」第 56 回日本平滑筋学会総会（神奈川）

《感覚運動調節研究部門》

1. Kakigi R (2014.12.2) Pain and itch perception in humans. Invited Lecture, The First CiNet Conference, “New Directions in Pain Neuroscience” (Osaka, Japan)
2. Kobayashi M, Otsuka Y, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2014.10.10) The processing of faces across non-rigid facial transformation develops at 7 months of age: A fNIRS-adaptation study. fNIRS 2014 (Montreal, Canada)
3. Okamoto H (2014.9.15) Constraint-induced and music therapy for sudden sensorineural hearing loss. 5th International Conference on Auditory Cortex (Magdeburg, Germany)
4. Kakigi R (2014.9.5) Pain and itch perception in humans. 8th IGAKUKEN International Symposium “Pain Modulation and Opioid Functions” Invited Lecture (Tokyo, Japan)
5. Kobayashi M, CassiaVM, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi, R (2014. 7.19) Perceptual narrowing toward adult faces in Japanese infants: a behavioral and a near-infrared spectroscopic study. The 10th Asia-Pacific Conference on Vision (Takamatsu, Japan)
6. Yamaguchi MK, Kobayashi M (2014.7.3) Processing of Facial Identity in Infants' Brain: fNIRS-adaptation Studies. (oral presentation in Paper Symposium "Development of Face Processing in Infancy: Behavioral, Eye Tracking, and Neuroimaging Studies"). XIX Biennial International Conference on Infant Studies (Berlin, Germany)
7. Okamoto H (2014.7.1) Constraint-induced sound therapy for sudden sensorineural hearing loss. 2014 NIPS-KU/YU Symposium (Okazaki, Japan)
8. Kakigi R (2014.5.18) Pain and itch perception in humans. 2014 台湾臨床神経生理学学会 Invited Lecture (Taipei, Taiwan)
9. Kakigi R (2014.3.23) Pain and itch perception in humans. Halliday Lecture, 30th International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2014) (Berlin, Germany)
10. Honda Y (2014.3.20) Developmental changes in face perception during childhood: An event-related potential study. 30th International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2014) (Berlin, Germany)
11. Sakamoto K (2014.3.20) The effect of mastication on Go/No-go decisional processing: An event-related potential study. 30th International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2014) (Berlin, Germany)
12. Okamoto H (2014.3.21) A dark side of portable music player: A magnetoencephalographic study. 30th International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2014) (Berlin, Germany)
13. Nakagawa K (2014.3.21) Inhibition of somatosensory evoked cortical responses by a weak leading stimulus. 30th International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2014) (Berlin, Germany)
14. 小林恵，Kang Lee，金沢創，山口真美，柿木隆介（2014.12.6）乳児の側頭領域における顔の人種効果の検討，日本基礎心理学会第 33 回大会（東京都八王子市）
15. 柿木隆介（2014.11.21）痒み認知に関する脳内メカニ

ズム, 教育講演,第 44 回日本臨床神経生理学会, （福岡県福岡市）

16. 乾幸二（2014.11.20）変化関連脳活動,教育講演,第 44 回日本臨床神経生理学会　(福岡県福岡市)
17. 岡本秀彦（2014.11.19）神経生理学の耳鼻咽喉科領域への応用, 奨励賞受賞記念講演, 第 44 回日本臨床神経生理学会 (福岡県福岡市)
18. 中川慧，望月秀紀，小山総市朗，田中悟志，柿木隆介（2014.11.20）一次体性感覚野に対する経頭蓋直流電気刺激法は痒み知覚を抑制する　第 44 回日本臨床神経生理学会（福岡県福岡市）
19. 柿木隆介（2014.10.30）神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明　第 4 回社会科学研究会「社会認知とコミュニケーション」（岡崎市）
20. 柿木隆介（2014.10.25）神経イメージング手法を用いた痛みの脳内認知機構―特に運動による除痛効果について―　第 7 回運動器疼痛学会　ランチョンセミナー（山口県宇部市）
21. 柿木隆介（2014.10.18）ヒトにおける痒みの脳内認知機構,第 24 回国際痒みシンポジウム（東京都千代田区）
22. 岡本秀彦（2014.8.9）突発性難聴に対する病側耳集中音響療法　第 3 回耳鳴り・難聴カンファレンス（東京都千代田区）
23. 柿木隆介（2014.8.1）神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明　第 49 回日本顔学会（イブニングセミナー口演）（東京都千代田区）
24. 岡本秀彦（2014.7.6）突発性難聴に対する病側耳集中音響療法による聴覚誘発脳磁場反応の変化　日本聴覚医学会・第 9 回 ERA・OAE 研究会プログラム（東京都新宿区）
25. 小林恵（2014.6.21）乳児の後側頭領域における人物同定能力の発達　近赤外分光法を用いた神経順応パラダイムによる検討　日本赤ちゃん学会第 14 回学術集会（神奈川県川崎市）
26. 柿木隆介（2014.6.13）特別講演　神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明　第 17 回日本薬物脳波学会（静岡県駿東郡）
27. 中川慧（2014.5.30）微弱な末梢神経が大脳皮質抑制機構に与える影響　第 49 回日本理学療法学術大会（神奈川県横浜市）
28. 岡本秀彦（2014.5.29）突発性難聴に対する病側耳集中音響療法による脳活動の変化　第 29 回日本生体磁気学会大会（大阪府吹田市）
29. 柿木隆介（2014.5.22）Pain and itch perception in humans. International Workshop and Oral Presentation5 第 55 回日本神経学会学術大会　（福岡県福岡市）
30. 岡本秀彦（2014.5.16）静寂下および雑音下において時間規則性が聴覚誘発反応に与える影響　第 115 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会（福岡県福岡市）
31. 柿木隆介（2014.5.26）難治性“かゆみ”の発症機構解明と予防・治療法開発の研究基盤構築　第 1 回公開シンポジウム（文部科学省平成 25 年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業）（東京都文京区）
32. Keceli Sumru（2014.3.16）Human auditory steady state responses to fine structure periodicity. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島県鹿児島市）

《生体システム研究部門》

1. 佐野 裕美（2014.1.11）　大脳基底核が制御する運動機能の解明を目指して～分子生物学的手法を利用した挑戦～．生理学研究所研究会「グローバルネットワークによる脳情報処理（岡崎）
2. 佐野裕美（2014.2.26）線条体投射ニューロンが制御する運動調節機構, 新潟脳研－生理研合同シンポジウム（岡崎）
3. Nambu A　(2014.3.16) Electrophysiological dissection of movement disorders.　International Seminar of Segawa Neurological Clinic for Children (Tokyo)
4. Nambu A (2014.6.12) Distinct pathways of information flow within the basal ganglia. 18th International Congress of Parkinson’s Disease and Movement Disorders (Stockholm, Sweden)
5. Hiromi Sano (2014.7.2) Physiological roles of corticostriatal neurons in the basal ganglia. 2014 NIPS-KU/YU Symposium (Okazaki)
6. Sano H, Kobayashi K, Kato S, Kobayashi K, Nambu A

(2014.7.6) Physiological roles of cortico-striatal neurons in voluntary movements. 9th FENS Forum of Neuroscience (Milan, Italy)

7. Chiken S, Nambu A (2014.7.17) Abnormal information processing through the cortico-basal ganglia pathways in parkinsonian monkeys. Neural Oscillation Conference（Okazaki）
8. 佐野　裕美 (2014.8.22) 大脳皮質－大脳基底核神経回路が制御する運動機能の解明を目指した光遺伝学の利用，光操作研究会 in 東北大学 2014，技術検討会（仙台市）
9. 南部　篤（2014.8.23）ジストニアと大脳基底核・小脳，第 29 回日本大脳基底核研究会（青森）
10. 知見聡美，高田昌彦，南部篤（2014.8.23）パーキンソン病モデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核経路の情報伝達異常，第 29 回日本大脳基底核研究会（青森）
11. Chiken S (2014.9.8) Dopamine D1 and D2 receptors differently modulate information processing through the basal ganglia. NIPS International Workshop and Satellite Symposium of Neuroscience2014, A Quarter Century after the Direct and Indirect Pathways Model of the Basal Ganglia and Beyond (Okazaki)
12. Nambu A (2014.9.11) Physiological basis of movement disorders and their therapeutics through the basal ganglia. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama)
13. Chiken　S (2014.9.11) What does dopamine tell striatal neurons through D1 and D2 receptors? The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama)
14. Sano H, Kobayashi K, Kato S, Kobayashi K, Nambu A (2014.9.11) Physiological roles of corticostriatal pathways in the basal ganglia. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama)
15. Kaneko N, Hatanaka N, Takara S, Takada M, Nambu A (2014.9.11) Glutamatergic and GABAergic control of monkey pallidal activity during performance of a motor task. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama)
16. 竹内佐織，村井理絵，島津秀紀，礒村宜和，美馬達哉，逵本徹（2014.9.12）サル睡眠時の紡錘波と徐波の相関．日本神経科学大会（横浜市）
17. 村井理絵，竹内佐織，島津秀紀，礒村宜和，美馬達哉，逵本徹（2014.9.12）サル新皮質と海馬における NMDA 受容体のガンマ波制御．日本神経科学大会（横浜市）
18. Horie M, Watanabe K, Sano H, Nashimoto J, Chiken S, Nambu A, Ono K, Ikenaka K, Kakita A, Takebayashi H (2014.9.13) Histological analysis of the brain in Dystonin-deficient mice. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (Yokohama)
19. Hatanaka N (2014.10.6) Glutamatergic and GABAergic control of monkey pallidal neuronal activity during performance of a motor task. 4th Joint CIN － NIPS Symposium (Tuebingen, Germany)
20. Nambu A (2014.10.6) Neuronal oscillations: cause or epiphenomenon of Parkinson's disease? 4th Joint CIN － NIPS Symposium, (Tuebingen, Germany)
21. Chiken S, Kawaguchi Y, Kimura M, Nambu A (2014.11.17) Pallidal and cerebellar control of thalamocortical activity. Neuroscience 2014 (Washington, DC, USA)
22. Sano H, Murata M, Nambu A (2014.11.18) Zonisamide prevents neurodegeneration in nigrostriatal dopaminergic neurons in a mouse genetic model of Parkinson's disease through brain-derived neurotrophic factor signaling pathway. Neuroscience 2014 (Washington, DC, USA)
23. 南部　篤（2014.11.19）パーキンソン病と脳のオシレーション，第 44 回臨床神経生理学会・学術大会（福岡）
24. 南部　篤（2014.11.22）神経活動から大脳基底核疾患の病態に迫る」，第 4 回生理学研究所・名古屋大学医学部合同シンポジウム（名古屋）
25. 知見聡美，高田昌彦，南部篤（2014.11.22）パーキンソン病モデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核経路の情報伝達異常，第 4 回生理学研究所・名古屋大学医学部合同シンポジウム（名古屋）
26. Hiromi Sano, Kenta Kobayashi, Shigeki Kato, Kazuto Kobayashi, Atsushi Nambu (2014.11.22) Physiological roles of cortico-striatal neurons in the basal ganglia. 第 4 回生理学研究所・名古屋大学医学部合同シンポジウム（名古屋）
27. 知見聡美（2014.12.4）大脳基底核と小脳は，どのように視床－大脳皮質投射を制御しているのか，生理

研研究会「大脳皮質を中心とした神経コネクトミクストその動的特性を探る」（岡崎）

28. Ozaki M, Sano H, Chiken S, Ogura M, Nakao N, Nambu A (2014.12.6-7) Neuronal responses in the basal ganglia evoked by optical stimulation of mice motor cortex. Vision, Memory, Thought: How Cognition Emerges from Neural Network (Tokyo)
29. Nambu A (2014.12.18) Motor functions of the basal ganglia. International Conference: New Ideas, Perspectives and Applications in Functional Neurosurgery (Rome, Italy)
30. Hiromi Sano (2014.12.19) Physiological roles of striatopallidal neurons in voluntary movements. 14th Japan-China-Korea Joint Workshop on Neurobiology and Neuroinformatics (Okazaki)
31. Nambu A (2014.12.22) Cortico-basal ganglia loop and movement disorders. 18th Thai Neuroscience Society Conference 2014 & 2nd Joint CU-NIPS Symposium “Frontiers in Neuroscience Research” (Bangkok, Thai)

《脳形態解析研究部門》

1. Furuse M (2014.7.1) Tricellular tight junctions: molecular organization and implication in epithelial barrier function. 2014 NIPS-KU/YU Symposium（岡崎）
2. 古瀬幹夫（2014.10.17）多角形の上皮細胞の角が接する領域の細胞間隙をいかにして閉じるか：トリセルラータイトジャンクションの分子構築. 第 87 回日本生化学会大会（京都）
3. Higashi T, Katsuno T, Kitajiri S, Furuse M（2014.11.22）Deficiency of angulin-2/ILDR1, a tricellular tight junction-associated membrane protein, causes deafness with cochlear hair cell degeneration in mice. 第 4 回生理研－名大合同シンポジウム（名古屋）
4. 古瀬幹夫,（2015.3.4）Deficiency of angulin- 2/ILDR1, a tricellular tight junction-associated membrane protein, causes deafness with cochlear hair cell degeneration in mice. 生理研・新潟脳研合同シンポジウム（新潟）

《大脳神経回路論研究部門》

1. 川口泰雄 (2014.1.12) 大脳皮質のニューロンタイピングと結合マッピング. 自然科学研究機構新分野創成センターシンポジウム「大規模脳神経回路機能マップのその先」 （東京）
2. 森 島 美 絵 子 (2014.2.14-15) Excitatory/inhibitory recurrent networks dependent on the pyramidal projection types in the frontal cortex. 第 6 回 NAGOYA グローバルリトリート （大府）
3. 植田禎史, 平井康治, 大塚岳, 川口泰雄 (2014.2.25) 皮質領域間結合からみた錐体細胞多様性. 新潟脳研－生理研合同シンポジウム （岡崎）
4. 窪田芳之 (2014.3.11) 大脳皮質 FS バスケット細胞から錐体細胞への抑制性シナプス結合特性. Frontier BioScience Colloquium （大阪）
5. 田中康代, 田中康裕, 和氣弘明, 正水芳人, 川口泰雄, 松崎政紀 (2014.3.17) 自発性随意運動時の大脳運動野における第 1 層視床皮質投射の役割. 第 91 回日本生理学会大会 （鹿児島）
6. 窪田芳之 (2014.3.18) TEM, FIB/SEM, DiK-SEM を使った神経組織の電子顕微鏡連続切片作製. 第 91 回日本生理学会大会 （鹿児島）
7. Hatanaka Y, Yamauchi K, Namikawa T, Kawaguchi Y (2014.3.27) 初期軸索伸長方向から 2 分される大脳皮質興奮性神経細胞のタイプ. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会 （栃木）
8. 窪田芳之 (2014.3.27) TEM, FIB/SEM, DiK-SEM を使った神経組織の電子顕微鏡連続切片作製. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会 （栃木）
9. Morishima M (2014.7.1) Excitatory/inhibitory recurrent networks dependent on the pyramidal projection types in the rat frontal cortex. 2014NIPS-KU/YU Symposium（岡崎）

10. Otsuka T, Kawaguchi Y (2014.9.8) Oscillatory activities evoked by light stimulations in cortical circuits. NIPS International Workshop and Satellite Symposium of Neuroscience 2014 （岡崎）
11. Mohamed AA, Yamaguchi N, Hatada S, Lübke J, Kawaguchi Y, Kubota Y (2014.9.8) Conserved dimensional properties of dendritic trees in cortical pyramidal cell. NIPS International Workshop and Satellite Symposium of Neuroscience 2014 （岡崎）
12. 大塚岳, 川口泰雄 (2014.9.11) 光刺激によって誘発される皮質回路におけるオシレーション活動. 第 37 回日本神経科学大会 （横浜）
13. Mohamed AA, Yamaguchi N, Hatada S, Lübke J , Kawaguchi Y, Kubota Y (2014.9.13) Conserved dimensional properties of dendritic trees in cortical pyramidal cell. 第 37 回日本神経科学大会 （横浜）
14. 田中康代, 田中康裕, 和氣弘明, 正水芳人, 川口泰雄, 松崎政紀 (2014.9.13) 自発運動時における視床から大脳皮質第 1 層への入力パターン. 第37回日本神経科学大会 （横浜）
15. Kubota Y (2014.10.6) Cortical fast spiking basket cell inhibition on pyramidal cells through multiple modalities and innervation styles. 4th Joint CIN-NIPS Symposium University of Tübingen (Tübingen, Germany)
16. Ushimaru M, Kawaguchi Y (2014.10.6) Temporal structure of activities in cortical neuron subtypes during slow oscillations. 4th Joint CIN-NIPS Symposium University of Tübingen (Tübingen, Germany)
17. 窪田芳之, Mohamed AA , 根東覚 , 野村真樹, 川口泰雄 (2014.11.7) 大脳皮質錐体細胞の樹状突起の形態解析. 第 10 回 IIRS セミナー （東京）
18. Otsuka T, Kawaguchi Y (2014.11.15) Cortical membrane oscillatory activities induced by light stimulations. 44th annual meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
19. Kubota Y, Mohamed AA, Yamaguchi N, Hatada S, Lübke J, Kawaguchi Y (2014.11.16) Conserved dimensional properties of dendritic trees in cortical pyramidal cell. 44th annual meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
20. 森 島 美 絵 子 (2014.11.22) Excitatory/inhibitory recurrent networks dependent on the pyramidal projection types in the rat frontal cortex. 第 4 回生理研・名大合同シンポジウム （名古屋）
21. 畠中由美子 (2014.11.22) Cortical projection diversity originates from two sequentially generated, distinct populations of excitatory cortical neurons with different initial axonal outgrowth characteristics. 第 4 回生理研・名大合同シンポジウム （名古屋）

《心理生理学研究部門》

1. 北田亮 (2014.2.7)スキンシップが惹起する情動の脳認知科学的メカニズム．新学術領域質感情報学班会議（大阪）
2. 北田亮 (2014.2.12) 触覚と脳が作る素材感．応用脳科学アカデミー （東京）
3. 北田亮 (2014.2.27) 他者の動作認識に関わる神経基盤の形成に視覚脱失が与える影響. 新潟脳研-生理研合同シンポジウム（岡崎）
4. 北田亮 (2014.3.6) 他者の動作理解に関わる神経基盤の形成に視覚脱失が与える影響. 第 16 回ヒト脳機能マッピング学会（仙台）
5. 定藤規弘（2014.3.22）「私たち」の脳科学に向けて：2 個人同時計測 MRI 研究 "We-mode" neuroscience using dual functional MRI．日本発達心理学会第 25 回大会　大会委員会企画シンポジウム（京都）
6. Sadato N (201.4.24) How the blind "see" braille: Lessons from PET/fMRI on the cross-modal plasticity, integration, and learning. NINDS Symposium -Human Motor Control: 30 years of Research at NIH and Beyond (MD, U.S.A)
7. Fukunaga M, Masumura M, Koda S, Shimonaga T, Nakamura R, Mori Y, Yoshioka Y (2014.5.13) Histological correlation of manganese enhanced MRI in the demyelinating disease model brain. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB 2014, (Milan, Italy)
8. Yoshioka Y, Chen T, Mori Y, Cheng Z, Kashiwagi Y,

Fukunaga M, Kida I, Taga Y, Yoshida S, Ohno K (2014.5.13) New magnetic nanoparticle for kidney function. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB 2014 (Milan, Italy)

9. Mori Y, Chen T, Ohno K, Yoshida S, Taga Y, Fujisawa T, Fukunaga M, Komai Y, Hata Y, Yoshioka Y (2014.5.13) Sequential and time-lapse MRI monitoring of peripheral macrophage recruitment and migration in mouse brain. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB 2014 (Milan, Italy)
10. 小山総市朗，田中悟志，田辺茂雄，定藤規弘（2014.5.31）一次運動野に対する経頭蓋直流電気刺激は運動技能の定着を促進する. 日本理学療法学会（横浜）
11. Sugawara SK, Koike T, Kawamichi H, Makita K, Hamano YH, Takahashi HK, Nakagawa E, Yamazaki-Kindaichi H, Sadato N (2014.6.10) Offline increment of striatal activity associated with sleep-dependent improved accuracy. 20th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (Hamburg, Germany)
12. Abe S, Koike T, Bosch-Bayard J, Sadato N (2014.6.11) The pathway of inter-individual synchronization during eye contact enhanced by joint attention. Proceedings of the OHBM 2014 Annual Meeting (Hamburg, Germany)
13. Takahashi HK, Kitada R, Sasaki AT, Kawamichi H, Sadato N (2014.6.11) Interaction between TPJ and the medial prefrontal cortex for the inference of other's sadness. The 20th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (Hamburg, Germany)
14. Kitada R (2014.6.12) The brain network underlying the recognition of gestures in the blind: the supramodal role of EBA. OHBM 2014 Annual Meeting (Hamburg, Germany)
15. 福永雅喜，岡田直大，山下典生，大井一高，橋本亮太（2014.6.28）ENIGMA-SZJ:統合失調症の皮質下体積のメタアナリシス. ICG7/COCORO3 合同会議（横浜，神奈川）
16. Okazaki S (2014.7.2) Causality analysis for reciprocal social interaction. NIPS-KU/YU Symposium (Aichi, Japan)
17. Kitada R (2014.7.14) Brain network underlying haptic object recognition. Symposium on "Shitsukan" of Touch (The University of Electro Communication, Chofu, Tokyo)
18. 北田　亮 (2014.7.15) スキンシップが惹起する情動の脳認知科学的メカニズム (東京大学生産技術研究所, 駒場, 東京)
19. Kitada R, Sasaki AT, Okamoto Y, Kochiyama T, Sadato N (2014.7.16) The precuneus is involved in the detection of incongruency between tactile and visual texture information: A functional MRI study. Future of Shitsukan Research (Tokyo, Japan)
20. Koike T, Abe S, Bosch-Bayard J, Sadato N (2014.7.18) Social interaction represented by inter-individual neural synchronization. Neural Oscillation Conference 2014 (Okazaki, Japan)
21. 定藤規弘（2014.7.19）社会脳：共感と向社会行動の神経基盤：脳機能画像法によるアプローチ．第 11 回日本うつ病学会総会（広島）
22. 山崎拳志郎，伊藤竜樹，伊藤嘉邦，岡崎俊太郎，定藤規弘，尾崎紀夫，井本敬二，宍戸恵美子，福村直博 (2014.8.8) 「線の描画運動における書道習熟度と視線先行の関係」. 第 8 回 Motor Control 研究会（茨城）
23. 小池 耕彦, 田邊 宏樹, 岡崎俊太郎, Bosch-Bayard J, 定藤 規弘（2014.9.11）個体間での脳活動共振として表現される「社会性」. 第 37 回日本神経科学大会（横浜，神奈川）
24. 福永雅喜，橋本亮太，大井一高，渡邊嘉之，山森英長，藤本美智子，安田由華，武田雅俊 (2014.9.18) 統合失調症における安静時脳ネットワーク研究 -resting state fMRI 研究-. 第 42 回日本磁気共鳴医学会大会（京都）
25. 村瀬智一，梅田雅宏，福永雅喜，渡邊康晴，樋口敏宏（2014.9.18）仮想灸刺激に伴う脳活動変化の検討. 第 42 回日本磁気共鳴医学会大会（京都）
26. 吉田正俊，辻本健吾，福永雅喜（2014.9.26）マカクザルによる半側空間無視の動物モデル. 第 38 回日本神経心理学会学術大会（山形）
27. Harada K, Matsuo K, Nakashima M, Shimoji K, Shibata T, Higuchi N, Higuchi F, Nakano M, Hobara T, Otsuki K, Watanuki T, Fujita Y, Fukunaga M, Yamagata H, Matsubara M, Ueda K, Furukawa M, Matsunaga N,

Watanabe Y（2014.9.29）Abnormalities of brain structure in patients with late-life depression. 第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学会大会合同年会（奈良）

28. Masaki Fukunaga (2014.10.6) Ultra high field MRI of cortical laminar structure in the brain. 4th Joint CIN-NIPS Symposium (Tubingen, Germany)
29. Sugawara SK, Koike T, Kawamichi H, Makita K, Hamano YH, Takahashi HK, Nakagawa E, Yamazaki-Kindaichi H, Sadato N (2014.10.7) Offline-improved activation in striatum is associated with sleep-dependent improved accuracy. The 4th Tubingen University/NIPS Joint Neuroscience Symposium (Tubingen, Germany)
30. 北田亮 (2014.10.21) 目が見えないことは脳にどのような影響を与えるのか．医療法人鉄友会第 6 回市民公開講座 (岡崎)
31. 阿部彩織，小池耕彦，Bosch-Bayard J，定藤規弘（2014.10.30）注意共有にともなう二個人間神経活動同調の神経基盤. 平成 26 年度生理研研究会第 4 回社会神経科学研究会（岡崎）
32. 岡崎 俊太郎，小池 耕彦，廣谷 昌子， Bosch-Bayard J，高橋 陽香，橋口 真帆，定藤 規弘（2014.10.30）均衡する視覚運動制御の再帰的連環が二人の体動を同期させる. 平成 26 年度生理研研究会第 4 回社会神経科学研究会（岡崎）
33. 川道拓東，菅原翔，吉原一文，佐々木章宏，田邊宏樹，定藤規弘（2014.10.30）傾聴によるエピソードの印象改善に伴う腹側線条体・右前部島の賦活．平成 26 年度生理研研究会第 4 回社会神経科学研究会（岡崎）
34. 角谷基文，小池耕彦，岡崎俊太郎，定藤規弘（2014.10.30）聞き手の肯定的反応が話し手にもたらす報酬効果の神経基盤の解明. 平成 26 年度生理研研究会第 4 回社会神経科学研究会（岡崎）
35. 髙木幸子，原田宗子，定藤規弘，Huis In't Veld E, de Gelder B，濱野友希，田部井賢一，田中章浩（2014.10.30）表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生みだす神経基盤. 平成 26 年度生理研研究会第 4 回社会神経科学研究会（岡崎）
36. 中村太戯留，松井智子，内海彰，山﨑未花，牧田快，原田宗子，田邊宏樹，定藤規弘（2014.10.30）隠喩的表現における“面白さ”と“見劣り効果”の神経基盤の検討. 平成 26 年度生理研研究会第 4 回社会神経科学研究会（岡崎）
37. Hamano YH, Sugawara SK, Yamazaki-Kindaichi H,Naoya Aoki N, Sadato N (2014.10.30) Neural correlates of motor sequence learning - an fMRI study. 平成26年度生理研研究会第4回社会神経科学研究会（岡崎）
38. 角谷基文，小池耕彦，岡崎俊太郎，定藤規弘（2014.11.7）聞き手の肯定的反応が話し手にもたらす報酬効果の神経基盤の解明. 第 61 回中部日本生理学会（名古屋，愛知）
39. 岡崎 俊太郎，小池 耕彦，廣谷 昌子，Bosch-Bayard J，高橋 陽香，橋口 真帆，定藤 規弘（2014.11.7）均衡する視覚運動制御の再帰的連環が二人の体動を同期させる．第 61 回中部日本生理学会（名古屋，愛知）
40. 北田亮 (2014.11.13) 触覚による物体認知の脳内ネットワーク． 第六回多感覚研究会（広島）
41. Kitada R, Sasaki AT, Okamoto Y, Kochiyama T, Sadato N (2014.11.15) The precuneus is involved in the detection of incongruency between tactile and visual texture information: A functional MRI study. The 44th annual meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, U.S.A.)
42. Sumiya M, Koike T, Okazaki S, Sadato N (2014.11.17) Listener’s positive responses recruit reward-related neural circuitry of the speaker: an fMRI study. The 44th annual meeting of the Society for Neuroscience (Washington, D.C., U.S.A.)
43. Koyama S, Tanaka S, Tanabe S, Sadato N (2014.11.17) Transcranial direct current stimulation (tDCS) over the primary motor cortex during training enhances over-night consolidation of newly-learned ballistic thumb skill. The 44th annual meeting of the Society for Neuroscience (Washington D.C., U.S.A.)
44. Okazaki S, Koike T, Hirotani M, Bosch-Bayard J, Takahashi HK, Hashiguchi M, Sadato N (2014.11.17) Reciprocal coupling of visuo-motor linkages synchronize interpersonal postural coordination. The 44th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, U.S.A.)
45. 角谷基文，小池耕彦，岡崎俊太郎，定藤規弘

（2014.11.22）聞き手の肯定的反応が話し手にもたらす報酬効果の神経基盤の解明:fMRI 研究．第 4 回生理研-名大合同シンポジウム（名古屋，愛知）

46. 岡崎 俊太郎，小池 耕彦，廣谷 昌子，Bosch-Bayard J，高橋 陽香，橋口 真帆，定藤 規弘（2014.11.22）均衡する視覚運動制御の再帰的連環が二人の体動を同期させる．第 4 回生理研-名大合同シンポジウム（名古屋，愛知）
47. 定藤規弘（2014.11.24）脳科学より褒めの教育効果を考える．一般社団法人日本 LD 学会第 23 回大会（大阪）
48. Sugawara SK, Koike T, Kawamichi H, Makita K, Hamano YH, Takahashi HK, Nakagawa E, Yamazaki-Kindaichi H, Sadato N (2014.12.6) Overnight consolidation of sequential motor skill in terms of accuracy is related to the striatum. Vision, Memory, Thought: how cognition emerges from neural network (VMT2014) (Tokyo, Japan)
49. 福永雅喜, 橋本亮太, 岡田直大, 越山太輔 (2014.12.7) ENIGMA-SZJ:統合失調症の皮質下体積のメタアナリシス. 第 5 回脳表現型の分子メカニズム研究会（東京）
50. 山崎拳志郎，伊藤竜樹，伊藤嘉邦，岡崎俊太郎，定藤規弘，尾崎紀夫，井本敬二，宍戸恵美子，福村直博（2014.12.13）線の描画時の視線計測に基づくアイ・ハンド・コーディネーションの解析．ニューロコンピューティング研究会（NC）（名古屋，愛知）
51. 福永雅喜，八幡憲明（2014.12.13）Resting-state fMRI 概論．第 7 回・包括脳 MRI 脳画像解析チュートリアル（東京）
52. Fukunaga M (2014.12.23) Ultra high field MRI of human brain structure and function. 18th Thai Neuroscience Society Conference 2014 and 2nd CU-NIPS Symposium “Frontier in Neuroscience Research” (Bangkok, Thailand)

《認知行動発達機構研究部門》

1. 西村幸男（2014.1.12）脳脊髄のつながりを人工的に強化する．第 20320 回理学療法士講習会（富山）
2. 郷康広（2014.1.12）霊長類認知ゲノミクスと精神・神経疾患をターゲットとした霊長類モデル動物の探索．自然科学研究機構新分野創成センターシンポジウム（東京）
3. 吉田正俊（2014.1.23）ヒト及びマカクザルにおける盲視．日本視覚学会冬季大会（東京）
4. 吉田正俊（2014.1.28）ヒト及びマカクザルにおける盲視．北海道大学大学院医学研究科セミナー（北海道）
5. 小川正晃（2014.2.3）Tracking salience acquired through associative learning, Not risk, in Orbitofrontal Neurons. 京都大学セミナー（京都）
6. Isa T（2014.2.18）Large-scaled network reorganization during recovery from partial spinal cord injury．Katholic University Leuven BIOMED Distinguished Lecture Program（Leuven，Belgium）
7. 西村幸男（2014.2.25）運動麻痺からの機能回復戦略．宇野病院講演会（岡崎）
8. 笠井昌俊，伊佐正（2014.3.18）2 光子イメージングを用いたマウス上丘の側方抑制を示す細胞集団活動の記録．第 91 回日本生理学会大会（鹿児島）
9. 郷康広（2014.3.29）霊長類認知ゲノミクス進捗状況報告およびこれからの方向性に関する考察．第 2 回霊長類認知ゲノミクスワークショップ（岡崎）
10. 西村幸男（2014.4.17）Rewiring damaged pathways via an artificial neural connection．理化学研究所和光 Forum（和光）
11. Veale R，Isa T，Yoshida M（2014.4.23）Large Scale Spiking Neuron Models of Superior Colliculus．学会名 Neural Control of Movement (NCM) 2014（Amsterdam，Netherland）
12. Isa T（2014.5.6）Pathway-selective blocking technique with double viral vectors for dissecting large-scaled neural network．Emerging technologies for exploring the normal and epileptic brain -A Segerfalk-Pufendorf Symposium（Lund，Sweden）
13. Isa T（2014.5.9）Large-scaled network reorganization during recovery from partial spinal cord injury．

University of Goteborg Invited Seminar（Goteborg, Sweden）

14. 伊佐正（2014.5.22）障害脳が示す新たな機能-causal neuroscience に向けて．第 55 回日本神経学会レクチャーシリーズ 3「脳神経内科医のためのニューロサイエンスの基礎」（福岡）
15. 西村幸男（2014.5.24）人工神経接続による随意運動の機能再建．第一回京都ロボットリハ研究会（京都）
16. 笠井昌俊，伊佐正（2014.6.9）マウス上丘浅層におけるニューロン集団活動の空間的解析．バイオイメージ･インフォマティクスワークショップ２０１４（岡崎）
17. Isa T（2014.6.10）Genetic dissection of central cirsuits for causal neuroscience．Special Lecture, IBRO Advanced School（Hong Kong）
18. Isa T（2014.6.12）Large-Scaled Network Reorganization through Functional Recovery after Partial Spinal Cord Injury; Spinal Cord, Cortex and Beyond. Elaine GCF Tso Memorial Lecture, 100th Year Anniversary Symposium of Hong Kong University Department of Physiology（Hong Kong）
19. Kasai M, Isa T（2014.7.1）Two-photon imaging of lateral interaction in the superficial superior colliculus．日韓シンポジウム（岡崎）
20. Ogawa M（2014.7.1）How might your brain become interested in uncertain reward?．日韓シンポジウム（岡崎）
21. 伊佐正（2014.7.4）障害脳が示す多様な能力．第 29 回奈良脳神経ネットワーク研究会（奈良）
22. 郷康広，辰本将司，福多賢太郎，野口英樹，友永雅己，平井啓久，松沢哲郎，阿形清和，藤山秋佐夫（2014.7.5）チンパンジー親子トリオ全ゲノム解析による世代間直接変異率の推定. 第 30 回日本霊長類学会大会（大阪）
23. T.Tohyama, M.Kinoshita, R.Matsui, S.Kato, K.Isa, D.Watanabe, K.Kobayashi, M.Liu, T.Isa（2014.7.8）Contribution of propriospinal neurons to recovery of hand dexterity after a corticospinal tract lesion in the monkey．9th FENS Forum of Neuroscience（Milan, Italy）
24. Isa T（2014.7.10）Blindsight and visual awareness．Distinguished Neurosciences Seminar, The Werner-Reichardt Center for Integrative Neuroscience（Tubingen, Germany）
25. Richard Veale, Tadashi Isa, Masatoshi Yoshida（2014.7.25）Large-scale spiking circuit simulation of spatio-temporal dynamics in superior colliculus. CNS2014（Quebec, Canada）
26. Yasuhiro Go (2014.7.26) Direct estimation of genome-wide mutation rate in a chimpanzee family trio by ultra deep whole genome sequencing. Symposium of MHC evolution and Human evolution. (Hayama)
27. Hidenori Watanabe, Kazutaka Takahashi, Yukio Nishimura, Tadashi Isa（2014.8.29）Phase and Magnitude Spatiotemporal Dynamics of beta Oscillation in Electrocorticography (ECoG) in the Monkey Motor Cortex at the Onset of 3D Reaching Movements (I). IEEE EMBC2014（Chicago, USA）
28. 伊佐正（2014.8.30）霊長類の脳科学の過去・現在・未来．ワークショップ「システム神経科学の将来展望」（静岡）
29. 西村幸男（2014.9.6）Brain Computer Interface による人工神経接続．第 15 回日本電気生理運動学会大会（JSEK2014）（横浜）
30. Isa T（2014.9.8）Associative learning with blindsight. NIPS International Conference"A quarter century after the direct and indirect pathways model of the basal ganglia and beyond"（Okazaki）
31. 西村幸男，笹田周作，門脇傑，加藤健治，中尾弥起，村山尊司，吉田晋，飯塚正之，小宮山伴与志，宇川義一（2014.9.11）脊椎上磁気刺激がバイタルサインにたいする影響．第 37 回日本神経科学大会（横浜）
32. 笹田周作，加藤健治，中尾弥起，村山尊司，門脇傑，吉田晋，飯塚正之，小宮山伴与志，宇川義一，西村幸男（2014.9.11）脊髄損傷後の人工神経接続による下肢歩行運動の随意制御. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
33. 加藤健治，西村幸男（2014.9.11）サル頸髄硬膜下電気刺激による誘発運動の体部位局在性. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
34. 笠井昌俊，伊佐正（2014.9.11）2 光子顕微鏡による上丘浅層の側方抑制システムの解明. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
35. 澤田真寛，吉野-斉藤紀美香，二宮太平，大石高生，

山下俊英，高田昌彦，尾上浩隆，西村幸男，伊佐正（2014.9.12）脊髄損傷からの回復過程における皮質脊髄路の再編．第 37 回日本神経科学大会（横浜）

36. 加藤利佳子，高桑徳宏，Abdelhafid Zeghbib，Peter Redgrave，伊佐正（2014.9.12）意識に上らない視覚二次強化因子による行動価値の重み付けと内部状態の遷移．第 37 回日本神経科学大会（横浜）
37. 高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave，伊佐正（2014.9.12）皮質盲の視野に提示された条件刺激に対する中脳ドーパミンニューロンの応答. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
38. 伊佐正（2014.9.13）研究費を申請するということ：研究者の自己評価と他者による評価. 第 37 回日本神経科学大会（横浜）
39. 吉田正俊（2014.9.13）視覚サリエンシーに関わる脳内ネットワーク．第 37 回日本神経科学大会（横浜）
40. Richard Veale, Tadashi Isa, Masatoshi Yoshida（2014.9.13）Computer simulation of superior colliculus dynamics using spiking neural circuit models．第 37 回日本神経科学大会（横浜）
41. 石田章真，伊佐かおる，小林憲太，梅田達也，伊佐正，飛田秀樹（2014.9.13）内包出血後の麻痺肢集中使用法による前肢巧緻運動の改善には皮質赤核路が寄与する．第 37 回日本神経科学大会（横浜）
42. 伊佐正（2014.9.14）Circuit dissection for causal neuroscience studies．脳と心のメカニズム第 15 回夏のワークショップ（東京）
43. 郷康広，辰本将司，福多賢太郎，野口英樹，友永雅己，平井啓久，松沢哲郎，阿形清和，藤山秋佐夫（2014.9.17）チンパンジー親子トリオ全ゲノム解析による世代間直接変異率の推定．日本遺伝学会第 86 回大会（長浜）
44. 伊佐正（2014.9.19）Dissecting neural circuits for causal neuroscience. 福島県立医科大学研究セミナー（福島）
45. Isa T（2014.9.23）Large-scaled network reorganization during recovery from partial spinal cord injury. Peking University IDG/McGovern Institute, Neuroscience Seminar（Beijing, China）
46. 伊佐正（2014.9.25）「無意識の視覚系」の実体を求めて．応用脳科学コンソーシアム（東京）
47. 吉田正俊，辻本憲吾，福永雅喜（2014.9.26）マカクザルによる半側空間無視の動物モデル．学会名（開催地）
48. Isa T（2014.10.3）Large-scaled network reorganization through post-injury functional recovery. 2nd INT neuroscience conference（Marseille, France）
49. Isa T（2014.10.06）Visual instrumental learning in blindsight monkeys. 4th CIN-NIPS Joint Symposium（Tubingen, Germany）
50. Kato K（2014.10.06）Rewiring the damaged-pathway via an artificial neural connection induces flexible reorganization in cortical networks. 4th CIN-NIPS Joint Symposium（Tubingen, Germany）
51. Takakuwa N（2014.10.06）Activity of midbrain dopamine neurons caused by conditioned stimuli presented in the V1lesion-affected visual field. 4th CIN-NIPS Joint Symposium（Tubingen, Germany）
52. Veale R（2014.10.06）Exploring the spatio-temporal dynamics of superior colliculus using large-scale circuit simulations.. 4th CIN-NIPS Joint Symposium（Tubingen, Germany）
53. Sawada M（2014.10.06）Causal link between limbic system and motor system in spinal cord injury. 4th CIN-NIPS Joint Symposium（Tubingen, Germany）
54. Nishimura Y（2014.10.06）Rewiring damaged descending pathways to spinal locomotor center restores voluntary-walking in paraplegia. 4th CIN-NIPS Joint Symposium（Tubingen, Germany）
55. 西村幸男（2014.11.2）人工神経接続の技術について．千葉医療福祉専門学校講演（千葉）
56. 伊佐正（2014.11.6）脳・脊髄損傷後の回復過程での大規模回路再編. 学会名第 30 回Ｗａｋｏワークショップ「神経回路の生理と病態-精神疾患の病態基盤の解明を目指して」（東京）
57. 笠井昌俊，伊佐正（2014.11.7）2 光子カルシウムイメージングによる上丘浅層における側方抑制機構の解明．第 61 回中部日本生理学会（名古屋）
58. 澤田真寛，加藤健治，尾上浩隆，伊佐正，西村幸男（2014.11.7）脊髄損傷からの回復過程において側坐核は運動関連皮質を活性化する. 第 61 回中部日本生理学会（名古屋）
59. Isa T（2014.11.17）The Brain is Needed to Cure Spinal Cord Injury． 44th Annual Meeting of the Society for Neurosciece（Washigton D.C., USA）

60. Veale R, Isa T, Yoshida M.（2014.11.17）Large-scale spiking neuron simulations of spatio-temporal dynamics in superior colliculus．44th Annual Meeting of the Society for Neurosciece（Washigton D.C., USA）
61. Kasai M, Isa T（2014.11.17）Two-photon imaging of lateral interaction in the superificla layer of the superior colliculus．44th Annual Meeting of the Society for Neurosciece（Washigton D.C., USA）
62. 西村幸男（2014.11.21）人工神経接続による脊髄損傷患者に対する随意歩行機能再建. 第 44 回日本臨床神経生理学会学術大会（福岡）
63. Rikako Kato, Norihiro Takakuwa, Abdelhafid Zeghbib, Peter Redgrave, Tadashi Isa（2014.12.6）Acquiring effective behaviors by secondary reinforcer in blindsight monkeys．VMT2014（東京）
64. Norihiro Takakuwa, Rikako Kato, Peter Redgrave, Tadashi Isa（2014.12.6）Responses of midbrain dopamine neurons to conditioned stimuli presented in the V1 lesion-affected visual field．VMT2014（東京）
65. 笠井昌俊（2014.12.18）Two-photon imaging of lateral interaction in the superificla layer of the superior colliculus．NBNI2014（岡崎）
66. Nishimura Y（2014.12.22）Causal link between motor system and limbic system. 2nd CU-NIPS Symposium (Bangkoku, Thailand）
67. Isa T（2014.12.22）Neural mechanism of recovery of forelimb movements after stroke. 2nd CU-NIPS Symposium (Bangkoku, Thailand)

《生体恒常機能発達機構研究部門》

1. Nabekura J (2014.1.10) Cortical synapse remodeling in chronic pain. International Symposium on Glyco-Neuroscience (淡路)
2. 石川達也, 石橋　仁, 鍋倉淳一 (2014.1.26) The role of primary somatosensory cortex in causing mirror-image pain. 第 2 回シナプス再編におけるグリア戦略研究会 (熱海)
3. 宮本愛喜子, 江藤　圭, 村越秀治, 柴田圭輔, 小泉修一, 鍋倉淳一 (2014.1.27) Formation of synapses in somatosensory cortex of developing mice. 第 2 回シナプス再編におけるグリア戦略研究会 (熱海)
4. Nakahata Y, Ishibashi H, Hirata H, Nabekura J (2014.1.29) The dynamic modulation of postsynaptic glycine receptor clustering. The 34th Annual Meeting of the Australian Neuroscience Society (ANS 2014) (Adelaide, Australia)
5. 石川達也, 石橋　仁, 鍋倉淳一 (2014.2.25) ミラーイメージペイン発症における大脳皮質 S1 の役割. 新潟脳研－生理研合同シンポジウム (岡崎市)
6. Nabekura J, Kato G, Miyamoto A, Wake H (2014.3.10) Synapse remodeling of cortical synapses; elimination and generation of synapses by microglia. The 1st IPBS International Symposium (大阪)
7. Wake H (2014.3.13) 神経活動依存性の髄鞘化とその破綻による運動学習障害. 第 7 回神経発生討論会 (大阪)
8. 石橋　仁, 山口純弥, 中畑義久, 鍋倉淳一(2014.3.17) 抑制性シナプスにおけるグルタミン酸トランスポーターの役割. 第 91 回日本生理学会大会 (鹿児島市)
9. 後藤　桂, 加藤　剛, 川原　勲, 國安弘基, 鍋倉淳一, 高木　都 (2014.3.17) 切離吻合術を受けたマウス小腸における内因性および外因性新生腸壁内神経. 第 91 回日本生理学会大会 (鹿児島市)
10. 中村佳代, 和氣弘明, 鍋倉淳一(2014.3.17) 脳血管障害後の神経回路再編成に対する K+-Cl-cotransporter（KCC2）の役割. Role of K -Cl cotransporter (KCC2) for neural reorganization after cerebrovascular disease. 第 91 回日本生理学会大会 (鹿児島)
11. 宮本愛喜子, 江藤　圭, 村越秀治, 柴田圭輔, 小泉修一, 鍋倉淳一 (2014.3.18) 発達期マウス大脳皮質体性感覚野におけるミクログリアによるシナプス形成 : 生体 2 光子顕微鏡による観察. 第 91 回日本生理学会大会 (鹿児島市)
12. 石川達也, 石橋　仁, 鍋倉淳一 (2014.3.18) 大脳皮質一次体性感覚野のミラーイメージペイン発症における役割. The role of primary somatosensory cortex in causing mirror-image pain. 第 91 回日本生理学会大会 (鹿児島市)

13. 宮本愛喜子, 江藤　圭, 村越秀治, 柴田圭輔, 小泉修一, 鍋倉淳一 (2014.3.2) 発達期バレル野におけるシナプス形成に対するミクログリアの関与. JST－ＣＲＥＳＴ「脳神経回路の形成・動作原理解明と制御技術創出 」研究領域　(東京)
14. Nabekura J(2014.3.24) Remodeling of Cortical Synapses in Living Mice: Glia-Synapse Interaction. 第１回　名古屋大学神経回路国際シンポジウム　Nagoya International Symposium on Neural Circuits (名古屋)
15. Nabekura J (2014.5.21) Roles of astroglia and microglia in synapse and neural network remodeling. 熊本大学リエゾンラボ研究会／HIGO プログラム最先端研究セミナー (熊本)
16. Nabekura J(2014.6.20) Remodeling of Neuronal Circuits in vivo. INSERM Seminar (Marseille, France)
17. Nabekura J (2014.6.5) Remodeling of Cortical Synapses: glia-neuron interaction. IFReC seminar (大阪)
18. Miyamoto A(2014.7.1) Involvement of microglia in dendritic spine formation in immature barrel cortex. 2014 NIPS-KU-YU Symposium (岡崎市)
19. 鍋倉淳一 (2014.7.11) 神経回路の再編：産婦人科から脳研究へ. 第２１回神戸ラボ全体研究会議 (神戸)
20. Wake H (2014.7.11) 神経活動依存性の髄鞘化とその破綻による運動学習障害. 第９回 Biomedical Frontier TOKAI ~NIH in JAPAN (名古屋)
21. 鍋倉淳一 (2014.7.6) 発達期および障害後における神経回路の再編成. ERA・OAE 研究会　聴覚研究会 (東京)
22. Nabekura J (2014.8.15) Special Physiology. Seminar at University of　New South Wales Role of Glial Cells in Neuronal Circuit Plasticity (Sydney, Australia)
23. 和氣弘明 (2014.8.29) ミクログリアによる神経回路の制御. 包括的脳科学研究推進支援ネットワーク平成 25 年度　夏のワークショップ　シンポジウム (名古屋)
24. Wake H (2014.9.12) Activity dependent myelination and impaired motor learning as the result of its disruption. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (横浜)
25. 加藤大輔, 和氣弘明, 穐吉亮平, 田中康代, 田中康裕, 正水芳人, 平理一郎, 大久保文貴, LeePhilip R, FieldsDouglas R, 鍋倉淳一, 松崎政紀(2014.9.13) 髄鞘の恒常性破綻が運動学習に与える影響. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
26. 鍋倉淳一, Kim Sun Kwang, 小泉修一(2014.9.13) 慢性　痛時における大脳皮質シナプス再編とアストロサイト連関. 第 37 回日本神経科学会 (横浜)
27. 鍋倉淳一 (2014.9.15) 発達期および障害回復期における神経回路再編. 第 11 回 What's New in Neuroscience & Medicine（WNNM） (広島)
28. 鍋倉淳一(2014.9.26) 大脳皮質神経回路再編とグリア. 創薬薬理フォーラム第 22 回シンポジウム (東京)
29. 和氣弘明 (2014.9.4) Disruption of myelin homeostasis impairs motor learning. 日韓シンポジウム (岡崎)
30. Wake H (2014.10.10) Activity dependent myelination and impaired motor learning as the result of its disruption. (Homberg, Germany)
31. Wake H (2014.10.14) Activity dependent myelination and impaired motor learning as the result of its disruption. Glial Heterogeneity Meeting (Dusseldorf, Germany)
32. 和氣弘明 (2014.10.24) グリア細胞による神経回路恒常性維持機構とその破綻による疾患. 滋賀医科大学　支援センターセミナー (大津市)
33. 加藤大輔, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2014.10.24) 運動学習に対する髄鞘の寄与. 平成26年度生理学研究所研究会 (岡崎市)
34. 鍋倉淳一 (2014.10.25) モデル動物における脳梗塞後の神経回路再編. 新世紀のリハビリテーション－脳科学 2 (富山)
35. 鍋倉淳一 (2014.11.15) 脳の発達と神経回路. 第 2 回新胎児学研究会 (高松)
36. Nabekura J, Miyamoto A, Wake H (2014.11.25) Microglia Surveillance of Neuron-Synapses. 第 37 回日本分子生物学会 (横浜)
37. Nakahata Y, Ishibashi H, Hirata H, Nabekura J (2014.12.2) Glycine receptor activation regulates its postsynaptic dynamics in mature neurons. 生理研研究会『シナプス・神経ネットワークの機能ダイナミクス』 (岡崎)
38. Nabekura J (2014.12.22) Cortical synapse remodeling in chronic pain. 18th Thai Neuroscience Society Conference 2014 and 2nd Joint CU-NIPS Symposium (Bankok, Thailand)

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1. 横田繁史, 岡本士毅, 箕越靖彦（2014.2.14-15）骨格筋 AMPK 活性の抑制はストレプトゾトシンによる糖尿病の代謝異常を改善する. 第 28 回日本糖尿病・肥満動物学会（宮崎）
2. 箕越靖彦（2014.2.6）メタボリックシンドロームを科学する-メタボリックシンドロームはなぜ起こる？-. 常磐小学校現職教育研修会（岡崎）
3. 箕越靖彦（2014.3.15）インスリン欠乏型糖尿病の代謝異常に及ぼす骨格筋 AMPK の調節作用. 第 2 回生活習慣病の分子細胞病態学研究会（東京）
4. Minokoshi Y, Toda C（2014.3.16-18）Role of the ventromedial hypothalamus in leptin-induced glucose metabolic regulation in skeletal muscle and the liver. The 91st Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（鹿児島）
5. Inagaki-Ohara K, Okamoto S, Minokoshi Y（2014.3.16-18）Leptin receptor signaling pathways is required for high-fat diet-induced atrophic gastritis in mice. The 91st Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（鹿児島）
6. Okamoto S, Minokoshi Y（2014.3.16-18）AMPK in the paravenricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. The 91st Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（鹿児島）
7. Yokota S, Okamoto S, Minokoshi Y（2014.3.16-18）Suppression of AMPK activity in skeletal muscle improves abnormalities of streptozotocin-induced diabetes mellitus in mice. The 91st Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（鹿児島）
8. Minokoshi Y, Toda C（2014.5.16-17）Leptin enhances insulin-induced glucose uptake in skeletal muscle via MEK/ERK signaling in the ventromedial hypothalamus. 2014 Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group（Seoul, Korea）
9. Okamoto S, Minokoshi Y（2014.7.1-2）AMPK in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. 2014 NIPS-KY/YU Symposium（岡崎）
10. 箕越靖彦, 岡本士毅（2014.7.5-6）A role of hypothalamic AMPK in food selection behaviour. 第 11 回インスリン抵抗性とメタボリックシンドローム研究会（東京）
11. 箕越靖彦（2014.7.10-12）視床下部室傍核 AMPK による摂食調節機構. 第 32 回内分泌代謝学サマーセミナー（山梨）
12. 箕越靖彦（2014.7.24）視床下部 AMPK によるエネルギー感受機構と食物選択行動. 第 24 回内分泌代謝セミナー（滋賀）
13. 箕越靖彦（2014.10.4）体の恒常性を司る脳-肥満とやせの不思議を探る. 生理学研究所一般公開 2014（岡崎）
14. 唐麗君, 箕越靖彦（2014.10.24-25）褐色及び白色脂肪組織 TNF-α mRNA 発現に及ぼす交感神経の調節作用. 第 35 回日本肥満学会, シンポジウム（宮崎）
15. 岡本士毅, 箕越靖彦（2014.10.24-25）視床下部 AMPK による食物嗜好性の調節機構. 第 35 回日本肥満学会, シンポジウム（宮崎）
16. 横田繁史, 岡本士毅, 箕越靖彦（2014.10.24-25）ストレプトゾトシン誘導型糖尿病の代謝異常に及ぼすマイオカイン IL-6 の調節作用. 第 35 回日本肥満学会（宮崎）
17. Minokoshi Y（2014.10.26）AMPK-activated protein kinase in CRH neurons in the PVH controls food selection behavior. International Symposium for the Study of Obesity（宮崎）
18. 箕越靖彦（2014.10.31-11.2）視床下部による骨格筋への代謝調節作用. 第 41 回日本神経内分泌学会学術集会（東京）
19. 高木一代, 箕越靖彦（2014.11.7-8）食事誘導性熱産生に及ぼす UCP1 と骨格筋 AMPK の調節作用. 第 61 回中部日本生理学会（名古屋）
20. 佐藤達也, 岡本士毅, 箕越靖彦（2014.11.22）社会的ストレスが引き起こす摂食行動の変化と視床下部 CRH ニューロンの AMPK による調節作用. 第 4 回生理学研究所　名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム（名古屋）
21. Minokoshi Y（2014.12.21-23）Regulatory role of hypothalamic AMP-activated protein kinase (AMPK) in food selection behavior. 18th Thai Neuroscience Society Conference 2014 & 2nd Joint CU-NIPS Symposium, 2014（Bangkok, Thailand）

《個別研究（村上グループ）》

1. Masataka Murakami, Fei Wei, Takanori Narita, Miwako Fukushima-Matsuki, Sadamitsu Hashimoto, Yoshiyuki Shibukawa, Masaki Sato. (2014・2・21) Contribution of paracellular fluid transport to the whole fluid secretion by the salivary gland. Kitasato Fluid Transport Symposium 2014 (北里大学薬学部，白金台，東京)
2. Masataka Murakami, Fei Wei, Takanori Narita, Miwako Fukushima-Matsuki, Sadamitsu Hashimoto, Yoshiyuki Shibukawa, Masaki Sato. (2014・3・16) in the submandibular gland. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島大学，鹿児島）
3. Fei Wei, Masataka Murakami. (2014・3・16) Effect of Danshen on paracellular fluid secretion in the isolated rat submandibular gland. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島大学，鹿児島）
4. Yoshiteru Seo, Eriko Seo, Yoshie Imaizumi-Ohashi, Kazue Ohishi, Tadashi Maruyama, Masataka Murakami.（2014・3・16）Cardiovascular function of marine mussel monitored by MRI. 第 91 回日本生理学会大会（鹿児島大学，鹿児島）
5. Masataka Murakami, Fei Wei, Takanori Narita, Miwako Fukushima-Matsuki, Sadamitsu Hashimoto, Yoshiyuki Shibukawa, Masaki Sato.（2014・6・28）Morphological Search for a Paracellular Secretion Route in Salivary Glands. 92nd IADR General Session and Exhibition（Cape Town, South Africa）
6. 村上政隆,橋本貞充,成田貴則,福島美和子,佐藤正樹,澁川義幸.（2014・8・4）潅流顎下腺の共焦点顕微鏡および急速凍結割断レプリカの電子顕微鏡による形態観察。平成 26 年度生理学研究所研究会「唾液腺形態形成研究会～機能解析から器官再生へ～」代表柏俣正典（自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンター，岡崎）
7. 村上政隆,魏　飛.（2014・12・6） 灌流ラット顎下腺：漢方薬丹参による微小循環増加と唾液分泌誘発の時間経過。第 59 回日本唾液腺学会（文京学院，東京）
8. 村上政隆.（2014・12・19）生理研のアーカイブズの現状とオーラルヒストリーの試み．自然科学系アーカイブズ講演会・研究会（核融合科学研究所，土岐）

《個別研究（毛利グループ）》

1. 毛利達磨，経塚啓一郎（2014.9.11）イトマキヒトデ表層成熟卵受精時の活性電流．日本動物学会第 85 回大会（仙台）

《遺伝子改変動物作製室》

1. Hirabayashi M, Goto T, Tamura C, Sanbo M, Hochi S (2014.1.12) Effect of leukemia inhibitory factor and forskolin on establishment of rat embryonic stem cell lines. The 40th IETS Annual Conference (Reno, USA)
2. Hara H, Tagiri M, Hirabayashi M, Hochi S (2014.1.12) Effect of cake collapse on integrity of freeze-dried bull spermatozoa. The 40th IETS Annual Conference (Reno, USA)
3. 奥村啓樹，鵜飼茜，佐藤大介，宮本智美，三好一郎，平林真澄，中村克徳，松永民秀 (2014.3.30) 胚盤胞注入によるラット iPS 細胞由来細胞を持つキメラマウスの作出. 日本薬学会第 134 年会 (熊本)
4. 香月康宏，小林カオル，平林真澄，佐久間哲史，久世治郎，阿部智志，滝口正人，平松敬，本間和久，梶谷尚世，嵩原昇子，香月加奈子，千葉寛，山本卓，押村光雄 (2014.5.16) 染色体工学技術とゲノム編集技術によるヒト化薬物代謝モデル動物の作製. 第 61 回日本実験動物学会 (札幌)
5. 田切美穂，原弘真，黄仁偰，八代育子，平林真澄，保地眞一 (2014.5.17) 保存卵巣由来のウシ前核期卵

における星状体形成ならびにその後の胚盤胞発生に及ぼす短期ROCK阻害処理の影響. 第55回日本哺乳動物卵子学会 (神戸)

6. 美辺詩織，松本華代，出浦慎哉，後藤哲平，三宝誠，平林真澄，上野山賀久，前多敬一郎，東村博子 (2014.8.9) 後脳上衣細胞に発現する AMP-activated protein kinase（AMPK）の生殖機能を制御するエネルギーセンサーとしての役割. 第29回日本下垂体研究会学術集会 (東京)
7. 八代育子，平林真澄，保地眞一 (2014.8.21) α-トコフェロール存在下におけるガラス化・加温したウシ成熟卵母細胞の回復培養. 第 107 回日本繁殖生物学会 (帯広)
8. 原弘真，田切美穂，平林真澄，保地眞一 (2014.8.21) 保存卵巣由来のウシ前核期卵における星状体形成と胚盤胞発生との関係. 第 107 回日本繁殖生物学会 (帯広)
9. 中村翔，上野山賀久，池上花奈，田村千尋，三宝誠，平林真澄，東村博子，前多敬一郎 (2014.8.23) ラット性行動の発現制御におけるキスペプチンの役割. 第 107 回日本繁殖生物学会 (帯広)
10. 美辺詩織，松本華代，出浦慎哉，池上花奈，後藤哲平，三宝誠，平林真澄，上野山賀久，前多敬一郎，東村博子 (2014.8.22) 低栄養による繁殖抑制を担う脳内エネルギーセンシングメカニズム. 第 107 回日本繁殖生物学会 (帯広)
11. 後藤哲平，平林真澄，前多敬一郎，東村博子，上野山賀久 (2014.8.21) キスペプチンノックアウトマウス由来の卵子および精子の受精能の検討. 第 107 回日本繁殖生物学会 (帯広)
12. Ikegami K, Minabe S, Idea N, Goto T, Abe H, Sanbo M, Hirabayashi M, Maeda K, Tsukamura H, Uenoyama Y (2014.9.3) Neurokinin B activates synchronized intracellular Ca^{2+} oscillations in KNDy neurons obtained from the hypothalamic arcuate nucleus of Kiss1-GFP transgenic mice. The 3rd Meeting of World Congress on Reproductive Biology (Edingbala, Scotland)
13. Goto T, Tsukamura H, Tomikawa J, Abe H, Fukanuma T, Imamura T, Takase K, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Maeda K, Uenoyama Y (2014.9.3) Hypothalamic arcuate nuleus-specific enhancer for kisspeptin expression of female mice. The 3rd Meeting of World Congress on Reproductive Biology (Edingbala, Scotland)
14. Nakamura S, Uenoyama Y, Ikegami K, Tamura C, Sambo M, Hirabayashi M, Tsukamura H, Maeda K (2014.9.3) The role of kisspeptin for defeminization/masculinization of sexual behaviors in rats. The 3rd Meeting of World Congress on Reproductive Biology (Edingbala, Scotland)
15. Uenoyama Y, Nakamura S, Hayakawa Y, Ikegami K, Deura C, Minabe S, Tomikawa J, Goto T, Ieda N, Sanbo M, Tamura C, Hirabayashi M, Maeda K, Tsukamura H (2014.9.4) Lack of gonadotropin release in Kiss1 knockout male rats. The 3rd Meeting of World Congress on Reproductive Biology (Edingbala, Scotland)

《行動様式解析室》

1. 高雄啓三，宮川剛 (2014.9.11) 炎症性疾患におけるヒトとモデルマウスの遺伝子発現パターンの共通性. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
2. 服部聡子，高雄啓三，山崎真弥，遠山桂子，梅森十三，崎村建司，宮川剛 (2014.9.12) Schnurri-2 コンディショナルノックアウトマウスを用いた網羅的行動解析. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
3. 萩原英雄, 大平耕司, 高雄啓三, 宮川剛 (2014.9.12) 統合失調症における前頭皮質の擬似未成熟化. 第 37 回日本神経科学大会 (横浜)
4. 小清水久嗣，萩原英雄，高雄啓三，宮川剛 (2014.9.12) 非成熟歯状回」を示すマウスおよびグルココルチコイドレセプター過剰発現マウスの歯状回における対照的な成熟関連遺伝子群の発現パターン. 第37回日本神経科学大会 (横浜)
5. 田中輝幸，渡邉紀，萩原舞，村上拓冬，小林静香，真鍋俊也，高雄啓三，宮川剛，深谷昌弘，阪上洋行，水口雅，奥田耕助 (2014.9.13) 神経発達障害原因遺伝子 CDKL5 の機能解析. 第37回日本神経科学大会 (横浜)

6. Takao K, Shoji H, Hattori S, Miyakawa T (2014.9.25) The Mouse Phenotype Database. Advances in Neuroinformatics 2014 (和光)
7. Yamaguchi Y, Satoh S, Iijima T, Kanazaki R, Furuichi T, Shinoda Y, Kakei S, Masaki S, Wagatsuma H, Miyakawa T, Takao K, Ikeno H, Tanaka K, Okamura-Oho Y, Okumura Y, Kamakura S, Isono Y, Morii Y, Suenaga S, Usui S (2014.11.15) Tutorial contents on the INCF Japan Node platforms. 44th Annual meeting of Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
8. Koshimizu H, Hagihara H, Takao K, Miyakawa T (2014.11.15) Contrasting expression patterns for immaturity and maturity marker genes in the dentate gyrus between mouse lines with 'immature dentate gyrus' and mice overexpressing glucocorticoid receptor. 44th Annual meeting of Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
9. Kaneko N, Zhengi L-S, Hitoshi S, Takao K, Miyakawa T, Tanaka Y, Kalinke U, Kudo K, Kanba S, Ikenaka K, Sawamoto K (2014.11.17) Interferon-α inhibits neurogenesis and induces depression-like behavioral phenotype via interferon receptors expressed in the mouse brain. 44th Annual meeting of Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
10. Tanaka T, Watanabe A, Hagihara M, Murakami T, Mizuguchi M, Takao K, Miyakawa T, Kobayashi S, Manabe T, Fukaya M, Sakagami H, Okuda K (2014.11.18) Funcitonal analyses of the CDKL5, a causative gene for neurodevelopemental disorders. 44th Annual meeting of Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
11. Hagihara H, Ohira K, Takao K, Miyakawa T (2014.11.19) Transcriptomic evidence for immaturity of the prefrontal cortex in patients with schizophrenia. 44th Annual meeting of Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
12. Takao K, Hattori S, Shoji H, Miyakawa T (2014.11.19) Cohort removal induces hyperthermia, increased pain sensitivity, and decreased anxiety-like behavior. 44th Annual meeting of Society for Neuroscience (Washington DC, USA)

《形態情報解析室》

1. 村田和義（2014.1.19）電子顕微鏡による分子から細胞までの構造解析．フーリエ変換によるイメージングとその周辺領域（東京）
2. Miho Nishimura, Daisuke Nanba, Takashi Takaki, Kazuyoshi Murata, Hirotaka Sakamoto, Yasusi Yamamoto（2014.3.18）Action of FtsH proteases and structure of spinach thylakoids under light stress．第 55 回日本植物生理学会年会（富山）
3. 村田和義（2014.3.5）生理学研究所形態情報解析室．全国大学等バイオイメージング連携体制の今後のあり方を考える会（岡崎）
4. 村田和義（2014.3.7）電子直接検出（CMOS）カメラのバイオ TEM への応用．ナノテク産業化基盤技術の有効利用および高度化と融合を目指した研究会 2014（福岡）
5. 難波大介，西村美保，坂本浩隆，村田和義，高木孝士，山本泰（2014.3.18）光化学系 II の quality control : 光ストレス下でのホウレンソウ葉緑体のグラナ膜構造の変化．第 55 回日本植物生理学会年会（富山）
6. 高浪景子，坂本浩隆，松田賢一，佐藤慧太，越智拓海，坂本竜哉，谷田任司，山田俊児，井上海平，宮崎直幸，村田和義，河田光博（2014.3.22）感覚ニューロンにおける神経内分泌機構への形態科学アプローチ．日本行動神経内分泌研究会第 4 回関西支部勉強会（京都）
7. 村田和義（2014.3.24）電子顕微鏡による分子から細胞までの構造解析．SBRC セミナー　高エネルギー加速器研究機構（筑波）
8. 宮﨑 直幸，村田 和義（2014.5.11）SBF-SEM を用いた分裂酵母核構造の形状変化の効率的な定量解析法．日本顕微鏡学会第 70 回記念学術講演会（幕張）
9. 大嶋篤典，松澤朋寛，村田和義，西川幸希，藤吉好則（2014.5.11）電子顕微鏡によるイネキシンギャップ結合チャネルの構造研究．日本顕微鏡学会第 70 回

記念学術講演会（幕張）

10. Bulbul Nayeema，村田和義，米谷裕太，金子康子（2014.5.11）ダイズ根粒感染細胞膜構造のクライオ電子顕微鏡観察. 日本顕微鏡学会第 70 回記念学術講演会（幕張）
11. 山口正視，山本悠太，樋口公孝，荒井重勇，森裕子，古河弘光，村田和義（2014.5.11）深海微生物の超高圧電子顕微鏡観察による生物の初期進化の解明．日本顕微鏡学会第 70 回記念学術講演会（幕張）
12. 坂口美亜子，宮崎直幸，藤岡壽，金子修，村田和義（2014.5.11）SBF-SEM によるマラリア感染赤血球の三次元観察. 日本顕微鏡学会第 70 回記念学術講演会（幕張）
13. 永谷幸則, 村田和義, 木森義隆, 永山國昭（2014.5.12）ゼルニケ位相差電子顕微鏡法における超低周波数成分の回復．日本顕微鏡学会第 70 回記念学術講演会（幕張）
14. 村田和義（2014.8.30）電子顕微鏡による分子から細胞までの構造生物学．日本顕微鏡学会関西支部特別講演会（姫路）
15. 宮崎直幸，内山淳平，松崎茂展，村田和義 (2014.9.4) クライオ電子顕微鏡による黄色ブドウ球菌 S6 ファージの構造解析. 第 5 回ファージ研究会（三重）
16. 村田 和義，Qinfen Zhang，Xiangan Liu，Michael Schmid，Wah Chiu (2014.9.4) 電子線クライオトモグラフィーによる T7 ファージ P-SSP7 のシアノバクテリアへの感染・増殖過程の構造解析. 第 5 回ファージ研究会（三重）
17. Kazuyoshi Murata, Masatoshi Esaki, Teru Ogura, Shigeo Arai, Yuta Yamamoto, Nobuo Tanaka（2014.9.8）Whole-Cell Imaging of the Budding Yeast Saccharomyces cerevisiae by High-Voltage Scanning Transmission Electron Tomography．18th International Microscopy Congress（Czech）
18. Sakaguchi M., Miyazaki N., Fujioka H., Kaneko O., Murata K（2014.9.10）3D structural analysis of malaria parasite-infected red blood cells by SBF-SEM．18th International Microscopy Congress（Czech）
19. Yamaguchi M., Worman C. O., Mori Y., Furukawa H., Yamamoto Y., Higuchi K., Arai S., Murata K., Kawamoto S.（2014.9.10）A Deep-Sea Microorganism and the Origin of the Eukaryotic Cell．18th International Microscopy Congress（Czech）
20. 宮崎直幸, 村田和義（2014.9.12）連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）．日本植物学会第 78 回大会（東京）
21. Atsunori Oshima, Tomohiro Matsuzawa, Kazuyoshi Murata, Kouki Nishikawa, Yoshinori (2014.9.26) Electron microscopy of C. elegans innexin-6 gap junction channels indicates a characteristic subunit organization. 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌）
22. Naoyuki Miyazaki, David Taylor, Grant Houseman, Kousuke Murakami, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata (2014.9.26) Sapovirus capsid structure at 8 Å resolution by single particle cryo-electron microscopy, and homology modeling. 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌）
23. Kazuyoshi Murata, Ryusuke Ueno, Naoki Yamamoto, Hideji Murakoshi, Kuniaki Nagayama, Hiroki Minoda (2014.9.26) Cathodeluminescence of Green Fluorescent Protein in Cell. 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌）
24. Naoyuki Miyazaki1,2, Akifumi Higashiura, Tomoko Higashiura, Fusamichi Akita, Hiroyuki Hibino, Toshihiro Omura, Atsushi Nakagawa, Kenji Iwasaki (2014.9.26) Detailed cell entry mechanism of Rice dwarf virus (RDV). 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌）
25. 宮崎直幸，内山淳平，松崎茂展，村田和義 (2014.9.4) クライオ電子顕微鏡による黄色ブドウ球菌 S6 ファージの構造解析. 第 5 回ファージ研究会（三重）
26. Kazuyoshi Murata (2014.11.5) Cathodeliminescence of green fluorescent protein in cell. 岡崎統合バイオサイエンスセンター リトリート（岡崎）
27. 宮崎直幸，江崎雅俊，小椋光，村田和義 (2014.11.7) Serial Block-Face SEM 構造解析により明らかになった AAA タンパク質 Cdc48p によるミトコンドリアの形態制御機構. IIRS 創立十周年記念学術講演会（東京）
28. Kazuyoshi Murata (2014.11.20) Advanced biological applications for high-voltage electron microscopes. International Symposium on Analytical Science and Technology（Korea）

《多光子顕微鏡室》

1. 村越秀治（2014.9.12）2 光子励起技術による単一スパイン内生化学反応の可視化と操作. Neuro2014（神奈川）
2. 村越秀治（2014.9.25）CaMKII によって活性化された Rho GTPase の協同的作用によるシナプス可塑性誘起. 第 52 回日本生物物理学会（北海道）
3. 柴田明裕, 中畑義久, 鍋倉淳一, 村越秀治（2014.9.27）Imaging intracellular signal transduction using a newly developed "non-fluorescent" fluorescent protein for FLIM-FRET. 第 52 回日本生物物理学会（北海道）
4. 村越秀治（2014.10.16）神経細胞シナプス内生化学反応の可視化と光操作. 第 87 回日本生化学会大会（京都）
5. 村越秀治（2014.11.7）2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡によるシグナル分子活性の定量計測. 第 3 回ニューロフォトニクス研究会（北海道）
6. 柴田明裕, 中畑義久, 鍋倉淳一, 村越秀治（2014.11.22）Imaging intracellular signal transduction using a newly developed "non-fluorescent" fluorescent protein for FLIM-FRET. 第 4 回生理研・名大合同シンポジウム, 名古屋大学医学部付属病院（愛知）
7. 村越秀治（2014.12.13）シナプス内生化学反応の光操作. 細胞のメゾスケール構造機能シンポジウム（京都）
8. 柴田明裕, 中畑義久, 鍋倉淳一, 村越秀治（2014.12.13）Imaging intracellular signal transduction using a newly developed "non-fluorescent" fluorescent protein for FLIM-FRET. 細胞のメゾスケール構造機能シンポジウム（京都）

《ウイルスベクター開発室》

1. Kenta Kobayashi, Shigeki Kato, Kozo Kaibuchi, Kazuto Kobayashi (2014.7.7) Functional analysis of Rho GTPase signaling in specific neuronal pathway using newly developed genetic manipulation technology. 9th FENS Forum of Neuroscience (Milan)
2. 小林憲太 (2014.11.21)　ウイルスベクターを利用した脳機能解析。第 24 回日本臨床精神神経薬理学会・第 44 回日本神経精神薬理学会 合同年会（名古屋）

《生体制御シグナル研究部門》

1. 佐藤幸治，竹内昌治（2014.10.3）匂い受容体再構成系への気相匂い刺激. 日本味と匂学会第 48 回大会（静岡県静岡市）
2. Sato K, Takeuchi S (2014.5.20) Reconstituted insect olfactory receptors for the detection of chemical vapors. International Symposium on 3D Tissue Fabrication (Tokyo, Japan)

《神経分化研究部門》

1. S. Higashijima, "Functional analysis of locomotor circuits in the spinal cord and brainstem in zebrafish" International Society for Neuroethology，札幌，2014 年 7 月 31 日

《動物実験センター》

1. 野口和浩，兼子明久，平井啓久，浦野　徹（2014.5）ニホンザルの膣内常在細菌叢。日本実験動物科学技術さっぽろ 2014（札幌）
2. 木村　透（2014.5）光触媒技術を応用した空気清浄化および光触媒加工による飼養保管施設の環境衛生。日本実験動物科学技術さっぽろ 2014（札幌）
3. 浦野　徹（2014.9）動物愛護管理法改正に関わるこれまでの経緯と今後大学に求められることについて。「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」等に関する第１回説明会。文部科学省主催（東京）
4. 浦野　徹（2014.9）動物愛護管理法改正に関わるこれまでの経緯と今後大学に求められることについて。「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」等に関する第２回説明会。文部科学省主催（名古屋）
5. 浦野　徹（2014.9）動物愛護管理法改正に関わるこれまでの経緯と今後大学に求められることについて。「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」等に関する第３回説明会。文部科学省主催（大阪）
6. 浦野　徹（2014.10）動物の愛護に関わる規制の最新情報と今後の動き。日本実験動物協同組合平成２６年度研修会（東京）
7. 浦野　徹（2014.10）動物愛護管理法等の各種規制に関する最新情報と今後の動き。第３回安全性試験受託研究機関協議会セミナー（東京）
8. 川辺正等美, 中村直子, 浦野　徹, 中潟直己（2014.10）熊本大学生命資源研究・支援センターにおける実験動物の微生物品質受託検査。第３４回日本実験動物技術者協会九州支部研究発表会（宮崎）
9. 中村直子，川辺正等美，福本紀代子，春口幸恵，近藤朋子，竹下由美，中牟田裕子，梅野智子，岩本まり，高橋　郁，古波蔵恵里，土山修治，竹尾　透，浦野　徹，中潟直己（2014.10）熊本大学生命資源研究・支援センターにおける体外受精・胚移植によるマウスの微生物学的クリーニング。第３４回日本実験動物技術者協会九州支部研究発表会（宮崎）
10. 浦野　徹（2014.11）動物愛護管理法改正に関わるこれまでの経緯と今後大学に求められることについて。「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」等に関する第４回説明会。文部科学省主催（東京）
11. Wang C-C, Ito A, Hiroe T, Kubota M, Urano T（2014.12）The conditioning period and blood biochemical parameters of Japanese Macaque (Macaca fuscata) in the center for experimental animals. 13th The Chinese-Taipei Society of Laboratory Animal Sciences (CSLAS) Annual Meeting（Taipei）
12. 浦野　徹（2014.12）我が国の動物実験の現状と今後の方向性。日本大学生物資源科学部動物実験委員会主催平成２６年度動物実験に関する講演会（東京）
13. 浦野　徹（2015.1）医学研究を適正に行う改正動物愛護法等の解釈および微生物モニタリングのあり方。平成２７年度東京女子医科大学動物実験講習会（東京）
14. 浦野　徹（2015.3）環境省および文部科学省による法令，基準，基本指針に基づく動物実験実施体制の進化と今後の課題。熊本保健科学大学特別講演（熊本）

【一般共同研究報告】

一般共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. イオンチャネル・受容体の機能とその調節機構の解析，および生体における役割の解明（岡戸晴生ほか）... 154
2. 腸内の味覚成分を化学受容する仕組みの解明（齊藤　修ほか）... 154
3. 質感認知の神経ネットワーク基盤の研究（一戸紀孝ほか）... 155
4. 大脳皮質視覚野における経験依存的発達メカニズム（小松由紀夫ほか）... 156
5. ジストニア様症状を示す遺伝子改変マウスの病態解析（竹林浩秀ほか）... 156
6. 電気刺激法を用いた運動野ネットワークの解析（星　英司ほか）... 157
7. 睡眠・覚醒状態に依存した海馬から帯状皮質への活動伝播の解析（高田則雄ほか）... 157
8. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核ニューロン応答（佐藤澄人ほか）... 158
9. 遺伝子改変動物を利用した抑制性ニューロンおよび抑制性神経伝達についての研究（柳川右千夫）... 158
10. 前頭皮質第 6 層細胞の局所回路と皮質出力の形成への関与を解明する（苅部冬紀ほか）... 159
11. 温熱的快適感の脳内形成機序の探索（永島　計ほか）... 159
12. 脳損傷後の麻痺肢集中使用による中枢神経系再編への影響の解析（飛田秀樹ほか）... 160
13. 大脳皮質第一次視覚野上の同側眼優位カラムに特異的に発現しているシャペロンの発現パターンと機能の解析（冨田江一ほか）... 161
14. アストロサイト集合体の密度変化に伴うシナプス形成とシグナル動態の相関解析（桂林秀太郎ほか）... 162
15. オキシトシンによる弓状核摂食調節ニューロンの活動制御とシグナル伝達機構（矢田俊彦ほか）... 162
16. 真核生物における RNA 分解制御機構の解明（細田　直）... 163
17. PKD2L1 カチオンチャネルの生理機能解析（清水貴浩ほか）... 163
18. 内臓機械痛覚過敏における TRP チャネルの機能解析と機能性胃腸疾患病態との関連（杉山敏郎ほか）... 164
19. 霊長類味覚に対する TRP チャネルの役割（鈴木南美ほか）... 164
20. 中枢神経における TRPV チャンネルの局在と機能解析（宮田清司ほか）... 165
21. 動物種間差を利用した哺乳類 TRPA1 チャネル阻害薬の作用点の解明（太田利男ほか）... 166
22. 体性感覚系における酸受容の分子機構の解明（樽野陽幸ほか）... 166
23. ジストニア・偏頭痛病態モデルとしてのナトリウムポンプ *Atp1a3*，*Atp1a2* 遺伝子ノックアウトマウスのシナプス機能解析（池田啓子ほか）... 167
24. 難治性慢性疼痛の神経科学的メカニズムの解明（津田　誠ほか）... 167
25. 両手同時運動，ミラーセラピーと機能的電気刺激を組み合わせた重度片麻痺患者の麻痺肢に対する新たな治療法の開発（吉田　晋ほか）... 168
26. 人工神経代替装置によるニューロリハビリテーション法の開発（小宮山伴与志ほか）... 169
27. 実細胞空間の構造取得に基づく時空間シミュレーション（市川一寿ほか）... 169
28. Cryo-TEM による抗酸菌の基礎的形態サイズデータの取得（山田博之）... 170
29. 情報欠落のない新たな生物試料電子線トモグラフィー法の開発と応用（馬場則男ほか）... 170
30. 老化に伴う神経原線維変化形成機序に関する蛋白化学的研究（吉田裕孝）... 171
31. 睡眠中の律動的神経活動の研究（美馬達哉ほか）... 172
32. ゼブラフィッシュを用いた脳脊髄神経細胞の発生・機能回路構築の生理学的・分子生物学的研究（小田洋一ほか）172
33. ゼブラフィッシュを用いたセロトニン神経回路の生理学的・分子生物学的研究（前川真吾ほか）... 173
34. 唾液腺水輸送関連タンパク質の翻訳後修飾による機能制御（杉谷博士ほか）... 173
35. TRPV4 活性化に伴う海馬からの ATP 放出機構とその生理学的意義の解明（柴崎貢志ほか）... 174
36. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用（等　誠司ほか）... 175
37. 中枢神経系におけるグリア細胞の発生過程と機能構築形成への関与の解析（小野勝彦ほか）... 175
38. 慢性心血管病治療を指向した革新的創薬基盤技術の構築（浜瀬健司ほか）... 176

1．イオンチャネル・受容体の機能とその調節機構の解析，および生体における役割の解明

岡戸晴生，平井－坂本志伸（東京都医学総合研究所神経細胞分化プロジェクト）
岡村康司，藤原祐一郎（大阪大学大学院医学系研究科／生命機能研究科）
加藤総夫，高橋由香里，永瀬将志（東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター）

岡戸グループは，ホヤ幼生から単離した AMPA 型グルタミン酸受容体 cGluA とラット GluA2 の性質を比較した。その結果，ホヤの ciGluA では野生型（Q）と人工変異体（R）のヘテロではイオン透過性が減少するが，ラットの場合，ヘテロでも減少しないことが明らかとなった。

岡村グループは，電位依存性プロトンチャネル（Hv1/VSOP）の動物種間の活性化速度の大きな違いに着目して解析を行った。昨年までウニ由来チャネル（Sp-Hv1）とマウス由来チャネル（mHv1）のキメラ分子などの解析から N 末端側と膜貫通領域 S3 の細胞側半分の領域 S3a のヒスチジン H164 が活性化速度の違いに重要であることが判明していた。今回バックグランドを mHv1 にして N 末端側と S3a 領域について二重変異と，それぞれの単独変異を導入した分子の 3 種類を HEK293T 細胞に発現させ，それらの活性化速度を電流ピーク値の半値に到る潜時（t1/2）の計測により比較した。S3a のヒスチジン変異，N 末端側キメラにしたものは，いずれも正常の mHv1 の約 10 倍の活性化速度の促進を示した。一方，二重変異のものは，単独変異のものに比較して 2 倍程度の活性化速度の促進に留まった。このことは S3a と N 末端側がなんらかの仕組みで相互作用することを示唆した。

加藤グループはイオンチャネル・受容体の生体における役割の解明に取り組むべく，新規イメージング・システムを用いたシナプス周囲チャネル間連携を解析する実験系を構築し，記録を開始した。扁桃体中心核ニューロンの樹状突起には spine が多く存在し，興奮性シナプスが形成されているが，樹状突起の幹部にも興奮性シナプスが形成され，それぞれ，異なる起源の興奮性ニューロンからの入力を受ける。そこで，単一扁桃体中心核ニューロンにカルシウム指示薬を導入し，高速共焦点イメージング（30-50 frame/s）下に，入力線維を刺激し分けることによって，spine 上の NMDA 受容体チャネル，および，樹状突起幹部上のそれらからの Ca^{2+}流入の空間的広がりとダイナミクスを比較することを試みている。特に，spine と樹状突起幹部では周囲のアストロサイトの形態や位置が大きく異なることから，昨年度までに明らかにした，アストロサイトからのモノカルボン酸トランスポーターを介したエネルギー供給への依存度の差異を解析することを目指して実験を進めている。異なるシナプス周囲部位に局在する受容体チャネルの意義の解明につながるものと期待される。

2．腸内の味覚成分を化学受容する仕組みの解明

齊藤　修，黒木麻湖，織田麻衣（長浜バイオ大学バイオサイエンス学部）
久保義弘（生理学研究所）

我々は，小腸細胞株 STC-１が渋み成分の茶カテキン（EGCG）に応答することを見出したことを発端に，STC-１細胞の EGCG 応答を担うのは TRPA1 チャネルであることを見出した。また TRPA1 を活性化する EGCG 成分を詳しく検討することにより，EGCG ではなく EGCG 酸化産物，特に EGCG 二量体のテアシネンシン(TS)がチャネルを活性化する実体の一つであることを明らかにした。さらに TRPA1 と同様に感覚神経に発現する TRPV1 も酸化 EGCG，TS への高い応答能を示した。各動物種間で比較解析すると，TRPA1 は哺乳類のみが，TRPV1 は鳥類以上が酸化 EGCG への応答性を示した。そして，キメラチャネルを作成して検討した結果，TRP チャネルの 6 回膜貫通部に酸化 EGCG 応答性に重要な部位が存在することが示唆された。今年度は更に以下の研究を進めた。

マウスと鳥類の TRPA1 の TS 応答性に注目して，TS 応答性のないニワトリ TRPA1 の膜貫通部前半（第 1～３膜貫通部）のみマウス TRPA1 と交換したキメラと同様に膜貫通部後半（第４～６膜貫通部）のみマウス TRPA1 と交換したキメラを作出した。どちらのキメラ TRPA1 も各 TRPA1 の共通アゴニストである AITC には応答性を持つことが Ca^{2+}イメージング法で確認されたので，今後詳しく TS 応答性を解析していく。

次に，渋味を呈することが知られているもう一つの物質，タンニン酸が TRPA1 にどのように作用するか，カエル卵母細胞を用いた二本刺し膜電位固定法で解析した。その結果，タンニン酸単独ではマウス TRPA1 の活性化は検出されないが，TRPA1 アゴニストと同時に添加すると，TRPA1 活性はタンニン酸により用量依存的に抑制されることが明らかになった。一方，魚類のトラフグの TRPA1 を同様に解析すると，フグ TRPA1 はタンニン酸単独で活性化される応答性を持ち，マウスと大きく違う特徴を持っていることが判明した。今後，他の動物種の TRPA1 のタンニン酸応答を解析すると同時に，TRPV1 に対する作用，更にはそれらの作用機序にもアプローチする。

3. 質感認知の神経ネットワーク基盤の研究

一戸紀孝，宮川尚久（国立研究開発開発法人国立精神・神経医療研究センター）
小松英彦，西尾亜希子，郷田直一 （自然科学研究機構　生理学研究所）

小松研において上側頭溝底部に，多様な質感の中から特に光沢に反応する細胞の集積する部位を覚醒マカクザルにおいて見出した。小松，西尾（小松研），一戸（一戸研）は，それぞれの技術・知識を合わせて，この注入の困難な部位に，逆行性トレーサーCTB-Alexa 488 を注入することを昨年度の当共同研究により成功した。本年度は，このトレーサーの西尾（小松研）によるマッピングと，MRI 等のイメージング化技術に優れた郷田（小松研）により，光沢感受性の高い領野への入力を種々の方法によって可視化した。この解析で，かつて小松研が報告したグラデーションに反応する TEO の領域から特に強い投射があることが見出され，グラデーションの光沢への寄与という仮説を作り，さらなる研究を進めている。また，一戸研では，マーモセットを用いて，多種類な質感（ガラス，石，木など）で，３種類の形態を作成し，やはり上側頭溝周囲から，光沢の質感をもつガラス，メタルに強く反応する領域を見出した。現在，一戸研では生体内で CTB-Alexa 555 を用いてこの領野への投射を生体内で可視化し，MTc から光沢感に重要とされる Skewness などの低次統計量がもたらされているらしいことを見出している。この低次統計量を画像のシャッフルによって保存しつつ光沢感を低下させて，MTc と上側頭溝周囲の神経活動を調べると，上側頭溝の活動が MTc よりも低下することが示され，上側頭溝の方がより光沢感と関連して反応する可能性を示した。

これらの研究に加えて，小松研では光沢感の心理物理の値とパラレルになる式を用いた手法を用いて，上側頭溝の細胞群に，この式のパラメーターと同様に変動する細胞の存在を見出した。一戸研もマーモセットの光沢感への神経細胞の反応が，マカクと同様な傾向をもっているか検討をするべく，小松研より視覚刺激の提供を受けて実験を開始している。

4. 大脳皮質視覚野における経験依存的発達メカニズム

小松由紀夫（名古屋大学・環境医学研究所）
杉村岳俊（名古屋大学・環境医学研究所）
吉村由美子

生後発達の一時期（感受性期）の片眼遮蔽により誘導される眼優位可塑性は大脳皮質の経験依存的発達の研究の良いモデルである。感受性期のラットやマウスを 6 日間片眼遮蔽した後，一次視覚野より視覚誘発電位を記録すると，非遮蔽眼刺激に対する反応の振幅は増大し，遮蔽眼刺激に対する反応の振幅は減弱している。これまでに我々は，T 型 Ca^{2+}チャネル依存性のシナプス伝達の長期増強が，非遮蔽眼刺激に対する視覚反応の増大を担うことを報告してきた。一方，米国の研究室から，この増大はヘブ型シナプス可塑性ではなく，恒常性維持のために起こるシナプス・スケーリングによるものであり，tumor necrosis factor-α (TNFα)が関与することが報告されている。本研究では，感受性期のラットやマウスの視覚野から作成したスライス標本を使用し, TNFα が T 型 Ca^{2+}チャネル依存性長期増強の発生に必要か検討した。薬理学的に TNFα を阻害すると, この長期増強は阻害された。また，膜結合型 TNFα を可溶性 TNFα に変換する TNFα-converting enzyme (TACE) を薬理学的に阻害すると長期増強は発生しなくなったので，遊離した TNFα が長期増強発生に必要と考えられる。さらに，長期増強は TNFα-KO マウスの視覚野では発生せず，TNFα を添加するとレスキューされた。TNFα-KO マウスにおいて，条件刺激前後の様々なタイミングで TNFα を添加する実験を行った結果，TNFα は条件刺激を与えた直後に必要であることが明らかになった。これらの結果は, T 型 Ca^{2+}チャネル依存性長期増強の誘発には TNFα が必要であり，この長期増強が片眼遮蔽に伴う非遮蔽眼の視覚反応増大の基礎過程であるという仮説を支持する。

5. ジストニア様症状を示す遺伝子改変マウスの病態解析

竹林浩秀，堀江正男，渡辺啓介，ホサイン イブラヒム（新潟大学大学院医歯学総合研究科）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

不随意運動を生じる神経難病であるジストニアの病態は，未だ不明の点が多い。自然発生ミュータントマウスの *dystonia musculorum* (*dt*)マウスは, 細胞骨格制御因子である *dystonin* (*Dst*)遺伝子の異常により，感覚神経の変性および，ジストニアや小脳失調などの運動症状が起こることが知られている。我々は，*Dst* 遺伝子の N 末端側にあるアクチン結合ドメインをもつアイソフォームをトラップする新規遺伝子トラップ（Dst^{Gt}）マウスを作製し，このホモ接合型マウスは生後２週間ほどでジストニア様症状を示す事を確認した。筋電図を調べると，主動筋と拮抗筋の同時収縮も観察された。組織学的な解析により，後根神経節の変性，および，感覚神経におけるニューロフィラメントの異常な蓄積，ミエリン塩基性タンパクの異常な染色像など，自然発生ミュータントの *dt* マウスで報告されているものと同様の組織異常が観察された（Horie *et al.*, Eur J Neurosci 2014）。

我々の作製した新規 *dystonin* 遺伝子変異マウスはコンディショナル・ノックアウト実験およびコンディショナル・レスキュー実験のできる多目的アリールである。さらに，新たに *Dst* 遺伝子に異常のある自然発生ミュータント見いだすことができた。今後は，これらのマウスを用いて，生理学的・組織学的な解析を進め，感覚神経の異常から運動症状発症までの間に起こる現象を明らかにして，*dt* マウスにおけるジストニアの発症機序や責任神経回路を明らかにしていく計画である。

6. 電気刺激法を用いた運動野ネットワークの解析

星　英司（公益財団法人　東京都医学総合研究所）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

前頭葉には複数の運動関連領野があり，課題遂行中の動物の前頭葉から記録された細胞活動を解析することによって，運動の準備や実行における各運動関連領野の機能的役割が解明されつつある。さらに，解剖学的研究により，前頭葉と小脳を初めとする皮質下部位との連絡様式が明らかになってきており，こうした連絡が前頭葉の機能遂行にあたり重要であると示唆される。そこで，その実態を明らかとすることを目指して本研究は実施された。

まず，電気生理学的に小脳核を同定し，刺激電極を留置した。続いて，一次運動野に多点電極アレイを刺入し，局所場電位とスパイク活動の多点同時記録をおこなったところ，以下の知見が得られた。

１）局所場電位については，小脳核の刺激に応じて陰性応答と陽性応答が記録された。

２）スパイク活動については，興奮性応答と抑制性応答が記録された。

３）小脳核の刺激に応答するスパイク活動が記録される部位では，局所場電位の興奮性応答がより頻繁に記録された。

１）の結果は先行研究の報告をサポートするものであり，３）の結果は応答する細胞が皮質の中間層～深層にあることを示す。また，小脳核－視床－大脳皮質系は興奮性伝達物質を利用しているので，２）の抑制性応答が記録されたのは予想外の結果であった。今後，詳細な解析を進めることにより，小脳と大脳皮質，ならびに，他の皮質下部位と大脳皮質の機能連関の実態を明らかとしていきたい。

7. 睡眠・覚醒状態に依存した海馬から帯状皮質への活動伝播の解析

高田則雄（慶應義塾大学医学部）
佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）

海馬は空間記憶や報酬，不安など多くの情報処理に関わる。最近，異なる行動課題を遂行中のラットの海馬は，行動課題ごとに発火活動を異なる脳領域へ伝達することが示された（Science 348:560-3, 2015）。つまり処理する情報の内容ごとに，異なる脳領域へ海馬はその活動を伝達する。海馬は，睡眠と覚醒の各状態で異なる電気的活動を示すため（リップル活動やθ活動など），それらの状態において異なる情報処理に関与している可能性がある。そのため海馬活動の伝搬先脳領域も，睡眠・覚醒状態に応じて異なるかもしれないと着想した。

そこで海馬神経細胞を人為的に活性化させて，その活動がどの脳領域でどのような応答を誘導するのかを，マウスの睡眠状態と覚醒状態とで比較することを目指した。海馬の活性化には光感受性蛋白質（チャネルロドプシン）を海馬神経細胞に発現させた遺伝子改変マウス（Htr5B-tTA::tetO-ChR2）を用いた。計測には頭蓋固定下のマウスから多点電極（シリコンプローブ）を行った。海馬は50以上の脳領域へ出力線維を投射するため（J Comp Neurol 497:101-14, 2006），電気生理計測を行う脳領域の選定が重要である。我々は上記遺伝子改変マウスを用いて，海馬を光活性化した時に応答する脳領域群がどこかを fMRI 計測によって捉えた（PLoS ONE 10:e0121417, 2015）。その結果，海馬の活性化に対して50の脳領域が一様に応答するのではなく，帯状皮質など少数の脳領域だけが顕著に応答することを見つけた。そこで記録用のシリコンプローブ電極は帯状皮質と海馬を含むように刺入した。この結果，麻酔下マウスを用いた fMRI 計測で採用していた光刺激強度は，覚醒マウスに対しては強すぎて癲癇様の同期活動を誘導してしまうことを見つけた。そこで現在は，より弱い光照射強度を用いた海馬活性化に取り組んでいる。さらに，計測脳波と筋電とを活用し，マウスの睡眠・覚醒状態を自動的に判定する計測プログ

ラムを構築中である。今後は以上の計測系を用いて，海馬活性化に対する帯状皮質応答の違いを睡眠と覚醒とで検証する。

8. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核ニューロン応答

佐藤澄人（北里大学医学部　脳神経外科）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

大脳皮質－大脳基底核－視床－大脳皮質回路のうち，運動系ループはパーキンソン病やジストニアなどの運動症状，辺縁系ループは強迫性障害などの精神症状に関与していることが示唆されている。実際，視床下核の脳部刺激療法（DBS）がパーキンソン病患者の精神症状に影響を与えたり，強迫性障害に対し有効であったとする報告が散見される。本研究は，辺縁系ループに関わる視床下核ニューロンの神経生理学的特徴を明らかにし，精神疾患の治療に役立てることを目的とした。

ニホンザルを用いて覚醒下に視床下核ニューロンの細胞外ユニット記録を行い，①一次運動野，②補足運動野，③前辺縁皮質の電気刺激に対する応答，自発発射，および視床下核内の分布について検討した。

計 190 個の視床下核ニューロンを記録した。一次運動野，補足運動野，前辺縁皮質の刺激に応答するニューロンはそれぞれ，47 個，36 個，50 個で，うち 17 個は一次運動野と補足運動野の両者に応答した。前辺縁皮質と運動系皮質との収束性入力はみられなかった。残りの 77 個のニューロンはいずれの皮質刺激にも応答しなかった。各皮質刺激に対する応答は，いずれも早期興奮・後期興奮の二相性パターンを示し，潜時および持続時間は，一次運動野，補足運動野，前辺縁皮質の刺激の順に長くなる傾向（潜時は有意差あり）がみられた。各皮質刺激に応答する 3 群といずれにも応答しない群と合わせた 4 群間において，自発発射の平均発射頻度，変動係数，burst index に有意差は認めなかった。視床下核内における各皮質刺激に応答するニューロンの分布は，一次運動野が外側部，前辺縁皮質が最内側部，補足運動野がその中間部にそれぞれ存在していた。

本研究の結果，視床下核における辺縁系ループに関与するニューロンは最内側に位置し，大脳皮質刺激に対し運動系ループと同様に二相性反応パターンを示すことが明らかとなった。このことは，視床下核の最内側の DBS が精神疾患に対して何らかの効果を与える可能性を示唆する。一方，自発発射のパターンにおいて，辺縁系ループのニューロンと運動系ループのニューロンとの区別は困難であることが分かった。

9. 遺伝子改変動物を利用した抑制性ニューロンおよび抑制性神経伝達についての研究

柳川右千夫（群馬大学大学院医学系研究科）

脳は興奮性ニューロンと抑制性ニューロンから構成される神経ネットワークの集まりからできている。GABA 作動性ニューロンとグリシン作動性ニューロンが抑制性ニューロンの代表である。GABA 作動性ニューロンは中枢神経系全体に，グリシン作動性ニューロンは脳幹，小脳と脊髄に分布する。しかし，GABA 作動性ニューロンとグリシン作動性ニューロン両者とも比較的少数で散在しているので，生のスライス標本で同定するのは困難である。一方，グリシントランスポーター2（GlyT2）はグリシン作動性ニューロン特異的に発現する。我々は，グリシン作動性ニューロン特異的に蛍光タンパク質やチャネルロドプシンなどの機能プローブを発現させるためのツールとして，GlyT2 遺伝子に Cre レコンビナーゼ（Cre）遺伝子をノックインした GlyT2-Cre (Δneo)マウスを作製した。次に，Cre の発現する細胞を明らかにする目的で，GlyT2-Cre (Δneo)マウスとレポーターマウス（R26R マウ

ス）とを交配して得られたダブルトランスジェニックマウスの脳切片と脊髄切片を X-gal 染色法で検討した。その結果，主に脳幹，小脳，脊髄に lacZ の発現が観察された。これらの研究結果を基にして，レポーター遺伝子の発現がグリシン作動性ニューロン特異的かどうかを検討する目的で，ダブルトランスジェニックマウスを用いてβ―ガラクトシダーゼの免疫染色法と GlyT2 mRNA に対する in situ hybridization 法とを組み合わせた二重染色法による組織学的解析を行った。その際に，小脳皮質ゴルジ細胞，脳幹の蝸牛神経背側核，巨細胞性網様核，三叉神経脊髄路核，台形体核，外側毛帯腹側核について解析した。その結果，GlyT2 mRNA 陽性細胞のほとんどすべてがβ―ガラクトシダーゼ陽性であった。また，β―ガラクトシダーゼ陽性細胞の 90%以上が GlyT2 mRNA 陽性であった。以上の結果は，GlyT2-Cre (Δneo)マウスにおける Cre レコンビナーゼ活性がグリシン作動性ニューロンに高率に限局することを示し，GlyT2-Cre (Δneo)マウスはグリシン作動性ニューロン選択的遺伝子発現が可能なツールあることを示唆する。従って，GlyT2-Cre (Δneo)マウスは，グリシン作動性ニューロンの性質やグリシン神経伝達の研究に有用なツールとして役立つことが期待される。

10. 前頭皮質第 6 層細胞の局所回路と皮質出力の形成への関与を解明する

苅部冬紀（同志社大学　高等研究教育機構）
藤山文乃（同志社大学大学院　脳科学研究科）

大脳皮質運動野の皮質下出力系として，第５層とともに重要な第 6 層の神経回路の解析を行っている。本年度は，これまでに明らかにした 6 層神経細胞の細胞タイプと既知の 5 層細胞タイプを利用して，それらの層内・層間結合様式について以下のような実験を行った。

1）6 層視床投射細胞と対側皮質投射細胞のペア記録によってシナプス結合が観察された神経細胞の形態（軸索・樹状突起・細胞体）を 3 次元再構築した。これにより，シナプス結合と考えられる部位が樹状突起上のどこに存在するかを明らかにした。

2）電気生理学実験の結果，6 層視床投射細胞のシナプス結合に強い選択性があると考えられた。この結果をより詳細に確認するため，電子顕微鏡によるシナプスの観察をおこなった。

3）前年に同定した 5 - 6 層細胞間での興奮性結合について実験を進めた。グルタミン酸による単一細胞刺激法により，細胞タイプ特異的な層間結合があることを確認した。

これらの結果から，運動野 6 層内で視床投射細胞と対側皮質投射細胞がかなり分離した回路網を作る可能性を想定している。この局所回路構造は，第 6 層が対側皮質や視床それぞれに，同一層からの運動関連出力でありながら，独立した影響を与える可能性を示唆する。

11. 温熱的快適感の脳内形成機序の探索

永島　計（早稲田大学，人間科学学術院）
相澤優香（早稲田大学，人間科研究科）
中田大貴（奈良女子大学，生活環境科学部）
原田宗子，定藤規弘（生理学研究所，心理生理学研究部門）

温度に関わる感覚の客観評価，脳の責任領域の同定のために，機能的核磁気共鳴画像法（functional Magnetic Resonance Imaging; fMRI）が用いられている。先行研究では温度感覚と温熱的・快不快感が異なる責任領域にある可能性を示している。しかし，通常，温度刺激は温度感覚，および温熱的快・不快感を同時に変化させ，先行

研究は両者を分離して実験が行われていない。本研究では，２つのを分離させる刺激プロトコールを用い，温熱的快適性に関わる脳内機序を検証した。

方法

男女 16 名を対象に局所温度刺激（18℃，41.5℃）と皮膚表面温度刺激（17℃，32℃，47℃）を組み合わせた実験を行った。ペルチエ素子により前腕局所温度刺激，水還流スーツを用いて皮膚表面温度を変化させた。その間に脳の BOLD 信号を測定した。また Visual analogue scale (VAS)を用いて温度感覚，温熱的快・不快感評定させた。

結果・考察

局所温刺激は，全身還流温に関わらず熱いと評価された。局所温熱的快・不快感は，還流水が 47℃の際に不快であると評価された。局所冷刺激は，全身還流温に関わらず冷たいと評価された。局所温熱的快・不快感は，還流温が 47℃の際に快，還流温が 18℃の際に不快と評価された。fMRI の解析では，全ての実験条件を通して両側体性感覚野，島皮質，眼窩前頭前野を含む比較的広範囲な脳活動が見られた（図１）。

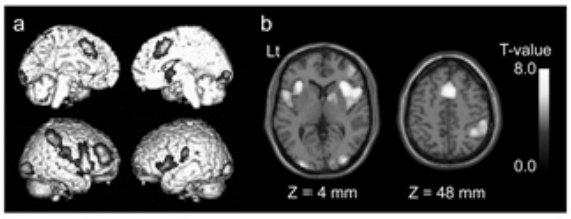


図１.全ての温度条件で共通して活動の見られた領域

しかし，同一全身温度での局所温度条件間の差，同一局所温度での全身温度条件間の差は認められなかった。温度感覚評価時には快・不快感評価時と比較して島皮質を含む領域の活動が見られた（図２A）。快・不快感評価時には温度感覚評価時と比較し，内側前頭前皮質などの活動が見られた（図２B）。

末梢及び全身の温度条件，温度感覚の心理学的評価の違いによらず，局所温度刺激時に共通した脳領域が活動していた。温度感覚，及び温熱的快・不快感が温度条件によらず同じ脳領域で表象されていることを示唆している。これらの感覚は同じ脳領域の異なるニューロン群で表象されており，今回の解析方法では分離出来ない可能性は排除できない。マルチボクセルパターン解析などの手法を用いることで，将来的にこの可能性を探ることが出来るかもしれない。

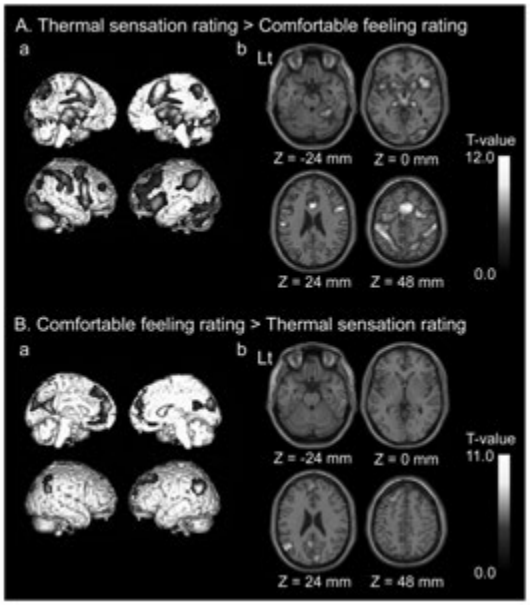


図２．VAS 評価中の BOLD 信号
A：温度感覚評価時＞快適感評価時
B：快適感評価時＞温度感覚評価時

12. 脳損傷後の麻痺肢集中使用による中枢神経系再編への影響の解析

飛田秀樹，石田章真（名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経生理学分野）
梅田達也，伊佐かおる，伊佐　正（生理学研究所認知行動発達部門）

脳血管障害後における集中的な麻痺肢のリハビリテーションは中枢神経系の再編を促進し，運動機能回復を増進する可能性が示唆されている。しかし，その詳細な影響および機能回復効果との因果関係は未だ明らかになっていない。我々はこれまでに，内包出血モデルラットを用いた検討により，麻痺肢集中使用は運動野における前肢領域を拡大し，そこから同側の赤核へと線維連絡があることを示した。加えて，ウイルスベクターの二重感染による選択的経路遮断法 (Kinoshita et al., Nature, 2012) により，該当する皮質-赤核投射を選択的に阻害する事に

より，麻痺肢集中使用により改善した運動機能が再度悪化する事が示された。本年度はこれを受け，蓄積されたデータの解析，論文執筆，そして投稿を行った。

解析として，赤核における BDA 陽性線維の定量化を行った。解析サンプルは，予め出血側運動野に順行性トレーサーの biotin dextran amine (BDA) を注入したものを対象とした。各個体の赤核における BDA 陽性の varicosity を計数した。また，個体ごとのばらつきを標準化するため，赤核より吻側の大脳脚における BDA 陽性線維数を計数した。

また，ウイルスベクターを用いた選択的経路遮断法において，組織学的検討を行い感染の確認を行った。解析個体は，出血同側の赤核にレンチウィルスベクター (NeuRet-TRE-EGFP.eTeNT) を，運動野にアデノ随伴ウイルスベクター (AAV1-CaMKII-rtTAV16) を注入した個体を対象とした。その結果，出血側運動野において GFP 陽性ニューロンを確認した。加えて，赤核において同じく GFP 陽性線維を確認した事から，皮質-赤核投射ニューロンが選択的にウイルスベクターに二重感染した事を示した。

以上の結果から，内包出血後の麻痺肢集中使用により，皮質-赤核間の線維結合が有意に増加していることが示唆された。また，皮質赤核路の経路選択的阻害が成功した事を組織学的に裏付けた。これらの結果を元に論文を執筆し，国際専門誌である Journal of Neuroscience 誌へと投稿を行った。

本研究の成果はリハビリテーションの作用機序の解明において有意義なデータであると考える。

13. 大脳皮質第一次視覚野上の同側眼優位カラムに特異的に発現しているシャペロンの発現パターンと機能の解析

冨田江一（高知大学教育研究部医療学系基礎医学部門解剖学）
鍋倉淳一（生理学研究所発達生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門）

視覚系の発達した哺乳類の大脳皮質第一次視覚野上には，遠近感の認知にとって重要な機能ユニット「眼優位カラム」が存在している。同側・反対側眼からの視覚情報は，同じ大脳半球に伝えられるものの，分かれて第一次視覚野上の機能ユニット「同側・反対側眼優位カラム」にそれぞれ入力する。眼優位カラムは，発生期に制御因子により大まかに同側・反対側眼優位カラムに分けられたのち(初期形成プロセス)，発達期になり視覚刺激に促され完全に分離する(可塑的発達プロセス)という，2 つのプロセスを経て形成される。このうち，後者の可塑的発達プロセスについてはかなり明らかにされているが，前者の初期形成プロセスは新しい概念であり，ほとんど分かっていなかった。

そこで，前者の眼優位カラムの初期形成プロセスを制御するメカニズムの解明を目指した。この目的のため，提案代表者は，神経軸索延長活性を持ち，同側眼優位カラムに特異的に発現しているシャペロン「同側眼優位カラム特異的シャペロン」の単離に成功していた。このシャペロンの発現は，出生直後より同側眼優位カラムに特異的に発現しており，さらに視覚刺激の変化に左右されないことから，同シャペロンが眼優位カラム形成の初期形成プロセスを制御する可能性は高いと考えられる。

本研究では，同シャペロンを分子マーカーや制御因子の候補として用いて，眼優位カラムの初期形成プロセスを制御するメカニズムを解明する。まず，現在まで幼弱な眼優位カラムパターンはどのような過程を経て成熟するのか全く分かっていなかったので，このプロセスを組織学的に明らかにしようと研究を開始した。ただし，発生初期の眼優位カラムパターンは，通常眼優位カラムの検出に使われているイメージング法やトレーサー手技では可視化できないため，発生期における同シャペロンの脳表面に平行な発現パターンを 2 光子励起顕微鏡などの高性能顕微鏡で撮影し，その時期の眼優位カラムパターンとした。現在，この方法を用いて P1・P3・P5・P7・P10・P16・P28 の眼優位カラムパターンを描出し，幼弱な眼優位カラムパターンがどのように変遷を経て成熟するか世界に先駆けて検討している。本研究は，平成 27 年度も生理学研究所の一般共同研究として継続中であり，できるかぎり早く解析を終了させ幼弱な眼優位カラムが発生の進行とともにどのように変遷するのかを明らかにしたい。

14. アストロサイト集合体の密度変化に伴うシナプス形成とシグナル動態の相関解析

桂林秀太郎（福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室）
鍋倉淳一（生理学研究所発達生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門）

脳の神経回路は神経細胞であるニューロンとグリア細胞で主に構成されている。グリア細胞はシナプス形成や知的機能発達の一役を担っているとされており，グリア細胞とナプス, 知的機能の三者間には密接な関係がある。また，高等動物ほど脳内グリア細胞，特にアストロサイトが多く，アストロサイトの脳内占拠率が高次脳機能を獲得する上で鍵を握っている可能性が考えられる。事実，アストロサイトが欠除すると，神経回路の架け橋である『シナプス』の数は激減する。このことからも，アストロサイトが必要十分な集合体を構築して機能することが，高次脳機能を発揮するために重要と言える。

本一般共同研究では，アストロサイトの数（ *n* ）の変化と機能的シナプス形成の相関関係に着目して実験を行った。実験標本は，アストロサイトとニューロンの混成比を培養段階で制御し，単一ニューロンと複数アストロサイトで構成される培養細胞を用いた。実験は，単一ニューロンの樹状突起（MAP2）と興奮性シナプス(VGLUT1)を免疫染色し，共焦点顕微鏡にて蛍光観察を行った。また，開口放出可能シナプスを FM1-43 にて蛍光標識し，神経伝達物質を開口放出できるシナプスのみを染色し定量した。ノイズは，オリジナル画像からガウシアンブラー処理した画像を差し引いて除去した。得られた蛍光画像は ImageJ にて二次元的に定量解析した。

結果，ニューロン１つ当たりのアストロサイト数が変化しても，培養エリア内で形成される興奮性シナプス（VGLUT1 陽性シナプス）の総数に有意な変化は認められなかった。ところが，ニューロン１つ当たりのアストロサイト数が 5 個以下で共培養されていると，FM1-43 で染色されるシナプスの数は有意に減少していた。

以上の結果より，ニューロンの周囲を取り巻くアストロサイトの数が減少すると，神経伝達物質を放出できないシナプス（サイレントシナプス）が増える傾向があることが明らかとなった。これらの染色結果を踏まえて，現在はパッチクランプ法を用いて，アストロサイト数の変化に伴う興奮性シナプス伝達を電気生理学的に解析中である。加えて，アストロサイトにおける Ca^{2+}動態の変化にも着目し，Oregon Green BAPTA-1（OGB-1）を用いて光学的にも解析中である。

15. オキシトシンによる弓状核摂食調節ニューロンの活動制御とシグナル伝達機構

矢田俊彦，Putra Santoso，楊　怡飛，岩﨑有作（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）
箕越靖彦（生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門）

室傍核(PVN)のオキシトシン(Oxt)ニューロンが摂食抑制に重要な役割を果たしていることが最近の研究から明らかにされた。この Oxt の摂食抑制作用を仲介する神経経路として，私たちは 2009 年に，延髄孤束核のプロオピオメラノコルチン(POMC)ニューロンへの投射経路を報告した（***Cell Metabolism*** 10(5): 355-365, 2009）。POMC ニューロンは，孤束核に加えて，摂食一次中枢の弓状核（ARC）にも存在する, そこで本研究は, Oxt が ARC POMC ニューロンにも作用して摂食を抑制するかを検討した。

以下の実験結果を得た[1]。Oxt の脳室内投与は ARC POMC ニューロンを活性化し, Oxt の ARC 局所投与は摂食を抑制した。Oxt 添加は，単離した ARC POMC ニューロンを直接活性化し細胞内 Ca^{2+}濃度を増加させた。逆行性トレーサーを用いた組織学的解析から，PVN Oxt ニューロンが ARC に投射し，神経終末が POMC ニューロンに接触していることを明らかにした。

本研究は, PVN Oxt ニューロンが ARC に投射し POMC ニューロンを活性化する，新しい摂食抑制神経経路を明らかにした。これは，二次中枢 PVN ニューロンが一次中枢 ARC に投射する，教科書的な情報の流れと反対の神経回路の発見である。本研究結果から，私たちは，今日の神経情報伝達の階層性のセントラルドグマに対する再

考を提唱している。本研究成果は，臨床的に注目されているオキシトシン投与による肥満および自閉症の改善の作用機構の解明に役立つ可能性がある。

1. Maejima Y, Sakuma K, Santoso P, Gantulga D, Yada T et al.: Oxytocinergic circuit from paraventricular and supraoptic nuclei to arcuate POMC neurons in hypothalamus. ***FEBS Letters*** 588(23):4404-4412, 2014.

16. 真核生物における RNA 分解制御機構の解明

細田　直（名古屋市立大学大学院薬学研究科）

細胞内の mRNA はその役割を終えると分解される。この正常な mRNA 分解において，翻訳終結因子複合体 eRF3-eRF1 が mRNA 分解の律速段階であるポリ A 鎖短縮化を制御することを明らかにしている。一方, 異常 mRNA は急速に分解されるという品質管理機構が知られている。そのひとつである終止コドンが欠失したノンストップ mRNA 分解では，翻訳終結因子類似複合体 Hbs1-Dom34 が機能することを明らかにしている。細胞内 mRNA 分解では eRF3-eRF1 およびその類似複合体が中心的役割を果たしている。本年度はウイルス RNA を代表とする外来性 mRNA の分解機構について以下の知見を得た。

ウイルス mRNA を選択的に分解・除去する抗ウイルス防御機構が存在することが知られているものの, その機構の詳細は不明な点が多い。本研究では, 1 本鎖の(+)鎖 RNA ウイルスである脳心筋炎ウイルス（Encephalomyocarditis virus; EMCV）について解析を行った。細胞はウイルス感染時インターフェロン（IFN）誘導カスケードを活性化させる。IFN 処理した HeLa 細胞において，EMCV 感染後期における細胞内 EMCV RNA 量は Dom34 ノックダウンにより上昇した。ウイルス mRNA はノンストップ mRNA と類似の機構で分解されると想定された。

さらに，ウイルス mRNA のモデル系として人工合成 mRNA を用い, 外来性 mRNA の分解機構の詳細について解析を進めた。合成 mRNA の分解は，Dom34 ノックダウンでは顕著な抑制が認められるものの, Hbs1 ノックダウンでは認められなかった。eRF3 類似因子は Hbs1 に加えて GTPBP1/2 が知られている。GTPBP1/2 ノックダウンにより分解抑制が認められた。また，免疫沈降法により GTPBP1/2 は Dom34 と相互作用することを見出した。GTPBP1/2-Dom34 複合体と相互作用する因子を免疫沈降法により単離し質量分析装置（MALDI-TOF MS）により同定した。

以上の結果から, 外来性 mRNA は GTPBP1/2-Dom34 複合体により識別され急速な分解へと導かれることが示唆された。どのように分解酵素因子群が動員されるかについての解明が今後の課題である。

17. PKD2L1 カチオンチャネルの生理機能解析

清水貴浩，酒井秀紀（富山大学大学院医学薬学研究部（薬学））
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

PKD2L1 は，Transient receptor potential (TRP) カチオンチャネルファミリーに属しており，これまでの過剰発現系を用いた *in vitro* 実験により，マウス由来の PKD2L1 チャネルは非選択性カチオンチャネルとして機能することを明らかにしている。また PKD2L1 カチオンチャネルがアルカリ刺激およびいくつかの苦味物質により活性調節を受けることを見出している。しかしながら，これら刺激によるチャネル制御の生理的役割は未解明である。したがって本研究では PKD2L1 欠損マウスを用いることで，PKD2L1 チャネルのアルカリおよび苦味物質感受性が寄与する生理機能を明らかにすることを目的とした。

本共同研究においては，まず PKD2L1 チャネルが苦味受容に関与しているのかを明らかにするため，様々な苦味物質を用いた二瓶選択嗜好実験を行った。その結果，

野生型マウスおよび PKD2L1 欠損マウスにおいて，苦味物質の忌避性には違いがなかった。一方，マウス舌より急性単離した味細胞を用いて行った Ca^{2+}イメージング法において，苦味物質の除去後に一過性の Ca^{2+}上昇が生じる例が見出されている。この結果は，過剰発現系を用いた *in vitro* 実験と一致している。これらの結果から，PKD2L1 チャネルは苦味物質によるオン応答ではなく，オフ応答に関与していることが示唆された。この PKD2L1 チャネルの苦味物質感受性は，危険シグナルである苦味の持続性に関与している可能性がある。

18. 内臓機械痛覚過敏における TRP チャネルの機能解析と機能性胃腸疾患病態との関連

杉山敏郎，三原　弘，鈴木庸弘（富山大学医学薬学研究部第三内科講座）
富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

非びらん性胃食道逆流症，機能性ディスペプシア，過敏性腸症候群は代表的な機能性消化管疾患であり，外来因子（酸・機械・温度刺激など）に対する痛覚過敏，上皮透過性亢進が中心病態と推定されるが，その詳細は不明である。申請者らは TRPV4 刺激により食道上皮細胞から ATP が放出し，神経細胞を活性化すること，また，トリプシン等の蛋白分解酵素の食道への逆流により食道上皮 PAR-2 が活性化され TRPV4 を介する ATP 放出が促進されること，小腸上皮では，TRPV4 活性化により，上皮の透過性が亢進，NSAIDs 小腸障害の最初のトリガーになることを報告してきた。

本研究では機能性消化管疾患病態と TRP チャネル機能の関連を明らかにし，新規治療標的薬開発への道を切り拓くことを目的とし，消化管上皮細胞株，マウス消化管，ヒト消化管上皮の生検標本を用いて，ATP 放出に関わる分子の発現を遺伝子レベルで確認し，生理的刺激（酸，温度，低浸透圧）及び，各種 TRP チャネル活性化剤で処理，放出される ATP をルシフェラーゼ反応により検出し，消化管上皮からの ATP 放出に関わる TRP チャネル，刺激を網羅的に探索する。

胃上皮細胞株（RGE）には TRPV2，TRPV3，TRPV4，TRPM2，TRPM4 の遺伝子発現がしていた。小腸上皮細胞株（IEC-6）には，TRPV2，TRPV3，TRPV4，TRPM4 が発現していた。結腸上皮細胞株(MCE)には，TRPV3，TRPV4 が発現していた。TRPM5 及び ATP トランスポーターである VNUT はすべてに発現していた。

RGE を特異的 TRPV4 活性化剤(GSK101)，酸，温度，低浸透圧刺激すると，有意な ATP 放出が観察された。ICE-6 に酸，低浸透圧刺激を処理すると，有意な ATP 放出が観察された。しかし，特異的 TRPV1，TRPV3（2APB+carvacrol），TRPA1，TRPM8 活性化剤を処理しても ATP 放出は観察されなかった。MCE に特異的 TRPV4 活性化剤，酸，低浸透圧刺激を処理すると，有意な ATP 放出が観察された。しかし，TRPV3 活性化剤では ATP 放出は観察されなかった。マウス遠位結腸に TRPV3 活性化作用のある carvacrol 処理すると ATP が放出するとの既報があり，TRPV3 については再検討が必要である。

今後，ATP 放出に関わる消化管 TRP チャネル機能及び，その刺激に対する応答異常と臨床病態についての更に詳細な検討が必要である。

19. 霊長類味覚に対する TRP チャネルの役割

鈴木南美，西栄美子，筒井　圭，今井啓雄（京都大学霊長類研究所）
齋藤　茂，富永真琴（自然科学研究機構生理学研究所）

本研究では霊長類の味覚に対する TRP チャネルの役割を検討する。平成 26 年度は以下の実験と考察を行った。

我々は苦味に対する霊長類の味覚応答を中心に研究を行っている。二瓶法を用いたニホンザルの行動実験の結

果，特定の苦味（Phenylthiocarbamide, 以下 PTC）に対する受容体（TAS2R38）を遺伝的に欠損した個体でも，高濃度の PTC に対して忌避反応を示すことがわかった。当初は，他の苦味受容体や嗅覚受容体がこの忌避反応に関与する可能性を考えていたが，富永教授・斎藤特任助教により, TRP チャネルが関わっている可能性を示唆され，ニホンザルのＴＲＰチャネルが PTC 受容に関わっている可能性を検討した。平成 25 年度までにアフリカツメガエル卵母細胞発現系における電気生理実験でニホンザル TRPA1 が PTC に応答することを示したが，必要な PTC の濃度（> 6 mM）が行動実験で反応を始めた濃度（~1 mM）よりも高かったため，別の実験系も検討した。HEK293 培養細胞系を用いたタンパク質発現系では，アフリカツメガエル卵母細胞発現系よりも，より感度が高い応答を得られる場合がある。そこで，pCDNA3.1 にニホンザル TRPA1 の cDNA を挿入し，HEK293T 細胞系で発現することを試みた。細胞内カルシウム濃度指示薬 Calcium4 を用いたカルシウムイメージングの結果, 1 mM 以上で有意な反応を示すことがわかった。これらのことから，TAS2R38 が機能していないニホンザルが高濃度の PTC に忌避反応を示す原因として，TRPA1 が PTC に応答し，チャネルの開口を促進することにより忌避応答が生じていることが示唆された。

20. 中枢神経における TRPV チャンネルの局在と機能解析

宮田清司，吉田亜矢加，古部瑛莉子，萬成哲也（京都工芸繊維大学大学院・応用生物学部門）
高山靖規，橘高裕貴，富永真琴（自然科学研究機構・生理学研究所・細胞生理研究部門）

Transient receptor potential (TRP)チャネルは，温度・化学物質・物理的刺激を受容する感覚受容体であるとともに，刺激を受けるとカルシウムイオンなどの陽イオンを透過させることで情報伝達を担うことが知られている。我々の共同利用研究において，TRPV1 が血液脳関門を欠く脳室周囲器官の GFAP 陽性細胞に特異的に存在し，TRPV1 against の静脈内および脳室内投与により GFAP 陽性細胞に Fos 発現を誘導することを報告した(Glia 2013)。本年度は，脳室周囲器官の GFAP 陽性細胞の TRPV1 が発熱などの体温調節機構に関与することを明らかにすることを目的とした。

TRPV1 agonist である resiniferatoxin (RTX)を, 野生型マウスに脳室内投与すると，濃度依存的な一過性の体温低下を引き起こすが，TRPV1 KO マウスではこのような体温低下は観察されなかった。グラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分で発熱物質 lipopolysaccharide (LPS)を末梢投与後に，RTX を脳室内投与すると体温低下が増強された。一方，LPS の末梢投与後に TRPV1 antagonist である Capsazepine を脳室内投与すると LPS により引き起こされる体温上昇が顕著に増強・持続された。

TRPV1 agonist RTX の脳室内投与は，脳室周囲器官ならびに体温調節部位である視索前野の Glial fibrillary acidic protein (GFAP)陽性細胞の STAT3 を活性化した。RTX 脳室内投与により STAT3 が活性化される脳部位は，LPS の末梢ならびに脳内投与による STAT3 活性化部位と極めて酷似していた。さらに，TRPV1 KO マウスは，LPS の末梢および脳室内投与による GFAP 陽性細胞の STAT3 活性化が顕著に減弱していた。しかし，LPS の末梢投与による NF-kB 活性化は，TRPV1 KO マウスにおいても，野生型と同様におきていることが判明した。

以上の結果より，TRPV1 の活性化は，体温調節や脳内免疫系活性化に関与する STAT3 を活性化することで, 体温低下を引き起こすことが明らかになった。さらに，TRPV1 の不活性化は LPS により引き起こされる体温上昇の増強・持続に関与することが判明した。以上の結果より，TRPV1 は中枢による脳内免疫系活性化と体温調節機構に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

21. 動物種間差を利用した哺乳類 TRPA1 チャネル阻害薬の作用点の解明

太田利男，鳩澤永子，高橋賢次（鳥取大学・農学部）
齋藤　茂，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

知覚神経に発現している非選択的陽イオンチャネルである Transient receptor potential A1 (TRPA1) は，刺激性化学物質や温度刺激などにより活性化される侵害受容チャネルとして機能している。それ故 TRPA1 は末梢性鎮痛薬のターゲットとして着目され，多くの阻害薬が開発されている。我々はこれまで，本共同研究を通して様々な動物種の TRPA1 チャネルの機能を調べ，温度感受性や薬物反応性の種間差について明らかにしてきた。本研究では，哺乳類で最も強い TRPA1 阻害作用を有する (1E,3E)-1-(4-フルオロフェニル)-2-メチル-1-ペンテン-3-オン オキシム（A967079）の薬理作用を調べ，TRPA1 に対する遮断作用の分子基盤について検討した。

ヒト TRPA1 を発現させた HEK293 細胞において，A967079（1μM） はシンナムアルデヒド（CA）による $[Ca^{2+}]_i$ 増加を完全に抑制した。一方，ニワトリ TRPA1 発現 HEK293 細胞（cTRPA1-HEK）に対して，A967079（1μM）は抑制作用を示さず，高濃度（10μM＜）では逆に $[Ca^{2+}]_i$ 増加反応を引き起こした。A967079 による $[Ca^{2+}]_i$ 増加反応は TRPA1 遮断薬である HC030031 により抑制された。cTRPA1-HEK において A97079 は単一チャネル活性を示した。ニワトリ背根神経節ニューロンにおいても，A967079 は CA による反応を抑制せず，高濃度で $[Ca^{2+}]_i$ 反応を引き起こした。更に，ニワトリへの A967079 の投与により疼痛関連行動が生じ，この反応も HC030031 で抑制された。

ニワトリ TRPA1 とヒト TRPA1 のキメラチャネルを作成し，A967079 による TRPA1 活性化作用に関与する領域を調べたところ，感受性領域は膜貫通部位に存在していることが示された。そこでニワトリを含む数種の脊椎動物 TRPA1 に対する A967079 の作用を検討した結果，カエル TRPA1 はニワトリ TRPA1 と同様な反応を示すことが分かった。そこで，アミノ酸の種間比較を行い，ミュータントチャネル解析を行った。その結果，ヒト TRPA1 において第Ⅴ膜貫通部位のロイシンをイソロイシンに置換することにより，A967079 による遮断作用が消失し，逆に活性化作用が発現することが分かった。

以上の成績より，薬物感受性における動物種間差を利用することにより哺乳類 TRPA1 チャネル遮断薬の作用点を分子レベルで明らかにすることが出来た。それ故，本研究は TRPA1 をターゲットにした新規鎮痛薬の開発における基礎的知見を提供するものと考えられる。

22. 体性感覚系における酸受容の分子機構の解明

樽野陽幸（京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞生理学）
榎原智美（明治国際医療大学 医学教育研究センター解剖学ユニット）
古江秀昌（生理学研究所 生体情報研究系 神経シグナル研究部門）

酸感受性イオンチャネルをはじめとする近年の酸感受性機能分子の発見を背景に，感覚系（特殊感覚・内蔵感覚・体性感覚系）の中でも特に体性感覚系における分子レベルでの酸受容解明を目標として本研究を行った。本研究を遂行するには実際の動物の体性感覚神経における酸応答を記録することが不可欠であり，*in vivo/ex vivo* 神経応答記録の第一人者である生理学研究所生体情報研究系神経シグナル研究部門の古江秀昌准教授が所有する単離後根神経節からの電気生理学記録法（パッチクランプ法）は非常に有用であり，本技術の習得および本技術を中心とした将来的な共同研究の礎を築くことを期待して本研究を開始した。

本研究ではさらに，三叉神経の皮膚機械受容器および一次感覚ニューロンの形態学的・電気生理学的研究でご活躍の明治国際医療大学医学教育研究センター解剖学ユニットの榎原智美准教授にも参画していただいた。

具体的には，生理学研究所において体性感覚神経の解剖学的および生理学的研究法についての勉強会を開催し，榎原先生より皮膚機械受容に関わる受容器細胞・三叉神経ニューロンの研究法について，また，古江先生より後根神経節の痛み神経応答の電気生理学的記録法について，実験における実際的な問題についての詳細かつ具体的な情報交換を行った。さらに，神経シグナル研究部門研究室においてマウス後根神経節の *in vivo* 神経応答記録法を伝授していただいた。

以上，本共同研究によって三叉神経ニューロンおよび後根神経節ニューロンによる体性感覚受容の解剖学的・生理学的研究法についての情報収集および技術習得ができた。これらの情報・技術は本研究のゴールである体性感覚の酸受容メカニズム解明研究の重要な基盤となる。今後は，本共同研究のメンバーとの綿密な連携のもと，研究を推進していく。

23. ジストニア・偏頭痛病態モデルとしてのナトリウムポンプ *Atp1a3*，*Atp1a2* 遺伝子ノックアウトマウスのシナプス機能解析

池田啓子（兵庫医科大学 医学部 生物学）
古江秀昌，佐竹伸一郎（生理学研究所 生体情報研究系 神経シグナル研究部門）

ナトリウムポンプは，細胞膜間の Na^+ と K^+ の濃度勾配の形成に関る能動輸送酵素である。この酵素はαとβの 2 つのサブユニットから構成され，マウス小脳ではα1–3 の 3 種のサブタイプが発現している。α3 サブユニットはプルキンエ細胞や分子層の介在ニューロンに発現し，α2 サブユニットはバーグマングリアに発現している。数年前，ヒトにおいては，α3 サブユニットは急性発症性ジストニアパーキンソニズムと小児交互性片麻痺の，α2 サブユニットは家族性片頭痛の原因遺伝子であることが報告された。本研究は，α3 サブユニット遺伝子ノックアウトヘテロマウス (*Atp1a3*$^{+/-}$)およびα2 サブユニット遺伝子ノックアウトヘテロマウス (*Atp1a2*$^{+/-}$)を解剖学的・電気生理学的手法により詳しく解析することにより，これら神経疾患の病態ならびに発症機序を解き明かし，新規治療薬の開発につなげることを目的とした。

今年度は，小脳のグルタミン酸リサイクル系における α3 サブユニットの役割について検討を行った。興奮性アミノ酸輸送体 EAAT は，Na ポンプにより作出された細胞膜間の Na^+/K^+ 濃度勾配を輸送の駆動力として利用し，シナプス終末から放出された興奮性神経伝達物質グルタミン酸の回収を担っている。マウス小脳において，バーグマングリアには EAAT1 と EAAT2，プルキンエ細胞には EAAT3 と EAAT4 の各サブタイプが特異的に発現している。*Atp1a3*$^{+/-}$では，プルキンエ細胞のグルタミン酸回収能が選択的に障害を受け，小脳皮質のシナプス伝達が変化することにより病態につながるとの仮説をたてた。小脳のスライス標本においてケージドグルタミン酸を用いた電気生理学的解析を行い，*Atp1a3*$^{+/-}$ではプルキンエ細胞の EAAT 電流が野生型より有意に減弱していることを発見した。グルタミン酸のシナプス外漏出が，小脳 LTD を始めとするシナプス可塑性の確立に重要なプロセスであることは広く知られている。したがってこの結果は，Na ポンプα3 サブユニットが，グルタミン酸回収機構との共役を介して，小脳の情報処理や記憶学習の成立過程に大きな影響を及ぼし得ることを示唆している。

24. 難治性慢性疼痛の神経科学的メカニズムの解明

津田　誠（九州大学大学院 薬学研究院 ライフイノベーション分野）

末梢神経の障害や機能不全により，難治性の慢性疼痛「神経障害性疼痛」が発症する。しかし，その発症維持メカニズムは不明である。主な症状として触刺激で痛みを誘発するアロディニアが挙げられる。アロディニアのメ

カニズムとして，皮膚への触刺激で興奮する一次求心性 Aβ 線維を介した経路が想定されているが，否定的な論文もあり，依然として未解明のままである。また，従来の研究では動物個体レベルで Aβ 線維を選択的に刺激（あるいは抑制）する技術がなかったため，アロディニアにおける Aβ ニューロンの関与を直接的に証明した報告はない。そこで我々は，チャネルロドプシン 2（ChR2）を Aβ 線維に発現させた遺伝子改変ラット（W-TChR2V4 ラット）を用いたオプトジェネティックス（光遺伝学）実験アプローチを利用して研究を行った。同ラットの第 5 腰髄脊髄神経を結紮・切断し，神経障害性疼痛モデルを作成した。神経損傷後，470 nm の青色光をラットの足底部に照射し光源から足を退ける行動をスコア化した。その結果，神経損傷後に光刺激による後肢逃避行動が有意に増加し，損傷後 28 日目まで持続した。一方，非損傷側ではそのような増加は認められなかった。そこで，正常および神経損傷 W-TChR2V4 ラットの後根付脊髄矢状断スライス標本を作成し，後根を光刺激した際の脊髄後角第 I 層ニューロンでの興奮性シナプス後電流（EPSCs）をパッチクランプ法により解析した。その結果，正常ラットでは光刺激によって第 I 層ニューロンで EPSCs は検出されなかったが，神経損傷ラットでは多シナプス性の EPSCs が検出されることを見出した。さらに電流固定下で記録したところ，神経損傷ラットで後根光刺激による活動電位も観察された。また，記録した第 I 層ニューロンをガラス電極内に充填したニューロビオチンによってラベルしたところ，頭尾側方向に樹状突起を伸ばした形態をしており，脳へ投射する projection ニューロンと類似していた。

以上の結果より，神経障害後に Aβ 線維を刺激することで疼痛様行動が出現すること，さらに通常侵害情報を受容する脊髄後角第 I 層ニューロンへ，Aβ 線維を介する興奮性が入力する異常な回路が形成されることが示唆された。さらに，オプトジェネティックスを利用した本評価法は非侵襲・非拘束・非接触の新しい神経障害性アロディニア評価法となる可能性がある。

25. 両手同時運動，ミラーセラピーと機能的電気刺激を組み合わせた重度片麻痺患者の麻痺肢に対する新たな治療法の開発

吉田　晋，大塚裕之（北海道医療大学リハビリテーション科学部）
西村幸男（生理学研究所）

脳卒中後の上肢運動麻痺は日常生活動作を阻害する重大な問題であるが，効果的な治療法は確立されていない。そこで健常な領域から得られる生体信号を正常機能が残存する筋・末梢神経に対し機能的電気刺激として加える artificial recurrent connection (ARC) 技術を用いた新たな脳卒中上肢の治療法を考案した。

今回は健常者を対象に予備的実験を行い最適な刺激方法および計測パラメータの検討を行った。

当初考えていた対側肢の EMG を用いた制御では，制御対象の肢を電気刺激のみで制御する必要があり，細かな運動調節が困難であった。そこで，すでに先行研究で学習効果が明らかになっている同側の EMG を用いる課題を用い，運動皮質の可塑的変化が生じるかについて検討した。

尺側手根屈筋(FCU)が主動作筋として働く方向への手関節の center out task を行わせ，途中で ARC を付加した。ARC は尺骨神経に対して行い，刺激パルス生成のための生体信号としては尺骨神経支配の ECU および共同筋であり正中神経支配である長掌筋（PL）から導出した。ARC 前後のターゲット内に静止している相で経頭蓋磁気刺激（TMS）を行い，運動誘発電位（MEP），cortical silent period (CSP) を計測した。

まだ少数例の結果であるが，FCU の MEP はどちらの課題でも ARC 後に低下したが，PL の MEP は PL を用いた ARC 後に増大する傾向を示した。CSP には特徴的な差を認めなかった。PL と尺骨神経との ARC 後に PL の MEP が増大したことは，異なる神経支配の共同筋である PL の皮質領域に可塑的変化が生じたこと示唆すると考えられる。

今後は症例数を増やし検証を進めると同時に，対側肢から制御する場合に電気刺激以外の運動を制御する動力をどのように得るかについて検討を進める。

26. 人工神経代替装置によるニューロリハビリテーション法の開発

小宮山伴与志（千葉大学）
鈴木伸弥（杏林大学）
笹田周作（相模女子大学）
宇川義一，門脇　傑（福島県立医科大学）
村山尊司，川上貴弘（千葉リハビリテーションセンター）
西村幸男（生理学研究所）

我々は脊髄損傷や脳卒中患者のニューロリハビリテーションが可能な人工神経代替装置の開発，ならびにそれを用いたニューロリハビリテーション法の開発を目指し，これまでに非侵襲的な磁気刺激による上肢筋―腰髄間の人工神経接続を開発した。この人工神経接続は随意的な歩行機能上肢筋により頻度変調される脊髄への連発磁気刺激を行うことで，脊髄の一部を迂回して脊髄神経回路網を賦活化し，下肢の歩行運動を生じさせる事が可能である。本年度は，磁気刺激による腰髄の機能地図の存在を明らかにする目的で，磁気刺激により生体内で生じる電流方向および刺激位置とそれによって誘発される下肢の運動について検討を加えた。

磁気刺激を第 12 胸椎―第 5 腰椎の各椎間上へ与え，電流方向は正中線に沿って吻側(Rostral)・尾側方向(Caudal)への電流，及び正中線に対し垂直に右方(Right)・左方(Left)へ交わる電流の 4 方向を検討した。Right・Left 方向の刺激では，これまでの我々の報告どおり刺激コイルが腰椎第 1－第 3 椎間に位置した場合，歩行運動を誘発することが可能であり，刺激コイルの中心が正中線よりも右方に位置した場合，右足が前方，左足が後方へ振り出される歩行運動が誘発され，コイルが正中線よりも左方へ位置した場合，その誘発される運動方向は反対となった。刺激コイルが腰椎第 1－第 3 椎間により吻側・尾側に位置した場合，刺激中に両下肢が後方へ同時に移動するという同位相運動が出現した。Right・Left 間で誘発される歩行運動パターンに大きな変化は見られなかった。Rostral・Caudal 方向の刺激ではほぼすべての刺激部位で同位相運動となった。これらの結果は，腰髄には歩行運動と同位相運動の異なる運動を誘発する 2 つの神経回路網が存在することが示唆された。

27. 実細胞空間の構造取得に基づく時空間シミュレーション

市川一寿，大島大輔（東京大学医科学研究所腫瘍数理分野）
相良　洋（東京大学医科学研究所疾患プロテオミクスラボラトリー）

従来のシグナル伝達シミュレーションの 90%以上は細胞の 3D 空間を考慮していなかった。微分方程式上は拡散項が現れたり，概念的には細胞質と核に分けたパスウェイが示したりしているシミュレーションはあるものの，これらはいずれも 3D 実空間を扱ってはおらず，拡散の効果の検討が不十分であると言わざるを得ない。一方，これまで我々はシグナル伝達における拡散の効果の重要性を報告してきた（Hoshino, D., et al., PLoS Comp.Biol., 8 (2012), e1002479; Ohshima, et al., PLoS ONE, (2012) 7:e46911; Watanabe, A., et al. ,PLoS Comp.Biol., 9, (2013), e1003086;; Ohshima, D., et al., PLoS ONE, 9 (2014), e109895; Ohshima, D., et al., PLoS Comp.Biol., 11 (2015), e1004326; Ohshima, D., et al., PLoS ONE, 10 (2015), e0127633）。しかし実細胞空間は単なる 3D 空間ではなく，オルガネラが密集する複雑な構造を持つ。その上，オルガネラの構造がダイナミックに変化することが報告されている（Al-Mehdi, et al., Sci.Signal., 2012, 5, ra47; Murata, et al., J Gen Virol, 2000, 81, 401）。シグナル伝達シミュレーションをさらに前進させるため，我々は細胞丸ごと 1 個の連続切片を電子顕微鏡で撮影し，そこから細胞内構造を抽出してシミュレーションをすることを目指す（Pham, T.D., et al., Theoretical Modeling and Medical

Biology, 10 (2013), 62; Ichikawa, et al., IET Syst.Biol., 9 (2014), 41-51）。

本年度は，昨年度に取得したマウスの肝細胞の 500 枚連続切片（厚さ 50nm）から細胞内構造を抽出し，複雑な細胞内構造におけるタンパク質の拡散をシミュレーションした。その結果，予想以上に構造の影響が大きく出ることが明らかになった。さらに正常細胞とがん細胞では構造が異なることが知られているため，この 2 つのシグナル伝達を比較することを目的に，肝がんモデルマウスを用いて上記と同様に連続画像を取得した。

28. Cryo-TEM による抗酸菌の基礎的形態サイズデータの取得

山田博之（公益財団法人結核予防会結核研究所　抗酸菌部）

【目的】結核菌を含む抗酸菌の固形培地上のコロニーは，コード形成という特異的な菌塊構造を呈することが知られている。菌種によりこのコード形成の度合いが様々であり，個々の菌が持つ形態学的な特徴とコード形成の度合いの関連を調べることを目的として，抗酸菌 ATCC 株の基本的な形態サイズデータを Cryo-TEM を用いて取得する。

【方法】結核研究所にて抗酸菌を液体培地で充分な菌量が得られるまで培養する．遠心でペレットを作製後，2.5% グルタールアルデヒド固定する。リン酸緩衝液で洗浄後，冷蔵保存する。生理学研究所にて Vitrobot を用いて氷包埋し，JEM-2200FS Cryo-TEM で観察した。観察像を Fiji (ImageJ)ソフトウエアを用いて単個菌の基礎的な形態計測を行い，菌種ごとの基礎形態データベース構築の増強を行った。

【結果と考察】*M. aurum* (ATCC 23366), *M. austroafricanum* (ATCC 33464), *M. celatum type* I (ATCC 51130), *M. celatum type* II (ATCC 51131), *M. chitae* (ATCC 19627), *M. farcinogenes* (ATCC 35753)を観察した。

菌体直径は 6 種の平均±SD が 0.603 ± 0.127 μm で種間での差がほとんどなかった。一方，菌体長は種ごとの観察菌体平均値は *M. aurum* が最も短く 1.43 μm, *M. celatum* typeII が最も長く 3.424 μm で，その差は 2 倍以上であった。種間で直径が近似しつつ菌体長に多様性が見られることから，菌体長が短い種では極めて球菌に近い菌体形態をとることが明らかになった。特に *M. aurum, M. chitae* は平均真円度(circularity)が 0.8 を超え，かつその標準偏差が 0.01 以下でかなり球菌に近い形態的特徴を持つことが明らかになった.

コード形成に関しては菌体長が結核菌と近似した種のコロニー内の菌の配置は類似している傾向が見られたが，それらの種のコロニーでは単個菌の配置が平面的で，結核菌のコードと比較して平面的（層状）であった。結核菌のコロニーにおけるコード形成は菌体の基礎形態だけでなく，菌体のねじれや菌体表面の接着性などの特徴が影響している可能性が示唆された。

29. 情報欠落のない新たな生物試料電子線トモグラフィー法の開発と応用

馬場則男（工学院大学　情報学科　コンピュータ科学科）
馬場美鈴（工学院大学　総合研究所　産学共同研究センター）

申請者が開発した，非線形離散濃度階調再構成法は，電子線トモグラフィにおける情報欠落(missing wedge)問題を解決し，少ない投影像枚数からでも解像度を落とさずに再構成する新奇な方法である。ディジタル断層画像において，各画素の濃度階調は濃度の量子化された 1 単位(量子単位)を階調分積み上げたと考え，この積み上げ方向も一つの軸と捉えた断層画像空間を想定する。すると再構成は，量子単位をどのようにその 3 次元断層画像空間に配置するかの問題に置き換えられる。全方位の投影データを満足するようにその配置問題を解くことに他ならない。これによって，再構成に関する拘束条件に柔軟性が持てるようになった。これまで複合ナノ粒子など

に応用し，そうした悪影響をほぼ払拭した 3 次元断層像を得ることが出来た。

しかし，生物試料のように構造が複雑になるほど，これまで採用してきた，量子単位の配置演算方式では，所謂‘local minima’にトラップされる懸念があり，正しい収束解に達しない問題が拭えなかった。そこで，今回量子単位の配置最適化の演算方式を基本から改善し，その方式を基本そのような懸念のない総当たり方式とし，しかし，実用的でない面を，低分解能から徐々に分解能をあげる独自の方法で改良した。その結果，階調数が少ない段階のシミュレーションではあるが，情報欠落の悪影響を受けやすい構造であっても低分解能の段階から正しい収束解の断層像が得られることが分かった。これにより，本再構成法の汎用化を達成できる見通しが立てられた。なお，本手法は，離散階調方式ながら連続濃度階調を実現する方式である。

30. 老化に伴う神経原線維変化形成機序に関する蛋白化学的研究

吉田裕孝（独立行政法人国立長寿医療研究センター・NC 企業連携共同研究部（エーザイ））

タウの細胞外放出に関与するタウ分子内領域の解析

タウ分子内には微小管結合領域をはじめとして特徴的な領域がある。これらの領域のタウの細胞外放出に与える影響を解析する目的で N 末端領域欠損，微小管結合領域欠損，C 末端欠損ならびに微小管結合領域のみの変異タウを培養細胞に発現し，細胞内で発現したタウおよび培養細胞液中のタウの定量を行いその量比を比較した。この結果から，タウ分子内領域の欠損，あるいは領域欠損変異によるそのコンフォメーション変化が細胞外放出に影響を与えることを見いだした。

タウ細胞外放出を調節する化合物の検索

タウを発現する培養細胞（SHSY5Y 細胞）を用いてタウ細胞外放出を調節する化合物のスクリーニングを行った結果，イオンチャンネル作用物質，細胞内輸送作用物質などの化合物の中にタウの細胞外放出を亢進あるいは抑制するものがあることをみいだした。この結果はタウの細胞外放出が細胞活動の結果であることを示唆するものである。

タウオパチー・モデルマウス脳における細胞外タウの解析

３～６ヶ月齢のタウオパチー・モデルマウス（PS19）脳における細胞外タウの解析をおこなった。対照として導入遺伝子をもたないことを確認した同腹マウスを用い，抗タウ抗体による ELISA 法をもちいて脳微量透析法による回収液中もタウ量を定量したが，タウオパチー・モデルマウスと対照マウスでは量的な有意差は見られなかった。

アルツハイマー病の進展過程におけるアルツハイマー病脳におけるタウ・オリゴマー動態の解析

前期・中期・後期ステージのアルツハイマー病脳ならびに健常者脳から可溶性画分を調整し，その抗タウ・オリゴマー抗体 TOC-1 にたいする反応性の比較を行った結果，中期ステージにおいてもっとも TOC-1 の反応性が高いことがわかった。このことはアルツハイマー病初期から中期にかけてタウオリゴマーが形成され，病理ならびに臨床症状の進展に影響する可能性を示唆した。

31. 睡眠中の律動的神経活動の研究

美馬達哉（京都大学大学院医学研究科）
島津秀紀（マサチューセッツ工科大学）
礒村宜和（玉川大学）
逵本　徹

これまでの共同研究で睡眠中のサルの大脳皮質活動を記録解析し，サルの脳活動は齧歯類とはかなり異なる特徴を持つらしいことがわかってきた。霊長類の睡眠の仕組みや意義を脳生理学的に解明する目的で，サルの睡眠中の脳活動をさらに詳しく研究した。

大脳新皮質と海馬には電極を埋め込み，テレメーターを用いて自然睡眠中の脳活動を詳細に記録した。また，睡眠ステージを大脳新皮質の電気活動をもとにヒトと同等の Rechtschaffen-Kales 基準で NREM1-4 及び REM に分類した。Hilbert-Huang Transform を用いて周波数スペクトルと周波数間カップリングを詳細に検討した。

その結果，海馬の脳活動において，デルタやシータの徐波とガンマ波の間に，ガンマ波の振幅と徐波の位相の間にカップリングがあることを発見した。このカップリングは睡眠ステージによって変化し，深い睡眠において最も強く，REM では低下していた。また，サルにおいては海馬シータ波は認められなかった。

REM 睡眠と NREM 睡眠は記憶固定において異なる役割を担っているという仮説があり，今回発見された海馬における周波数間カップリングの変化は，その異なる役割に対応している可能性がある。

本研究の成果は, 国際的雑誌に掲載された（Takeuchi, S., Mima, T., Murai, R., Shimazu, H., Isomura, Y., & *Tsujimoto, T. Gamma Oscillations and Their Cross-frequency Coupling in the Primate Hippocampus During Sleep. Sleep. 2015; 38: 1085-91.）

32. ゼブラフィッシュを用いた脳脊髄神経細胞の発生・機能回路構築の生理学的・分子生物学的研究

小田洋一（名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻）
東島眞一

本年度は，胸びれのリズム運動を司る脊髄内神経回の解析を重点に研究を行った。胸びれは哺乳動物前肢の相同器官であり，シンプルな胸びれの運動は，陸上脊椎動物四肢の運動のプロトタイプと考えることができる。しかし，数多くの屈筋伸筋の複雑な活動からなるほ乳類の歩行運動と比べ，ゼブラフィッシュの胸びれリズム運動は，外転筋と内転筋の左右交互のシンプルな運動からなる。したがって，それを司る神経回路は比較的単純であると期待され，四肢リズム運動を司る神経回路の根源的な理解に迫れるものと期待している。

まず，外転筋運動ニューロン，内転筋運動ニューロン 3 日目のゼブラフィッシュ幼魚を用い，仮想遊泳運動中の外転筋運動神経の活動と内転筋運動神経の活動を，体幹運動神経の活動と同時にモニターした。その結果，仮想遊泳中には，(i) 外転筋運動ニューロン，(ii) 体幹運動ニューロン, (iii) 内転筋運動ニューロンの順に, リズミックに活動することが分かった。この胸びれ運動ニューロンの神経活動がどのようなシナプス入力を受けて作り上げられるかを調べるため，外転筋運動ニューロン，内転筋運動ニューロンの全細胞記録を行った。その結果，双方とも，それらの細胞が発火するフェーズにリズミックな興奮性入力を受けていることが明らかとなった。また，発火すべきでないフェーズにおいては，抑制性の入力を受けていることが分かった。すなわち，リズミックに興奮性入力と抑制性入力を交互に受けることが，胸びれ運動ニューロンのリズミックな神経活動の主たる原因と考えられる。

今後, これら外転筋運動ニューロン, 内転筋運動ニュー

ロンにリズミックな入力を送る介在ニューロン群を絞り込んでいく予定である。

33. ゼブラフィッシュを用いたセロトニン神経回路の生理学的・分子生物学的研究

前川真吾，細川　浩（京都大学大学院情報学研究科）
東島眞一

セロトニン作動性神経は精神疾患から睡眠，運動，呼吸といった生命活動に至るまで，生物の行動に広く影響を与えることが知られているが，運動や行動におけるセロトニン作動性神経の役割については未知な点が多い。本研究ではゼブラフィッシュをモデルとして，セロトニン作動性神経回路の運動や行動における生理学的な役割の解明を目的として研究を行った。

昨年度までの研究により，tph2 遺伝子のプロモーター・エンハンサーを用いて，ゼブラフィッシュセロトニン作動性神経特異的にチャネルロドプシンを発現させた系統を作出している。この系統に後脳に青色の光刺激を与えた結果，光刺激に応じて尾側縫線核セロトニンニューロンにスパイクを誘発できることが分かった。そこで，持続的にスパイクを誘発し，何らかの行動の変化が起きるかどうかを調べたが，現在までのところ大きな変化を見いだすにはいたっていない。

逆の試みとして，tph2 遺伝子のプロモーター・エンハンサーを用いて，Cre 依存的に，セロトニン作動性ニューロンにジフテリア毒素を発現させ，これらニューロンを除去した際の表現型を調べることを目指した。現在，ラインの作製に成功した段階で，後脳特異的に Cre を発現するラインとの掛け合わせを行い表現型を調べる予定である。

34. 唾液腺水輸送関連タンパク質の翻訳後修飾による機能制御

杉谷博士（日本大学・生物資源科学部・獣医生化学研究室）
橋本貞充（東京歯科大学・生物学講座）
佐藤慶太郎，瀬尾芳輝（獨協医科大学・生理学講座）
石川　透（帯広畜産大学・基礎獣医学研究部門）
福島美和子（日本大学・松戸歯学部・生理学講座）
成田貴則，松浦幸子（日本大学・生物資源科学部・獣医生化学研究室）
村上政隆（自然科学研究機構・生理学研究所）

唾液腺における水やイオン分泌は，腺房部での基底側から腺腔側への水･イオン輸送が関与する。この輸送は，腺房細胞内を経由する経細胞輸送系と，細胞間を経由する傍細胞輸送系とで制御される。経細胞輸送系には腺腔側に局在する水チャネルアクアポリン（AQP）が機能すると考えられている。哺乳類では AQP ファミリーとして AQP0-12 の 13 種類が知られているが，ラットおよびマウス唾液腺には AQP5 および AQP6 の発現が知られている。

ラットおよびマウス顎下腺遊離細胞を 37℃でインキュベートした後の膜画分において，AQP5 より約 1 kDa 大きなバンドが時間依存的に出現することを，抗 AQP5 抗体を用いたウエスタンブロット法により認めた。翻訳阻害剤シクロヘキシミド処理した細胞においてもこのバンドの出現を認めたことから，翻訳後修飾の結果であることが示唆された。ラット顎下腺遊離細胞膜画分のアルカリホスファターゼ処理では，修飾に変化は認められなかった。また，抗 AQP5 抗体を用いて免疫沈降処理した

膜分画において修飾バンドは認められたが，抗リン酸化チロシン抗体，抗リン酸化セリン抗体，抗リン酸化スレオニン抗体とは反応しなかった。膜分画のグリコシダーゼ処理でも，修飾に変化は認められなかった。バンドが出現した膜画分を還元型グルタチオンあるいはジチオスレイトール処理をすると，バンドは消失した。インキュベート時にバナジン酸を用いて処理した細胞では，濃度依存的に修飾が増強された。バナジン酸による修飾バンドの出現は，マウス耳下腺においても認められた。Ca^{2+}を含まない溶液中で処理した細胞では，バナジン酸による AQP5 の修飾は認められなかった。灌流顎下腺の灌流液にバナジン酸を加えたところ, 唾液分泌が認められた。

以上の結果より，唾液腺において，バナジン酸により増強される AQP5 タンパク質の翻訳後修飾が存在し，Ca^{2+}依存性であり，酸化還元による調節されることが示唆された。この翻訳後修飾が何かは不明であるがリン酸化やグリコシル化以外のものであると考えられる。灌流顎下腺を用いた唾液分泌の実験から，本修飾が顎下腺における水分泌に関与することが考えられる。

35. TRPV4 活性化に伴う海馬からの ATP 放出機構とその生理学的意義の解明

柴崎貢志（群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野）
三輪秀樹（群馬大学大学院医学系研究科遺伝発達行動学分野）
加納雄一朗，池中一裕（生理学研究所分子神経生理部門）

中枢神経系には神経細胞だけでなく，神経細胞の数倍のグリア細胞が存在する。特に，アストロサイトは神経細胞と機能連関していると想定され，近年の研究で積極的に神経情報伝達に貢献することがわかってきた。しかしながら，グリア細胞を用いた研究の進展は，神経研究に比べるとまだまだ発達段階にあり，グリア細胞の機能解析・分子レベルの研究の推進が急務である。そして，神経細胞とグリア細胞の研究成果が融合してこそ，脳機能を制御する分子メカニズムの実体を明らかとすることが出来る。

アストロサイトが放出する重要なグリオトランスミッターとして ATP が同定されている。しかし，どのようなアストロサイトが ATP を放出するのか？あるいは，どのようなタイムコースで放出が行われるのかは全く不明である。生理学研究所（池中一裕教授の研究室）には，ATP イメージングを可能とする超高感度画像取得システムが生理学研究所共同利用機器として導入され，リアルタイム ATP イメージングが行われている。

培養アストロサイトを用いたこれまでの研究から，柴崎・池中は，2 種類の TRPV4 特異的な化学リガンド投与に対して生じる 10%のアストロサイトからの ATP 放出が，野生型の細胞でのみ認められ，TRPV4KO 細胞ではこの現象が認められないことを示した。つまり，海馬において TRPV4 活性化依存的にごく限られたアストロサイト集団から ATP 放出が惹起されることを明らかにした（Shibasaki et al. J. Biol. Chem. 2014）。また，柴崎・池中は，TRPV4 活性化→VNUT 含有小胞への放出シグナルというカスケードを経てアストロサイトの ATP 放出が引き起こされることも見いだした（投稿準備中）。柴崎・加納・池中は ATP イメージングシステムの検出感度向上を行い，海馬スライス標本に TRPV4 リガンドを投与した際に白質の特定細胞から ATP 放出が認められることを見いだした。また，柴崎・三輪・池中は，海馬スライス標本に低浸透圧刺激を行い，この刺激に伴いウェーブ上の ATP 放出が出現し, その後に散発的なパラパラとしたいろんな部位での ATP 放出が観察されることを明らかにした。我々は，海馬内においてどのアストロサイトがどういう刺激に応答して ATP 放出を引き起こすのか詳細に調べており，脳内に存在する新たなグリアアセンブリが明らかに出来る。

36. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用

等　誠司（滋賀医科大学医学部）
辻　崇一（東海大学 糖鎖科学研究所）
山中龍也（京都府立医科大学医学部）
正木　勉，森下朝洋（香川大学医学部）

糖タンパク質や糖脂質などに結合する糖鎖は，細胞間相互作用やシグナル伝達などにおいて様々な役割を演じている。中枢神経の発生・分化の過程や，病変に伴って糖タンパク質糖鎖の組成は大きく変動するが，その詳細な動態や意義についてはまだ充分に解明できていない。本共同研究は糖鎖関連遺伝子群の発現解析と糖鎖分析とを通じて中枢神経系の発生・分化の過程の糖鎖変化を網羅的に把握し，それを基に様々な神経疾患と糖鎖変化の関連を解析することを目的とする。

平成 25 年度までに, 時空間特異的な発現の見られる糖鎖関連遺伝子群の中から，新規 α1,3 フコース転移酵素遺伝子 Fut10 に注目し，発生・発達期のマウス脳における発現分布や酵素学的性質を検討した。その結果，神経幹/前駆細胞が集積している脳室周囲に Fut10 遺伝子の強い発現を認め，未分化な神経幹/前駆細胞の発現する LewisX は Fut10 が主に生合成することを報告した。Fut10 が生合成する LewisX 含有 N 結合型糖鎖の詳細を，池中研究室が所持する 3 次元 HPLC 分析システムを駆使して解析を行った結果，例えば A2G2Fo2FB と表記されるような分岐型の糖鎖などが同定された。これらは脳の中では比較的マイナーな成分であり，神経幹/前駆細胞において特殊な機能を担っていると考えられる。さらに，神経幹細胞や ES 細胞で Fut10 をノックダウンすると, 未分化性が維持できず，不適切な分化を誘導することから，Fut10/LewisX は幹細胞の未分化性に関わると考えられるが，その分子メカニズムは不明であった。

平成 26 年度は，分岐型 LewisX 含有糖鎖を発現している糖タンパク質の同定を進めた。現時点で，糖タンパク質の同定には至っていないが, 平成 27 年度以降の共同利用研究においても，最重要課題と位置づけて取り組む予定である。平行して，Fut10 の神経発生における役割を解明するため，共同研究としてコンディッショナルノックアウトマウスを作製中である。これまでに Fut10 遺伝子のターゲッティングベクターの構築を完了し, ES 細胞に形質導入して正しく組み換わりのおきた ES 細胞のスクリーニングを行っている。今後，陽性クローンの ES 細胞を用いてキメラマウスの作製を進め，ノックアウトマウスを作出する予定である。

37. 中枢神経系におけるグリア細胞の発生過程と機能構築形成への関与の解析

小野勝彦[1]，竹林浩秀[2]，後藤仁志[1]，鹿川哲史[3]，渡辺啓介[2]
（[1]京都府立医科大学大学院　神経発生生物学,
[2]新潟大学大学院　神経生物・解剖学分野,
[3]東京医科歯科大学　難治疾患研究所）

転写因子 Olig2 はオリゴデンドロサイト特異的転写因子として報告された。その後，遺伝子欠損マウスの解析から，オリゴデンドロサイトと運動ニューロンの分化に必須であることが示された。一方, Olig2 は脳の広い範囲で領域特異的な発現しており，それらの領域ではグリア細胞の分化に対する機能以外には不明な点が多く残っていた。我々は，前脳における Olig2 機能を明らかにするため，Olig2 欠損マウスを詳細に解析した。まず，Olig2 の下流分子である Dlx1/2 と Islet1/2 を用いて，領域形成を調べた。その結果，遺伝子欠損マウスでは prethalamus の形成が大きく阻害されており Olig2 はこの領域形成に必須であることが示された。この領域形成不全は，Olig2

の欠損により間脳の Olig2 系譜細胞が thalamic eminence（視床隆起）の細胞に運命転換することによるものであることも明らかにした。

Prethalamus は，視床皮質投射回路形成において中間標的として機能していることが予想されている。そこで，胎生末期の Olig2 欠損マウスの視床皮質投射を DiI および DiA を用いて調べたところ，視床内での軸索走行に大きな乱れがみられた。視床皮質投射形成の初期には，Olig2 欠損マウスでは軸索伸長・投射に遅れがみられた。

Cre/loxP を用いた系譜解析では視床皮質線維の起始細胞は Olig2 系譜細胞ではないことがわかり，したがって

回路異常は prethalamus を含む軸索の通過領域の何らかの異常であることが示唆された。マイクロアレイ解析により軸再ガイダンス分子の発現を比較したところ，EphA3 および EphA5 の発現上昇がみられた。EphA3 と EphA5 は prethalamus には発現せず, その腹側に位置する視床隆起の細胞で強く発現していた。Olig2 欠損マウスでは上述との通り視床隆起の領域が広がることから，EphAs の発現が上昇するものと考えられる。これらの分子は，接触依存性反発性軸索ガイダンスに関わるものであり，その発現上昇により回路形成に遅れがみられることは妥当な現象と考えられる。そこで，EphA3 を塗布した培養基質の上で野生型胎仔の視床前駆細胞を培養して，その影響を調べた。その結果，EphA3 の上で培養された視床ニューロンの軸索は有意に短くなり，伸長を抑制することが示された。

以上の結果から，Olig2 は prethalamus の細胞運命決定を通して領域形成に関わり，EphA3（や EphA5）を発現しないことで，視床皮質投射線維を正常な方向に導くことが明らかとなった。この時期の Olig2 陽性細胞は，ニューロン前駆細胞と一部グリア前駆細胞を含むことが細胞系譜解析から示されている。前脳における Olig2 やその系譜細胞の機能が明らかになった。

38. 慢性心血管病治療を指向した革新的創薬基盤技術の構築

浜瀬健司，永井直杜，重松智博，松金良祐（九州大学大学院薬学研究院）

閉塞性動脈硬化症や慢性心不全は予後不良の重篤な病態であり，その画期的な治療法の開発が急務とされている。本研究では，筋細胞（心筋・平滑筋・骨格筋）の再生・修復を制御するシグナルタンパク分子に着目し，これを標的とした新たな創薬基盤技術の構築を試みた。これまでに, 受容体作動性カチオンチャネル TRPC6 が末梢循環障害の創薬標的分子となる可能性を見出してきた。そこで，マウス大動脈血管より単離した平滑筋細胞に TRPC6-mCherry を安定発現させ，既承認薬ライブラリー（1200 種類）を用いて TRPC6 チャネル活性を抑制する化合物の探索を行った。その結果，10 種類の TRPC6 チャネル活性阻害化合物を新たに同定した。そこで，本 10 化合物をマウス下肢虚血モデルに適用し，末梢循環障害に対する改善作用をもつかどうか個体レベルで検討した。Balb/c マウスの腹腔内に各化合物を含ませた浸透圧ポンプを埋め込み，下肢虚血後の血流回復度を比較したところ，10 種類のうち 2 種類の化合物においてのみ強い血流改善効果が観察された。これら 2 化合物投与マウスでは，運動機能も高く維持されていた。

2 種類の化合物を 100mg/kg/day の用量でマウス腹腔内から持続投与したところ，下肢虚血後の末梢血流量が有意に改善した。しかし，その他の TRPC3/6 阻害活性を示す化合物は有意な末梢血流改善作用を示さなかった。以上の結果から，TRPC3/6 チャネル阻害と個体レベルにおける下肢虚血後の末梢循環改善効果には強い相関がないことも明らかとなった。一方，末梢循環改善効果のメカニズム解析の過程で TRPC6 チャネル阻害または欠損によって血管新生よりむしろ血管成熟が促進されることに気づいた。実際，血管平滑筋細胞から単離した初代培養平滑筋細胞においても，TRPC6 欠損またはチャネル活性阻害により収縮型への表現型変化が顕著に誘導されることが明らかとなり，上記２化合物もまた血管平滑筋細胞を有意に収縮型へと誘導した。さらに，血管平滑筋細胞のみならず骨格筋細胞の分化においても TRPC6 チャネルは負の制御因子として働くことが明らかにされ，骨格筋細胞の分化マーカーを指標としたアッセイ系において上記２化合物は確かに骨格筋細胞の分化誘導を促進した。以上の結果は，筋細胞の特定の分化マーカーを指標にし

た TRPC チャネル化合物の探索が，新しい末梢循環障害改善薬のシード発掘の最も良い方法となる可能性を示している。

【計画共同研究報告】

計画共同研究報告

〔 目　　次 〕

1.　メラノプシンの構造揺らぎと機能発現の相関（古谷祐詞ほか）…… 183
2.　ドーパミン受容体ノックアウトマウスを用いた大脳基底核機能の解析（籾山俊彦ほか）…… 183
3.　大脳基底核における Cbln1 ファミリータンパク質の役割（柚﨑通介ほか）…… 184
4.　電気生理学的手法を用いたビオプテリン部分欠乏マウスにおける運動障害発症機構の解析（久保田光ほか）… 184
5.　遺伝子改変サルモデルを用いた大脳基底核の機能と病態の解明（高田昌彦ほか）…… 185
6.　淡蒼球アストロサイトの大脳基底核回路機能に及ぼす影響について（和中明生ほか）…… 185
7.　ウイルス二重感染法を用いたマカクザル盲視神経経路の解明（木下正治ほか）…… 186
8.　マカクサル運動皮質損傷後の機能回復にともなう代償的運動出力経路の解明（肥後範行ほか）…… 187
9.　オプトジェネティックスを用いたマカクサル感覚運動機能の解析に関する基盤的研究（関　和彦ほか）…… 187
10.　母子解離マウスのマイクログリアがシナプス可塑性に与える影響について（高鶴裕介ほか）…… 188
11.　性周期制御における GABA 興奮性作用の役割（渡部美穂ほか）…… 188
12.　多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンのターンオーバーを制御する微小環境の可視化解析（澤本和延ほか）… 189
13.　摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節の研究（塩田清二ほか）…… 190
14.　コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成抑制による脳高次機能の異常の解析（五十嵐道弘ほか）…… 190
15.　*Cyclin-dependent kinase-like 3 (CDKL3)* ノックアウトマウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明
（田中輝幸ほか）…… 191
16.　時計関連遺伝子欠損マウスの行動様式解析（清水貴美子ほか）…… 192
17.　神経系特異的 Na+/H+交換輸送体 NHE5 ノックアウトマウスの行動解析（若月修二ほか）…… 192
18.　PAPS 輸送体 ヘテロ欠損個体の行動様式の解析（西原祥子ほか）…… 193
19.　神経樹状突起 mRNA 輸送・局所的翻訳の高次脳機能解析（大橋りえほか）…… 194
20.　乳幼仔・小児・成熟個体におけるナノマテリアルの情動・認知行動毒性学的評価（森下裕貴ほか）…… 194
21.　電位依存性プロトンチャネル VSOP1 が精神疾患に及ぼす影響の解明（岡村康司ほか）…… 195
22.　NPRP-C KO マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明（片野泰代ほか）…… 195
23.　FcγR IIB 欠損マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明（上野浩司ほか）…… 196
24.　アノールトカゲにおける TRP イオンチャネル受容体活性化温度閾値の種間比較（赤司寛志ほか）…… 197
25.　膜流動性と細胞信号伝達に関する研究（高木昌宏ほか）…… 197
26.　筋機械痛覚過敏の発症と維持におけるイオンチャネルの役割（水村和枝ほか）…… 198
27.　脂肪細胞における UCP1 発現制御における TRP チャネルの機能解析（河田照雄ほか）…… 198
28.　TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明（平田　豊ほか）…… 199
29.　コネクトームを利用した，神経幹細胞の細胞周期に伴う形態変化の観察（玉巻伸章）…… 199
30.　キメラ動物作製法を利用した小脳構築原理の解明（金子涼輔ほか）…… 200
31.　ラット遺伝子の BAC クローンへのレコンビナーゼ Cre-ER の組込みと作成したトランスジェニックラットの
組織化学・細胞生物学的研究（加藤幸雄ほか）…… 201
32.　生殖を制御する脳内メカニズム解明のための遺伝子改変モデルの作製とその解析（東村博子ほか）…… 201
33.　ヒストン H2B ユビキチンリガーゼ Bre1a の神経幹細胞における機能の解析（等　誠司ほか）…… 202
34.　神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの機能解析（八木　健ほか）…… 202

35. 馬ピロプラズマ原虫 *Babesia caballi* および *Theileria equi*　感染赤血球にみられる管状構造の３次元構造解析（五十嵐郁男ほか）…… 203
36. 腎尿細管障害における細胞内 Na+制御とミトコンドリア分裂･融合の役割の解明（齊藤　成ほか）…… 204
37. 髄鞘の形成と疾患におけるミトコンドリア動態の変化とその役割の検討（大野伸彦ほか）…… 204
38. 電子顕微鏡用環境制御セルの開発とその応用（箕田弘喜）…… 205
39. 先端電子顕微鏡を用いた髄鞘の軸索機能調節機序の解析（林　明子ほか）…… 206
40. ノロウイルスの高分解能構造解析（片山和彦ほか）…… 206
41. 連続ブロック表面走査電顕による昆虫視覚第一次中枢モジュール構造の解析（松下敦子ほか）…… 207
42. 連続ブロック表面－走査電子顕微鏡(SBF-SEM)による各種細胞微細構造の立体構造解析（深澤有吾）…… 208
43. 先端電顕観察法によるイネ種子細胞内タンパク質顆粒形成機構の解明（増村威宏ほか）…… 209
44. 連続ブロック表面 SEM による感覚ニューロン系の 3 次元超微形態解析（高浪景子ほか）…… 210
45. 社会行動の分子基盤の理解に向けて：仲間感覚神経システムの 3D 構造の研究（尾崎まみこほか）…… 211
46. 嗅覚系脳神経回路の三次元微細構造的基礎～光顕から電顕へ繋ぐ統合解析～（樋田一徳ほか）…… 212
47. Mapping the domains of Spt4/5 on RNA polymerase II by Zernike cryo-EM（Yi-min Wu ほか）…… 213
48. 微小管のアセチル化制御における新規鞭毛輸送(IFT)タンパク質 MIP-T3 の分子機能解析（北里海雄ほか）… 214
49. 弱毒性狂犬病ウイルスによる逆行性単シナプス分子輸送を応用した運動前ニューロンの同定（梅田達也）… 215
50. 逆行性レンチウイルスベクターを用いた覚醒を導く神経機能の解析（山中章弘ほか）…… 216
51. 逆行性ウィルスベクターを用いた体液恒常性維持神経回路の解析（野田昌晴ほか）…… 216
52. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究（藤山文乃）…… 217
53. ラットヒゲ感覚系における触覚受容器の構造的特性を「3view-SEM」による三次元再構築によって解明する（古田貴寛）…… 217
54. 神経細胞軸索に生じる膨腫構造の超微細構造解析（木下雅美ほか）…… 218
55. 脳特異的な MITOL ノックアウトマウスの形態学的解析（長島　駿ほか）…… 218
56. マラリア原虫感染赤血球におけるマウレル裂の 3D 構造解析（坂口美亜子ほか）…… 219
57. 細胞小器官新生現象の電子顕微鏡による解明（臼田信光ほか）…… 220
58. 神経回路形成における細胞接着分子の機能と作用機構（溝口　明ほか）…… 220
59. SBF-SEM によるニワトリ M 細胞の立体構造解析（齋藤理美ほか）…… 221
60. 甲状腺乳頭癌細胞の核形態　-SBF-SEM による 3 次元解析-（加藤良平ほか）…… 222
61. カエル茸状乳頭の味覚円盤に分布する神経，ならびに円盤を構成する諸細胞の三次元微細構造の解析（田所　治ほか）…… 222
62. ホヤ表皮細胞の最終卵割でみられる細胞分裂の方向制御に関わる新奇な膜構造の電子顕微鏡観察（上野直人ほか）223
63. イネキシンの構造解析に向けた位相差電子顕微鏡の応用（大嶋篤典ほか）…… 223
64. 新規黄色ブドウ球菌巨大バクテリオファージの低温位相差電子顕微による 3 次元構造解析と構造学的アプローチによる生命起源の探索（内山淳平ほか）…… 224
65. PBCV-1 ファイバー状構造体の低温位相差電子顕微鏡による観察（東浦彰史ほか）…… 225
66. SBF-SEM を用いた小型甲殻類の比較形態学（A. Richard Palmer ほか）…… 225
67. 豊かな環境飼育によるマウス・ラットの脳微小形態の変化（平瀬　肇ほか）…… 226
68. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの解析（八木　健ほか）…… 226
69. グルタミン酸受容体遺伝子改変マウスを用いた行動学習の分子基盤の解明（林　崇ほか）…… 227
70. 緑藻クラミドモナスの光化学系Ⅱ超分子複合体の構造解析（皆川　純ほか）…… 228
71. 腸内連鎖球菌 V-ATPase の電子顕微鏡 1 粒子構造解析（飯野亮太ほか）…… 228

1. メラノプシンの構造揺らぎと機能発現の相関

古谷祐詞，塚本寿夫（分子科学研究所）
寺北明久，小柳光正（大阪市立大学理学研究科）
久保義弘（生理学研究所）

ヒトは9種類のオプシンと呼ばれる光受容タンパク質をコードする遺伝子（群）を持っている。これらのオプシンのうち，一つは，桿体視細胞に発現するロドプシンで，暗所での視覚を担っており，3 種類は，それぞれが錐体視細胞において異なる色の光を受容することで，明るい場所での色覚を担っている。残り5種類のオプシンについては，視覚以外の光受容に関わると考えられている。実際，メラノプシンと呼ばれるオプシンが，哺乳類の網膜中の神経節細胞の一部に発現し，これが環境光を受容することで，概日時計のシフトや瞳孔径の調節が行われることが明らかになっている。興味深いことに，メラノプシンは，眼の構造が哺乳類と異なる頭索類ナメクジウオや円口類ヤツメウナギにも存在する。またメラノプシンは，分子系統的には脊椎動物の視細胞で機能するロドプシンなどよりも，イカやハエなどの無脊椎動物の視細胞で機能するオプシンに近縁である。

前年度までにヒトやマウスのメラノプシンの生化学的・分光学的性質をナメクジウオのメラノプシンや無脊椎動物の視覚を担うオプシンと比較し，哺乳類メラノプシンにおいては，発色団レチナールとの結合が熱的に不安定すなわち揺らいでおり，発色団との結合が自発的に切断され，光受容能が失われることを見出していた。

この発色団との結合の「揺らぎ」の程度は，哺乳類の種間で大きく異なっており，部位特異的変異を用いた解析などから，ヒトなどの類人猿において，レチナールとの結合を不安定化させるアミノ酸残基が保存されていることがわかった。このことは，昼行性の類人猿においてメラノプシンが光を受容しにくくなることで，明るい光環境でも，網膜神経節細胞の光応答が飽和しないようにはたらいている可能性を示している（論文投稿中）。

また，ヤツメウナギのもつメラノプシンについても分光学的な解析を行い，哺乳類メラノプシンと同様に青色光を受容することを明らかにした（Sun et al., *PLoS One*, **9**, e108209, 2014)。

さらに，ヒトを含めた様々な動物種に存在し，無脊椎動物では脳内光受容を担うことが報告されているオプシン（エンセファロプシン）についても構造揺らぎの解析を開始した。この解析から，無脊椎動物における「視覚外」の光受容を担うオプシンは，どのような構造揺らぎを持つのかを明らかにすることを目指している。

2. ドーパミン受容体ノックアウトマウスを用いた大脳基底核機能の解析

籾山俊彦，西條琢真（東京慈恵会医科大学・医学部・薬理学講座）
知見聡美，佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）

大脳基底核の機能に関与する神経伝達の障害，特に黒質―線条体ドーパミン系の障害によってパーキンソン症候群や舞踏病に代表される運動異常が観察される。これら運動異常の発症機序を理解するためには，大脳基底核の線条体と関連するシナプス伝達を解析することによって，神経回路の同定とその機能を解明するとともに，行動学的解析によって，動物個体の機能を評価する必要がある。本研究では，ドーパミンD1およびD2受容体各ノックアウトマウスを用いて，大脳基底核関連の行動解析を行い，以下の結果を得た。1) 5日間連続したあらゆる自発行動の解析により，D1 受容体ノックアウトマウスは，野生型より有意に行動量が有意に多く，一方 D2 受容体ノックアウトマウスは野生型より有意に行動量が少なかった。2) 遅い速度でのrota-rod taskでは，D1受容体ノックアウトマウスは，時間とともに成績が向上するのに対して，D2 受容体ノックアウトマウスは始めから良い成績を示してさらなる向上は示さなかった。3) Step-Wheel task では，D1 受容体ノックアウトマウスに

比べ，D2 受容体ノックアウトマウスの方が効率良く飲料水にたどり着くことができた。従来のドーパミン受容体ノックアウトマウスを用いた行動学的解析では，結果が混沌としていたが，本研究では 2 つの受容体の機能を明確に示唆することができたと考えられる(Frontiers in Integrative Neuroscience 8, Article 56, 2014, doi: 10.3389/fnint.2014.00056. eCollection 2014)。

3. 大脳基底核における Cbln1 ファミリータンパク質の役割

柚﨑通介（慶應義塾大学医学部）
佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）

補体は自然免疫系において異物認識に重要な働きを果たす。補体に似た構造を持つ一群のタンパク質，補体ファミリーは中枢神経系においても発現し，シナプス形成・維持・刈り込みやシナプス可塑性を制御することが近年注目されている。例えば補体ファミリーの一員である Cbln1 は小脳顆粒細胞から分泌され，小脳平行線維―プルキンエ細胞シナプスにおいてシナプス形成・維持およびシナプス可塑性を制御する。また同じく別の補体ファミリーの一つである C1qL1 は登上線維―プルキンエ細胞シナプスにおけるシナプス強化と刈り込み過程を制御する。一方，小脳以外の脳領域における補体ファミリー分子の機能や生理的意義についてはいまだによく分かっていない。本研究では，大脳基底核に焦点を絞り，補体ファミリータンパク質 Cbln1 と Cbln4，およびその受容体候補であるデルタ 1 受容体（GluD1）の機能の解明を目指した。

Cbln1 および Cbln4 は視床束傍核（parafascicular nucleus: Pf 核）に発現している。Cbln1 遺伝子欠損（KO）マウスでは，Pf 核からの投射を受ける線条体中型有棘細胞（medial spiny neuron: MSN）の樹状突起上の棘突起が野生型マウスより有意に増加していることが報告された。GluD1 は Cbln1/4 と *in vitro* にて結合するのみでなく GluD1 KO マウスの線条体において Cbln1/Cbln4 タンパク質が低下していることを免疫組織化学染色によってこれまでに確認した。GluD1 KO マウスの生理学研究所への搬入，クリーンアップ，繁殖に当初予定したよりも長い時間を要した。現在野生型及び GluD1 KO マウスの線条体における MSN の棘突起形態について引き続き詳細な検討を進めている。また南部研究室において大脳基底核機能について電気生理学的・行動学的解析を続けている。これらのマウスを用いて，Pf–MSN シナプスにおける Cbln1/4–GluD1 シグナリングの機能と生理的役割について解明を進めていきたい。

4. 電気生理学的手法を用いたビオプテリン部分欠乏マウスにおける運動障害発症機構の解析

久保田光，一瀬　宏（東京工業大学大学院生命理工学研究科）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

テトラヒドロビオプテリン（BH4）は，ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンなどの神経伝達物質の生合成に必須な化合物である。BH4 生合成律速酵素である GTP シクロヒドロラーゼ I のヘテロな遺伝子変異による BH4 のマイルドな欠乏(部分欠乏)から，遺伝性ジストニアの一つである DYT5 が引き起こされる。DYT5 におけるジストニアの症状は，ドーパミンの前駆体である L-DOPA の投与によりほぼ消失するので，線条体ドーパミンの欠乏によりジストニアが生じると考えられている。しかし，黒質線条体系ドーパミンニューロンの変性を伴うパーキンソン病の主徴はパーキンソニズムであり，ジストニアではない。BH4 欠乏により引き起こされるドー

パミン欠乏ではジストニアが発症し，パーキンソン病におけるドーパミン欠乏ではパーキンソニズムが発症するメカニズムの違いは明らかとなっていない。

ヒトと異なりマウスでは DYT5 の原因遺伝子である GTP シクロヒドロラーゼ I のヘテロな変異では脳内モノアミンの欠乏は起こらない。また，完全ノックアウトマウスは胎生致死となり，生まれてこない。これに対して，BH4 生合成の第 3 段階を担うセピアプテリン還元酵素のノックアウトマウス（Spr-KO マウス）は，脳内 BH4 が野生型の約４分の１に低下し，脳内モノアミンも減少していることから，BH4 部分欠乏の DYT5 のマウスモデルとなる。

本研究では，BH4 部分欠乏モデルによるモノアミン欠乏状態での大脳基底核の情報処理に及ぼす影響を，従来のパーキンソン病モデルと比較検討することにより，ジストニア・パーキンソニズムの発症機構を解明することを目的として，Spr-KO マウスの大脳基底核の細胞外記録を行っている。

今年度の研究において，Spr-KO マウスの淡蒼球外節および内節において細胞外記録を行った。その結果，淡蒼球外節で大脳皮質運動野の電気刺激の際に現れる三相性の電位変化（興奮->抑制->遅い興奮）のうち，遅い興奮が野生型に比べて Spr-KO マウスで異常に増強していることを見出した．今後さらに淡蒼球内節など他の部位における変化を解析していく。

5. 遺伝子改変サルモデルを用いた大脳基底核の機能と病態の解明

高田昌彦，井上謙一（京都大学霊長類研究所）
小林和人（福島県立医科大学医学部）
星　英司（東京都医学総合研究所）
畑中伸彦，南部　篤（生体システム研究部門）

昨年度に引き続き，狂犬病ウイルス固定株（CVS25）に４種類の蛍光タンパク質（緑，赤，青，赤外）遺伝子を組み込んだ狂犬病ウイルスベクターを用いた，多重逆行性越シナプス的ニューロンラベルによる大脳皮質-大脳基底核ループ回路の構築様式を解析するための実験を行った。これらのウイルスベクターを前頭前野の異なる４領域に注入したところ，親株である CVS25 と同等の逆行性感染伝搬効率を保持しており，一次ニューロンのラベルに約４８時間を要し，注入後９０～１００時間で２つのシナプスを介する三次ニューロン（線条体の投射ニューロン）がラベルされていることがわかった。また，大脳基底核の様々な部位に，蛍光タンパク質によって多重ラベルされているニューロンが観察された。

6. 淡蒼球アストロサイトの大脳基底核回路機能に及ぼす影響について

和中明生，辰巳晃子，森田-竹村晶子，奥田洋明（奈良県立医科大学　第二解剖学講座）
佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）

我々は Olig2-CreER/ROSA-floxed-GAP43-EGFP ダブルトランスジェニックマウス（以降ダブル TG マウス）を用いて，成体脳内での Olig2 陽性細胞の形態変化を解析する過程で，大脳基底核回路を構成するいくつかの神経核において EGFP 陽性且つ S100β陽性の細胞が存在することを見出した。S100βは成熟アストロサイトのマーカーであり，EGFP 免疫組織化学の結果はアストロサイトの特徴的な形態を呈することからこの細胞集団は成熟アストロサイトであると考えられた。基底核及び関連神経核の中では淡蒼球，視床下核，黒質網様部，視床にこの Olig2 陽性アストロサイトが特に集積することから，運動機能との連関が存在する可能性があり，このことを検

証する目的で，ダブル TG マウスに Running Wheel を与えて自発運動を 2 週間させた。運動をしていないコントロールマウスに比して，運動したマウスでは淡蒼球での Olig2 陽性アストロサイトの形態が複雑化することが分かった。この形態変化は EGFP の蛍光量の定量解析，及び EGFP の免疫電顕法による形態解析で有意であった。さらに運動負荷をしたマウスを 2 週間安静にさせるとこの形態変化はコントロールレベルに復することも明らかとなった。これら形態変化は大脳基底核神経回路の活動性に応じていることから，Olig2 陽性アストロサイトは淡蒼球などの神経核における神経伝達を修飾している可能性が強く示唆された。この仮説を検証する目的でダブル TG マウスの一側の黒質緻密部にドーパミン細胞特異的な神経毒である 6−OHDA を注入して片側パーキンソン病モデルを作成した。このマウスでは障害側の淡蒼球での神経伝達が健側に比して抑制されており，我々は障害側の Olig2 陽性アストロサイトに光感受性のチャネロドプシン或いはアーキロドプシンを AAV ベクターを用いて発現させ，青色レーザー或いは黄色レーザーを光ファイバーを用いて淡蒼球に導入し，アストロサイトの機能変化を人為的に誘導した際に，淡蒼球の神経活動を電気生理学的に，また運動機能の変化（回転運動）を行動学的に検討すべく現在マウスを作成中である。

7. ウイルス二重感染法を用いたマカクザル盲視神経経路の解明

木下正治（弘前大学大学院医学研究科）
伊佐　正（生理学研究所・認知行動発達機構研究部門）
小林憲太（生理学研究所・ウイルスベクター作成室）

大脳皮質第一次視覚野（V1）に損傷のある患者は損傷視野に対する視覚的な意識（視覚的気付き）が障害を受ける。しかし一部の患者は視覚的気付きが無いにも関わらず，損傷視野にある視覚対象の位置を答えることが出来る。このような現象は‘blindsight’（盲視）と呼ばれている。盲視を担う神経機構として上丘が重要であることが示されている（Kato et al., 2011）が，上丘からどのような経路で盲視の視覚情報処理が行われているかについては議論がある。本研究では盲視モデルサルを用いて実験を行い，上丘から視床枕への経路が盲視に重要であることを示した。

実験には生理学研究所認知行動発達機構研究部門（伊佐教授）で作成された片半球の V1 を吸引除去した盲視モデルマカクザルを用いた。MRI 撮影および金属微小電極を用いた電気生理学的実験により上丘および視床枕の位置を同定した後，GABA アゴニストであるムシモルの微量注入を視床枕に行いその活動を抑制した。その結果視覚誘導性サッケード（visually guided saccade, VGS）課題の成績が有意に低下した。次にウイルスベクター作成室（小林准教授）で作成したレンチウイルスベクターおよび AAV ベクターを用いて二重遺伝子導入法（Kinoshita et al., 2012）をこの系に適用し，上丘から視床枕への神経伝達を選択的に遮断した。その結果 VGS 課題の成績が有意に低下した。

これらの結果から，盲視の視覚情報処理には視床枕が重要な役割を担っていることが示唆された。更に，盲視に必要な視覚情報は上丘を介して視床枕へ伝えられていることが示唆された。

8. マカクサル運動皮質損傷後の機能回復にともなう代償的運動出力経路の解明

肥後範行，村田　弓（産業技術総合研究所）
林　拓也（理化学研究所）
大石高生（京都大学霊長類研究所）
山本竜也（つくば国際大学）

脳の損傷によって失われた運動機能が，損傷後の運動訓練によって回復することが知られている。その背景として，損傷を免れた残存脳領域の機能および構造的な変化があると考えられている。回復過程で生じる脳の機能および構造変化の詳細を明らかにすることが出来れば，脳機能回復を促進する技術の開発にも寄与することが出来る。マカクサルを用いてPETを用いた脳機能イメージングとムシモールを用いた神経活動抑制実験をおこなった実験の結果から，大脳皮質からの運動出力を担う第一次運動野を不可逆的に損傷した後，運動前野腹側部において脳活動の上昇が生じることが，運動機能回復に必須であることが明らかになった (Murata et al., 2015)。さらに解剖学トレーサーを用いた組織化学的解析によって，回復に伴って運動前野腹側部から皮質下神経核への出力線維に構造的な変化が生じていることが明らかになった。運動前野腹側部からの出力線維の変化が，どのような機能的な役割の獲得に関係しているのかを明らかにするために，伊佐正教授らが確立した，遺伝子導入技術を用いた経路選択的不活性化を用いた実験を計画した。具体的には，第一次運動野損傷後把握動作の回復が見られたマカクサルの運動皮質と運動出力核に逆行性レンチウィルスベクターとアデノ随伴ウィルスベクターの 2 重感染を行うこととした。今年度の実験では，まずマカクサルの中心溝周辺領域の頭骨を除去した後，皮質内微小刺激を運動野に対して行った時の体部位の動きを記録することで，第一次運動野に存在する運動機能地図の同定を行った。同時に，神経活動記録を行いながら刷毛を用いた触覚刺激を体部位に与え，第一次体性感覚野の各領域の神経活動応答を調べることで，体性感覚野に存在する体部位局在の同定を行った。体性感覚野から運動野への感覚入力経路に対するウイルスの感染効率を検証するため，第一次体性感覚野（ブロードマンの 2 野）の中で手の感覚入力を受ける領域にアデノ随伴ウィルスベクターの導入を行った。第一次運動野の中では，中心溝の前壁に体性感覚野からの入力を多く受ける領域があるため，中心溝前壁領域のうち手の運動出力を担う領域に逆行性レンチウィルスベクターの導入を行った。ウィルスベクターを導入する上で障害となる硬膜と脳実質の癒着など，実験を行う上での問題点を整理して今後の実験に活用していく予定である。

9. オプトジェネティックスを用いたマカクサル感覚運動機能の解析に関する基盤的研究

関　和彦，梅田達也，工藤もゑこ，Sidikejiang wupuer
（国立精神・神経医療研究センター・モデル動物開発研究部）

光遺伝学的技術を用いてマカクサルの末梢神経活動を人為的に制御する技術を確立することが本研究の目的であった。本年度は昨年度にひき続き認知行動発達研究部門及びウィルスベクター作成室と共同で，光刺激によって神経細胞活動の抑制が可能な，アーキロドプシンを末梢神経に導入するために必要なウィルスベクターの検討を行った。具体的には以下のウィルスベクター を作成し，ラット座骨神経及び後根神経節（DRG）に微量注入し，１か月後に DRG 及び末梢神経・脊髄を摘出して導入効率を確認した。本年度は最適ベクターの選択をチャンネルロドプシンの導入効率によって評価した。評価は，免疫組織化学的手法及び電気生理学的手法によって行なった。その結果，開発されたベクターにより末梢神経活動の人工制御が可能になることを確認した。

10．母子解離マウスのマイクログリアがシナプス可塑性に与える影響について

高鶴裕介（群馬大学大学院医学系研究科応用生理学分野）
鍋倉淳一（生理学研究所発達生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門）

人の発達・成長過程において，個体を取り巻く環境が需要である。しかしながら近年，社会構造の複雑化に伴い，子供たちを取り巻く環境は必ずしも良好とは言えない。発達・成長期における身体的・心理的ストレスの影響が，長い時間経過の後に様々な精神疾患を引きおこすことが知られており，ストレスが引き起こす長期的な影響を研究し，背景にあるメカニズムを解明することが大変重要である（Takatsuru and Koibuchi, Front. Mol. Neurosci., 2015）。

代表者はこれまで母子乖離(Maternal deprivation; MD)マウスを用いた研究を続けており，体性感覚野のシナプス可塑性の異常（スパインの不安定化）および知覚過敏症の存在を報告した（Takatsuru et al., Brain Res., 2009）。また，MD マウスでは体性感覚野においてグルタミン酸の過剰放出が起こっていることもわかった （Toya et al., Eur. J. Neurosci., 2014）。

近年，マイクログリアが脳においてシナプス構造に対し積極的な働きかけを行っていることが *in vivo* imaging の手法により明らかになっており，過剰興奮を起こしたシナプスを「刈り込む」役割があることが示唆されている （Wake et al., 2009）。この働きの誘因となる因子の一つとしてグルタミン酸濃度の上昇が重要であることも示唆されている （Kato et al., unpublished data）。

そこで本研究課題では，MD マウスの体性感覚野におけるマイクログリアの動態について *in vivo* imaging の手法を用いて検証することを行った。MD マウスおよび対照群について，約 15 分間の imaging を行い，次に，末梢刺激を 20 分間入力した後でのマイクログリアの突起伸長／退縮の様子について経時的に観察した。その結果，MD マウスの体性感覚野において，伸長／退縮を起こす突起の数が増加しており，これらの突起が伸長した状態で制止する時間が増加していることがわかった。また，上記と同様な 20 分間の末梢刺激を行った際，MD マウスのみ体性感覚野におけるグルタミン酸濃度の持続的な上昇が認められることも分かった。

本研究成果をまとめた論文が J. Physiol. Sci. 誌に採択された。

11．性周期制御における GABA 興奮性作用の役割

渡部美穂（浜松医科大学医学部医学科神経生理学講座）
鍋倉淳一（生理学研究所発達生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門）

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生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)ニューロンである。成熟動物の脳内において主要な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しているという特有な性質に注目し，テトラサイクリン遺伝子発現誘導系をマウス個体に応用し，GABA の抑制性作用を維持するトランスポーターであるカリウム-クロライド共役担体(KCC2)を GnRH ニューロンのみで特定の時期に過剰発現させることにより，GnRH ニューロンへの GABA 作用を興奮性から抑制性に変化させることができる独自に作製した遺伝子改変マウスを使用し，生殖機能における GABA 興奮性作用の役割について検討を行った。性成熟後にドキシサイクリンの投与を中止し，GnRH ニューロンへの GABA 作用を興奮性から抑制性に変化させたところ，発情期が長く続くという乱れた性周期を示し，排卵を引き起こす周期的な黄体形成ホルモンの大量分泌が減少し，妊娠が認められなかった。卵胞成熟に関わる黄体形成ホルモンのパルス状分泌は検出限界以下であり，卵巣を観察すると成熟卵胞が認められず，小さな卵胞が多数存在していた。ドキシサイクリン

を再投与し，GnRH ニューロンへの GABA 作用を興奮性に戻すと妊娠が認められた。出生後すぐに GABA 作用を抑制性に変化させても思春期の膣開口時期には変化がみられなかった。以上の結果より，GnRH ニューロンへの興奮性 GABA 入力が性成熟後の生殖機能の維持に重要な役割を持つことを個体レベルで明らかにすることができた。さらに，このような生殖機能の変化を引き起こした GnRH ニューロンの細胞生理学的な変化を明らかにするために，GnRH ニューロンの活動を loose patch clamp recording 法により記録し，$GABA_A$ 受容体のアゴニストであるムシモールの作用を検討したところ，ムシモール投与により GnRH ニューロンでは自発発火の増加がみられたが，KCC2 を過剰発現させた GnRH ニューロンではムシモールにより自発発火の抑制がみられた。よって，GABA 入力を抑制性に変化させることにより，GnRH ニューロンの活動性が低下し，生殖機能に影響がみられた可能性が考えられた。

12. 多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンのターンオーバーを制御する微小環境の可視化解析

澤本和延，澤田雅人（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野）
鍋倉淳一（生理学研究所発達生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門）

哺乳類の脳室下帯では，成体でも神経幹細胞が存在し，生涯にわたり新生ニューロンを産生している。産生された新生ニューロンは，嗅覚の一次中枢である嗅球へと移動し，抑制性ニューロンとして成熟する。一方，古いニューロンは細胞死を起こし，嗅球ニューロンは常に入れ替わることで嗅球神経回路を維持している。これまでの研究では，生きた動物で同一ニューロンを長期間追跡することが困難であったため，嗅球ニューロンのターンオーバーの制御機構は十分に研究されていなかった。我々は以前，生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門との計画共同研究により，多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンの長期生体イメージング法を確立し，嗅覚入力が嗅球ニューロンのターンオーバーを時空間的に制御することを報告した（Sawada et al., ***J. Neurosci.***, 2011）。しかし，その詳細な制御メカニズムは不明である。そこで本研究では，ターンオーバーが生じる周囲の血管およびグリアとの関係に着目し，確立した嗅球ニューロンの生体イメージング法を発展させて，ニューロンのターンオーバーが生じる微小環境とその制御機構を解析することを目的とした。

嗅球の抑制性ニューロン全てで Venus を発現するマウス（*VGAT-Venus* マウス）およびドパミン作動性嗅球ニューロンで tdTomato を発現するマウス（*TH-Cre;R26R-tdTomato* マウス）を用い，血管に蛍光色素を注入して嗅球ニューロンと血管の同時生体イメージングを行った。その結果，新生ニューロンの定着および古い嗅球ニューロンの細胞死が血管近傍で生じることを明らかにした。また，本イメージング法を用いて血流を測定することが可能になり，ニューロンのターンオーバーと血流との関係を解析中である。

ミクログリアは脳内の免疫細胞であり，生理的条件下で死細胞を貪食し，周囲の微小環境の恒常性を保つ。血管とミクログリア（*Iba1-GFP* マウス）の同時生体イメージングによって，血管に隣接したミクログリアの貪食嚢の動態を明らかにした。また，組織学的解析により，ミクログリアの貪食嚢にはピクノーシスを起こした嗅球ニューロンが含まれることを明らかにした。

以上の結果から，血管やミクログリアが嗅球ニューロンのターンオーバーを時空間的に制御している可能性が示唆された。

13. 摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節の研究

塩田清二，平子哲史，和田亘弘（昭和大学医学部解剖学講座顕微解剖学部門）
影山晴秋（桐生大学医療保健学部栄養学科）
竹ノ谷文子（星薬科大学薬学部運動生理学研究室）
岡本士毅，箕越靖彦（生理学研究所）

ガラニン様ペプチド(GALP)は，1999 年大瀧らによってブタ視床下部から単離同定された抗肥満作用を有する神経ペプチドである。GALP の発見以降，その生理作用についての様々な研究がなされており，マウスにおいて，GALP 投与により摂食量と体重の減少を引き起こすなど，GALP の抗肥満効果が報告されている。GALP 発現は脂肪組織から分泌されるレプチンによって調節されており，また，視床下部内で複数の摂食調節ニューロンと神経相関を行なうことを我々は明らかにしてきた。加えて，GALP を脳室内に投与するとその直後に呼吸商が低下することを見出した。これは脂質代謝が亢進していることを示唆する結果であり，GALP の新しい生理作用として注目し，C57BL/6 マウスに GALP を脳室内投与後の脂質代謝に与える影響を調べた。その結果，脳室内投与後およそ 1 時間後から呼吸商が GALP 群で Vehicle 群と比較し有意に減少した。また，肝臓中の脂肪酸酸化に関与する遺伝子発現は GALP 群で有意に増加し，脂肪酸合成に関与する遺伝子発現はそれぞれ有意に減少した。また，脂肪組織中の脂肪分解に関与する HSL，ATGL の遺伝子発現が増加した。GALP 投与によりみられた呼吸商の減少は，交感神経遮断により消失した。加えて，肝臓および脂肪組織での遺伝子発現の変化も交感神経遮断によって消失した。これらの結果から，GALP は摂食調節作用に加え，肝臓および脂肪組織での脂質代謝を改善することで抗肥満作用を示している事が示唆された。また，GALP による脂質代謝亢進作用は交感神経を介していることが明らかとなった。そこで，本研究では，肥満マウスに対する長期間の GALP の点鼻投与による抗肥満効果およびその作用機序を解明するために実験を行った。実験方法として，5 週齢の雄性 C57BL/6J に 15 週間高脂肪食を給餌させた食餌誘発性(DIO)マウスを用い GALP を脳室内投与した後，呼吸商および脂質代謝関連遺伝子発現を測定した。その結果，DIO マウスへの GALP 点鼻投与によって，体重増加が有意に減少した。肝臓 TG 値は GALP 群で減少し，肝臓脂肪酸酸化関連遺伝子発現は GALP 群で増加した。以上の結果から，GALP は脳室内投与だけではなく，点鼻投与によっても脂質代謝が亢進することで抗肥満作用を示すことが示唆された。GALP の生理機能がより明らかになれば，新規の肥満や糖尿病といったメタボリックシンドロームの予防・治療法開発につながると考えられる。

14. コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成抑制による脳高次機能の異常の解析

五十嵐道弘，吉岡　望（国立大学法人新潟大学）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

コンドロイチン硫酸(CS)は，細胞外基質の主成分の 1 つであり，シナプス可塑性を調節する構造体である perineuronal nets (PNNs)の主体となっている。従ってその量的な変動は神経可塑性の調節に大きな影響を与えることが想定される。PNN はプロテオグリカンの集合体として，特に GABA 作動性のインターニューロンである PV ニューロンの活動性を調節することが種々の結果として得られている。しかしこれまでの先行研究は，局所へのコンドロイチナーゼ注入による薬理学的な方法論のみであり，結果もかなり定量的には大雑把なものである。動物の高次機能などは，部位局在が全てわかっているわけではないため，この方法では行動のような高次機能の研究はできない。このような点に鑑み，われわれが作成した CSGALNACT1 (T1)-KO マウスは CS 合成の律速

酵素の欠損によって，PNN の欠落や，CS 量の半減が知られているため，これを用いホモマウスで行動バッテリー解析を行った。

（結果）WT との比較により，当該マウスには Open field テストの異常，運動の過剰（rotor rod test による有意の成績向上）と思われる行動異常が見いだされた。一方，記憶障害，社会性の異常などの徴候は有意には認められなかった。また聴覚驚愕反応には有意な差が認められた。強制水泳，迷路テストでも差は認められなかった。一方，PNN の分布に関しては一定の脳内の差があり，部位ごとに差が認められた。脳内の CS 含量は，おおよそ半減していることが認められた。

（考察・今後の結果）この結果は，前年度のヘテロマウスの行動解析異常を補強するものであり，このマウスが全脳での CS 合成減少に対応するものと考えられる。T1KO については視覚可塑性の異常がすでに証明されており (Sugiyama, Yoshioka, Igarashi, et al.: submitted)，T1KO の異常が行動面で新たに見出された点も，CS の可塑性調節機構に合致するものである。今後，さらにこのアイソフォームである T2 についても KO マウスの行動解析を行うことにより，PNN に関係する CS 機能の明確な高次機能との関連性を追究できるものと考えている。

15. *Cyclin-dependent kinase-like 3 (CDKL3)* ノックアウトマウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

田中輝幸（東京大学大学院医学系研究科　発達医科学教室）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

（目的）Cyclin-dependent kinase-like (CDKL) ファミリーは，CDKL1～CDKL5 の 5 種類からなるキナーゼファミリーであるが，*CDKL5* は非定型 Rett 症候群という重度発達障害の原因遺伝子，*CDKL3* は常染色体優性精神遅滞の原因遺伝子であり，*Cdkl2* ノックアウト (KO) マウスは学習・認知機能の障害を持つ。この様に，CDKL ファミリーは精神・神経機能の発達に重要な役割を担うと考えられる。我々はこれまで，*CDKL5* 遺伝子変異に伴う病態機序解明の目的で *Cdkl5* KO マウスを作製し，記憶・学習障害，情動異常，易けいれん性など，ヒトの病態と共通する表現型と，NMDA 受容体の局在・機能異常を同定し，CDKL5 が興奮性シナプス機能の調節に重要な役割を果たす事を見出した。私は，*CDKL2, CDKL3, CDKL5* の発現・局在・LOF 表現型の類似性から，「CDKL ファミリー蛋白は，各々神経細胞シナプス伝達制御を介し，互いに部分的に機能重複，共通する経路で作用し，記憶・認知・学習を制御する」という仮説を立て，多角的な手法で検証を行う本研究を開始した。

（方法）① *Cdkl3* KO マウスの作製及び行動解析：*Cdkl3* flox マウスを，CAG-Cre マウスと交配し，*Cdkl3* KO マウスラインを作出する。*Cdkl3 -/-* マウスの，網羅的行動テストバッテリーを用いた行動解析を行う。

② *Cdkl3* KO マウスのシナプス解析：*Cdkl3 -/-* マウスの海馬スライスを用いた電気生理学的解析，シナプス蛋白の生化学的解析，電子顕微鏡的解析などを行う。

（結果）① 新潟大学脳研究所，崎村建司教授との共同研究により，*Cdkl3* flox マウスを作製した。*Cdkl3* flox マウスを大阪大学大学院医学系研究科，宮崎純一教授より譲受の CAG-Cre マウスと交配し，cre リコンビナーゼによるゲノム組換えが起こった *Cdkl3* KO マウスラインを樹立した。*Cdkl3 +/-* メスマウスと *Cdkl3 +/-* オスマウスの交配を開始したが，*Cdkl3 +/-* メスマウスは仔の喰殺率が高く，育仔行動が不良であった。現在，十分数の *Cdkl3 -/-* マウスが得られるよう交配，繁殖を繰り返している。

② *Cdkl3* KO マウスのシナプス解析は，十分な *Cdkl3 -/-* マウスが得られず行えていないが，*Cdkl3* のホモログ *Cdkl5* KO マウスの興奮性シナプス解析によって，*Cdkl5* KO マウスでは，大脳皮質，海馬の興奮性シナプスのシナプス後肥厚(PSD)に NMDA 受容体蛋白 GluN2B 及び MAGUK 足場蛋白 SAP102 の異常集積を同定し，CDKL5 と PSD 蛋白複合体とのリン酸化相互作用を同定した。

（考察）*Cdkl3 +/-*メスマウスは，仔の喰殺，育仔行動が不良など，その情動，精神・神経機能に異常が強く示唆される。今後，*Cdkl3* KO マウスの行動学的，細胞生物学的，電気生理学的解析を進め，CDKL3 LOF による

精神・神経機能障害の解明を行うと共に，*Cdkl5* KO マウスと CDKL5 蛋白相互作用の解析から得られた知見を基に，CDKL3 の分子作用ネットワークの解明から，CDKL ファミリーLOF の分子メカニズム解明を進める。

16. 時計関連遺伝子欠損マウスの行動様式解析

清水貴美子（東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

ほぼすべての生物には概日時計があり，睡眠・覚醒，血圧やホルモン分泌などさまざまな生理機能が制御されている。最近では，基本的生理機能だけでなく，様々な脳高次機能も概日時計によって制御されると考えられ始めている。鬱病などの感情障害はしばしば生体リズムの異常を伴い，またリズム障害の患者では鬱病などの発症頻度が高い事が知られている。このように時計システムと情動などを含めたさまざまな脳高次機能との連関が示唆されているなか，そのメカニズムに関しては何もわかっていない。本研究課題では，概日時計構成分子の欠損マウスおよび概日時計のアウトプットに関与していると考えられる分子 SCOP の欠損マウスを用いて行動の表現型を解析する。この解析から，精神機能をはじめとしたさまざまな生理機能と生体リズム維持機構との連関，さらにはこれらの連関のメカニズム解明に繋げる情報を得ることを目的とする。

行動様式解析を行うにあたり，我々は，実際に高次脳機能がマウスにおいて日周変動するかを検討した。その結果，記憶効率や不安様行動に日周変動がみられる事を確認した。本研究課題で用いる前脳特異的時計遺伝子欠損マウスと SCOP 欠損マウスを用いて，記憶効率と不安様行動の日周変動を検討したところ，野生型で見られていた日周変動は何れのマウスでも見られなくなった。時計遺伝子と高次脳機能調節機構との間には，SCOP が関わる分子シグナリングが介在すると考えられる。

一方，本研究課題で用いる前脳特異的時計遺伝子欠損マウスは，Cre をもちいた前脳特異的コンディショナルノックアウトマウスであり，行動解析を行うにあたりノックアウト効率を確認する必要があった。RT-qPCR により海馬の mRNA の発現量を検討したところ，mRNA の発現はほぼ認められず，また，他の時計構成分子の概日リズム性も失われていた。このことより前脳特異的に概日時計機能が失われたマウスの作成に成功したと考えられる。

概日時計は，記憶効率や不安様行動だけでなく他の脳生理機能にも関わっていると考えられるため，今年度はこれら SCOP 欠損マウス，前脳特異的時計遺伝子欠損マウスを用いて更に多様な行動解析を行う予定である。

17. 神経系特異的 Na+/H+交換輸送体 NHE5 ノックアウトマウスの行動解析

若月修二，荒木敏之（国立精神神経医療研究センター神経研究所・疾病研究第五部）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

研究目的

NHE5 は神経系特異的に発現する Na^+/H^+交換輸送体(NHE)をコードする遺伝子 SLC9A5 としてクローニングされたが，NHE として機能すること以外その生体内における役割はほとんど解明されていない。また，脊髄小脳失調症 4 型，常染色体優性小脳失調症の患者で変異が見つかった遺伝子座に当該遺伝子が含まれているなど，神経変性疾患との関与が示唆されていることから，NHE5 の生理的役割と病態との関連を明らかにすることを目的として本研究を実施した。

研究方法

昨年度に引き続き，行動様式解析室との共同研究により，網羅的行動様式テストバッテリーを用いた行動観察を行った。成熟した NHE5 ノックアウトマウス

（NHE5KO）と野生型マウスを比較し，運動・学習能力，社会性および感覚機能等，脳神経系の機能評価を行った。

結果・今後の展望

昨年度までに，NHE5KOとポリグルタミン病モデルとを交配させたマウス脳において，ポリグルタミン凝集体数が顕著に増加することを発見した。培養細胞を用いた解析から，NHE5 の機能を低下させた細胞では凝集タンパク質の分解に寄与するオートファジーのはたらきが低下していた。これらのことから，NHE5 がオートファジーのはたらきを促進することが示唆された。一方，NHE5KOにおいて，野生型と比較して主に社会性行動の変化，特に新規環境下において活動量が低下する傾向を認めた。今後は c-fos 遺伝子の発現動態などを指標に，同マウスの表現型とニューロンの活動低下とを関連付けるための検討を行うとともに，さらに詳細な行動学的解析を行う必要があると考える。また，ポリグルタミン病とは別の機序により神経障害を来す神経変性疾患モデル，例えばアルツハイマー病モデルの一種である 5xFAD マウスをNHE5KOと交配させたマウスなどを用い，脳組織における生化学的，組織学的な解析，並びに行動解析を実施する計画である。これらの解析を通じて，神経変性疾患モデルにおける凝集タンパク質除去への NHE5 の寄与を明確にし，NHE5 の活性を強化する方法を確立することなどにより，NHE5 を治療標的とした疾患症状の改善方法の開発を目指す。

18. PAPS 輸送体 ヘテロ欠損個体の行動様式の解析

西原祥子（創価大・理工学部）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

硫酸化は広汎に認められる翻訳後修飾の一種であり，モルフォゲンの分布の決定や様々なリガンド分子の受容体への結合に重要な機能を果たしている。様々な硫酸転移酵のドナー基質である PAPS は，細胞質で合成され，硫酸化修飾の行われるゴルジ体内腔へ PPAPS 輸送体(PAPST)により輸送される。このため，PAPST の発現が抑制されると，ヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸などの糖鎖やペプチドの硫酸化が低下する。我々は，ゴルジ体で発現する 2 種の *PAPST*, *PAPST1* [1] と *PAPST2* [2] を同定し，その発現を検討した。多くの組織では *PAPST1* と *PAPST2* の両者が発現しているが，脳では *PAPST1* の発現量は *PAPST2* の 5 倍高かった。そこで，*PAPST1* のノックアウトマウスを作製したところ，そのホモ欠損個体は胎生致死であったが，ヘテロ欠損個体では，*PAPST1* の発現低下に起因する様々な表現型が認められた。その一つとして，マウスの集団飼育の観察では，*PAPST1* ヘテロ欠損個体の行動異常が示唆された。

本研究では，*PAPST1* ヘテロ欠損個体の行動様式の解析を行い，神経系における新規な PAPS 輸送体の役割を明らかにすることを目的とした。13 から 15 週齢の *PAPST1* ヘテロ欠損個体と同腹の野生型個体を各々21 匹，及び，23 匹用意した。現在，明暗選択試験，オープンフィールド試験，社会的行動測定試験，ローターロッド試験，プレパルス抑制，ポーソルト強制水泳試験，八方向放射状迷路，高架式十字迷路，テールサスペンジョン試験，ビームテスト，Y 迷路など，網羅的な行動様式の解析を行っている。さらには，見出された異常の原因と予測される脳部位において，各種構成細胞の分布の検討，*PAPST1* の発現の検討，種々の硫酸化糖鎖の発現の検討，及び，各種シグナルの検討などを行い，異常との因果関係を明らかにする予定である。

1) Kamiyama S, Nishihara S et al., J. Biol. Chem., 278, 25958-25963 (2003).
2) Kamiyama S, Nishihara S et al., J. Biol. Chem., 281, 10945-10953 (2006).

19. 神経樹状突起 mRNA 輸送・局所的翻訳の高次脳機能解析

大橋りえ，椎名伸之（基礎生物学研究所・神経細胞生物学研究室）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

RNG105 (RNA granule protein 105) は RNA 粒子に局在する RNA 結合タンパク質であり，神経樹状突起において mRNA 輸送および局所的翻訳制御を担う。近年，RNG105 の片方のアレル上のナンセンス de novo 変異とアスペルガー症候群発症との関連が報告され，自閉症スペクトラム障害のリスク遺伝子の候補となる可能性が示唆されている。RNG105 欠損マウスではシナプス結合の減少，神経ネットワークの貧弱化等が引き起こされるが，生後間もなく致死となるため高次脳機能への関与は明らかにされていない。

そこで本研究では，RNG105 ヘテロマウスを用いて網羅的行動テストバッテリーを行い，脳神経系における RNG105 の発現量の半減が高次脳機能に与える影響を検証することを目的とした。C57BL/6J と 10 世代以上戻し交配させた RNG105 ヘテロマウスの雄 1 匹と野生型マウスの雌 4 匹の組み合わせを 10 組掛け合わせ，得られたマウスのうち出生日が 1 週間以内の RNG105 ヘテロマウスの雄 20 匹を mutant 群，同腹仔の野生型マウスの雄 23 匹を control 群として用いた。12 週齢より行動実験を開始し 63 週齢に至るまで，学習実験も含め 21 種類の行動実験をおこなった。

身体的所見，活動性，不安様行動，うつ様行動，驚愕反応，知覚，運動学習，協調運動，歩行，参照記憶，作業記憶，文脈記憶においては control 群と mutant 群で行動特性に有意な違いが認められなかったのに対し，社会性行動，新規物体への興味において RNG105 ヘテロマウスは control 群とは異なる行動特性を示した。また，RNG105 ヘテロマウスは control 群と比較して得意とする課題が存在し，更に，幾つかの学習テストにおいては逆転学習の際に成績が低下する傾向が見られた。これらの結果はアスペルガー症候群の特徴を支持するものであり，脳における RNG105 の量的減少が自閉症様症状と深く関与する可能性を示唆する。

今後，社会性行動との関連に特に注目し，RNG105 ヘテロマウスを用いて行動面から更なる解析を進める。また，RNG105 が上述した表現型を示すに至る分子メカニズムを明らかにするため，RNG105 のコンディショナルノックアウトマウスを用い，mRNA 輸送と局所的翻訳制御の面から RNG105 の大脳における機能の細胞生物学的解析を試みる。

20. 乳幼仔・小児・成熟個体におけるナノマテリアルの情動・認知行動毒性学的評価

森下裕貴，吉岡靖雄，東阪和馬，堤　康央（大阪大学大学院薬学研究科　毒性学分野）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

従来素材とは異なる有用機能を発揮するナノマテリアル・サブナノマテリアルは，今後もさらなる市場拡大が期待される。従って，ナノマテリアル・サブナノマテリアルの安全性情報の収集が喫緊の課題となっている。特に，情動・認知行動におよぼす影響評価は，最重要課題と考えられているものの，実験手法の困難さから検討された例は乏しい。そこで本研究では，各種ナノマテリアル・サブナノマテリアルを用い，物性と情動・認知行動毒性との連関を追求することで，安全なナノマテリアル・サブナノマテリアル開発に必須の情報収集を図っている。具体的には，乳幼仔・成体マウス・授乳期マウスなどにナノマテリアル・サブナノマテリアルを静脈内・経口投与する。これらのマウスに対して，各種，行動様式解析室の行動実験用機器を使用し，網羅的行動テストバッテリーを実施することで，情動・認知行動毒性を解析する。

申請者らは平成 24 年度までに，ナノマテリアルよりもさらに微小化の進んだサブナノマテリアルを妊娠期曝露したマウスの仔に関して，網羅的行動テストバッテリーを実施した。その結果，これらのマウスがうつ様行

動・不安様行動の低下を呈する可能性を明らかとした。さらに，平成 25 年度には，妊娠期曝露に着目した検討にとどまらず，授乳期に母乳を介してナノマテリアルに曝露した乳幼仔について，網羅的行動テストバッテリーを実施してきた。以上のように，ナノマテリアル・サブナノマテリアルの情動・認知行動毒性に関する知見を先駆けて検討し，順調に，社会ニーズや緊急性の高い研究成果を積みあげつつある。そこで平成 26 年度は，乳幼仔期のナノマテリアル・サブナノマテリアルの母乳を介した曝露が認知機能および社会的行動におよぼす影響について評価することを目的として，恐怖条件づけテストおよびホームケージ内社会的行動テストを実施した。その結果，いずれの行動テストにおいても統計的に有意な行動変化が認められなかった。従って，母乳を介したナノマテリアル・サブナノマテリアルの曝露は成長後の脳機能に影響をおよぼさないことが示唆された。なお，本研究課題の成果については，現在，論文投稿中である。

今後は，継続した共同研究のもと，引き続き，粒子径や表面修飾の異なる各種ナノマテリアル・サブナマテリアルを用いて検討することで，物性と情動・認知行動毒性の連関を解析する予定である。

21. 電位依存性プロトンチャネル VSOP1 が精神疾患に及ぼす影響の解明

岡村康司（大阪大学大学院・医学系研究科）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

Voltage sensor only protein1 (VSOP1)は電位センサーのみからなるという特殊な構造を持ち，電位依存性プロトンチャネルとして機能することが知られている。脳内ではミクログリア特異的に発現することが分かっており，細胞の活性酸素産生に重要な役割を果たすと考えられているが，その機能は殆ど明らかでない。一方で近年種々の精神疾患において，脳内の活性酸素産生との関連性を示唆する報告がなされており，VSOP1 がこれらの疾患に寄与している可能性が考えられる。そこで本研究では VSOP1 の機能と精神疾患の関連性に焦点を当てた研究を進めることを目的とした。

実験動物には，新潟大学の崎村教授との共同研究によって作出された VSOP1 遺伝子ノックアウトマウスを使用した。同腹の VSOP1 遺伝子ノックアウト及び野生型雄マウス 10 週齢 20 匹程度を準備してから生理学研究所へと搬入し，施設に既存の設備を用いて網羅的な行動学的解析を行った。行動実験は一ヶ月程かけて，10 種類以上のテスト行った。その結果殆どの行動実験項目において，ノックアウトマウス・野生型間で有意差を見出すことは出来なかったものの，特定のテストにおいて両者で有意差を認めることが出来た。そのため現在はこのテスト内容に関連して，更に詳細な行動解析を行っている段階である。

今後はこの実験結果を踏まえ，VSOP1 の神経回路機能に与える影響を詳細に調べることにより，VSOP1 のミクログリアにおける機能を明らかにしたいと考えている。

22. NPRP-C KO マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

片野泰代，伊藤誠二（関西医科大学・医化学講座）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

難治性疼痛の一つである神経障害性疼痛では，長期間にわたって閾値が著しく低下するアロディニアなどが出現し，脊髄後角では記憶学習で生じるような可塑的変化である中枢性感作が生じる。その際，疼痛の神経伝達に関与する受容体やキナーゼなどは発現量，翻訳後修飾，細胞内局在の変化が報告されている。そのことから，病

態依存的な変化を伴う分子群は，病態の関連分子である可能性が高い。

本解析で，標的としているNPRP-Cは脊髄後角PSD画分で神経障害性疼痛モデルマウスにおいて有意に増加した分子であった。

本分子は，脊髄同様に脳での発現も確認されており，精神疾患あるいは，記憶学習といった脳での神経伝達にも関与することが想定される。よってNPRP-Cのノックアウトマウス(KO)を用いた網羅的行動バッテリーテストを25年度より開始し，その成果として本KOマウスでは，不安様行動の低下，熱感受性の増大といった傾向が示された。

26 年度では，さらに詳細な解析を継続し「恐怖条件付け」を行うテストからの評価内容であるAltered contextからpattern separationが生じている可能性を示した。この表現型は，PTSD 様の表現型であると考えられている。その一方で，オープンフィールドあるいは強制水泳テストでは，活動性が高く，うつ様行動の低下を示しており，その関連性は現時点では明らかではないが，いずれもNPRP-C が中枢神経系で重要な機能を担う事を示すものである。

本解析で認められたPattern separationから，海馬歯状回でAdult neurogenesisが生じていることが考えられる。よって，本年度の行動解析終了後，マウス腹腔内にBrdU 投与後，4%PFA にて還流固定を行い脳組織を摘出した。本組織を用いて，NPRP-C KO マウスにおけるAdult neurogenesisについて野生型マウスを対照とし評価する予定である。

さらに，同様の表現型を示すマウスの情報から既知の関連分子との機能的相互作用などを視野にいれ，in vitroの解析結果と合わせ，本解析を発展させていく予定である。

23. FcγR IIB 欠損マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

上野浩司，岡本　基（岡山大学大学院 保健学研究科）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

Fc 受容体は免疫に関わる分子の１つである。Fcγ 受容体は免疫グロブリン IgG の Fc 部分と結合する。免疫系細胞のB細胞，マクロファージ，好中球上等に発現しているFcγRIIB受容体はIgGと結合すると，その細胞の活性化を抑制する機能を持つ。

近年，我々はFcγRIIB受容体がマウス中枢神経系の抑制性介在ニューロンの一種，Parvalbumin(PV)ニューロン上に発現していることを発見し報告した。FcγRIIB 欠損マウスを用いて解析を行ったところ，感覚入力遮断による PV 蛋白の減少が起こりにくいことや PV ニューロンの樹状突起の分枝が多いことを FcγRIIB 欠損マウスで観察した。PV ニューロンは形態的に Basket 細胞とChandelier細胞に分類される。PVニューロンは錐体細胞，抑制性介在ニューロンの細胞体や軸索起始部にシナプスを形成しており，他の抑制性介在ニューロンと比較して強い抑制作用を持つ。

中枢神経系における FcγRIIB 分子の機能と発現を示した論文が増加しているけれども，脳における FcγRIIB 分子の神経機能の多くは不明のままである。そこで我々はFcγRIIB 欠損マウスの行動学的表現型を系統的にスクリーニングした。

その結果，野生型対照群と比較して，FcγRIIB 欠損マウスは体重量の減少，自発活動量の増加，不安様行動の減少などを示すことが明らかになった。記憶学習や感覚，うつ様行動に有意差は見られなかった。27 年度は異常が見られた行動実験を詳細に解析していく予定である。

24. アノールトカゲにおける TRP イオンチャネル受容体活性化温度閾値の種間比較

赤司寛志，牧野能士，河田雅圭（東北大学大学院生命科学研究科）
齋藤　茂，富永真琴（生理学研究所）

キューバに生息するアノールトカゲ３種（*Anolis sagrei, A. homolechis, A. allogus*）は，温度環境の異なる生息地に適応することで，共存を可能にしている。これまでの野外の研究で，*Anolis sagrei, A. homolechis, A. allogus* の体温は，それぞれ約 34, 31, 27℃であった。

異なる温度適応に関する機構として，異なる温度環境を感受し，行動的調節を行うことが考えられる。そこで，このキューバ産アノールトカゲ３種を用い，温度感受性 TRP イオンチャネル受容体（TRPA1）の活性化温度を，電気生理学的手法を用いて測定し，種間比較することを目的とした。平成 26 年度では，これら３種の TRPA1 イオンチャネルの活性化温度閾値を測定し，比較したが，有意に活性化温度閾値が異なることを支持する結果は得られなかった。そこで，本年度では TRPV1 イオンチャネルに注目した。*A. homolechis* の TRPV1 遺伝子を PCR-base での単離に成功している。今後は，残りの 2 種の TRPV1 遺伝子の単離も行なう予定である。

25. 膜流動性と細胞信号伝達に関する研究

高木昌宏，白　京玉，薮内里実（北陸先端科学技術大学院大学・マテリアルサイエンス研究科）
内田邦敏，富永真琴（生理学研究所）

細胞膜上には，膜受容体を多く含む，ラフト領域が存在し，細胞膜およびラフトは細胞内信号伝達に重要である。本研究では，有糸分裂を促進する Mitogen であるレクチンタンパク質 ConcanavalinA（ConA）存在下では，T 細胞のラフトが細胞膜を支えるアクチンと共に，細胞内部へ集積する様子を観察した。このことから，信号伝達に，ラフトだけでなくアクチンも重要な役割を果たしていると考えられた。しかし，温度上昇が信号伝達やラフトに及ぼす影響の詳細は明らかになっていない。温度，信号伝達，ラフトそして細胞骨格の相互関係を明らかにするのが，本研究の目的である。

方法として，T 細胞のラフト領域の可視化には，コレラ毒素サブユニット B(CT-B)，細胞骨格アクチンの可視化には Rhodamin Phalloidin，膜流動性の観察には，Laurdan を用いた。温度コントローラーにより，温度を調節しながら，Concanavalin A（ConA）を添加して，共焦点レーザー顕微鏡で，細胞の状態を観察した。

結果を以下にまとめる。

ConA 非存在下では，細胞膜上のラフト蛍光強度は，温度が低いほど，高い傾向が見られた（≧23℃)。これと，温度が低いほど流動性が低いことと合せて，低温ほどラフトは固く，安定であると考えられた。アクチン蛍光強度は，温度上昇に伴い高くなる傾向が見られ，37℃では最も高かく，細胞膜の裏側に明瞭な重合状態が観察できた。ConA 存在下で，ラフトの細胞内部での集積が観察できた。27℃以上では，ラフトとアクチンは，同様に集積していたが，低温では，ラフトのみが移動し，アクチンとの共存が認められなかった。つまり，温度が高いほど，ラフトは不安定に，反面 F-Actin の重合度が高くなり，膜を支えていると考えられた。

以上の結果から，ラフトの集積は，低温ではラフトの安定性に依存し，高温では F-Actin の安定性に依存するという，2 つのメカニズムが考えられた。さらに，冷感剤メントールを添加すると，低温側でのラフトの安定性に依存した集積が認められなくなり，F-Actin の安定性に依存したラフト集積のみが認められる特徴が明らかになった。これらの結果から，温度に対する細胞の応答には，ラフトの安定性と，細胞骨格の安定性の両者が重要である事が明らかとなった。

26. 筋機械痛覚過敏の発症と維持におけるイオンチャネルの役割

水村和枝，片野坂公明，村瀬詩織，松田　輝（中部大学生命健康科学部）
久保亜抄子（日本大学歯学部）
太田大樹（帝京大学医療技術学部）
田口　徹（名古屋大学環境医学研究所）

運動後に遅れて生じる遅発性筋痛は，機械刺激に対する痛覚過敏を特徴とする。我々は，この運動後の筋機械痛覚過敏において，NGF と GDNF により筋細径線維受容器の機械感受性が亢進すること，また，TRPV1 と TRPV4 が関与することを明らかにしてきた。しかし，NGF と GDNF の作用機構については不明であった。

本研究では，マウスを用いて，NGF と GDNF の後根神経節細胞への影響を，パッチクランプおよび TRPV1 の免疫組織化学染色により調べ，遅発性筋痛発症の機序を解明することを試みた。

まず，野生型マウスから培養した後根神経節にパッチクランプを行い，機械感受性電流の型別発現頻度，大きさを指標に NGF，GDNF の効果を調べた。栄養因子無添加条件では，速順応型(RA)，遅順応型(SA)，中間型（IA），無反応(-)がそれぞれ，20，16，24，40％（調べた総細胞数 68）であったのに対し，NGF を添加培養した場合にはそれぞれ 22，33，23，22％(調べた総細胞数 60)であり，SA が多かった。GDNF を添加した場合には，それぞれ 44，6，16，34％（総細胞数 32）であり，RA が多かった。なお，電流の大きさには変化は見られなかった。電流パターンの変化に転写・翻訳が関係している可能性を actinomycin D，cycloheximide の添加により，また細胞膜への受容体・チャネル分子の traffiking の可能性を tetanus toxin の添加により調べたが，まだ各群 10 例程度と数が少なく，結論は得られていない。この方法とは別に，NGF による筋侵害受容器の感作に関わっている TRPV1 の traffiking の可能性を，TRPV1 の免染による反応産物の分布を共焦点レーザー顕微鏡によって観察し，調べた。無添加群では TRPV1 の分布は細胞の横断面にそってほぼ均等に分布していたが，NGF 添加群では細胞辺縁に強くみられ，中心部では減っていた。このことは NGF により TRPV1 分子が細胞膜へ融合したことを示唆する。一方，GDNF 添加群では無添加群と同様の均等な分布を示した。この結果は，GDNF による感作には TRPV1 が関与していない，という以前のわれわれの報告に合致する。

以上，本研究により，遅発性筋痛に関わる NGF，GDNF の作用機序に関する幾つかの新しい知見が得られた。

27. 脂肪細胞における UCP1 発現制御における TRP チャネルの機能解析

河田照雄，後藤　剛，高橋春弥，Kim Min Ji，古薗智也（京都大学大学院農学研究科）
内田邦敏，富永真琴（生理学研究所）

脱共役タンパク質-1（UCP1）は，脂肪細胞において，エネルギーを熱産生によって消費する機能を持っているため，UCP1 発現制御機構を明らかにすることは，抗肥満作用を持つ薬剤や機能性食品の開発につながる。そこで，本研究では，様々な生理機能を有する TRP チャネルに着目し，その脂肪細胞における UCP1 発現制御における役割を明らかにすることを目的とする。

昨年度までの共同研究において，魚油の機能性脂肪酸として EPA が TRPV1 の機能を介して，交感神経の活性化を惹起し，脂肪組織の UCP1 発現を亢進させることを明らかにした。そこで今年度は，乳酸菌によってリノール酸から代謝生成される乳酸菌由来脂肪酸である KetoA (10-keto-12c-18:1) に着目し，KetoA が惹起する脂肪組織の UCP1 発現誘導に TRPV1 活性化が関与している可能性について検討した。

初めに，KetoA をはじめとする，リノール酸を基質と

して乳酸菌が産生する新規に見出された脂肪酸について，TRPV1 を強制発現させた HEK 細胞を用いた Ca^{2+}イメージング法により，TRPV1 を介した Ca^{2+}流入活性を評価した。その結果，KetoA を含む数種の新規脂肪酸において，Ca^{2+}流入活性が認められたが，その活性は KetoA が最も強かった。

次に，KetoA 摂取の影響について動物実験によって評価した。野生型マウスでは KetoA 摂取により，鼠頸部白色脂肪組織における UCP1 遺伝子発現の亢進が認められたが，TRPV1 欠損マウスでは認められなかった。また，野生型マウスでは KetoA 摂取により体脂肪蓄積量が抑制されていたのに対して，TRPV1 欠損マウスでは体脂肪蓄積抑制効果は認められなかった。

これらの結果より，KetoA は TRPV1 の機能を介して，UCP1 発現誘導を惹起し，体脂肪蓄積を低減化しうる新たな機能性脂肪酸であることが明らかになった。

現在，KetoA と TRP チャネルの関係性をより詳細に明らかにするため，カルシウムイメージング法又はパッチクランプ法により検討している。

28. TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明

平田　豊（兵庫医科大学 生理学生体機能部門）
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

中枢性呼吸調節機構は，換気応答によって驚くべき厳密さで生体の P_{CO2}/pH 変動を一定の狭い生理的範囲に調節している。この調節機構を担っている中枢化学受容細胞及びその化学受容器の分子実体は長い間謎であった。提案代表者は，これまでに脳幹・延髄由来のニューロン・グリア共培養細胞を用い，CO_2/pH 負荷に対する細胞内応答を，Ca / pH のイメージング，perforated patch-clamp 法により検討したところ，高 CO_2 負荷によりグリア細胞が Ca 応答をすることを見出してきている。この Ca 応答を引き起こす Ca チャネルの候補として，薬理学的スクリーニングの結果，TRP チャネルのサブタイプが推定された。生理学研究所の富永教授と共に，TRP チャネルにおいて，どのサブタイプが換気応答の制御に関与するかを明らかにし，TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構を解明することが本研究の目的である。

昨年度に引き続き，推定された TRP サブタイプにおいて，TRP チャネル欠損マウス群に対する高 CO_2 負荷による換気応答の変化を whole body plethysmography 法にて野生型マウスと比較したところ，換気応答が減弱している TRP サブタイプを見出した。個体差によるバラツキがあるので，匹数を増やして，更に比較検討する予定である。

29. コネクトームを利用した，神経幹細胞の細胞周期に伴う形態変化の観察

玉巻伸章（熊本大学大学院生命科学研究脳回路構造学分野）

中枢神経系を構成する神経細胞は，脳胞の脳室帯にある神経幹細胞の細胞増殖により供給されています。細胞周期に伴う神経幹細胞の形態は，生み出す細胞種を決定します。その結果，神経細胞の産生量を決定し，人の発達した巨大な脳の形成する仕組みとなっています。しかし，神経幹細胞の分裂様式において，観察結果とその解釈が，提案代表者と米国の研究者では異なり，未だもって，その矛盾は解決されていません。本研究の提案者が，これまでに積み上げてきた研究の成果をさらに積み上げることで，正しい神経幹細胞の，分裂様式も明確に示すことができると期待していました。しかし，如何なる数の神経前駆細胞の形態を，３D で明示しても，適切な答えとなるかというと，統計的に処理しようとしても，一部が違えば，その神経前駆細胞が異なる効果をもたらすかもしれないと，反論を受けるかと思います。基本的に形態学では，完璧な証明は，基本難しい概念ありま

す。

それ故，今回は，物量的に圧倒できる 3View SEM 電顕解析法で観察を進めれば，明確な証拠を得ることが可能であるとする示唆的データを得ています。他に方法の無い手法でもあり，有望なデータを得るためには，3View SEM を使用して，再度実施して見ることで，今後の計画を立てることが可能となります。大脳神経回路論 研究部門の先生方の助力を仰ぎつつ，異なる固定法を用いた資料を，本システムにて，再度観察を進めることを希望しております。再度の観察作業を実施することで今後の可能性を示すことができると考えています。

一部の神経前駆細胞は，radial fiber を縮めて移動して，神経前駆細胞となり，radial fiber を失った神経前駆細胞は，如何にして，中枢神経系を形成する神経細胞を生み出すか，また，脳に障害を受けた際に，再生に働く神経前駆細胞は，どの様にして，軟膜外面に分布するに至るか，どの様に脳の傷害を治癒させるのかを調べることにしました。

神経幹細胞は，細胞分裂の際に，神経幹細胞と神経細胞が産生される場合と，神経幹細胞と神経前駆細胞が産生される場合があります。後者の場合，神経前駆細胞は脳室下帯で更に細胞分裂を繰り返して，神経細胞の産生量を大きく膨らませているのかもしれません。また，上記の神経前駆細胞と異なり，放射方向に移動した上で，最終的には，軟膜を貫いて，軟膜の外表面に現れた神経前駆細胞の形態を，周りの細胞との関係を観察することが，今後必要となります。

30. キメラ動物作製法を利用した小脳構築原理の解明

金子涼輔（群馬大学大学院医学系研究科・附属生物資源センター）
平林真澄（生理学研究所）

哺乳類の脳の形態やサイズは動物種ごとに異なる。しかし，その構築原理には不明な点が多い。本研究では動物種ごとに脳形態が異なるメカニズムに着目し，哺乳類脳の形態形成に関わる新たなメカニズム解明を目的とする。本研究ではマウスーラット間での小脳形態の差異をモデル解析系とする。そのため，キメラ動物作製法を用いてマウス頭蓋内にラット ES/iPS 細胞由来の小脳を作り，その形態を解析する。具体的には小脳欠損マウス（Cerebelless マウス，国立精神神経医療研究センター星野幹雄博士との共同研究）3.5 日胚にラット ES/iPS 細胞を注入し，異種キメラ動物を作製し，その小脳形態を解析する。

今年度は異種キメラ動物の作製法確立を目的として①Cerebelless マウス受精卵採取と凍結保存，②Cerebelless マウス 3.5 日胚を用いたキメラ動物作製条件の検討，③マウス-ラットキメラ動物の作製と解析，を行った。

①Cerebelless マウス受精卵採取と凍結保存：本実験では Cerebelless アリルをホモに有する 3.5 日胚が多数必要となる。２４年度に最適化した方法に従い，ヘテロオスとホモメスとの自然交配により受精卵を採取した。採取した受精卵は常法に従い凍結保存した。

②Cerebelless マウス 3.5 日胚を用いたキメラ動物作製条件の検討：Cerebelless マウス受精卵は群馬大学にて凍結し，生理研にて融解・培養した後にキメラ動物を作製する計画である。そのため，群馬大学にて凍結した受精卵から 3.5 日胚取得条件の確立を目指した。その結果(a)２細胞期胚を凍結，(b)液体窒素中にて運搬，(c)スクロース液にて融解，(d)mWM 培地で培養，により 3.5 日胚取得に成功した。今後は本条件を用いてキメラ動物を作製する。

③マウス-ラットキメラ動物の作製と解析：キメラ動物作製に用いるラット全能性幹細胞にはマーカーとして緑色蛍光タンパク質 GFP 遺伝子を導入している。そこで実際のキメラ動物での GFP 検出実験系確立を目的として，既に作製系が確立されているマウス iPS 細胞とラット受精卵とを用いたキメラ動物を作製し，その脳を観察した。その結果，神経細胞での GFP 蛍光を確認できた。しかし，その蛍光強度は弱かった。神経細胞での強発現プロモーターを用いたマーカー遺伝子の必要性が示唆された。

31. ラット遺伝子の BAC クローンへのレコンビナーゼ Cre-ER の組込みと作成したトランスジェニックラットの組織化学・細胞生物学的研究

加藤幸雄（明治大学農学部）
加藤たか子（明治大学研究知財戦略機構）
平林真澄（生理学研究所）

下垂体は脳の直下に位置し，腺性下垂体（前葉・中葉）と神経性下垂体（後葉）から構成されている。成長・泌乳・恒常性の維持・ストレス応答・生殖などに関与するホルモンを分泌することで，産業動物を初めとする様々な動物の成長・繁殖を制御する重要な内分泌器官である。この組織では，生体の状況に応じてホルモン産生細胞数とホルモン産生量を調節しており，このホルモン産生細胞の供給には各組織に存在する組織幹細胞が不可欠である。

下垂体では，その原基の形成に伴ってできる遺残腔の第一層が，そして，生後より形成され実質層に点在する未分化細胞のクラスターが幹細胞ニッチとされている。そのニッチの形成や維持，細胞供給システムの解明が，下垂体の機能解明に重要である。こうした幹・前駆細胞に特徴的な因子として PROP1，PRRX1，PRRX2，S100β が知られている。しかし，それらの因子よる階層的な発現制御の機序とそれらの発現細胞の分化系譜は不明であり，下垂体がどの様に形成されるかが未解明となっている。

PROP1，PRRX1，PRRX2，S100β 遺伝子の発現する細胞の時期的違いとそれらの変遷の関連を，組換え体ラットを用いた cell fate tracing により解析することを計画した。

本年度は，*S100β* を持つ BAC クローンを理化学研究所から入手して，顕微注入用に *100β*-CreER を持つ BAC clone 直鎖状 DNAS ベクター全長 約 8kbDNA を調製した。これを，生理研において，前核期受精卵の雄性前核に顕微注入し，その後，遺伝子導入受精卵を偽妊娠誘起したレシピエント雌ラットの卵管内に移植し，明治大学農学部生命科学科遺伝情報制御学研究室に輸送した。生まれた個体の遺伝子型を解析した。死産などもあり，この作成実験を 3 度繰り返すことになったが，年後末に，目的の *100β*-CreER を持つオスラットが誕生した。現在，ホモ個体の作成と，Cre のターゲット配列 loxP で蛍光タンパク質 Venus を挟んだ遺伝子を導入した Venus ラットとの交配を行っている。

次年度，次々年度は，作成したホモ固体を用いて，cell fate tracing の解析実験を展開する予定である。また，さらに，PROP1，PRRX1，PRRX2 発現細胞についても，組換えラットの作成を順次進めていく。

32. 生殖を制御する脳内メカニズム解明のための遺伝子改変モデルの作製とその解析

東村博子，大蔵　聡，松田二子，上野山賀久，井上直子（名古屋大学大学院生命農学研究科）
前多敬一郎（東京大学大学院農学生命科学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

本研究はマウス，ラット，ヤギおよび交尾排卵モデル動物であるスンクスといった神経内分泌学研究に重要な意義をもつ実験動物の遺伝子改変モデルを作成し，生殖機能を制御する脳内メカニズムの解明を目指している。

キスペプチンは，性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の分泌を制御するマスターレギュレータとして注目されている。キスペプチンニューロンは視床下部内にふたつの集団を形成している。我々は，視床下部前方の前腹側室周囲核（AVPV）/視索前野（POA）に局在するキスペプチンニューロン集団はエストロジェンの正のフィードバックを仲介することにより排卵を制御し，視床下部後方の弓状核に局在する集団は GnRH のパルス状分泌を司り，卵胞発育を制御することで生殖機能全体の中枢として機能するとの作業仮説をたて研究を進めてい

る。

ふたつのキスペプチンニューロン集団の生理的役割を明らかにするため，本年度は Cre/loxP システムによる *Kiss1* コンディショナルノックアウトラットの作製，Cre/loxP システムによるキスペプチンニューロン特異的なチャネルロドプシン発現ヤギの作製を進めた。

Kiss1-floexed ラット作製のためのターゲッティングベクターを ES 細胞にエレクトロポレーションにより導入し，複数の組換え ES 細胞を得た。現在，PCR とサザンブロッティングにより ES 細胞の選抜を行っている。

また，培養ヤギ胎子線維芽細胞において，*Kiss1* 遺伝子座での Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALEN) によるゲノム編集に成功した。ヤギ Kiss1 遺伝子座に Cre 遺伝子を導入するためのターゲッティングベクターの作製も順調に進んでおり，遺伝子組換えヤギ作製の基盤が確立された。

33. ヒストン H2B ユビキチンリガーゼ Bre1a の神経幹細胞における機能の解析

等　誠司（滋賀医科大学医学部）
平林真澄（生理学研究所）

神経幹細胞は，発生過程に沿って，神経幹細胞自身の増殖期→神経細胞産生期→グリア細胞産出期と，性質を大きく変化させる。この過程には，エピジェネティクスが深く関与すると考えられているが，その分子機構は不明な点が多い。我々は最近，神経幹細胞の未分化性の維持に関与し，しかも細胞周期を制御している因子として，ヒストン H2B ユビキチンリガーゼ *Bre1a* を同定した。本研究では，*Bre1a* の機能解析を行うことにより，神経発生におけるエピジェネティクス制御の意義を明らかにする。

我々はこれまでに，トラップライン ES 細胞を用いた *Bre1a* ノックアウトマウスを作製し，解析してきたが，胎生早期致死であったため，神経発生における *Bre1a* の機能を解析できなかった。そこで本研究では，*Bre1a* コンディッショナルノックアウトマウスを作製する。すでに，ターゲティングベクターを作製し，行動・代謝分子解析センター遺伝子改変動物作製室と共同で ES 細胞に遺伝子導入した。組換えのおきた ES 細胞をスクリーニングし，陽性クローンを用いてキメラマウスを作製した。しかしながら，ES 細胞由来の細胞のキメラ寄与率が非常に低かったため，ES 細胞に問題が起きていると考え，新たな ES 細胞を用いて再度実験を繰り返している。

一方，*Bre1a* の gain-of-function を解析するために，神経幹細胞特異的な Nestin プロモーター/エンハンサー下で *Bre1a* を発現するトランスジェニックマウス（Nestin-Bre1a-IRES-EGFP tg）の作製を行った。Nestin-Bre1a-IRES-EGFP tg マウスの 1 ラインについて解析を行い，胎生期の脳において *Bre1a* の発現量が期待通り 20~40% の発現上昇していることを確認した。今後は，このラインを用いて神経幹細胞の未分化性維持の変化や，神経発生から成体脳における神経細胞新生まで幅広く神経機能の解析を行い，神経発生や脳機能における *Bre1a* の役割を解析する。

動物の取り扱いは滋賀医科大学の動物実験指針に従い，マウス解析時においては麻酔薬の腹腔内投与などによる苦痛軽減に努めた。

34. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの機能解析

八木　健，豊田峻輔，平林敬浩，平山晃斉（大阪大学）
平林真澄，三宝　誠（生理学研究所）

クラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）は脳神経系で強く発現している多様化膜分子群であり，個々の神経細胞では細胞ごとに異なる cPcdh 分子種がランダムに発現している。各 *cPcdh* 遺伝子は分子種ごとに独自のプロモ

ーターを有しており，神経芽細胞腫を用いたこれまでの研究から各遺伝子発現とそれぞれのプロモーター領域のDNA メチル化状態が相関していることが示唆されていたが生体内における DNA メチル化の制御機構およびその役割については明らかになっていなかった。そこでまず *de novo* 型の DNA メチル基転移酵素である *Dnmt3a* 遺伝子および *Dnmt3b* 遺伝子を欠損したマウス胚の胎生 9 日目において *cPcdh* 遺伝子のプロモーター領域解析したところ，*Dnmt3a* 遺伝子を欠損した胚においては DNA メチル化が野生型の胚と相違が認められなかったのに対し，*Dnmt3b* 遺伝子を欠損した胚ではほとんど DNA メチル化されていなかった。この結果から各 *cPcdh* 遺伝子の発現は Dnmt3b が制御している可能性が示唆された。

Dnmt3b 遺伝子欠損マウスは胎生 15 日目付近で致死であるため，生体での解析が困難である。そこで，同マウスから iPS 細胞を樹立し，野生型マウス受精卵にインジェクションすることでキメラマウスを作製し，モザイク解析を試みた。このキメラマウスの小脳プルキンエ細胞の形態を詳細に解析したところ，*Dnmt3b* 遺伝子欠損 iPS 細胞由来の細胞では樹状突起の重なりなどの異常が観察された。さらにこれらキメラマウスの小脳を分散した後，個々のプルキンエ細胞をピックアップし *cPcdh* 遺伝子発現様式を解析したところ，野生型のプルキンエ細胞では細胞ごとに異なる *cPcdh* 遺伝子がランダムに発現していたのに対し，*Dnmt3b* 遺伝子欠損プルキンエ細胞では *cPcdh* 遺伝子の発現確率が増大していた。以上の結果から Dnmt3b 依存的な *cPcdh* 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化が *cPcdh* 遺伝子のランダムな発現を制御し，プルキンエ細胞における樹状突起のパターン形成に重要であることが明らかになった。

35. 馬ピロプラズマ原虫 *Babesia caballi* および *Theileria equi* 感染赤血球にみられる管状構造の３次元構造解析

五十嵐郁男（国立大学法人帯広畜産大学原虫病研究センター）
宮崎直幸，村田和義（大学共同利用機関自然科学研究機構生理学研究所）

馬ピロプラズマ原虫 *Babesia caballi* と *Theileria equi* はマダニによって馬に媒介される。両原虫は赤血球に侵入・増殖を繰り返し，発熱，貧血，赤色素尿，黄疸などの臨床症状を呈する。*T. equi* 感染赤血球には1本の管状構造が，*B. caballi* では感染赤血球膜表面に多数の小孔が形成され，赤血球表面から中央に向かって細い管状構造が報告されている。これらの管状構造は赤血球内の原虫と赤血球外の環境を連結していると考えられるが，その起源や役割は不明である。本研究では，管状構造の起源や機能の一端を解明することを目的とし，厚切り切片を用いた観察および，連続断面 SEM/TEM 観察法を用いて３次元的な形態解析を行った。

B. caballi の厚切り切片の観察により，管状構造は感染赤血球膜の方面から細胞質を貫通し，原虫内部まで入り込んでいる像が観察された(図 1A)。また，Gatan 3View-Zeiss Sigma/VP による連続ブロック表面 SEM の観察では，１個の原虫が２個に分裂・増殖する過程が観察された(図 1B)。しかし，*B. caballi* から伸びる多数の細い管状構造は，解像度の低い SEM では観察が難しかった。そこで，寄生率の高い赤血球サンプルを準備して，連続断面 TEM 観察法（連続超薄切片法）により行った。その結果，*B. caballi* 感染赤血球から伸びる多数の微細な管状構造を３次元的に観察することに成功した。また複数の管状構造が連結している像も観察された（図１C）。

一方，*T. equi* の Gatan 3View-Zeiss Sigma/VP による連続ブロック表面 SEM の観察では，感染赤血球内に小型の *T. equi* が認められると共に，感染赤血球は全体が変化し，赤血球膜が凸凹に変形あるいは赤血球膜に突起が認められた（図２A）。さらに，連続断面 SEM/TEM 観察法を用いて再構成した結果，*T. equi* 感染赤血球内の小型原虫から赤血球表面まで延びている１本の太い管状構造が３次元的に観察された（図２B）。

以上本研究により，*B. caballi* と *T,equi* に認められる管状構造の３次元構造の構築に成功した。特に，*B. caballi* において複数の管状構造が連結し，ネットワークの形成を示唆する像が認められ，今後管状構造の起源や機能について検討する上で，重要な知見と考えられる。

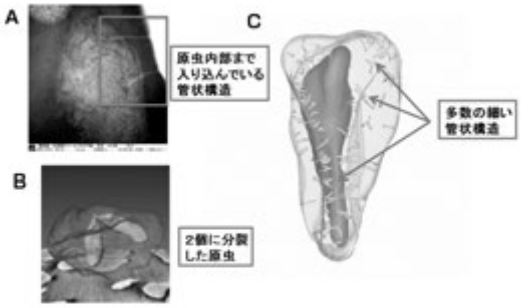


図1。*Babesia caballi* 感染赤血球の3次元構造

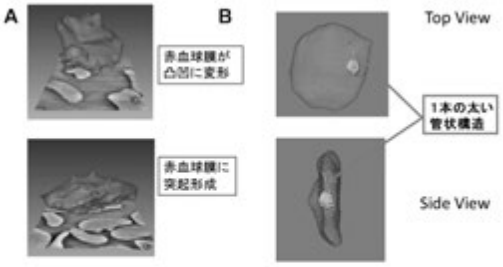


図2。*Theileria equi* 感染赤血球の3次元構造

36. 腎尿細管障害における細胞内 Na+制御とミトコンドリア分裂･融合の役割の解明

齊藤　成，大野伸彦（山梨大学大学院医学工学総合研究部
医学域 基礎医学系 解剖学講座 分子組織学教室）

通常食(STD)と高脂肪食(HFD)の C57BL6J マウス(20 週齢)を作製した。STD 群に比べ HFD 群で体重・血糖値が有意に増加し，HFD 群に PLZ(フロリジン)投与群では血糖値が投与前に比べ有意に低下した。糖尿病性近位尿細管障害を示す，尿中 L-FABP も STD 群に比べて HFD 群では有意に増加していた。

SBF-SEM で近位尿細管セグメント１(S1)の３次元超微形態解析を行った。STD 群では尿細管細胞に巨大なミトコンドリアと頂上部にライソゾームが認められたが，HFD 群では小型のミトコンドリアとオートファゴソームが認められた。HFD 群に PLZ を投与すると巨大オートファゴソームは減少し分枝状ミトコンドリアと小型～中型のライソゾームがみられた。また，糸球体近傍の S1 と S2 に近い S1 では，巨大オートファゴゾームの形成が異なる事も分かった。巨大オートファゴゾームの出現が多く見られる S2 に近い S1 では，糸球体近傍の S1 に比べ，尿細管障害とミトコンドリアの断片化が強く認められた。

近位尿細管上皮細胞において，高血糖状態がミトコンドリア動態とオートファジーの異常を惹起するとともに，SGLT 阻害剤であるフロリジンが尿細管上皮細胞に対して保護的に作用する事が示された。糖尿病性尿細管障害に対して，SGLT 阻害剤を投与する事により，尿細管のミトコンドリアの機能が改善されるフロリジンの薬理作用の可能性を現在検証している。

その為，HFD 群における近位尿細管の S1～S2 での巨大オートファゴゾームの出現の違いと PLZ のミトコンドリアの保護作用についてのミトコンドリア体積・表面積などの定量解析を行っている。

37. 髄鞘の形成と疾患におけるミトコンドリア動態の変化とその役割の検討

大野伸彦，斎藤百合花（山梨大学大学院医学工学総合研究部解剖学講座分子組織学教室）

昨年度の結果をふまえて，脱髄開始直後の 3 ヵ月齢，および脱髄の進行した 5 ヵ月齢において，野生型および PLP 過剰発現 (PLP-tg)マウスを経心臓的に環流固定し，視神経と網膜のブロック染色樹脂包埋試料を作製した。ミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いて連続断面画像を取得し，Amira および TrakEM2 を用いて軸索およびその中に含まれるミトコンドリア(Mito)を抽出し，それらの形態学的な特徴を比較した。

これまでの結果から，3 ヵ月齢の PLP-tg マウスの視神経における有髄軸索では同月齢の野生型に比較してほと

んど有意な変化を認めなかったが，脱髄が起きている軸索においては密度(No./axon volume)と総体積の増加が認められていた。より月齢の進んだ 5 ヵ月齢においてはほとんど全ての軸索において脱髄が引き起こされており，これらの軸索においては 3 ヶ月齢の脱髄軸索と比較して個々のミトコンドリアの体積の有意な増加が認められ，一方でミトコンドリア密度の大きな減少が認められた。これらのミトコンドリアではクリステの形態には大きな変化が認められなかったことから，これらは Swelling ではなく，ミトコンドリアの著名な融合により引き起こされていることが示唆された。

一方で視神経の有髄軸索は，篩板より近位部においては無髄軸索に由来する。視神経でみられる変化が髄鞘の変化に伴うものである可能性について検討するため，網膜の無髄軸索におけるミトコンドリアの変化について視神経と同様に検討した。現在，解析途中であるが，網膜視神経線維層における無髄軸索においては 5 ヶ月齢において野生型と PLP-tg マウスにおいてあきらかな差異を認めなかった。これらの結果から，視神経の局所的に認められるミトコンドリアの変化は視神経における局所的な何らかのメカニズムによって引き起こされる可能性が示唆された。

現在，十分な個体数を用いた解析を進めるとともに，ミトコンドリアと細胞骨格および滑面小胞体との相互作用について検討を進めている。

38. 電子顕微鏡用環境制御セルの開発とその応用

箕田弘喜（東京農工大学）

浸水状態の生体高分子の光学顕微鏡・電子顕微鏡同時直接観察を実現するため，透過電子顕微鏡に光学顕微鏡を組み合わせた電子・光子ハイブリッド顕微鏡に，環境制御型透過電子顕微鏡法(E-TEM)を組み合わせた環境制御セル（以下セルという）の製作を進めている。これまで封じきりタイプやガスフロータイプなど幾つかのタイプのセルの開発を進めてきたが，今回は，比較的高い分解能が得やすい炭素膜による封じきりタイプのセルを使い，電子線照射による試料ダメージの環境依存性を調べている。

クライオ条件と液中条件に生物試料を電顕観察し，電子照射量の増加による試料の損傷を調べている。生物試料の電子線損傷による，構造破壊の程度の環境依存性や損傷の程度の評価方法の確立は重要な研究テーマである。カタラーゼの薄膜結晶試料を用いて，電子の照射量に対する電子回折パターンの強度の減衰を調べており，昨年度の段階で，結晶由来の回折ピークの強度の減衰は，クライオ条件下に比べて液中条件下で，数倍程度遅くなるという結果を得ているので，再現性の確認を進めた。我々の実験で得られているダメージの程度を従来の報告と比較すると破壊の程度が速すぎることから，用いている試料の結晶性に問題があることが示唆される。これを解決するために，透析中の不純物混入を防ぐために，透析に用いる器具の前処理方法を見直すなどした結果，結晶性の向上は確認できた。しかしながら，結晶性が向上した結果，得られた結晶の塊が大きくなりすぎ，高分解能観察用の封じきりタイプのセルでは，そのスペーサー厚さが薄すぎるため，結晶の塊を十分に封じ切ることが出来なくなったしまったため，ダメージの評価方法について，試料，環境セルの組み合わせなど，実験全般にわたっての再検討が必要となった。

前年度から上記と並行して，ハイブリッド機能を利用した蛍光たんぱく質に対する電子線照射の影響も調べている。蛍光タンパク質の一種である EGFP から電子線による励起発光(CL)が見出され，加えて，電子線照射をすることで，EGFP からの蛍光(PL)強度が増強するという驚くべき結果が得られている。この現象について，試料の周囲環境に対する影響を調べておち，H26 年度は，液の pH を変化させた条件での実験や，外部電源を用いて，電荷を注入する条件での実験も進めた。pH は封じきりセルを準備するため，試料溶液に水が加わるので，定量的な評価はできず，あくまでもおおよその目安ではあるが，CL 強度や電子線照射による蛍光増強の効果について pH の依存性が明確に見出された。その結果は，pH7 に比べて pH9 で，蛍光強度は増加するものの，蛍光増強効果は，pH9 より pH7 の方が強かった。これは，pH7 では，もともとの蛍光強度が十分に増強されていないため，電子線照射による蛍光増強効果がより高くなったと解釈

することが出来る。しかしながら，pH11 までアルカリ性にすると，pH9 に比べて，初期蛍光も，蛍光増強効果も弱くなる傾向が見出された。また，電荷注入効果を確認するための外部電源を使用した同様な実験では，蛍光増強効果は明確には見いだされなかった。今後，分光装置を付けて，発光強度と発光スペクトルの変化の関係についても調べていく予定である。

39. 先端電子顕微鏡を用いた髄鞘の軸索機能調節機序の解析

林　明子，馬場広子（東京薬科大学 薬学部 機能形態学教室）

高等動物の神経系では，多くの軸索が髄鞘によって覆われている。髄鞘は，絶縁による跳躍伝導の発生のみでなく，軸索上のチャネルなどの機能分子の局在化，軸索径や輸送の調節など様々な面から軸索調節に関わっていると考えられる。本研究では，先端電子顕微鏡技術を用いて詳細な形態観察を行うことにより，髄鞘による軸索機能調節機序を明らかにすることを目的とする。

これまでの研究結果から，髄鞘のランビエ絞輪隣接部分（paranode）にある髄鞘－軸索間結合が形成されない遺伝子改変マウスでは，伝導速度の低下と共に，軸索の腫脹や変性，ランビエ絞輪部の軸索内ミトコンドリアの異常などの様々な軸索変化を生じる。しかし，ランビエ絞輪周辺では，軸索と髄鞘あるいはグリアはお互いに複雑な立体構造を形成し合っているため，各種抗体を用いた免疫組織学的解析や透過電顕による解析では形態的な理解に限界がある。そこで，本研究では，髄鞘関連遺伝子の改変動物や脱髄モデル動物の神経系を SBF-SEM を用いて３次元的に解析することにより，髄鞘の変化とそれが軸索局所に与える影響をより詳細に解析する。

本年度は，上記のような髄鞘異常を示す動物として N-アセチルグルコサミン-6-硫酸転移酵素-1（GlcNac6ST-1）欠損マウスおよび硫酸化糖脂質スルファチド欠損（CST 欠損）マウスの坐骨神経および小脳の解析を行った。解析に用いた神経組織は，東京薬科大学動物実験規定に則って調製した（動物実験承認番号 P14-14）。これらの組織内の有髄神経のランビエ絞輪部周辺の変化を中心に，SBF-SEM による３次元的解析のための撮像を行った。その結果，CST 欠損マウス小脳において，軸索腫脹部分をとらえることができた。また，坐骨神経の有髄神経のランビエ絞輪とその両端の paranode 部分を中心に撮像した。一方，GlcNac6ST-1 欠損マウスの末梢神経では，これまでの解析法では発達段階および加齢における変化がみられることから，髄鞘自体および髄鞘－軸索間相互の立体構造をみるために撮像した。現時点では各スタックの観察を行っている段階である。今後，これらの撮像データより抽出を行って３次元構築し，他の手法で得られているデータと合わせることにより，髄鞘変化に伴って生じる軸索異常の詳細を明らかにできると考えている。

40. ノロウイルスの高分解能構造解析

片山和彦，村上耕介，戸高玲子（国立感染症研究所）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

ノロウイルスウイルスに代表される胃腸炎ウイルスの感染による嘔吐下痢症は，世界中で毎年数百万人規模の感染者を出し，大きな問題となっている。ウイルスの発見から 40 年以上が経過するが，病原性発現機構は不明な点が多く，効果的な治療薬も存在しない。それは，これらウイルスを研究するためのモデル動物や，効率良くウイルスを増殖させる培養細胞が限られているためである。本研究では，唯一培養細胞で増殖可能なマウスノロウイル（MNV）の高分解能三次元構造をクライオ電顕により解析し，ノロウイルス感染の分子機構を明らかにすることで，ワクチンや治療薬の開発を促進する。

今回，MNV 感染性粒子（Virion）の調整のためのリバ

ースジェネティックスシステム構築に成功し，そのゲノム塩基配列を操作することで，感染性粒子に関する生化学的検討が実施可能となった。その結果 Virion には，VP1 が 180 分子，VPg が 24 分子，VP2 が 12 分子内包されていることが明らかになった示唆された。

この MNV Virion を培養細胞に感染させ，増殖させたのちウイルス粒子を単離精製する。これを親水化処理した Quantifoil 上に，Vitrobot(FEI company)を用いて急速凍結して氷包埋した。凍結グリッドは液体窒素内でクライオ試料ホルダー（Gatan 914）に載せてクライオ電子顕微鏡 JEM2200FS（JEOL）にセットし，高分解能クライオ電子顕微鏡像をデジタルカメラで記録した。画像データは EMAN　Software を使って単粒子解析し，核酸を含むウイルス粒子の高分解能三次元構造を解析した。

その結果，分解能約 20Å で MNV Virion の三次元構造を明らかにすることができた。Virion はキャプシドの幅が 7.4nm で，P ドメインと S ドメインの間に広い隙間があり，これまで解析されているネズミノロウイルス GV.1 Virion の構造に近かいことがわかった。これを昨年度解析した同じ種のウイルス様粒子（VLP）の構造と比較してみた。VLP では，キャプシドの幅が 8.4nm で，P（外殻）ドメインと S（内殻）ドメインの間に隙間が少なく，これまで報告されているヒトノロウイルス GI.1 や GII.10 の VLP と近かった。このことから，ノロウイルスでは Virion と VLP とで構造が大きく異なる可能性が示唆された。

41. 連続ブロック表面走査電顕による昆虫視覚第一次中枢モジュール構造の解析

松下敦子 [1]，　Finlay Stewart[1]，宮崎直幸 [2]，村田和義 [2]，蟻川謙太郎 [1]
（[1] 総合研究大学院大学・先導科学研究科，
[2] 生理学研究所・形態情報解析室）

本研究は，アゲハ(*Papilio Xuthus*)の視葉板（視覚第一次中枢）における色情報処理機構を解明するために，視葉板を構成するモジュール構造（カートリッジ）を SBF-SEM 法によって三次元再構築し，全てのシナプス分布を記載するコネクトーム解析を目指している。我々は期間内に以下の結果を得た。

(1) SBF-SEM 連続画像のセグメンテーションの半自動化処理法の開発
カートリッジは，1 個眼由来の視細胞軸索 9 本と複数の視葉板単極細胞（LMC）を含み，全長約 100μm である。SBF-SEM で得たこれの横断像 2000 枚から視細胞と LMC を抽出する自動処理法を検討・開発した。まず細胞膜と非細胞膜をコンピュータに双方向的に学習させ，輪郭を抽出し，さらに分水嶺アルゴリズムによって同一の細胞を先に抽出した輪郭に基づいて 2000 枚にわたって検出，標識した。この結果，カートリッジ構成細胞の立体概形が迅速に得られた(図 1)。

(2) 3 種のカートリッジの三次元再構築
アゲハのカートリッジは 3 種ある。(1)の方法により，これら 3 種からそれぞれ 9 本の視細胞軸索と 4 本の LMC の立体概形を得て，さらに手作業で立体構造を完成した(図 2)。その結果，LMC はその軸索径と側枝形態から 4 種に分けられ，各個眼に 4 種の LMC がそれぞれ 1 本ずつあることがわかった。

(3) カートリッジ内におけるシナプスの自動検出
カートリッジの連続画像から，シナプスを自動検出する画像解析法を開発した。1 カートリッジにおいて同定した全ての視細胞軸索と LMC の細胞膜の近傍で，小胞密度の高い部位を前シナプス，外接する細胞を後シナプスとして解析した結果，同定した細胞間で検出したシナプスの 9 割が視細胞から LMC または視細胞へ，1 割が LMC から視細胞または LMC への出力であった。

本研究は，生理学研究所計画共同研究により支援された。

1. 松下敦子,Finlay Stewart,宮崎直幸,村田和義,蟻川謙太郎. 日本動物学会，2014 年 9 月,仙台
2. 松下敦子,Finlay Stewart,蟻川謙太郎. 生理研研究会「電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用」 2014 年 10 月,岡崎
3. 松下敦子,Finlay Stewart,鳥羽郁美,宮崎直幸,村田和義,

蟻川謙太郎．日本動物学会，2015 年 9 月,新潟（予定）

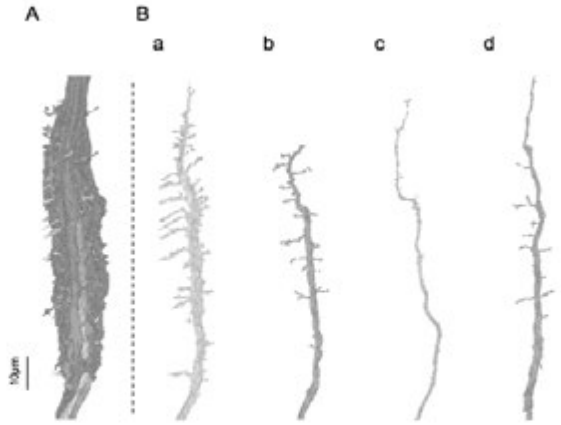


図１　2000枚のSBF-SEM連続画像の半自動化セグメンテーションにより得られたカートリッジ。(A)9本の視細胞（灰色）と4本のLMC（水色、ピンク、緑、黄色）。(B)4本のLMC(a-d)。シャフトの直径と側枝の形態から少なくとも3種のLMCがあることがわかる。

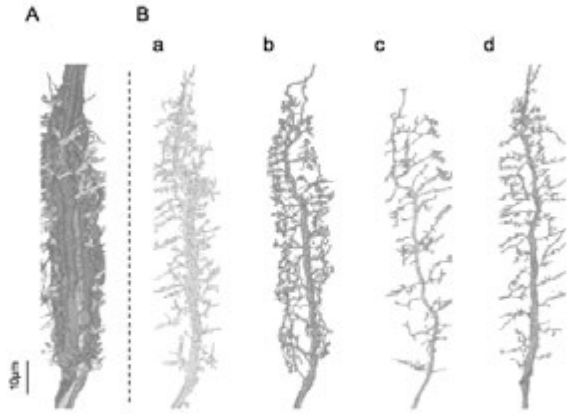


図２　完成したカートリッジ。(A)9本の視細胞（灰色）と4本のLMC（水色、ピンク、緑、黄色）。(B)4本のLMC(a-d)。半自動化セグメンテーションで区別が難しかったbとdは、側枝の形態が異なっていた。またa,c,dはカートリッジ外に側枝を出しているが、bはカートリッジ外に側枝を伸ばしていない。従って、LMCは4種あることがわかった。

42．連続ブロック表面－走査電子顕微鏡(SBF-SEM)による各種細胞微細構造の立体構造解析

深澤有吾（福井大学 医学部 組織細胞形態学/神経科学領域）

本研究では SBF-SEM を神経科学研究に有効に活用する技術を確立し，ナノスケールの空間解像度を保ちながら広い領域の神経回路構造と分子局在情報を迅速に得るノウハウを確立することを目的とした。具体的には，１）免疫金標識と組織構造の同時観察を可能にし，２）単一シナプス前線維からシナプス後細胞群への結合様式とその多様性に焦点をあて解析を進め，また同時に，国内で生体組織の超微細構造解析が必要な研究者に対して，試料作製と連続画像からの形態情報抽出の技術指導を行い，各研究の推進も補助した。

前年度までの検討で，通常の透過電子顕微鏡用に調整した免疫電子顕微鏡試料では十分な生体膜の電子密度が

得られず画像の読み取りが困難であることが判明したので，免疫電子顕微鏡試料作成後に，生体膜の電子密度を増加させる四酸化オスミウム―チオカーボヒドラジン―四酸化オスミウム処理を施して観察を試みた。しかし，既に劣化した細胞膜への処理は満足な電子顕微鏡像の向上には至らないことが判明した。

シナプス構造解析への応用は，主にシナプス間隙とシナプス後肥厚（PSD）を画像上で正確に判別可能にする試料処理条件について検討を行った。酢酸ウラン染色と硝酸鉛染色の処理時間を変更して電子染色の様子を確認した結果，硝酸鉛の染色時間の延長が PSD の可視化に有効であることを見出した。この検討の結果，それまでは不明瞭であった PSD が明瞭に判別できる画像を得ることに成功し，興奮性シナプスの同定と計測が可能となった。

次にシナプス間隙が同定でき，且つ，安定した切削と広範囲の観察が可能な撮影条件の検討を行った。この検討では，連続画像撮影時の加速電圧，電流，観察倍率，画像ピクセルサイズとピクセル当たりの情報取得時間を任意に選びながら，通常の透過電子顕微鏡観察で行う 50 nm 厚の切削を中心に検討した。その結果，25 ミクロン四方が観察できる 5000 倍以下の倍率を使用した時のみ切削が安定し，この様な低倍観察条件であっても，画像ピクセル数を一辺 8000 ピクセルで撮影することで，シナプス間隙の判別に十分な 5 nm/ピクセル以上の空間分解能が得られることを確認した。加えて，加速電圧を 1.4kV，プローブ電流値を 150 pA にて撮影することで，安定に組織の立体的な超微形態情報を取得できることを確認し，これら最適化した試料調整法と撮影条件を用いて連続走査電子顕微鏡画像の撮影を行っている。

43. 先端電顕観察法によるイネ種子細胞内タンパク質顆粒形成機構の解明

増村威宏，佐生　愛（京都府立大学大学院生命環境科学研究科）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

【目的】

イネ種子貯蔵タンパク質はグルテリンとプロラミンから構成されている。それらは，種子形成期に粗面小胞体上で合成され，グルテリンはブロック状に集積し貯蔵型液胞（PB-II）を形成するが，プロラミンは複数のプロラミン分子種が層状に集積し，小胞体由来プロテインボディ(PB-I)を形成する。しかし，PB-I, PB-II の詳細な形成機構は不明のままであった。そこで本研究では，立体構造の観察に適している SBF-SEM などの先端電子顕微鏡により PB-I, PB-II の構造を解析することで，胚乳細胞内における PB-I, PB-II の形成機構を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

試料調製は，京都府立大学にて実施した。成熟期のイネ種子より，プロテインボディを含む組織から観察試料を調製した。前年度，Thomas らの方法を元にイネ種子の SBF-SEM 用サンプルを調製し観察を行ったが，その方法は動物組織用であり，植物組織には対応していなかった。そのため，電子染色が不十分で 3view- SEM で画像を取得するのは困難であった。そこで本年度は，前年度の方法中の固定方法を改変して実施した。

完熟イネ種子を半切し，2.5% グルタルアルデヒド，2% パラホルムアルデヒドを含む PBS 溶液中で脱気しながら室温で 3 時間おき，PBS 洗浄後，1.5% フェロシアン化カリウム，2% 四酸化オスミウム混合液を加え 1h 氷上で固定した。水洗後，1% 酢酸ウラニル溶液を加え室温で一晩震盪し，アスパラギン酸鉛を加え，60℃，30 min インキュベートした。以降は同様に行った。

生理学研究所にて 3 View-SEM を用いて（SEM ; MERLIN, ZEISS 社），加速電圧：1.2 kV，倍率: 3,000，画像サイズ: 16.83 x 16.83 μm．Slice 数: 236，Pixel size: 0.0082 x 0.0082 μm，Slice thickness: 100 nm の条件で画像取得した。得られた連続断層像を画像処理し，Fiji でアライメントし，スタックファイルを作成した。imod ソフトを用い，画像中のデンプン粒やプロテインボディの一部をセグメンテーションした。

【結果と考察】

イネ完熟種子から試料を調製し，SBF-SEM を用いて観察を行った。プロトコールの改良により PB-I が判別可能となった。TEM 観察では，PB-I は直径 1～2 μm で

同心円状模様の顆粒として観察されるが，同様の顆粒が観察された（図 1）。また連続取得画像の結果から，PB-I と推測される顆粒が徐々に大きくなり，直径が 2〜3 μm に達した後，小さくなる様子が確認された。直径の最大面の画像では，電子染色によりコントラストの異なる同心円状の層が 3 層（中心部，中間層，最外周層）観察された。

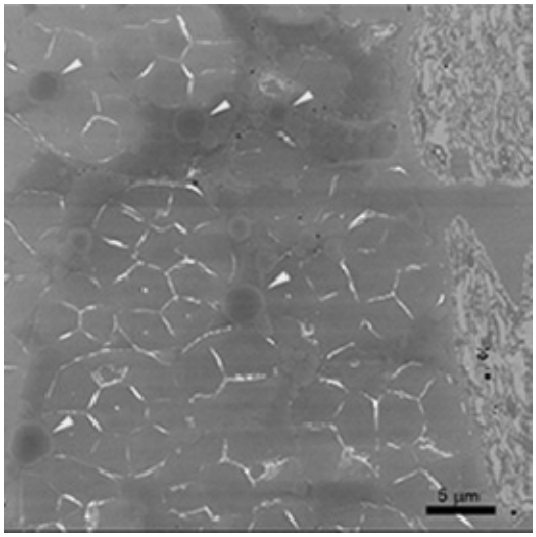


図 1．3 View-SEMによるイネ種子胚乳組織像
矢頭は PB-I を示す。

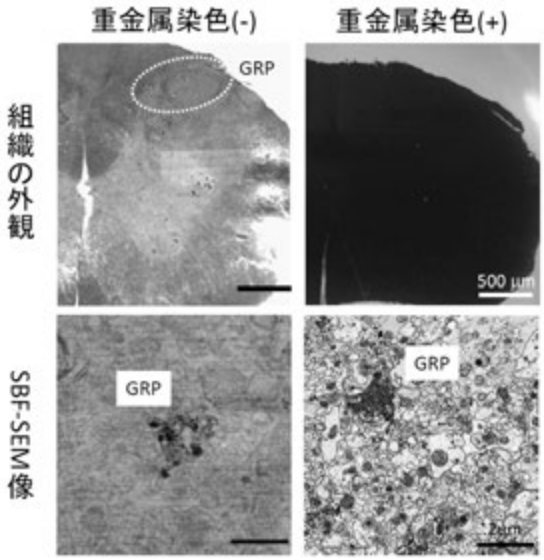
44．連続ブロック表面 SEM による感覚ニューロン系の 3 次元超微形態解析

高浪景子，河田光博（京都府立医科大学大学院解剖学・生体構造科学）

最近，脊髄内 Gastrin-releasing peptide(GRP)/GRP receptor 神経系が痒み感覚を特異的に伝達することが報告された（Sun and Chen, 2007, ***Nature***）が，この脊髄感覚 GRP 系に関する組織学解析は乏しい。そこで，我々は免疫組織化学法を用いて，成熟ラットの脊髄知覚神経系における GRP の発現解析を行ってきた。その結果，少数の一次感覚ニューロンの小型細胞の細胞体に GRP 免疫陽性が確認され，脊髄後角最表層においても，GRP 免疫陽性線維が確認された。また，脊髄後根神経切除術の結果から，脊髄後角に発現する GRP 免疫陽性線維は主に一次感覚神経由来であることが示唆された。また，透過型電顕を用いた免疫電子顕微鏡解析では，脊髄後角最表層において，明調性小胞や有芯性小胞を多く含む神経軸索終末に GRP 免疫陽性を多く認めた(Takanami *et al*., 2014, ***Journal of Comparative Neurology***)。さらに，超高圧電子顕微鏡（H-1250M）を用いて解析を実施し，GRP 免疫陽性神経末が数珠状構造を示していることを見出し，現在論文投稿中である。

ここで，従来の電子顕微鏡による感覚ニューロンのシナプス構造解析は，一連の連続切片作成が技術的に難しいため，2 次元的であり，ひとつの軸索に対するシナプス形成数，含有される神経伝達分子の種類，刺激による伝達分子の放出形態の詳細が不明であった。そこで，今回，目的分子を標識する免疫電子顕微鏡法と連続ブロック表面走査型電子顕微鏡(SBF-SEM)法とを組み合わせ，感覚ニューロンネットワークの微細構造レベルでの立体再構築を目指した。まず，免疫組織化学法により GRP を標識したのち，従来のウラン鉛染色法を用いた免疫電子顕微鏡解析では，樹脂包埋後に脊髄後角において GRP 免疫陽性シグナルの検出が可能であり，SBF-SEM 像では GRP 免疫陽性を認めるが，隣接する細胞膜構造が不明瞭であるため，シナプス構造解析を行うことができなかった（図左）。そこで，SBF-SEM で用いられる重金属染色法(NCMIR METHODS FOR 3D EM)を応用すると，SBF-SEM 観察において，GRP 免疫陽性シグナルと細胞膜構造の両方の可視化が可能となり，GRP 含有神経終末に対するシナプス構造解析が可能となった（図右）。現在は，SBF-SEM で取得した連続表面画像を基に，画像解析ソフトウエア Fiji と 3 次元可視化解析システム Amira を用いて，感覚ニューロン系の構成するシナプス構造のセグメンテーションと 3 次元再構築を実施している。これらの成果の一部は，平成 26 年度生理学研究所・

電顕研究会「次世代の生物電顕を考える」，第 3 回 SSSEM 研究会「SEM 連続断面観察法の現状をみつめ，未来を考える」，第 55 回日本組織細胞化学会・ワークショップ「Bioimaging histochemistry」，および The International Congress of Neuroendocrinology 2014 などにおいて発表し，好評を博した。今後は，生理的な痒みの伝達機構を明らかにするために，痒みを誘発した際の脊髄後角 GRP 神経終末の微細構造変化の解析を進めていく予定である。



図説：上段は重金属染色（±）のラット脊髄後角の外観。下段はラットの頸髄表層，1.5 kV の加速電圧の SBF-SEM 観察像。ともに GRP 免疫陽性シグナルは観察できるが重金属染色を施すことにより，神経ネットワークの可視化が可能となる（スケールバー 上段 = 500 μm, 下段 = 2 μm）。

45. 社会行動の分子基盤の理解に向けて：仲間感覚神経システムの 3D 構造の研究

尾崎まみこ，北條　賢，竹市裕介（神戸大学）
泰山浩司（川崎医科大学）
宮崎直幸，村田和義（生理研）

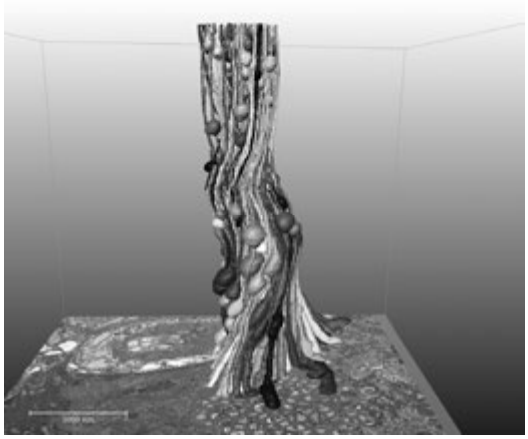
［目的］社会の形成・維持には“仲間識別感覚”の発達が不可欠である。本研究では第一の目的として，クロオオアリ（*Camponotus japonicus*）を用いて，巣仲間識別感覚子の 3D 標準マップ（内包される 100 個余りの化学感覚受容神経群とその周辺構造を含む）の作成を行う。第二の目的として，感覚子内の特徴的な瘤状サブセルラー構造について精査する。これらをもとに，本システムにおける個々の受容体遺伝子の発現と感覚神経・中枢モジュールの対応，あるいは多成分匂いパターンの差分検出センサユニットとしての作用機序を実証する。

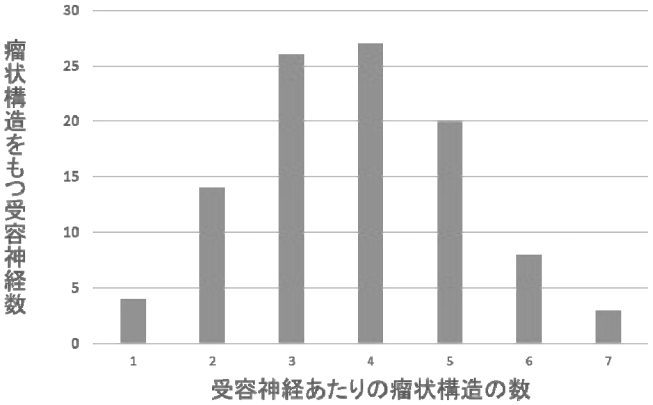
［方法］クロオオアリ働きアリを用いて，巣仲間識別に重要な役割を果たしている感覚子内部を生理学研究所の連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて観察し，３D 微細構造モデルを作成する。

［結果］感覚子内部には受容神経の感覚突起が 100 本以上存在し，以下いくつかの特徴的な構造が確認できた（図１）。１）得られた単一感覚子横断面の連続画像データを見る限り，内部で確認できた 102 個の受容神経感覚突起には通常見られる枝分かれ構造が見られなかった。２）受容神経感覚突起の途中に瘤状の構造が見られた。また，102 個の受容神経のうち，瘤状構造の分布は受容神経 1 本当たり 3〜4 個を中心に 1 個から 7 個認められ，瘤状構造のないものは見られなかった（図２）。３）瘤状構造部分では隣接した受容神経の感覚突の膜どうしが近接していることが分かった。

［考察と展開］H26 年度の観察においては，よい固定が安定的にできる段階ではなかった。細い触角上に生えている微小な感覚子内に確実に固定液が浸透するように

する工夫が必要である。これまでに得られた連続画像データは感覚子の根元近くのもので，先端部分が欠落している。これは感覚子を先端から根元へ向けて切削していったときに最先端部が記録できなかったためである。次年度は，天地逆にマウントすることで根元から先端に向けて全長の切削を試み，匂い分子が通過する嗅孔が局在する感覚子先端部分にも同じように瘤状構造が見られるかを確かめたい。今回新しく見出された瘤状構造部分で受容神経間の電気的連絡を仮定すると，匂いパターンの差分検出機能に関して画期的な作用機序を提案することができる。そこで，節足動物のギャップジャンクションを形成するイネキシンタンパク質に対する抗体を使った免疫電子顕微鏡（透過型電子顕微鏡）観察なども確かめてみたいと考えている。





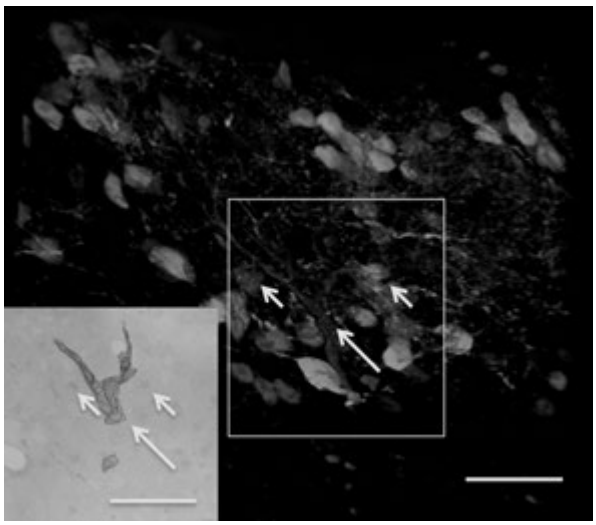
46. 嗅覚系脳神経回路の三次元微細構造的基礎 ～光顕から電顕へ繋ぐ統合解析～

樋田一徳，清蔭恵美（川崎医科大学）
村田和義，宮崎直幸（生理学研究所）

我々は従来，嗅覚系一次中枢の嗅球のシナプス回路神経回路について，レーザー顕微鏡と電子顕微鏡連続を用いて三次元構造解析を進めている。解析でのキーポイントは，光学顕微鏡レベルで同定したニューロンを電子顕微鏡連続切片再構築法によって解析する際に，異なる解像度による解析対象領域を同サイズに比較することである。レーザー顕微鏡で解析した領域を電子顕微鏡断面像で同定を進める中で課題となったのは，レーザー顕微鏡の記録画像に対応する立体領域を電子顕微鏡連続切片で解析するには，電子顕微鏡の超薄連続切片を膨大に作製しなくてはならないことと，正確な再構築には連続切片間の軸合わせが重要であること，などである。これらの課題を克服するためには，最近導入された連続ブロック表面撮影走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）が最適な解析装置であり，当該年度はまず，従来の我々の試料作製法が SBF-SEM に応用できるか否かの可能性の検討を主目的として解析を進めた。

脳定位法によってウイルスベクター遺伝子導入し投射ニューロンを単一標識，介在ニューロン群を遺伝子改変（TH-GFP）マウスと各種マーカー（GABA，Calbindin，Calretinin など）により，嗅球ニューロン群を遺伝学的背景，化学的性質，そして形態的特徴に基づいて識別できるよう多重蛍光染色し，レーザー顕微鏡で三次元構造解析を行った。その後，投射ニューロンは銀増感金コロイド法を応用し，TH は PAP 法で DAB に置換発色した（Suzuki et al; J. Comp. Neurol. 2015）。その結果，付図に示すようにレーザー顕微鏡と SBF-SEM の連続断面像間で同定でき再構築が可能となった。（付図；レーザー顕微鏡で撮影された四角の領域を SBF-SEM で観察した像を左下に示す。投射ニューロンは長い矢印で，SBF-SEM では再構築像を重ね合わせており，TH ニューロンは短い矢印で示す。Bar は共に 20μm）

我々の従来の方法では SBF-SEM の深い断面においてもシナプス同定も可能であったが，包埋剤と試料の導電性には更に改善の可能性が提起された。従来の電子顕微鏡法ではトモグラフィー解析が可能なため，目的に応じて SBF-SEM を組み合わせて現在解析を進めてたいと考えている。



47. Mapping the domains of Spt4/5 on RNA polymerase II by Zernike cryo-EM

Yi-min Wu, Jen-wei Chang, Chun-hsiung Wang, Wei-hau Chang
（Institute of Chemistry, Academia Sinica, Taipei, Taiwan）
Naoyuki Miyazaki, Kuniaki Nagayama, Kazuyoshi Murata
（National Institute for Physiological Sciences）

Spt4/5, a transcription factor conserved from bacteria to human, binds to RNA polymerase II. Here, we exploited ZEM, more sensitive to small features on large protein particle, to reveal the location of Spt4, the NGN and two KOW domains of Spt5 in the entirety of yeast RNA polymerase II-Spt4/5 complex.

The hetero-dimer formed by Spt4 and Spt5 is a unique conserved RNA polymerase-associated transcription factor. In yeast, Spt4 is of 10 kDa whereas Spt5 is of 110 kDa (Swanson et al., 1991; Hartzog et al., 1996; Hartzog et al., 1998; Wada et al., 1998). Yeast Spt5 has an NGN domain and several KOW domains (Kyrpides, Woese and Ouzounis (1996)), followed by C-terminal repeat as the target to phosphorylation (Ivanov 2000, Hartzog et al., 1998). Spt4/5 confers multiple functions as to elongation and was suggested to be involved in a wide range of processes, including chromatin remodeling (Quan and Hartzog 2010), 5’ capping (Pei and Shuman, 2002; Wen and Shatkin, 1999), splicing (Kaplan et al., 2000), RNA exporting (Burckin et al., 2005) and transcription termination (Kaplan et al., 2000; Bourgeois et al., 2002). A genetic study (Guo, et al., 2000) has shown a point mutation (V1012D) in Spt5 abolished the negative but retained the positive regulatory of transcription elongation, prompting a hypothesis as to multiple functions of Spt5 may reside in different domains.

Henceforth, it is pertinent to reveal the architecture of spt4/5 on RNA polymerase II. High-resolution studies have been limited to the structures of Spt4/Spt5NGN of yeast S. cerevisiae (Guo et al., 2008), human (Wenzel et al., 2010) and archaea M. jannaschii (Hirtreiter et al., 2010). The entirety of Spt4/5 with RNA polymerase was obtained by a single particle cryo-EM study (Klein et al., 2011) and in the map the NGN domain was interpreted to reside on the wall domain of RNA polymerase, in sharp contrast to a following X-ray study on the co-crystal of Spt4/5 with its binding motif in RNA polymerase II by Cramer group.

To resolve the discrepancy, we here employed Zernike phase plate cryo-EM (ZEM) followed by single particle reconstruction to obtain the structure of yeast RNA polymerase II with Spt4/5. Previously, we demonstrated that

this novel cryo-EM imaging gives unprecedented contrast and reduces image de-localization artifact to enable visualization of small domains on protein complex (Wu et al., 2013). On the other hand, compared to conventional cryo-EM (CEM), ZEM requires 2-3 times less images to obtain a 3D reconstruction with resolution of 10-20 Å (Chang et al., 2010; Murata et al., 2010). The structure RNA polymerase II-Spt4/5 was obtained from 17,000 ZEM images to 18 Å (Fig. 1D). When compared with the ZEM structure of RNA polymerase II, an arrow-head density was found on the clamp of RNA polymerase II and is likely to be attributed to Spt4/NGN. To further confirm the location of Spt4, we expressed a Spt5 in bacteria to reconstitute RNA polymerase II-Spt5 complex to perform ZEM to obtain the structure of a Spt4-less complex to observe the arrow-head density disappeared (Fig. 2B). To localize KOW1 and KOW5, we inserted eGFP in front of them respectively and observed additional densities in the reconstructions (Fig. 2C & D), one on the clamp and the other on the stalk formed by Rpb4/7 subunits.

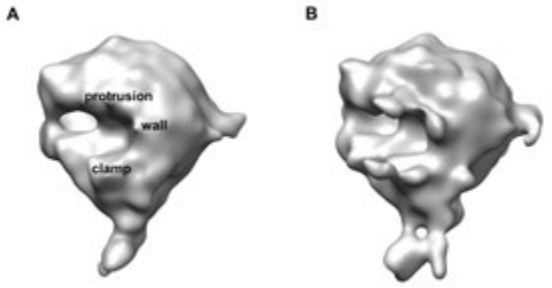


Fig. 1. Comparison of ZEM cryo-EM structures. (A) represents the top view of the ZEM cryo-EM RNA polymerase II structure and (B) that of RNA polymerase II-Spt4/5.

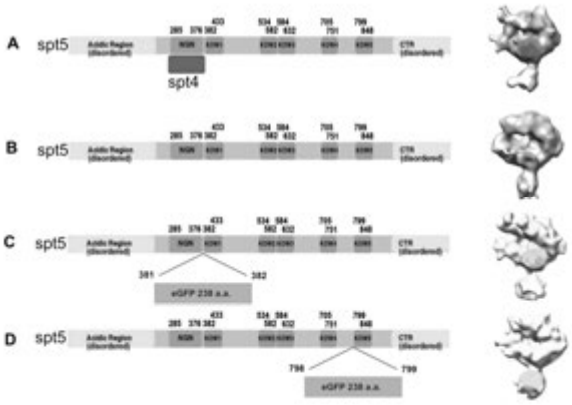


Fig. 2. A gallery of various RNA polymerase II-Spt5 complexes. Left panel represents the molecular constructs and the right panel represents the corresponding 3D structures obtained by ZEM cryo-EM followed by single particle reconstruction from about 20,000 images. (A) Both Spt4 and Spt5 are present on RNA polymerase II and purple circle denotes the location of Spt4; (B) Only Spt5 is with RNA polymerase II; (C) Only Spt5 is with RNA polymerase II but eGFP is inserted in front of KOW1 and the green circle denotes the likely position of eGFP; (D) Only Spt5 is with RNA polymerase II but eGFP is inserted in front of KOW5 the green circle denotes the likely position of eGFP.

48. 微小管のアセチル化制御における新規鞭毛輸送(IFT)タンパク質 MIP-T3 の分子機能解析

北里海雄（国立大学法人長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科）
村越秀治（自然科学機構・生理学研究所　多光子顕微鏡室）

微小管のアセチル化制御は様々な細胞生理機能の調節と多くの癌や神経疾患等の分子病態制御において極めて重要であり，脱アセチル化酵素 HDAC6 がその制御に主に関与している。H24 年度の計画共同研究では，新規鞭毛輸送（IFT）タンパク質 MIP-T3 は HDAC6 の新規結合蛋白質として初めて同定した。本研究では，多光子励起

法を用いた可視化解析により，MIP-T3 と HDAC6 との作用分子機構を解析し，細胞骨格のダイナミクス調節および細胞分裂制御における MIP-T3 の分子機能を明らかにすることを目的とする。

MIP-T3 と HDAC6 はいずれも微小管結合タンパク質であり，HDAC6 の阻害剤 TSA 処理により，MIP-T3 と HDAC6 との結合または微小管成分 α-Tubulin との結合が促進された。 TSA による MIP-T3 と α-Tubulin との結合亢進は α-Tubulin の 40 番リジン残基 K40 を変異した，アセチル化できない変異体 K40R を用いて確認したところ，K40R は MIP-T3 との結合が有意に抑制されていた。このことより，α-Tubulin の 40 番リジン残基（K40）のアセチル化は MIP-T3 との結合に重要であることが明らかとなった。また，MIP-T3 の各種欠損変異体を用いて α-Tubulin との結合を確認したところ，MIP-T3 の C 末端も α-Tubulin との結合に寄与していることを初めて判明した。更に，MIP-T3 または HDAC6 は微小管成分 β-Tbulin との結合も FRET 解析を行い，MIP-T3 も HDAC6 も β-Tubulin との結合が初めて確認された。

一方，MIP-T3 と HDAC6 は α-Tubulin との結合についてお互いにどのような影響し合っているかを調べたところ，HDAC6 の過剰発現は，MIP-T3 と α-Tubulin との結合を有意に抑制した。TSA による HDAC6 の脱アセチル化活性阻害は MIP-T3 と α-Tubulin との結合をレスキュした。このことからは，MIP-T3 と α-Tubulin との結合は HDAC6 による脱アセチル化で調節されることが示唆された。今後，MIP-T3 による HDAC6 活性調節への関与微小管のアセチル化制御における分子機能を明らかにしていく。

49. 弱毒性狂犬病ウイルスによる逆行性単シナプス分子輸送を応用した運動前ニューロンの同定

梅田達也（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 モデル動物開発研究部）

上肢の随意運動では，大脳皮質高次運動野からの運動コマンドが，一次運動野を経て脊髄運動ニューロンに伝達され筋活動が誘発される。しかしながら，頸髄レベルの脊髄には大脳皮質の複数の領野が軸索を投射しており，一次運動野以外の領野からの入力の機能的な意義や，複数の領野からの入力の情報処理の詳細な機構についてはいまだにわかっていない点が多い。霊長類以外の動物では，これらの入力は脊髄内の介在ニューロン（運動前ニューロン）を介して運動ニューロンに伝達される。そこで，大脳皮質から運動ニューロンに至る回路の理解には運動前ニューロンを調べる必要があるが，運動前ニューロンの同定法として狂犬病ウイルスを用いた手法が報告されるものの，技術的に困難であったり幼若な動物でしか成功が見られない。そこで，本研究は，トリ白血病ウイルスリガンドでコートされた狂犬病ウイルスをその受容体（TVA）を発現する運動ニューロンに感染させることで，大人の個体に対する安定的な運動前ニューロンをラベルする手法を開発し，複数の脳部位における運動前ニューロンを同定する。

平成 26 年度では，TVA を運動ニューロンに高効率に発現させる必要があり，運動ニューロンへの感染効率の高いウイルスベクターを同定する必要があり，その条件検討を行った。EGFP を発現するアデノ随伴ウイルス（AAV）のセロタイプ 1,2,5,6,DJ を，生後 8・21 日齢のラットの三頭筋に注入し，その 4 週間後に脊髄をかん流固定し，EGFP 発現細胞を観察した。EGFP を発現する運動ニューロン数を数えた結果，8・21 日齢にウイルス注入したラットのいづれにおいても，アデノ随伴ウイルスセロタイプ 1（AAV1）が最も EGFP 発現細胞数が多かった。一方，後根神経節の感覚神経細胞においても EGFP の発現がみられ，純粋に運動ニューロンにのみ感染するわけではなかった。そこで，次に運動ニューロン特異的に遺伝子発現を行うことを目的として，運動ニューロン特異的プロモーターとして報告されている HB9 promoter を用いて，運動ニューロン特異的発現のシステムを検討した。HB9 promoter を組み込んだ AAV1 を用いて EGFP の発現を試したところ，脊髄において EGFP の発現は検出されなかった。HB9 が発生期において機能する転写因子ゆえに，大人では効果がなかったと推察される。

50. 逆行性レンチウイルスベクターを用いた覚醒を導く神経機能の解析

山中章弘，犬束　歩（名古屋大学・環境医学研究所）
乾あずさ（名古屋大学医学系研究科）
小林憲太（生理学研究所・ウィルスベクター開発室）

光遺伝学や薬理遺伝学などの特定神経細胞の活動を操作する技術によって，その神経回路が担う機能を明らかにすることが出来るようになってきた。しかし，これらの実験技術の適用には，チャネルロドプシン 2(ChR2)や hM3Dq などのタンパク分子を標的とする神経細胞だけに発現させる必要がある。様々な神経細胞種に遺伝子発現をさせるために，その神経細胞が持つ神経伝達物質や，その神経伝達物質を合成するための酵素のプロモーターが用いられるが，同じ神経伝達物質を有する神経細胞群であっても，投射先が異なり，担う機能が異なることが多くある。投射先特異的に神経細胞に遺伝子発現をさせることが出来れば，さらに詳細な神経活動操作が可能になる。逆行性レンチウイルスベクターを特定神経が投射する領域に局所注入し，逆行性に感染させれば，その領域に投射する神経細胞だけに遺伝子を発現させることができる。このとき，レンチウイルスベクターにて Cre リコンビナーゼを発現させ，神経細胞が存在する領域に Cre 依存的に遺伝子を発現するアデノ随伴ウイルスベクターを感染させることで，特定領域に投射する特定神経だけを狙って活動操作することが可能になった。この技術を，睡眠覚醒調節に重要な神経細胞である，視床下部のオレキシン産生神経に適用して青斑核に投射するオレキシン神経細胞特異的に遺伝子発現させることを試みた。Cre 依存的に緑色蛍光蛋白質を発現させるアデノ随伴ウイルスベクターを用いて青斑核に投射するオレキシン神経細胞だけに緑色蛍光蛋白質を発現させた。しかし，二つのウイルスベクターの感染効率等により，発現細胞数は十分ではなかった。今後はウイルスベクターのさらなる濃縮などの手法を採用することにより，効率を向上させる取り組みを開始する。

51. 逆行性ウィルスベクターを用いた体液恒常性維持神経回路の解析

野田昌晴，檜山武史（基礎生物学研究所）
小林憲太（生理学研究所）

ナトリウムは体液を構成する主要なイオンであり，細胞内外の物質輸送や神経活動など重要な生理機能に関わっている。体液のナトリウムレベルは脳において常に監視され，塩分摂取行動の制御などを通じて一定に保たれている。Na レベルセンサーである Na_x チャンネルは脳弓下器官と終板脈管器官に発現しており，特に脳弓下器官には，体液ナトリウムレベルの監視と塩分摂取行動の制御に関わる中枢が存在することが，過去の我々の研究から明らかになっている。しかし，塩分摂取行動の制御を担う神経回路の実体はまだ明らかになっていない。

動物に利尿剤を投与し水と塩欠乏食だけをしばらく与え続けると，塩欠乏状態に陥る。この時，動物は塩分に対する渇望を示し，食塩水の摂取量が増える。アンジオテンシン II 受容体 AT1a の阻害剤を予め脳室内に投与しておくと，食塩摂取の増加は失われる。脳において，AT1a 受容体は，脳弓下器官を含む一部の脳領域のニューロンにおいて高い発現を示した。脳弓下器官の AT1a 発現ニューロンの一部が，ある神経核（以下，論文未発表のため神経核Ｘと記載）に投射して神経回路を形成しており，塩欠乏時には，AT1a を介して活性化していた。そこで，本研究では，この神経回路の活動を人為的に操作することによって塩分摂取行動の制御を試みた。

まず，光によって活性化されるプロトンポンプ（ArchT）を用いて，光照射時に神経活動を抑制することを試みた。ArchT 遺伝子を組み込んだ逆行性ウィルスベクターをマウスの神経核Ｘに局所注入した。さらに，脳弓下器官を局所光刺激するための光ファイバー挿入用カニューラをマウス頭部に設置した。これにより，脳弓

下器官から神経核Ｘに投射するニューロンだけを光操作することが可能である。マウスを塩欠乏状態にし，その後の水分・塩分摂取量を光刺激の有無で比較したところ，光刺激によって塩分摂取が抑制されていた。一方，水分摂取には影響なかった。以上より，脳弓下器官のニューロンのうち，神経核Ｘに投射する AT1a 発現ニューロンが塩分摂取行動に必要であることが明らかになった。

52. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究

藤山文乃（同志社大学大学院 脳科学研究科）

『直接路ニューロンの側枝が淡蒼球外節のどの領域のどのニューロンを駆動しているのかを検証する』

A: 形態学的同定（光顕および電顕）

D1RCre マウスと，Cre 依存的に GFP を発現するアデノ随伴ウィルスベクター（共同研究で作成していただいたもの）を使用し，直接路ニューロンの側枝が淡蒼球外節のどの領域に投射しているのか，およびどのタイプのニューロンに投射しているのかを免疫組織化学と組み合わせて共焦点顕微鏡で解析している。直接路側枝が形成するシナプスの同定は免疫電顕で行い，ポストシナプスのニューロンがどのタイプか（パルブアルブミン陽性かエンケファリン陽性か），このシナプス部位に発現する受容体はどのタイプかを同定することも予定している。直接路に特異的な受容体の発現が見られれば，将来創薬のターゲット候補になりうる。

B): 電気生理学的同定（in vivo およびスライス標本）

線条体と淡蒼球外節の線維連絡を保ったスライス標本と in vivo の両方で D1RCre マウスと，Cre 依存的にチャネルロドプシンおよびハロロドプシンを発現するアデノ随伴ウィルスベクターを使用し，光刺激により D1R 陽性ニューロンの神経活動を変化させた時の淡蒼球外節ニューロンの反応を解析する。スライス標本においては，D1R 陽性ニューロンあるいは陰性ニューロンと淡蒼球外節ニューロンとのダブルパッチを各々施行し，直接路ニューロンと間接路ニューロンの淡蒼球外節ニューロンに与える影響の違いを領域およびニューロンタイプ毎に検証している。

53. ラットヒゲ感覚系における触覚受容器の構造的特性を「3view-SEM」による三次元再構築によって解明する

古田貴寛（京都大学大学院医学研究科高次脳形態学教室）

本研究は，末梢神経系における触覚受容器のメカニズムを明らかにすべく，その形態学的構築を三次元的かつ高解像度で解析することを目的としており，その方法として 3view-SEM システムを利用するものである。皮膚における触覚受容器は，形態学的な分類によって多くの種類が存在する。これらの多様な触覚受容器がどのように役割分担しているかについては，いまだに多くの謎があり，さらに詳しく研究を進めるためにラットのヒゲ触覚系を題材とすることが有効であると考えた。ラットのヒゲ感覚系にある触覚受容器の一つ一つは人の皮膚にあるそれと相同のものであるが，一方で，毛根を触覚受容器が包んで構成する「毛包」という構造は，皮膚の構造とは異なる部分がある。毛包内の機械受容器の微細形態を，毛包のマクロ的な構造との関係性の中で，三次元的データによって解析することはとても重要である。

オス成体のラットをホルムアルデヒドとグルタールアルデヒドの溶液で灌流固定し，感覚ヒゲ（whisker）が生えている顔面の皮膚を切り出した。24 時間の浸漬固定の後，サンプルを 100 μm の厚みで薄切し，University of California, San Diego で開発された方法によってオスミウム処理を行った。専用のサンプルホルダーに固定し，適切な形に整えた後に白金パラジウムコーティングを施し

た。こうして準備したサンプルを 3view-SEM において加工撮影し，連続微細構造画像を取得した。取得した連続画像は画像処理ソフト「Amira」によって解析した。輪状静脈洞と一致する場所において，毛軸を包む組織のほぼ同じ場所に，メルケル終末と槍型終末が存在していることが知られているが，厳密には全く同一の空間に共存していなかった。「ガラス膜」と呼ばれる基底膜を境に，上皮組織側で基底膜に隣接した細胞層にメルケル終末が存在していたのに対し，槍型終末は，基底膜から結合組織側において基底膜に接するように配置されていた。メルケル終末と槍型終末では，その活動特性が異なるが，今回観察された形態学的特徴はそれらの活動特性を形成する要因となっている可能性がある。こうした基礎的な所見を丁寧に積み上げることにより，末梢における触覚受容機構を解明することに貢献できると考えられる。

54. 神経細胞軸索に生じる膨腫構造の超微細構造解析

木下雅美（理化学研究所/脳科学総合研究センター 神経膜機能研究チーム研究員）
赤木　巧（理化学研究所／脳科学総合研究センター内研究基盤センター研究員）
大野伸彦（山梨大学大学院 解剖学講座 分子組織学教室准教授）

GPRC5B は進化的によく保存された GPCR 様の膜タンパク質である。これまでのGPRC5B ノックアウトマウスを用いた解析から，運動学習形成の中核とされる小脳プルキンエ細胞の軸索末端部に特徴的な膨腫(swelling)が形成されること，その膨腫がシナプス形成を阻害するため，小脳依存的な運動学習機能が著しく低下することが強く示唆された。

この膨腫形成による神経機能欠損メカニズムを検討するため，膨腫を免疫組織染色法および透過型電子顕微鏡法(TEM)により調査したところ，膨腫内に多数の小胞体，ミトコンドリア，細胞骨格などの蓄積が認められた。さらに詳細な構造情報を得るため，生理学研究所電顕室の助勢を得て SBF-SEM (Marlin 3 view)により３次元的に構造解析を行った。その結果，これまで 2 光子顕微解析では困難であった軸索末端部の詳細情報を得，また膨腫内において極めて特徴的なオルガネラ異形成－小型ミトコンドリアの異常蓄積や巨大な層板状小胞体漕の形成，さらにミトコンドリアと小胞体の恒常的な接触など－が観察された。さまざまな神経変性疾患に観られる軸索膨腫には，このようなオルガネラの集団的異形成は希有と思われる。神経軸索変性は通常細胞死に至るのに対し，GPRC5B 欠損型プルキンエ細胞は生涯脱落しないことから，GPRC5B による軸索末端部形成あるいは前シナプス形成に特化したローカルな役割が強く示唆される。

神経機能欠損を惹起する軸索膨腫の形成過程は，複数の分子メカニズムの障害が関与していると考えられる。最近の一連の実験結果から，我々はGPRC5Bがミトコンドリアに親和性をもつ可能性に注目している。GPRC5B 欠損と膨腫発生の生理学的な関連を３次元構造情報を交えながら解析し，この膜分子の本質的な機能の解明を進めている。

55. 脳特異的な MITOL ノックアウトマウスの形態学的解析

長島　駿，柳　茂（東京薬科大学生命科学部分子生化学研究室）
大野伸彦（山梨大学大学院医学工学総合研究部解剖学講座分子組織学教室）

ミトコンドリアはエネルギー産生を担う重要な細胞小器官である。近年の研究においてミトコンドリアと小胞体の接着がミトコンドリアの機能維持に重要であることが明らかになりつつある。しかしながら，ミトコンドリアと小胞体の接着点の形成機構は未だに不明な点が多い。本研究では，ミトコンドリアに局在するユビキチンリガ

ーゼ MITOL に着目し，神経細胞におけるミトコンドリアと小胞体の形成機構の解明を試みた。我々は以前に培養細胞を用いて MITOL がミトコンドリアダイナミクスやミトコンドリアと小胞体の接着を制御することを報告した。本研究では，MITOL を脳特異的に欠損したマウスを作製し，海馬神経細胞におけるミトコンドリアの形態およびミトコンドリアと小胞体の接着点である mitochondria associated ER membrane (MAM)の形態の解析を進めた。これまでの MAM の解析は生化学的な解析や電子顕微鏡を用いた二次元の形態学的な解析が行われているが，正確性が不十分であり，より正確な MAM の解析方法の確立が求められている。本研究では，ミクロトーム組み込み型走査電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いて MAM の三次元再構築を行い，より正確な MAM の形態学的な解析を行った。

まず，ミトコンドリアの体積を比較した結果，野生型と比較して MITOL 欠損した細胞のミトコンドリアが顕著に小さいことが明らかとなった。つぎに MAM 面積の解析をおこなった。MAM はミトコンドリアと小胞体の接着部位を１ピクセルずつトレースし，３次元再構築を行い比較した。ひとつひとつの MAM 面積に有意差は認められなかったが，MITOL 欠損細胞ではミトコンドリア当たりの総 MAM 面積と MAM 形成数に顕著な減少が認められた。しかしながら，MITOL 欠損細胞ではミトコンドリア体積も減少している。ミトコンドリアが小さくなったために総 MAM 面積や MAM 形成数が減少した可能性を否定するために，ミトコンドリア単位面積当たりの MAM 面積を比較した。MITOL 欠損細胞ではミトコンドリア単位面積当たりの MAM 面積が小さいことが明らかとなり，MITOL 欠損により MAM 形成が減少することが示唆された。マウス脳においても MITOL が MAM 形成を制御することが明らかとなった。今後は MAM 形成機構や MAM 破綻による神経細胞への影響について解析を進める。

56. マラリア原虫感染赤血球におけるマウレル裂の 3D 構造解析

坂口美亜子，金子　修（長崎大学熱帯医学研究所）
藤岡　壽（ケースウェスタンリザーブ大学）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

マラリアは亜熱帯や熱帯地方に見られる蚊媒介性の熱帯病であり，年間約 70 万人の死者が報告されている。マラリアを引き起こす原虫（*Plasmodium*）の中で熱帯熱マラリア原虫（*P. falciparum*）は特に症状が重篤化しやすいため，ワクチンの早急な開発が必要とされている。*P. falciparum* は蚊の吸血の際にヒト体内へと侵入し，細胞侵入型のメロゾイトが赤血球に感染する。原虫は寄生胞膜と呼ばれる膜に包まれた状態でリング，トロホゾイト，シゾントへと発育し，シゾント内で分裂し形成された新たなメロゾイトが血流へ放出されて次の赤血球に感染し，ヒト体内で増殖を繰り返していく。このような宿主赤内期において，*P. falciparum* は感染した赤血球細胞質内にマウレル裂と呼ばれる膜状構造を形成して病原性発露に関与する原虫分子の輸送を行い，また赤血球表面にノブと呼ばれる突起構造を形成して血管内皮細胞の表面に対する接着分子を発現し，赤血球全体の構造を改変していく。

そこで本研究では，SBF-SEM を用いて *P. falciparum* の宿主赤内期の各発育ステージにおける原虫及び感染赤血球全体の三次元再構築像を取得し，微細構造の形態や体積の変化について定量解析を行った。まず観察の結果から，マウレル裂は他のマウレル裂や TVN と呼ばれる膜管腔ネットワークと結合している様子は見られずそれぞれが独立して存在し，寄生胞膜から赤血球表面へと連続的に繋がった一連の構造体ではないことがわかった。また定量解析の結果から，原虫やそのオルガネラは発育ステージが進むにつれ体積が増大していくが，赤血球の細胞質は原虫のヘモグロビン消化により体積が減少し，シゾント後期では原虫が感染赤血球の約 70%を占めることが明らかとなった。

57. 細胞小器官新生現象の電子顕微鏡による解明

臼田信光，森山陽介，辻（厚沢）季美江，深澤元晶（藤田保健衛生大学 医学部）

ペルオキシソームは一重膜に包まれた細胞小器官であり，脂肪酸代謝やコレステロールや胆汁酸の合成，アミノ酸やプリンの代謝を担う。細胞内での大きさや個数は一定ではなく必要に応じて増殖するが，細胞あたりおよそ数百～数千個のペルオキシソームが存在する。その増殖については他の細胞小器官と同様に既存の膜構造から分裂して増殖すると考えられてきたが，その様式は明らかではない。そこで本研究において細胞小器官新生の電子顕微鏡レベルの三次元解析を行うことを目的とし，ラット肝臓でのペルオキシソーム増殖時における分裂様式の解析を SBF-SEM（連続ブロック表面走査型電子顕微鏡）を用いて行った。SBF-SEM はミクロトームを内蔵した走査型電子顕微鏡により，試料表面を薄く切削し現れた表面を観察しすることを繰り返し，細胞構造の連続電子顕微鏡像を得られる新規観察法である。得られた連続像からは三次元の立体再構築が可能となるが，その際には全ての連続画像内の目標物を領域選択する煩雑な作業が伴う。そこで本研究では標本作製の際にペルオキシゾームのマーカー酵素カタラーゼを利用して DAB 反応によって特異的な染色を行うという工夫を加えた。これにより細胞内の多くの膜構造の中からペルオキシソームは容易に判別でき，さらに高コントラスト領域として半自動で正確に選択することが可能となった。三次元再構築されたペルオキシソームは小球状構造（直径 0.15-1.3μm）として観察された。DEHP 投与によりペルオキシソームの増殖を誘導すると，様々な大きさのペルオキシソームとともに多数の小さなマイクロペルオキシソーム（直径 0.1μm）が観察された。また，ペルオキシソームから出芽するようにコブのような構造が形成されたものや，さらにそれが括りきれようとしている像も多数観察された。同様の出芽・分裂像は DEHP 非投与のラット肝臓でも観察された。DEHP の長期投与（5-20 日）では，マイクロペルオキシソームの割合が減り，直径 1μm を超える大きなものがほとんどとなったことから，ペルオキシソームの増殖においては既存のペルオキシソームから出芽・分裂してマイクロペルオキシソームが形成され，やがてそれらが肥大することが考えられる。

58. 神経回路形成における細胞接着分子の機能と作用機構

溝口　明，藤原武志，王　淑杰，伊藤　優（三重大学大学院医学系研究科・医学部）
崔　煌植（三重大学医学部）

私どもは，細胞間接着に重要である免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞間接着タンパク質の nectin およびその裏打ちタンパク質である afadin に着目し，それらの中枢神経回路形成における機能と作用機構を明らかにすることを目的としている。nectin および afadin が神経シナプスの形態形成を制御すること，特に海馬 CA3 における苔状線維シナプスのプンクタアドヘレンシアジャンクションに局在してその形成を制御し，また，afadin が神経伝達物質の放出を含めたシナプス前部の機能を制御することを明らかにしている。しかし，nectin および afadin がシナプス形態形成に及ぼす影響の詳細はほとんど不明である。平成 26 年度の本共同利用研究では，afadin の海馬 CA3 の苔状線維シナプス形態構造における役割を，afadin ノックアウトマウスの海馬組織および走査電子顕微鏡の連続断面画像 SBF-SEM を用いた 3 次元立体再構築の方法を用いて解析した。コントロールおよび afadin ノックアウトの海馬組織から連続断面画像をそれぞれ 300 から 500 枚取得して解析を行った結果，苔状線維シナプスの形態構造のうち，(1) 苔状線維終末と CA3 錐体細胞の樹状突起スパインとの接触面積が減少し，(2) プンクタアドヘレンシアジャンクションおよびシナプス後肥厚の数が減少し，また形状が断片化していること，さらに (3) シナプス前部の放出準備シナプス小胞の数が減少するなどの異常な表現型を見出し

た。つまり，afadin が海馬苔状線維シナプスの苔状線維終末と樹状突起スパインの接触面の程度，プンクタアドヘレンシアジャンクションおよびシナプス後肥厚の数と形態，およびシナプス前部の放出準備シナプス小胞の数を制御することを明らかにした。これらの知見は，第120回日本解剖学会総会・全国学術集会・第92回日本生理学会大会合同大会(2015年3月，神戸市)で発表した。平成 27 年度では，得られた知見をさらに深めて論文化する目的で，afadin ノックアウトおよびコントロールの海馬苔状線維シナプスの形態構造を SBF-SEM による 3 次元立体再構築の方法により，シナプス後部の形態も合わせて解析していく。これらの解析により，細胞間接着関連タンパク質による神経シナプスの形態形成機構を 3 次元形態構造のレベルで詳細に明らかにできると考えている。

59. SBF-SEM によるニワトリ M 細胞の立体構造解析

齋藤理美，本道栄一，大森保成（名古屋大学）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

粘膜免疫応答を誘導するにあたり，抗原が体内へ侵入する最初の窓口となるのが microfold cell（M 細胞）である。取り込まれた抗原は M 細胞のポケット構造内にある免疫担当細胞に受け渡され，抗原特異的な粘膜免疫応答が誘導される。ニワトリ M 細胞の分布や機能を解明することは M 細胞をターゲットとした粘膜ワクチンの開発に貢献でき，感染症を予防する上で重要である。

M細胞はマウスやウサギなどにおいて主に腸管のリンパ小節を覆う濾胞関連上皮に，マウスにおいては吸収上皮細胞間にも存在する。ニワトリはメッケル憩室，盲腸扁桃，ファブリキウス嚢に存在するという報告があるが，吸収上皮細胞間においては発見されていない。以前ハリエニシダレクチンによる染色を行ったところ，空腸の絨毛上皮において染色性の異なる上皮細胞が確認されたことから，ニワトリでもマウスと同様に吸収上皮細胞間にM細胞が存在する可能性が示唆された。本研究はニワトリの空腸絨毛における M 細胞の同定を目的としたが，ニワトリの M 細胞には明確なマーカー物質が存在しない。過去に行われた研究から，レクチンによるニワトリM細胞の同定は染色性が弱く，部位により染色性が異なるため有効でない。そこで，より広範囲に探索を行うため，SBF-SEM を用いたニワトリ絨毛上皮細胞の形態解析を行った。

NBRP を介して名大 ABRC から提供された褐色レグホン種，白色レグホン種，ファヨウミ種の空腸とファブリキウス嚢をブロック染色し，SBF-SEM を用いて連続断面画像を得た。得られた画像を 3D 可視化解析システム Amira により細胞の三次元構造の解析を行った。同一サンプルから超薄切片を作製し，TEM による観察も行った。

ニワトリ M 細胞を，①短いあるいは不規則な微絨毛，②免疫担当細胞を抱え込むポケット構造，③高電子密度という 3 つの形態学的特徴により定義した上で観察を行った。TEM による観察では空腸絨毛において特徴①②に加え，過去の報告からニワトリ M 細胞の特徴である③を持った細胞が認められた。SBF-SEM による観察ではこれら 3 つの特徴を有する細胞は 1 つのみで，このうち①②あるいは①③の 2 つの特徴を持った細胞が複数発見された。マウスではM細胞が 2 つのサブタイプに分かれることが報告されているので，ニワトリでも M 細胞にサブタイプが存在し，形態的な差異を生じる可能性が示唆される。

60. 甲状腺乳頭癌細胞の核形態　-SBF-SEM による 3 次元解析-

加藤良平（山梨大学総合研究部医学域人体病理学講座）
大野伸彦（山梨大学総合研究部医学域解剖学分子組織学教室）
井上朋大（山梨大学総合研究部医学域人体病理学講座）

目的: 乳頭癌は甲状腺から発生する悪性腫瘍の中では最も頻度が高く，女性に多い，リンパ節転移が多い，予後が良好などの臨床的特徴が知られている。現在，乳頭癌の組織細胞診断は，組織構造よりも腫瘍細胞の核所見によって規定されています。すなわち 1）核の溝 nuclear groove，2）核内細胞質封入体 intranuclear cytoplasmic inclusion，3）スリガラス状核 ground glass nuclei である。しかしながら，特徴とされるこれらの核所見は，主として切片上における 2 次元的局面（割面）での観察によるもので，実際の核形態の特徴を知るには 3 次元的観察が必須である。そこで，今回我々は，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡 serial block-face scanning electron microscopy (SBF-SEM) を用いて乳頭癌細胞核の断面を連続的に撮影し，その画像をモニター上に再構築して 3 次元的に観察することにした。

材料・方法: 山梨大学医学部附属病院で外科的切除された甲状腺乳頭癌組織を，4%Paraformaldehyde と 0.5%Glutaraldehyde の混合液で固定後，エポン包埋した。観察には SBF-SEM を用い，厚さ 60nm-80nm で，500 枚程度の連続切片画像を撮影した。撮影した画像の解析には画像解析ソフト (Fiji/Image J と Amira5.0)を用いた。

結果: SBF-SEM にて撮像した 3 次元イメージ画像では，甲状腺乳頭癌核は，正常甲状腺の濾胞上皮細胞と比較し，は核表面の不整や陥入などがより明瞭であった。さらに，これまでは通常の透過型電子顕微鏡では証明することが困難であった「核内細胞質封入体と外部との交通」，すなわち外部との交通を伴う封入体と，外部との交通を伴わない封入体との識別が可能になった。

まとめ: SBF-SEM を用いて，核の陥入像や核内封入体を観察し，それらの形成過程における変化を 3 次元的にとらえることに成功した。すなわち，核の陥入像から偽封入体となり，真の封入体が形成されることが示唆される。今後は，核内封入体と封入体内に存在する細胞小器官との関連について詳細に検討し，乳頭癌細胞の特徴とされる核形態の意義について考察を加えたいと考えている。

61. カエル茸状乳頭の味覚円盤に分布する神経，ならびに円盤を構成する諸細胞の三次元微細構造の解析

田所　治，奥村雅代，金銅英二，矢ヶ﨑裕（松本歯科大学口腔解剖学第一講座）
大野伸彦（山梨大学大学院医学工学総合研究部解剖学講座分子組織学教室）
安藤　宏，北川純一（松本歯科大学口腔生理学講座）

生理学研究所に設置されている SBF- SEM を,味覚受容機構の形態構造学的研究に活用する技術を確立し，ナノスケールの空間解像度を保ちながら広い観察領域における微細形態と構造，および分子局在情報を得ることを目的とした。本年度は,免疫標識と形態構造の同時観察の可否について検討を行った。

試料はパラフォルムアルデヒドによる灌流固定を施したウシガエルから舌を取り出して切片を作製し,サブスタンス P 抗体を用いて DAB 発色を行った後,茸状乳頭のみを切り出して,オスミウム処理を行う手順に従って処理して観察をおこなった。

DAB 発色させた試料では,免疫反応が強く生じていると思われる部位が時々判別できたが，形態構造の破壊が著しく,実際は殆ど撮像に適さなかった。また,本年度に試みた方法では,試料の帯電防止のために試料表面を予め暴露する切削作業を行う必要があること,処理された組織片が黒色化するために,試料表面から見たい領域の画像を取得することが難しく,実際に明らかな免疫反応

を示す領域の画像を取得できなかった。したがって，技術的な改善が本機器向けの免疫電顕用試料の作成,および撮像に必要である。

今後は,茸状乳頭上皮の三次元微細構造の画像取得を第一の目標とし,上皮内の神経線維と諸細胞の超微形態を保持しながら免疫反応が確実に得られる試料の作製方法についても引き続いて検討する予定である。

62. ホヤ表皮細胞の最終卵割でみられる細胞分裂の方向制御に関わる新奇な膜構造の電子顕微鏡観察

上野直人，根岸剛文（基礎生物学研究所）

本研究計画では，ホヤ表皮細胞の最終分裂(第１１分裂)でみられる糸状の新奇細胞内構造の役割を明らかにすることを目的とする。また，この特殊な膜構造形成の分子機構と細胞分裂面制御における機能を明らかにする。さらに，この研究を通して，「力学制御による紡錘糸の方向決定」という新しい細胞分裂方向制御メカニズムを提唱したいと考えている。研究計画に基づき，生理学研究所形態情報解析室において，SBF-SEM(3D-SEM (MERLIN))を用いて，ホヤの１種であるカタユウレイボヤ（*Ciona intestinalis*）胚に形成されるこの膜構造の詳細な観察を行った。

SBF-SEM は，本研究で注目しているような未知かつ微細な構造を空間的に捉えることに非常に有効で，本研究においても糸状に伸長する新奇膜構造を効果的に観察することができた。この SBF-SEM を用いた観察を通して，注目している新奇膜構造において非常に興味深い点がいくつか明らかになった。まず，この膜構造は，隣接する２つの細胞の細胞膜より形成されるということである。SBF-SEM による連続断面像の解析により，隣接する２細胞の細胞膜同士が陥入し，膜構造を形成する様子が観察できた。さらに，セグメンテーション・３Ｄリコンストラクションを行うことにより，この結果を高い視覚効果を持ったムービーとして示すことができた。この膜構造が中心体に向かって伸長する様子が観察できたことは，同膜構造が紡錘糸の方向を決定する役割を担っていることを支持するものである。また，膜構造と中心小体の距離を明らかにすることもできた。中心体の空間的な制御は細胞分裂の方向の決定に極めて重要であることが多くの先行研究により明らかになっており，この観察結果は本研究計画の最終目的である新しい細胞分裂方向の制御メカニズムの提唱へ向けて極めて重要なものである。

また，今回の SBF-SEM を用いた観察により，新奇膜構造が繊毛の中心体（基底小体）に向かって伸長していることも確認できた。すなわち，この観察結果はこの膜構造が細胞分裂の方向制御のみならず，繊毛の位置決定にも関わっている可能性を示しており，本研究は，細胞分裂の研究分野のみならず，繊毛研究への寄与も期待できる。計画申請者が所属している基生研で行ったライブイメージング観察と併せて，論文を投稿準備中である。

63. イネキシンの構造解析に向けた位相差電子顕微鏡の応用

大嶋篤典（名古屋大学細胞生理学研究センター）
村田和義（生理学研究所）

イネキシンギャップ結合チャネルは無脊椎動物に存在する細胞間連絡チャネルで，イネキシンは 4 回膜貫通型タンパク質である。脊椎動物が持つコネキシンは先行研究が多く構造も数例報告されているが，イネキシンの研究報告は数が少なく，三次元構造の詳細は不明である。本研究では線虫が持つイネキシン-6(INX-6)の極低温電子顕微鏡を用いた単粒子解析による構造解析を目的としたデータ収集と画像解析を行った。

試料となる INX-6 の発現は昆虫細胞を用いて行い，界面活性剤で可溶化後，ニッケルアフィニティーカラムとゲル濾過クロマトグラフィーで精製 INX-6 チャネルを調製した。Quantifiol R2/2 mesh にカーボン薄膜を張り付け，イオンコーターで親水化した。タンパク質試料を mesh 上にアプライし，急速凍結装置 Vitrobot(FEI)を用いて凍結後，クライオ電子顕微鏡 JEOL2200FS で観察した。最初に一般的なクライオ撮影条件で撮影し，そのデータを画像解析ソフト EMAN で解析して二次元クラスアベレージを得た。その結果，8 回対称を示すピークが現れたが，その特徴は不明瞭なものであった。そこで，さらに高コントラストの画像を得るため，特に低空間周波数におけるコントラストの改善が期待できる Zernike 位相板を挿入してクライオ電子顕微鏡像の撮影を行った。得られた画像データには高コントラストなチャネルの像が確認されたが，画像解析した結果，二次元クラスアベレージは前者の解析結果を上回るものではなかった。この結果から考えられる可能性として，精製タンパク質の不安定性または構造の不均一性が強く示唆された。今後はより安定的に精製する条件を探索し，クライオ電子顕微鏡観察のためのサンプル調製の改善が必要である。

64. 新規黄色ブドウ球菌巨大バクテリオファージの低温位相差電子顕微による 3 次元構造解析と構造学的アプローチによる生命起源の探索

内山淳平 [1]，宮崎直幸 [2]，松崎茂展 [3]，阪口雅弘 [1]，村田和義 [2]
([1] 麻布大学獣医学部微生物学第一研究室，
[2] 生理学研究所脳機能計測・支援センター形態情報解析室，
[3] 高知大学教育研究部医療学系)

１．はじめに

生命起源を探求する研究は，生命科学の研究と共に進捗してきた。これらの研究成果の中で，原始地球上には RNA 自己複製系が存在し，現生生物へと進化したという仮説，いわゆる RNA ワールド仮説が最も支持されている。

研究代表者は，2 重鎖 DNA ゲノム塩基のチミン（T）の代替えにウラシル（U）へ完全置換した DNA ゲノムを保有する新規黄色ブドウ球菌巨大バクテリオファージ（ファージ；細菌特異的に感染するウイルス）S6 を分離した 。RNA ワールド仮説を支持した場合，このファージは生命起源の名残りと考えられる。それゆえ，他の巨大ファージとの比較により，生命起源の探索ができると考えられる。

本研究では，低温位相差電子顕微鏡によるファージ S6 の構造解析を行い，ファージ構造情比較より生命進化起源を考察した。

２．方法と材料

ファージ S6 を大量増幅後，CsCl 密度勾配超遠心法により精製した。精製ファージ液を氷包埋法により電顕用試料を作製した。観察は，位相差クライオ電顕を使用した。トモグラフィー法により 3 次元構造構築を行った。

３．結果と考察

位相差クライオ電顕の解析によりファージ S6 の構造観察を行った。頭部直径は～120 nm で Triangle number は 27（T = 27）であった。同様な構造を有するウイルスには，エルシニア菌ファージφR1-37，緑膿菌ファージφKZ，青枯病菌ファージφRSL1 などグラム陰性菌に感染する巨大ファージの頭部構造に類似していた。

また，ファージ S6 は尾部先端に 70nm の針状構造を有することが明らかにされた。このような針状構造は，グラム陽性菌ファージでは報告されておらず，赤痢菌やサルモネラ菌などのグラム陰性細菌に感染するファージの尾部構造で報告されているのみである。しかしながら，このような長い針状構造はこれまでに報告されていない。

以上から，ファージ S6 はグラム陽性菌に感染するファージにも関わらず，グラム陰性菌の頭部構造および尾部構造が類似性を示している。グラム陽性菌と陰性菌の分岐が 25 億年前であること，特殊なファージ S6 ゲノム DNA から，ファージ S6 は始生代（冥王代の次）以前から誕生した可能性が高いと推察される。また，遺伝学的

解析からこれを支持する結果も得られており，構造生物学的アプローチにより生命進化の研究が遂行できる可能性に関して示されたと考えられる。

65. PBCV-1 ファイバー状構造体の低温位相差電子顕微鏡による観察

東浦彰史（大阪大学蛋白質研究所）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

PBCV-1(Parmecium bursaria chlorella virus-1) は Phycodnaviridae 科 Phycodnavirus 属のウイルスでクロレラを宿主とする。自然界の淡水中に広く分布しており，約 400kbp ものゲノムを有する直径約 2000Åの巨大な球状ウイルスであり，電子顕微鏡による単粒子解析により正二十面体対称を有することや，外殻状の特徴的な突起構造などが報告されている。PBCV-1 のゲノムにはゲノムの複製系，転写系，翻訳系，各種代謝系，イオンチャネルなど，約４００種類の蛋白質がコードされており，カプシド内側に脂質二重膜を保持するという構造的特徴を有していること等から，まるで小さな細胞のような特徴をもつ。これまでに PBCV-1 表面にファイバー状の構造体が存在することを示唆する報告はなされていたが結論を得るには至っていない。

本研究では，ファイバー状構造体を低温位相差電子顕微鏡で詳細に観察し，その存在を明らかにすると共に，他の大型ウイルス群(**nucleocytoplasmic large DNA viruses:** NCLDV)に見られるファイバー状構造体との比較より生科学的意義を考察することを目的としている。

高純度に精製した PBCV-1 をグリッド上で急速凍結し，低温位相差電子顕微鏡で観察したところ，PBCV-1 表面のファイバー状の構造体を明瞭に観察することに成功した。ファイバー状構造体は長さ約 600Å，直径約 30Åで粒子ひとつあたり最大で 14 本観察された。PBCV-1 と同様に NCLDV に分類される mimivirus もその表面に多数のファイバー状構造体を有しており，プロテアーゼ，グリコシダーゼ処理によりファイバー状構造体が除去されることが報告されている。同様の処理を PBCV-1 に施し，低温位相差電子顕微鏡で観察したが変化は認められなかったことより，PBCV-1 のファイバー状構造体の組成は mimivirus のものとは異なる可能性があり，新規のファイバー状構造体である可能性が示唆された。

66. SBF-SEM を用いた小型甲殻類の比較形態学

A. Richard Palmer，梶　智就（University of Alberta）

本研究の目的は，SBF-SEM を用いることにより小型甲殻類の形態学における技術的問題を解消し，メゾスケールの構造を明らかにすることにあった。結果として，甲殻類タナイス目における出糸腺構造についての新知見を得ることが出来た。

滞在期間３ヶ月のうち２ヶ月は，条件検討に費やされた。本研究の対象とする甲殻類は，体表を硬いクチクラ層によってつつまれているため浸透性が悪く，固定・染色時間や樹脂の浸透に対して特に配慮する必要があった。特に TCH 処理やブロック染色といった SBF 特有の行程において析出や過染色の問題が発生し，また個体による結果のバラつきも大きく，至適条件を見つけるために時間を要した。さらに大きな問題となったのはSBF観察の際に起こるチャージである。本研究における観察対象は組織片ではなく甲殻類の脚全体であったため，どうしても樹脂中に試料が浮かんでいるような包埋法をとらざるをえず，発生するチャージによる像の歪みを軽減するために様々な工夫を行った。試料を可能な限り樹脂ブロック側面に接触させること，薄切行程で側面との接触を絶たれる部位が生じないよう包埋法や薄切方向を工夫すること，また薄切面において浮島状に現れた試料断面によって空白の樹脂部位が囲まれる状態を防ぐよう包埋法を

工夫するなど様々な検討を行った結果，一貫した質のデータを取ることが可能となった。

今回対象とした動物であるタナイスは，世界中の水域に生息する体長数ミリ程度の甲殻類であり，一部の分類群はその脚から糸状の分泌物を出し巣作りや移動などに使用することが知られている。今回の滞在で使用したキスイタナイスと呼ばれる種は，糸を出す構造を持った脚とその構造を持たない脚が同一個体内に並列し存在する。それら両者の脚の内部構造を比較することにより，出糸腺有る無しでどう構造が変わるのか，ひいては出糸腺の無い状態から有る状態への進化においていかなる形態学的変更が行われたのかを明らかにできると期待された。結果として，出糸腺が脚の中に二種類存在すること，そしてそれらの分泌物を混合する仕組みが脚先端に備わっていることが分かった。エポキシ樹脂のように，二種類の液を体外に出すと同時に混合させ硬化させていると考えられる。今後このデータを視覚化するため三次元構築を行い，今年度中に国際学術誌に投稿する予定である。

67. 豊かな環境飼育によるマウス・ラットの脳微小形態の変化

平瀬　肇，篠原良章（理化学研究所神経グリア回路研究チーム）
大野信彦（山梨大学学工学総合研究部）

ラットを豊かな環境(ENR)で飼育すると，さまざまなタスクで認知能力が上がることが分かっている。その時，海馬 CA1 領域では右側のシナプス密度が左側のシナプス密度より増加することを我々は報告した（Shinohara et al., Nat Commun (2013)）。アストロサイトの微小突起はシナプスに接しており，シナプス機能を修飾していると考えられているので，ENR 飼育によりアストロサイト微小突起のシナプスの被覆度に左右の差があるのではないかと考え，実験を行った

ラットのを ENR 条件で飼育した後，左右の背側 CA1 から電験サンプルを篠原が作成し，大野が加工して生理研で電子顕微鏡撮影を行った。錐体細胞層から 50-70 ミクロン離れた放射状層の左右から撮影を行ったが，割合低倍で撮影を行ったにも関わらず，アストロサイトの微小突起を判別することが可能であった。ただし，アストロサイトのシナプス被覆度を人力で肉眼で行うのは非常に時間がかかることも分かった。そこで，画像処理とコンピュータの解析で，簡便にシナプスをまず同定し，次にその周囲にあるアストロサイトの 3D 構築を行おうとしたが，まだ実用には程遠い状況である。

なお，対照群となる(ISO)離乳後単独飼育の実験はまだ実験スケジュールの都合から行っていない。これらについてもなるべく早期に実験を行いたいと考えている。

68. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの解析

八木　健（大阪大学 大学院生命機能研究科 時空生物学講座 心生物学研究室）
鍋倉淳一（生理学研究所 発達生理学研究系 生体恒常機能発達機構研究部門）

クラスター型プロトカドヘリン(cPcdh)は，58 種類の細胞接着分子群であり，個々の神経細胞において異なった組み合わせ発現をする。また，個々の神経細胞がつくる局所回路形成に必要であることが明らかになってきている。しかし，cPcdh タンパク質の神経回路形成における特異的な細胞間認識や，シナプス形成における標的認識機構への役割は未だ不明である。そこで本研究では，cPcdh タンパク質をマウス海馬体由来の神経細胞に発現させ，観察を行った。

本年度は，PcdhgA3-tdtomato のベクターを構築し，野生型マウスの海馬神経細胞に遺伝子導入を行い，高解像度，高感度のタイムラプスイメージングシステムを用いて観察を行った。PcdhgA3-tdtomato は神経突起において点状に局在し，神経突起が交差する場所でシグナルが強

く認められた。これらのことより，PcdhgA3-tdtomato が，神経突起の相互作用に関わる可能性が示唆された。そこで，野生型マウスの海馬神経細胞のそれぞれの細胞群へ異なる蛍光タグ付きの発現ベクター（PcdhgA3-tdtomato 及びPcdhgA3-venus）を遺伝子導入し，混合して培養した結果，同じPcdhgA3でありながら，神経細胞間においてtdtomato と venus の局在の一致は認められなかった。この結果は，内在的に発現している cPcdh と強制発現させたPcdhgA3がヘテロ４量体を形成することによる結果であることが示唆された。そこで，cPcdh を全て欠損させた遺伝子改変マウス（cPcdh 全欠損マウス）を作製し，cPcdh 全欠損マウス由来の海馬神経細胞へ同じく蛍光タグ付きの発現ベクター（PcdhgA3-tdtomato 及び PcdhgA3-venus）を遺伝子導入し観察した結果，神経細胞間においてtdtomato と venus の局在が一致するのが多く認められた。また，別の PcdhgA3-tdtomato と PcdhgB2-venus では，局在の一致が殆どないことから，同種の Pcdh は，別々の神経細胞突起間で相互作用できることが明らかになった。今後は，この cPcdh 全欠損マウス由来の海馬神経細胞を用いて，シナプス形成過程での，同一の Pcdh メンバーを発現する神経細胞間の相互作用を，高解像度，高感度のタイムラプスイメージングシステムを用いて観察する予定である。

69. グルタミン酸受容体遺伝子改変マウスを用いた行動学習の分子基盤の解明

林　崇，足立透真（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

哺乳類の中枢神経系において，主要な興奮性神経伝達物質はグルタミン酸である。哺乳類脳におけるグルタミン酸作動性の興奮性シナプス伝達は，主に AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）が仲介する。主にAMPA受容体のシナプス発現とイオンチャンネルとしての機能の調節はシナプス可塑性の分子実体であり，これが哺乳類の脳の働きを支える分子基盤となる。また，NMDA 型グルタミン酸受容体（NMDA 受容体）は可塑性の誘導に重要な役割を果たす。AMPA受容体は，パルミトイル化翻訳後修飾を受けることによって局在および輸送過程が制御されており，興奮性シナプスにおける受容体の発現調節が行なわれる。本研究は，AMPA受容体パルミトイル化修飾部位を置換した非修飾型ノックインマウスの行動様式解析を通して，興奮性シナプスにおけるグルタミン酸受容体の翻訳後分子修飾が脳機能と行動発現の制御に与える影響を明らかにし，哺乳類の行動学習の分子基盤解明を目指す。

これまでの主に培養神経細胞を用いた *in vitro* 実験の結果から，AMPA受容体の脱パルミトイル化に伴う受容体のシナプス発現上昇およびそれに伴う興奮性シナプスの機能亢進が予想された。これらの知見を基にして，更に *in vivo* での AMPA 受容体パルミトイル化修飾の役割を解析するため，AMPA受容体のシナプス後膜組み込みに重要なGluA1サブユニットのC末端パルミトイル化部位システイン残基をセリンに置換し，パルミトイル化修飾が起こり得なくした非修飾型ノックインマウスをC57BL/6N(B6N)系統由来の胚性幹細胞を用いて作製した。

この B6N 系統を遺伝的背景とする GluA1 非修飾型ノックインマウスのヘテロ雌雄同士の掛け合わせによって，同腹，同生育環境の野生型およびノックインホモマウスの雄各 20 個体を得，これらのマウスに対して標準プロトコールに準拠した網羅的行動様式試験を系統的に行なった。中でも先ず，不安様行動，自発活動量，痛覚感受性，社会的行動，協調運動/平衡感覚，うつ様行動，歩行に関して，AMPA受容体パルミトイル化修飾の影響を定量的に解析した。その結果，野生型の対照群と比較して，GluA1 非修飾型ノックインマウスは特定の課題において行動異常を示した。次いで，学習・記憶，恐怖条件付け等に関する各種試験を進める予定である。

70. 緑藻クラミドモナスの光化学系 II 超分子複合体の構造解析

皆川　純，得津隆太郎（基礎生物学研究所　環境光生物学研究部門）
Jon Nield，Ray Burton-Smith（Queen Mary University of London）

光合成タンパク質複合体である光化学系 II 反応中心（PSII）は，光合成反応の中でも最も初期の反応である水の分解反応（酸素発生）を担っており，最近は高分解能における結晶構造解析が進んでいる。しかし，光合成における肝とも言える『受け取った光をどのように光化学系 II 反応中心へ受け渡しているのか』は機能的にも，構造的にも未解明な部分が多い。本研究では，単粒子解析により，緑藻クラミドモナスの PSII-LHCII 超分子複合体（PSII に集光アンテナタンパク質が結合した超複合体）の構造を解明することを目的としている。

本年度は，共同研究者であるロンドン大学の Nield 博士および Burton-Smith 博士らとともに，基礎生物学研究所の得津が精製した PSII-LHCII 超分子複合体の観察条件を検討した。実際の研究内容として，観察用サンプルの準備（緑藻からの PSII-LHCII 超複合体の精製：図 1）に関しては得津が行い，観察グリッド作製に関しては村田准教授とともに Plunge-frozen 法を用いて瞬間凍結し，適宜観察しながら至適サンプル濃度（1.0ugChl/mL）を最終決定した。また，ロンドン大学の両博士は，2014 年 10 月 19-23 日および 2015 年 3 月 15-24 日にかけて来日し，生理学研究所の村田准教授とともに PSII-LHCII 超分子複合体のクライオ電子顕微鏡観察を行った。およそ 4000 枚におよぶ電子顕微鏡イメージ（図 2）を取得することに成功し，現在それらの粒子をもとに単粒子解析を進めている。

今後は，大量取得した電子顕微鏡イメージ上の PSII-LHCII を用いた単粒子解析により，結晶構造解析に劣らない高解像度を目指し，『集光アンテナがどのように PSII 反応中心へ結合しているのか』を明らかにしていく予定である。

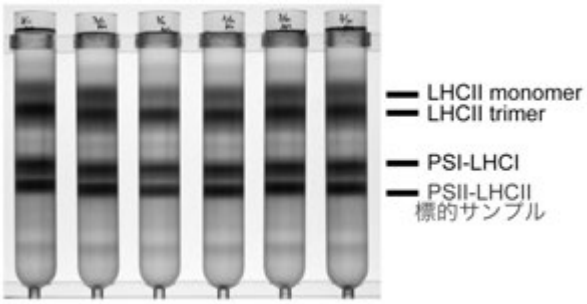


図 1

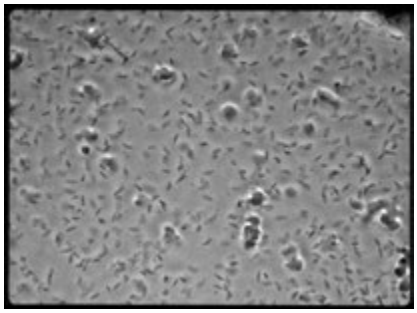


図 2

71. 腸内連鎖球菌 V-ATPase の電子顕微鏡 1 粒子構造解析

飯野亮太（分子科学研究所）
村田和義（生理学研究所）

本研究では，生理学研究所が所有するクライオ位相差電子顕微鏡を利用し，回転分子モーターである腸内連鎖球菌 *Enterococcus hirae* 由来 V-ATPase（EhV-ATPase）の全体構造および各サブユニットの配置を 23 オングストロームの分解能で明らかにした。EhV-ATPase は構成サブユニット数 24，分子量 80 万の巨大な超分子複合体であり，可溶性の V_1 と膜に埋め込まれた V_o の 2 つの回転分子モーターで構成される。通常の電子顕微鏡を用いた先行研究では，十分なコントラストの単粒子像を得ることが出来ず，構造解析は不可能であった。クライオ位相差電子顕微鏡を用いた本研究によって初めて，EhV-ATPase の全体構造を明らかにすることが可能となっ

た。

我々が構築したリコンビナント遺伝子発現系を利用し，EhV-ATPase のすべてのサブユニットを同時に大腸菌に発現し複合体を形成させて界面活性剤ドデシルマルトシドで可溶化後，ヒスチジンタグによるアフィニティクロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーで精製した。得られた試料の分散性は高く，クライオ位相差電子顕微鏡でコントラストの高い単粒子像を得ることに成功した。単粒子解析により 3 次元にクラス分けされた～10,000 枚の単粒子像から分解能 23 Åの粒子構造を得ることが出来た。この構造に EhV-ATPase の構成サブユニットの結晶構造を当てはめることで，それぞれのサブユニットの配置と全体構造のモデルを構築することに成功した。その結果，以下の特徴が明らかとなった。

1. V_1 の触媒サブユニットである 3 つの A サブユニットの構造は非対称にみえる。
2. V_1 の回転子（セントラルストーク）の D サブユニットは V_o の回転子 c_{10} リングの縁に結合しており，回転中心が偏っている。
3. V_o と V_1 をつなぐ E および G サブユニットからなるペリフェラルストークは 2 本ある。
4. V_o の固定子（トルク発生装置）である a サブユニットのヘリックスは F 型 ATP 合成酵素と同様，膜に対し斜めに挿入されているようにみえる。

今後は，粒子数の増加により，さらなる分解能の向上を試みる予定である。

【超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告】

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告

〔　目　　次　〕

1. バクテリアクロモソーム DNA のストレスによる立体構造変化の解析（金子康子ほか）…… 234
2. 網膜神経節細胞間の電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応（日髙　聰ほか）…… 234
3. 副腎皮質ステロイドホルモンの生成および分泌に関わる微細構造の細胞化学的研究（野田　亨）…… 235
4. 原生生物等の細胞内共生生物と染色体の微細構造解析（洲崎敏伸ほか）…… 236
5. 超高圧電子顕微鏡を使ったバクテリアセルロース合成機構の解析（峰雪芳宣ほか）…… 237
6. 嗅覚系新生ニューロンの遊走・分化過程における形態変化の三次元微細構造解析（樋田一徳）…… 237
7. コンピュータトモグラフィー法によるラット脊髄神経化学解剖の 3D 解析（坂本浩隆ほか）…… 238
8. 超高圧電子顕微鏡を使った細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析（唐原一郎ほか）…… 239
9. アメーバの単離細胞膜が示す異方性構造の研究（市川正敏ほか）…… 240

1. バクテリアクロモソーム DNA のストレスによる立体構造変化の解析

金子康子，大和愛実（埼玉大学）
村田和義（生理学研究所）

シアノバクテリアは，干し上げなど人為的な乾燥状態を経ても増殖を再開することが知られており，乾燥耐性を獲得する仕組みが存在することが示唆される。特に乾燥時に主要な細胞内容物を保護するための構造変化が起こる可能性も考えられる。寒天培地上で増殖させた桿状シアノバクテリア（*Synechococcus elongatus* PCC 7942）の DNA を Hoechst 33342 で染色して蛍光顕微鏡観察したところ，培養日数が 4 週間程度経過して培地が乾燥し始めると DNA が特徴的な凝集構造を形成することが分かった。乾燥時に見られる DNA の凝集構造は，細胞分裂時に見られる凝集構造とは異なり，明暗周期に影響されず凝集状態が持続した。また，乾燥状態で DNA が凝集した細胞は UV によるクロロフィル自家蛍光が減少したが，細胞膜は FM 1-43 で染色すると形状が保たれていた。乾燥状態から回収した細胞は水溶液中で再び分裂増殖を開始した。

この乾燥状態のシアノバクテリア細胞を化学固定・樹脂包埋後，超薄切片を作製して透過電子顕微鏡観察したところ，ポリリン酸体を包むように膜様の構造が形成されていた。またこの膜様構造が凝集した DNA 繊維と密接に関与する様子も見られた。乾燥状態のシアノバクテリアを回収して直ちに急速凍結し，氷包埋した細胞を超高圧電子顕微鏡で細胞ごと観察し，傾斜シリーズを取得して DNA 凝集構造の 3 次元立体像を構築することを目指した。しかし今回調整した試料では解析に十分なコントラストを得ることができなかった。乾燥時の DNA 凝集構造は細胞分裂時に見られる DNA 凝集構造のような高密度の構造体ではない可能性もある。

蛍光顕微鏡観察では乾燥状態のシアノバクテリア細胞内の DNA が紐状に見える場合や，ドット状の塊に見える場合もあった。これらの構造に対応すると考えられる超薄切片 TEM 像では，それぞれ，よじれるような繊維の束や，一定間隔で特徴的な構造をもつ繊維の集合体のように見えた。これらは，シアノバクテリア DNA が取りうる基本単位構造を示している可能性もある。寒天培地上で乾燥し始めたシアノバクテリア細胞内で通常状態では見られない膜様の構造が出現し，ポリリン酸体や DNA 繊維など生命維持に重要と考えられる構造と密接に関わる様子が明らかになった。この現象の意義を今後様々な観察手法を組み合わせて追究していきたい。

2. 網膜神経節細胞間の電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応

日髙　聰（藤田保健衛生大学医学部生理学教室）
村田和義（生理学研究所）

ニューロン間電気シナプスの働きを明らかにするために，ギャップ結合の微細形態の同定や樹状突起間のギャップ結合の存在部位を同定する必要がある。神経系で電気シナプスの機能に着目し，網膜神経節細胞間ギャップ結合の微細形態と電気シナプスの生理機能との関係を調べた。電気生理学実験を行なった後に，Neurobiotin を注入して発色すると，色素カップリング形成から樹状突起間のギャップ結合部位を同定できる。Neurobiotin 注入と同時に，電極内にシグナル伝達系の調節物質を充填して注入すると，ギャップ結合や電気シナプスの制御様式を解析できる。これまでに網膜アマクリン細胞(interstitial amacrine cells)間のギャップ結合は，細胞内の高濃度の環状 AMP(cAMP)によって遮断し，電気シナプスが抑制されることが分かった(Hidaka, 2012)。今回，ラットの α 型網膜神経節細胞間のギャップ結合について調べた結果，細胞内低 Ca^{2+} 濃度で調節物質の未投与の場合では，色素カップリングが観察され，同型の細胞が樹状突起の先端で結合していた（図 1）。電極内に 5mM cAMP を充填し，dual whole-cell patch clamp 法で調べた所，コントロールに比べ，細胞間コンダクタンスは減少した。

上記のような性質を示したギャップ結合細胞間チャネルの微細形態構造を明らかにするために，ギャップ結合に対する特異抗体で染色した標本をエポン樹脂に包埋し，厚さ 1μm 切片を作成し，1,000kV の加速電圧で超高圧電子顕微鏡下で観察した。超高圧電子顕微鏡の試料ステージの傾斜によって 2°づつ±60°で撮影し，**IMOD** プログラムを用いてその立体再構成を行って，ギャップ結合細胞間チャネルの微細構造を解析した。

色素カップリングを示した α 型の網膜神経節細胞は同型の細胞間で樹状突起の先端が結合し，そこには形態学的にギャップ結合の形成が観察されたが（図１，矢印），ギャップ結合チャネル蛋白 connexin36 に対する特異抗体の反応局在性を免疫組織学的に調べた結果，ギャップ結合蛋白 connexin36 の細胞内ドメインに対する抗体の反応性は，α 型網膜神経節細胞間の樹状突起の先端にあるギャップ結合に局在し，抗体反応性の詳細からギャップ結合を挟んで両側のお互いの細胞の細胞質側に存在することが分かった（図２，矢印）。

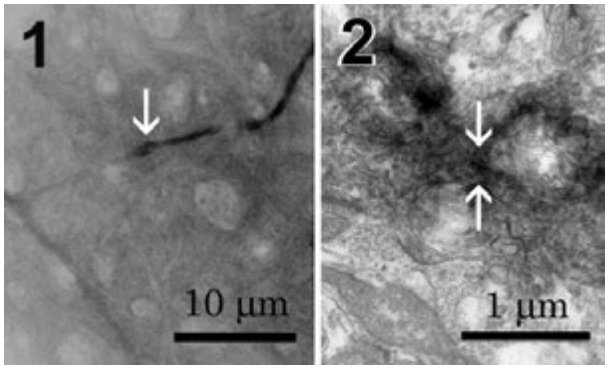


図１，色素カップリングを示した α 型網膜神経節細胞での　同型の細胞の樹状突起間の接触部位の 1,000kV の加速電圧での超高圧電子顕微鏡像。形態学的なギャップ結合の形成が認められた（矢印）。

図２，ギャップ結合チャネル蛋白 connexin36 の細胞内ドメインに対する特異抗体による免疫反応性の超薄切片像。α 型網膜神経節細胞間のギャップ結合においてギャップ結合を挟んで（矢印）両側の細胞質側に抗体の反応産物が認められた。

3. 副腎皮質ステロイドホルモンの生成および分泌に関わる微細構造の細胞化学的研究

野田　亨（藍野大学医療保健学部理学療法学科）

副腎皮質は組織学的に球状帯，束状帯，網状帯に大別され，それぞれの組織からアルドステロンを代表とする電解質コルチコイド，コーチコステロンを代表とする糖質コルチコイド，テストステロンを代表とする男性ホルモンが別々に分泌されている。しかしながら，これらのステロイドホルモンの分泌機構はよく知られていない。これまで，著者らの研究でラット副腎皮質の細胞の脂肪滴周囲に小管様構造が存在することを Zinc-Iodide Osmium (ZIO)法染色法で見出した。本年度はこの小管様構造の性状を明らかにするために脂肪滴被覆蛋白，ステロイドホルモンの合成酵素，小胞体標識蛋白などの免疫組織化学的標識を試みた。

副腎皮質細胞は上記のようにコレステロール誘導体からなる脂肪滴を合成，貯蔵しているため，トリグリセリドなど主成分とする脂肪細胞とは脂肪滴と被覆蛋白にも違いがあるものの，あえて標識を試みた。PLP 固定ラット副腎凍結切片に脂肪滴被覆蛋白 Perilipin family のうち，Perilipin 1，および Perilipin 3(TIP47)に対する特異抗体を用いて，標識を試みたが，両者とも有意な標識を得ることはできなかった。次に副腎皮質球状帯から合成，分泌されるアルドステロン合成系から，抗アルドステロン抗体，および抗アルドステロン合成酵素抗体(CYP11B2)を用いて標識を試みたが，これらも有意な標識を得ることができなかった。続いて，副腎皮質束状帯から分泌されるコーチコステロンの合成に関わるコーチコステロン合成酵素 (CYP11B1)，および副腎皮質網状帯から分泌される男性ホルモン合成に関わる性ホルモン合成酵素（CYP17A1）酵素に対する特異抗体の標識を試みたが，有意な標識を得ることができなかった。

さらに小胞体の標識蛋白として知られている KDEL モチーフ，および Protein disulfide isomerase に対する特異抗体を用いて標識を試みた。これらの標識について

は，光学顕微鏡レベルでの蛍光抗体法での所見と主として電子顕微鏡レベルで用いている酵素抗体法による所見との間で標識上の不一致があり，二次抗体の再検討が必要となった。以上，現時点では脂肪滴に付属する小管

状構造について，超高圧電子顕微鏡での立体観察に耐える程度の標識はZIO標識以外, 得ることができなかった。

4. 原生生物等の細胞内共生生物と染色体の微細構造解析

洲崎敏伸，MD Shafiqul Islam，松元里樹，槇本　純（神戸大学大学院理学研究科）
福田康弘（東北大学大学院農学研究科）
中鉢　淳（豊橋技術科学大学エレクトロニクス先端融合研究所）

渦鞭毛虫類には真核生物で共通に見られるヒストンタンパク質が含まれていない。そのかわりに，渦鞭毛虫類に特異的な染色体結合タンパク質が存在し，常に凝集しているユニークな染色体構造を形成している。このような染色体構造の立体構築はこれまで十分には調べられたことがないので [1]，超高圧電子顕微鏡を用いて三次元構造解析を行った。また，同じ材料を用いた超薄連続切片法による立体再構築も実施した。材料は，分子系統学的研究により，渦鞭毛虫類の進化の上で比較的初期に分岐したと考えられている海産の渦鞭毛虫 *Oxyrrhis marina* を用いた。細胞は金属圧着法により急速凍結したのち，1% OsO_4 と 0.5% グルタルアルデヒドを含むアセトン置換液を用いて凍結置換固定を行った後，Spurr 樹脂に包埋し，厚切り切片（200-500 nm）を作製したものを生理学研究所の H-1250M 型超高圧電顕で観察した。撮影した電顕写真から，電子線トモグラフィー法を行い，得られた画像データから核内のオルガネラ間の立体的相互関係を解析した。超薄切片による立体再構築法では，100 nm の厚さに薄切した連続切片を用いた。本年度は特に *O. marina* の核内における染色体の形態・数・分布様式について調べた。

図 1A に示すように，*O. marina* の核内には，398 本の染色体が存在していた。その長さは 0.13-2.52 μm で，平均長は 0.81 μm であった。幅は染色体の長さによらずほぼ一定で約 0.2 μm であった。核内には核小体が一個存在し，それを取り巻くように 2 本の細くて長い染色体が配置していた（図 1B）。それらの長さは約 6 μm，幅は 0.05-0.10 μm であった。さらに，染色体からは細いフィラメントが核小体の内部に向かって伸びている様子が観察された。

1) Fukuda, Y. and Suzaki, T. 2015. Unusual features of dinokaryon, the enigmatic nucleus of dinoflagellates. In "Marine Protists - Diversity and Dynamics", S. Ohtsuka, T. Suzaki, S. Suzuki and T. Horiguchi (Eds.). Springer, DOI 10.1007/978-4-431-55130-0.

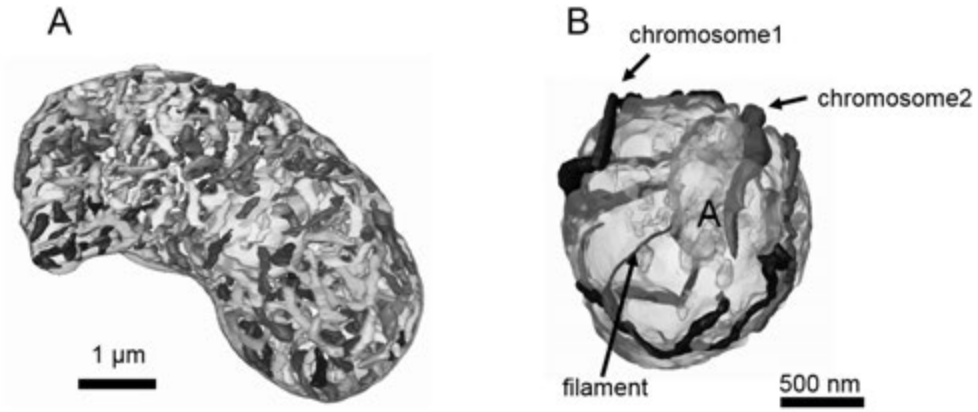


図 1. 立体再構築された渦鞭毛虫類 *Oxyrrhis marina* の核（A）と核小体（B）.
A：核の全体像。核の内部には約 400 本の染色体が存在している。 それぞれの染色体は異なる色で示されている。
B：核小体とそれを取り巻く 2 本の染色体（chromosome 1 と 2）。これらの染色体からは細いフィラメント構造（filament）が分岐し，核小体の内部に向かって伸長している。

5. 超高圧電子顕微鏡を使ったバクテリアセルロース合成機構の解析

峰雪芳宣，中井朋則（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）
村田和義（生理学研究所）

我々は酢酸菌（*Gluconacetobacter xylinus*）を使ってセルロース合成の仕組みについて研究を行っている。酢酸菌のセルロース合成酵素複合体(CSC)の大きさは約 10 nm で，細胞膜上に 1 列に並んでいると考えられている。昨年度超高圧電子顕微鏡 H-1250 M を使って膜上の CSC からセルロースが合成されているところの観察を試みたが，期待した像は得られなかった。そこで，位相差電子顕微鏡を使った電子線トモグラフィー法でセルロース合成の場の観察を行った。

方法

Quantifoil R1.2/1.3 mesh (Cu-200)上に菌液を滴下後，全自動瞬間凍結装置 Vitrobot(FEI カンパニー社製)を使用して，液体エタンで急速凍結を行った。JEM-2200FS を使用して，酢酸菌のクライオ位相差電子顕微鏡像を取得した。

結果

セルロース繊維の束を先端方向から基部方向に追跡し，菌体表面で繊維が観察できなくなる場所を含む領域のトモグラムを数個作製し，解析した。図は倍率 20,000 倍（0.47 nm/pixel）で -62° から +54° の範囲で 2° ごとに取得した連続傾斜画像から作製したトモグラムである。図 A x-y の点線より上に菌体がある。横断面（図 A y-z）を見ると，この菌体（白い点線で囲んだ部分）から図の下方向にセルロース繊維（図 A y-z 上の黒点線）が伸びている。菌体から放出された繊維と平行な面で切り出した像（図 B）の繊維の先端と思われるところを拡大した像（図 C）から，基部（菌体）に近づくにつれ徐々に繊維が細くなり，繊維と判定できる限界のところには粒子状の構造（図 C 鏃）が並んでいることが観察できた。この構造が CSC に対応しているのかどうか今後検証が必要である。

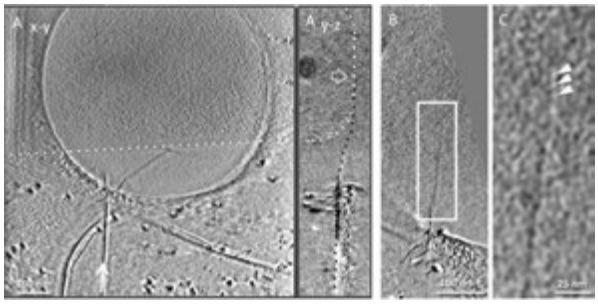


図　位相差電子顕微鏡で取得した画像から再構成した酢酸菌の電子線トモグラム像。
A: トモグラムの x-y（A x-y）と y-z（A y-z）面の一断面像。点線は菌体の境界線を，x-y 平面の白矢印はセルロース繊維束を，y-z 面の黒点線は繊維の走行方向を示す。
B: 菌体から放出された繊維の部分に平行な（A y-z 内の大きい矢印で示した方向から見た）画像。
C: B の拡大図。菌体から繊維が出ていると思われる領域。

6. 嗅覚系新生ニューロンの遊走・分化過程における形態変化の三次元微細構造解析

樋田一徳（川崎医科大学）

側脳室前角の脳室下帯で新生した細胞は吻側遊走経路を嗅球に向かって遊走し，嗅球各層のニューロンに分化するなど，嗅覚系ニューロンの一部は生後も新生することが知られている。我々は生後新生するとされる嗅球傍糸球体細胞，顆粒細胞の起源を生体細胞標識法により特定し，標識細胞が遊走して嗅球に達する過程を正確に同定した後に免疫組織化学，電子顕微鏡連続切片三次元再構築，デジタル計測で解析し，新生細胞の遊走と分化の詳細を明らかにすることを目的とし解析を進めている。当該実験では，前年度に引き続き，生後新生の起源と化学的性質と形態的特徴を同定した遊走細胞を超高圧電子顕微鏡で観察し，電子顕微鏡連続切片三次元再構築像と比較検討を行った。

成体マウス脳室下帯へ生体細胞トレーサーである Cell Tracker Orange（CTO）を脳定位的に注入し，１～７日後に灌流固定し矢状断切片を作製，CTO によって標識され

た新生細胞が遊走経路に沿って嗅球に到達しているのを確認した。遊走経路の CTO 標識細胞は新生ニューロンマーカーである PSA-NCAM に対し免疫陽性であった。その後，抗 CTO 抗体を用いた多重免疫染色により遊走経路内の新生細胞の立体構造を同定し，また微細構造を透過型電子顕微鏡連続切片再構築法で解析した。

Neurolucida によるデジタル形態解析により経路の部位により突起の形態を解析し，伸展極性に多様性があることがわかり，遊走経路の CTO 標識細胞では，突起先端の構造とその周囲組織の微小環境（細胞・組織構築と細胞外腔など）が重要であることが示唆された。超高圧電子顕微鏡でこの先端部分を観察したが，従来の解析で得られたように，薄膜状の構造が遊走経路に沿って嗅球方向へ伸長していることがわかった。この所見は電子顕微鏡連続切片再構築では見落とし易い所見であるが，超高圧電子顕微鏡においてもコントラストが低下して解析しづらいのも事実である。

今後はこれらの遊走細胞が嗅球ニューロンの主要なマーカーである TH などの化学的性質を発現する前後に焦点を絞り，解析を行いたいと考える。超高圧電子顕微鏡のデジタル化も進んだ中で，この装置改良に適した試料作りが今後の課題でもある。

7. コンピュータトモグラフィー法によるラット脊髄神経化学解剖の 3D 解析

坂本浩隆，越智拓海，佐藤慧太（岡山大学大学院自然科学研究科理学部附属臨海実験所）
河田光博，高浪景子（京都府立医科大学大学院解剖学・生体構造科学）
村田和義（生理学研究所・脳機能計測センター・形態情報解析室）

我々はこれまでに，脊髄（腰髄）に存在する gastrin-releasing peptide（GRP）ニューロン系が雄優位な脊髄内局所神経ネットワークを構築し，自律神経系と骨盤底筋群を同時に制御することにより，勃起，射精などの雄の性機能を調節していることを見出した（Sakamoto et al., 2008, ***Nature Neuroscience***）。さらに，GRP 免疫組織化学法と雄性性機能に関与する球海綿体脊髄核 SNB ニューロンの逆行性標識法とを組み合わせ，超微形態学的に SNB ニューロンの樹状突起上に GRP 作動性のシナプス入力が多数存在することを，超高圧電子顕微鏡（H-1250M）を用いて明らかにしてきた（Sakamoto, Arii, Kawata, 2010, ***Endocrinology***）。また，脊髄 GRP ニューロンから脊髄内の自律神経核である仙髄副交感神経核への投射について，多重免疫組織化学を超高圧電子顕微鏡に応用して，コンピュータトモグラフィー・三次元立体再構築法を確立してきた（Oti et al., 2012, ***Histochemistry and Cell Biology***）。

2007年, 同じ脊髄内ではあるが, 異なるポピュレーションの GRP ニューロンが痒み感覚を特異的に伝達することが報告された（Sun and Chen, 2007, ***Nature***）。そこで本研究では，免疫組織化学法を用いて，成熟ラットの体性感覚神経系における GRP の発現解析を行い, 脊髄後根神経節とその中枢性軸索入力部位である脊髄後角における GRP の局在解析を行った。その結果，すべてのレベルの脊髄後根神経節において，少数の小型細胞の細胞体に GRP 免疫陽性が確認され, 脊髄後角表層においても, GRP 免疫陽性線維が確認された。そこで，この脊髄後角に発現する GRP 免疫陽性線維の由来を明らかにするために，片側の脊髄後根神経切除を行ったところ約 65％の免疫陽性強度が低下したため，その多くが一次感覚神経由来であることを示した（Takanami et al., 2014, ***Journal of Comparative Neurology***）。これまでの GRP ニューロン系を中心とした脊髄内雄性・性機能回路の超微形態学的な研究展開の実績を応用し，現在，脊髄感覚 GRP ニューロン系についても，超高圧電子顕微鏡を用いて解析を実施している。従来のウラン鉛染色法を用いた免疫電子顕微鏡解析では，脊髄後角表層において，明調性小胞や有芯性小胞を多く含む神経軸索終末に GRP 免疫陽性を多く認めた（図 A）。しかしながら，細胞膜構造やミトコンドリアといった細胞内構造の可視化は困難であった。今回，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡で用いられる特殊な重金属染色法を，超高圧電子顕微鏡に応用した。その結果，神経軸索終末に GRP シグナルが存在し，シナプス構造をはじめ，ミトコンドリアや細胞膜といった細胞内構造が明瞭に観察された（図 B）。これらの成果の一部は，平成 26 年度生理学研究所・電顕研究会「次世代の

生物電顕を考える」，第 3 回 SEM 研究会「SEM 連続断面観察法の現状をみつめ，未来を考える」，および第 55 回日本組織細胞化学会・ワークショップ「神経の構造と機能をもたらす分子を捉える」などにおいて発表し，好評を博した。また，これらのデータをまとめて，現在，論文を投稿中である。今後は，痒みの伝達機構を明らかにするために，生理的に痒みを誘発した際，脊髄後角 GRP 神経軸索終末の微細構造変化をコンピュータトモグラフィー・三次元立体再構築法を用いて，解析を進めていく予定である。

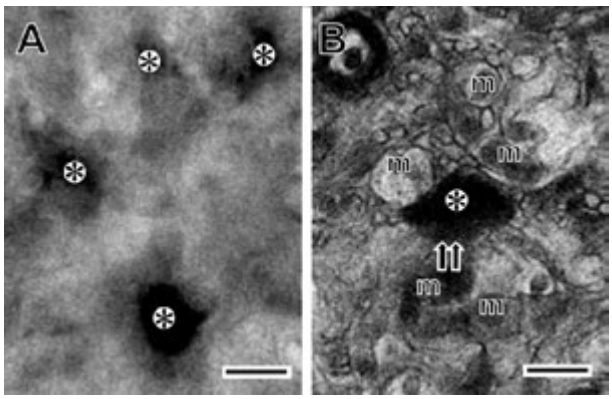


図: ラットの頚髄後角表層の超高圧電子顕微鏡観察像．従来のウラン鉛染色法（A）および，連続表面走査型電子顕微鏡で用いられる特殊な重金属染色法（B）を行った厚さ 1 μm 切片での結果を示す．神経軸索終末における GRP 免疫陽性シグナル（＊）が観察され，特殊な重金属染色法を行った組織では，シナプス構造（二重矢印）だけでなく細胞膜やミトコンドリア（m）といった細胞内構造も明瞭に観察された．(スケールバー ＝1 μm)

8. 超高圧電子顕微鏡を使った細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析

唐原一郎（富山大学大学院理工学研究部），後藤圭太（富山大学大学院理工学教育部）
竹内美由紀（東京大学大学院農学生命科学研究科）
峰雪芳宣（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）
村田和義（生理学研究所）

筆者らは，細胞骨格・オルガネラ・細胞壁の三次元解析に取り組んでいる。一方で，内膜系の全体像を捉えるためには，細胞全体における三次元イメージングを行う必要があり，そのためのアプローチとして，X 線マイクロ CT を行い，シロイヌナズナ種子の胚において細胞内部の構造まで非侵襲で可視化できることを確認した。しかし，X 線イメージングにより可視化された細胞内部の構造がいずれのオルガネラにあたるのか特定できていない。そこで超高圧電子顕微鏡を用いた電子線トモグラフィーにより，シロイヌナズナ種子の胚のオルガネラの３次元構造を可視化し，X 線 CT 像と比較することにした。昨年度は，一部を切り取ったシロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.の Col-0 株の乾燥種子に，常法の化学固定すなわち，グルタルアルデヒド水溶液中で前固定およびオスミウム酸水溶液中で後固定を行い，Spurr 樹脂に包埋し，切片の post staining により観察したところ，胚軸の皮層や内皮の細胞において見られる複数の大きなオルガネラはプロテインボディと推測されたが，コントラストが低く，オルガネラの輪郭が明瞭に識別できなかった。そこで本年度は，en bloc 染色として，3D-SEM 観察で用いられる二重オスミウムによる Ellisman らのプロトコルを一部簡略化して試料を調製・包埋し，1 μm の厚さの切片を切り，酢酸ウラニルおよび Reynold's の鉛溶液による post staining を行った。直径 25 nm の金粒子の塗布とカーボンコートを施した後，胚軸部の横断切片を，超高圧電子顕微鏡（H-1250m，日立）を用いた加速電圧 1,000 kV での観察に供した。皮層および内皮細胞に着目し，撮影倍率は 2 千倍で-60º から 60º まで回転させて傾斜画像を撮影した。

その結果，全体的にコントラストが向上した。生理学的な予備実験により，種子中でも形成されていると推測されていた内皮の細胞壁の特殊化した構造であるカスパリー線を探したが見つからなかった。まだ観察を重ねる必要はあるが，種子中においてはカスパリー線が形成されていない可能性が示唆された。また，全部ではないもののプロテインボディが電子密度の高いコンパートメントとして染色され輪郭も明瞭になった。さらに lipid body と推測される構造もかすかに識別できるようになった。

そこで現在，傾斜画像からの立体再構成に取り組んでいる。今後は，再構成作業効率向上のため，fiducial として用いる金コロイド粒子の径をより大きくする点の改良に加え，オルガネラの全体像を捉えるため，より厚みの有る切片にも取り組む。

9. アメーバの単離細胞膜が示す異方性構造の研究

市川正敏，西上幸範（京都大学大学院理学研究科）

アメーバ運動は多くの生命現象において重要である。この運動に伴い細胞膜はダイナミックに変形する。一般に，細胞膜変形は細胞内の細胞骨格が担っていると考えられてきた。しかしながら，活発に運動する細胞の細胞膜を単離すると細胞膜は自発曲率を持ち，さらにこの自発曲率に異方性があるという事が分かりつつある。これまで我々は低圧電子顕微鏡を用いてこの単離細胞膜の切片から構造を推測してきたが，この構造は三次元空間上に広がっておりこれまでの方法では正確に定量的な解析を行う事が難しい。そこで，超高圧電子顕微鏡を用い，単離細胞膜の三次元空間上での構造を直接的に測定し，自発曲率という観点から細胞膜の性質を定量的に評価するという目的で共同利用研究申請を行った。またこれに加え，細胞膜上に存在する少数の糖タンパク質間で生じる協同性のある配向が三次元曲率の異方性にどのように関与しているのかに関しても，糖タンパク質の配向と細胞膜の三次元構造を同時に調べることで明らかにすることを目標とした。

細胞膜を密度勾配遠心によって単離すると，光学顕微鏡では底面の直径が数マイクロメートルで高さが 100 マイクロメートル程度の円柱状に見える構造物を得ることが出来る。この単離細胞膜全体の高分解能像を得る為に，固定・脱水・樹脂包埋を行ったサンプルを作製した。このサンプルを低圧電子顕微鏡で観察したところ，細胞膜の円柱構造は確認できたが，糖鎖の配向構造は観察する事が出来なかった。超高圧電子顕微鏡(日立 H-1250M)を用いた電子線トモグラフィーによる三次元観察では，この観察よりさらに分解能が低下すると考えられ，糖鎖の配向構造を観察する事は難しいと考えられた為，今回この機器を用いた観察には至らなかった。これに伴い，単離細胞膜の三次元空間上での構造観察も実現する事が出来なかった。

今後は，糖鎖の配向構造をより鮮明にとらえる為に，サンプル調整法を検討する必要があると考えられる。

【生体機能イメージング共同利用実験報告】

生体機能イメージング共同利用実験報告

〔　目　　次　〕

1.　マルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序（藤崎和香ほか）…… 244
2.　脳磁場計測による視覚的短期記憶・物体認知メカニズムの解明（松吉大輔ほか）…… 244
3.　脳磁図と脳波を用いた音声コミュニケーションのヒト脳機能研究（軍司敦子ほか）…… 245
4.　Williams 症候群を持つ患者における顔倒立効果の発達（中村みほ）…… 245
5.　脳磁図と脳波を用いた随意運動制御に関わる神経活動の解明（中田大貴）…… 246
6.　意識的・無意識的な物体認識に関する脳磁場信号の計測（野口泰基ほか）…… 247
7.　脳磁場計測による多感覚環境下での注意機構の解明（木田哲夫）…… 247
8.　意識および認知状態の遷移に伴う周波数特異的な脳機能的ネットワークの構造変化の分析
（多賀厳太郎ほか）…… 248
9.　共同把持力一致課題における２人組の同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る
（渡邊克巳ほか）…… 248
10.　表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤（田中章浩ほか）…… 249
11.　クロスモーダルな感覚情報の脳内表現様式の解明（宮脇陽一ほか）…… 250
12.　語用論の神経基盤の解明に向けて（松井智子ほか）…… 251
13.　視・聴・触覚間の時間的同期判断を可能にする脳内情報処理機序の解明（藤崎和香ほか）…… 252
14.　ベルベットハンド錯触の神経基盤の解明（宮岡　徹ほか）…… 253
15.　顔色処理の脳内メカニズムの解明（南　哲人ほか）…… 253
16.　顔認知と共感性の脳内機能とその国際比較研究（飯高哲也）…… 254
17.　機能的 MRI との同時計測による経頭蓋直流電気刺激法の大脳ネットワークへの影響の検討（田中悟志）…… 254
18.　スポーツと脳構造（荒牧　勇）…… 255
19.　随意性の低い効果器の訓練による随意性向上と神経基盤の変化（荒牧　勇）…… 256
20.　視線を介した対面相互作用の実時間性が学習に及ぼす影響：２個体同時計測 MRI を用いた検討
（板倉昭二ほか）…… 256
21.　社会的疲労の神経基盤研究（渡辺恭良ほか）…… 257
22.　変化関連脳活動を指標にしたプレパルス抑制の機序 -Offset 反応（元村英史ほか）…… 257
23.　オノマトペ自動生成システムで作成された言語音による脳活動計測（田中　繁ほか）…… 258
24.　情動・注意における大脳皮質間神経回路の適応動態の解明（筒井健一郎ほか）…… 258
25.　大脳辺縁系および大脳基底核における社会的情報価値の処理機構（林　正道）…… 259

1. マルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序

藤崎和香（産業技術総合研究所　人間情報研究部門）
西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所　人間情報研究部）
本吉　勇（東京大学　教養学部・大学院総合文化研究科）
北田　亮（生理学研究所　心理生理研究部門）
郷田直一，小松英彦（生理学研究所　感覚認知情報研究部門）

物体の材質についての情報は，視覚だけでなく聴覚など多くの感覚から得られる。例えば視覚的には物体の見た目から，それが硝子なのか金属なのかそれとも木なのかといったことを判断できる。同様に聴覚的にも，例えばその物体が叩かれた際の衝撃音を聴くことで，叩かれた物体の材質をある程度判断できる。しかしながら人間の脳がどのように，それぞれの感覚モダリティから得られた情報を統合して感覚間で一体感のある材質知覚を実現させているのかについては未解明である。そこで本研究では，fMRI と心理物理の両面からこの問題に迫り，感覚間で一体感のある材質知覚を実現しているマルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序を明らかにすることを目的とする。

平成２６年度においては，前年度までに実施，報告した心理物理実験の成果 (Fujisaki et　al., Journal of Vision, 2014)，及び fMRI 実験の結果に基づいて，新たに４名の被験者について fMRI 実験を実施した。金属，陶器，石材，木材の映像に金属，紙材の衝撃音を組み合わせた視聴覚動画セットを用いて，被験者が材質特性判断課題（硬い一柔らかいなど）を行っている間の脳活動を計測し，得られた脳活動についてマルチボクセルパターン解析を行った。予想されたとおり，視覚的な材質の違い（類似度）を反映する脳活動は低次及び高次視覚野において観察され，一方，聴覚的違いを反映する活動は聴覚野の広い領域において観察されることが確認できた。これらに加え，視覚だけでなく聴覚的な違いも反映する活動が両側の腹側視覚野と，多感覚領野として知られる頭頂間溝の一部領域において観察されることが新たに明らかになった。これらの領域が感覚モダリティ間で一体感のある材質知覚の実現に関わっていることが示唆される。特に前者の腹側高次視覚野は，これまでの研究により材質知覚に関わることが示されている視覚野領域ともよく一致しており，この領域において視覚情報に聴覚情報を加味した材質特性が表現されていると考えられる。

2. 脳磁場計測による視覚的短期記憶・物体認知メカニズムの解明

松吉大輔，渡邊克巳（東京大学先端科学技術研究センター）

ヒトが一度に記憶できる情報には制約があり，視覚物体に換算して 3 つから 4 つ程度しか保持できない事が知られている。大脳の後部頭頂葉から外側後頭部にかけての領域は，記憶に保持している物体個数に対応して上昇し，3-4 つで飽和する事から，視覚的短期記憶に関与する領域であると考えられており，脳波 (EEG) や機能的磁気共鳴画像 (fMRI) による研究が多く行われている。

本研究では，この脳活動を従属指標とし，視覚的短期記憶・物体認知に関する諸現象のメカニズムを，空間解像度・時間解像度の両面において優れる脳磁場 (MEG) を計測することで明らかにしようとするものである。

26 年度においては, EEG において視覚的短期記憶を測定する際に用いられる代表的パラダイムである半視野注意法 (Vogel et al., 2004, Nature) を用い，注意を向けた視野と反対側半球の後部頭頂葉から外側後頭部にかけて，脳磁図（MEG）を用いた計測が可能かどうかを，事象関連脳磁場と周波数解析を用いて検討した。今年度は特に，Robitaille et al. (2010, NeuroImage) と同様に計画行列に行動成績で重み付けを行うことで，行動成績と関連するセンサー位置が同定可能か否かを調べた。

実験の結果，EEG を用いた半視野注意法で得られるとされる反対側の活動上昇はMEG では観測されなかった。また，MEG を用いていた Robitaille と同様の行動成績重み付けによる方法によっても，視覚的短期記憶を反映する成分は検出できず，基本的な条件において追試が成功しなかった。EEG における追試研究数の多さを鑑みると，現象自体が存在しないということは考えにくく，本研究の結果は，半視野注意法による視覚的短期記憶の測定がMEG にとって技術的に不適である可能性を示している。従って，本手法による検討を取り止めることが適切と判断した。

3. 脳磁図と脳波を用いた音声コミュニケーションのヒト脳機能研究

軍司敦子（横浜国立大学教育人間科学部）
関谷健一（名古屋市立大学大学院医学研究科耳鼻神経感覚医学）

我々の社会において音声コミュニケーションは非常に重要な役割を果たしている。しかしながら，耳鳴りや難聴等により音声知覚が阻害されると，特に周囲に雑音がある環境下では他者と円滑なコミュニケーションを取ることが困難となる。耳鳴りや難聴による脳活動の変化を調べるため, 脳波 (EEG) , 機能的磁気共鳴画像 (fMRI), 脳磁図（MEG） による研究が多く行われているが，雑音下での音の聞き取りに注目した研究は限られている。

本研究では，騒音下における聴覚野神経活動の，population-level での周波数特異性に注目して実験を行った。難聴と耳鳴りは多くの場合併発するが，本実験では難聴の影響を出来るだけ排し，耳鳴りと周波数特異性との関連を調べようと考えた。そのため被験者は聴力に左右差はないが，片側のみに耳鳴りを有している耳鳴り患者とした。近隣病院の協力を得ながら被験者を募集しており, 平成 26 年度においては実験に参加して頂ける耳鳴り患者 5 人を計測することができた。

耳鳴りが発生している病側耳とそうでない健側耳に対して，周波数除去雑音下に純音刺激を聞かせた場合，純音刺激を単独で聞かせた場合に惹起される聴覚誘発脳磁場反応を比較し，周波数特異性の計測 (Okamoto et al., 2007, J Neurosci) を行った。実験の結果，病側耳に音を聞かせた場合も健側耳に音を聞かせた場合も，周波数除去雑音下に音刺激を加えたほうが雑音のない時に比べて神経活動が有意に低下していたが，耳鳴りの有る病側耳ではそれがより顕著であった。この結果は，聴力低下とは関係なく耳鳴りが聞こえる病側耳で音を聞いた場合，聴覚野における周波数特異性が低下していることを示唆している。

聴覚野における周波数特異性が低下すると，特に雑音下において音声コミュニケーションを円滑に行うことが難しくなる。難聴を改善することは難しいが，周波数特異性は訓練により変化することが知られており Recanzone et al., 1993, J Neurosci)，訓練により音声コミュニケーションの円滑化が図れるかもしれない。また，耳鳴りを他覚的に検出することは非常に困難であるが，周波数特異性を調べることで，病側耳・健側耳の他覚的診断に有用ではないかと考える。今後さらに多くの耳鳴り患者を計測し，実験結果をまとめ論文として報告する予定である。

4. Williams 症候群を持つ患者における顔倒立効果の発達

中村みほ（愛知県心身障害者コロニー　発達障害研究所）

ウィリアムズ症候群（以下 WS）は 7 番染色体の欠失をもつ隣接遺伝子症候群であるが，表出言語が比較的流暢であり音楽への親和性が高い一方，視空間認知をはじめとする視覚認知背側経路の機能障害が著しいことが知られており，分野ごとの認知能力にばらつきが大きいこと，過度の馴れ馴れしさとも表現される社会性認知の特

性をもつことなどが特徴である。

これまで，我々は本共同利用の制度により，WS においては顔認知が比較的保たれているとは言うものの，定型発達成人に見られる顔倒立効果（正立顔に対し，倒立顔の同定が苦手であったり，処理に時間がかかる現象）を示す例と示さない例があることを報告し，その違いが WS において比較的苦手な，視空間認知の発達レベルに影響される可能性があることなどを報告してきた。今年度は神経生理学的実験の実施はできなかったが，関連した以下のような検討を行い発表準備中である。

WS の原因は 7q11.23 部分の 28 前後の遺伝子の欠失によるものが多いとされている。視空間認知障害の原因遺伝子としては CYLN2, GTF2IRD1, GTF2I などが考えられているが，報告によりばらつきがあり，その分子遺伝学的メカニズムについては結論を見ていない。今年度我々は，典型的な欠失（CYLN2, GTF2IRD1, GTF2I を含む）を持つ WS の 5 名の患者について，視空間認知障害を中心にしたその臨床症状を詳細に検討するとともに，従来の報告と合わせて発達経過を比較することにより，典型的欠失を持つ患者においても，視空間認知能力とその発達には個人差が大であることを示した。患者の症状の違いを遺伝学的情報のみにより説明することや原因遺伝子の同定に直接的につなげることには慎重な配慮を要することが示唆された。（投稿中）

また，WS 患者においては顔への注意が強いことが報告されているが，視線追跡装置を用いて正立顔，倒立顔に対する注意の開始と解放について客観的評価を試みたところ，正立顔についてのみ，注意の解放までの時間が長いことが明らかとなり，顔への注意の強さは（正立）顔から他へ注意を向けることの困難さに起因する可能性を示唆された。発達障害研究所平井真洋前研究員により投稿中である。

5. 脳磁図と脳波を用いた随意運動制御に関わる神経活動の解明

中田大貴（奈良女子大学　研究院生活環境科学系）

これまでの先行研究では, 機能的 MRI や PET を用い，随意運動制御に関わる脳責任部位について明らかにされてきた。しかし，「いつのタイミングで活動するのか」といった脳活動の時間的情報は明らかにされてこなかった。そこで本研究では，時間分解能に優れた脳磁図と脳波（事象関連電位）を用いることにより，随意運動制御に関わる神経活動について，特に脳活動部位の時間的ダイナミクスを明らかにすることを目的とした。

実験は 11 名の健康成人を対象とし，体性感覚刺激 Go/No-go 課題を行ってもらった。この課題では，左手の第 II 指と第 V 指にリング電極を用いて刺激を呈示し, 第 II 指を Go 刺激として，刺激が呈示された際にはできるだけ速く右手の第 I 指でボタン押しをするように指示した。第 V 指への刺激は No-go 刺激とし，ボタン押しをしないように指示した。脳磁図と脳波は，生理学研究所にある脳磁場計測器（ELEKTA Neuromag 社製 Vectorview）を使用し，Go 刺激 80 試行・No-go 刺激 80 試行をそれぞれ別に加算平均処理し，記録した。

実験の結果，Go 試行・No-go 試行ともに，刺激後 60 ミリ秒では刺激対側（右脳半球）の一次体性感覚野が活動し，100 ミリ秒後には両側の二次体性感覚野が活動した。Go 試行においては，刺激後約 150 ミリ秒に補足運動野，約 250 ミリ秒後に左脳半球の一次運動野に活動が見られた。No-go 試行においては，刺激後約 170 ミリ秒に両側の前頭前野の活動が見られた。約 210 ミリ秒に記録される前帯状回, 約 240 ミリ秒に記録される下頭頂小葉, 300～400 ミリ秒に記録される上頭頂小葉・前頭前野は，いずれも Go 試行・No-go 試行に共通して活動が見られた。また事象関連電位において，N140 成分と P300 成分が記録され，両成分とも No-go 試行の方が Go 試行よりも振幅が有意に大きかった。本研究の結果から，Go 試行によって表出される運動遂行過程，No-go 試行によって表出される運動抑制過程は，刺激後約 100 ミリ秒までに活動する一次運動野，二次体性感覚野は同様の活動を示すが，刺激後 150 ミリ秒付近から処理に関わる脳活動部位が明瞭に異なることが示された。

本研究の成果は，European Journal of Neuroscience, 2015, 41: 1448-1458 (Nakata, Sakamoto, Honda & Kakigi) に発表された。

6. 意識的・無意識的な物体認識に関する脳磁場信号の計測

野口泰基，喜多伸一，松本絵里子（神戸大学）

ヒトの脳はどのようにして，様々な刺激を意識的に認識しているのか。現在の有力理論では，高次脳領域から低次脳領域へと伝達されるトップダウン信号が，意識表象の発生（無意識表象から意識表象への移行）に重要な役割を果たすとされている。だが逆にボトムアップ信号の役割を重視する説もあり，未だ一定の見解は得られていない。そこで本研究課題では脳磁計（MEG）の優れた時間分解能を活かし，物体認識（特に視覚的物体認識）に関わる神経活動の時空間的な流れを詳細に追うことで，この問題を検討した。具体的には①心理学実験・②脳活動計測の 2 段階に分けて研究を行い，意識的表象がヒトの脳内で発生する瞬間の神経活動を計測した。

その結果，まず連続フラッシュ抑制（continuous flash suppression）という心理物理的手法によって意識的認識が出来なくなった刺激を物理的に画面から消去すると，その刺激の意識表象が一瞬だけ出現することを発見した（心理学実験）。そしてその時の脳反応を調べたところ，意識表象発生時に特徴的な脳反応の波形を実際に観察した（脳活動計測）。

これらの結果は「刺激の物理的消滅（offset）」という外界からの感覚信号が，脳内では逆に意識表象の出現を促したことを示す（offset-triggered conscious perception）。「意識表象を出現させるのは刺激の出現（onset）である」という従来の見方を覆す結果であり，意識表象の発生メカニズムを探る上での手掛かりとなることが期待される。

また本研究の結果は，無意識表象を意識表象に変換する最終的なトリガーの 1 つはボトムアップ信号にあることを示唆している。このことは「意識表象を発生させるのはトップダウン信号か，ボトムアップ信号か」という従来研究の論争に，一石を投じる結果であると考えられる（Noguchi et al., 2015 Cortex, vol. 65, 159-172）。

7. 脳磁場計測による多感覚環境下での注意機構の解明

木田哲夫（早稲田大学高等研究所）

昨年に引き続き，注意制御中の脳内ネットワーク特性を明らかにすることを目的として，視覚刺激，聴覚刺激，体性感覚刺激からなる多感覚注意課題を遂行している際の脳磁場活動を 306ch 生体磁気計測装置で計測した。解析に際し，ベースライン期間，注意制御期間，注意による感覚変動期間を設定した。計測した脳磁場信号に対してマルチテーパー法により時間周波数解析を行った。次にアルファー帯域からガンマ帯域までの各周波数帯域において信号源の推定を行い，得られた信号源空間におけるデータに対して全脳網羅結合解析およびグラフ理論解析を行った。標的刺激に対する誘発反応の解析を行い，注意による感覚情報処理の修飾についても検証した。最後にこれらの全脳解析結果を可視化する系を確立した。

さらに個々の感覚系に注意を向ける際の脳内ネットワーク特性について詳細に検討する目的で，様々な特徴を有する視覚刺激からなる注意課題を遂行している際の脳磁場を同様に計測した。注意制御区間にはアルファー帯域およびベータ帯域のパワー低下（脱同期化）が生じ，ネットワーク特性は周波数依存的に動的変化を示した。また標的刺激に対する誘発反応は注意を向けることにより増大した。これらの結果は，国際心理生理学会（IOP2014）にて発表した。

8. 意識および認知状態の遷移に伴う周波数特異的な脳機能的ネットワークの構造変化の分析

多賀厳太郎，笹井俊太朗（東京大学大学院教育学研究科）

機能関連部位間で自発活動の正相関である機能的結合は, 脳の多様な領域間の情報の統合に寄与すると考えられている。機能的磁気共鳴画像法(以下 fMRI)を用いた研究により, 機能的結合は脳全体で情報統合を円滑に行う構造を持ったネットワーク(以下 FCN［functional connectivity network］)を構成していることが明らかになった。

当初 FCN は主として fMRI で計測された自発活動の相関によって検討されてきたが，近年は課題遂行時の活動の相関を用いた場合との比較を行う研究が盛んに行われている。そのような研究の結果，課題遂行時にも安静時と類似したネットワークの結合形態を持つが，課題遂行時は安静時よりもネットワークにおけるクラスターの顕在性が弱くなっていることが明らかになった。クラスターの顕在性が強いとき，クラスター間の情報統合は弱められる。これを考慮すると，課題遂行中に見られるクラスターの弱体化は，課題遂行に必要な情報統合を脳全体で行うために結合形態が変化した結果であると考えられる。そこで本研究はこの仮説を検証することを目的として以下の研究を行った。

37 名の協力者が 5 分間安静にしている状態，及び同一の課題を 5 分間継続して遂行している状態で fMRI データを取得し, 安静時及び課題遂行時の FCN を 264 の関心脳領域間で構築した。なお，全ての協力者は 4 種類の異なる課題を遂行した。次に安静時よりも強度が有意に増加した機能的結合を同定した。この機能的結合の強度上昇は，特定の領域間での情報統合の上昇を示す。興味深いことに，fMRI 信号の特定の周波数帯域(0.01-0.03 Hz)において，強度が有意に上昇した機能的結合が見られた脳領域のペアの約 80%が課題特異的であることが明らかになった。またこれらの機能的結合は，強度が上昇しなかった機能的結合と比較して，ネットワーク内部の情報統合経路のショートカットの構築に有意に貢献し，4 つの課題間で結合形態の多様性を高めることに有意に寄与していた。これらの結果から，課題遂行時には，課題遂行時に見られた結合形態の変化は，ネットワーク上の情報統合の経路を変化させる課題特異的かつ周波数特異的な機能的結合が顕在化することによることが明らかになった。今後はデータの全チャネルを用いて FCN を構築し，結果の一般性を明らかにする。

9. 共同把持力一致課題における２人組の同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る

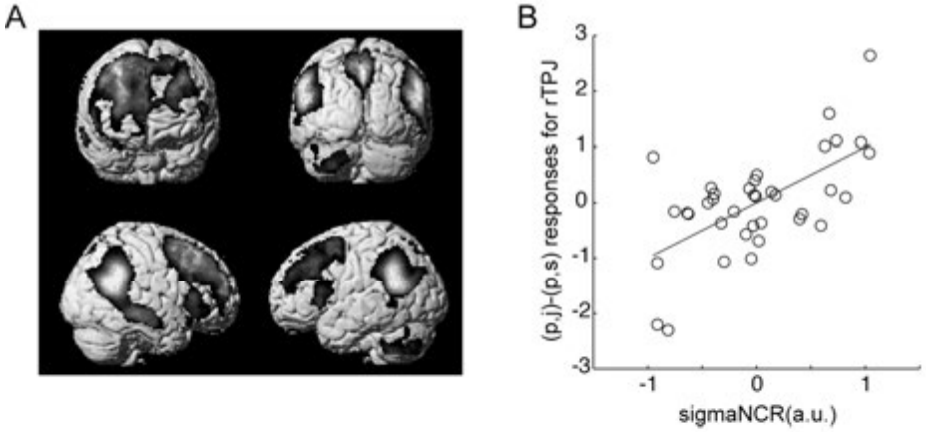
渡邊克巳（早稲田大学基幹理工学部表現工学科）
高橋康介（東京大学先端科学技術研究センター認知科学分野）
阿部匡樹（北海道大学大学院教育学研究院人間発達科学分野）

本研究は, コミュニケーションの典型である複数人の共同運動課題において, どのように複数人が冗長な個々の役割を自律的に組織化するのか, またどのような神経基盤がこの組織化に関与しているのかを明らかにすることを目的とした。昨年度末に dual fMRI を用いた本実験を実施し, 本年度はそのデータ解析と結果の整理を行った。

本実験には初対面の同性同士で構成された 19 組のペアが参加した。実験課題は，モニタ画面上にカーソル位置によって示される握力を，標的力（個々の最大握力の 20%）に可能な限り正確に一致させ続けることであった。課題は 30 秒間行われ，課題条件として 1）個々の力を一致させる個別課題，2）2 人の平均力を一致させる共同課題，3）個別課題時のパフォーマンス（カーソル運動）を注視する課題，4）共同課題に関する同様の注視課題，の 4 条件が課された。これら 4 条件の課題を 1 ブロック, 4 ブロックを 1 セッションとし, 休憩を挟みつつ計 3 セッション分の試技

が行われた。試技中のペアの脳活動は dual fMRI（Verio, 3.0T）によって，握力は非金属製・fMRI 用特殊フィルター付握力測定装置（内田電子製）によって，それぞれ二人同時に測定された。共同課題時の握力データには Akaike Causality 解析が適用され，パートナーからの影響の程度の指標としてノイズ寄与率（Noise Contribution Ratio: NCR）が算出された。

共同課題と個別課題の脳活動を比較したところ，側頭頭頂接合部（Temporo-paerital junction: TPJ），楔前部（Precuneus），下頭前回（Inferior frontal gyrus: IFG），小脳（Cerebellum），上頭前回（Sperior frontal gyrus: SFG）などが共同課題時に有意な活動の増大を示した（図A）。これらの領域の中でも，右の TPJ は共同課題と個別課題の活動の差異に関して NCR と有意な正の相関を示した（図B）。この相関は，共同課題時に右 TPJ の活動が大きくなる被験者ほどパートナーからの影響を大きく受けていたことを意味し，この領域が共同課題におけるパートナーとの Interaction に直接関与する領域であることを示唆した。



A 共同課題時ー個別課題時の脳活動（p <0.05 with FWE correction, cluster-level).
B 共同課題時ー個別課題時の右 TPJ の活動（縦軸）と，共同課題時のパートナーからのノイズ寄与率（sigmaNCR, 横軸）の関係．

10. 表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤

田中章浩，髙木幸子（東京女子大学現代教養学部心理学専攻）
田部井賢一（三重大学 大学院医学系研究科認知症医療学講座）
原田宗子，定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所 大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門）

他者の情動を適切に知覚することは，円滑な社会的コミュニケーションをおこなう上で非常に重要である。Tanaka et al. (2010, Psychol Sci) は表情と音声の視聴覚統合様式に文化差があることを初めて明らかにし，日本人はオランダ人よりも声優位性が高いことを心理実験によって示した。本研究ではこの知見を踏まえ，日本人とオランダ人の実験参加者を対象に，fMRI を用いて視聴覚情動知覚の文化差の神経基盤を検討する。平成 26 年度は，昨年度に取得した本実験のデータに基づき，実験データの解析を実施した。

1) 実験概要

実験では日本人とオランダ人参加者に，視聴覚動画刺激（日本人およびオランダ人による喜びと怒りの情動表現）を提示し，顔と声の情動価（一致／不一致）を操作した。参加者は顔または声のいずれかに注意を向けて，2 肢強制選択（喜び／怒り）で情動を判断した。上記に加えて，視覚／聴覚単独提示の条件も設けた。

2) 行動データ解析

課題遂行中の行動データの分析から，情動判断の際に日本人と比較してオランダ人は顔への依存性が高いという Tanaka et al. (2010)の先行研究と同様の結果が得られた(Figure 1)。

3) イメージングデータ解析

イメージングデータについては，視聴覚刺激提示時のデータを対象に，左右の TVA(声処理)，FFA(顔処理)，pSTS(視聴覚統合処理)および ACC(不一致の検出)を関心領域とした ROI 解析を実施した。解析の結果，右 FFA の活動は日本人よりもオランダ人参加者において大きく(Figure 2)，左 ACC の活動はオランダ人参加者では一致刺激観察時と比較して不一致刺激観察時には抑制されるという文化差がみられた。また，FFA の活動は，視覚単独提示時でも日本人よりもオランダ人で大きい傾向を示した。ゆえに，行動レベルで生じた文化差は，顔処理領域(FFA)および高次処理領域(ACC)での活動差に起因する可能性が示唆された。

今後は，それぞれの領域ごとの活動差だけではなく，領域間の活動の結合度の違いを視野に入れた解析をおこなう予定である。

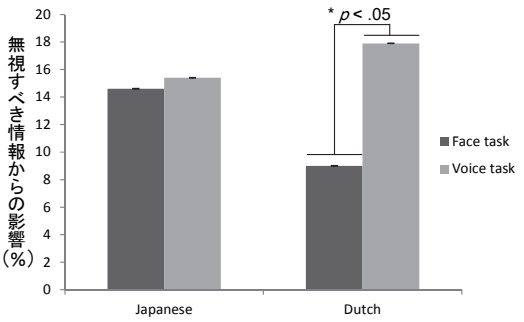


Figure 1. 行動データの分析結果
縦軸の値が大きい方が，無視すべき情報からの影響が大きいことを示す。オランダ人参加者では，顔課題（声を無視する）と比較して声課題（顔を無視する）において無視すべき情報（顔の情報）の影響が大きいことが示された。

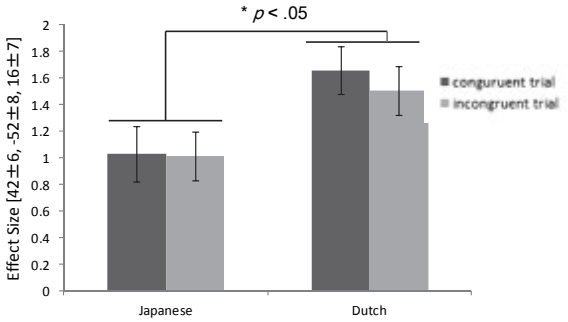


Figure 2. イメージングデータにおける右 FFA での文化差
従属変数として，固視点観察時と比較した場合の視聴覚刺激観察時の MR 信号の変化(Effect Size)を用いた。解析結果は，一致と不一致のどちらの刺激を観察した場合でも，日本人と比較してオランダ人において右 FFA の活動が大きいことを示した。

11. クロスモーダルな感覚情報の脳内表現様式の解明

宮脇陽一（電気通信大学 先端領域教育研究センター）
中谷　駿（電気通信大学 情報理工学研究科）
野崎　恵（電気通信大学 情報理工学部）
神谷之康（ATR 脳情報通信総合研究所）
高橋陽香，青木直哉，北田　亮，定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

感覚野の情報処理は，単一の感覚モダリティだけでは閉じず，視覚，聴覚，触覚などの複数の感覚器から得た情報が相互作用することにより，統一された知覚表象が獲得されている。このような異種感覚間の情報相互作用には，高等生物が生息環境に適応する過程で獲得してきた，複数情報を統合し補完する巧みな情報処理手法の普遍原理を理解するための重要なヒントが隠されているに違いない。そこで本研究では，機能的磁気共鳴画像法によってヒト脳活動を計測することにより，大脳皮質感覚野における異種感覚情報の相互作用および統合過程を調べ，ヒト脳内での異種感覚情報の表現様式を解明することを目的とする。

平成 26 年度では，昨年度から引き続き，触覚刺激情報のクロスモーダルな脳内表現について着目して研究をすすめた。特に，昨年度までに行った触覚線分運動刺激を示指先端部に提示した際の脳活動計測実験結果の再現性

の確認を目的とし，単一ボクセル解析およびマルチボクセルパターン解析の手法を用いて多側面から解析するとともに，追加実験を行った。

その結果，昨年度までに確認されていた示指先端部への触覚刺激提示時における体性感覚野，頭頂間溝部，ならびに低次視覚野における脳活動増加は，追加実験によっても観察され，再現性が確認された。一方，マルチボクセルパターン解析結果によれば，体性感覚野ならびに頭頂間溝付近の脳活動から触覚刺激の種類が有意に予測できるが，低次視覚野の脳活動からは触覚刺激の種類の予測が難しいという傾向が観察されつつある。すなわち，触覚刺激時に生じる低次視覚野の脳活動には，少なくとも今回の実験で用いた触覚刺激種の情報が表現されている可能性は低く，むしろタスクの実行そのものや注意状態などによって刺激特異性をもたない神経活動を反映しているのかもしれない。

12. 語用論の神経基盤の解明に向けて

松井智子（現：東京学芸大学国際教育センター／元：京都大学霊長類研究所）
内海　彰（電気通信大学大学院情報理工学研究科総合情報学専攻）
菊知　充（金沢大学子どものこころの発達研究センター）
中村太戯留（慶應義塾大学環境情報学部）

ヒトが語用論的能力，すなわち言外の意味を理解する能力を活用する際には，一般的な言語処理に関与する神経基盤に加え，内側前頭前野や，右半球，皮質下領域の関与が示唆されているが，一貫した見解は得られていない(Rapp 他, 2012)。内山他(2012)は，文字刺激を用いた語用論的神経基盤の検討をおこない，皮肉理解に特有な神経基盤として扁桃体，比喩理解に特有な神経基盤として尾状核，そして両者に共通する領域として内側前頭前野の関与を示唆している。しかし，日常会話の皮肉的表現の理解においてはプロソディ情報(内海, 2000)が，また隠喩的表現の理解においてはその面白さ(中村，2009)が重要な役割を果たす可能性が示唆されている。本研究では，(A)「プロソディを含む皮肉発話の解釈課題」と(B)「パンチラインとしての隠喩的表現の解釈課題」を実施した。本年度は，これまでの結果と先行研究を総合し，各課題の脳内モデルの考察を進めた。

課題(A)においては，刺激を文脈フェーズと発話フェーズとで構成した。発話フェーズは言語内容（文字通りの意味）としてはポジティブな内容で，プロソディ情報はポジティブな条件とネガティブな条件を設定した。文脈フェーズはポジティブな文脈とネガティブな文脈を設定した。これまでの皮肉のイメージング研究では，プロソディによる言語内容の変調効果は検討されてこなかった。本課題では，プロソディ情報が言語内容を変調するように課題設計をし，プロソディ情報と言語内容の統合部位を探った。結果，話者が思ったとおりに言っていないと感じた際には，左下前頭回(BA 47)が賦活し，ここが両情報の統合の中枢である可能性が示唆された。

課題(B)においては，刺激を隠喩的表現の提示フェーズとその共通点の提示フェーズとで構成した。後者は認知効果という心的状態の変化を伴うのに対して，前者はそれがないという特徴を有している。これまでの面白さのイメージング研究では，この両者の分離ができていなかった。本課題では，同一の後者が異なる前者によって制御されるように課題設計をし，認知効果探索に伴う処理労力の違いを排除した実験系を考案した。結果，隠喩的表現の面白さを感じた際には，左扁桃体が賦活し，ここが面白さを感知する中枢であり，認知効果と処理労力のバランスで定まる関連性の感知において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

引用文献

中村太戯留 (2009) 隠喩的表現において“面白さ”を感じるメカニズム. 心理学研究, **80**(1), 1-8.

松井智子 (2013) 子どものうそ，大人の皮肉. 岩波書店.

Rapp, A. M., Mutschler, D. E. & Erb, M. (2012). Where in the brain is nonliteral language? A coordinate-based meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies. *NeuroImage*, **63**, 600-610.

Uchiyama, H. T., Saito, D. N., Tanabe, H. C., Harada, T., Seki, A., Ohno, K., Koeda, T. & Sadato, N. (2012).

Distinction between the literal and intended meanings of sentences: A functional magnetic resonance imaging study of metaphor and sarcasm. *Cortex*, **48**, 563-583.

Utsumi, A. (2000). Verbal irony as implicit display of ironic environment: Distinguishing ironic utterances from nonirony. *Journal of Pragmatics*, **32**, 1777-1806.

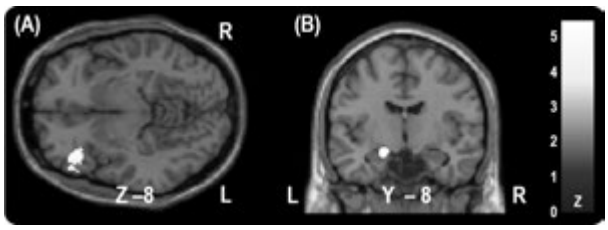


Fig. 1: (A) 皮肉発話のプロソディ情報を統合する部位，(B) 隠喩的表現の面白さを感知する部位

13. 視・聴・触覚間の時間的同期判断を可能にする脳内情報処理機序の解明

藤崎和香（産業技術総合研究所 人間情報研究部門）
西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所 人間情報研究部）
天野　薫（情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター，科学技術振興機構）
北田　亮，原田宗子，定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

人間の脳が異なる感覚モダリティ間の時間を比較するためには，物理的・生物学的な時間のずれや，誤対応，組み合わせの爆発など，さまざまな困難を乗り越えなければならない。本研究の目的は，このような困難を乗り越えて異なる感覚モダリティ間の時間比較を可能にしている人間の脳内情報処理機序を心理物理学的実験手法と脳イメージング手法を組み合わせて解明することである。

知覚研究ではこれまでwhat経路とwhere経路が並列処理されていると考えられてきたが，さらに近年，when経路も分かれているのではないかという議論が始まっている。本研究はクロスモダリティの心理物理と脳イメージングを組み合わせることによって，まず感覚モダリティの組み合わせに共通したwhen経路の解明を目指す。

我々は近年，聴触覚の感覚モダリティの組み合わせでは，視聴覚，視触覚の組み合わせよりも，時間のずれが検知されやすい（同期・非同期弁別が容易である）ことを発見した（Fujisaki & Nishida, 2009, EBR）。またこの聴触覚の優位性は，バインディング課題では消失することを発見した（Fujisaki & Nishida, 2010, Proc R Soc B）。これらの心理物理の知見を基に，本研究では fMRI を用いて，特定の感覚モダリティの組み合わせ（特に聴触覚の組み合わせについて）の同期知覚に対応した脳部位の同定を試みるとともに，感覚モダリティの組み合わせに共通した同時性判断の責任中枢（when pathway）の解明を目指す。

前年度に，生理研の Verio を使用して，視聴覚，視触覚，聴触覚の同期・非同期弁別課題を行った。触覚刺激の改良の結果，全ての被験者において，視覚，聴覚，触覚の反応が見られた。また STS はマルチモーダル刺激に対してネガティブに応答した。しかし，同期と非同期の違いはあまり顕著にみられなかった。今年度はこの原因に焦点を当てた検討を行った。同期と非同期の差が出ない原因の一つに，周期的刺激を用いていることが考えられたため，CiNet においてランダムパルス刺激を採用し，視覚，聴覚が同期，視覚が先行，聴覚が先行および，視覚，聴覚が無相関の四条件で実験を行った。その結果，同期，視覚先行，聴覚先行の条件では無相関の条件と比べて STS の活動が増大した。また，これらの三条件で STS 内の賦活部位がやや異なることが示唆された。

14. ベルベットハンド錯触の神経基盤の解明

宮岡　徹（静岡理工科大学）
大岡昌博，Rajaei Nader，Mohammad Azzeim（名古屋大学）

Velvet Hand Illusion（VHI）とは, 2 本の平行に張った棒を両手で挟んで棒と直行方向に両手を同時に動かすと，ベルベッドのような滑らかな面が感じられる錯触である。申請者らは，昨年度までに実施した fMRI 実験の結果から VHI の発生メカニズムについて解明した.

本年度の計画は次の 2 点である。まず，生理学研究所の定藤教授と北田助教の助言をもとに昨年までに採集したデータの詳細解析を進めるとともに，必要に応じて追加実験を実施する. また, fMRI の実験で得られた知見に基づいて, VHI と同様な効果を生じるハプティック･ディスプレイの設計提案を行う。

【VHI の発生メカニズム】18 歳以上の 30 名の実験参加者から最終したデータの詳細解析により，ベルベット錯触の生起のメカニズムを解明した。本解析には SPM8 を使用し，Dartel 法により解剖的標準化を行い，標準の集団解析を実施した。その結果，ベルベット錯触に重要な物理パラメータ（棒間距離）と一次体性感覚野と小脳の活動に関連があることを明らかにした。この結果は, 一次体性感覚野と小脳のネットワークが素材感の生成に重要な役割を果たす可能性を示唆している。

【ハプティック・ディスプレイの設計提案】ドット・マトリクス型の点図ディスプレイを用いて，2 本の平行な棒が往復する動きを生成してそれを刺激として手に与えた。①点図ディスプレイ，②金網，③二本の平行棒，④ベルベット生地を比較した。その結果，③の試料と同程度の VHI が生じることが確認された。引き続いて，①について仮想の棒の間の間隔を種々変更した実験も行った。その結果，棒の間隔の変更によって VHI の強度を変更できることを確認した。後者の結果は，ドット・マトリクス型の点図ディスプレイで VHI の効果を制御できることを意味している。

【今後の研究】VHI の発生メカニズムについては，棒間距離以外の物理パラメータを用いて，更なる検証が必要である。我々は最近の研究で，ベルベット錯触の生起には棒同士の動きの位相差も重要であることを発見した。そこで棒間の位相変化に応じて，どの神経基盤が活動を変化させるのかについて明らかにする。これにより一次体性感覚野と小脳が，触覚による素材感の生成に関与するかどうかを検証し,仮想現実感などの情報工学分野に応用するための基盤を形成することを目指す。

15. 顔色処理の脳内メカニズムの解明

南　哲人（豊橋技術科学大学 エレクトロニクス先端融合研究所）
中島加惠（関西学院大学 大学院理工学部）

「真っ赤になって怒る」，「恐怖で顔が青ざめる」という表現があるように，表情と顔色とには強い結びつきがあると考えられる。そこで，表情認知に顔色が影響を及ぼすという現象を調べた。表情認知に顔色が影響を与えるのであれば，特に曖昧な表情の判断を行う場合に顔色の情報が大きく影響を及ぼすと考えられる（例えば，怒っているのか，怯えているのかが曖昧な表情の場合，顔色が赤みを帯びていれば怒り，顔色が青みを帯びていれば怯えの表情と判断される）。そこで，まずは，２つの表情をモーフィングし，曖昧な表情画像を作成した上で, 顔色を操作した顔刺激を用いた心理物理実験により，表情判別確率が変化するかどうかを調べた。その結果，顔色を赤色に変化させると，怒りと判断する閾値が通常の色と比較して下がることが示され，この結果は，赤い顔が怒って見えることを示唆している。また，これらの効果は，顔色として認識されることでより大きな効果が示されることも示した。

この顔色による表情知覚処理の促進効果の脳内処理メカニズムを明らかとするために，fMRI を用いた実験を行った。つまり，脳内で行われる表情知覚処理に顔色の

情報がどのように作用し，表情知覚処理が促進させるのかを調査した。実験には 100 %恐怖，100 %怒り表情と，その 2 つの表情をモーフィングして作成した恐怖 50 %－怒り 50 %の曖昧な表情の顔画像を使用した。それらの画像の色を操作し，各画像に対して顔色の異なる 2 種類の画像を作成した。そして，3 種類の表情画像を，通常の顔色（画像オリジナルの色）と，怒りに関係する赤みがかった顔色，そして恐怖に関係する青みがかった顔色に操作した。コントロール刺激として，同画像データベースの中性表情を使用した。合計で 80 枚の画像（(3 表情×3 顔色+コントロール刺激)×8 モデル）を使用した。被検者は，呈示された顔画像の表情が恐怖と怒りのどちらの表情かを，可能な限り早く，正確に応答する表情判別タスクを行った。現在，被験者 34 名の実験が終了し，行動実験レベルでは，表情判別における顔色の効果の再現を確認した。

16. 顔認知と共感性の脳内機能とその国際比較研究

飯高哲也（名古屋大学 大学院医学系研究科）

顔の虚記憶の中でも，短期記憶にかかわる脳領域を fMRI を用いて研究した。類似した顔を短時間に呈示して再認判断を行わせた所，扁桃体の活動と顔の類似度に関連を認めた。この結果は，顔の虚記憶の長期記憶に関する研究結果と類似していた。扁桃体と顔の記憶の関連性が，長期と短期記憶で共通している可能性を示唆する結果である。論文を英文国際誌に発表した[1]。

自閉症の脳機能を fMRI で計測したデータを基に，患者と通常発達を判別する研究を行った。米国の共同研究データベース（Autism Brain Imaging Data Exchange: ABIDE）から，600 例以上の脳画像を取得した。そこから得られた脳領域間相関行列を，ニューラル・ネットワークを用いて判別した。その結果では，2 群の判別は 90%の精度で可能であった。論文を英文国際誌に発表した[2]。

文化的態度の違いにより，脳機能が変化するかどうかを fMRI を用いて研究した。2 種類の文化的プライミングを行った後に，嫌悪刺激（蛾，虫など）に対する扁桃体の反応を計測した。全体的（東洋的）プライミング群では個人的（西洋的）プライミング群より，扁桃体の賦活が亢進していた。本研究結果を英文論文として発表した[3]。

1) Iidaka T, Harada T, Norihiro N, False memory for face in short-term memory and neural activity in human amygdala. Brain Research 1591, 74-85, 2014
2) Iidaka T, Resting state functional magnetic resonance imaging and neural network classified autism and control. CORTEX 63, 55-67, 2015
3) Iidaka T, Harada, T: Cultural values modulate emotional processing in amygdala, In: Oxford Handbook of Cultural Neuroscience, Eds, Chiao J, Turner R, et al., Oxford University Press, 2015 (in press)

17. 機能的 MRI との同時計測による経頭蓋直流電気刺激法の大脳ネットワークへの影響の検討

田中悟志（浜松医科大学）

経頭蓋直流刺激法 transcranial Direct Current Stimulation ; tDCS）は，頭部に置いた電極から微弱な電気刺激を与えることにより神経細胞の活動を修飾し，脳機能を一時的に変化させる手法であり，神経疾患や脳卒中等の機能障害に対するリハビリテーションへの応用が期待されている。しかしながら，その作用機序に関しては不明な点も多い。本研究の目的は，ヒト脳全体の活動を計測できる機能的 MRI を用いて，tDCS が脳領域間のネットワークに与える影響を全脳レベルで健常者を対象とした実験により明らかにすることである。

これまでの我々の研究から，上肢一次運動野に anodal tDCS を行っている最中に手に注意を向けることで，上肢

一次運動野の皮質興奮性を促進できること，また運動学習成績を向上させることを報告した（守屋ほか，2013，2014）。このことは，運動皮質への tDCS と注意の組み合わせが，それぞれを独立に与えるよりも，より効果的に皮質興奮性および運動学習に促進効果を与えることを示唆している。しかしながら，tDCS と身体への注意の併用が一次運動野の活動のみに影響を与えているのか，または一次運動野を中心としたネットワークレベルでの活動に影響を与えているのかは不明である。本研究では，注意と tDCS の併用による運動成績促進の神経基盤を機能的 MRI を用いて全脳レベルで検討を行った。

健常成人を対象として予備的な実験を行った。全ての被験者には，介入として右半球一次運動野に tDCS を行っている最中に左手への感覚刺激が与えられた。介入条件の違いが脳活動に与える影響について検討するために，被験者は 3 つの実験条件に参加した。(1)運動皮質への anodal tDCS を行っている最中に，被験者は手に対し注意を向け感覚刺激の検出課題を行った(tDCS と注意の併用条件)。(2)偽刺激を行っている最中に，被験者は手に対し注意を向け感覚刺激の検出課題を行った(注意課題単独条件)。(3)anodal tDCS を行っている最中に，被験者は手に対する注意は向けずに安静を保ち検出課題は行わなかった(tDCS 単独条件)。直流刺激の刺激強度はすべての条件で 2mA とした。刺激時間を陽極刺激は 10 分間，偽刺激は最初の 15 秒間とした。 tDCS の介入前後に，機能的 MRI によって脳活動の計測を実施した。被験者は 3 条件全てに参加し，実験間隔は 1 週間以上空けた。

実験の結果，tDCS と注意の併用条件では，他の 2 条件に比べて，右半球一次運動野と右半球運動前野，固有補足運動野との機能連関が有意に高くなっていることが明らかになった。本研究により，tDCS と注意の併用は，tDCS を行った一次運動野直下の皮質活動のみはなく，高次運動皮質も含めたネットワークレベルで脳活動に影響を与えていることが示唆された。

18. スポーツと脳構造

荒牧　勇（中京大学スポーツ科学部）

スポーツと脳の構造にはどのような関係があるだろうか？ 近年，脳の構造が運動・認知スキルや気質・性格と関連すること，また，「経験」が脳構造を変化させることが明らかになりつつあるが，スポーツと脳構造の関係は未解明な点が多い。

今年度は，スポーツの上達に重要な他人の動きをみてまねる能力について，脳構造との相関を明らかにする研究をおこなった。

他人の動きを見てそれを真似する能力は，個人差が大きい。他人の動きを一目見てそれを真似することができる人もいれば，何度見てもうまく真似できない人もいる。この能力の差が脳の特定部位の発達によるものかどうかを明らかにすることを本研究の目的とした。

被験者 14 名について，ダンスの振付を一度見て再生させるという課題を行なった。難易度 A・B・C に分類した 2 秒程度のダンスの振付を各 9 種類，合計 27 種類(添付資料)映像の映像を順番に被験者にプロジェクターで提示した。被験者は提示されたダンスの振付を視認し，暗転画面時に，覚えた振付を自らの動作で再生した。この作業を 1 試行とし，合計 27 試行行った。実験の様子はビデオカメラで撮影し，ダンス経験者が評価を行った。評価は「1 点：できない，2 点：まぁまぁできない，3 点：まぁまぁできる，4 点：できる」の 4 段階評価とした。実験に参加した被験者の T1 強調 MRI 脳構造画像を撮像し，ダンス課題の合計点と相関する脳構造を解析した。

その結果，ダンス課題の合計得点と相関の高い脳領域として腹側運動前野（ブロードマン 6 野）・下頭頂葉（ブロードマン 40 野）・前頭前野背外側部（ブロードマン 9 野）が同定された。ダンスの振付けを覚える能力の違いは，ミラーニューロンが存在していると考えられている腹側運動前野（ブロードマン 6 野）・下頭頂葉（ブロードマン 40 野），ワーキングメモリの能力を司っている前頭前野背外側部（ブロードマン 9 野）の発達によるものであることが明らかとなった。

19. 随意性の低い効果器の訓練による随意性向上と神経基盤の変化

荒牧　勇（中京大学スポーツ科学部）

我々はどのようにして運動の随意性を獲得していくのか？本研究は，随意性の低い運動システムに対して，運動訓練，経頭蓋直流電気刺激，筋電気刺激，リアルタイム fMRI フィードバックなどの手法により，随意性を向上・獲得することを試み，その随意性の向上・獲得に伴う脳神経系の機能的・構造的変化を MRI を用いた脳機能画像解析，脳構造画像解析により明らかにすることを目的とする。

今年度は，腹式呼吸に注目して研究を行った。最先端のスポーツトレーニングの現場では，体幹の安定性がパフォーマンス向上に直結することから，体幹の安定性を高めるトレーニングを重視する。この体幹の安定性を向上させるために，初期段階では呼吸のトレーニングをおこなうことが多い。この呼吸は，横隔膜を上下させる腹式呼吸であり，横隔膜と骨盤底筋が平行になるように吸気で横隔膜を下げ，呼気で横隔膜を上げる。この呼吸により腹圧を高め，脊柱を安定させるという目的がある。しかし，この腹式呼吸は通常の呼吸とは異なるため，習得するためには一定期間の訓練が必要となる。本研究はこの呼吸筋の新しい協調パターンの習得に関わる脳構造に注目した。

被験者 16 名に対して, この腹式呼吸を 1 か月間トレーニングした前後の脳構造 MRI 画像を計測し，voxel based morphometry の手法を用いて脳灰白質体積の変化する脳部位を同定した。被験者は週 3 回, 一回 30 分の呼吸トレーニングを 4 週間おこなった。 1 回のトレーニングでは，腹式呼吸により風船を膨らます課題を 1 分間を 1 セットとし，休憩をはさんで 5 セット繰り返した。トレーニング中は，専門のトレーナーが呼吸動作が正しくできているかをチェックした。

その結果，1 か月の呼吸トレーニングにより，運動前野の灰白質体積が増加した（$p<0.05$, クラスターレベルの多重比較）。運動前野は，運動学習や協調動作の遂行に重要な脳部位であり，腹式呼吸習得のための横隔膜の制御，骨盤底筋，腹横筋，多裂筋との協調制御に重要な機能を果たすためにトレーニングにより発達したものと考えられる。

20. 視線を介した対面相互作用の実時間性が学習に及ぼす影響：２個体同時計測 MRI を用いた検討

板倉昭二（京都大学）
佐藤　徳（富山大学）
浅田晃佑（東京大学）
小池耕彦（生理学研究所）

他者と円滑に付き合う能力を社会能力と呼び，社会生活をおくる上で必須の能力で, 言語性･非言語性のコミュニケーション能力を基盤とした高次脳機能と捉えられる。その萌芽過程として想定されている要素的機能のうち，アイコンタクト（見つめ合い）と共同注意は，乳児の言語学習の前提として注目されている。発達心理学的実験によると，相互作用の実時間性が重要であるとされているが，どのようなメカニズムで学習が促進されるのかは明らかではない。本研究では，アイコンタクトが音声学習に及ぼす影響の脳内機構を，成人を対象とした非侵襲的脳機能画像法を用いて解析することを目的とする。

そのための基礎実験として，2 台の高磁場磁気共鳴断層装置(静磁場強度 3 テスラ, Verio, Siemens)を用いて BOLD (Blood Oxygen Level Dependent)法による脳血流の２個体同時計測を行った。その際頭部用コイルを装着した状態で, 被験者の目と口をビデオカメラにより撮影し, これをリアルタイムで相手被験者に提示した。遅延回路を用いてリアルタイム性を制御した対照条件と比較する

ことにより，視線を介した対面相互作用の実時間性による神経活動変化を定量評価した。現在データ解析中である。次年度はこの系に学習課題を組み入れる予定をしている。

21. 社会的疲労の神経基盤研究

渡辺恭良，佐々木章宏，水野　敬（理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター）
定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所）

疲労は肉体的，精神的活動の結果，特に過度の活動の結果生じる機能低下状態と定義される。従ってこれまでの研究では肉体的あるいは精神的な疲労負荷が引き起こす機能低下について検討されてきた。最近ではソーシャルネットワーキングサービス(SNS)の利用者が他者からの反応を気にしたり，他者への反応に義務感を感じたりすることで疲れを感じてしまう SNS 疲れが問題になるなど，他者との社会的関係もまた疲れの要因となる可能性が考えられる。先行研究から他者の視線が課題成績や寄付行動に影響を与え，その際に他者の気持ちの推察(mentalizing) に関わる脳領域や報酬系の活動が報告されている。しかし，他者の視線による疲労・疲労感の変化については知られておらず，本研究では他者の視線を受けながら認知課題を行う際の疲労感の変化を明らかにすることを目的に研究を行った。２０代の男性８名を対象に作業記憶課題である２バック課題を行い，課題中の観察者の有無を操作して疲労度の変化を記録した。データ解析の結果，２バック課題後に主観的疲労感，ストレスが増大する一方で意欲が低下することが示された。また観察者の存在する際には，課題後のストレスの増大が不在時と比べて大きくなる傾向を見出した。今後は被験者数を追加して更なる検討を行い，MRI を用いた神経基盤研究へと繋げる。

22. 変化関連脳活動を指標にしたプレパルス抑制の機序 -Offset 反応

元村英史（三重大学医学部附属病院精神科神経科）
乾　幸二

取り巻く環境の変化を速やかに検出する変化関連脳活動は意識的に制御することのできない極めて基礎的かつ重要な脳内情報処理活動である。連続する音の音特性を突然に変化させることによって，聴覚イベント発生後 50 ms に Change-P50m および 100 ms に Change-N1m を脳磁図で明瞭に記録できる。これらの変化関連脳活動は，その再現性が高く，極めて安定した神経生理学的指標である。prepulse 抑制は通常大きな音による瞬目反射を指標に評価し，入力信号に対する応答を一定時間抑制する機能を反映すると考えられている。聴覚刺激変化の直前に極めて弱い変化音を挿入(prepulse に相当)することで直後の音特性変化に対する変化関連脳活動の抑制を観察できる。我々は変化関連脳活動の prepulse 抑制を用いて抑制機構の解明を目指している。今年度は聴覚 offset 反応を指標とした prepulse 抑制について検討を行った。

9 名の健常者を対象とし，全頭型脳磁図計（Vectorview, ELEKTA Neuromag）を用いて誘発脳活動を記録した。1 秒間持続するクリック音(100 Hz, 80 dB)を呈示し，音刺激終了から約 50 ms 後にみられる Offset-P50m を標的脳活動とした。音刺激終了前 50 ms の単一クリック音のみをごくわずかに音圧を上げ(1.5, 3. 5 dB)，prepulse とした。クリック音を用いることで，offset-P50m は明瞭に記録でき，prepulse によってこの Offset-p50m 応答は減弱し，更に prepulse の音圧が強いほど，強い抑制がみられた。

聴覚 offset 反応の prepulse 抑制においても瞬目反射やこれまでに報告した Change-N1m と同じ挙動の抑制が生じることを明らかにできた。Offset 反応は その後に続く新たな刺激に対する情報処理活動は含まれず，より純粋

な変化（音が消えた）検出応答である。尚且つ比較的早期の脳活動である Offset-P50m の prepulse 抑制を確認できたことは大脳レベルでの抑制機構の解明に結びつく成果であった。

23. オノマトペ自動生成システムで作成された言語音による脳活動計測

田中　繁，坂本真樹，清水祐一郎，土斐崎龍一
（電気通信大学）

平成26年度は，下記の2点を仮説として研究を行った。(1)新奇に作成したオノマトペは，視覚イメージを喚起するオノマトペ（視覚オノマトペ，“きらきら”等）と触覚イメージを喚起するオノマトペ（触覚オノマトペ，“べとべと”）に心理物理学的に分けることができる: (2)次にオノマトペを聴覚呈示した時，視覚オノマトペであれば視覚野の賦活が見られ，触覚オノマトペであれば体性感覚野が賦活する。申請者のオノマトペ自動生成システムから視覚オノマトペと触覚オノマトペを作成し，惹起されるイメージの感覚依存性を心理物理学実験で検証した。しかしながら心理物理学実験では視覚オノマトペと触覚オノマトペの間に強い違いがみられなかった。平成26 年度は実験準備のために MRI を使用した。すなわち Siemens Verio でスキャンを行っている時に，申請者らが作成した聴覚刺激が明瞭に聞こえ，評定できるところまで検証した。

24. 情動・注意における大脳皮質間神経回路の適応動態の解明

筒井健一郎，細川貴之，中村晋也（東北大学大学院生命科学研究科）

研究目的　本研究では，サルを用いた動物実験によって，情動や注意の制御に関わる大脳皮質間神経回路のはたらきが一時的に障害され，それが自律的に回復していくメカニズムを解明することを目的とする。経頭蓋磁気刺激（TMS）を用いて情動や注意の制御に関わる神経回路を変調させ，同時に硬膜下皮質表面電位（ECoG）の計測を行うことで，神経回路の変調と回復の動的メカニズムを明らかにすることを目的とする。生理学研究所では，ECoG 計測用のシート電極を埋めるための正確な位置を知るためにサルの脳の MRI 構造画像撮像を行う。

研究内容　サルに８方向の遅延反応課題を遂行させながら，前頭連合野，運動前野，および頭頂連合野のいずれかを片側性に刺激して（10Hz にて 1 秒間），神経活動に外乱を与えることによってその機能を阻害し，行動への影響を調べる実験を実施した。実験は主に，東北大学生命科学研究科の研究室内の実験室で実施し，MRI 構造画像の撮像にあたっては，生理学研究所に一時的に移送することとした。

研究成果　遅延反応課題への影響は，TMS を施す部位によって異なっていた。前頭連合野の刺激では，刺激半球と対側のボタンがターゲットになったときに，遅延時間の長さに依存して成績が低下した。運動前野の刺激では，刺激半球と対側の手を使ったときに，遅延時間の長さに依存して成績が低下した。これらの結果から，遅延反応課題において，前頭連合野は視空間性の作業記憶を，運動前野は運動性の作業記憶を担っているものと考えられた。さらに，頭頂連合野の刺激では，刺激半球と対側のボタンがターゲットになり，それに対して対側の手（すなわち刺激半球と同側の手）で反応した時に，成績が低下した。一般に，手を使った到達運動では，手と同側の空間よりも，対側の空間に対する運動するほうが難しいことが知られていることから，この結果は，頭頂連合野が到達運動において視空間性のガイダンスに関与していることを反映したものと推察された。

この研究では，日毎の実験の開始前に，一次運動野の手の領域を単発刺激による筋電の誘発によって同定し，それを基準に刺激位置を決定した。刺激位置を確認するため，頭部にあてがった TMS コイルの中心位置を，ビ

タミン剤によって頭皮上にマークし，MRI 構造画像を撮像したところ，想定した脳の部位を正確に刺激できていることが確認できた。

25. 大脳辺縁系および大脳基底核における社会的情報価値の処理機構

林　正道（University of Helsinki，Institute of Biomedicine/Physiology）

本研究課題の目的は，大脳辺縁系や大脳基底核が，社会的情報価値の処理で担う役割を明らかにすることであった。具体的には，報酬系として知られる線条体の腹側部と，腹側線条体に神経投射があって社会的情報処理に関わる扁桃体を対象として，社会的情報が，情報を受けた個体にとって価値を持つようになる神経処理の過程を明らかにすることを目指す。

ニホンザルに他個体が写った画像を見せている最中に，脳内に細い金属電極を刺入して単一ニューロン応答を記録する上で，大脳深部にある扁桃体や側坐核への電極定位のために，MRI による脳構造画像が欠かすことができない。そこで，生理学研究所の MRI 装置にて脳構造を撮影した。キシラジン(1mg/kg,im)，塩酸ケタミン(10mg/kg,im)による麻酔導入の後，ペントバルビタール（10-20mg/kg,iv,初期投与半量）の麻酔下で，頭部を頭部固定具に固定し, 3TMRI 画像撮影装置内(Siemens Allegra)に腹臥位にて寝かせ, MRI による脳構造画像を撮影した。撮影終了後には，覚醒を早めるため，メデトミジン拮抗薬アチパメゾール(0.1mg/kg,im)を投与した。

実験に用いたサルはナショナルバイオリソースプロジェクト「ニホンザル」から提供された 3 頭で，京都大学霊長類研究所から近畿大学への輸送途中に生理学研究所で MRI にて脳構造画像の撮影を行った。サルは「サル MRI 準備室」に一時保管し，そこで麻酔をしてから 3TMRI 画像撮影装置がある生理学研究所 B66 号室へ搬入し，脳構造画像を MRI にて撮像した。MRI 撮影以外の実験は，申請者の所属する近畿大学医学部生理学講座で行った。

平成 26 年度は大脳基底核のニューロン応答を記録した。側坐核のニューロンに関して，記録した 116 個のうち，53 個(46%)が社会的刺激の提示を予測させる単純図形に応答した。これらのニューロンの中には好ましい社会的刺激や多い水報酬の予測図形に対する応答と，好ましくない社会的刺激や少ない水報酬の予測図形に対する応答に有意な差があるニューロンが 12 個あった。この中には社会的報酬に強く応答するニューロンも，社会的嫌悪に強く応答するニューロンもあった。

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔 目　　次 〕

１．新規シグナル伝達分子とその生理学的可能性
（代表者：森　泰生　2014 年 9 月 18 日－9 月 19 日）…… 264
２．グリア細胞機能から迫る脳機能解明
（代表者：田中謙二　2014 年 10 月 23 日－10 月 24 日）…… 272
３．シナプス機能の普遍性と多様性
（代表者：服部光治　2014 年 6 月 5 日－6 月 6 日）…… 280
４．視知覚の現象・機能・メカニズム －生理学的，心理物理学的，計算論的アプローチ
（代表者：村上郁也　2014 年 6 月 12 日－6 月 13 日）…… 287
５．『シナプス・神経ネットワークの機能ダイナミクス』
（代表者：神谷温之　2014 年 12 月 2 日－12 月 3 日）…… 297
６．行動システム脳科学の新展開
（代表者：星　英司　2015 年 1 月 9 日－1 月 10 日）…… 306
７．大脳皮質を中心とした神経コネクトミクスとその動的特性を探る
（代表者：金子武嗣　2014 年 12 月 4 日－12 月 5 日）…… 317
８．第４回社会神経科学研究会 「社会認知とコミュニケーション」
（代表者：松田哲也　2014 年 10 月 30 日－10 月 31 日）…… 321
９．研感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻
（代表者：南　雅文　2014 年 10 月 7 日－10 月 8 日）…… 329
10．個体内記憶回路の同定とその機能解析による学習記憶制御基盤の統合的理解
（代表者：喜田　聡　2014 年 10 月 8 日－10 月 9 日）…… 336
11．粘膜免疫学と膜輸送生理学の融合
（代表者：杉田　誠　2014 年 10 月 27 日－10 月 28 日）…… 342
12．臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み
（代表者：山内敏正　2014 年 9 月 27 日－9 月 28 日）…… 351
13．心血管膜輸送分子の構造・病態の統合的研究戦略
（代表者：岩本隆宏　2014 年 9 月 4 日－9 月 5 日）…… 362
14．TRP チャネル研究を通じて見えてきた新たな生理学への光
（代表者：柴崎貢志　2014 年 6 月 5 日－6 月 6 日）…… 381
15．痛みと痛覚情動連関の神経機構
（代表者：池田　弘　2014 年 12 月 10 日－12 月 11 日）…… 394
16．温熱生理研究会
（代表者：芝﨑　学　2014 年 8 月 28 日－8 月 29 日）…… 405
17．細胞センサーの分子機構・相互関連・ネットワーク研究会
（代表者：高橋信之　2014 年 12 月 4 日－12 月 5 日）…… 415
18．電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用　～ 次世代の生物電顕を考える ～
（代表者：臼田信光　2014 年 11 月 12 日－11 月 13 日）…… 423
19．唾液腺形態形成研究会～機能解析から器官再生へ～
（代表者：柏俣正典　2014 年 8 月 4 日－8 月 5 日）…… 430

１．新規シグナル伝達分子とその生理学的可能性

2014 年 9 月 18 日－9 月 19 日

代表・世話人：森　泰生（京都大学・院工及び地球環境）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所・神経機能素子）

（１）タンパク質ポリサルファー化による酸化ストレス・レドックスシグナル制御

〇藤井重元[1]，井田智章[1]，居原　秀[2]，笠松真吾[1]，ジョン　ミンギョン[1]，赤司壮一郎[1]，
松永哲郎[1]，津々木博康[2]，澤　智裕[1]，本橋ほづみ[3]，熊谷嘉人[4]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科環境保健医学分野，[2]大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻，
[3]東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野，[4]筑波大学医学医療系環境生物学分野）

（２）陰性荷電シグナルの生成と制御

〇近澤未歩，柴田貴広，内田浩二（名古屋大学大学院生命農学研究科　応用分子生命科学専攻）

（３）TRPV1 を介して NGF シグナリングを活性化する脂質メディエーター

〇柴田貴広[1]，高橋克弘[1]，松原　唯[1]，高橋重成[2]，森泰　生[2]，内田浩二[1]
（[1]名古屋大学大学院生命農学研究科 応用分子生命科学専攻，
[2]京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻）

（４）NO-induced calcium release (NICR) と神経細胞死

〇三上義礼[1]，金丸和典[1]，小田康弘[1]，杉山弘樹[2]，小山隆太[2]，伊藤明博[3]，柿澤　昌[4]，
山澤徳志子[5]，村山　尚[6]，渡辺雅彦[7]，池谷裕二[2]，斉藤延人[3]，飯野正光[1]
（[1]東京大・院医・細胞分子薬理，[2]東京大・院薬・薬品作用，[3]東京大・院医・脳神経外科，
[4]京都大・院薬・生体分子認識，[5]慈恵医大・分子生理，[6]順天堂大・医・薬理，[7]北海道大・院医・解剖発生）

（５）TRPC5 チャネル-caveolin-1-eNOS シグナル複合体による Ca^{2+}動員および NO 産生の時空間制御

〇植田誉志史[1]，高橋重成[1,2]，吉田卓史[1]，小川　臨[1]，山口佳織[3]，浜野　智[1]，
山本伸一郎[1]，坂口怜子[1,4]，原　雄二[1]，森　誠之[1]，清水俊一[5]，井上隆司[6]，森　泰生[1,2,3]
（[1]京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻，[2]京都大学先端医工学研究ユニット，
[3]京都大学大学院 地球環境学堂 環境適応生体システム論，[4]京都大学物質−細胞統合システム拠点(iCeMS)，
[5]昭和大学薬学部病態生理学教室，[6]福岡大学医学部生理学教室）

（６）ASK3 の浸透圧ストレス応答メカニズムと生理的役割

〇渡邊謙吾，名黒　功，一條秀憲（東京大学大学院・薬学系研究科・細胞情報学）

（７）尿細管の Ca-sensing 受容体：局在と機能

〇安岡有紀子，河原克雅（北里大学医学部生理学）

（８）グルコース感知受容体 T1R3 による代謝促進機構

〇小島　至，中川祐子，濱野邦久，長澤雅裕（群馬大学生体調節研究所）

（９）RGS4-mediated regulation on the M2 muscarinic receptor-activated G-protein-gated K^+ currents

〇陳　以珊，古谷和春，稲野辺厚，倉智嘉久（大阪大学大学院医学系研究科 分子・細胞薬理学）

(10) シナプスから核への Ca^{2+}シグナリングの新たな展開

野中美応，金　亮，柳下姜楠，川島尚之，藤井　哉，奥野浩行，竹本-木村さやか，〇尾藤晴彦
（東大・院医・神経生化）

(11) 神経終末端 Ca チャネルとシナプス小胞のカップリング

〇高橋智幸（同志社大学脳科学研究科・沖縄科学技術大学院大学）

（12）破骨細胞膜の proton-flux および酸感受性応答機構

○久野みゆき，李　光帥，日野佳子，森浦芳枝，川脇順子，酒井　啓
（大阪市立大学大学院医学研究科分子細胞生理学）

（13）P2Y6 受容体の分子多様性とその病態生理学的意義

○西村明幸，Caroline Sunggip，冨田拓郎，西田基宏
（自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター・心循環シグナル研究部門）

【参加者名】

西田基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター），冨田拓郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター），西村明幸（岡崎統合バイオサイエンスセンター），外山喬士（岡崎統合バイオサイエンスセンター），島内　司（岡崎統合バイオサイエンスセンター），小島　至（群馬大学），長澤雅裕（群馬大学），中川祐子（群馬大学），濱野邦久（群馬大学），高橋智幸（同志社大学），飯野正光（東京大学），金丸和典（東京大学），三上義礼（東京大学），鈴木純二（東京大学），森　泰生（京都大学），坂口怜子（京都大学），澤村晴志朗（京都大学），植田誉志史（京都大学），山口一真（京都大学），久野みゆき（大阪市立大学），川脇順子（大阪市立大学），赤池孝章（東北大学），藤井重元（東北大学），河原克雅（北里大学），安岡有紀子（北里大学），内田浩二（名古屋大学），柴田貴広（名古屋大学），近澤未歩（名古屋大学），名黒　功（東京大学），渡邊謙吾（東京大学），菅原　祥（東京大学），町田俊也（東京大学），森田　賢（東京大学），尾藤晴彦（東京大学），倉智嘉久（大阪大学），陳以珊（大阪大学），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），中條浩一（生理学研究所），北沢和寛（生理学研究所），粂慎一郎（生理学研究所），松原美紀（生理学研究所）

【概要】

ヒトを含む様々な生物種の全ゲノム配列が次々と解明され，生命システムを構成する遺伝子の情報を得られつつある。しかしながら，遺伝子に直接コードされていない生体分子，及びそれらの構造，機能，制御が生み出す動作原理や生理的役割については，依然として不明である。特に，シグナル伝達分子においては，その反応性や時空間特性が生理学的意義を有するが，決して遺伝情報中に直接書き込まれてはいない。そのため，今後の生命科学においては，広義の「エピゲノム」の考えに基づいた固有のアプローチと理解が必須である。近年，シグナル伝達機能が認められているセカンドメッセンジャー分子に加え，新規生体物質や，シグナル伝達における生理的意義が再評価されつつあるユニークな分子群が注目されている。本研究会では，例えば，活性窒素種・活性酸素種とその関連活性種分子群（障害性物質と認知されてきた），抗酸化系，硫黄メディエーター，ガス状生理活性物質，新規ヌクレオチド類等に具体的に着目し，これらと Ca^{2+}やプロテインキナーゼなどのオーソドックスなシグナル伝達分子との相互作用，タンパク質修飾，細胞応答，分泌，免疫，循環，神経系といった異なる視点から，シグナル伝達機構研究に関して注目すべき成果を上げている研究者が集い，各々の成果を発表，討議した。その中で，新規のタンパク質機能に基づいた新たなシグナル経路の存在が明らかになった。細胞の redox 状態を制御する分子群が司る生化学反応はその代表格である。また，シグナル経路としては知られていても，今まで，検討されていなかった系での意義が示された。さらに，細胞内小器官内での機能的な不均一性（局在性）も明らかとなった。これらの成果は，今後のさらなる追究によって，シグナル研究の breakthrough となる大きな可能性を有するが，本研究はその理解に大きな貢献を果たすことができたものと自負している。

（1）タンパク質ポリサルファー化による酸化ストレス・レドックスシグナル制御

○藤井重元[1]，熊谷嘉人[2]，井田智章[1]，居原　秀[3]，笠松真吾[1]，ジョン　ミンギョン[1]，
赤司壮一郎[1]，松永哲郎[1]，津々木博康[4]，澤　智裕[4]，本橋ほづみ[5]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科環境保健医学分野，[2]筑波大学医学医療系環境生物学分野，
[3]大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻，[4]熊本大学大学院生命科学研究部医学系微生物学分野，
[5]東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野）

感染，炎症などにより生体内で生成する活性酸素や NO は，近年シグナルとしての機能が認識されるようになってきた。我々は最近，活性酸素と NO の二次シグナル分子として 8-nitoroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate（8-ニトロ-cGMP）を同定した。8-ニトロ-cGMP は，その親電子性により，タンパク質中の Cys 残基と反応して cGMP を付加する翻訳後修飾（タンパク質 S-グアニル化）をおこない，酸化ストレス応答，オートファジーの誘導をはじめ多彩なシグナル伝達に関わることが明らかになった。

さらに最近，8-ニトロ-cGMP のシグナル機能の制御因子を解析する中で，Cys のチオール基にイオウ原子が付加したシステインパースルフィド（CysSSH）などの活性イオウ分子種（R-S-(S)n-H)が生体内に存在することを見いだした。活性イオウ分子種は過剰なイオウ分子の付加により高い抗酸化活性を発揮するが，興味深いことに，活性イオウ分子は CysSSH などの低分子だけでなく，タンパク質 Cys 側鎖中にも多数存在していることが分かってきた（タンパク質ポリサルファー化）。

タンパク質ポリサルファー化は，8-ニトロ-cGMP シグナルとともに，酸化ストレスにおける主要なレドックスシグナル伝達機構として細胞機能制御に関わることが示唆された。

（2）陰性荷電シグナルの生成と制御

○近澤未歩，柴田貴広，内田浩二（名古屋大学大学院生命農学研究科 応用分子生命科学専攻）

タンパク質や DNA, 脂質などの生体成分はストレス因子による傷害を受け，ダメージ関連分子パターン（DAMPs）と呼ばれる新しいシグナル分子を生成する。DAMPs の生成は分子の機能低下を引き起こし，疾病の発症・進展に関与すると考えられている。DAMPs の生成は分子表面の電荷を減少させることから，その陰性荷電シグナルとしての機能が予想される。これまでに陰性荷電シグナルが CD36, LOX-1 などのスカベンジャー受容体のリガンドであることが明らかとなり，自然免疫系による荷電を指標にした DAMPs クリアランスのメカニズムが注目されている。

DAMPs のひとつとして，糖とタンパク質の反応により形成される最終糖化産物（AGEs）が知られる。AGEs の陰性荷電シグナルとしての機能について検討したところ，AGEs の生体への蓄積による自然抗体産生の増加など自然免疫系の活性化を確認した。さらに，自然抗体や補体 C1q などの自然免疫系分子が AGEs と相互作用し，マクロファージによる貪食・除去を促進することを明らかにした。また，認識において AGEs 表面の負電荷が重要であることが確認され，陰性荷電シグナルとしての AGEs の自然免疫系活性化作用が明らかになった。以上より，AGEs をはじめとする DAMPs は，陰性荷電シグナルとして自然免疫系の多様な分子を介して機能することが予想された。

（3）TRPV1 を介して NGF シグナリングを活性化する脂質メディエーター

○柴田貴広[1]，高橋克弘[1]，松原　唯[1]，高橋重成[2]，森　泰生[2]，内田浩二[1]
（[1]名古屋大学大学院生命農学研究科 応用分子生命科学専攻，
[2]京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻）

炎症条件下などにおいて産生される主要なプロスタグランジン (PG) 類のひとつである PGD_2 は，さらなる代謝を経て 15-deoxy-$\Delta^{12,14}$-prostagladin J_2 (15d-PGJ_2) へと変換される。15d-PGJ_2 はその高い親電子性ゆえに，前駆体である PGD_2 とは全く異なる機能性をもつシグナル分子として作用する。本研究では，様々な脂質メディエーターの中神経成長因子 (NGF) シグナリング増強因子として 15d-PGJ_2 を同定した。15d-PGJ_2 はそれ単独では PC12 細胞の分化を誘導することはできないが，ごく低濃度の NGF 存在下において有意に神経突起伸長を誘導することが明らかとなった。このような NGF 増強作用は TRPV1 を介した Ca^{2+}依存的な作用であることが示唆された。細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇を検討したところ，15d-PGJ_2 単独処理では Ca^{2+}濃度の上昇は認められなかったが，NGF を共投与することにより，細胞内 Ca^{2+}濃度が有意に上昇することを見出した。さらに，biotin 標識 15d-PGJ_2 を用いた検討から，NGF 処理により細胞膜上へ移行した TRPV1 に対して 15d-PGJ_2 が共有結合することが示唆された。以上の結果から，15d-PGJ_2 は TRPV1 を介して NGF シグナリングを増強するメディエーターとなりうる可能性が示された。

（4）NO-induced calcium release (NICR)と神経細胞死

○三上義礼[1]，金丸和典[1]，小田康弘[1]，杉山弘樹[2]，小山隆太[2]，伊藤明博[3]，柿澤　昌[4]，
山澤徳志子[5]，村山　尚[6]，渡辺雅彦[7]，池谷裕二[2]，斉藤延人[3]，飯野正光[1]
（[1]東京大・院医・細胞分子薬理，[2]東京大・院薬・薬品作用，[3]東京大・院医・脳神経外科，
[4]京都大・院薬・生体分子認識，[5]慈恵医大・分子生理，[6]順天堂大・医・薬理，[7]北海道大・院医・解剖発生）

一酸化窒素（NO）は神経細胞間コミュニケーションに関わり，記憶形成などにおいて重要な役割を担うほか，種々の病態にも関与すると考えられている。NO は cGMP を介したシグナル伝達に加え，タンパク質の *S*-ニトロシル化を介して機能変化を引き起こす。１型リアノジン受容体（RyR1）は NO により 3636 番目のシステイン残基（C3636）が *S*-ニトロシル化されることで活性化され，小胞体から細胞質に Ca^{2+}を放出する（NO-induced Ca^{2+} release: NICR）。脳虚血モデルマウスでは RyR1 を抑制する薬物が脳梗塞を軽減することが示されており，NICR が神経細胞死に関与する可能性が提示されている。我々は，NICR の病態生理学的意義を明らかにするために RyR1 の C3636 をアラニンに置換した *Ryr1*^{C3636A} ノックインマウスを作製した。このマウス由来の初代培養神経細胞では，NICR が消失していた。さらに，野生型マウス由来の神経細胞では NO ドナー化合物によって神経細胞の突起縮退や形態異常が見られたのに対し，*Ryr1*^{C3636A} マウス由来の細胞ではこれらの異常が軽減された。以上の結果は，神経細胞において RyR1-C3636 の *S*-ニトロシル化が NICR を引き起こし，それに伴って神経細胞死に関与することを示唆する。RyR1 は神経変性疾患の治療標的となり得る可能性が示された。

（5）TRPC5 チャネル-caveolin-1-eNOS シグナル複合体による Ca^{2+}動員および NO 産生の時空間制御

○植田誉志史[1]，高橋重成[1,2]，吉田卓史[1]，小川　臨[1]，山口佳織[3]，浜野　智[1]，山本伸一郎[1]，
坂口怜子[1,4]，原　雄二[1]，森　誠之[1]，清水俊一[5]，井上隆司[6]，森　泰生[1,2,3]
（[1]京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻，[2]京都大学先端医工学研究ユニット，
[3]京都大学大学院 地球環境学堂 環境適応生体システム論，[4]京都大学物質−細胞統合システム拠点（iCeMS），
[5]昭和大学薬学部病態生理学教室，[6]福岡大学医学部生理学教室）

一酸化窒素(NO)および Ca^{2+}は血管の弛緩など様々な生理応答を制御するシグナル分子である。両者はお互いに制御関係にあり, Ca^{2+}が NO 合成酵素(NOS)の活性化に働く一方，NO は受容体やイオンチャネルに作用して Ca^{2+}動態を制御する。我々は過去に，NO が TRPC5 チャネル分子を化学修飾することで活性化させ，細胞内へ Ca^{2+}流入を引き起こすことを報告した。今回我々は，血管内皮細胞において TRPC5 と内皮型 NOS(eNOS)が空間・機能的に連動し，効率的なシグナルの増幅に働くことを見出した。ウシ大動脈内皮細胞に ATP 刺激を与えると，TRPC5 チャネルを介した Ca^{2+}流入と eNOS からの NO 産生が見られた。この NO 産生は TRPC5 チャネルの活性化に重要であり，TRPC5 と eNOS の機能的な連関が示された。この機能的連関には caveolin-1 を足場として TRPC5 と eNOS が複合体を形成することが必要であった。TRPC5，eNOS の空間的な制御により，効率的な NO・Ca^{2+}シグナルの増強を実現しているものと考えられる。

（6）ASK3 の浸透圧ストレス応答メカニズムと生理的役割

○渡邊謙吾，名黒　功，一條秀憲（東大・院薬・細胞情報）

当研究室で同定された Apoptosis signal-regulating kinase 3 (ASK3) は, 腎臓や胃といった浸透圧変化の激しい部位に強く発現している。興味深いことに，そのキナーゼ活性は低浸透圧ストレスによって亢進し，高浸透圧ストレスによって減弱するという両方向性の応答を示す。また，高血圧を呈する偽性低アルドステロン症Ⅱ型の原因遺伝子である WNK1 と結合し，ASK3 はキナーゼ活性依存的に WNK1-SPAK/OSR1 経路を負に制御することが明らかになった。実際，ASK3 ノックアウトマウスの腎臓では SPAK/OSR1 の活性が亢進しており, 高血圧の表現型を示したことから，ASK3 は個体の体液量調節において重要な役割を担っていると考えられる。

一方，ASK3 の浸透圧ストレス応答メカニズムを解明するため，ハイコンテントなゲノムワイド siRNA スクリーニングを行い制御分子の同定を試みた。その結果，高浸透圧ストレスによる ASK3 不活性化を担う直接の phosphatase として PP6 を同定したが，予想外なことに最も顕著な陽性分子であったのは NAD^+生合成経路の律速反応を担う NAMPT であった。実際，NAMPT により生成される NMN や NAD^+が ASK3 不活性化に関与しており，これらの物質は,浸透圧ストレス認識機構における新たなシグナル伝達物質として考えられる。

（7）尿細管の Ca-sensing 受容体（CaSR）: 局在と機能

○安岡有紀子[1]，佐藤雄一[2]，野々口博史[3]，河原克雅[1]
（[1]北里大・医学，[2]医療衛生，[3]メディカルセンター）

腎尿細管の CaSR は，（1）太い Henle の上行脚（TAL）の Ca 再吸収抑制（尿中 Ca 排泄増加），（2）集合管主細

胞（PC）の水輸送抑制（AQP2 阻害による尿希釈化），(3) type A 間在細胞（IC-A）の酸分泌亢進（管腔膜 H^+ポンプ/側底膜 AE1 の発現増加）を協調的に制御し，高 Ca 血症患者の高 Ca 尿において腎結石を防いでいる（Riccardi & Brown, 2010）。しかし，CaSR (TAL 側底膜型)は，マウス集合管 PC（管腔）・IC-A（管腔）には発現せず，IC-B の側底膜にのみ発現し，その発現量は 7d-酸（NH_4Cl）負荷により低下，7d-アルカリ（$NaHCO_3$）負荷により増加した (Yasuoka Y, et al. ASN2011; IUPS2013)。**方法**：C57BL/6J マウス（雄，10 wk）を標準食及び高 Ca 塩食で飼育し，（1）血漿・尿組成，（2）集合管細胞の当該遺伝子発現（Tyramide-ISH 法），(3) 蛋白発現（IHC 法）を解析した。**結果**：高 CaP : $CaCO_3$（3:2）負荷(7 d):酸塩基負荷の小さい食餌で飼育したので血漿・尿組成，集合管の当該遺伝子・蛋白発現に有意な変化はなかった。28 d:尿はやや酸性化し，H^+-ATPase, AE1 発現（IC-A），Pendrin, CaSR 発現（IC-B）が有意に増加した。さらに，IC-A, IC-B の細胞高は，有意に増大した。**結論**：集合管 IC-A, IC-B の肥大化と酸塩基輸送能の亢進は，長期高 Ca 塩負荷による尿 Ca 排泄増加時の腎結石予防と血漿 pH を正常域に維持するために有効と考えられた。

（8）グルコース感知受容体 T1R3 による代謝促進機構

○小島　至，中川祐子，濱野邦久，長澤雅裕（群馬大学生体調節研究所）

生理学的に最も重要なインスリン分泌刺激因子はグルコースである。定説によれば，グルコースは GLUT2 を経て β 細胞内に取り込まれ，代謝を受けてその作用を発揮するとされている。我々は，β 細胞に甘味受容体のサブユニット T1R3 が発現し，そのホモダイマーがグルコース感知受容体として機能することを明らかにしてきた。このグルコース感知受容体を刺激すると代謝が促進されて ATP が増加する。我々は，グルコースが細胞表面のグルコース感知受容体を刺激して代謝を賦活化すると同時に，細胞内で基質として作用し，その作用を発揮するという新たなモデルを提唱している。しかし，グルコース感知受容体刺激がどのように ATP を増加させるかは明らかではない。グルコース感知受容体をスクラロースで刺激すると ATP が増加するが，この作用は細胞外液のグルコースを 1-2 時間ゼロにしても観察され，スクラロースが単に解糖系を促進して ATP を増加させる訳ではないことを示している。またスクラロースはコハク酸投与による ATP 増加を大きく増幅することから，その作用点の少なくとも一部はミトコンドリアにあると考えられた。そこでスクラロースを投与した際の代謝産物の変化をメタボローム解析により検討した結果，スクラロースによりアラニンとグリセロールが減少することが明らかになった。グルコース感知受容体の刺激は何らかの機序によりアラニンプールとグリセロールから基質を動員し，ミトコンドリアで代謝して ATP を増加させると考えられた。

（9）RGS4-mediated regulation on the M2 muscarinic receptor-activated G-protein-gated K^+ currents

○陳　以珊，古谷和春，稲野辺厚，倉智嘉久（大阪大学大学院医学系研究科 分子・細胞薬理学）

The regulator of G-protein signalling (RGS) proteins are a family of well-known GTPase-activating proteins that negatively regulate G-protein cycle. We have found that cardiac predominant subtype, RGS4, plays an important role in modulating the M2 muscarinic receptor (M2R)-activated G-protein-gated inwardly rectifying K^+ (K_G) currents. However, the mechanism of RGS4-mediated regulation still remains unclear. Here we showed that RGS4 is a determinant for partial agonism of M2R. In rat atrial myocytes, M2R partial agonist pilocarpine evoked smaller K_G currents than those evoked by the full agonist ACh. In a *Xenopus* oocyte expression system, pilocarpine acted as a partial agonist in the

presence of RGS4 as it did in atrial myocytes, while it acted like a full agonist in the absence of RGS4. RGS4 suppressed the pilocarpine-evoked K_G currents in a pilocarpine concentration-dependent manner. Such RGS4-mediated regulation was enhanced at hyperpolarized potentials. We also found that the relative efficacy of pilocarpine to ACh changed upon membrane voltages. Functional couplings within the agonist–receptor complex/G-protein/RGS4 system controlled the relative efficacy of agonists. These data showed the effect and voltage-dependence of RGS4-mediated regulation on K_G currents. Our finding helped us to understand the molecular components and mechanism underlying the RGS4-mediated regulation on the M2R-activated physiological responses.

（10）シナプスから核への Ca^{2+} シグナリングの新たな展開

野中美応，金亮，柳下−姜楠，川島尚之，藤井　哉，奥野浩行，竹本−木村さやか，〇尾藤晴彦
（東京大学・大学院医学系研究科・神経生化学分野）

我々の脳を構成する神経回路は，神経細胞同士の物理的な接合と機能的なシステム形成のための厳格な「設計図」に加え，個体ごとの内部・外部の環境変化に刻一刻と対応し，その経験を蓄積できる「適応性・学習能力」を有する。すなわち，神経回路自体に「剛」と「柔」の性質を併せ持つ。この相反する性質の両立により，高等生物の脳は高いポテンシャルを獲得してきたと考えられるが，その分子基盤については，いまだ大きな謎のままである。

これまで我々の研究グループは，選択的シナプス入力が神経細胞の核内で CREB 依存的転写誘導を引き起こす際の入力出力応答性の研究を進め，神経細胞におけるシナプスから核へのシグナリングの重要性とメカニズムを探求してきた。その過程で，従来より報告してきた，カルシウム・カルモジュリンキナーゼ経路を中心とした CREB リン酸化経路に加え，カルシニューリン依存的 CRTC1 脱リン酸化制御の新たな意義を発見した。

CRTC1 は CREB へ結合するコアクチベーターであり，直接 CRE へ結合しないものの，神経活動依存的な CREB 依存的転写を促進し，神経特異的最初期遺伝子 *Arc* などのプロモータを強く活性化する作用を有する。CREB と CRTC1 とでは活性化経路が異なるため，両者を巧みに組み合わせることにより，脳部位特異的な転写活動制御が成立していると考えられる。

（11）神経終末端 Ca チャネルとシナプス小胞のカップリング

〇高橋智幸（同志社大学脳科学研究科・沖縄大学院大学）

神経終末端内において，電位依存性 Ca^{2+} チャネルと開口可能小胞間の距離がシナプス伝達の強度と精度を決定すると考えられているが，両者の空間配置は良く分かっていない。ラット脳幹の calyx of Held 前末端における $Ca_v2.1$ の分布を freeze-fracture replica immunogold labeling により測定し，活動電位で誘発した局所 Ca^{2+} transient を共焦点顕微鏡下に記録し，パッチ電極灌流によって EGTA を calyx 細胞内に注入して神経伝達抑制効果を検討した。生後 1-3 週齢を通じて $Ca_v2.1$ はクラスターを形成し，EPSC は 10 mM の EGTA によって抑制されたが，抑制効果は生後発達と共に減弱した。この結果から，開口可能小胞が Ca^{2+} チャネルクラスターの縁に局在するという perimeter-coupled 放出モデルを提唱してシミュレーションを行った結果，小胞は周辺から数 10 nm 離れて局在し，EGTA の EPSC 抑制効果と伝達物質放出時間の生後発達変化は，この距離が 10 nm 程度短縮することによって説明された。このモデルではクラスター内 Ca^{2+} チャネル数は放出確率を決定するが，放出精度を決定するクラスター小胞間距離にはほとんど関わらないことが明らかになった。

（12）破骨細胞膜の proton-flux および酸感受性応答機構

○久野みゆき，李　光帥，森浦芳枝，日野佳子，川脇順子，酒井　啓
（大阪市立大学大学院医学研究科分子細胞生理学）

破骨細胞膜には液胞型 H^+-ATPase（V-ATPase）が高密度で発現し，ATP 水解エネルギーを利用しプロトン（H^+）を排出する。細胞外に作り出される酸性環境は骨組織の融解に必須である。metabolic acidosis に伴い破骨細胞の骨吸収能や podosome 形成が亢進することが報告されているが，与えられた細胞外 acidosis は mild で（pH ~6），破骨細胞特有のメカニズムの関与は想定されていない。しかし，骨吸収窩で破骨細胞が曝される細胞外 pH 低下は遙かに大きく（pH ~4），細胞膜には多様な酸感受性チャネルやトランスポータが存在している。私達は強い酸性環境に応じて破骨細胞膜の proton flux がどのように変動するかを調べた。pH < 5.5 で内向きの H^+電流が活性化され，同時に脱分極（~40 mV），細胞内 pH の低下が生じた。その電気特性（高い H^+選択性・内向き整流性など），既知の酸感受性チャネル（ASIC, TRP, ClC7）のブロッカーに対する非感受性などから，破骨細胞の細胞膜に，強い酸性環境で活性化され H^+を選択的に細胞内へ通過させる新規の起電性 H^+ influx pathway が存在することが示唆された。

（13）P2Y6 受容体の分子多様性とその病態生理学的意義

○西村明幸，Caroline Sunggip，冨田拓郎，西田基宏
（自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター・心循環シグナル研究部門）

感染，炎症などにより生体内で生成する活性酸素や NO は，近年シグナルとしての機能が認識されるようになってきた。我々は最近，活性酸素と NO の二次シグナル分子として 8-nitoroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate（8-ニトロ-cGMP）を同定した。8-ニトロ-cGMP は，その親電子性により，タンパク質中の Cys 残基と反応して cGMP を付加する翻訳後修飾（タンパク質 S-グアニル化）をおこない，酸化ストレス応答，オートファジーの誘導をはじめ多彩なシグナル伝達に関わることが明らかになった。

さらに最近，8-ニトロ-cGMP のシグナル機能の制御因子を解析する中で，Cys のチオール基にイオウ原子が付加したシステインパースルフィド（CysSSH）などの活性イオウ分子種（R-S-(S)n-H)が生体内に存在することを見いだした。活性イオウ分子種は過剰なイオウ分子の付加により高い抗酸化活性を発揮するが，興味深いことに，活性イオウ分子は CysSSH などの低分子だけでなく，タンパク質 Cys 側鎖中にも多数存在していることが分かってきた（タンパク質ポリサルファー化）。

タンパク質ポリサルファー化は，8-ニトロ-cGMP シグナルとともに，酸化ストレスにおける主要なレドックスシグナル伝達機構として細胞機能制御に関わることが示唆された。

２．グリア細胞機能から迫る脳機能解明

2014 年 10 月 23 日－10 月 24 日

代表・世話人：田中謙二（慶應義塾大学医学部　精神神経科学教室）
所内対応者：池中一裕（生理学研究所 分子神経生理）
清水健史（生理学研究所 分子神経生理）

（１）光活性化アデニル酸シクラーゼ（PAC）の利用による脳内回路形成機構の解明
周　至文（東京大学，薬学系研究科，薬品作用学教室）
（２）脳虚血傷害後，活性化アストロサイトは貪食能を獲得する
森澤陽介（山梨大学，医学部，薬理学講座）
（３）覚醒マウス fMRI のための馴化法
石原良祐（慶応大学，医学部，精神・神経科学教室）
（４）遺伝子発現ダイナミクスの 1 細胞イメージングと光操作
磯村彰宏（京都大学，ウイルス研究所，増殖制御学分野）
（５）グリア細胞の活動操作による脳機能制御機構・病態進行機序の解明
別府　薫（東北大学医学系 脳神経科学コアセンター 新医学領域創生分野）
（６）メカニカルストレスによるミエリン形成制御機構の解析
清水健史（生理学研究所，分子神経生理研究部門）
（７）endotoxin 投与により「脳の窓」脳弓下器官の透過性が制限される
森田晶子（奈良県立医科大学，医学部，第２解剖学講座）
（８）神経サブタイプまたは神経活動に依存した髄鞘形成の解析
長内康幸（生理学研究所 分子神経生理）
（９）グルタミン酸トランスポーターと精神神経疾患
相田知海（東京医科歯科大学　難治疾患研究所 分子神経科学分野）
（10）薬理遺伝学的手法を用いた視床下部オレキシン神経の機能解析
犬束　歩（名古屋大学，環境医学研究所，神経系分野２）
（11）二光子顕微鏡法によるモデルベース的意思決定の神経基盤の解明
船水章大（沖縄科学技術大学院大学，神経計算ユニット）
（12）運動学習に対する髄鞘の寄与
加藤大輔（生理学研究所，生体恒常機能発達機構研究部門）
（13）神経活動依存的な視床軸索の枝分かれ形成機構　―シナプス形成の関与
松本直之（大阪大学大学院，生命機能研究科，細胞分子神経生物学研究室）
（14）インターロイキン-1 受容体ファミリー分子群による中枢シナプス形成の調節
吉田知之（富山大学，医学薬学研究部，分子神経科学講座）
（15）神経活動により惹起されるアストロサイトの形態変化
和中明生（奈良県立医科大学，医学部，第２解剖学講座）

【参加者名】

田中謙二（慶應義塾大学医学部 精神神経科学教室），池中一裕（生理学研究所 分子神経生理），清水健史（生理学研究所 分子神経生理），周　至文（東京大学，薬学系研究科，薬品作用学教室），森澤陽介（山梨大学，医学部，薬理学講座），石原良祐（慶應大学，医学部，精神・神経科学教室），磯村彰宏（京都大学，ウイルス研究所，増殖

制御学分野），別府　薫（東北大学医学系 脳神経科学コアセンター 新医学領域創生分野），森田晶子（奈良県立医科大学，医学部，第 2 解剖学講座），長内康幸（生理学研究所 分子神経生理），相田知海（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野），犬束　歩（名古屋大学，環境医学研究所，神経系分野 2），船水章大（沖縄科学技術大学大学院大学，神経計算ユニット），加藤大輔（生理学研究所，生体恒常機能発達機構研究部門），大阪大学大学院，生命機能研究科，細胞分子神経生物学研究室），吉田知之（富山大学，医学薬学研究部，分子神経科学講座），和中明生（奈良県立医科大学，医学部，第 2 解剖学講座）

【概要】

従来，グリア細胞は神経細胞を取り巻く単なる‘にかわ’のような細胞であると認識されてきたが，近年，ニューロンと相互作用することにより脳高次機能を調節する作用が知られてきている。そのため，グリア細胞自体の性質，およびニューロン―グリア間の相互作用を理解することは，脳の高次機能を理解する上で極めて重要であると考えられる。またグリア細胞の異常による神経疾患や，その関与が想定されている疾病が多数存在することから，更なるグリア病の理解と効果的な治療法の開発が望まれている。当該研究会では，日本全国の新進気鋭の若手グリア研究者が一堂に会して，先端の実験技術をグリア研究へ応用する可能性や，新規の研究結果について，活発な意見交換を行うことを目的として開催された。研究会の当日は，グリア研究に対する理解を深めるとともに，今後の研究を効率よく進展させるための盛んな議論が行われ，同時にグリア研究者間の親睦を深めることができた。

（1）光活性化アデニル酸シクラーゼ(PAC)の利用による脳内回路形成機構の解明

周　至文（東京大学，薬学系研究科，薬学作用学教室）

機能的な神経回路が形成されるためには，軸索の分枝と伸長が厳密に制御される必要がある。これまでに，cAMP は軸索の形態形成に重要な役割を果たすことが示されているが，cAMP が軸索の分枝と伸長を独立に制御する可能性や，そのメカニズムは不明なままである。この問題を明らかにするために，光活性化アデニリルシクラーゼ（PAC）を利用して，細胞内 cAMP レベルを操作することを試みた。PAC は，青色光の強度と照射時間依存的に，一過的または連続的に cAMP を生成する。PAC を遺伝子導入した歯状回顆粒細胞の初代培養系において，青色光を 30 分間照射したところ，軸索分枝と伸長の両方が誘導された。青色光 30 分間照射の実験系において，RNA 干渉法によって，cAMP の標的タンパク質であるプロテインキナーゼ A（PKA）をノックダウンしたところ，軸索伸長のみが誘導され，軸索分枝は抑制された。一方，もう一つの主要な cAMP 標的であるグアニンヌクレオチド交換因子の Epac をノックダウンした際には，軸索分枝のみが誘導され，軸索伸長は抑制された。光照射を 1 分間に短縮した場合，軸索分枝のみが誘導された。光照射中に PKA の阻害薬を処置した場合，軸索分枝の誘導が阻害された。以上の結果は，細胞内 cAMP の短期的上昇が PKA を介して軸索分枝を誘起し，cAMP の長期的上昇が Epac を介して軸索伸長を誘起することが示唆される。さらに，細胞内 cAMP 量の時間的制御が，異なる cAMP カスケードによる軸索形態形成の制御に重要であることを示した。

（2）脳虚血障害後，活性化アストロサイトは貧食能を獲得する

森澤陽介（山梨大学，医学部，薬理学講座）

脳内における死細胞や不要物質の貪食・除去は，組織恒常性の維持だけでなく，神経回路形成，脳機能発現に

極めて重要なイベントである。近年，発達期の脳において，これまで非貪食性と考えられてきたグリア細胞の一種，アストロサイトが貪食関連分子を豊富に発現している事が明らかとなり，その機能に注目が集まっている。しかしながら，これまで脳における貪食研究のほとんどが免疫担当細胞ミクログリアに着目したものであり，アストロサイトによる貪食については未だ不明な点が多い。本研究では，脳虚血傷害後，一部の活性化アストロサイトが貪食性を獲得すること，またその分子メカニズムとして ABCA1-MEGF10-GULP1 貪食経路が重要な役割を果たすことを見出した。さらに，ミクログリアは傷害急性期に傷害の中心領域において貪食性を示すのに対し，アストロサイトは傷害後期に傷害周辺領域において貪食性を示すことを明らかとした。これらの結果から，脳虚血後の脳内においてアストロサイトはミクログリアとは異なる様式でリモデリングに参画している可能性が示唆された。

（3）覚醒マウス fMRI のための馴化法

石原良祐（慶應大学，医学部，精神・神経科学教室）

近年，脳のコネクトーム解析が盛んに行われている中，機能的なコネクトーム作成のために覚醒下マウスの functional MRI 計測は欠かせない存在となってきている。しかし覚醒下での MRI 撮像による長時間拘束や MRI の騒音はマウスの体動・ストレスへとつながり，画像にアーチファクトを及ぼしてしまう。そのため，覚醒下マウスの MRI 撮像には計測系に馴らす「馴化」という作業が必須事項となる。

本研究では EEG，EMG を計測することで，マウスの体動，睡眠-覚醒状態を管理し，体重変化，コルチコステロン，ふんの数の経時変化を観察することでマウスのストレス状態を定量化し，覚醒下マウスでの fMRI 計測のための馴化法について，最適な馴化期間を示すことを目的としている。

我々は手術により頭部に固定用の棒を取り付けたマウスと MRI の cryoprobe(bruker.inc)を忠実に再現した模型により馴化を行った。手術後約 1 週間を体重回復期とし，十分な回復が得られた状態で馴化を行った。馴化中は EEG, EMG を計測し，同時に体重の経時変化，馴化後のふんの数，コルチコステロン量を計測した。

馴化していないマウスと馴化が十分に行われたマウスの体動を比較した際，馴化を行ったマウスの体動が少ないことが確認できた。ストレス状態に関しては今後行っていく予定である。

安定した覚醒下 functional MRI 撮像を可能とし，ヒトの fMRI 撮像とマウスの fMRI 撮像のギャップを埋めることで，よりヒトへとつながるような橋渡し研究へとつながると考える。

（4）遺伝子発現ダイナミクスの 1 細胞イメージングと光操作

磯村彰宏（京都大学，ウイルス研究所，増殖制御学分野）

ポストゲノムの時代になり，遺伝子の同定を中心とした研究から，遺伝子間の相互作用ネットワークにおけるダイナミクスの理解が重要な研究課題となりつつある。近年，哺乳動物細胞の様々なシグナル伝達経路において遺伝子発現の 2〜3 時間の短周期リズムやパルスの存在が発見されており，DNA 修復(*p53*)，免疫応答(*NF-kB*)，発生・分化(*Hes1/7*)といった多細胞生物の個体維持に関わる生命現象において重要であることがわかってきた。

一方で，動物や植物などの個体の概日リズムの場合，自然光への引き込み同調によって応答特性がよく調べられている。しかし，短周期リズムの 1 細胞レベルの実験では，遺伝子特異的に摂動を与えつつ応答を計測するような，計測と制御を同時に行う技術が無かった。そのため，短周期リズムは周期などの基本情報はよく調べら

れているが，動的な外部刺激に対して 1 細胞レベルでどの程度ロバストなのかといった応答特性は未解明である。

最近，我々は青色光受容タンパク質 VIVID を使った青色光誘導性転写活性化システム(LightOn システム)によって遺伝子発現の短時間(2〜3 時間)周期の振動を人工的に誘導できることを発見した。この光操作技術を 1 細胞イメージングと組み合わせることで，外部刺激に対する 1 細胞レベルの転写活性の動的応答を定量計測することが可能になりつつある。本発表では，遺伝子発現ダイナミクスの可視化と光操作の技術的な概要を紹介するとともに，転写因子 *Hes1* の短周期リズムを光操作しつつ 1 細胞レベルの動的応答を計測する試みについて発表する予定である。

（5）グリア細胞の活動操作による脳機能制御機構・病態進行機序の解明

別府　薫（東北大学医学系，脳神経科学コアセンター 新医学領域創生分野）

脳内アストロサイトが神経活動に応じて活動することは知られているが，アストロサイトの活動が神経細胞に影響を及ぼしうるのかは明らかではない。我々は，アストロサイトの活動を ChR2 刺激によって引き起こすと，アストロサイトからグルタミン酸が放出されて神経活動が上昇することを発見した。そこで本研究では，ChR2 刺激によるグルタミン酸放出機構を調べ，脳病態時にその機構が働いているのかを調べた。

神経細胞からのグルタミン酸放出は，細胞内カルシウム上昇に依存することが知られている。しかし，アストロサイトの ChR2 刺激によるグルタミン酸放出は，カルシウムに依存しない経路で生じており，ChR2 刺激による細胞内の酸性化が引き金となっていることが明らかとなった。

脳虚血時には，乳酸の蓄積により細胞内が極端に酸性化する。また，虚血時には過剰なグルタミン酸環境に晒され，神経細胞は興奮毒性を起こすことが知られている。我々は，酸性化によるアストロサイトからのグルタミン酸放出が，虚血時に過剰に起きていることを予想した。そこで，archaerhodopsin をアストロサイト特異的に発現させた動物を用いて，虚血時のアストロサイトの酸性化を拮抗したところ，神経細胞の過剰なグルタミン酸電流が抑制され，虚血による脳傷害を抑えることができた。

以上の結果から，アストロサイトの酸性化によるグルタミン酸放出が，虚血時脳傷害の主な原因であることが示された。

（6）メカニカルストレスによるミエリン形成制御機構の解析

清水健史（生理学研究所 分子神経生理）

近年，液性因子のみならず，機械的刺激に応答して活性化される化学的シグナルによって各種細胞の性質が制御されることが報告されている。ミエリン形成に関与する外的環境として機械的な刺激(メカニカルストレス)が想定されるが未だ研究されていない。そこで機械的刺激を感受し細胞内の化学シグナルへ変換するメカノセンサーに幾つか着目した。それらメカノセンサーをノックダウンすることによって培養オリゴデンドロサイトの形態，およびオリゴデンドロサイト-DRG ニューロン共培養時のミエリン形成効率が変化することが明らかになった。また実際に，オリゴデンドロサイト前駆細胞をストレッチチャンバーにまいて細胞に伸展刺激を加えると，それらメカノセンサーに関連した様々な変化が認められたことから，機械刺激に応答したメカノセンサーが，オリゴデンドロサイトの形態形成およびミエリン形成に関与している可能性が示唆された。これらの結果をふまえて，従来の液性因子シグナルとは性質を異にした機械応答による新規のミエリン形成制御機構をマウス生体内で明らかにすることを目的とし，それらメカノセンサーのノックアウトマウス，過剰発現マウスの作

製を行っているので合わせて報告する。

（7）endotoxin 投与により「脳の窓」脳弓下器官の透過性が制限される

森田晶子（奈良県立医科大学，医学部，第２解剖学講座）

感知系脳室周囲器官という部位は一般的な血液脳関門を持たず，血管が有窓性で高い物質透過性を示して血液中の情報のセンサーとなる。炎症反応を引き起こすリポ多糖（LPS）を投与すると，その情報は感知系脳室周囲器官を介して脳へ入るといわれている。最近我々は成体マウスの感知系脳室周囲器官において持続的な血管新生が起きていることを見出した。この結果は脳室周囲器官の血管が，有窓性であるだけではなく高い可塑性を持つことを示唆する。そこで本研究では，感知系脳室周囲器官のひとつ脳弓下器官の血管が LPS 投与により可塑性を示すか調べた。脳弓下器官では，正常状態で細胞増殖マーカーBrdU 陽性の血管内皮細胞が多数認められ血管は高い透過性を示す。しかし，成体マウスに LPS を腹腔内投与すると，BrdU 陽性の内皮細胞数が有意に減少し，血管の物質透過性は LPS 投与後著しく低下した。原形質小胞１タンパク質（PV-1）は有窓性血管の隔膜に特異的に発現し，血管の物質透過性の指標にもされている。脳弓下器官では PV-1 の発現が高いが，LPS 投与後有意に低下した。以上のことから，LPS を投与すると脳弓下器官では血管のリモデリングが生じ，物質透過性が低下することが明らかになった。この結果は脳弓下器官の血管リモデリングが過度の炎症反応に対する防御機構において役割を持つことを示唆した。

（8）神経サブタイプまたは神経活動に依存した髄鞘形成の解析

長内康幸（生理学研究所 分子神経生理）

一つのオリゴデンドロサイト(OL)は複数の軸索に対し髄鞘を形成することから OL がニューロン間の情報伝達を仲介，調節している可能性が考えられる。近年，OL が脱分極することによりその OL が髄鞘を形成するニューロンの伝導速度が上昇することが明らかになった(Yamazaki et al., Glia,2014)。この結果から，OL は特定のニューロンに対し髄鞘形成し，複数のニューロンの機能を制御している可能性が考えられる。この事象を理解するための第一歩として，我々は OL とニューロンの双方を可視化し，個々の OL がどの様なニューロンに対して髄鞘形成を行っているか解析を行った。我々は弱毒化狂犬病ウイルスとアデノ随伴ウイルス(AAV)を用いることでオリゴデンドロサイトと軸索が効率よく可視化出来ることを明らかにした。解析の結果，脳梁中に局在する OL のいくつかは特定の領野から投射している神経軸索に対して優先的に髄鞘形成を行っていることを明らかにした。また，視交叉中のオリゴデンドロサイトの半数は左目由来の軸索と右目由来の軸索の双方が存在する場合でも，片方の眼球由来の軸索に対して優先的に髄鞘形成することを明らかにした。本研究は従来困難であった一細胞レベルでの髄鞘形成の解析を可能にし，オリゴデンドロサイトがどの様な場所から投射している軸索にたいして髄鞘形成しているかを詳細に解析した重要な研究である。

（9）グルタミン酸トランスポーターと精神神経疾患

相田知海（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野）

グルタミン酸は主要な興奮性の神経伝達物質であり，その異常は多くの精神神経疾患に共通した病態である。我々はその動態を制御するグルタミン酸トランスポーターを対象に，様々な遺伝子改変技術を駆使して，これらの個体レベルでの機能解明と疾患モデル化を行っている。本研究会ではアストロサイトの機能失調を中心に，様々な精神・神経変性疾患モデルマウス解析，ヒトゲノム高速シークエンス，そして *in vivo* ゲノム編集によるヒト化マウス作出，機能カセットの挿入による細胞種特異的な発生系譜解析までを統合した最近の研究を紹介したい。

（10）薬理遺伝学手法を用いた視床下部オレキシン神経の機能解析

犬束　歩（名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 2）

神経ペプチドの一つであるオレキシンには多様な生理機能が知られている。オレキシンを産生するオレキシン神経は視床下部から青斑核や弓状核などを含む脳の多くの領域にその軸索を投射しており，オレキシン神経を選択的に脱落させたマウスでは睡眠・覚醒の分断化，摂食量の低下や体重増加などの変化が観察される。オレキシン神経はオレキシン以外の神経伝達物質も含んでおり，従来のオレキシンペプチドの局所投与といった手法では，オレキシン神経が果たしている生理機能を十分明らかにしているとは言えない。

我々はオレキシン神経特異的に Cre リコンビナーゼを発現する *orexin-Cre* マウスを作成し，アデノ随伴ウイルスベクターを利用することで，オレキシン神経特異的な遺伝子発現を達成した。薬理遺伝学的手法を用いてオレキシン神経を特異的に活性化すると，行動量の増加，摂食量の増加，飲水量の増加，呼吸交換率の上昇が観察された。また，絶食条件下でもオレキシン神経の活性化は血糖値の上昇を引き起こした。一方，ジフテリア毒素 A 断片を発現させることで，オレキシン神経の細胞死を誘導した場合には，摂食量，飲水量の低下や血糖値の低下，体重の増加が観察された。こうした摂食行動や代謝に対する影響はオレキシン神経の８５％以上が失われて初めて出現した。こうした結果はオレキシン神経による摂食・代謝のロバストかつ統合的な調節機構を示している。

（11）二光子顕微鏡法によるモデルベース的意思決定の神経基盤の解明

船水章大（沖縄科学技術大学院大学，神経計算ユニット）

モデルベース意思決定では，自らの行動による状態変化をモデル化し，現在の状態予測に用いることが重要である。モデルベース意思決定の神経基盤を解明するために，マウスで，仮想音環境移動課題を実施し，後部頭頂葉(posterior parietal cortex: PPC) の神経活動を，蛍光カルシウムセンサーGCaMP6f を用いた二光子顕微鏡法で計測した。

上述の課題では，マウスを，球状トレッドミル上に固定・配置した。トレッドミル周囲の 12 個のスピーカで，仮想音環境を作った。マウスは，仮想音源に到達し，水の出るポートを舐めると(リック行動)，水を提示された。同課題は，音源からの音刺激を常にマウスに提示する連続音条件と，音刺激を断続的に提示する断続音条件の，2 つの条件を持つ。

両条件で，マウスは音源に近づくと，リック行動を増加した。この報酬予期のリック行動は，断続音条件では，

音刺激の有無に関わらず増加した。この結果は，マウスは音源位置推定を，自らの行動で更新したことを示唆する。

同課題中に，PPC の皮質 2，3，5 層から，500 細胞以上の神経活動を多数同時計測した。この神経細胞群の活動から，音源までの距離を，ベイジアン識別器で推定した結果，PPC は，音刺激の有無に関わらず，音源距離を表現した。これは，PPC が，行動依存的な状態予測に寄与することを示唆する。

（12）運動学習に対する髄鞘の寄与

加藤大輔（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門）

髄鞘化された軸索は脳内で白質を構成し多領域間を結ぶことから，情報処理に重要な働きをする。また近年の fMRI を用いた研究により，学習による白質の構造変化が示され白質に可塑性が存在する可能性が示された。Proteolipid protein 1 (PLP1)は髄鞘を構成するタンパク質の 1 つであり，PLP-tg は神経伝導速度の低下及び不安様行動を示すことが報告されている。そこで我々は，髄鞘の恒常性破綻による神経伝導速度の低下が惹起する行動異常の背景にある神経回路基盤を検証するため，GCaMP3 を大脳皮質運動野第 2/3 層の神経細胞へ導入し，前肢レバー引きによる学習課題施行中の神経細胞の発火パターンを 2 光子顕微鏡を用いて評価した。さらに運動学習による白質の可塑性を確認するために，髄鞘関連タンパク質変化を real-time PCR 法を用いて評価した。

PLP-tg は正常群に比べ学習効率が低く，レバー引きに関連しない神経細胞の発火(自発発火)頻度が増加していた。また，PLP-tg では正常群で認めた学習に伴う髄鞘関連タンパク質の発現変化を認めなかった。

これらの結果から我々は，髄鞘の恒常性破綻は学習に伴う髄鞘制御機能を低下させ，個々の軸索における神経伝導速度のランダムな低下をもたらし，その結果，シナプス入力の同期性が障害され不適切な出力が増加することで自発発火頻度が上昇し，学習障害を引き起したと考えた。

（13）神経活動依存的な視床軸索の枝分かれ形成機構−シナプス形成の関与

松本直之（大阪大学大学院，生命機能研究科，細胞分子神経生物学研究室）

視床核から大脳皮質へと伸びる視床皮質軸索は，その最終標的である大脳皮質第 4 層において軸索分枝形成とシナプス形成を行う。これらの過程は神経活動によって制御されていることが古くから知られているが，分枝形成とシナプス形成の直接的な関係性については明らかになっていない。そこで本研究では，視床皮質共培養法を用いて視床皮質投射を培養下に再現し，軸索とシナプス部位を同時に可視化することによって，軸索分枝形成とシナプス形成の関係性を調べた。枝分かれ形成過程を時間経過を追って観察した結果，新たに形成された分枝の多くはシナプス部位を起点として形成されることが明らかになった。この現象が神経活動に依存して制御されているかについて調べるため，外因性イオンチャネルを視床細胞に強制発現させ神経活動を人工的に制御した。内向き整流カリウムチャネル Kir2.1 を視床細胞に発現させることで神経活動を抑制した結果，シナプスの減少に伴う軸索分枝の減少が観察された。一方で，電位依存性ナトリウムチャネル NaChBac により神経活動を促進させた場合，シナプス以外での分枝形成が顕著に増加し，結果として全体の分枝数が増大することが明らかになった。以上の結果から視床皮質投射における軸索分枝形成は，神経活動に応じてシナプス依存的な機構から非依存的な機構へとシフトすることで，その軸索形態の可塑的変化を制御していることが示唆された。

（14）インターロイキン−１受容体ファミリー分子群による中枢シナプス形成の調節

吉田知之（富山大学，医学薬学研究部，分子神経科学講座）

インターロイキン-１(IL-1)は免疫応答や炎症反応において重要な役割を担う液性分子で，細胞外領域の３つのIgドメインと細胞内領域のTIRドメインからなる構造の保存されたIL-1受容体複合体を介して機能を発揮する。私達はシナプス誘導分子のスクリーニングからIL-1受容体ファミリー分子であるIL1RAPL1を同定した。IL1RAPL1を発現させた繊維芽細胞を大脳皮質神経細胞と共培養すると，周囲にシナプス前終末が誘導されることから新規のシナプスオーガナイザーであることが示された。更にシナプス前終末のIL1RAPL1リガンドとして受容体チロシン脱リン酸化酵素PTPδを同定した。IL1RAPL1によるシナプス前終末誘導能はPTPδ欠損神経細胞に対しては消失したが，PTPδによるシナプス後部誘導はIL1RAPL1欠損神経細胞に対しても部分的におこることから，PTPδによるシナプス後部誘導にはIL1RAPL1以外の分子も関与することが示唆された。総てのIL-1受容体ファミリー分子のシナプス誘導能を調べたところ，IL-1受容体複合体の共通サブユニットIL-1RAcPに強いシナプス誘導活性があることを発見した。IL-1RAcPによるシナプス誘導にもPTPδが不可欠であった。このことからIL-1受容体ファミリー分子の一部は神経細胞間の接着分子としてシナプス形成の調節を担うことが明らかとなった。

（15）神経活動により惹起されるアストロサイトの形態変化

和中明生（奈良県立医科大学，医学部，第２解剖学講座）

脳の発生過程で重要な役割を担っているグリア前駆細胞／オリゴデンドロサイト前駆細胞に発現するOlig2遺伝子は，成熟脳においても一定の細胞に発現する。このようなOlig2-lineage細胞が成熟脳内で如何なる機能を持っているかについて，Olig2プロモーター制御下にタモキシフェン感受性Creリコンビナーゼを発現するマウスとROSA部位にFlox-stop signal-GAP43-EGFPを組み込んだリポーターマウスを掛け合わせたダブルトランスジェニックマウスを用いてOlig2-lineage細胞の動態を検討した。大脳皮質の機械的損傷に対しては増殖し損傷周囲の反応性アストロサイトに分化すること，また脱髄モデルの脳梁において同細胞は主にオリゴデンドロサイトに分化することを見出した。一連の系譜追跡実験の過程で我々はOlig2-lineage細胞が大脳基底核の淡蒼球に集積することに気づき，同神経核が運動機能の制御に深く関わっていることから，ダブルトランスジェニックマウスに運動負荷を与えて同細胞の挙動を観察した。Olig2-lineage細胞は淡蒼球では主に成熟アストロサイトであり，総運動量に合わせて形態を複雑化させたり，また単純化したりという形態可塑性を示すことを見出した。現在このOlig2-lineageアストロサイトの運動機能への関与をパーキンソン病モデルマウスや光遺伝学的手法を用いてさらに解析を進めている。

３．シナプス機能の普遍性と多様性

2014 年 6 月 5 日－6 月 6 日

代表・世話人：服部光治（名古屋市立大学 大学院薬学研究科）

所内対応者：深田正紀（生理学研究所 生体膜研究部門）

（１）高速・高効率 in vivo ゲノム編集によるマウス遺伝子改変

相田知海（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野）

（２）常染色体劣性遺伝性小頭症の発症機構の解明に向けて

田中大介（ブリュッセル自由大学　学際研究所（現 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科））

（３）光学顕微鏡技術と電子顕微鏡技術の融合による神経組織の三次元再構築解析

岩﨑広英（東京大学大学院医学系研究科 神経細胞生物学分野）

（４）生後発達期小脳プルキンエ細胞における登上線維の選択的シナプス強化は発火タイミング依存的に起きる

河村吉信（広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 神経生理学）

（５）新規蛍光プローブを用いたシナプス膜におけるグルタミン酸受容体動態の定量的イメージング解析

石井雄一郎 [1,2]，藤井　哉 [1]，奥野浩行 [1,3]，尾藤晴彦 [1,2]（[1] 東京大学大学院医学系研究科 神経生化学分野 [2]CREST-JST　[3] 京都大学メディカルイノベーションセンター）

（６）樹状突起上のシナプス強度分布の制御

合田裕紀子（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（７）細胞内タンパク質輸送と統合失調症

中澤敬信（大阪大学大学院薬学研究科 附属創薬センター）

（８）糖鎖発現制御による神経再生と発生 －神経構成における糖鎖と，糖鎖を標的とした脊髄損傷治療への展望－

武内恒成（愛知医科大学 医学部 生物学）

（９）成体脳における新生ニューロンの移動・成熟機構と嗅覚入力の役割

澤田雅人（名古屋市立大学 大学院医学研究科 再生医学分野）

（10）空間学習・記憶異常を呈するセプチン欠損マウスの解析

上田（石原）奈津実，木下　専（名古屋大学大学院 理学研究科）

【参加者名】

深田正紀（生理学研究所），深田優子（生理学研究所），横井紀彦（生理学研究所），髙橋直樹（生理学研究所），村上達郎（生理学研究所），関谷敦志（生理学研究所），相田知海（東京医科歯科大学），合田裕紀子（理化学研究所），尾藤晴彦（東京大学），木下　専（名古屋大学），河村吉信（広島大学），大塚稔久（山梨大学），上田（石原）奈津実（名古屋大学），植村　健（信州大学），中澤敬信（大阪大学大学院），武内恒成（愛知医科大学），平野　満（京都大学大学院），森　泰生（京都大学），中尾章人（京都大学），山口一真（京都大学大学院），石井雄一郎（東京大学），橋本浩一（広島大学），岩﨑広英（東京大学大学院），山田哲也（名古屋大学），田中大介（東京医科歯科大学大学院），榎本和生（東京大学大学院），服部光治（名古屋市立大学），酒井浩旭（東京大学），西田舞香（東京大学），澤田雅人（名古屋市立大学），久保義弘（生理学研究所），宮下俊雄（生理学研究所），若林正浩（生理学研究所），郷　康広（新分野創成センター），稲村直子（生理学研究所），大澤園子（基礎生物学研究所），中條浩一（生理学研究所），柴田明裕（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），森島美絵子（生理学研究所），窪田芳之（生理学研究所），西本れい（生理学研究所）

【概要】

脳の機能と病態を理解するために，シナプスの個性・恒常性維持・可塑性・消失等に関わる分子メカニズムの解明は不可欠である。しかし，一口に「シナプス」 といっても，その構造や機能は多種多様であり，脳神経システム全体における役割や重要性は異なっている。一方，一部の分子や機構については，動物種やシス テムを越えて広く保存されている。神経ネットワークにおけるこのような「多様性」と「普遍性」を解明していくためには，様々な動物種・システム・実験手技 を用いる研究者が一堂に会し，フランクに話し合うことが役に立つ。本研究会では，シナプスの構造および機能，さらにはその周辺領域に関わりを持つ研究者を 集め，最新の研究成果を発表して頂くとともに，議論に充分な時間を割くことで，今後のシナプス可塑性及び関連分野の新展開を模索したい。

（1）高速・高効率 in vivo ゲノム編集によるマウス遺伝子改変

相田知海（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野）

ノックアウトマウスに代表されるジーンターゲティング法により作出された遺伝子改変マウスは，個体レベルでの遺伝子機能やヒト疾患病態の解明に欠かす事のできないツールである。しかしながら，その作製は今なお煩雑な操作・長期間・多額の費用を要し，決して容易でない。この状況は，生物種を問わずゲノムの自在な改変を可能にするゲノム編集法の登場により一変した。高効率の部位特異的ヌクレアーゼ TALEN や CRISPR/Cas 等のカスタマイズ可能なツールの開発により, ES 細胞でのセレクションを経ず，受精卵内で直接，ジーンターゲティングを行う事が可能になった（in vivo ゲノム編集）。これにより，僅か 1 ヵ月でほとんど費用をかける事なく簡単にノックアウト/ノックインマウスを作製できる。本講演では，我々が作製してきたノックインマウスを例に，ヒト疾患モデルの作製や精密な細胞系譜解析への応用を紹介する。ゲノム編集は古典的なジーンターゲティングに加え，様々なゲノム操作が可能である。またあらゆる生物へ適用可能である事から，使い方次第で全く新たな研究が実現すると考えられる。議論を通じて予想外のアイデアが産まれる事を期待している。

（2）常染色体劣性遺伝性小頭症の発症機構の解明に向けて

田中大介（ブリュッセル自由大学　学際研究所（現 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科））

常染色体劣性遺伝性小頭症の患者は出生時に既に脳が小さいことより，胎児期において何らかの発生異常があると指摘されている。さらにこれまでに同定されている原因遺伝子のうち *WDR62* に変異のある患者は，脳が小さいのみならず，大脳新皮質のしわの形態にも異常があることが知られている。またその脳の小ささの程度や形態は, *WDR62* 内に同じ変異を持つ患者の間でも差があることから，遺伝子変異そのもののみならず，遺伝的背景や環境因子も最終的な表現型に影響している可能性が指摘されているが，これまでのところその発症機序の全貌は明らかになっていない。

本研究においてまず我々は，WDR62 の発現をヒト胎児大脳新皮質切片において調べた。結果，WDR62 は大脳新皮質の主要な神経幹細胞である radial glial cell において発現していることが分かった。次に *WDR62* に変異のある小頭症患者から繊維芽細胞を採取し，それらから iPS 細胞を作製し大脳新皮質神経幹細胞様の細胞に分化させたところ，それら患者由来大脳新皮質様細胞では WDR62 の RNA およびタンパク質の発現が，健常人由来の細胞に比べ著しく低いことが分かった。またそれら発

現レベルの異常に対する遺伝的背景の影響を調べるために，患者由来 iPS 細胞において相同組替えにより *WDR62* の変異を修正した細胞株を作製し同様の解析をしたところ，RNA とタンパク質ともに健常人由来細胞と同等の発現レベルにまで回復した。よって患者由来大脳新皮質様細胞では，*WDR62* の変異そのものによりまず RNA の発現レベルが低下し，その結果タンパク質の発現レベルが低下していると考えられた。また *WDR62* に変異のある 27 週齢の胎児大脳新皮質切片を，大脳新皮質の下層を占める細胞のマーカーである TBR1 と CTIP2，および主に上層細胞のマーカーである SATB2 の免疫染色により解析したところ，健常な胎児では形成されている上層が，変異のある胎児では欠失していることが示唆された。さらに，変異のある胎児では SATB2 陽性細胞はその移動経路上において異常な細胞塊を形成していることが分かった。当日の発表はまだ結論の出ていない経過報告になるが，これらの結果を踏まえて *WDR62* 変異による小頭症の発症機序について議論したい。

（3）光学顕微鏡技術と電子顕微鏡技術の融合による神経組織の三次元再構築解析

岩﨑広英（東京大学大学院医学系研究科 神経細胞生物学分野）

脳は膨大な数の神経細胞から構成され，それらがシナプスを介して結合することで神経回路を形成し，多彩な脳機能を実現している。従って脳の機能を回路レベルで理解するためには，神経細胞の配線図を明らかにする必要がある。このような観点から，欧米では神経回路の網羅的解析（コネクトーム）を目的とするプロジェクトが近年，精力的に進められつつある。

シナプスは微細な構造であり，シナプス間隙は約 25nm，シナプス小胞の直径は約 40nm である。従って光学顕微鏡では分解能の観点から詳細な観察は不可能であり，電子顕微鏡の利用が必要となる。一方で神経細胞は長い突起を伸ばし比較的離れた神経細胞ともシナプスを形成することから，複雑に絡まり合った神経細胞どうしの結合様式を解きほぐすには光学顕微鏡による広域観察が必要となる。従って神経回路の網羅的解析には電子顕微鏡技術と光学顕微鏡技術の各々の長所を活かし，それらを融合する技術の創出が重要と考えられる。

近年，このような応用を主眼に置いた技術開発の進展は目覚ましく，とくに電子顕微鏡による自動画像取得・三次元再構築法については種々の手法が開発されている。ATUM（Automated Tape-collecting UltraMicrotome）は超薄連続切片をプラスチックテープの上に自動回収する装置であり，光学顕微鏡および電子顕微鏡での画像取得に極めて有用である。本講演では ATUM をはじめとする光学顕微鏡技術と電子顕微鏡技術の融合的技術を利用した神経組織解析法について紹介したい。

（4）生後発達期小脳プルキンエ細胞における登上線維の選択的シナプス強化は発火タイミング依存的に起きる

河村吉信（広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 神経生理学）

神経細胞は生後発達期において，神経活動依存的に機能的な神経回路網を構築すると考えられている。生直後の神経回路には，成熟動物の脳には見られない過剰なシナプス結合が存在するが，発達過程において正常な脳機能に必要な結合が強化され，不必要な結合は弱化・除去されるプロセスを経て，次第に機能的に成熟することが知られている（シナプス刈り込み）。しかしながら，生後発達期の生きている動物の脳内における神経活動の実態や，その活動とシナプス刈り込みの関連についてほとんど分かっていない。この活動の実態を理解するには，生後発達期の生きている動物の脳内で起こる神経活動を観察する必要がある。そこで本研究では，モデル実験系として小脳登上線維－プルキンエ細胞間のシナプス刈り込みを用い，*in vivo* ホールセルパッチクランプ法と二光子

励起カルシウムイメージング法を併用することにより，生後発達期の神経活動実態とシナプス刈り込みの関係を明らかにする解析を行った。

成熟期のプルキンエ細胞はほとんどが単一の登上線維による支配を受けているが，生直後には一時的に複数の登上線維による多重支配を受けている。生直後のプルキンエ細胞からホールセル記録を行い，多重支配を受けているプルキンエ細胞の自発的，及び感覚刺激誘導的な登上線維応答を観察した。この結果, 複数の登上線維は各々個別に活動するというよりはむしろ同期的に活動し，プルキンエ細胞にバースト状の発火（Burst spiking : BS）を引き起こすことが明らかになった。また二光子励起カルシウムイメージング記録の解析から, BS がプルキンエ細胞内のカルシウム濃度上昇を引き起こすことが分かった。次に, BS と登上線維入力(EPSP)のタイミングおよび大きさの関係が発達に伴ってどのように変化するかを詳細に解析したところ，BS に最も近いタイミングで起こる EPSP の振幅が最大であり，個々の EPSP の振幅は BS とのタイミングにおいて逆相関を示した。さらに，登上線維の選択的シナプス強化が完了した時期では, BS 発生直前に観察される EPSP の振幅が選択的に増強していることがわかった。上記の実験結果は，選択的な登上線維シナプス強化が発火タイミング依存的に決定されることを示唆する(Kawamura. Y. *et al*. 2013)。

Kawamura, Y. et al. Spike timing-dependent selective strengthening of single climbing fibre inputs to Purkinje cells during cerebellar development. Nat. Commun. 4, 2732 (2013)

（5）新規蛍光プローブを用いたシナプス膜におけるグルタミン酸受容体動態の定量的イメージング解析）

石井雄一郎 [1,2]，藤井　哉 [1]，奥野浩行 [1,3]，尾藤晴彦 [1,2]（[1] 東京大学大学院医学系研究科 神経生化学分野
[2]CREST-JST　[3] 京都大学メディカルイノベーションセンター）

脳高次機能である記憶・学習には，海馬におけるグルタミン酸性興奮性シナプス伝達の伝達効率が亢進することが重要と考えられている（長期増強 : LTP）。近年，様々なイメージング手法の進歩に伴い，単一シナプスレベルでグルタミン酸受容体のシナプス膜における受容体動態の定量的解析が可能になってきた。その結果，AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPAR）の分子数がシナプス膜で増加することが長期増強の分子的実態であるという説が確立しつつある。AMPAR のシナプス輸送モデルとして，まずシナプス外膜へ膜挿入され，膜上での側方拡散によってシナプスへ運ばれ，PSD 膜に捕捉される説が最も有力だが，詳細な機構は明らかでない。これまで様々な手法によって輸送機構が解析されてきたが，膜挿入と側方拡散を区別しながら，双方を同時に可視化することが技術的に困難であった。そこでケミカルバイオロジーを駆使した新たなイメージング手法（Komatsu et al. JACS, 2011）を導入し，AMPAR 輸送の異なる経路の同時可視化法を樹立した。本法を，海馬初代培養神経細胞におけるシナプス刺激依存的なスパイン容積増大（Okuno et al. Cell, 2012; Fujii et al. Cell Reports, 2013）に適用し，増大スパインへの AMPAR 輸送を担う，GluA1 サブユニットの側方拡散と膜挿入について興味深い結果を得たので報告する。

（6）樹状突起上のシナプス強度分布の制御

合田裕紀子（理化学研究所脳科学総合研究センター）

シナプスは神経細胞同士が接する特殊な微小部位であり, 脳における情報伝達には必須な役割を果たしている。神経回路の活動パターンに応じてシナプスは情報伝達の効率とその形態自体を調整する可塑性を備え持っており, この可塑性が記憶，計算など脳のあらゆる機能に重要な働きをしている。しかしシナプスが可塑化する前に根本

的にどのようにしてその情報伝達強度が設定されるのか，シナプスの構造もしくは形態はいかにシナプス可塑性と関わりがあるのか，さらに近隣のシナプス間の相互関係がシナプス強度調整，可塑性にどう関わっているのかなどの不明な点が多い。このような根本的なシナプス強度の制御に着目し，あらゆる脳部位における神経回路に共通するメカニズムを探究する上で，シンプルであり，かつ，各神経細胞の一個一個のシナプス前部・シナプス後部の強度を的確に蛍光イメージングと電気生理の手法を用いて測定できる，海馬の培養細胞を原点として，実験を進めている。特に近隣シナプスの関連性の課題におき，樹状突起上のシナプスでは，樹状突起局所の活動に応じて，恒常的に神経伝達物質の放出強度を制御する機能が存在することが明らかになった。また，樹状突起を共有するシナプス前部の強度は，前神経細胞の間で，常に不均衡に保たれていることが判り，そのメカニズムの解析を行っている。

（7）細胞内タンパク質輸送と統合失調症

中澤敬信（大阪大学大学院薬学研究科 附属創薬センター）

統合失調症は，幻覚，妄想のほか，意欲の低下や引きこもりがおこり，結果として重大な社会生活および就業への障害となる内因性の精神病である。人口の約 1%が罹患する頻度の高い重篤な疾患であり，国内では医療費等の社会的コストが約 3 兆円と大きな社会負担になっている。統合失調症は遺伝や環境要因が複雑にからみあった多因子疾患であり，その病因･病態は不明な点が多い。また，現存するドーパミン系を標的とした主要な抗精神病薬を用いても効果的ではない患者も多いことから，既存薬の限界が指摘されており，新たな病因や病態に立脚した創薬が求められている。

我々は新しい統合失調症の関連遺伝子を同定することを目的として，以前に同定した新規の神経系特異的スパイン形態制御分子ファミリー分子である TCGAP/ARHGAP33 および p250GAP/ARHGAP32 に注目した。統合失調症患者由来のサンプルを調べたところ，*TCGAP* および *p250GAP* の遺伝子座に統合失調症と有意に関連した一塩基多型(SNP)を見いだし，*p250GAP* 遺伝子座の SNP と統合失調型パーソナリティー傾向が相関することや *TCGAP* 遺伝子座の SNP と患者脳の体積減少とが相関することを明らかにした。患者サンプルで TCGAP の発現量が低下していたことから，疾患のモデルとして *TCGAP* 遺伝子欠損マウスの作製および解析を実施したところ，統合失調症様の行動異常やスパイン形態の異常が観察された。次に *TCGAP* 遺伝子欠損マウスの統合失調症様の脳機能異常の分子機構の解析を行った。TCGAP および p250GAP は RhoGAP 領域の他にリン脂質と結合する phox homology (PX)領域をもつ。一般的に PX 領域を持つタンパク質は細胞内輸送に関与することが知られていることから，TCGAP の細胞内輸送における機能解析を行ったところ，*TCGAP* 欠損マウスでは，神経栄養因子受容体の輸送異常がおこっていること，および受容体の強制的な活性化によって *TCGAP* 欠損マウスの統合失調症様の異常が回復することを明らかにした。

以上の結果から，統合失調症の分子病態の一つとして細胞内タンパク質輸送異常を提案したい。

最後に，我々が最近取り組んでいる，患者から iPS 細胞を介した疾患神経細胞を樹立し，疾患の病態研究を行うプロジェクトを紹介させていただきたい。

（8）糖鎖発現制御による神経再生と発生
－神経構成における糖鎖と，糖鎖を標的とした脊髄損傷治療への展望－

武内恒成（愛知医科大学 医学部 生物学）

成体においては中枢神経系の軸索再生は殆ど起こらない。これは神経解剖学の祖であるラモン＝カハールの提唱以降，周知の事となっている。そのため脊髄損傷にも根本治療法がいまだ無い状況である。最大の原因の一つとしては，中枢神経損傷部において急激に発現するコンドロイチン硫酸プロテオグリカンが，神経再生阻害因子として神経伸長をブロックすることに依る。我々はこのコンドロイチン硫酸(CS)転移酵素 CSGalNAcT1/T2 ノックアウトマウスを作製した 1)。このマウスの脊髄損傷モデルは,これまで報告されたどのマウスよりも優れた機能回復を示した。それは，阻害因子の発現低下にとどまらず，他にもさまざまな回復の理由が認められることに依る。一つには標的とした CS 糖構造だけではなく，別のグルコサミノグリカン糖鎖転移酵素の発現バランスを変えることも劇的な回復の原因として捉えられ，これまで考えられていた以上に糖鎖ドメインの発現機構は動的なものであることも解りつつある 2)。さらにこの糖転移酵素は再生治療に向けた絶妙な創薬ターゲットでもあるため，生体内での発現制御も進めている。最近この生体内ノックダウンによる再生治療にも成功し，iPS 細胞応用となどとの併用による再生方針にも繋がりつつある。また，我々のノックアウトマウスは上記の再生研究だけではなく，CS 糖鎖が絡む神経発生や神経可塑性での CS 機能など興味深い知見が得られつつある。とくにこれら CS をリガンドとする神経細胞接着分子 TAG-1 でのノックダウン実験とさらに CS ノックアウトノックダウンなどによる研究から，細胞移動・極性決定における機能の糸口も掴めつつある 3)4)のでご紹介したいと思います。

1) Watanabe Y. *, Takeuchi K. *, et al.: Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase-1 is required for normal cartilage development. (*: equal contribute) Biochem. J. 432: 47-55 (2010)

2) Takeuchi K, et al.:Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyl-transferase-1 inhibits recovery from neural injury. Nat. Commun. 4:2740. (2013)

3) Okamoto M., et al. : TAG-1-assisted progenitor elongation streamlines nuclear migration to optimize subapical crowding. Nat. Neurosci. 11:1556-66. (2013)

4) Namba T., et al.: Pioneering axons regulate neuronal polarization in the developing cerebral cortex. Neuron 81:814-829. (2014）

（9）成体脳における新生ニューロンの移動・成熟機構と嗅覚入力の役割

澤田雅人（名古屋市立大学 大学院医学研究科 再生医学分野）

哺乳類の脳は，胎生期に神経幹細胞から多数のニューロンが産生され，生後の発達期にシナプス接合を最適化することで成熟した神経回路網を獲得する。成体脳では，シナプスの構造的・質的な変化が感覚入力依存的な可塑性に重要な役割を果たすと考えられている。

しかし近年，脳室下帯及び海馬歯状回の二カ所に限っては，成体においてもニューロン新生が持続し，シナプスレベルだけでなく細胞レベルでの神経回路の再編成が生じていることが明らかになってきた。脳室下帯の神経幹細胞から産生された新生ニューロンは，嗅覚の一次中枢である嗅球に到達し，適切な位置で移動を停止して顆粒細胞もしくは傍糸球細胞へと分化する。これらの新生ニューロンが嗅球神経回路に組み込まれる一方で，古い嗅球ニューロンは細胞死によって除去されていることから，嗅球内でニューロンは活発に入れ替わっていると考えられる。しかし，嗅球に到着した新生ニューロンがどのように移動を停止し，成熟して古いニューロンと入れ替わるのか，さらに嗅覚入力がこの過程に影響を及ぼすのか，については未解明である。

我々は，FRET プローブや光刺激活性型プローブを用

いた分子イメージング解析によって，Sema3E-PlexinD1 シグナルが嗅球内を移動する新生ニューロンの細胞形態を制御し，停止位置を決定することを明らかにした。また，二光子顕微鏡を用いた長期生体イメージング法により，移動を停止した新生ニューロンが古いニューロンと同じ場所で入れ替わることを報告した。興味深いことに，嗅覚入力の変化がこれら新生ニューロンの移動・成熟過程を制御することで，嗅覚機能に影響を与える可能性を見いだした。以上の結果は，成体嗅球において細胞レベルでの活発な神経回路の再編成が，感覚入力依存的な可塑性と安定性に寄与していることを示唆している。

（10）空間学習・記憶異常を呈するセプチン欠損マウスの解析

上田（石原）奈津実，木下　専（名古屋大学大学院 理学研究科）

発達期の脳内では神経細胞の分裂と移動，軸索/樹状突起の伸展，シナプス結合の形成などが盛んに起きているが，これらの過程には細胞骨格系の動的制御が不可欠である。一方，神経回路形成が完了した成熟脳でも，学習や記憶形成の過程でシナプスやその基盤構造である樹状突起棘（スパイン）がダイナミックに再編成する。しかし，神経活動依存的なシナプス伝達機能の再編成と共役した細胞骨格系の動的調節の分子メカニズムには不明な点が多い。

当グループでは，ニューロンやグリアで高発現する GTP 結合蛋白質セプチン（SEPT1-14）の重合体が，１）アクトミオシン膜骨格の特定の領域に局在し，膜蛋白質の足場ないし拡散障壁として機能すること，２）発生過程では神経突起伸展，成熟後にはシナプス伝達に関与すること，３）神経活動依存的にリモデリングすることなどを示してきた（Neuron 2007, Cytoskeleton 2011, Molecular Brain 2013, Nature Communications 2013 および未発表）。セプチンおよび関連分子を欠損または過剰発現する複数のマウスの系統的行動解析の結果，空間学習・記憶を評価する複数のパラダイムにおいて一貫した機能障害を呈する１系統を見出した。この表現型は，空間学習・記憶に関する未知の分子メカニズムの解明への糸口になると期待される。そこで，定量性の高い質量分析手法を用いて海馬プロテオームの genotype 間比較を施行したところ，グルタミン酸受容体サブユニットを含む複数の学習・記憶関連蛋白質に量的異常を認めたため，膜画分のイムノブロットや免疫共沈実験を含めた生化学的検証を行った。さらに，シナプス膜およびシナプス近傍の細胞膜直下における上記分子群の質的異常を探索するため，連続切片の免疫電子顕微鏡像 3D 再構築（ssTEM）法や急速凍結・凍結割断レプリカ標識（SDS-FRL）法を用いた高空間分解能解析を試みた。これらの知見を紹介し，議論したい。

４．視知覚の現象・機能・メカニズム - 生理学的，心理物理学的，計算論的アプローチ

2014 年 6 月 12 日－6 月 13 日

代表・世話人：村上郁也（東京大学大学院人文社会系研究科）

所内対応者：小松英彦（生理学研究所）

（１）無意味なパターンに対する生き物らしさの認知

高橋康介（東京大学先端科学技術研究センター）

（２）順応を用いた物体認知メカニズムの心理物理学的分析

本吉　勇（東京大学大学院総合文化研究科）

（３）錯視の数理とその応用

新井仁之（東京大学大学院数理科学研究科）

（４）大規模 ECoG データ解析によるマカクザル視覚情報処理機能の解明

藤井直敬（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（５）モデリングアプローチを用いた自然視知覚下脳活動の定量理解

西本伸志（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター）

（６）工学における光沢の定義と検出方法

日浦慎作（広島市立大学大学院情報科学研究科）

（７）視覚情報から物体の経時変化を推定する質感認知機構

岡嶋克典（横浜国立大学大学院環境情報研究院）

（８）霊長類における本能的認知機構：膝状体外視覚系の役割

西条寿夫（富山大学大学院医学薬学研究部）

（９）サルＶ４野における自然テクスチャ選択性を説明する画像特徴量

岡澤剛起（生理学研究所感覚認知情報研究部門）

（10）ヒト初期視覚野(V1/V2)および背側視覚野 V3A，V3B/KO における奥行き視情報の処理と統合

番　浩志（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター）

（11）視覚探索における脳内目標選択とサッカード眼球運動

―サッカード潜時の同時性は目標識別時刻の同時性を保証しない―

小川　正（京都大学大学院医学研究科）

（12）視覚的注意における空間特性の多重性

塩入　諭（東北大学電気通信研究所）

（13）メラノプシン神経節細胞の非撮像系経路および撮像系経路への影響

辻村誠一（鹿児島大学大学院理工学研究科）

（14）視覚情報処理におけるフィルタリングとプーリング

大澤五住（大阪大学大学院生命機能研究科）

【参加者名】

高橋康介（東京大学），本吉　勇（東京大学），新井仁之（東京大学），藤井直敬（理化学研究所），西本伸志（情報通信研究機構），日浦慎作（広島市立大学大学），岡嶋克典（横浜国立大学），西条寿夫（富山大学），番　浩志（情報通信研究機構），小川　正（京都大学），塩入　諭（東北大学），辻村誠一（鹿児島大学），大澤五住（大阪大学），村上郁也（東京大学），内川惠二（東京工業大学），韓　惠軫（東京工業大学），佐藤牧人（東京工業大学），由良浩己（東京工業大学），楠山貴大（東京工業大学），小川洋和（関西学院大学），鯉田孝和（豊橋技術科学大

学），金子寛彦（東京工業大学），森　平良（東京工業大学），山田勇人（東京工業大学），高　龍坤（東京工業大学），三輪拓馬（東京工業大学），門野泰長（東京工業大学），篠森敬三（高知工科大学），須田悠紀（順天堂大学），木原　健（鹿児島大学），栗木一郎（東北大学），設楽宗孝（筑波大学），一戸紀孝（国立精神・神経医療研究センター），我妻伸彦（東京電機大学），田嶋達裕（理化学研究所），天野　薫（情報通信研究機構），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），小原慶太郎（理化学研究所），若井宏平（㈱クリイノ創研），満倉英一（電気通信大学），山口真美（中央大学），金沢　創（日本女子大学），市川寛子（中央大学），作田由衣子（中央大学），楊　嘉楽（中央大学），佐藤夏月（中央大学），田中礼紀（中央大学），根岸一平（高知工科大学），佐藤弘美（東京大学），伊藤南（東京医科歯科大学），下川丈明（国際電気通信基礎技術研究所），岡本直宏（京都大学），橋渡智也（京都大学），西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），宮川尚久（国立精神・神経医療研究センター），佐藤　駿（専修大学），湯淺健一（東京大学），圓山由子（京都産業大学），酒井朋子（慶應義塾大学），増谷侑一（東京大学），福島邦彦（ファジィシステム研究所），坂本浩隆（東京大学），寺尾将彦（東京大学），蘆田　宏（京都大学），出利葉健（東京大学），林　大輔（東京大学），藤井直樹（東京大学），山下和香代（鹿児島大学），宮脇陽一（電気通信大学），中山遼平（東京大学），大塚昭兵（神奈川大学），中尾啓輔（花王㈱），田中　緑（千葉大学），庄野　逸（電気通信大学），五十嵐康彦（東京大学），田島大輔（東京工業大学），小林秀行（東京工業大学），渡橋裕太郎（東京工業大学），漆畑健司（オリンパス㈱），佐藤多加之（理研 BSI），佐藤雅之（北九州市立大学），田村秀希（豊橋技術科学大学），村井祐基（東京大学），増田知尋（食品総合研究所），前原吾朗（神奈川大学），若山暁美（近畿大学），中田龍三郎（名古屋大学），坂東敏博（同志社大学），隅田浩子（神奈川大学），西田知史（京都大学），堀内隆彦（千葉大学），岡部昌子（大同大学），兼子峰明（理研 BSI），葭田貴子（東京工業大学），KWON SEONGMIN（東京工業大学），山岡真悟（東京工業大学），神谷聖耶（東京工業大学），鹿山敦至（東京工業大学），相田紗織（東京海洋大学），山本雅裕（㈱東芝），岡田真人（東京大学），中村大樹（電気通信大学），杉森順子（愛知工科大学），小濱　剛（近畿大学），臼井支朗（豊橋技術科学大学），行松慎二（中京大学），堺　浩之（豊田中央研究所），高橋伸子（愛知淑徳大学），松本長太（近畿大学），木村昭悟（NTT）

以下，生理学研究所

小林　恵，徳岡広太，笠井昌俊，辻本憲吾，橋口真帆，角谷基文，吉本隆明，西尾奈々，宍戸恵美子，宮下俊雄，西村幸男，福永雅喜，渡辺秀典，木村梨絵，小松英彦，郷田直一，横井　功，眞田尚久，西尾亜希子，岡澤剛起，波間智行

【概要】

平成 26 年度生理学研究所研究会「視知覚の現象・機能・メカニズム ― 生理学的，心理物理学的，計算論的アプローチ」は，平成 26 年 6 月 12, 13 日に岡崎コンファレンスセンター中会議室において開催された。生理学・脳計測 8 件，心理物理学 4 件，計算論 2 件の合計 14 件の講演があり，参加者は 131 名であった。初日は，まず高橋氏が無意味パターンに生じる顔・生命感の認知の刺激条件について実験心理学的研究を報告した。次に本吉氏が光沢立体画像への順応後の陰性残効の決定要因について紹介した。新井氏は初期視覚のフィルタの数理的特性いかんで様々な錯視現象を記述しうることを紹介した。藤井氏は大脳半球からの同時慢性記録を行った際の ECoG チャネルの視覚応答を紹介した。西本氏は自然画像観察時の fMRI 賦活を当該画像内の特徴記述子と比較し，賦活と心的表象の関連を論じた。日浦氏は物体表面の反射特性および環境の映り込みに関する順・逆光学の計算モデルを紹介した。岡嶋氏は生鮮野菜や工業製品の古びていく画像への選好性に関する心理実験データを報告した。西条氏は視床枕のニューロン活動について，ヘビなどの嫌悪刺激に対する形状選択性を報告した。二日目は，岡澤氏が自然画像の表面肌理に対するサル V4 野の選択性について，多変量解析を駆使して紹介した。番氏は，ヒト fMRI 賦活において，複数奥行き手がかり存在下での促進的感度上昇を来す処理機構の存在を示唆した。小川氏は，視覚探索時のサッカード潜時と標的同定時刻との乖離についての生理実験データを報告した。塩入氏は注意の広がりの課題依存性を心理物理学および脳波データを元に議論した。辻村氏はメラノプシン単独変調刺激を用い，三色型のメタマー間での知覚的変調を示した。大澤氏は処理階層間の収斂結合をフィルタ

リング型とプーリング型とに分け，実験データを再解釈した。特に今年は多くの学際融合的アプローチが堪能できる非常に有意義な研究会であった。

（1）無意味なパターンに対する生き物らしさの認知

高橋康介（東京大学先端科学技術研究センター）

視覚シーンの中から顔や生き物を検出して処理する能力はヒトの生存や円滑なコミュニケーションに欠かせない。ところがヒトは時として全く生き物ではないモノに対して鮮明な生き物らしさを感じる。雲が顔に見えるパレイドリア現象，動く図形に意図を感じるアニマシー知覚など，関連する現象について様々な分野で研究が行われている。本講演ではパレイドリア現象の中での知覚・行動の変化，及び無意味なパターンに対する意図と生き物らしさの認知について最新の研究成果を紹介する。

パレイドリア現象ではモノが顔として認識される。我々はモノの持つ擬似的な視線により観察者の共同注意が生じること，さらにこの効果は観察者がモノを顔と認識した時のみ生じることを示した。また３つの点刺激（∵）を顔として検出する時は，同じ刺激を三角形として検出する時に比べて検出成績が高いことを示した。これらの知見は，パレイドリア現象の中では，観察者の内的状態が顔処理に向けて適切に調節されることで顔特有の処理が駆動されることを示唆する。

アニマシー知覚では無意味なパターンに生き物らしさが見出される。そこでヒトが見る「生き物らしさ」の中で，いわゆる「生きてる感」と「意図を持ってる感（意図感）」の関係は明確ではなく，この両者が混同されていることも多い。我々はパーリンノイズに従いランダムに動く複数の点の中の１つの点刺激について「生きてる感」と「意図感」を評価するという実験を行い，点の運動プロファイルが「生きてる感」のみに影響すること，静止した点群の中で唯一動く点には強い「意図感」が生じること，他の点群と同期した運動は「生きてる感」「意図感」を劇的に低下させることなどを見出した。これらの知見は，「生きてる感」と「意図感」が部分的には異なる機序で，知覚対象とコンテクストの相互作用の中で生じることを示唆する。

これらの知見を踏まえ，生き物らしさ認知の先に我々が知り得ることについて幅広く議論したい。

（2）順応を用いた物体認知メカニズムの心理物理学的分析

本吉　勇（東京大学大学院総合文化研究科）

特定の視覚刺激を観察し続けると，その後の刺激に対する感度や刺激の見えが変化する。この順応効果あるいは残効(aftereffect)は，ヒトの主観的知覚と直截に関連する視覚情報表現を見通すための心理物理学的手法として広く用いられてきた。特に近年は，単純な刺激の色や方位，運動の知覚のみならず，顔など複雑な刺激の知覚・認知の研究にも適用され，その機能的メカニズムの解明に役だっている。

われわれはここ数年，自然な三次元物体全般について生じる順応効果(物体残効，object aftereffect)を発見・分析することにより，複雑な形状や質感の主観的知覚および物体認知がどのような情報に因果的に支えられているかを探求している。典型的な物体残効においては，特定の凹凸形状と質感をもつ物体の画像(1 Hz ほどの周期で反復提示される)を数十秒ほど観察すると，その直後に提示される物体の形や質感，あるいは物体カテゴリが大きく異なって知覚されるーしかし物体のもつ主観的なリアリティはいささかも損なわれない。これまでの実験から，物体残効は (1)順応物体とテスト物体のあいだの相対的な位置や網膜サイズに対して比較的不変(invariant)

である一方で，(2)順応刺激に含まれる低次の画像統計量への順応によっても生じる(強さはほぼ半減する)，ことなどがわかっている。これらの結果は，物体・質感知覚を支える情報の一部が，大きな受容野をもつ高次の視覚メカニズムにおいて低次の画像特徴量として表現されているという考えを支持している。これは最近の機械学習による物体認識モデルとも一致し，リアルな三次元物体の主観的な知覚が，低次・中次の視覚野で符号化される画像特徴の寄せ集めにより作り上げられている可能性を示唆している.

（3）錯視の数理とその応用

新井仁之（東京大学大学院数理科学研究科）

本講演では，視覚・錯視の数学的な研究とその画像処理への応用について，講演者と新井しのぶとの共同研究による結果のいくつかを述べる。研究内容は大きく次の三つに分けられる。

（１）視覚・錯視研究に適した数学の創出

（２）錯視の数学的研究

（３）画像処理への応用

（１）に関する結果として「かざぐるまフレームレット」がある。フレームレットはウェーブレットを進化させたもので，I. Daubechies らによりその抽象的枠組みが考案された。かざぐるまフレームレットは視覚・錯視のある種の研究に適するように新井・新井が考案した新しいフレームレットの一つである。

次に（２）であるが，錯視をキーワードに考えると，（２）は次の三つの諸相に分けられる：

(A) 錯視をまねる（錯視のシミュレーション）

(B) 錯視をコントロールする

(C) 錯視を創る

このうち, (B), (C) に関する成果のいくつかを述べる。最後に（３）であるが，これは次のような発想によるものである。視覚の情報処理を元にした数理モデルを構築できれば，次の段階としてそれを操作して，

・人の視覚に優しい画像処理,

・人の視覚機能を特化した画像処理

が可能になる。本講演ではこれらの画像処理に関する結果も示したい。

（4）大規模 ECoG データ解析によるマカクザル視覚情報処理機能の解明

藤井直敬（理化学研究所脳科学総合研究センター）

皮質脳波（ECoG）は広い皮質領域から同時に，高い時間分解能での計測が可能な脳活動計測手法の１つである。ECoG には様々な解析手法があるが，最も広く用いられている手法の１つが時間周波数解析である。中でも high-gamma 帯の活動は電極近傍の神経細胞群の集団的発火活動を反映すると考えられ，局在した脳活動の指標として広く受け入れられている。しかし high-gamma 帯と低い周波数帯との違いについて，現在まで系統的かつ定量的な検討は行われていない。そこで本研究では 2 頭のマカクザルの硬膜下に 128 個の電極を慢性的に留置し，視覚関連領域で計測される視覚応答について，その時空間特性を 4 つの周波数帯（alpha, beta, low-gamma and high-gamma）で評価し，周波数帯間での比較を行った。具体的には視覚応答について 3 つの指標（空間位置選択性・受容野の大きさ・応答潜時）を用い，各電極内，および脳領域ごと（V1, V4+, TEO/TE）に周波数帯間で比較した。全体的な傾向として，空間位置選択性は帯域間でよく似ていること, high-gamma 帯の受容野が最も小さいこと, alpha 帯の視覚応答の潜時が長いことの 3 点が明らかになった。しかし領域間比較の結果，帯域間の違いは領域に依存して大きく異なっていた。V1 では低い周波数帯ほど受容野が大きくなり, high-gamma 帯の空間選択性の高さを支持する結果が得られたが，V4+では帯域間で受容野の大きさに違いは観察されなかった。V1 およ

び V4+では alpha 帯を除く 3 帯域の潜時に違いは観察されなかったが，TEO/TE では beta=low-gamma＜high-gamma＜alpha 帯の順で潜時が異なった。TEO/TE の beta/low-gamma 帯は空間位置選択性・受容野の大きさの 2 点でも alpha/high-gamma 帯と異なっており，より周辺視野に選択性を示し広い受容野をもっていた。これらの結果は TEO/TE の神経細胞はまず視野の広い範囲から空間選択性の低い情報を受け取り，その後，より中心視野に特化した選択性の高い情報が到達するとする sparse- to-fine strategy 説を支持する結果である。この結果は，ECoG の broadband 解析により，各領域で行われる情報処理の動的な側面が明らかに出来ることを示している。

（5）モデリングアプローチを用いた自然視知覚下脳活動の定量理解

西本伸志（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター（CiNet））

私たちの日常を構成する自然な体験は，複雑で多様，かつダイナミックである。 脳神経科学のゴールの一つは，このような自然で複雑な知覚・認知体験を司る脳機能を理解することにある。本講演では，自然条件下における脳神経情報処理の定量的理解を目指すための新たな枠組みとして，モデリングアプローチを紹介したい。このアプローチでは，脳神経情報処理に関する仮説は任意の自然条件下における脳神経活動を予測する定量モデル（エンコーディングモデル）として実装され，仮説の妥当性は新規条件下における脳神経活動のモデル予測性能によって評価される。この枠組みの例として，私たちは自然動画刺激下におけるヒト脳活動記録（fMRI 記録）を行い，その予測モデル構築および表象解釈を試みた。その結果，ヒト初期視覚領野における時空間情報表現，高次領野における意味空間表現，および探索（注意）タスク下における意味空間表現の特異的ワープ等に関する新たな定量的知見を得ることが出来た。更に，エンコーディングモデルは脳神経活動から知覚・認知体験を読み出すデコーディングを行うための基盤としても用いる事ができる。これにより，自然知覚下ヒト脳活動からの知覚体験の映像化や，その知覚意味内容の推定を行うことにも成功した。モデリングアプローチは，自然で複雑な体験を司る脳神経活動の理解を促進し，予測に基づいた定量的神経科学を推進するための強力な手段を提供する。

（6）工学における光沢の定義と検出方法

日浦慎作（広島市立大学大学院情報科学研究科）

我々が物体を見たときに感じる質感のうち重要なものの１つに，物体の光沢感がある。光沢はコンピュータグラフィックスなどの分野では鏡面反射と言われ，物体そのものの色に対応する拡散反射だけでは表現できない，光源や周囲環境の映り込みを再現するために用いられる。しかしこれら拡散反射と鏡面反射だけからなるモデル（二色性反射モデル）ではプラスティックのような質感はおおよそ再現出来ても，布や肌のような自然物のリアルな再現には不十分であることが多い。このことは，実世界には二色性反射モデルに従わない物体が多く存在することを示唆している。しかし一方で，そのような物体でも光沢のある物体，ない物体が存在するのも確かである。このような物体について，光沢の度合いを調べるには，二色性反射モデルに従わない物体における光沢の定義から始める必要がある。そこで我々は，光沢が持つ３種類の性質と，それに基づく光沢の検出方法について検討をした。１つは，鏡面反射の「鋭さ」，つまり光源が物体表面にはっきりと映り込む性質を利用したものである。光源の形状を変化させ，それによる変化を検出することで鏡面反射を取り出すこの方法では，物体の地の色（拡散反射成分）がランバート則に従わない場合でも鏡面反射と拡散反射を分離することが出来る。２つ目は逆に，拡散反射がランバート則に従うと仮定し，それから外れようとする成分が鏡面反射であるとして検

出する手法である。この方法は鏡面反射の素性に影響されにくく，鋭くない鏡面反射でもある程度，安定に検出が出来るという特徴がある。３つ目は観測方位の変化による輝度の変化を調べる方法で，前２者の手法とは異なり，照明条件を変化させることなく鏡面反射を検出することが出来るという利点がある。ひとくちに鏡面反射と言っても。多様な実物体を対象にすると依然として線引きが難しい，あいまいな現象であることが伝われば幸いである.

（7）視覚情報から物体の経時変化を推定する質感認知機構

岡嶋克典（横浜国立大学大学院環境情報研究院）

質感は，外界の物体属性を得る際に重要な手がかりを与える感覚情報の１つである。我々は視覚情報から，物体の材質（金属，ゴム，食品等）に関する質感の情報を得ることができる。

近年，視覚的質感の１つである光沢感や透明感等の比較的低次の質感メカニズムが明らかにされつつあることに加え，高臨場感通信技術や情報処理速度の発展に伴い画像やＣＧの分野，そして生理学の分野でも質感に関する研究が盛んになってきている。しかし，視覚的な質感にも様々な種類があるにもかかわらず，比較的高次な質感認知（例えば鮮度や古さ感等）に関する定量的な研究はあまり行われていない。例えば，我々は人工物（建築物や紙，金属プレート，布等）を見た際に，その物体の「時の流れ」すなわち「経時変化」を感じるだけでなく，どのくらい古いかまで判定できることから，出来上がり当初における新しい状態の視覚情報と比較しなくても，今の状態（視覚情報）だけからその物体の「経時変化」を脳が推定できることを示唆している。このような物体の「状態」を判定するためには，その物体の「材質」を同時に判定する必要があり，その材質認知の具体的なメカニズムや両者の相互作用等については不明な点が多い。各物体の状態は一定ではなく，例えば濡れた紙や新鮮さが異なる食品等，同じ材質でも状態は異なり，我々はその質感も認知できる。そのため，材質の種類ごとにその状態を区別して認知する視覚の質感情報処理メカニズムが存在すると考えられる。

今回，自然物（野菜・食品・肌）の経時変化の推定に輝度分布情報が手がかりとして使われている可能性を示すとともに，人工物の経時変化の推定には色情報が大きく関与していることを示す。また，質感のクロスモダリティー効果の１つとして，食品の見えの質感が食感や味覚に与える影響についても言及する。

（8）霊長類における本能的認知機構：膝状体外視覚系の役割

西条寿夫，Quan Van Le，小野武年（富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学）

網膜→上丘→視床枕→扁桃体(あるいは連合野)等からなる膝状体外視覚系(皮質下領域)は，網膜→外側膝状体→後頭葉からなる膝状体視覚系をバイパスする視覚経路として機能している。最近の行動学的研究によると，ヒトの新生児やニワトリの雛が学習無しに初めて見た顔様刺激を認知できることから，遺伝的に符号化されている顔の本能的認知機構が脊椎動物に共通に存在し，脊椎動物に共通に存在する視覚経路である膝状体外視覚系がこの顔認知に関与している可能性が示唆されている。さらに，爬虫類，鳥類，およびげっ歯類では，上丘やそれに相当する脳幹領域(視蓋)が，天敵や被捕食動物の本能的認知機構として機能していることが行動学的研究により示唆されている。一方，最近の人類学的研究によると，ヘビは人類を含む霊長類共通の天敵であり，人類の脳は，ヘビを検出する視覚能力を高めるために進化してきたことが示唆されている(ヘビ検出仮説)。すなわち，最も進化したサルである狭鼻猿類(チンパンジーなど)は，最も進化した視覚系を有し，原始的な原猿類や広

鼻猿類よりも，遠距離から素早くヘビを検知できる。さらに，旧世界では，まず大型のヘビから毒ヘビが進化し，ついで狭鼻猿類が進化してきたが，毒ヘビのいないマダガスカルでは霊長類が進化しなかったことが報告されている。これら人類学的報告はヘビ検出仮説を支持し，膝状体外視覚系がヘビ検出に関与することを示唆する。そこでわれわれは，霊長類であるサルを用いて膝状体外視覚系の物体識別能に関する研究を進めてきた。生後早期のサルの上丘をイボテン酸で破壊すると，社会行動とヘビに対する回避行動が障害された。ついで，サルの上丘や視床枕には，顔やヘビの画像に応答するニューロンが存在することが明らかになった。以上の結果から，霊長類における本能的認知機構について考察したい。

（9）サルＶ４野における自然テクスチャ選択性を説明する画像特徴量

岡澤剛起 [1]，田嶋達裕 [2]，小松英彦 [1,3]（[1] 生理学研究所，[2] 理研 BSI，[3] 総研大）

物体素材（樹皮や布，革など）の知覚は我々の視覚系の重要な機能の一つである。これらの素材は固有の自然テクスチャによって見分けられていると考えられるが，自然テクスチャは空間周波数や輝度分布など多数の画像特徴の複雑な組み合わせで成り立っており，その脳内処理メカニズムはよく分かっていない。一方では画像特徴量を元にテクスチャを生成するテクスチャ合成アルゴリズムと呼ばれる手法が自然テクスチャの再現に成功している(Portilla & Simoncelli, 2001)。そこで本研究ではこの合成アルゴリズムで作成した多数の自然テクスチャ画像に対するサル V4 野ニューロンの応答を効率的なサンプリング手法(Yamane et al, 2008)で計測し，合成アルゴリズムで用いられる高次画像特徴量が脳内で表現されているかどうかを調べた。この結果ニューロンの応答はこれらの画像特徴量の線形和として比較的よく説明できることが明らかとなった。各ニューロンは高次画像特徴量のうちの少数に特に応答しているようであり，これはニューロンが選好するテクスチャとよく対応していた。またコントロール画像としてフーリエ位相をランダマイズした画像などを呈示して反応を調べたところ，各ニューロンがよく応答する画像特徴量から期待される結果とよく一致していた。さらに計算論的な解析から，観察された画像特徴量へのチューニングがテクスチャ弁別や素材カテゴリ分類に寄与しうることが示唆される結果が得られた。以上の結果は V4 ニューロンの自然テクスチャ選択性が高次画像特徴量へのチューニングとして説明できるという考えを支持すると共に，自然テクスチャ知覚がどのようなメカニズムに基づいて行われるかを理解する手掛かりを与える。

（10）ヒト初期視覚野(V1/V2)および背側視覚野 V3A，V3B/KO における奥行き視情報の処理と統合

番　浩志（(独)情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター，大阪大学・大学院生命機能研究科）

私たちの視覚系は視対象を単独で処理するのではなく，空間的・時間的に近接する周辺の視覚情報との文脈，関係性も踏まえて，それらを統合的に解釈する柔軟な処理を行っています。例えば，網膜上に投影される外界の情報は 2 次元であるにもかかわらず，私たちの視覚システムは整合性のとれた豊かな 3 次元世界を即座に知覚できます。しかしながら，ヒトの後頭葉，特に初期視覚野に位置する個々のニューロンの受容野はとても小さく，空間的に限られたごく狭い範囲からしか入力を受けていません。一方で，視物体は眼前で拡がりを持ち，個々のニューロンの受容野をまたいで眼に投影されることの方が多いので，ヒトの視覚システムはばらばらに入力された情報をうまく統合する必要があります。また，ヒトの視覚システムは単一の情報に頼るのではなく，複数の「手掛かり」を同時にうまく利用していることが分かっています。では，個々のニューロンが持つ情報は脳

のどこでどのように統合され，知覚へと至るのでしょうか？

本発表では，3 次元奥行き視に焦点を当てて，この問題の解明に挑んだ研究をご報告します。特に，１．ヒト fMRI 応答の多変量類似度解析とニューラル・シミュレーションを用いて，初期視覚野 V1/V2 で抽出されたローカルな奥行き情報(両眼視差 (左右の網膜像の違い))が背側視覚野 V3A へと向けてグローバルな奥行き構造(平面の傾き)へと変換されていく過程を調べた研究と，2. ヒト fMRI デコーディング解析手法と信号検出理論，シミュレーション手法を組み合わせて，背側視覚野 V3B/KO において，両眼視差と運動視差，陰影，あるいはテクスチャの勾配といった異なる奥行き手掛かりが「融合」されていることを示した研究をご紹介します。

（11）視覚探索における脳内目標選択とサッカード眼球運動
—サッカード潜時の同時性は目標識別時刻の同時性を保証しない—

小川　正（京都大学大学院医学研究科）

日常，我々は，さまざまな視覚環境下で目標とする物体を眼球運動（サッカード）によって探している。目標物がそれ以外の妨害物と識別が容易な視覚環境ではサッカードの潜時が短く，困難な条件では潜時が長くなることから，視覚探索の難易度を測る指標としてサッカード潜時がしばしば用いられてきた。このとき暗黙裡に，「刺激が与えられてから脳内で目標が選択されるまでの時間（target discrimination time）は刺激条件（探索難易度）に応じて変化するが，目標が選択されてからサッカードが生じるまでの時間（post-discrimination interval）は一定である」という仮説が採用されている。しかしながら，この仮説が単一ニューロン活動のレベルで厳密に検証されたことはない。

そこで本研究では，一つだけ色の異なる刺激を目標とする視覚探索課題を複数の刺激条件下でサルに遂行させ，頭頂間溝外側壁領域（the lateral intraparietal are: LIP）から単一ニューロン活動を記録した。実験では，刺激輝度（Light & Dim）と目標／妨害刺激の色コントラスト（Easy & Hard）を操作して 4 種類の刺激条件をつくり，ランダムに呈示した。異なる刺激条件間では刺激の物理的特性だけでなく，探索難易度やサッカード潜時分布（平均値，試行間変動）も変化するが，後者 2 要因による影響を除外するため，サッカード平均潜時が同じになるように 2 条件（Light-Hard vs. Dim-Easy）を調整しニューロン活動を比較した。その結果，異なる 2 つの刺激条件では，課題に対する構えとサッカード潜時分布に差異がない場合でも，LIP ニューロンの target discrimination time が異なることを見出した。主として target discrimination time は目標／妨害刺激の色コントラストに，post-discrimination interval は刺激輝度に依存して変化していた。これらの結果は，異なる組み合わせの target discrimination time と post-discrimination interval によって同じサッカード潜時を生起できること，すなわち，サッカード潜時が同一であっても異なる刺激条件では目標識別時刻の同一性が保証されないことを示唆する。

（12）視覚的注意における空間特性の多重性

塩入　諭（東北大学電気通信研究所）

視覚の空間的注意は特定の場所に向ける注意であり，そのモデルの評価には，視線位置が利用されることが多い。しかし，視線からどの範囲に注意を向けるか知ることはできない。我々は，心理物理実験や視覚誘発電位計測による注意の空間的広がりを調べてきた。視覚誘発電位による計測では，注視点を中心とした円環上に並べた８つの円形刺激を用い，ERP (event related potential) と SSVEP (steady state visual potential) による方法で注意の

空間的広がりを推定した。被験者はいずれかの円形刺激に注意を向け，そこに連続提示されるアルファベットの中から標的とされる文字を検出する課題を行った。各円盤は異なる時間周波数で明滅し，それらに対する SSVEP 成分を調べた結果，注意位置で最大の振幅を示し，そこから離れるに従って振幅が徐々に低下する広帯域の空間特性を示す。一方，標的刺激に対する ERP の P3 成分を調べた結果，注意位置のみで大きな効果がある非常に狭い範囲に絞られた注意効果が得られた。同じ実験の脳波信号から求めたにもかかわらず，SSVEP では広範囲の空間特性，ERP では狭帯域の空間特性という全く異なる傾向を示した。標的文字の検出結果は，注意位置のみでチャンスレベルを上回り，狭い範囲の注意と一致した。先行研究における輝度コントラスト感度を求めた心理物理実験の結果と合わせて考えると，低次の処理過程では注意効果は広い範囲に広がるのに対して，高次の処理過程では注意位置周辺の狭い範囲に絞られていると考えられる。空間的注意は単一の空間特性を持つのではなく，処理レベルに応じて異なる特性を持つ柔軟性なシステムといえる。

（13）メラノプシン神経節細胞の非撮像系経路および撮像系経路への影響

辻村誠一（鹿児島大学大学院理工学研究科）

ヒトの網膜には錐体細胞，杆体細胞および視物質メラノプシンを含む神経節細胞の 3 種類の光受容器が存在する。メラノプシン神経節細胞は概日リズムや瞳孔の対光反射などの非撮像系経路に寄与していることが報告されている。さらに，この神経節細胞は外側膝状体から視覚野への撮像系経路にも寄与しているという報告もある。したがって，この新たな神経節細胞の脳内における機能的役割を調べることが，非撮像系経路や撮像系経路の機能を理解するうえでの重要な課題の一つとなっている。

先行研究では，様々な色の照明光を刺激光として用い，メラノプシン神経節細胞の非撮像系経路への寄与が検証されている。しかしながら，このような手法によってメラノプシン神経節細胞の機能を評価することは難しい。なぜなら，この神経節細胞と錐体，杆体細胞の分光感度曲線が波長領域で重なっているため，光刺激を与えるとメラノプシン神経節細胞を興奮させると同時に他の光受容器も興奮させるからである。メラノプシン神経節細胞の機能を調べるためには，各々の光受容器を独立に刺激することが必要である。本研究ではメラノプシン神経節細胞を他の光受容器とは独立に刺激することを可能とする多原色光源刺激装置を用いた。

瞳孔反応に関する実験では，メラノプシン神経節細胞への刺激量を変化させ，錐体細胞への刺激量は一定であるテスト刺激を用いた。メラノプシン神経節細胞起因の瞳孔径変化は，錐体細胞起因の瞳孔変化よりも大きいことがわかった。明るさ感に関しての実験でも，メラノプシン神経節細胞の刺激量のみを変化させるテスト刺激を用いた。同じ輝度および色度の刺激と比べてメラノプシン神経節細胞を刺激すると明るさ感が増すことがわかった。さらにメラノプシン神経節細胞の分光感度を考慮してコントラスト感度の時間周波数特性を調べた実験では，低時間周波数ではメラノプシン神経節細胞も錐体細胞と同様にコントラスト感度に寄与していることがわかった。

（14）視覚情報処理におけるフィルタリングとプーリング

大澤五住（大阪大学大学院生命機能研究科）

視覚系の情報処理は，多段階の階層的な神経ネットワークによって構成されている。初期視覚系においては，時空間領域における線形フィルターである単純型細胞層が第一段階としてあり，その複数の単純型細胞の出力

をプーリングする形で複雑型細胞がある。福島らのネオコグニトロンから，最近注目を浴びているディープラーニングによる高次視覚処理までを含むニューラルネットの研究では，こうしたフィルタリングとプーリングを複数回積み重ねた構造が使われている。

一方で，単一神経細胞（複数）からの記録によって視覚神経回路網を理解しようとする生理学的アプローチでは，ある層から次の層にかけて起る処理と，できあがった神経細胞やそのグループの機能的役割を見いだそうとしている。この目的のため，私の研究室では，逆相関法や LSRC (local spectral reverse correlation)法などの非線形を含む段階を含む神経回路に適用可能な逆相関法の変形版を利用して，これらのフィルタリングとプーリングの詳細を明らかにしてきた。生理学者が直面する一つの困難は，よく理論の研究者には誤解されていることが多いのだが，ある層から次の層へ行く間に起る変化が，きれいに一様には起らず，次の層にも前段の層と同様の特性を持つ細胞も存在することである。しかし，高次段階へ行くほど，平均として新たな特性が加わってくる。

高次視覚処理のさらなる解明には，フィルタリングとプーリングという観点から，これまで分っている細胞特性を整理しなおし，一般化してみることが有用ではないだろうか？両眼立体視，運動視，形状視における我々と他の研究グループの計測法と研究成果をまとめ，動物と人工的な神経回路網がなぜフィルタリングとプーリングの繰り返しになっているのかを（必ずしも答えが得られる保証は無いのだが）考察する。

５．『シナプス・神経ネットワークの機能ダイナミクス』

2014 年 12 月 2 日－12 月 3 日

代表・世話人：神谷温之（北海道大学）

所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（１）Rational design of a high-affinity, fast, red calcium indicator R-CaMP2

井上昌俊（東京大学）

（２）発達期再編成過程におけるシナプス前軸索分枝パターンの創発

八尾　寛（東北大学）

（３）抑制性神経伝達物質補充機構の解析

山下愛美（同志社大学）

（４）ストレスによる記銘障害のガラス器内再現の試み

齋藤慎一（大阪大学）

（５）成熟ラットの脊髄後角第 II 層ニューロンの興奮性および抑制性のシナプス伝達に及ぼすオキシトシンの作用

熊本栄一（佐賀大学）

（６）海馬歯状回顆粒細胞の Pattern Separation と Pattern Completion における役割

仲柴俊昭（理化学研究所）

（７）感覚神経系の回路形成の時空間制御メカニズム

河崎洋志（金沢大学）

（８）Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons

足澤悦子（生理学研究所）

（９）Relationship between aldolase C expression and functional microzones in mouse cerebellar cortex

堤新一郎（東京大学）

（10）中枢神経シナプスにおける逆行性シナプス小胞エンドサイトーシス制御機構とその役割

江口工学（沖縄科学技術大学院大学）

（11）シナプス後膜周辺における AMPA 受容体の個別のエンドサイトーシスの可視化と解析

藤井俊平（京都大学）

（12）抑制性シナプスにおける neurexin/neuroligin-2 の動態解析

栗生俊彦（徳島文理大学）

（13）Top-down input is required for precise sensory perception

村山正宜（理化学研究所）

（14）触覚学習における体性感覚皮質-運動皮質間回路の役割

宮本大祐（理化学研究所）

（15）歯状回門苔状細胞－顆粒細胞シナプスで起る長期増強は興奮/抑制バランスを強め歯状回の出力を調節する

橋本谷祐輝（東京大学）

（16）軸索終末記録による通過型シナプスでの興奮伝播様式の解析

神谷温之（北海道大学）

【参加者名】

神谷温之（北海道大学），鈴木江津子（北海道大学），大浦峻介（北海道大学），八尾　寛（東北大学），細井延武（群馬大学），大領悠介（東京大学），尾藤晴彦（東京大学），手塚　茜（東京大学），石川夏子（東京大学），堤新一郎（東京大学），橋本谷祐輝（東京大学），上阪直史（東京大学），井上昌俊（東京大学），榎本和生（東京大学），冨樫和也（東京大学），小島寛人（東京大学），持田澄子（東京医科大学），渡部文子（東京慈恵会医科大学），石川太郎（東京慈恵会医科大学），志牟田美佐（東京慈恵会医科大学），仲柴俊昭（理化学研究所），宮本大祐（理化学研究所），水田恒太郎（理化学研究所），小島寛人（理化学研究所），村山正宜（理化学研究所），林　康紀（理化学研究所），吉原基二郎（情報通信研究機構），櫻井　晃（情報通信研究機構），入江智彦（国立医薬品食品衛生研究所），大塚稔久（山梨大学），河崎洋志（金沢大学），平野丈夫（京都大学），藤井俊平（京都大学），小倉明彦（大阪大学），齋藤慎一（大阪大学），谷垣宏美（大阪大学），高橋智幸（同志社大学），御園生裕明（同志社大学），川口真也（同志社大学），山下愛美（同志社大学），堀　哲也（同志社大学），大山千尋（同志社大学），橋本浩一（広島大学），田丸政男（広島都市学園大学），熊本栄一（佐賀大学），蒋　昌宇（佐賀大学），朱　蘭（佐賀大学），栗生俊彦（徳島文理大学），江口工学（沖縄科学技術大学院大学），大町優史（沖縄科学技術大学院大学），中西節子（沖縄科学技術大学院大学），高木　博（沖縄科学技術大学院大学），堀　哲也（沖縄科学技術大学院大学），宮本愛喜子（生理学研究所），中畑義久（生理学研究所），石川達也（生理学研究所），笠井昌俊（生理学研究所），戸田拓弥（生理学研究所），中條浩一（生理学研究所），小川正晃（生理学研究所），徳岡広太（生理学研究所），森　琢磨（生理学研究所），石川理子（生理学研究所），宮下俊雄（生理学研究所），木村梨絵（生理学研究所），足澤悦子（生理学研究所），山浦　洋（生理学研究所），西尾奈々（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所）

【概要】

複雑な脳の神経ネットワークにおける情報伝達は，シナプスレベルでのダイナミックかつ精緻な調節を受ける。シナプス伝達の分子的基盤やその修飾と可塑性の機構解明を目指すボトムアップ的なシナプス研究は，神経科学の進歩に貢献してきた。本研究会には，国際的な研究成果を有する第一線のシナプス研究に関する研究者 61 名が集い，16 演題の口演発表と 14 演題のポスター発表が行われた。未発表データを含めた最新の研究成果の報告が相次ぎ，質疑応答では終始活発な討論が行われた。また研究会に先立ち，4 名の招待講演者によるシンポジウム「分子と回路をつなぐ基盤的脳研究の新潮流」を開催し，参加者の多くが引き続き参加することで活発な議論を繰り広げた。研究の現場で実験に従事する大学院生，ポスドクなどの若手研究者の参加も多く，懇親会では遅くまで議論が繰り広げられ，交流の輪を広げ親睦を深める機会となった。今年度からの試みとしてポスター発表の機会を設けたが，現在進捗中の最新の成果についてディスカッションを深める機会として好評であった。本研究会は，このような草の根的な交流から創発される若手研究者コミュニティーの支援を目指しているところでもあり，この意味でも意義深い研究会となった。また最新のカルシウム感受性タンパクの開発や光遺伝学の応用など，今後の神経ネットワーク研究のブレークスルーにつながる成果発表もあり，共同研究ネットワークの構築に向けた有意義な情報交換の場を提供するとともに，シナプス研究のフィールドの国際的優位性を改めて確認する機会となった。本研究会の二つの主要な目的，すなわち，最先端の超領域的なシナプス・神経回路の研究ネットワークの構築と，次代を担う若手研究者へのコミュニティーの継承，に向けて，有意義な研究会となった。

（1）Rational design of a high-affinity, fast, red calcium indicator R-CaMP2

Masatoshi Inoue[1,2], Atsuya Takeuchi[3], Shin-ichiro Horigane[1], Masamichi Ohkura[4], Keiko Gengyo-Ando[4], Hajime Fujii[1], Satoshi Kamijo[1,2], Sayaka Takemoto-Kimura[1,5], Masanobu Kano[3], Junichi Nakai[4], Kazuo Kitamura[3,5] and Haruhiko Bito[1,2]

（[1]Department of Neurochemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.
[2]Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST), Japan Science and Technology Agency, Tokyo, Japan.
[3]Department of Neurophysiology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.
[4]Brain Science Institute, Saitama University, Saitama, Japan,
[5]Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PRESTO), Japan Science and Technology Agency, Saitama, Japan.）

Fluorescent Ca^{2+} reporters are widely used as readouts of neuronal activities. Here, we designed R-CaMP2, a high-affinity red genetically encoded calcium indicator (GECI) with a Hill coefficient near 1. Use of the calmodulin-binding sequence of CaMKK-alpha/beta in lieu of an M13 sequence resulted in three-fold faster rise and decay times of Ca^{2+} transients than R-CaMP1.07. These features allowed resolving single action potentials (APs) and recording fast AP trains up to 20-40 Hz in cortical slices. Somatic and synaptic activities of a cortical neuronal ensemble *in vivo* were imaged with similar efficacy as with previously reported sensitive green GECIs. Combining green and red GECIs, we successfully achieved dual-color monitoring of neuronal activities of distinct cell types, both in the mouse cortex and in freely moving *C. elegans*. Together, dual imaging using R-CaMP2 and green GECIs provides a powerful means to interrogate orthogonal and hierarchical neuronal ensembles *in vivo*.

（2）発達期再編成過程におけるシナプス前軸索分枝パターンの創発

江川　遼[1]，酒井聡樹[2]，八尾　寛[1]

（[1]東北大学大学院生命科学研究科脳機能解析分野，[2]植物生態分野）

中枢神経系および末梢神経系におけるシナプス形成の発達期に共通のプロセスとして，シナプス前ニューロンがその標的細胞に作るシナプスは，いったん過剰に作られたものが選択される結果，シナプス前ニューロンあたりのシナプス形成数や標的ニューロンあたりのシナプス数が，適正な数に調整される（シナプス除去）。ニワトリ胚毛様体神経節においては，シナプス除去の結果，最終的に１つの標的ニューロンに１個のカリックスシナプスが選択される。本研究においては，ニワトリ胚毛様体神経節における軸索投射の発達過程の全体像を，*in ovo* エレクトロポレーション法，Thy1S プロモーターによる遺伝子まばら発現システム，CUBIC 法による組織透明化技術，二光子顕微鏡 3 次元イメージング，Neurolucida トレーシングなどの最先端技術を集約し，定量的に解析した。E8-14 でのプレシナプス軸索形態を比較した結果，軸索 1 本あたりの分枝数は発達に伴って減少し，E14 では E8 の 1/10 以下となった。この減少は E10-12 の期間で特に顕著であった。また，E14 における軸索の約 7 割は分枝がなく杯状シナプスを 1 つだけ持った形態で，3 つ以上の杯状シナプスを持ったものはほとんどなかった。その結果，プレシナプス軸索の形態は，ほぼ均一のパターンに収束した。

すなわち，標的細胞の競合に勝利した軸索でも一様に軸索分枝が刈り込まれており，シナプス後細胞への投射を寡占するような回路レベルでの独り勝ちがないことが示唆される。

（3）抑制性神経伝達物質補充機構の解析

山下愛美[1]　堀　哲也[1,2]　高橋智幸[1,2]
（[1]同志社大学 脳科学研究科 シナプス分子機能部門
[2]沖縄科学技術大学院大学 細胞分子シナプス機能ユニット）

神経細胞間では，シナプスを介して情報が伝えられる。シナプス前終末に活動電位が到達すると，シナプス小胞が膜融合し，中に含まれる神経伝達物質が放出される。放出されたシナプス小胞は，エンドサイトーシスされ，神経伝達物質が充填され，再利用される。この小胞リサイクリングにより，神経回路は信号のやりとりを続けることができる。神経伝達物質の再充填はシナプス小胞のリサイクリングの律速段階になっている可能性がある。

単離/再構築シナプス小胞において測定された神経伝達物質充填速度１０分近くにおよび，シナプス小胞のリサイクル時間に比べて著しく遅い。一方，ほ乳類脳スライス標本を用いた測定では，興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の充填速度の時定数が 15 秒であった (Hori and Takahashi, Neuron, 2012)。そこで今回我々は小脳スライス標本において同様の手法を用い，抑制性神経伝達物質である GABA がシナプス小胞に充填される速度を測定し，更に，この充填速度が何によって影響を受けるのかの検討を行った。

（4）ストレスによる記銘障害のガラス器内再現の試み

齋藤慎一，冨永恵子，小倉明彦（大阪大学・大学院生命機能研究科・神経可塑性生理学研究室）

私たちは，繰り返しによる記憶の長期固定過程（記銘）の細胞基盤を解析する目的で，器官保存的切片培養下の齧歯類海馬に対し，適正な間隔を置いて繰り返し 3 回 LTP を誘発すると，シナプス数の増加を伴い，数週間以上強化状態が持続する現象を見出し，これを RISE（Repetitive LTP-Induced Synaptic Enhancement）と名づけて解析している。今回，生体で記憶固定に影響を及ぼす要因の一つとして知られる過剰ストレスが, RISE 生起をも阻害することがわかった。

生後 1 週齢の新生仔から海馬を薄切し 2 週間以上培養すると，それ以降シナプス強度もシナプス数も変化しない安定状態に入る。この切片に RISE 生起刺激を加え，その 12hr 後から，過剰ストレスを模擬するグルココルチコイド投与（デキサメタゾン, Dex 1-100nM, 24hr）を行ったところ，RISE 生起が抑制された。このとき神経細胞死は起きていない。この Dex の RISE 抑制効果は，グルココルチコイド受容体阻害薬ミフェプリストンで消失した。Dex 投与による RISE 生起阻害は，RISE 生起時の樹状突起棘の「ゆらぎ増大」と「ゆらぎバイアス」を抑制することによっていた。

これらの結果は, RISE が記憶固定過程の解析モデル系としての資格を満たすことを示すと同時に，ストレスによる記憶固定障害の細胞基盤解明に有用であることを示している。

（5）成熟ラットの脊髄後角第 II 層ニューロンの興奮性および抑制性のシナプス伝達に及ぼすオキシトシンの作用

蒋　昌宇，藤田亜美，朱　蘭，熊本栄一（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座（神経生理学分野））

オキシトシン(OXY)やその受容体は脊髄後角に豊富に存在しているが，それらのシナプス伝達修飾作用は十分に調べられていない。成熟ラットから脊髄薄切片を作製し，後角第 II 層ニューロンにパッチクランプ法を適用し

て OXY 作用を調べた。OXY は内向き膜電流(脱分極)を生じる一方，興奮性シナプス伝達に影響しなかった。この膜電流は，Na^+チャネル阻害薬テトロドトキシン，AMPA 受容体阻害薬および無 Ca^{2+}液により影響を受けなかったが，高 K^+液や低 Na^+液により抑制された。この OXY 電流は, K^+の平衡電位よりも過分極側あるいは 0 mV 付近で逆転した。また，ホスホリパーゼ C 阻害薬や IP_3 誘起 Ca^{2+}放出阻害薬により抑制されたが，C キナーゼ阻害薬や Ca^{2+}誘起 Ca^{2+}放出阻害薬は作用しなかった。以上より，OXY 応答はホスホリパーゼ C と IP_3 誘起 Ca^{2+}放出を介した K^+や Na^+の膜透過性変化により生じることが示唆された。一方，OXY はテトロドトキシン感受性に自発性抑制性シナプス伝達を促進した。以上の OXY 応答は，OXY 受容体作動薬によりみられる一方，その受容体阻害薬存在下で消失した。以上より，OXY による抑制性シナプス伝達の促進はその脱分極作用によると結論される。成熟と異なり幼若のラットでは，OXY は自発性グルタミン酸放出促進により自発性抑制性シナプス伝達を促進する。OXY 作用の生後発達が示唆される。

（6）海馬歯状回顆粒細胞の Pattern Separation と Pattern Completion における役割

仲柴俊昭（理化学研究所 脳科学総合研究センター）

海馬歯状回顆粒細胞は，似た状況で起きた出来事を区別して記憶するための役割（Pattern Separation）を持つと考えられてきた。近年，成体脳での神経新生により生まれるわずかな顆粒細胞が Pattern Separation に必要である事が報告された。この結果は大部分の顆粒細胞が Pattern Separation に必要のない事を示唆するが, 実験で検証されていない。今回，神経新生由来以外の顆粒細胞と，成体で生まれた顆粒細胞のうち５週齢以降の顆粒細胞の両方から情報伝達を阻害するマウスを作製し，これらの顆粒細胞が Pattern Separation に必要のない事を示した。さらに，神経新生を除去する事を組み合わせ，神経新生由来の若い顆粒細胞が Pattern Separation に必要十分である事を示した。Pattern Separation に必要のない年をとった顆粒細胞は，一部の手がかりから素早く記憶を想起する為の役割（Rapid Pattern Completion）を持つ事を明らかにした。上記の実験結果について報告し，神経新生のある歯状回顆粒細胞は，同一神経集団にも関わらず，週齢を重ねることによって Pattern Separation から Rapid Pattern Completion へと機能を変える事を提唱した。また，この機能変換のためのモデルについても議論を行なった。

（7）感覚神経系の回路形成の時空間的制御メカニズム

河崎洋志（金沢大学・医学系・脳細胞遺伝子学講座）

視覚系や体性感覚系などの感覚神経系は，発生・発達過程における神経回路の形成メカニズムの解析に広く用いられている。形成メカニズムの全体像の理解には空間的なパターン形成の理解に加えて，形成時期の時間的制御の理解も重要である。本講演では，我々が行ってきたマウス大脳皮質の一次体性感覚野に存在するバレルの形成時期制御メカニズムの解析結果を報告した。バレルが新生仔の出生直後に生じることから出生がバレル形成を制御しているとの仮説を立てた。この仮説を検証するために人為的にマウスを早産で生まれさせたところ，出生時期に連動してバレル形成が促進されていることがわかった。おもしろいことに，ヒゲ障害バレル可塑性の臨界期および視床のバレロイド形成時期は出生時期の影響は受けておらず，出生が選択的にバレル形成時期を制御していることが示唆された。さらに出生の下流シグナルを検討したところ，セロトニン濃度が出生直後に低下していること，セロトニン濃度低下が出生の効果に必要十分であることを見いだした。これらの結果は，出生がセロトニン濃度低下を介して神経回路形成を制御するという新たなメカニズムを示唆している。

（8）Epigenetically regulated reciprocal connectivity between clonal cortical neurons

Etsuko Tarusawa[1,3], Makoto Sanbo[3], Masumi Hirabayashi[3,4], Takeshi Yagi[2], Yumiko Yoshimura[1,4]
（[1]Section of Visual Information Processing, National Institute for Physiological Sciences, National Institutes of Natural Sciences.　[2]KOKORO-Biology Group, Laboratories for Integrated Biology, Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University.　[3]Section of Mammalian Transgenesis, Center for Genetic Analysis of Behavior, National Institute for Physiological Sciences.　[4]Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies.）

In the neocortex, each neuron connects to a relatively small number of neighboring neurons in a highly specific manner to form a functional microcircuit. In the columnar structure of the postnatal cortex, neurons in a layer preferentially establish unidirectional synaptic connections with neurons in other layers that are derived from the same radial glial progenitor cell, suggesting the involvement of cell lineage in the establishment of specific connection. However, it is not known how clonal neurons are stamped with their progenitor's identity, to guide the postnatal establishment of selective connections. Here we show that neurons within the same layer also establish cell-lineage-dependent connections, and that connection specificity is predetermined by epigenetic regulation during embryonic development. To visualize clonal neurons, we generated chimeric mice by injecting induced pluripotent stem cells (iPS cells) marked with a fluorescent protein into wild-type mouse blastocysts. We then conducted dual whole-cell recordings from presumed clonal or non-clonal neuron pairs within a layer 4 barrel in cortical slices. During postnatal development, there was a transient increase in the probability of connection for clonal neuron pairs compared with that for non-clonal neuron pairs, after which many of the connections in the clonal pairs changed from being one-way to reciprocal. This high degree of reciprocity of connections between clonal cells was abolished in clonal cells lacking DNA methyltransferase 3b (Dnmt3b), which regulates gene expression. This connection specificity was also absent in clonal neurons lacking clustered protocadherins (cPcdhs); individual neurons express various isoforms of these cell-adhesion proteins, in a Dnmt3b-dependent manner. Our findings suggest that the Dnmt3b-mediated epigenetic regulation of cPcdh expression enables clonal neurons to establish cell-lineage-specific connections during postnatal development.

（９）Relationship between functional complex spike activities and aldolase C/zebrin II expression in mouse cerebellar cortex

堤新一郎（東京大学医学系研究科神経生理学教室）

小脳は aldolase C/zebrin II の発現に代表される頭尾方向の縞状の構造を示し，この発現パターンは下オリーブ核からの登上線維の投射に一致している。一方で左右方向に細い幅で complex spike を同期発火するプルキンエ細胞集団は microzone と呼ばれ，小脳の機能単位と考えられているが，縞状の分子発現と microzone との関係性は明らかになっていない。これらの関係性を明らかにするため，aldolase C の発現を可視化したマウス(aldoc-tdTomato)において，二光子イメージングを行った。結果，aldolase C の発現の境目と complex spike の同期構造の境目は単一細胞レベルで一致していた。また，感覚入力によって活性化される microzone の境目と aldolase C の発現の境目も一致していた。さらに，覚醒したマウスでは二つの隣接する microzone が協調して活動することが明らかになった。これらの結果により，aldolase C コンパートメントは複数の micorozone でできており，覚醒下ではこれらの microzone が協調して感覚運動情報を処理する可能性が示された。次に，aldolase C 発現と運動・認知機能との関連を探るため，lick/no-lick タスクを行っているマウスにおいて二光子イメージングを行う実験系を

確立した。タスクに関連した complex spike の集団活動の解析により，小脳の縞状構造の運動・認知行動における役割が明らかになることが期待される。以上の研究内容を報告した。

（10）中枢神経シナプスにおける逆行性シナプス小胞エンドサイトーシス制御機構とその役割

江口工学[1]，高橋智幸[1,2]
（[1] 沖縄科学技術大学院大学・細胞分子シナプス機能ユニット
[2] 同志社大学大学院・脳科学研究科・分子細胞脳科学分野）

シナプス前末端からの神経伝達物質の放出は，シナプス小胞の前末端膜への融合によって起こる。前末端膜と融合したシナプス小胞はエンドサイトーシス機構により前末端内に取り込まれ，新たなシナプス小胞として再生される。高頻度の神経伝達では多数のシナプス小胞が前末端膜に融合して消費されるため，シナプス伝達を長時間維持するためには効率の良い小胞再生機構が必須である。しかしながら，どのような仕組みで融合したシナプス小胞数を検出し，その大きさに応じたエンドサイトーシス速度を実現しているかは不明であった。我々はラット脳幹巨大シナプス calyx of Held において，シナプス前末端内 PKG がエンドサイトーシスを加速していることを明らかにした。PKG はシナプス後細胞から放出された NO による逆行性シグナルによって活性化し，また PKG は small GTPase のひとつである RhoA および Rho 関連プロテインキナーゼ（Rho キナーゼ）を活性化していることが明らかとなった。また我々は，Rho キナーゼが前末端内の PIP_2 量を増加させることでエンドサイトーシスを加速していることを見出した。この NO/PKG/Rho キナーゼ/PIP_2 による小胞再生制御機構は後細胞の活性に応じて働くことから，放出された神経伝達物質の量（＝融合した小胞数）を前末端に知らせる役割を担っていると考えられる。

（11）シナプス後膜周辺における AMPA 受容体の個別のエンドサイトーシスの可視化と解析

藤井俊平，田中洋光，平野丈夫（京都大学理学研究科 生物物理学教室）

AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA 受容体) はシナプス後膜内外を移動し，このダイナミクスによる受容体数の増減が，長期増強 (LTP) や長期抑圧 (LTD) といったシナプス伝達効率の変化に重要と考えられている。シナプス後膜周辺にはエンドサイトーシス関連分子が集積する領域があり，シナプス伝達効率の調節に深く関わっていると考えられている。シナプス後膜周辺における個別のエンドサイトーシスの観察は，シナプス可塑性発現時の受容体動態の全容を解明する上で重要である。

私たちは，ガラス面にシナプス後膜の形成を誘導するニューレキシンをコートし，その上に海馬神経細胞を培養することで，シナプス後膜様の構造を全反射顕微鏡の観察領域に形成させ，シナプス後膜周辺の蛍光標識した受容体を高 S/N 比で観察する実験系を構築した。さらに，pH 感受性蛍光タンパク質の Super Ecliptic pHluorin で標識した AMPA 受容体を神経細胞に発現し，細胞外環境の pH を 6.0 と 7.4 に断続的に変更することで，pH を 6.0 に変更する直前に細胞内に取り込まれた小胞内の AMPA 受容体を可視化することに成功した。この系を用いて, LTD を誘導する NMDA 投与刺激を行ったところ，シナプス後膜周辺における刺激依存的なエンドサイトーシス頻度の増加が観察された。

（12）抑制性シナプスにおける neurexin/neuroligin-2 の動態解析

栗生俊彦[1]，定本久世[1]，柳川右千夫[2]，小西史朗[1]
（[1]徳島文理大・香川薬・薬理，[2]群馬大大学院・遺伝発達行動学）

Neuroligin-2 は，抑制性シナプス後部に特異的に局在する細胞間接着分子であり，シナプス前部に局在する neurexin とシナプス間隙で結合して，シナプスの前部と後部を繋ぎとめている。neurexin/neuroligin-2 複合体は，抑制性シナプス形成において，軸索と樹状突起の接続を物理的に安定化させる働きがある。また，これらの分子を過剰発現あるいは発現抑制することにより，抑制性シナプス後電流の振幅が変化することが示されている。これらのことから，neurexin/neuroligin-2 複合体は，抑制性シナプス形成やシナプス伝達効率の調節に重要な役割を果たしていると考えられる。そこで，神経細胞内での neurexin/neuroligin-2 の発達・神経活動依存的な局在変化を明らかにするために，３種類（青，赤，黄）の蛍光蛋白質および蛍光融合蛋白質を培養海馬神経細胞に発現させて，シナプスの形態と neurexin/neuroligin-2 の動態とを同時に観察する実験系の確立を試みた。

（13）Top-down input is required for precise sensory perception

村山正宜（理化学研究所）

知覚情報は脳の多様な領域で分散・逐次処理されている可能性を鑑みると，知覚の神経基盤の全容解明には，感覚領域だけでなく，それ以外の脳領域からの神経活動記録を行う必要がある。我々は，新皮質膜電位イメージング法を用い，マウス後肢の電気刺激によりどの新皮質領域で神経活動が誘起されるのかを調べた。他の先行研究と同様に，後肢刺激により，まず，後肢-第一体性感覚野が腑活化した。これに加え，さらに我々は，前頭野に位置する高次運動野が活性化することを見出した。この結果は，感覚野と運動野とが協働して知覚を担っている可能性を示す。次に我々は，この 2 領域回路がどのような生理学的特性を示すかを，神経生理学的手法と薬理学的手法とを用いて探索した。我々は，知覚情報は，まず第一体性感覚野で処理された後，高次運動野に伝達され，その情報がまた第一体性感覚野にフィードバックされる反響回路を見出した。これらイメージング法と電気記録法により，知覚に関わる情報は感覚野と高次運動野で形成される反響回路上を伝播していることを見出した。

（14）触覚学習における体性感覚皮質-運動皮質間回路の役割

宮本大祐（理化学研究所）

動物はアクティブに感覚情報を受容し，経験した情報を学習・記憶する。歩行や走行中には，自らの動きによって生じるアクティブな触覚が生じる。しかし，触覚学習試験の不足のために，アクティブな触覚による学習のメカニズムは解明されていない。そこで，私は触覚を用いる物体再認試験試験である，物体-床面認識試験を構築した。この試験は，床面の質感を触覚手がかりとして，マウスに２つの同一の物体を弁別させる。一日目に，1 種類の床面のみを自由探索させて経験させると，二日目において経験した床に比べて新奇の床において長時間物体探索した。この学習は，暗室下においても成立したため，マウスは視覚手がかりではなく触覚手がかりを使って学習していると考えられる。どの触覚器官が関与するかを検討するために，光遺伝学的に後肢の一次体性感覚皮質 (S1) を抑制した。学習期間において S1 を抑制すると，学習成績が低下した。S1 は二次運動皮質 (M2) と相互直

接投射している。M2 は運動の計画や準備に重要な皮質領域である。S1-M2 経路又は M2-S1 経路を光遺伝学的に抑制した場合も，学習成績が低下した。これらの結果は，体性感覚−運動皮質間の相互直接投射が触覚的な質感を弁別させる感覚学習試験に重要であることを示唆する。

（15）歯状回門苔状細胞−顆粒細胞シナプスで起る長期増強は興奮性/抑制性バランスを変え歯状回の出力を調節する

橋本谷祐輝[1,2]，Andres E. Chavez[1], Pablo E. Castillo[1]
（[1]Dominick P. Purpura Department of Neuroscience, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY,
[2]東京大学大学院医学系研究科・神経生理学）

歯状回門に位置するグルタミン酸作動性の苔状細胞は歯状回の顆粒細胞から入力を受け，さらに顆粒細胞に出力することでポジティブフィードバックループを形成する。苔状細胞はさらに，歯状回門の抑制性ニューロンともシナプス結合し，この抑制回路を介して顆粒細胞とフィードフォワード抑制を形成する。これまで苔状細胞が記憶・学習に寄与することが示唆されてきたが，シナプスレベルでの詳しい解析は行われてこなかった。本研究では，苔状細胞−顆粒細胞シナプスにおいて長期のシナプス可塑性が誘導されるかどうか検討を行った。

その結果，苔状細胞−顆粒細胞シナプスにおいて NMDA 受容体非依存的な LTP が観察された。この LTP は，シナプス後部での Ca^{2+}濃度上昇とシナプス前部での cAMP/PKA シグナルが必須であることがわかった。さらに，この LTP は苔状細胞からの直接の入力では誘導されたが，フィードフォワード抑制からの入力では変化が見られなかった。さらに，この直接入力で LTP が起ると，強い抑制のため苔状細胞からの入力で全く発火しなかった顆粒細胞が容易に発火することが観察された。以上の結果から，苔状細胞−顆粒細胞シナプスで起る LTP が興奮性／抑制性バランスを変化させ，顆粒細胞の出力を調節することが明らかになった。

（16）軸索終末記録による通過型シナプスでの興奮伝播様式の解析

神谷温之（北海道大学医学研究科　神経生物学分野）

中枢神経系における軸索はきわめて細く，電気生理学的な解析を阻んできた。これに対し近年，軸索からの直接記録の試みにより，分子レベルで軸索興奮性を記述する研究が急速に進展している。中枢軸索の多くは，通過型シナプスを構成する多終末型軸索としての構造をもち，軸索終末部では伝導ブロックが生じる可能性も指摘されている。実際の脳内の通過型シナプスで興奮伝播が種々の条件での局所的，活動依存的な調節を受けるかについて，大型の軸索終末が通過型シナプスを構成する海馬苔状線維を用いて検討した。苔状線維の形態と電気的特性を模した多コンパートメントモデルを改良し，より生体内に近い条件で興奮伝播様式のシミュレーション解析を行った。また，ルースパッチクランプ法による苔状線維軸索終末からの単一放電（ユニット）記録を行い，苔状線維軸索終末の興奮性について直接的に検証を試みた。マウス海馬スライス標本において，苔状線維軸索の起始細胞である顆粒細胞を電気刺激すると，軸索終末部からは全か無かの法則に従う活動電位が記録され，この応答はテトロドトキシンの投与により消失した。海馬苔状線維では軸索終末部にも高密度の電位依存性ナトリウムチャンネルが存在し，高い興奮性を有すると考えられた。

６．行動システム脳科学の新展開

2015 年 1 月 9 日－1 月 10 日

代表・世話人：星　英司（東京都医学総合研究所）

所内対応者：南部　篤（生体システム）

（１）異なる行動システムに関わる小脳の領域区分の霊長類と齧歯類の間での相同性

杉原　泉（東京医科歯科大学）

（２）皮質線条体投射と皮質視床下核投射の相互関係を探る

苅部冬紀（同志社大学大学院）

（３）サル脊髄損傷後の運動機能回復における RGMa の役割

中川　浩（京都大学　霊長類研究所）

（４）運動駆動細胞群の筋シナジー創出機構

大屋知徹（国立精神・神経医療研究センター）

（５）サッケード眼球運動系における上丘間交連性結合の機能的意義

高橋真有（東京医科歯科大学）

（６）大脳－小脳連関における小脳の出力形成メカニズム

石川享宏（東京都医学総合研究所）

（７）基底核と小脳における時間情報

國松　淳（北海道大学）

（８）サル黒質網様部における，前部と後部での情報表現の違いについて

安田正治（関西医科大学）

（９）行動選択における視床線条体路の役割

小林和人（福島県立医科大学）

(10) 運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球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（生理学研究所）

(11) 到達運動における帯状皮質運動野の役割　－意欲と外的刺激に基づく動作発現－

山形朋子（東京都医学総合研究所）

(12) 遅延反応課題における前頭前野背外側部・運動前野・後頭頂皮質の役割分担
－経頭蓋磁気刺激による機能阻害実験

中村晋也（東北大学大学院）

(13) 眼の動きで生じる視覚ブレを補正して安定した視覚世界を獲得する仕組み

稲場直子（京都大学）

(14) 前部帯状皮質と外側手綱核における報酬履歴と行動切替えの神経表現

川合隆嗣（筑波大学）

(15) 眼球運動による視覚探索　－LIP 野の機能的役割－

小川　正（京都大学）

【参加者名】

星　英司，山形朋子，石田裕昭，横山　修，佐野暢哉，石川享宏，赤石　黎，中山義久（東京都医学総合研究所）　安田正治（関西医科大学），小川　正，熊谷希衣子，稲場直子，田辺創思（京都大学），高田昌彦，井上謙一，

中川　浩，安河内竜二（京都大学霊長類研究所），加藤荘志（広島大学大学院国際協力研究科），関　和彦，大屋知徹（国立精神・神経医療研究センター），松本正幸，川合隆嗣（筑波大学），杉原　泉，小野里　尊，高橋真有（東京医科歯科大学），大村吉幸（東京大学），中村晋也（東北大学），藤山文乃，苅部冬紀，中野泰岳，呉 胤美，水谷和子（同志社大学），小林和人（福島県立医科大学），田中真樹，吉田篤司，國松　淳（北海道大学）

【概要】

システム脳科学研究の成果により，各脳部位の情報表現と機能的役割に関する理解は大きく前進した。そこで，脳機能のシステム的理解をさらに深めるための研究展開を目指して，「新技術」と「神経ネットワーク」のキーワードのもと，本研究会は開催された。本研究会は二本の柱からなっている。第一に，分子生物学的手法，経路選択的操作，経頭蓋磁気刺激，薬物微量注入などの「新技術」によってはじめて明らかとなった知見を発表してもらった。第二に，大脳皮質，小脳，大脳基底核といった各自が日々取り組んでいる脳部位を中心とした研究成果を発表することに留まらずに，その脳部位の機能を脳全体の「神経ネットワーク」の中に位置づけてもらった。各発表の後には，演者が総括した神経ネットワークの観点や新技術による知見の観点から，演者と聴衆が一体となって熱い議論が展開された。２日間にわたるブレインストーミングによって，革新的な技術を用いて神経ネットワーク的な観点から脳機能を理解しようとする機運を生み出すことができた。

（1）異なる行動システムに関わる小脳の領域区分の霊長類と齧歯類の間での相同性

杉原　泉（東京医科歯科大学・システム神経生理学分野）

近年，ヒトでのイメージング実験，マカク（ニホンザルなど）での行動実験，齧歯類での遺伝学的手法を交えた様々な実験の手法がそれぞれ発展し，それらを統合して脳研究を進めることが可能となっている。そのためには，霊長類と齧歯類との間での脳部位と神経回路の相同性を把握することが重要である。

運動機能と非運動機能の制御に重要な小脳は哺乳類間での相同性が高く，前から後ろへ 10 小葉（第 I～X 小葉）からなる小葉構造（Larsell，1950 年代），および，正中から外側へ ABCD と分類される縦縞構造は広く哺乳類に共通すると考えられている。しかし，小脳の重要な特徴である機能局在の部位特異性に関しては，霊長類と齧歯類の間での共通性が不明の部分も多く，特に，近年霊長類で知られてきた非運動機能に関する領域が齧歯類でどうなっているのかは明らかでない。

哺乳類小脳半球部の機能局在の特徴として，体性運動機能領域が第 IV～VI 小葉外側部および第 VIIB～VIII 小葉外側部と前後に分裂して二重に存在する。さらに，ヒトやマカクで明らかになった特徴として，その間にはさまれた crus I および crus II と呼ばれる半球部で発達している 2 小葉に，自閉症とも関連する非運動機能の領域が存在する。crus I および crus II の入出力連絡は，その間では共通性が高いが，前後に隣接する第 VI 小葉や第 VIIB 小葉の外側部とは異なっている。この非運動機能領域が齧歯類の小脳においてどのように表現されているかを確かめるため，ラットとマーモセットの小脳において，小葉構造を連続切片から詳細に観察し，さらに小葉ごとの入出力軸索投射パタンを解析した。マカクとヒトの小脳の小葉構造も参照した。

crus I がすべての小脳で半球部としては最も外側に張り出す小葉であった。しかし，その後に位置する crus II の命名に関して，動物間での不一致が示唆された。軸索の投射パタンを見ると，ラットにおいては，橋核からの苔状線維，下オリーブ核からの登上線維，プルキンエ細胞軸索のいずれをみても crus I と crus II とは異なる投射パタンをもち，crus II の投射パタンは，しばしば，crus I の前に位置する第 VI 小葉外側部と crus II の後に位置するは第 VIIB 小葉外側部との間に共通性が認められた。マーモセットの登上線維投射においても，crus II の命名に依存して，ラットと同様の結果となった。

以上の結果は，齧歯類小脳で crus I と命名された小葉が，ヒトとマカクでの crus I および crus II の両者と相同

であることを示す。齧歯類小脳の crus I に非運動機能領域が局在することが示唆される。また，ヒト小脳における crus I および crus II の相対的巨大化が，これまでの認識よりもさらに大きいものであることが示唆される。

（2）Relationship between cortico-striatal and cortico-subthalamic projections from the primary and secondary motor cortices

Fuyuki KARUBE（Graduate School of Brain Science, Doshisha University.）

Recent experiments have revealed complicated activities of the basal ganglia neurons during behavior, which are not well explained by a simple model of the direct and indirect pathways. Thus, it is requested researches on more minute neural circuits to explain actual complicated behaviors.

Here we re-examined anatomical circuitry of the rodent BG, focusing on cortical projections and subregions of the each BG nucleus. Cerebral cortex provides massive excitatory inputs to the striatum and subthalamic nucleus (STN), and affects the BG circuitry. Calcium binding protein calbindin-D28K (CB) is known to be expressed heterogeneously among striatal projection neurons, showing CB-immunopositive (matrix) and immunonegative (patch) components. Globus pallidus external segment (GPe) can be also divided into CB-expression subregions that reflect the striato-pallidal terminal distribution. Here we used CB immunohistochemistry to identify the subregions of the BG nuclei to uncover how cortical projections from the primary and secondary motor areas relate to the BG circuitry.

Firstly, we found that the distinct cortical areas differentially innervated both the striatum and STN. The cortico-striatal terminal distribution partially related to the CB expression pattern of the striatum. Secondary, the pallidal projection was evaluated by a small injection of a neural tracer in the CB-subregions of GPe. Each GPe subregion possessed characteristic projection patterns toward both up- and down-streams of the BG. In addition, STN subregions distinguished by either cortical or GPe innervation patterns seemed to be well matched with each other, namely, the STN subregions innervated by the frontal (no-motor) cortical area mainly received pallidal projections from the CB-immunopositive GPe, whereas the central STN subregion was often innervated by the primary motor cortex and the CB-immunonegative GPe subregion.

These data suggest that topographic organization of cortico-BG projections could well correlated with that of the intra-BG micro circuitry. These correlated circuits could contribute to control coordinated behaviors efficiently.

（3）サル脊髄損傷後の運動機能回復における RGMa の役割

中川　浩 [1]，二宮太平 [1]，山下俊英 [2]，高田昌彦 [1]
（[1] 京都大学霊長類研究所 統合脳システム分野
[2] 大阪大学大学院医学系研究科 分子神経科学）

精密把持などの手指巧緻動作は，ヒトやマカクザルなど霊長類特異的な動きであり，主に皮質脊髄路によって制御されている。そのため，皮質脊髄路の損傷を伴う脊髄損傷では手指の巧緻動作が著しく障害される。成熟した中枢神経がいったん傷害を受けると神経機能の回復は極めて困難になるが，その要因のひとつとして神経再生阻害因子と呼ばれる神経軸索の再生を阻害する分子の存在がある。我々は，これまで脊髄損傷後に損傷部位の周囲に増加する Repulsive guidance molecule-a (RGMa)を阻害することにより神経可塑性が惹起され，運動機能の回復が促進されることをげっ歯類において確認している。しかしげっ歯類とヒトでは皮質脊髄路の構造（脊髄内投

射様式）や，手指の巧緻機能の違いなど異なる点も多い。そこで，本研究は，サル脊髄損傷後の RGMa 阻害による手指巧緻動作の回復と皮質脊髄路の神経可塑性変化について検討した。

脊髄損傷は，右 C７領域の片側２／３切断モデルを作製した（*Macaca mulatta*；３－４歳）。RGMa 阻害には中和抗体を用い，抗体の投与については，オスモティックポンプを用いて損傷部位の周囲に直接注入し，損傷直後から４週間にわたって持続投与を行った。行動学的解析には，Brinkman board test，Reaching/grasping task，Reaching/grasping task 時の精密把持の割合（%）を用い，損傷後３日目より評価を開始し，週に２回，１５週まで行った。皮質脊髄路の可視化は，順行性トレーサーである BDA を左大脳皮質運動野に注入して行った。行動学的解析の後，再編された皮質脊髄路が手指運動に直接寄与しているか否かを検討する目的で，左大脳皮質運動野の手指領域を皮質内微小電気刺激法を用いて同定した後，同部位に神経活動を阻害する薬剤である muscimol を注入した。

免疫組織学的解析の結果，サル脊髄損傷後１０日目において損傷周囲に RGMa の増加がみられ，発現細胞のひとつにマイクログリア／マクロファージを同定した。脊髄損傷後の RGMa 阻害による運動機能変化は，コントロール群に比べ手指巧緻動作の回復が促進された。BDA を用いて可視化した皮質脊髄路の可塑性変化については，RGMa 阻害により明らかに促進された。muscimol の注入実験では，機能回復された患側手指の巧緻動作が再度障害された。

本研究結果より，サル脊髄損傷後の RGMa を阻害することにより神経可塑性の促進および運動機能回復に有用であることが考えられた。

（4）運動駆動細胞群の筋シナジー創出機構

大屋知徹[1]，武井智彦[2]，関　和彦[1]
（[1]国立精神・神経医療研究センター モデル動物開発研究部
[2]Laboratory of Integrative Motor Behaviour, Queens University, Kingston, Canada）

筋シナジーは神経系がある動作に協働的に働く筋を構造化，最適化した機能単位であるとされ，表面筋電図の統計的解析から得られるため，その非侵襲性，簡便さから精力的に研究が進んでいる。一方で，その機構を担保する神経的基盤について直接的な証拠を示す試みはほとんどなされていない。神経系がそうした機能的単位をどのように生み出すのかについて，脊髄運動ニューロンに投射する一つ上の階層，運動駆動細胞群(premotor system)と呼ばれる，大脳皮質一次運動野の corticomotoneuronal (CM) cell 群と，脳幹赤核にある rubromotoneuronal (RM) cell 群を抽出し，その相関構造と筋シナジーとの関係を探った。CM, RM cell などの premotor neuron の同定には神経細胞と筋との機能的結合については，マカクザルが覚醒下で随意的に上肢運動（到達把握運動，小さい粒の精密把握，口元へ粒を運ぶ，離す）を行っている最中に各領域から単一神経細胞活動を電気生理的手法によって単離，記録し，同時に上肢全体の 26 筋の活動を記録した後，スパイク加算平均法 によって神経と筋との機能的結合を判定した。そして各領域の投射パターンを筋，神経細胞の次元で別々に階層的クラスタ解析を用いて筋投射構造を可視化した。上肢運動に関わる筋シナジーの抽出においては筋活動を Non-negative matrix factorization (NMF)アルゴリズムを用いた。

結果として 2 つの異なる領域の premotor system は対照的な投射構造を持つことが明らかになった。赤核の RM セルは肩の前後方向の動きに関して相反な作用を持つ筋群，屈曲反射に関わる筋群などの大きなクラスタを形成する一方で，CM セルのクラスタは小さなパッチワーク状のモザイク構造を形成していた。また，2 つの premotor system は細胞の次元では異なるクラスタ構造を持つのにもかかわらず，筋の次元におけるクラスタ分類構造は NMF で得られた８つの筋シナジー構造によく近似する。このことから，本研究は上肢運動を駆動する筋シナジーの神経的実体が２つの独立した premotor system に存在することを示した。その構成の違いは RM system は脊髄にある相反抑制回路や屈曲反射回路などを用いて粗大な筋

出力を最適化するのに対し，CM system は運動ニューロンへの直接投射を用いて精緻な筋出力を創成しているといえる。こうした違いは脳幹と大脳皮質という系統発生的に新旧それぞれの premotor system の運動出力の特性を反映している。このように運動駆動細胞が筋シナジーを形成し，上肢運動の冗長性解決の要となっていることが明らかになりつつある。

（5）サッケード眼球運動系における上丘間交連性結合の機能的意義

高橋真有（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム神経生理学）

左右上丘間の交連性結合の存在は，解剖学的には古くから知られていたが，その機能的役割については，“Sprague effect”に関連する研究から，上丘間交連性結合は全て抑制であり，視覚機能に関係していると長い間考えられてきた。最近，我々は，左右上丘間には抑制性結合だけではなく，強い興奮性結合が存在することを明らかにした。さらに，これらの交連結合は，上丘出力細胞に対して存在することから，眼球運動に関与しており，興奮結合は主に垂直性サッケード発現に重要な働きをしていることを明らかにした。

本発表では，左右上丘間の興奮および抑制性結合の性質とその機能的役割について述べる。実験は，クロラロース麻酔したネコで，上丘出力細胞より細胞内記録を行い対側上丘の内側と外側を電気刺激した効果を解析した。上丘出力細胞は，それぞれ水平，垂直系サッケードの中枢である，橋の抑制性バースト細胞領域，中脳のフォレル H 野(ri MLF に相当)に投射するかにより分類した。上丘尾側の出力細胞は，対側上丘から抑制のみを受けていた。一方，上丘頭側部の内側サッケード細胞は対側上丘内側から強い興奮，外側から抑制を受け，外側サッケード細胞は外側から強い興奮，内側から抑制を受けていた。また WGA-HRP 注入実験と GABA 免疫染色との２重染色を用いた形態学的解析の結果は，この生理学的方法による結論を支持した。以上の結果から，左右上丘間の交連性抑制は一側の内側と対側の外側の間に存在し，交連性興奮は左右の上丘の内側―内側の間と，外側―外側の間に存在することが明らかとなった。

従来サッケード系は，橋の病変で水平系のみが，中脳の病変では垂直系のみが障害されることから，水平・垂直の直交座標系からなると考えられてきた。水平系では，右向きと左向きサッケード系の間に相互抑制が存在することが証明されている。一方，垂直系では，その神経回路が明らかでなく，上向きと下向きサッケード系の間に相互抑制が存在すると暗黙裏に考えられてきた。本研究により，上丘の一側上向きと対側下向きサッケード領域間の交連性抑制は，VOR の一側前半規管系と対側後半規管系の前庭動眼神経系に存在する交連性抑制と同じパターンであった。このことから，サッケード系が水平・垂直の直交座標系でなく，前庭動眼系と同様に三半規管座標系を用いていることが明らかとなった。ところが，サッケード等の随意性眼球運動では，眼軸回りの回旋は生じず，水平，垂直の眼球運動しか起らないことが知られており，「Listing 法則」と呼ばれている。VOR はその例外であることが知られているので，矛盾が生じてしまう。上丘間興奮性交連結合が Listing の法則の成立に寄与していることを議論する。

（6）大脳－小脳連関における小脳の出力生成メカニズム

石川享宏（公益財団法人東京都医学総合研究所 運動失調プロジェクト）

小脳は精密な運動制御において重要な役割を果たしており，大脳運動野への出力核である歯状核の神経細胞は，例えばサルの上肢運動において運動開始に先行するバースト活動を示す。一般に小脳核神経細胞は苔状線維および登上線維から興奮性入力を受け，プルキンエ細胞から抑制性入力を受けると理解されている。しかしながら，

歯状核においては苔状線維入力は非常に弱く，登上線維は発火頻度が極めて低いため，これらの興奮性入力によって運動時に見られるバースト活動を説明することは難しい。そこで本研究では，プルキンエ細胞による抑制性入力と歯状核の興奮を結び付けるメカニズムを想定し，これを明らかにするための実験を行った。手首運動課題を遂行中のニホンザル小脳からプルキンエ細胞，歯状核細胞および苔状線維の単一ニューロン活動を記録し，それらのパターンを比較した結果，プルキンエ細胞においては運動時に単純スパイク活動が減少するタイプが大多数であることを見出した。単純スパイク活動が増加するタイプも観察されたが，活動が変化するタイミングを比較したところ，単純スパイク活動が減少するタイプが有意に先行していた。一方の歯状核神経細胞は，先行研究と同様に運動時に強いバースト活動を示し，それに先行する活動の抑制を示す細胞はごく少数であった。以上の結果は，高頻度の自発発火を示すプルキンエ細胞の活動が一時的に減弱したことにより，歯状核神経細胞が恒常的な抑制から解放され，脱抑制によって活動を増加させたものと解釈できる。苔状線維は平行線維を介してプルキンエ細胞および抑制性介在細胞に興奮性入力を送るが，その活動は運動時に非常に強い増加を示していたことから，多くのプルキンエ細胞に見られた強力な抑制は介在細胞，特にバスケット細胞によるものと考えられる。以上の実験結果を踏まえ，大脳小脳の出力生成メカニズムに関する新たなモデルを提案する。

（7）基底核と小脳における時間表現

國松　淳（北海道大学大学院・医学研究科）

私たちが行動するために重要な要素のひとつは，「いつ」運動を開始するかである。これまで前頭葉背内側部（参考文献 1,2）や線条体（3,4），淡蒼球（5），視床（6,7）といった多くの領域が自発的な運動の開始に関わっていることが報告されてきたが，その時間制御についてはいまだはっきりとしていない。その理由のひとつは，「運動を開始すること」と「タイミングを計ること」が明確に切り分けられないことにある。どのような課題であろうと，被験者が正しいタイミングを計っていることを客観的に確認するためにはなにかしらの運動によって答えてもらう必要がある。そのため，時間の制御だけを抜き出して調べようとしても，どうしても運動制御の要素が入ってしまう。そこで，私たちは様々な長さの時間再現課題を用いることで，タイミングを計る神経機構に焦点を当てて研究を行った。

時間情報処理には，基底核と小脳が関与することが知られている。基底核は数秒から数分までの範囲の時間をモニターし，小脳は数百ミリ秒の範囲での運動の調整や感覚予測に必要であるとされてきた (8)。しかし，異なった時間間隔の情報処理の際の神経活動を両領域で直接比較した研究はなく，具体的な神経メカニズムはわかっていない。これを調べるために，私たちは様々な長さの時間再現課題をサルに行わせ，そのときの歯状核および尾状核の神経活動を調べた。その結果，どちらの領域からも運動に先立って徐々に増加する活動が記録された。また，小脳核のニューロンは再現時間に関わらず，一定の活動を示したが，基底核のニューロンは再現時間によって活動の時間経過を変化させた。これは，時間情報処理において，これら２つの皮質下構造がこれまで考えられてきたものとは異なった役割を担っていることを示している。小脳の信号は，自発運動のタイミングの微調整に重要であり，一方の基底核の信号は数百ミリ秒以上の間隔を計る際に経過時間を表現し，自発的な運動のタイミングを調節している可能性が示唆される。

（8）サル黒質網様部における，前部と後部での情報表現の違いについて

安田正治（関西医科大学，生理学第二講座）
彦坂興秀（Laboratory of Sensorymotor Research, National Eye Institute, National Institute of Health）

我々の視線は価値のある物体へ強く引き寄せられる。こうした物体選択には，2 種類の眼球運動が関わると考えられる。ひとつは, 状況に応じた高価値な物体 (flexible value) を選び出す，探索的な眼球運動，もうひとつは，環境に左右されず一定の価値を保つ物体 (stable value) への反射的な眼球運動である。こうした物体価値に基づく眼球運動には，大脳基底核が重要な役割を果たす。特に，その入力部にあたる尾状核 (CD) は，物体の flexible value と stable value を, その頭部 (CD(H))と尾部 (CD(T)) において分離して表現している (Yamamoto et al. 2013, Kim&Hikosaka 2013)。さらに，CD(H)と CD(T)それぞれの領域の活動を抑制すると，探索的な眼球運動と自動的な眼球運動それぞれに障害が起きることも明らかにされている (Kim&Hikosaka 2013)。それでは，こうした二種類の物体価値の情報は，大脳基底核の出力部である SNr においても，分離して処理されているのだろうか？それとも二つの情報は SNr で統合されるのだろうか？そしてそれらの情報は，直接上丘へと送られるのだろうか？これらの疑問に答えるため，我々は CD の各領域から入力を受ける SNr ニューロン，上丘に出力を送る SNr ニューロンを電気生理学的に同定し，それらの物体価値表現を調べた。その結果我々は, SNr ニューロンが二つのグループに分類されることを発見した。ひとつは，1)CD(T)から直接入力を受け取り，後部背外側部 SNr (cdlSNr) に局在するニューロン群で，そのほとんどが物体の stable value を表現していた。そしてもうひとつは 2)CD(H)から直接入力を受け取り, 前部腹内側部 SNr (rmvSNr) に局在するニューロン群で，flexible value を優先的に表現していた。また，rmvSNr，cdlSNr 両領域の多くのニューロンが，上丘へ直接投射していた。これらの結果は，物体の flexible value，stable value それぞれが，CD(H)－rmvSNr－上丘経路と CD(T)－cdlSNr－上丘経路路によって分離して処理されていることを示唆している。

我々はさらに, 各経路における信号伝達速度を計測し，CD(T)－cdlSNr－上丘経路における信号伝達速度が，CD(H)－rmvSNr－上丘経路におけるそれよりも有意に速いことを見出した。このことは，反射的な眼球運動と探索的な眼球運動の発現が，処理速度の異なる二つの神経回路によって別々に行われている可能性を示唆している。.

（9）行動選択における視床線条体路の役割

小林和人（福島県立医科大学・生体機能研究部門）

われわれの脳は, 学習や経験に依存して行動を獲得し，環境に応じて適切な行動を実行する。その環境に変化がある場合，既得の行動は新しい行動に切り替えられる。道具的学習は，行動の結果得られる強化因子が動物の行動に影響を与える学習の様式である。道具的学習の機構の解明において，特定の遺伝子や細胞タイプの機能を改変した動物モデルは有益な実験系を提供する。我々の研究グループは，独自の遺伝子改変技術を利用して，背側線条体を中心とする大脳基底核回路に焦点をあて，刺激を弁別する行動の獲得や実行，また，行動の柔軟な切り替えに関わる脳内の神経ネットワークの仕組みについて研究を進めてきた。

背側線条体は，大脳皮質領野や視床髄板内核からグルタミン酸性の入力を，また中脳腹側領域からドーパミン性の入力を受ける。これらの入力は，学習や行動柔軟性に関わる重要な情報をコードすると推測されているが，皮質線条体路や黒質線条体路に比較して，視床線条体路の役割については十分な研究が進んでいない。本研究では，背側線条体に投射する視床線条体路のうち，束傍核(PF)と中心外側核(CL)に由来する神経路の行動生理学的な役割の解明に取り組んだ。この目的のため，イムノトキシン神経路標的法を利用して，それぞれの経路を選択

的に除去したマウスを作製し，刺激弁別学習（視覚依存性）の獲得と実行に与える影響を解析した。ヒトインターロイキン-2 受容体(IL-2Rα)遺伝子をコードする高頻度逆行性遺伝子導入(HiRet)ベクターをマウス背側線条体に注入し，線条体に投射する神経路に逆行性に遺伝子導入を行った。次に，組換え体イムノトキシンを PF あるいはCLに注入し，視床線条体神経路を選択的に除去した。経路の除去は，刺激依存性の電気応答の消失によって確認した。これらの神経路除去マウスは，自発運動，メタンフェタミン誘導性の運動亢進，運動学習には変化を示さなかった。一方，PF 由来の視床線条体路の除去は，弁別学習の獲得の障害を示し，正反応時間の延長や無反応率の増加も認められた。学習の実行した後に同じ経路を除去したところ，弁別学習の正答率にのみ障害が現れた。また，CL 由来視床線条体路の除去は，同じ学習課題の獲得には影響しなかったが，学習獲得後の除去によって，一過性に正答率が低下するとともに，反応時間の継続的な延長が誘導された。これらの結果から，学習の獲得期において，PF 線条体路が反応の正確性と時間の制御に必須の役割を持つこと，また，学習の実行期においては，PF 線条体路は反応正確性の制御に関わるとともに，CL 線条体路がその制御に補足的な役割を持ち，CL 線条体路は反応時間の制御にも重要な役割を持つことが明らかとなった。また，弁別学習を媒介する神経ネットワークは，学習のプロセスにおいて機能的な変化を示すことが示唆された。

これらの視床線条体路の機能に加えて，小脳から視床に入力する神経路の役割に関する研究の成果ついてもあわせて紹介したい。

（10）運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球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（生理学研究所 生体システム研究部門）

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，中継核である淡蒼球外節と出力核である淡蒼球内節に伝達され，淡蒼球内節からの出力は，視床を介して大脳皮質に戻る。このように，淡蒼球ニューロンは，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，これらの拮抗する２つの入力が，どのような情報を担い，淡蒼球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，淡蒼球内節と外節ニューロンから神経活動の記録を行い，大脳皮質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，遅延期間付き到達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$_A$ 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，以下のような結果を得た；1）グルタミン酸作動性成分と GABA 作動性成分の両方が，淡蒼球内節・外節の運動に関連した神経活動に寄与しており，それらの強度はニューロン間で異なっていた；2）グルタミン酸作動性成分と GABA 作動性成分は，半数以上の淡蒼球内節・外節ニューロンにおいて，運動開始に先行していた；3）グルタミン酸作動性成分と GABA 作動性成分は，運動の方向によって，その大きさを変化させた；4）興奮性のグルタミン酸作動性成分と抑制性の GABA 作動性成分以外にも，影響は小さいが脱促通と考えられるグルタミン酸作動性成分と脱抑制と考えられる GABA 作動性成分が観察された；5）淡蒼球内節において遅延期間中にグルタミン酸作動性成分が観察された；6) 今回の微量薬物注入では，明らかな行動の変化は観察されなかった。

グルタミン酸作動性入力と GABA 作動性入力は両者とも，運動に関する神経情報をほぼ同様のタイミングで淡蒼球内節・外節に伝達し，これらの活動に寄与することが明らかになった。観察された淡蒼球内節・外節ニューロンの活動変化は，グルタミン酸作動性入力と GABA 作動性入力が競合した結果であると考えられる。

（11）到達運動における帯状皮質運動野の役割 —意欲と外的刺激に基づく動作発現—

山形朋子（公益財団法人 東京都医学総合研究所 前頭葉機能プロジェクト）

一般に,「動作が正しく行われた」という場合には，動作の内容が適切であることと，動作のタイミングが適切であることの２つが満たされている。この動作の２要素は脳でどのように表現されているのだろうか。

ヒトの帯状皮質が損傷すると，強制把握・強制模索，道具の強迫的使用や他人の手徴候，動作の時期尚早な発現，運動過多が生じる一方で，帯状皮質を含めたより広範囲な損傷では無動症を呈することが知られている。これらの病態には共通して動作発現を行うべき時期と実際に動作が発現した時期とにズレが見られる。よって本研究で，帯状皮質運動野における随意運動開始の神経機構を検証した。

サルに２つの動作開始モードからなる行動課題を訓練した。２つの動作開始モードのうち，外的モードにおいて, サルは音のトリガーで到達運動を開始する。内的モードにおいては，サルは決められた時間が経過した後に任意のタイミングで運動を開始する。よって内的モードにおいてサルは自らの意欲に基づいて動作をトリガーする必要がある。

課題を遂行中に帯状皮質運動野後方部から神経細胞活動を記録し，活動を検証した。その結果，帯状皮質運動野後方部は随意運動を自発的に開始する場合に重要であるという知見が得られたので，本発表で示す。そこからさらに，帯状皮質運動野後方部は脳内で形成された意欲と外的情報から，実際に動作を発現させるかどうかに寄与しているという仮説を議論する。

（12）遅延反応課題における前頭前野背外側部・運動前野・後頭頂皮質の役割分担 ー経頭蓋磁気刺激による機能阻害実験

中村晋也（東北大学 大学院生命科学研究科 脳情報処理分野）

経頭蓋磁気刺激（Transcranial magnetic stimulation: TMS）は非侵襲的な脳刺激法で，臨床のみならず，ヒトにおける認知科学実験にも盛んに用いられている。本研究では，この TMS をサルに適用し，反復 TMS（repetitive TMS: rTMS）を，遅延反応課題遂行中のサルの，前頭前野背外側部（DLPFC），運動前野（PMC），あるいは，後頭頂皮質（PPC）に与えることでその機能を一過性に阻害し，それにより生じる障害を調べることで，各脳領域の機能的役割を評価した。遅延反応課題では，パネル状に円状に等間隔に配置された 8 つの点灯式のボタンを用いて，試行のはじめに 1 つのボタンを短時間点灯させ，遅延期間（1.5 秒から 18 秒までの間の 4 段階）の終了後にそのボタンを押すことを要求した。遅延期間開始 0.5 秒後に rTMS（10 Hz, 10 pulses）を, 片側の DLPFC, PMC, あるいは PPC に与えた。DLPFC への rTMS により，刺激側と反対側の視野のボタンがターゲットになった時の課題成績が遅延時間依存的に低下した。また, PMC へ rTMS を与えた場合，刺激と反対側の手を用いた時の課題成績が低下した。一方，PPC への rTMS では，刺激と反対側の視野のボタンに対し，刺激と同側の手を用いた時，すなわち正中を越えてボタンを押した時に課題成績が低下した。さらに，DLPFC と PMC に対して，rTMS のタイミングを変えた時の影響を調べた。DLPFC への rTMS においては，遅延期間の初期，特に，手掛かり刺激提示後すぐに rTMS が与えられた時に，刺激と反対側の視野に位置するボタンに対する課題成績が著しく低下した。一方，PMC への rTMS の場合は，用いたどのタイミングにおいても，刺激と反対側の手を使用した時の課題成績が一様に低下した。以上のように，本研究では，TMS をサルに適用し，DLPFC，PMC，PPC の機能的役割の違いを示すことに成功した。これらの結果は，遅延反応課題を正しく実行するために，これら３つの脳領域が異なる役

割を持ちながら協調的に働いていることを示唆している。

（13）眼の動きで生じるブレを補正して安定した視覚世界を獲得する仕組み

稲場直子（京都大学学際融合教育研究推進センター 健康長寿社会の総合医療開発ユニット）

ヒトをはじめとする霊長類の網膜は，中心窩と周辺部でその感度に大きな差があり，外界にある対象物をよく見るためには，眼を動かして中心窩でとらえる必要がある。私たちは，外界から視覚情報を効率よく取り込むため，サッケード(saccade)運動と呼ばれる非常に速度の速い眼球運動を頻繁に行っている。眼を動かすと，網膜に映った外界の視覚像の位置は眼の動きに伴って変化するが，私たちは連続的で安定した視覚世界を獲得している。この眼の動きに関わらず，安定でかつ連続した視知覚をつくりだす脳内メカニズムを解明するため，サルの大脳皮質の後頭・頭頂連合野の一部である MT 野（Middle Temporal Area）および MST 野（Medial Superior Temporal Area）から視覚ニューロンの活動を記録・解析した。MT 野と MST 野のニューロンの多くは，受容野内に動く視覚刺激を呈示すると，刺激の動く方向に選択的な応答を示す。そこで本研究では，眼の動きによって，網膜に映った動く視覚刺激の像の位置が移動するとき，MT 野と MST 野のニューロンの活動にどのような変化が生じるのかを調べた。このとき，「眼が動く前の視覚情報」と「動いた後の視覚情報」に対するニューロンの応答を切り分けるために，視覚刺激をサッケードの直前に消し，サッケード後に再帰性の視覚入力がない環境下でのニューロン活動も記録した。

本研究で，以下の 3 点が明らかとなった。(1) MST 野と MT 野では，どちらもニューロン受容野の位置は，サッケード中であっても網膜座標系に依存している。(2) MST ニューロンは，サッケード後に，その瞬間に見えている視覚情報のみならず，あたかも眼が動き出す前の視覚情報を想起しているかのような活動を示す。(3) MT ニューロンはその瞬間に受容野内に存在している視覚情報に対してのみ応答する。この結果は，「眼が動く前に記憶された視覚情報」がサッケード後に MST 野で想起され，MT 野から MST 野に供給される「眼が動いた後に獲得した視覚情報」との統合が起こっていることを示唆する。また，MST ニューロンでみられるサッケード後の反応潜時は，通常の視覚応答の潜時よりも有意に早いことから，MST 野で起こっている視覚情報の統合が，安定でかつ連続的な視覚世界の知覚に役立っていると考えられる。

（14）前部帯状皮質と外側手綱核における報酬履歴と行動切替えの神経表現

川合隆嗣[1]，山田　洋[2]，佐藤暢哉[3]，高田昌彦[1]，松本正幸[2]
([1]京都大・霊長研・統合脳システム
[2]筑波大・人間総合科学・感性認知脳科学
[3]関西学院大院・文学・心理)

動物が嫌悪事象を経験すると，前部帯状皮質と外側手綱核のニューロンが強く興奮する。本研究では，この興奮性の活動が，嫌悪事象を避ける行動とどのように関連するのか明らかにするために，学習課題遂行中のマカクザルの 2 領域から神経細胞活動を記録した。課題では，画面中央にある注視点の左右に 2 つのターゲットが呈示され，サルはどちらか一方を選択するよう求められる。一方を選択すると 50%の確率で報酬が与えられるが，もう一方を選択しても報酬は与えられない。50%の確率で報酬をもたらすターゲットの位置は数十試行の間固定され，その後，明示的なインストラクションなしに左右が入れ替わる。この課題でサルは，一方のターゲットを選

択しても報酬が得られない試行が長く続いた場合に，次の試行で選択するターゲットを自ら切り替えた。この課題中，多くの前部帯状皮質ニューロン（125/359 個）と外側手綱核ニューロン（57/62 個）において，報酬が得られなかった（無報酬）試行で興奮性の応答が見られた。特に重要な点は，前部帯状皮質ニューロンの無報酬に対する応答が，サルの次の選択を予測するようなパターンを示したことである。すなわち，無報酬に対する応答がより強い場合に，サルは次の試行で選択するターゲットを変える傾向にあった。また，この応答は無報酬の履歴を反映しており，サルが無報酬を繰り返し経験するたびに，興奮の程度は段階的に強くなった。他方，外側手綱核の無報酬に対する応答では，サルの次の選択や無報酬の履歴を反映した変化はみとめられなかったが，その応答潜時は前部帯状皮質よりも有意に早かった。以上の結果から，前部帯状皮質は過去の嫌悪経験を集積し，次の行動を調整する過程に関与しており，外側手綱核は直近の行動の評価により深く関与していることが示唆される。

（15）眼球運動による視覚探索　－LIP 野の機能的役割－

小川　正（京都大学大学院医学研究科）

我々は，日常生活において，多数の物体が存在する視覚環境から目標物体をサッカード眼球運動によって探索している。目標物がそれ以外の妨害物と識別が容易な状況では刺激呈示からサッカード開始までの潜時が短くなり，逆に困難な状況では潜時が長くなることが知られている。従来の知見から，サッカード潜時は「刺激特徴を利用して目標を選択するための期間（pre-discrimination interval）」と「選択した目標に対してサッカードを起動させるための期間（post-discrimination interval）」に分割でき，前者における非空間性処理から後者における空間性処理への変換が視覚運動野（上丘，前頭眼野，頭頂間溝外側壁領域など）で生じていると考えられてきた。この仮説は，前者の期間が探索難易度に応じて変化しても，後者の期間は一定になることを予想するが，このことを厳密に検証した先行研究はない。

本研究では，色の異なる刺激を目標とする視覚探索課題を複数の刺激条件下でサルに遂行させ，頭頂間溝外側壁領域（the lateral intraparietal are: LIP）からニューロン活動を記録した。実験では，刺激輝度（Blight vs. Dim）と目標／妨害刺激の色コントラスト（Easy vs. Difficult）を操作して 4 種類の刺激条件をつくり，とくに Blight-Difficult と Dim-Easy の 2 条件では平均サッカード潜時が同一になるように刺激パラメータを調整した。その結果，たとえサッカード潜時が同一である Blight-Difficult と Dim-Easy の 2 条件であっても post-discrimination interval の長さは異なること，及び，その長さは刺激輝度に応じて変化することが見出された。これらの結果は，基本的な刺激特徴（輝度）が目標選択後の神経処理過程にも影響を及ぼすこと，また目標選択と運動準備/起動という 2 つの独立したプロセスの継続的処理では説明できないことを示唆する。得られた実験結果は，継続的な状態変化を許容する accumulation-to-threshold モデルを導入することによって，適切に説明できることを紹介する。

７．大脳皮質を中心とした神経コネクトミクスとその動的特性を探る

2014 年 12 月 4 日－12 月 5 日

代表：金子武嗣（京都大学大学院医学研究科）
世話人：松田和郎（京都大学際融合教育研究推進センター）
所内対応者：川口泰雄（生理学研究所大脳神経回路論研究部門）

（１）大脳基底核と小脳は，どのように視床－大脳皮質投射を制御しているのか
知見聡美（生理学研究所生体システム研究部門）
（２）パーキンソン病モデルラット視床運動核ニューロンの自発活動異常：発火頻度かパターンか
中村公一（京都大学大学院医学研究科）
（３）鳴鳥の発声学習をモデルとした大脳皮質－大脳基底核ループの機能の解析
小島　哲（カリフォルニア大学サンフランシスコ校）
（４）視床下核－淡蒼球外節神経回路モデルによるドーパミン依存的回路動態の解析
北野勝則（立命館大学情報理工学部）
（５）中脳ドーパミンニューロンによる部位特異的な情報表現
松本正幸（筑波大学医学医療系）

【参加者名】

小島哲（カリフォルニア大学サンフランシスコ校），宋文杰（熊本大学医学部），加藤荘志（広島大学大学院国際協力研究科），稲吉宏明（産総研ヒューマンライフテク研究部門），薗村貴弘（金沢医科大学医学部），苅部冬紀（同志社大学脳科学研究科），北野勝則，坪　泰宏（立命館大学情報理工学部），松田和郎（京都大学学際融合教育研究推進センター），古田貴寛，日置寛之，中村公一，越水義登，中村　悠，平井大地，柴田憲一，黄　晶媛，兼重美希（京都大学大学院医学研究科），小島久幸（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科），田中琢真（東京工業大学総合理工学研究科），森田賢治（東京大学大学院教育学研究科），村山正宜（理化学研究所脳科学総合研究センター），松本正幸（筑波大学医学医療系），山下晶子（日本大学医学部），小山内実，菊田里美（東北大学大学院医学系研究科），近藤将史（基礎生物学研究所），南部　篤，木田哲夫，知見聡美，宮下俊雄，佐野裕美，畑中伸彦，金子将也，若林正浩，渡辺秀典，川口泰雄，窪田芳之，大塚　岳，森島美絵子，畠中由美子，植田禎史，牛丸弥香（生理学研究所）

【概要】

「大脳皮質を中心とした神経コネクトミクスとその動的原理を探る」第１回は，１２月４日の３題と５日の２題，計５題を通して大脳基底核をテーマにしました。第１日目は，知見聡美　先生（生理学研究所生体システム研究部門），中村公一　先生 (京都大学大学院医学研究科　高次脳形態学)，小島　哲　先生 (カリフォルニア大学サンフランシスコ校) の３方にお願いしました。前２者（知見先生，中村先生）は，げっ歯類の視床を中心とした生理学的データから大脳基底核の基本回路の役割を再考したもので，後者（小島先生）は鳥類の基底核による発声学習のメカニズムを明らかにしたものでした。第２日目は，北野勝則　先生 (立命館大学情報理工学部) からは視床下核－淡蒼球外節路の機能についての計算論的提案についてご講演頂きました。最後の松本正幸先生 (筑波大学医学医療系) からは霊長類における部位特異的な２種類の機能特性をもつ中脳ドーパミン細胞について最新の成果をお話し頂きました。

本研究会に初めてご参加された研究者の皆様が驚かれるのは，講演の途中で演者の話を遮って質問・議論してもよい，という本研究会の特徴ともなっているルールです。また，コーヒーブレイクの時間を長めにとってあることが緩衝帯となっていることも十分な議論の時間

を確保することに一役かっています。このことに加え，今回講演者の先生方がごく自然に前の講演を受けてうまく関連づけながらお話し頂いたことも活発な議論を誘発し，世話人としては大変ありがたく感じました。お陰様で今回も充実した研究会となりましたことを深謝いたします。

（1）大脳基底核と小脳は，どのように視床－大脳皮質投射を制御しているのか

知見聡美（生理学研究所生体システム研究部門）

大脳基底核と小脳は，随意運動の発現と制御において重要な役割を果たす高次中枢であり，何れも視床を介して大脳皮質との間でループ回路を形成するが，大脳基底核－視床投射と小脳－視床投射のそれぞれが，運動情報を伝達する機構については不明なことが多い。本研究では，大脳基底核と小脳からの出力が視床・大脳皮質の活動に対してどのような影響を及ぼすのかをサルを用いて調べた。視床とくに外側腹側核と後外側腹側核の吻側部（VLo, VPLo）から覚醒下で単一ニューロン活動を記録し，大脳皮質運動野の電気刺激に対する逆行性応答により大脳皮質投射ニューロンを同定した。1)大脳皮質に投射する視床ニューロンの多くは，数 Hz から 10 Hz 程度の低頻度の自発発火を示した。2)淡蒼球内節(GPi)の電気刺激は抑制とそれに続く興奮を，小脳核(CN)の電気刺激は興奮とそれに続く抑制を惹き起こした。3)記録しているニューロン近傍に GABA 受容体拮抗薬を投与すると，自発活動に変化はなく，GPi 刺激に由来する抑制とそれに続く興奮が消失した。一方，グルタミン酸受容体拮抗薬を投与すると，CN 由来の興奮が消失した。これらの結果から，小脳はグルタミン酸作動性の興奮性投射によって視床・大脳皮質に情報を伝達するのに対して，大脳基底核は GABA 作動性の抑制とリバウンド興奮によって情報を伝達することが示唆された。

（2）パーキンソン病モデルラット視床運動核ニューロンの自発活動異常：発火頻度かパターンか

中村公一（京都大学大学院医学研究科）

パーキンソン病の無動・寡動の運動症状は，中脳ドーパミン細胞の脱落が，大脳基底核出力核の抑制性ニューロンの発火頻度上昇を生じ，視床ニューロンの活動が抑制されるために生じる，と考えられてきた。一方で，パーキンソン病のヒト患者およびモデル動物において，大脳皮質運動野と大脳基底核のニューロン群が，β 周波数帯域 (15–30 Hz) の異常に亢進した振動発火現象を示し，これが無動・寡動の運動症状とよく相関することから，近年注目されている。しかし，大脳皮質–大脳基底核–視床–大脳皮質のループ神経回路の一部である視床では，パーキンソン病によってどのような神経活動異常が生じるかについて不明の点が多い。そこで本研究では，片側 6-OHDA 注入によるパーキンソン病モデルラットを用いて，恒常的なドーパミンの欠失により視床運動核ニューロンの自発発火活動の発火頻度と発火パターンにどのような異常が生じるかを，麻酔下の傍細胞記録法・標識法により調べた。パーキンソン病モデルラットでは視床運動核ニューロンの自発発火頻度の低下が認められなかった一方，ニューロンの発火活動と局所電場電位に異常 β 振動が見つかった。また GABA の局所注入により，視床運動核の神経活動が脳波 β 振動の維持に必要であることが分かった。以上の結果は，パーキンソン病の病態生理においては，発火頻度よりも，発火パターンの異常がより重要である可能性を示唆する。

（3）鳴鳥の発声学習をモデルとした大脳皮質－大脳基底核ループの機能の解析

小島　哲（カリフォルニア大学サンフランシスコ校）

鳴鳥と呼ばれる小鳥類は，言語を学習する人間と同様，「さえずり」という複雑な音声パターンを他個体からの模倣により発達させる。このさえずり学習は Anterior Forebrain Pathway (AFP)と呼ばれる大脳皮質－大脳基底核ループと相同な経路を用いた強化学習の一種であると考えられており，また AFP は，他の脳領域から比較的独立でかつ「さえずり学習」という単一の機能に特化していることから神経活動と行動との関連付けがし易いという大きな利点がある。これらの理由から AFP は大脳皮質－大脳基底核ループの機能を理解する上での良いモデルになると考えられ，現在多くの研究室で研究が行われている。我々は，この鳴鳥 AFP におけるバースト発火がさえずりの構造に微小な揺らぎを引き起こし，その揺らぎが強化学習の探索行動として働くことによりさえずりの長期的な変化を引き起こすことを明らかにした。また，AFP 内でバースト発火が引き起こされるメカニズムについても解析し，淡蒼球と相同な細胞がその投射先である視床の細胞を一時的に脱抑制することによって大脳皮質の細胞にバースト発火を引き起こすことを示唆する知見を見出した。これらの結果は，動物が大脳皮質－大脳基底核ループを用いて複雑な運動学習を行うメカニズムの一端を明らかにするものであり，人間を含めた哺乳類の同経路の機能の理解にも重要な示唆を与えると考えられる。

（4）視床下核－淡蒼球外節神経回路モデルによるドーパミン依存的回路動態の解析

北野勝則（立命館大学情報理工学部）

大脳基底核の視床下核(subthalamic nucleus; STN) –淡蒼球外節(globus pallidus externus; GPe)神経回路は，ドーパミン枯渇に由来する病的な状態において，正常時とは顕著な神経活動パターンを示し，その活動パターンと運動機能には強い相関があることが知られている。基底核における運動機能･機能不全の仕組みを理解するには，ドーパミンの STN-GPe 回路活動パターンへの影響を明らかにする必要がある。このドーパミン依存的活動パターン遷移は，STN-GPe 回路活動を決定する細胞膜特性，シナプス伝達特性などの回路構成要素の動的特性へのドーパミンによる作用によりもたらされると考えられる。本研究では，最近の実験的知見を採り入れた STN-GPe 回路の数理モデルを用い，その回路動態の種々の回路要素への依存性について解析した。その結果，結合様式に依存して病変時の活動パターンが現われること，ドーパミンの細胞膜特性・シナプス伝達特性への相乗的作用が，この病変時パターンを正常時のものへと変えることなどが明らかになった。

（5）中脳ドーパミンニューロンによる部位特異的な情報表現

松本正幸（筑波大学医学医療系）

ドーパミンニューロンは報酬の価値をコードし，学習や意欲のプロセスに重要な役割を果たす。一方，我々の最近の研究は，全てのドーパミンニューロンが価値をコードするわけではないことを明らかにした。報酬と嫌悪刺激の古典的条件付けをサルにおこない，ドーパミンニューロンから活動を記録したところ，黒質緻密部の腹側や腹側被蓋野にあるドーパミンニューロンは価値コードに一致し，報酬に対して興奮性応答，嫌悪刺激に対しては抑制性応答を示した。一方，黒質緻密部の背側にあるドーパミンニューロンは，報酬に対しても嫌悪刺激に

対しても興奮性応答を示した。これらのニューロンは，価値ではなく，報酬や嫌悪刺激の motivational salience（顕著性）をコードしているのではないかと推測される。次に我々は，作業記憶を必要とする遅延見本合わせ課題をサルにおこなわせ，ドーパミンニューロンの活動が認知機能とどのように関わっているのか解析した。課題遂行中のサルからドーパミンニューロンの活動を記録したところ，特に黒質緻密部の背側に分布するドーパミンニューロンで，作業記憶に保持しなければならない視覚刺激に対して興奮性応答が見られ，報酬や嫌悪刺激のような motivational な刺激以外にも応答することを見出した。以上の結果は，中脳の特定の領域に分布するドーパミンニューロンが，認知機能に関わるシグナルを伝達している可能性を示唆する。

８．第４回社会神経科学研究会 「社会認知とコミュニケーション」

2014 年 10 月 30 日－10 月 31 日

オーガナイザー：松田哲也（玉川大学脳科学研究所）

高橋英彦（京都大学大学院医学研究科）

（１）神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明

柿木隆介（自然科学研究機構生理学研究所）

（２）ストレス・学習・エピジェネティクス：鳥の歌から見えてきたこと

岡ノ谷一夫（東京大学大学院総合文化研究科）

（３）社会神経科学のさらなる発展に向けて：課題と展望

安西祐一郎（日本学術振興会理事長）

（４）マウスのコミュニケーション

内匠　透（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（５）脳科学からみたうつ病研究の現状と展望

山脇成人（広島大学大学院精神神経医科学）

（６）チンパンジーの協力行動

平田　聡（京都大学野生動物研究センター）

（７）周産期からの身体感覚と社会的認知の発達的連

明和政子（京都大学大学院教育学研究科）

（８）動機付けの神経科学：特性を決める分子／神経機構を探る遺伝子

南本敬史（放射線医学総合研究所分子イメージング研究センター）

（９）神経振動子協調による脳内／脳間コミュニケーション

水原啓暁（京都大学大学院情報学研究科）

（10）人工共感にむけて：情動・認知発達ロボティクス

浅田　稔（大阪大学大学院工学研究科）

【参加者名】

宇賀神博（武蔵野大学環境学部環境学科），大坪庸介（神戸大学大学院　人文学研究科），大野優美子（㈱ATR-Promotions 脳活動イメージングセンタ），岡田理恵子（玉川大学脳科学研究所松田研究室），小川昭利（北海道大学大学院文学研究科亀田研究室），小川洋和（関西学院大学文学部総合心理科学科小川研究室），梶村昇吾（京都大学大学院教育学研究科），川口彰子（名古屋市立大学大学院医学研究科精神認知行動医学分野），川道拓東（首都大学東京人間健康科学研究科），菊水健史（麻布大学獣医学部伴侶動物学研究室），北地　雄（総合東京病院リハビリテーション科），駒野浩士（関西福祉科学大学社会福祉学部臨床心理学科谷向研究室），櫻井芳生（鹿児島大学大学院人文社会科学研究科櫻井研究室），佐々木章宏（理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター），佐藤　剛（グロービス経営大学院経営研究科），佐藤洋平（畿央大学大学院健康科学研究科松尾研究室），重宗弥生（京都大学大学院人間・環境学研究科共生人間学専攻認知・行動科学講座認知科学分野（月浦研）），丁ミンヨン（大阪大学連合小児発達学研究科（福井校）），関野和幸，田浦秀幸（立命館大学大学院　言語教育情報研究科田浦研究室），高木幸子（東京女子大学大学院人間科学研究科），高田藤代（玉川大学大学院脳科学研究科），高橋宗良（玉川大学脳科学研究所），高見大地（京都大学総合人間学部），田中章浩（東京女子大学現代教養学部心理学専攻），田邊宏樹（名古屋大学環境学研究科心理学講座），玉利祐樹（東京大学医学部附属病院緩和ケア診療部），富永仁志（京都大学大学院人間・環境学研究科），中川　潤（東京医科歯科大学／玉

川大学大学院），中村太戯留（慶應義塾大学環境情報学部），難波修史（広島大学大学院教育学研究科），仁科国之（玉川大学大学院），原田康也（早稲田大学法学学術院），樋口裕二（岡山大学医学部医学系研究科精神神経病態学教室），日道俊之（京都大学大学院教育学研究科教育認知心理学講座），藤田弥世（京都大学大学院　教育学研究科教育認知心理学講座），藤野純也（京都大学大学院医学研究科精神医学教室），藤本　淳（京都大学大学院医学研究科精神医学講座），保屋野健悟（畿央大学大学院　健康科学研究科神経リハビリテーション学分野），前岡　浩（畿央大学健康科学部　理学療法学科），松尾　篤（畿央大学健康科学部理学療法学科），松崎裕太（慶應義塾大学環境情報学部青山研究室），眞野智生（名古屋大学病院神経内科），南　勇丞（関西福祉科学大学社会福祉学部　臨床心理学科），宮崎昌也（社会医療法人 岡村一心堂病院医療技術部リハビリテーション室），村井翔太（同志社大学大学院生命医科学研究科知覚・認知脳神経機構研究室），森下美和（神戸学院大学経営学部），守田知代（大阪大学大学院工学研究科，知能・機能創成工学専攻浅田研），柳澤邦昭（京都大学こころの未来研究センター），山口旺彦（関西福祉科学大学社会福祉学部　臨床心理学科），山本真江里（名古屋大学大学院精神科），横山ちひろ（(独）理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター　生体機能評価研究チーム），横山諒一（東北大学大学院　医学系研究科　脳機能開発研究分野），蓬田幸人（玉川大学脳科学研究所），青木直哉（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），伊藤嘉邦（自然科学研究機構生理学研究所心理生理学研究部門），岡崎俊太郎（生理学研究所大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門），北田　亮（生理学研究所心理生理学研究部門），小池耕彦（生理学研究所大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門），小山総市朗（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），菅原　翔（生理学研究所大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門），角谷基文（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），高橋陽香（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），中川恵理（生理学研究所大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門），濱野友希（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），原田宗子（生理学研究所大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門），福永雅喜（自然科学研究機構生理学研究所心理生理学研究部門），宮原資英（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），山崎英明（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），吉本隆明（総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻心理生理学研究部門），岡本秀彦（生理学研究所統合生理研究系感覚運動調節機能），小松英彦（生理学研究所生体情報研究系感覚認知情報），井出康行（TBS），南家幸太（TBS），衣笠　敦（TBS），飯高哲也（名古屋大学医学系研究科），郷　康広（生理学研究所発達生理学研究系認知行動発達機構），小川正晃（生理学研究所発達生理学研究系認知行動発達機構）

【概要】

本研究会は，ヒトの社会的心に関連する，既存の学問分野を超えた新しい視点での学問領域を創成し，ヒトの社会性機能の理解を目指すことを目的としている。本研究会は，社会神経科学を専門に扱う唯一の研究会であり，日本におけるこの分野の研究の推進に中心的な役割を果たしている。社会神経科学は，基礎神経科学，その他生物学系，人文社会科学系，臨床医学系の融合的研究分野の形成が必要であり，本研究会は様々な領域の研究者が集い，ディスカッションを通じて新たな研究テーマの創出の機会を作ることも目的の一つとしている。

平成 23 年度に生理学研究所研究会として社会神経科学研究会を発足した。それから毎年開催し，毎回 100 名以上の若手研究者からシニアの研究者までが参加しており，講演を聴くだけではなく，参加者同士が積極的にディスカッションを行うなど，非常に活気あふれる研究会となっている。本研究会の参加者は，神経科学を専門としている研究者だけではなく，工学や人文・社会科学系の学問を専門としている研究者も多数参加しており，学際的融合分野の創成に本研究会は大いなる役割を担っている。

平成 26 年度については，「社会認知とコミュニケーション」をテーマに 10 名の研究者による講演，28 名のポスター発表を行った。

この研究会が，日本での社会的神経科学研究の中心的

な役割になっていくことを期待している。

（1）神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明

柿木隆介 [1,2]
（[1] 自然科学研究機構生理学研究所統合生理研究系
[2] 総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻）

近年，「顔認知機能」の研究が非常に盛んになってきた。顔認知は言語認知と並んで，人間が社会生活を送る上で最も重要な機能と考えられるようになってきたからである。「顔認知機能」の障害は教育現場においても様々な問題を生じている可能性がある。特に近年，自閉症の原因の１つとして「顔認知機能の障害」が考えられており，臨床的研究も急速に進んでいる。その重要性が認識され，文部科学省の新学術領域研究に，私が領域代表者として申請した「学際的研究による顔認知メカニズムの解明（略称：顔認知）」が採択され，平成２０年度から２４年度まで研究活動を行った（総予算約８億円）。

特に私は，脳波，脳磁図，機能的 MRI，近赤外線分光法（NIRS）といった神経イメージング手法を用い，人間の顔認知機能を明らかにすることを目的として研究を行っている。脳波と脳磁図は，ミリ秒単位の高い空間分解能を有するため，脳内での情報処理過程を詳細に知ることができる。特に脳磁図は，脳波に比して１０倍以上の空間分解能を有するため，人間の高次脳機能解明には極めて有用な機器である。本講演では，私達がこれまで行ってきた研究を中心に，脳波と脳磁図を用いた顔認知機構研究の現状を紹介するため，以下のようなテーマについてお話したいと考えている。

１．静止顔の認知機構：(1)活動部位の解明，(2)倒立顔現象の生理学的解明
２．他人の「目（視線）の動き」を認知する機能の解明：(1) 活動部位の解明，(2) 視線方向の影響，(3) 視線認知における顔の他の部位（口など）や顔の輪郭の影響
３．意識にのぼらないような顔刺激（サブリミナル刺激）に対する反応
４．乳幼児における顔認知機能発達の解明

特に，最近，研究が急激に進んできた乳児（赤ちゃん）の顔認知機能発達について詳しく紹介したい。赤ちゃんの測定用に新しく開発された NIRS は，軽くて違和感も少なく，赤ちゃんに長時間装着することが可能となった。さらに，NIRS は計測中に身体や頭部を固定する必要が無いため，覚醒状態にある乳児を対象とした脳活動の計測に非常に有用であり，今後は赤ちゃんの脳機能解明に重要な機器となると考えられる。

（2）ストレス・学習・エピジェネティクス：鳥の歌から見えてきたこと

岡ノ谷一夫 [1,2]
（[1] 東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻
[2] 理化学研究所脳科学総合研究センター）

ペットとして飼育されているジュウシマツは，東南アジア全域に棲息する野鳥であるコシジロキンパラを，２５０年前に日本に輸入したものである。ジュウシマツは全般に，コシジロキンパラより複雑な音響構造を持つ歌を，複雑な系列に沿ってうたう。ところが家禽化の過程では歌を直接選択した記録はない。それなのになぜ歌の

変化が起こったのだろうか。鳥類のストレスホルモンは，コーティコステロン(CORT)である。脳で発現する CORT の受容体のうち，鉱質 CORT 受容体（MR）は神経成長を促し，糖質 CORT 受容体(GR)はそれを抑制する。また，MR は GR よりも CORT と高い親和性を持つ。わたしたちの研究により，歌制御神経核 HVC では GR と MR がほぼ同量分布するが，扁桃体では MR のみが分布することがわかった。このことから，中庸な CORT レベルでは HVC も扁桃体も発達するが，より高いレベルでは HVC の発達が GR の作用により抑制されることが予言される。実際，糞中の CORT はコシジロキンパラのほうがジュウシマツより２倍も高かった。また，歌の学習と制御に関わる神経核 HVC と X の体積は，ジュウシマツのほうが２０％程度大きかった。以上の結果は，脳内の受容体の分布が予言した結果と合致している。また，神経核 X ではアンドロジェン受容体(AR)が分布している。コシジロキンパラでは一様に歌が単純で，AR の発現量が少なかった。ジュウシマツの歌は単純なものから複雑なものまで多様で，AR の発現量は，歌の複雑さに相関していた。さらに，AR を符号化する遺伝子の近傍におけるメチル化の度合いは歌の複雑さと逆に相関していた。以上の結果から，成鳥の歌の複雑さには，発達初期のストレス状態による CORT レベルと，発達中期に聞いた歌の複雑さとが影響すると考えられる。ホルモンレベルによって歌学習神経核の容積が決まり，学習環境の豊かさによって脱メチル化の度合いが決まるのであろう。このように，後天的な経験に左右される行動では，社会環境が制御するストレスとエピジェネティックスが重要な役割を果たすと考えられる。

（3）社会神経科学のさらなる発展に向けて：課題と展望

安西祐一郎（日本学術振興会）

社会神経科学の発展は著しく，脳の社会的機能に関して多くの成果が得られている。ただ，「社会性」という広範な問題に対して神経科学が自然科学の立場からさらに接近するには，実験データのロバスト性，脳部位と機能の多対多の関係，「社会性」に含まれた諸概念の整理，それらの諸概念と実験データとの関係，その他多くの課題がある。ここでは，それらの課題について触れるとともに，それらを乗り越える方法について議論する。

（4）マウスのコミュニケーション

内匠　透（理化学研究所　脳科学総合研究センター）

自閉症スペクトラム障害（Autism Spectrum Disorders, ASD）は近年増加傾向にあり，子どものコミュニケーション障害として注目されている。しかしながら，自閉症研究は，日本ではこれまで主に障害者支援としての心理学的な研究が中心で，生物学的な研究はほとんど存在しなかった。米国に遅れること数年，日本でも最近ようやく自閉症の生物学的研究が注目されつつある。その生物学的異常としては，ヒト染色体 15q11-13 重複が細胞遺伝的異常としてもっとも多いものとして知られている。また，本領域はインプリンティングをうける領域としても知られている。　我々は，Cre-loxP　系に基づく染色体工学の手法を用いて，ヒト染色体 15q11-13 相同領域であるマウス染色体 7c の 6.3 Mb にわたる重複をもったマウスを作製することに成功した。本マウスにおける重複領域内の遺伝子の発現は，それぞれの遺伝様式に従い増加していた。また，本マウスは，行動解析の結果，父性由来重複マウスにおいてのみ，社会的相互作用の障害，常同様行動，固執的行動，超音波啼鳴の発達異常，不安等，ヒト自閉症患者でみられるような表現型を示した。本マウスは，自閉症様行動を示すという表現型妥当性のみならず，その生物学的異常としてヒトと同じ染色体異常を有するという構成的妥当性をも充たす自閉症ヒト型

モデルマウスである。果たして，マウスもヒトと同様コミュニケーションをとることができるのか，我々のモデルを用いた解析を中心に紹介する。

（5）脳科学からみたうつ病研究の現状と展望

山脇成人（広島大学大学院・精神神経医科学）

近年のグローバル化や IT による情報化は，効率化や便利さをもたらしたが，一方でヒトのメンタルヘルスに関しては様々な問題を引き起こしている。この現象は日本だけでなく世界各国で，老若男女を問わずあらゆる世代で生じている。事実，わが国においては，うつ病患者はこの 10 年間で倍増し，100 万人前後に至っており，年間自殺者数も 3 万人前と高止まりの状態が続いている。特に，働き盛りの中高年や青年にうつ病が好発しており，わが国の経済活動にも支障を来すため，うつ病対策は重要な国家対策となっている。うつ病は，抑うつ気分, 興味･喜びの喪失などの精神症状を中核症状として，

不眠，食欲低下などの身体症状が毎日，2 週間以上認められ，仕事や家事などの社会的機能に障害が認められる場合に診断されるが，未だ客観的診断基準はなく，主治医の主観的判断に依存しているため，典型的うつ病とは異なるいわゆる「新型うつ病」がマスコミで取り上げられるなど，診断・治療において多くの混乱や未解決の問題が残されている。うつ病の病態としては，従来から抗うつ薬の薬理作用からセロトニンやノルアドレナリンなどのモノアミン異常仮説が提唱されてきたが，この仮説の限界が指摘されて久しく，新たな展開が求められている。近年の分子遺伝学，分子生物学，脳機能画像解析学などの脳科学研究の進歩に伴って，これらを応用することで従来，難攻不落とされてきた精神疾患の病態解明とそれによる客観的診断法や新規治療法の開発の可能性が出てきている。本講演では，演者らが行ってきた，脳由来神経栄養因子(BDNF)に関する研究および機能的MRI(fMRI)を用いた脳機能画像解析研究を中心に，うつ病研究の現状と今後の展望について述べたい。

（6）チンパンジーの協力行動

平田　聡（京都大学野生動物研究センター熊本サンクチュアリ）

進化のどの段階で，人間は他者と協力する能力を獲得したのだろうか。その答えを探る手がかりのひとつとして，ヒトに近縁な現生の動物との比較研究がある。こうした背景のもと，チンパンジーの協力行動を実験的に検討する研究をおこなった。「ひもひき協力課題」と呼べる新たな実験課題を考案しておこなった研究である。この課題において，2 個体のチンパンジーが，台につながった 1 本のひもの両端をそれぞれもって同時に引っ張ると，手の届かない距離にある台を引き寄せることができ，その上に乗った食べ物を手に入れることができる。ある程度の経験ののち，2 個体のチンパンジーは同時にひもを引っ張ることを学習した。その過程の中で，ひもを引っ張る前に互いに相手の行動をよく見て，相手が遅い場合には待つ行動が生じるようになった。ただ，こうした行動によって課題に成功するようになったものの，相手を誘い掛けたり，ひもを引く前にアイコンタクトを取ったりして合図を送るような行動は一度もみられなかった。意図の明示的表示に関連する行動はチンパンジー同士で見られなかったということになる。この点において，ヒトとチンパンジーの違いがあることが示唆される。ひもひき協力課題は，その後，国内外においてボノボやゾウ，鳥類を対象にして実施され，いくつかの比較データが得られるに至った。米国に遅れること数年，日本でも最近ようやく自閉症の生物学的研究が注目されつつある。その生物学的異常としては，ヒト染色体 15q11-13 重複が細胞遺伝的異常としてもっとも多いも

のとして知られている。また，本領域はインプリンティングをうける領域としても知られている。我々は，Cre-loxP　系に基づく染色体工学の手法を用いて，ヒト染色体 15q11-13 相同領域であるマウス染色体 7c の 6.3 Mb にわたる重複をもったマウスを作製することに成功した。本マウスにおける重複領域内の遺伝子の発現は，それぞれの遺伝様式に従い増加していた。また，本マウスは，行動解析の結果，父性由来重複マウスにおいてのみ，社会的相互作用の障害，常同様行動，固執的行動，超音波啼鳴の発達異常，不安等，ヒト自閉症患者でみられるような表現型を示した。　本マウスは，自閉症様行動を示すという表現型妥当性のみならず，その生物学的異常としてヒトと同じ染色体異常を有するという構成的妥当性をも充たす自閉症ヒト型モデルマウスである。果たして，マウスもヒトと同様コミュニケーションをとることができるのか，我々のモデルを用いた解析を中心に紹介する。

（7）周産期からの身体感覚と社会的認知の発達的関連

明和政子（京都大学大学院 教育学研究科）

発達障害は生物学的要因による中枢神経系の機能障害とみなされているが，最新のコホート研究では，周産期の異質な経験環境や胎内経験の短縮が発達障害の発症と関連することが示されつつある。社会的認知の定型－非定型性の「発達」については，皮質下－皮質の相互作用不全やミラーシステムの不全に限定された議論にとどまっていた。私たちの研究グループは，環境―身体の相互作用，身体性を軸にすえ，身体感覚に基づく環境と自己の認知が社会的認知機能の獲得に関わるとの仮説をたてながら発達初期からの連続的検証を試みている。当日は，現在進行中の研究を含め，以下のテーマについて議論したい。周産期以降の身体感覚と社会的認知機能の発達　　周産期の身体感覚の個人差は社会的認知機能の予後と関連がある。在胎週数が短い早期産児ほど迷走神経活動が低いこと，周産期に副交感神経による抑制力が低い児は，生後 12，18 か月の時点で言語・社会性領域に発達の遅れがみられることがわかってきた。また早期産児の一部では，修正齢 12 か月の時点で他者の行為への注意（共同注意や人への選好）の弱さが認められるが，これについても周産期の自律神経系の調整能力との関連が示唆されている。「内部モデル」獲得を基盤とする社会的認知発達過程の解明　　他者―他者相互作用にみられる随伴性を独立変数とし，相互作用を観察する乳児の模倣学習を評価した。乳児が随伴的に反応した人物から選択的に模倣学習を行うことを明らかにし，環境（物理的，対人・社会的）相互作用に基づく内部モデルの獲得が，社会的認知発達の基礎にある可能性を示した。また，自己―他者相互作用において，他者運動の知覚が自己の運動精度（予測誤差修正）や感度と関連することを実証しつつある。これらは，周産期以降，環境に対する運動制御を脳内シミュレートする「内部モデル」の獲得が社会的認知発達の基盤である可能性を示唆すると考えている.

（8）動機付けの神経科学：特性を決める分子／神経機構を探る遺伝子

南本敬史（放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター）

我々ヒトを含む生命は，常に自己の状態と自己を取り巻く外界の情報を参照し，その情報に基づいて最適な行動を選択していると考えられている。そこでは個体が示す行動選択特性はその背後にある脳機能の特性として捉えることが可能であろう。例えば目的指向行動においては，その結果得られる報酬等のインセンティブ（外部要因）とその報酬を主体がどれくらい欲求しているかといったドライブ（内部要因）がその行動の動機付けを決

める(Hull, 1952). 私たちはサルに対して水分報酬獲得のために単一の行動を要求した場合，その行動が報酬量などの外部変数と，その時点における主体の水分需要という内部変数から説明することができることから，動機付けレベルとその計算過程のモデルを導出した(Minamimoto et al 2009). 現在，この脳内での計算過程を神経・分子機構として明らかにすることを目指している。そのなかで，「うつ」のような意欲低下が生じるのは，動機付けの計算過程に「ひずみ」が生じた結果であると捉え，意欲低下を引き起こすとされる甲状腺機能低下症のモデルサルを作成し，動機付け計算の「ひずみ」とドーパミンやセロトニンの特異的な関与を PET イメージングで得られた分子／機能変化の解析を通じて明らかにした研究を紹介する。一方，このような動機付け計算の神経回路とその仕組みを明らかにする上で，光遺伝学手法をはじめとする遺伝学的手法による神経回路操作は非常に強力な手段である。近年，特にげっ歯類を用いた神経科学研究で大きな成功をおさめているが，サルを用いた研究への利用は限定的である。私たちは，その一つである化学遺伝学的手法をもちいた神経回路操作技術を世界に先駆けてサルに導入し，「動機付け計算」を操作して行動を変化させることに成功した。この手法を用いた霊長類研究の今後の可能性について議論する.

（9）神経振動子協調による脳内/脳間コミュニケーション

水原啓暁（京都大学大学院情報学研究科）

脳内の異なる皮質間の情報伝達においては，局所場電位や脳波などにおいて観察される神経活動の波(神経振動子)の協調により実現されていることが注目を集めている。脳内の広範な部位での皮質ネットワークの動的な切り替えは，単に解剖学的な結線のみでは説明できず，神経振動子協調によるタイミング制御により実現されている。この脳内の皮質間のコミュニケーションと同様に，脳間のコミュニケーションにおいても神経振動子協調が重要な戦略となっている。例えば音声を用いたコミュニケーションにおいては，話者の発話リズムと，聴取者の脳活動が振動子協調している。発話のリズムには，プロソディ，シラブル，フォニームと呼ばれる周期的な振幅変調が含まれていることが知られており，それぞれデルタ脳波，シータ脳波，およびガンマ脳波の周波数と一致する。特に発話のイントネーションなどに関連するプロソディは，話者の頭部の動きなどの視覚情報として聴取者に伝達する。このとき聴取者が話者の動きなどを見ている場合において，プロソディの周波数に引き込まれたデルタ脳波が聴取者の脳内に生成される。このデルタ脳波が，シラブル，フォニームの音声情報と引き込み協調したシータ脳波，ガンマ脳波と，位相－振幅協調することで，脳間コミュニケーションが促進されている。講演においては，脳内で観察される神経振動子協調に関して，最近の研究成果を紹介するとともに，脳間において観察される神経振動子協調によるコミュニケーションに関して議論する。

（10）人工共感にむけて：情動・認知発達ロボティクス

浅田　稔 [1,2]
([1] 大阪大学大学院工学研究科知能・機能創成専攻
[2] 大阪大学未来戦略機構認知脳システム学部門)

ヒューマン・ロボット・インターラクションにおいて，「情動」の重要性が認識されており，感情コンピューティングの観点からも指摘されている。しかしながら，現状では，設計者が共感的行動を明示的に指定しており，より本質的な共感的行動の実現にはほど遠い。発達ロボティクスの観点からは，このような共感的行動が人間と

の社会的相互作用を介して学習されることが期待される。本講演では，より本質的に近いと期待される人工共感の実現に向けて，感情発達過程の構成的手法による理解を目指した「情動・発達ロボティクス」を提案し考察する。最初に，神経科学と生物行動学における共感の進化と発達を概観する。情動伝染から始まり，情動的共感，認知的共感，同情や哀れみを介して，妬みや他人の不幸を喜ぶシャーデンフロイデまでに至る過程である。次に，これらの用語を情動・発達ロボティクスの観点から自他認知の発達過程にそって，再考し，情動・発達ロボティクスの観点から人工共感発達の概念モデルを提唱する。このモデルに従い，既存研究を位置づけ，最後に，今後の展望を議論する。

９．研感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻

2014 年 10 月 7 日－10 月 8 日

代表・世話人：南　雅文（北海道大学　薬学研究院）
所内対応者：鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）

（１）炎症性疼痛における扁桃体シナプス伝達可塑性機構
高橋由香里（東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター）

（２）不安，抑うつ，恐怖などの負情動に関わるセロトニン神経機構
大村　優（北海道大学医学研究科神経薬理学）

（３）痛みによる負情動生成に関わる分界条床核内神経機構
南　雅文（北海道大学薬学研究院薬理学）

（４）「痛みの社会性」をめぐって ― 痛み共感と相互作用
亀田達也（東京大学人文社会系研究科社会心理学）

（５）動物における共通経験と共感
渡辺　茂（慶応義塾大学人間知性研究センター）

（６）痛み情動伝染に対する母子間関係性の影響
菊水健史（麻布大学獣医学部）

（７）神経内分泌系の条件恐怖反応の神経回路
尾仲達史（自治医科大学医学部）

（８）ストレスによる情動変容を担う自然免疫分子の役割
古屋敷智之（神戸大学医学研究科薬理学）

（９）下辺縁皮質のドパミンシグナルが恐怖の復元に関与する
人羅（今村）菜津子（東京大学薬学系研究科薬品作用学）

(10) 父性発現と神経可塑的変化
天野大樹（理化学研究所脳科学総合研究センター）

(11) 情動行動を司る 2 つの異なる中隔核-手綱核回路
山口隆司（大阪バイオサイエンス研究所 システムズ生物学）

(12) 食による情動記憶と扁桃体神経回路活性の変化
関口正幸（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所）

【参加者名】

南　雅文（北海道大学大学院薬学研究院 薬理学研究室），岡本　仁（理研 脳センター 発生遺伝子制御研究チーム），人羅（今村）菜津子（東京大学大学院薬学系研究科　薬品作用学教室），大村　優（北海道大学医学研究科　神経薬理学分野），渡辺　茂（慶應義塾大学），関口正幸（国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部 電気生理室），古屋敷智之（神戸大学医学研究科 薬理学分野），山口隆司（大阪バイオサイエンス研究所 システムズ生物学部門），征矢晋吾（金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 分子神経科学統合生理学），山田大輔（国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部），菊水健史（麻布大学獣医学部 伴侶動物学研究室），尾仲達史（自治医科大学生理学講座 神経脳生理学部門），中山大輔（東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室），伏木　彬（慶応大学医学部 田中謙二研究室），林　康紀（独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター 記憶メカニズム研究チーム），天野大樹（理化学研究所脳科学総合研究センター 黒田研究ユニット），笠井慎也（公益財団法人東京都医学総合研究所精神行動医学研究分野 依存性薬物プロジェクト），高

橋由香里（東京慈恵会医科大学神経科学研究部），喜田聡（東京農業大学応用生物科学部バイオサイエンス学科），亀田達也（東京大学人文社会系研究科 社会心理学研究室），和多和宏（北海道大学理学研究院 生物科学部門），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ 商品研究室），渡部文子（東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター神経科学研究部），森村浩三（田辺三菱製薬㈱薬理第二研究所），斎藤顕宜（国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所精神薬理研究部 精神薬理研究室），加藤総夫（東京慈恵会医科大学神経科学研究部），北岡志保（神戸大学医学研究科 薬理学分野），揚妻正和（科学技術振興機構 （大阪大学 永井研究室）），和氣弘明（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門），宮本愛喜子（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），稲田浩之（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），江藤　圭（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），石川達也（生理学研究所生体恒常機能発達研究部門），加藤大輔（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），中村佳代（生理学研究所生体恒常機能発達研究部門），中畑義久（生理学研究所生体恒常機能発達研究部門），穐吉亮平（生理学研究所生体恒常機能発達研究部門），戸田拓弥（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）

【概要】

快・不快情動はヒトを含む高等動物において行動の動機付けに関わる重要な脳機能であり脳研究の重要な課題である。また，本来は行動の動機付けを介して生体を守るシステムであるはずの情動システムではあるが，その異常は，うつ病や不安障害などの精神疾患や情動障害を引き起こす。精神疾患・情動障害の増加は社会的な問題となっており，有効な治療薬・治療法の創製は急務の課題となっている。このような学術的・社会的背景より，快・不快情動の神経機構の解明が期待されている。本研究会では，生得的な快・不快情動生成機構，特に，感覚刺激によって惹起される快・不快情動の神経機構に着目している。嗅覚や味覚，痛覚は原始的な感覚であるが故に，これらの感覚入力によって快・不快情動を引き起こす神経回路は生得的なものであると考えられる。そのような単純ではあるが根元的な刺激による快・不快情動生成に関わる神経機構の解明を突破口として，「こころ」のメカニズム，さらには，快・不快情動生成機構の破綻としての「こころ」の病のメカニズムに迫ろうとするものである。これまで，異なった学会，異なったセッション・シンポジウムにおいて研究成果発表や討論が行われてきたものを，「情動」をキーワードとして一堂に集め，密な情報交換と活発な討論を行うことにより，情動研究の推進を図る。今回は，痛み，ストレス，食などの刺激に対する個体レベルの情動反応に加え，共感や父性などの集団あるいは個体間での情動反応の観点から研究を進める研究者を一堂に集め，学際的な研究会を開催し，情動研究の新たな展開の方向性を探るための非常に貴重な機会となった。今後も学際的な研究会を開催し，様々な切り口からの情動研究の融合を図ることは，本邦の情動研究の飛躍的なレベルアップに資するものであると考えられた。

（1）炎症性疼痛における扁桃体シナプス伝達可塑性機構

高橋由香里（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部）

慢性痛は，単に急性痛が長く続いている状態ではない。急性痛から慢性痛へ移行する「慢性化」のプロセスの本態は，中枢神経系における可塑的変化とその固定化である。その結果として慢性痛患者は強い持続的な負情動を訴えその QOL は著しく低下する。このような状態が成立すると，単に侵害受容系を治療することによっては痛みは治療されず，この固定化された可塑性をどのように正常化するかが治療のゴールとなる。

我々は，この慢性化プロセスの解明を通じて痛みの慢性化を予防する治療法を見出していくために，恐怖学習や不安などの負情動形成において主要な役割を担う扁桃体におけるシナプス可塑性に着目している。扁桃体中心

核外包亜核は，脊髄後角浅層からの侵害受容情報を腕傍核でのシナプスを介して視床皮質路を介さず直接的に侵害受容情報を受け取る。この「腕傍核-扁桃体シナプス」の興奮性シナプス伝達は，様々な疼痛モデル動物において増強する事実が報告されており，その増強メカニズムは疼痛モデルによって様々である。我々は持続的な疼痛モデルである脊髄神経結紮による神経障害性疼痛モデルにおいて腕傍核-扁桃体シナプスがシナプスの形態的変化を伴う機能的増強を引き起こす事実を明らかにしてきた。特に，C 線維を介して脊髄に伝えられる炎症性の情報が，この可塑性成立に必須であることがわかってきた。

持続的炎症性情報入力がシナプス伝達を可塑的に変化させて固定化する機序の解明を目指し，炎症性疼痛モデルの一つであるホルマリン誘発痛モデルでの扁桃体シナプス伝達解析で得られた知見を報告する。

（2）不安，抑うつ，恐怖などの負情動に関わるセロトニン神経機構

大村　優（北海道大学医学研究科神経薬理学分野）

不安，抑うつ，恐怖などの負情動に中枢セロトニン神経系が関与することは様々な間接的証拠から示唆されており，実際にセロトニン再取り込み阻害薬が不安障害，気分障害の治療に使用されている。しかし，何十年にも渡る膨大な研究が行われてきたにも関わらず，中枢セロトニン神経系と情動機能の関係について一貫性のある結果はほとんど得られておらず，統合的理論を呈示できていない。これまでの研究には主に 2 つの問題，1. セロトニン神経起始核の亜核，種類を軽視してきたこと，2. セロトニン神経を可逆的・選択的に操作する方法が無かったこと，があったと考えられる。

我々は，1-a.前脳に投射するセロトニン神経起始核である背側縫線核と正中縫線核を別々に操作し，1-b.同時にそれぞれのセロトニン神経細胞を分類する方法を模索している。さらに，2. 光遺伝学を利用し，セロトニン神経の可逆的・選択的操作を可能にすることでこれらの問題に取り組んでいる。これまでに，正中縫線核のセロトニン神経活動亢進が不安様行動を増加させること，正中縫線核の CRF タイプ 2 受容体刺激が恐怖記憶の想起を促進することなどを明らかにしてきた。本研究会では，これまでのデータを基に，背側縫線核，正中縫線核の役割の違いについて論じる。さらにそれぞれのセロトニン神経核の中でも種類があり，異なる役割を持つ可能性について論じたい。

（3）痛みによる負情動生成に関わる分界条床核内神経機構

南　雅文（北海道大学薬学研究院薬理学研究室）

痛みは，侵害刺激が加わった場所とその強さの認知に関わる感覚的成分と，侵害受容に伴う不安，嫌悪，抑うつ，恐怖などの負情動の生起に関わる情動的成分からなる。痛みによる負情動は，生体警告系としての痛みの生理的役割にとって重要であるが，慢性疼痛では，痛みにより引き起こされる不安，抑うつ，恐怖などの負情動が，患者の QOL を著しく低下させるだけでなく，精神疾患・情動障害の引き金ともなり，また，そのような精神状態が痛みをさらに悪化させるという悪循環をも生じさせる。しかしながら，慢性疼痛による情動機構の可塑的変化のメカニズムはおろか，痛みによる負情動生成の神経機構についてもほとんどわかっていない。

我々は，痛みによる負情動生成機構について，「extended amygdala」を構成する脳領域である分界条床核に着目して研究を進めている。これまでに，背外側分界条床核における CRF 神経情報伝達と NPY 神経情報伝達が，負情動生成において相反的な役割を果たしていることを明らかにしてきた。本研究会では，背外側分界条床核内神経細胞に対する CRF と NPY の作用，および，CRF 受容体の下流におけるアデニル酸シクラーゼ-cAMP-PKA 系の

関与を検討した電気生理学的解析のデータを示し，痛みによる負情動生成のメカニズムについて論じたい。

（4）「痛みの社会性」をめぐって ― 痛み共感と相互作用

亀田達也（東京大学大学院人文社会系研究科社会心理学研究室）

国際疼痛学会によれば，痛みとは「現実もしくは潜在的な組織損傷に伴って起こる，あるいは組織損傷の言葉を使って述べられるような不快な感覚的・情動的経験」として定義される。この定義は，痛みの経験において，生理学的・ホメオスタティックなベースに加え，情動的成分が本質的であることを示している。さらに，こうした情動的経験は個人内で閉じた現象ではなく，他者との関わりの中で形成・経験されるという意味で，高度に社会的性質をもっている。

我々は，「痛みの社会性」について，他者苦痛に関する「共感」という側面から研究している。情動伝染(emotional contagion)の例が示すように，他個体の表出する情動が個体間で伝搬することは, 痛みパラダイムを中心に, ラット，イヌ，ウマ，ゾウ，霊長類を含む広範な動物種において示されている。また，ヒトを用いた fMRI 研究からは，他者の身体的苦痛が観察者の Pain Matrix を賦活させることも示されている。本報告では，ヒトを用いた痛み共感研究について簡単にレビューしたあと，ヒト成人を対象とした我々の実験研究を報告する。指尖容積脈波(BVP)の変化を情動状態の指標として用いた実験研究から, ヒト成人の痛み共感においては，情動伝染型の（ボトムアップの）プロセスに加え，相手の個別状態に応じた制御的な（トップダウンの）認知プロセスが重要であり，そのことが利他行為や社会規範のベースとなる可能性について論じる。

（5）動物における共通経験と共感

渡辺　茂（慶應義塾大学人間知性研究センター）

他人の不幸が自分の不幸であり，他人の幸せが自分の幸せであるというのが共感の最も基本的な形である。ここでは両者の情動状態は一致している（state-matching）。前者は動物においても比較的容易に見いだすことができるが，後者はヒトにおいて多く見られるのに対し，他の動物では見られ難い。条件性場所選好（CPP: Conditioned Place Preference）は薬物強化効果を調べるのに良く用いられる手法であるが，マウスを使って，単一個体ではなく，ケージメイトと一緒に条件づけを行うとメタアンフェタミンの強化効果が促進されることを見いだした。これは同時に同じ経験をさせることによる強化効果促進である。さらにあらかじめメタアンフェタミン投与を経験させておくとメタアンフェタミンを投与されたケージメイトがある種の強化効果を持つ事も見いだした。これは継時的な共通経験の効果と見ることができる。他方，自分のみが不幸な状況におかれ，他人は幸せであると，その不幸は増大するように思われる。マウスを用いて拘束ストレスの効果をコルチコステロンの増加，嫌悪記憶増進作用，ストレス誘導性体温増加で測定した。その結果，一個体のみ拘束され，他のケージメイトは自由にしていると，どの指標をみてもストレスが増進することが分かった。これはある種の不公平嫌悪（inequality aversion）と見なすこともできる。

（6）痛み情動伝染に対する母子間関係性の影響

菊水健史（麻布大学 獣医学部 伴侶動物学研究室）

痛み情動伝染は，共感性の起源的役割を担っていると言われており，ヒトに限らずサル類からげっ歯類まで観察される現象である。痛み情動伝染とは，身体的痛みを呈している個体を観察することで，自身の痛み応答が上昇することを言う。これまでマウスにおける痛み情動伝染が報告され，また同じ経験をすることで，痛み情動がより効率よく伝達されることも明らかとなってきた。一方，ヒトの心理研究においては，痛み情動伝染など，共感性の機能発現において，幼少期環境が影響することが知られており，母子間において共感性が育まれる可能性が指摘されている。しかし，マウスにおける痛み情動伝染における母子間の影響は調べられていない。

我々はこれまで母子間を早期に分離する早期離乳モデルを構築し，早期離乳されたマウスの情動行動の変容などを見出してきた。今回，このモデルをもちい，痛み情動伝染がどのように変化するかを調べたので，報告したい。合わせて，げっ歯類における共感性のモデルに関しても議論を深めたい。

（7）神経内分泌系の条件恐怖反応の神経回路

尾仲達史[1]，吉田匡秀[1]，高柳友紀[1]
（[1]自治医科大学 医学部 生理学講座 神経脳生理学部門）

痛み刺激を加えられた場所に齧歯動物を戻すとすくみ行動が観察される。この条件恐怖反応を起こすための学習は扁桃体基底外側核が担っている。さらに，この情報が扁桃体中心核から出力され，すくみ行動が誘発されることが示されている。一方，条件恐怖刺激により，下垂体前葉からのACTH放出と下垂体後葉からのオキシトシン放出といった神経内分泌系の反応も誘発される。下垂体前葉-副腎皮質系の亢進，あるいは，オキシトシン系の亢進はストレス反応を修飾することが知られている。しかし，この神経内分泌系の反応を誘発させる神経回路については必ずしも明らかではない。例えば，扁桃体中心核を破壊すると，条件恐怖反応におけるすくみ行動は消失するが，神経内分泌反応は阻害されないと報告されている。

本研究は，条件恐怖刺激によるオキシトシン産生ニューロンの活性化を担う神経回路を明らかにすることを目的とした。逆行性トレーサー投与実験，Fos 蛋白質発現検討実験，局所破壊実験により，内側扁桃体－延髄孤束路核 PrRP 産生ニューロン－視床下部の回路が神経内分泌系の条件恐怖反応に重要であることが示唆された。一方，すくみ行動はこれらの経路を障害しても阻止されなかった。これらのデータは，行動と神経内分泌系の反応を誘発させるための扁桃体からの出力回路が異なることを示唆している。

（8）ストレスによる情動変容を担う自然免疫分子の役割

古屋敷智之（神戸大学 医学研究科 薬理学分野）

社会や環境から受けるストレスは認知情動変容を誘導し，うつ病や統合失調症といった精神疾患の主なリスク因子となる。げっ歯類での研究から，多様なストレスによって前頭前皮質神経細胞の機能や構造の変化が誘導され，この変化が認知情動変容を促すことが示されている。一方，ストレスにより脳内での PGE_2 や IL-1β など炎症関連分子の産生が上昇し，遺伝子欠損マウスを用いた解析から，これら炎症関連分子がストレスによる情動変容に

必須であることも示された。ミクログリアはこれら炎症関連分子の主な産生源である。ストレスによりミクログリアが活性化されることが示されているが，その意義や分子機序は確立しておらず，前頭前皮質の機能・構造変化との関連も不明であった。

自然免疫分子はミクログリアの活性化因子の一つである。近年，自然免疫分子を介した恒常性破綻検出が，多様な臓器での慢性炎症に寄与している可能性が提唱されている。我々は，自然免疫分子の遺伝子欠損マウスで反復社会挫折ストレスによる情動変容が消失することを見出している。さらなる解析により，自然免疫分子がストレスによるミクログリア活性化や前頭前皮質の神経細胞の機能・構造変化に重要であることも示しつつある。本研究会では，ストレスにおける自然免疫分子の役割と作用機序に関する最新の知見を紹介し，ストレスにおける神経グリア相互作用の関与について議論したい。

（9）下辺縁皮質のドパミンシグナルが恐怖の復元に関与する

人羅（今村）菜津子（東京大学 大学院薬学系研究科 薬品作用学教室）

不安障害治療において，治療後の再発防止は重要な課題である。不安障害に対する認知行動療法として，患者をカウンセラーの指導のもと恐怖の対象に徐々にさらしていくことで恐怖を克服させる暴露療法が挙げられる。これまでに，恐怖条件づけと消去学習の基礎研究から，その神経基盤が明らかにされてきた。特に，下辺縁皮質は，扁桃体の介在神経を介して扁桃体中心核を抑制することにより，消去学習に関与することが示唆されている。一方で，再発に関しては，実験動物においても消去学習後に恐怖が再び現れるという現象（復元）は知られているものの，メカニズムはほとんど明らかになっていない。

我々は，最初期遺伝子 c-Fos を用いた神経活動マッピングを用いて，恐怖の消失時に下辺縁皮質および扁桃体介在ニューロンが活性化し中心核の活動が低下すること，逆に，復元時には下辺縁皮質および扁桃体介在ニューロンの活動が低下し中心核が活性化することを明らかにした。また電気生理学的解析により，復元に伴い下辺縁皮質のシナプス伝達効率が低下することを明らかにした。さらに，これらの復元に伴う変化に下辺縁皮質のドパミンシグナルが関与しており，ドパミン D1 受容体を阻害することで復元が抑制されることを明らかにした。これらの結果から，下辺縁皮質のドパミンシグナルは，消去学習に関わる神経回路を抑圧して中心核を脱抑制することにより，復元に寄与するのではないかと考察している。

（10）父性発現と神経可塑的変化

天野大樹（理化学研究所脳科学総合研究センター 黒田研究ユニット）

成体マウスが仔マウスと遭遇した場合，養育と仔殺し（喰殺）のどちらかの行動を選択する。多くの雌マウスが交尾未経験であっても養育行動を示す一方で，交尾未経験の雄マウスの場合，提示された仔マウスに対して喰殺行動を示すが，雌マウスとの交尾および同居期間を経て父親になると仔マウスに対し養育行動を示す。つまり仔マウスから受ける感覚情報は同一であるにも関わらず，社会経験により雄マウスの行動様式が大きく変化すると言える。内側視索前野は雌雄の区別なく養育行動に重要な働きをしていると考えられている。また父親マウスの視床下部前部，内側扁桃体，背外側分界条床核において仔暴露によって引き起こされる細胞活性化マーカータンパク質 cFos の発現細胞数が交尾未経験の雄マウスと比べ有意に減少することが示された。しかし父性発現に寄与する神経可塑的変化の機構はこれまでほとんど明らかになっていない。そこで交尾未経験の雄マウスと父親マウス由来の脳スライス標本を作製し，それぞれホールセルパッチクランプ法により神経伝達強度の比較を行った。これまでに電気刺激誘発性シナプス後電流の振幅の変化を内側視索前野および背外側分界条床核において見出し

ている。本研究会ではこの変化の機構，及び養育行動関連領域の神経核間相互作用の可能性について議論する。

（11）情動行動を司る２つの異なる中隔核−手綱核回路

山口隆司（大阪バイオサイエンス研究所 システムズ生物学部門）

情動とは，心拍数の上昇や表情筋の変化などの生理学的な応答を伴う，怒りや恐怖，喜びといった一過性の感情であり，ヒトおよび，その他の動物においても見られ，種を超えて共通したパターンがある。情動の発現には，異なる脳部位が関わるとされているが，情動を客観的に評価できる指標が少ないこと，および，従来から用いられてきた局所破壊や電気刺激といった手法は，標的脳部位のすべての神経細胞に影響を及ぼすために，脳の各部位が，いかなる情動を司るのかを正確に規定することは困難であった。

我々は，情動行動への関連が示唆されてきた中隔核および手綱核の形成する神経回路に着目し，神経解剖学および遺伝子工学的手法を用いることで，中隔核-手綱核経路の神経連絡および機能を明らかにしようとした。その結果，中隔核の亜核である，三角中隔核および前交連床核は，内側手綱核の異なる部位に，分離した投射を送ること，さらに，これらの二つの分離した投射は，一方は「不安」を，他方は「恐怖」を司ることを明らかにした。また，zebrafish において，内側手綱核と相同である背側手綱核が，恐怖行動を調節することから，解剖学的に種を超えて保存された手綱核の形成する神経回路が，進化的に，同様の機能を保持していることが示唆された。

（12）食による情動記憶と扁桃体神経回路活性の変化

関口正幸（国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第四部）

食が脳機能に与える影響は少なくないと思われるが，その詳細はあまり明らかではない。近年臨床的には食生活と精神疾患の関係が盛んに報告・議論されている。食と脳機能の関係については心身相関的側面からも興味深い。

我々はマウスを用いて栄養素や末梢性因子が情動性行動や脳神経活動に及ぼす影響を検討している。本発表では栄養素である多価不飽和脂肪酸(Polyunsaturated fatty acid, PUFA と略す)の食餌摂取が条件性恐怖記憶と扁桃体神経回路に及ぼす影響について紹介したい。PUFA は細胞膜の構成成分として重要な栄養素であり，PUFA 摂取の多寡は膜局在タンパク質の活性変化を促すなどして，細胞・生体機能に影響を与えると考えられている。一方，条件性恐怖記憶は不安障害等の精神疾患に関与することが示唆されており，栄養素の影響を調べることは，これら疾患の予防や治療といった面から有用と思われる。

これまでに，食餌摂取する ω3/ω6-PUFA のバランスによって条件性恐怖記憶の保持/想起が変化すること，この変化はカンナビノイド CB1 受容体活性変動を介して起こること，等を見いだしている。これについて詳しく紹介したい。

10. 個体内記憶回路の同定とその機能解析による学習記憶制御基盤の統合的理解

2014 年 10 月 8 日－10 月 9 日

代表・世話人：喜田　聡（東京農業大学応用生物科学部）
所内対応者：鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）

（１）大脳皮質－基底核回路メカニズムの探索　～オペラント学習課題を活かして～
礒村宜和（玉川大学 脳科学研究所）

（２）侵害受容扁桃体による恐怖記憶制御の神経回路機構
渡部文子（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部）

（３）発声行動依存的遺伝子発現動態変化と発声学習臨界期制御
和多和宏（北海道大学大学院理学研究院生物科学部門）

（４）サル下部側頭葉における物体の表象と記憶想起を司る局所回路の計算原理
平林敏行（東京大学 医学部 統合生理学教室）

（５）線条体間接路神経の除去から分かってきたこと
田中謙二（慶應義塾大学医学部 精神・神経科学教室）

（６）シナプス入力の多様性を必要とする海馬学習
美津島　大（山口大学大学院医学系研究科 システム神経科学分野）

（７）エピジェネティクス解析から長期記憶分子メカニズムに迫る
平野恭敬（京都大学医学研究科 メディカルイノベーションセンター）

（８）微小管ダイナミクスによる記憶制御の分子基盤
内田周作（山口大学医学部附属病院 精神科神経科）

（９）Visualization of neuronal assembly in hippocampal CA1 during spatial memory task
林　康紀（独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター）

【参加者名】

南　雅文（北海道大学 大学院薬学研究院 薬理学研究室），内田周作（山口大学 医学部附属病院 精神科神経科），和多和宏（北海道大学 大学院理学研究院），喜田聡（東京農業大学 応用生物科学部バイオサイエンス学科），人羅（今村）菜津子（東京大学大学院 薬学系研究科 薬品作用学教室），大村　優（北海道大学 医学研究科 神経薬理学分野），征矢晋吾（金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 分子神経科学統合生理学研究室），山田大輔（国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部），平野恭敬（京都大学 医学研究科 メディカルセンターセンターＳＫプロジェクト），伏木　彬（慶応大学医学部 田中謙二研究室），中山大輔（東京大学大学院 薬学系研究科 薬品作用学），礒村宜和（玉川大学脳科学研究所 基礎脳科学研究センター），田中謙二（慶應義塾大学 医学部 精神神経科学教室），林　康紀（独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター 記憶メカニズム研究チーム），平林敏行（東京大学医学部統合生理学教室），美津島　大（山口大学大学院医学系研究科 システム神経科学分野），関口正幸（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第四部 電気生理室），高橋由香里（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部），井ノ口 馨（富山大学 大学院医学薬学研究部（医学）生化学講座），齊藤　実（東京都医学総合研究所 運動感覚システム研究分野・学習記憶プロジェクト），海老原てい（東京農業大学大学院 農学研究科バイオサイエンス専攻 動物分子生物学研究室），長葭大海（東京農業大学大学院 農学研究科 バイオサイエンス専攻 動物分子生物学研究室），川口凌平（東京農業大学大学院 農学研究科バイオサイエンス専攻 動物分子生物学研究室），田中　花（東京農業大学大学院 農学研究科バイオ

サイエンス専攻 動物分子生物学研究室），村上紗季（東京農業大学 バイオサイエンス学科 動物分子生物学研究室），樋口　慧（東京農業大学 バイオサイエンス学科 動物分子生物学研究室），宮原瑞希（東京農業大学 応用生物化学部バイオサイエンス学科 動物分子生物学研究室），弥武優郁（東京農業大学 農学科バイオサイエンス専攻 動物分子生物学研究室），中嶋夏海（東京農業大学 バイオサイエンス学科 動物分子生物学研究室），後藤貴志（東京農業大学 応用生物科学部バイオサイエンス学科 動物分子生物学研究室），平久沙和子（東京農業大学 応用生物科学部バイオサイエンス学科 動物分子生物学研究室），渡辺玉絵（東京農業大学 バイオサイエンス専攻　動物分子生物学研究室），中丸裕介（東京農業大学 応用生物科学部バイオサイエンス学科 動物分子生物学研究室），磯田喜市郎（東京農業大学 応用生物科学部 動物分子生物学研究室），堺　大樹（東京農業大学 応用生物学部バイオサイエンス学科 動物分子），渡部文子（東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 神経科学研究部），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ 商品研究室），天野大樹（北海道大学 大学院薬学研究院 薬理学研究室），﨑本裕也（山口大学 医学系研究科 システム神経科学分野），宮下知之（東京都医学総合研究所 運動感覚システム研究分野・学習記憶プロジェクト），揚妻正和（科学技術振興機構（大阪大学 永井研究室）），和氣弘明（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門），宮本愛喜子（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門），鍋倉淳一（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門），稲田浩之（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門），　江藤　圭（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門），石川達也（生理学研究所 生体恒常機能発達研究部門），加藤大輔（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門），中村佳代（生理学研究所 生体恒常機能発達研究部門），中畑義久（生理学研究所 生体恒常機能発達研究部門），穐吉亮平（生理学研究所 生体恒常機能発達研究部門），戸田拓弥（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門）

【概要】

記憶研究は，現在，転換期を迎えている。これまで特定の遺伝子に着目する遺伝学的手法を用いて記憶制御基盤の解明が進められてきた。現在，ウイルスを用いた分子遺伝学的手法，光遺伝学的手法，in vivo 記録及びイメージング技術の進展により，個体内の分子のみならず，回路・シナプスに特化して介入操作を加えることで，個体内の記憶回路にフォーカスした研究を展開することが可能となりつつある。現在，国内では，欧米に比較すると，個体を対象とする記憶研究は盛んであるとは言い難い。しかし，ショウジョウバエや線虫を中心としたモデル生物を用いた記憶研究は活発であり，一方で，高度な分子生物学・生理学・イメージング技術を有する神経科学研究者と多彩な研究が融合し，欧米を凌駕する新たな記憶研究を進展させることも可能である。今回は，ショウジョウバエ，鳥類，げっ歯類，霊長類を対象として記憶研究を進める研究者が一同に揃って，分子から，細胞，回路，行動に至るレベルの様々な研究成果が紹介された。特に独自に開発された学習・記憶課題と光遺伝学，分子遺伝学，生理学，二光子イメージングと多彩な技術を融合した革新的な研究が目立ち，国内の学習記憶研究が新たなステージを迎えていることが浮き彫りとなった。また，研究会を通して，動物種を超えて様々な議論が展開され，それぞれの動物種を対象とする研究の理解も深まった。以前は米国コールドスプリングハーバー研究所において，このような様々なモデル生物を対象とする記憶研究者が集うミーティングが行われていたものの，最近では機会は極めて少なくなっている。この現状の中で，昨年度までの会に引き続き，今年度の記憶回路研究会を通して，記憶研究の今後の新展開を考える上での非常に貴重な機会を提供できたと考えられる。オールジャパンの新たな融合的研究が産まれるためにも，このアクティビティを継続することは大いに意義がある。

（1）大脳皮質－基底核回路メカニズムの探索
～オペラント学習課題を活かして～

礒村宜和（玉川大学 脳科学研究所）

大脳皮質では，行動発現に関連する神経細胞の発火活動の変化が観察される。しかしながら，大脳皮質の興奮性の錐体細胞と抑制性の介在細胞が行動指令を形成する回路機構に関しては未だに謎が多い。そこで私たちは，ラットに前肢を使ったオペラント学習課題を効率よく遂行させる行動実験装置を開発し，神経細胞の発火活動を記録し可視化同定する傍細胞（ジャクスタセルラー）記録法や多数の神経細胞の発火活動を同時に記録するマルチニューロン記録法を組み合わせる研究手法を確立した。そして，運動野の各層にわたって，錐体細胞は機能的に多様な発火活動を示す一方，主要な介在細胞サブタイプ（FS 細胞）は行動発現中に強く活動することなどを明らかにした。局所フィールド電位上，遅いガンマ波や速いガンマ波が異なる行動局面でシータ波成分と同調して出現することも示した。

さらに，運動野の投射先である背外側線条体の神経細胞の発火活動を傍細胞記録し，その記録細胞が直接路投射か間接路投射かをドーパミン D1 受容体の発現の有無で可視化同定する実験を試みた。そして，直接路細胞も間接路細胞も，行動発現に関連して時間的に類似した活動を示すことと，それらは報酬予測により正の修飾を受けることを見出した。このことは，行動発現の制御は大脳基底核の直接路と間接路の単純な拮抗的バランスによるものではなく，むしろ協調的作用の結果であることを示唆している。今後は，オペラント学習の進行に伴う大脳皮質－基底核回路の適応機構にも注目したい。

（2）侵害受容扁桃体による恐怖記憶制御の神経回路機構

渡部文子（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部）

恐怖条件付けなどの恐怖記憶形成には，条件刺激と無条件刺激との連合の座として扁桃体が重要な役割を担うことが広く知られている。扁桃体は条件刺激という様々な感覚情報に，無条件刺激という侵害受容シグナルを介した「負情動価値」を連合・付加することで，動物のその後の行動プログラムを書き換える変換機能を担うと考えられる。しかしながら，この侵害受容シグナルがどのように扁桃体神経回路において処理されるのか，その過程においてどのように「負情動シグナル」へと翻訳されるのか，については未だ不明な点が多い。

我々は，このような侵害受容シグナルの中継核として，侵害受容器から脊髄後角を介して直接入力を受ける橋の腕傍核に着目した。特に，腕傍核からは扁桃体中心核へ直接入力する経路が存在することから，現在，この経路を中心に神経回路制御機構の解析を進めている。従来の研究成果により，腕傍核から扁桃体中心核への直接経路が，様々な急性・慢性疼痛モデルにおいて強いシナプス増強を示すことが知られている。また，急性脳切片を用いた実験でも，このシナプスは非常に高い可塑性を示す。我々は，薬理学的抑制実験により，恐怖記憶形成に腕傍核の活動が必要であることを見出した。さらに，恐怖記憶形成後には腕傍核から中心核へのシナプス増強が誘導されることも明らかにした。本発表では，これらシナプス可塑性制御の分子機構ならびにその生理的意義についても最新の知見を紹介する。

（3）発声行動依存的遺伝子発現動態変化と発声学習臨界期制御

和多和宏（北海道大学 大学院理学研究院 生物科学部門）

ヒト言語獲得も鳴禽類ソングバードの発声学習も感覚運動学習を根幹し，学習のために最も適した時期，学習臨界期が存在する。これまでに，音声発声学習において「声を出す」という自発的行動そのものが，脳内遺伝子発現制御において重要な意味をもつと考え，発声行動に伴う神経興奮により発現誘導される遺伝子群の同定を試みてきた。その結果，発声行動依存的でかつ，神経回路（細胞タイプ）特異性と学習臨界期間限定性を兼ね備えた時空間発現制御を受ける遺伝子群が多数存在することが明らかになった。このような多段階発現制御を受ける遺伝子群にはエピジェネティクス関連遺伝子群が含まれており，神経核 RA（哺乳類運動野第５層に相同）での発現誘導率と臨界期間における発声学習能に強い相関を認め，感覚運動学習のエピジェネティクス動態変化を示唆する結果を得てきた。また更に，学習臨界期間中の発声行動量を少なく統制するによって，発声行動パターンの発達異常が見られ，上記神経活動依存的遺伝子群の時期特異性発現動態の遅延が確認された。

現在，このような時空間特異性を受ける多段階遺伝子発現制御メカニズムとエピジェネティクス制御との関わりが，個体レベルで行動発達，特に動物種特異的な行動パターン発達にどのような影響を与え得るのかを明らかにすべく研究を進めている。

（4）サル下部側頭葉における物体の表象と記憶想起を司る局所回路の計算原理

平林敏行（東京大学医学部 統合生理学教室）

霊長類の大脳下部側頭葉は，腹側視覚経路の最終段にあたり，物体についての視覚表象，並びに記憶の形成・想起を司る脳領域として知られている。これまでに，サルを用いた単一ニューロン活動記録により，この領域において物体の視覚表象や記憶想起に関わるニューロン活動が多く示されてきた。しかし，これらのニューロン群が互いにどのような回路を形成し，どういった計算原理で上記の活動を成立させているかについては，長い間未解明のままであった。そこで本研究では，物体間対連合記憶課題を遂行中のマカクザル下部側頭葉より多細胞同時記録を行い, Granger 因果性解析 (Hirabayashi et al., *JNS* 2010) 及び相互相関解析 (Hirabayashi et al., *JNS* 2005) を用いて単一ニューロン間の機能的結合の強さと向きを求めた。これにより，課題遂行中の局所神経回路内における，対連合記憶関連ニューロン間の情報伝達とそのダイナミクスを解析し，回路の計算原理を明らかにした。本研究会では，まず物体間対連合記憶の想起信号を生成する局所神経回路の動作 (Hirabayashi et al., *Neuron* 2013) と，その領野間の相違 (Hirabayashi et al., *JNS* 2014）について紹介し，さらに，物体間対連合の表象形成が 2 つの領野に渡る階層的な計算原理によって成立しているという新しい仮説（Hirabayashi et al., *Science* 2013）について議論したい。

（5）線条体間接路神経の除去から分かってきたこと

田中謙二（慶應義塾大学医学部 精神・神経科学教室情動の制御と治療学寄附講座）

神経心理学では，脳損傷患者が失った高次脳機能を詳細に記録すると同時に，損傷部位を同定する（古くは剖

検，今では脳画像検査）ことによって，脳の領域が担当する機能を明らかにしていく。実験動物で同じような損傷を施すことは，ヒト神経心理学の確認実験にしかならないが，実験動物の高い操作性を活かせば，意味のある損傷実験を行えるのではないか。

私達は腹側線条体の間接路神経だけを，好きなタイミングで除去できる遺伝子改変マウスを樹立した。作ってみてから分かったことだが，除去はいつも外側の腹側線条体から始まり，時間と共に腹内側線条体，背内側線条体と広がっていく。除去のタイミングはドキシサイクリンの投与で制御することが出来，途中で除去の広がりを停止させることが出来る。この除去システムを用いて，これまで殆ど語られることの無かった腹外側線条体間接路の機能について調べることが出来るようになった。

損傷実験と平行して，腹外側線条体間接路の活動を記録する実験系を立ち上げた。Yellow cameleon を間接路神経細胞だけに発現させたマウスを用意し，腹外側線条体から集合 Ca 信号を取得する計測系である。

当日は腹外側線条体間接路の除去からわかってきた機能と，腹外側線条体間接路がどのような場面で活動するのか，未発表データを交えてお話ししたい。

（6）シナプス入力の多様性を必要とする海馬学習

美津島　大（山口大学大学院･医学系研究科･システム神経科学分野）

海馬は「いつ，どこで，何があったか」というエピソード記憶の形成に中心的な役割を持つ。海馬には時間情報 (Mitsushima et al, J Neurosci 2009)や空間情報 (Wills et al, Science 2010)が入るが，記憶の符号化ルールは未だ不明である。我々は回避学習が海馬 CA1 ニューロンの AMPA 受容体を興奮性シナプスへ移行させ，これを阻止すると回避学習が成立しないことから，AMPA 受容体のシナプス移行が学習成立に必要であることを証明した (Mitsushima et al, PNAS 2011)。

さらに，回避学習は AMPA 受容体を介する興奮性シナプスの可塑性だけでなく，$GABA_A$ 受容体を介した抑制性シナプスの可塑性も高める結果，個々の CA1 ニューロンが複雑かつ多様なシナプス入力を保持することも発見した。薬物を用いて興奮性シナプスの多様性や抑制性シナプスの多様性を失わせると，どちらの場合も学習が成立しないため，学習がもたらす多様なシナプス入力が，記銘に必要な CA1 ニューロンの記憶痕跡であると考えられた(Mitsushima et al, Nat Commun 2013)。

以上より，学習後の CA1 ニューロンは，興奮と抑制のフェーズを繰り返す特徴的な発火活動を示し，さらに個々の CA1 ニューロンは異なる活動パターンを示して情報伝達を行う，という仮説に至った。

（7）エピジェネティクス解析から長期記憶分子メカニズムに迫る

平野恭敬（京都大学医学研究科）

ヒトを含めた動物は，長期的な記憶を形成し，その記憶を保持することで，生存に有利になるよう行動する。長期記憶の形成過程では，一過的な遺伝子発現誘導が長期記憶形成に必須であり，転写因子 CREB，そしてエピジェネティックな制御としてヒストンアセチル化が重要な役割を果たしている。しかしながら，どのヒストンアセチル化酵素がどのような遺伝子発現を制御することが長期記憶に重要なのか，また他のエピジェネティクス因子は長期記憶に必要か，遺伝子発現制御は果たして一過的か，それとも恒常的変化をもたらすのか，依然として不明である。このような分子レベルでの記憶の理解には，長期記憶を持つ個体と持たない個体の比較が必須であり，従って通常の飼育環境では長期記憶を形成しにくいが実験的に長期記憶を誘導できるモデル生物が有用であると考えられる。そこで我々は，時間的間隔をあけた繰り返し学習で長期記憶を形成するショウジョウバエをモデル

生物として用い, 記憶中枢に焦点を絞り, エピジェネティクス解析を行っている。発表では，これまでに同定した長期記憶に重要なエピジェネティクス因子，およびそれらの標的遺伝子, さらに個々の役割を紹介し, 議論したい。

（8）微小管ダイナミクスによる記憶制御の分子基盤

内田周作（山口大学医学部附属病院 精神科神経科）

学習・記憶の細胞基盤として，神経細胞樹状突起スパインの活動依存的な構造・機能変化が想定されている。細胞の構造変化には微小管やアクチン細胞骨格系による形態・運動の制御が不可欠である。アクチンダイナミクスはスパインの安定性と可塑性に関与し，長期記憶形成の構造的基盤の一端を担うことが明らかとなっている。一方，タンパク質や小胞などの細胞内輸送としての役割を果たす微小管は，成熟神経細胞内では極めて安定に維持されているため，脳高次機能に対する微小管ダイナミクスの役割は不明であった。しかし近年のイメージング技術の進展により，スパインにおける神経活動依存的な微小管ダイナミクスの存在が示され，微小管活性の神経可塑性に対する積極的な関与が示唆されるようになってきた。我々は，微小管ダイナミクスの観点から学習・記憶形成の分子メカニズム解析を進めている。まず，海馬依存性の恐怖条件付け学習課題提示後のマウス海馬歯状回において，微小管活性が大きく変動することを確認した。この学習依存的な微小管ダイナミクスに関与する因子としてスタスミンを同定した。さらに，学習依存的な微小管の活性制御が，AMPA 型グルタミン酸受容体の樹状突起内輸送や転写活性化補助因子の核移行に関与する結果を見出している。本発表では，長期記憶形成に関わるシナプス再構築や遺伝子発現制御に対する微小管ダイナミクスの役割について考察する。

（9）Visualization of neuronal assembly in hippocampal CA1 during spatial memory task

林　康紀（独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター）

Hippocampus plays an important role in the formation of memories for space and events. However, it is not fully understood how neuronal circuits are reorganized during the formation of memory for a particular place with value for the animal (such as reward). We hypothesize that the neuronal assembly - a group of neurons firing together - is formed and reorganized within hippocampal network during memory formation. To visualize hippocampal network activity during learning, we established a new virtual spatial memory task for head-fixed mice combined with two-photon calcium imaging. In this task, the mice run on a virtual linear track where three target zones are defined by a different pattern on the wall. Mice begin to run from one end of the virtual linear track to seek for rewards delivered at one of the three zones. The training protocol consists of three phases. (1) Non-delayed task: mice are rewarded immediately whenever they enter and pass through the target zone. (2) Delayed task: mice have to visually navigate to the same target and stay there for 1-2 sec of delay to receive rewards. (3) Target shift task: the reward location is shifted to one of the other zones and mice are trained to locate the new zone. We trained transgenic mice that express the G-CaMP7 fluorescent calcium sensor proteins in hippocampal CA1 pyramidal neurons and imaged neuronal activities during the behavior by two-photon microscopy. Our analysis revealed that a population of neurons exhibited virtual place-specific activity. In addition, another group of neurons demonstrated time-locked activity to the entry of the mice into the target zone. These preliminary results raise an intriguing possibility that time and space are coded by different subpopulations of pyramidal neurons in the dorsal CA1 hippocampus.

11．粘膜免疫学と膜輸送生理学の融合

2014 年 10 月 27 日－10 月 28 日

代表・世話人：杉田　誠（広島大学大学院医歯薬保健学研究院）
所内対応者：鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構）

（１）胃幽門腺粘液細胞での Ca^{2+}調節性開口放出における AA/PPARα オートクリン機構の調節
田中早織 [1]，松村人志 [1]，中張隆司 [2]（[1] 大阪薬科大学 薬物治療学，[2] 京都府立医科大学 細胞生理学）

（２）嚢胞性線維症モデルマウスから単離した小葉間膵管における HCO_3^- 輸送
谷口いつか，山本明子，中莖みゆき，山口　誠，持丸由香，石黒　洋
（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）

（３）CFTR コレクターの作用機序に基づく嚢胞性線維症の薬物併用療法
沖米田　司（関西学院大学 理工学部 生命科学科）

（４）Notch シグナルは proximal tubule の分化を制御し，distal tubule の伸長を阻害する
堅田智久，櫻井裕之（杏林大学医学部薬理学教室）

（５）Paneth 細胞 α-defensin による腸内細菌叢制御と疾患との関連の解明
中村公則，櫻木直也，綾部時芳
（北海道大学大学院先端生命科学研究院 細胞生物科学分野 自然免疫研究室）

（６）上皮バリアの制御機構とその破綻による慢性炎症発症メカニズム
尾畑佑樹 [1,2]，長谷耕二 [3,1]（[1] 東京大学医科学研究所・国際粘膜ワクチン開発センター・粘膜バリア学分野，[2] 千葉大学大学院医学研究院・免疫制御学，[3] 慶応義塾大学薬学部・生化学講座）

（７）腎近位尿細管におけるアミノ酸輸送複合体の解析
永森收志 [1]，Pattama Wiriyasermkul[1]，奥山裕久 [1]，Meritxell Espino Guarch[2]，中込咲綾 [1]，高藤和輝 [1]，大垣隆一 [1]，Manuel Palacín[2]，金井好克 [1]（[1] 大阪大学大学院医学系研究科 生体システム薬理学，[2]Institute for Research in Biomedicine University of Barcelona）

（８）腎集合管側底膜型 Ca 感受性受容体（CaSR）の生理的役割
河原克雅 [1]，安岡有紀子 [1]，佐藤雄一 [2]，野々口博史 [3]（[1] 北里大学医学部生理学，[2] 北里大学医療衛生学部分子診断学，[3] 北里大学メディカルセンター・内科）

（９）唾液腺細胞におけるカルシウムシグナルの時空間制御機構と機能連関
谷村明彦，根津顕弘，森田貴雄（北海道医療大学歯学部薬理学分野）

（10）腸管粘膜上皮において短鎖脂肪酸が誘発する起電性経上皮イオン輸送の部位差・種差 ― ヒトは？
唐木晋一郎，桑原厚和（静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命学科／大学院 薬食生命科学総合学府 環境生理学研究室）

（11）味覚神経伝達を担う新規 ATP 放出イオンチャネル CALHM1 の同定
樽野陽幸 [1,3]，丸中良典 [1,2]，J. Kevin Foskett[3]（[1] 京都府立医科大学大学院医学研究科 細胞生理，[2] 京都府立医科大学大学院医学研究科 バイオイオノミクス，[3] ペンシルバニア大学医学部 生理）

（12）亜鉛欠乏による皮膚炎の発症メカニズム
川村龍吉（山梨大学 医学部 皮膚科）

（13）Pannexin 1 の単一イオンチャネルゲーティングキネティクス解析
野村　健 [1]，樽野陽幸 [2]，中張隆司 [2,3]，曽我部正博 [4]，丸中良典 [1,2,3]
（[1] 京都府立医科大学大学院医学研究科 バイオイオノミクス，[2] 京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理，[3] 平安女学院大学日本食育・健康研究所，[4] 名古屋大学大学院医学系研究科メカノバイオロジー）

（14）高速原子間力顕微鏡を用いた自己抗体－抗原反応の 1 分子動態の直接観察

相馬義郎，山下隼人（慶應義塾大学医学部薬理学教室）

（15）容積感受性アニオンチャネルのアクチン依存的活性化

清水貴浩[1]，大竹宏尚[1]，藤井拓人[1]，岡田泰伸[2]，酒井秀紀[1]

（[1]富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）・薬物生理学，[2]総合研究大学院大学）

（16）CFTR の R ドメインを介する分子複合体の形成と相互機能制御

杉田　誠（広島大学大学院医歯薬保健学研究院 口腔生理学研究室）

【参加者名】

谷村明彦（北海道医療大学 歯学部），中村公則（北海道大学 大学院先端生命科学研究院），相馬義郎（慶應義塾大学 医学部），長谷耕二（慶應義塾大学 薬学部），櫻井裕之，堅田智久（杏林大学 医学部），河原克雅（北里大学 医学部），川村龍吉（山梨大学 医学部），桑原厚和，唐木晋一郎，富澤由花，下田恭子（静岡県立大学 食品栄養科学部），石黒　洋，谷口いつか（名古屋大学大学院 医学系研究科），鍋倉淳一（生理学研究所），酒井秀紀，清水貴浩，藤井拓人（富山大学 大学院医学薬学研究部），樽野陽幸，宮崎裕明，中張隆司，野村　健，加塩麻紀子，早田洋樹，孫　紅昕（京都府立医科大学大学院 医学研究科），永森收志（大阪大学大学院 医学系研究科），田中早織（大阪薬科大学 薬学部），沖米田　司（関西学院大学 理工学部），杉田　誠（広島大学 大学院医歯薬保健学研究院）

【概要】

上皮膜による物質輸送（吸収・分泌）は，体液恒常性の維持，栄養素の吸収，消化液の分泌等の役割を持ち，生命活動に必須の役割を果たす。一方，上皮膜細胞は免疫担当細胞と協調し相互に活性を制御し合いながら，化学物質や微生物の侵襲を防ぐ物理的・化学的バリアとして機能する。本研究会では上皮膜輸送機能を分子・細胞生理学的な視点で研究する者と上皮膜バリア機能を粘膜免疫学の視点で研究する者の接点をもうけ，上皮膜細胞の吸収・分泌・バリア機能が発揮される時空間ダイナミクスとその病態を統合的に理解することを目指した。腎臓，消化管，膵臓，唾液腺の上皮膜細胞には膜輸送タンパク質が基底側膜と管腔膜に極性を持って配置し，それぞれの膜で複数種の膜輸送タンパク質が機能複合体を形成し，イオン輸送，ムチン分泌，アミノ酸吸収を遂行する。それらの時空間ダイナミクスについて，新しい実験技術・材料の開発に基づいた発見が報告された。嚢胞性線維症モデルマウスの解析から HCO_3^- 輸送の異常が病態を生じさせる機構が報告され，また嚢胞性線維症原因遺伝子 CFTR の変異による機能異常を改善する低分子化合物の作用機序と作用点に基づく複数の化合物の併用療法が報告された。Notch シグナルによる腎組織や腸管上皮バリアの発生制御機構，その破綻による慢性炎症発症機構，抗菌ペプチドによる腸内細菌層制御と疾患との関連，および自己抗体-抗原反応の高速原子間力顕微鏡を用いた 1 分子動態観察について報告がなされた。容積調節性アニオンチャネルの活性制御機構，ATP 放出に関与する Pannexin 1 や CALHM1 チャネルの開閉制御機構と生理的意義，および亜鉛欠乏による細胞外 ATP 蓄積を介する接触性皮膚炎の発症メカニズムについて報告がなされた。それらの発表と討論により，上皮膜細胞の吸収・分泌・バリア機能の異常を修復する新しいストラテジーを融合的視点から考案する契機を得た。

（1）胃幽門腺粘液細胞での Ca^{2+}調節性開口放出における AA/PPARα オートクリン機構の調節

田中早織[1]，松村人志[1]，中張隆司[2]（[1]大阪薬科大学 薬物治療学，[2]京都府立医科大学 細胞生理学）

ACh は，胃幽門腺粘液細胞の Ca^{2+}調節性開口放出を活性化する。この Ca^{2+}調節性開口放出は，アラキドン酸（AA）/PPARα オートクリン機構により増強される。本研究では，PPARα による Ca^{2+}調節性開口放出の増強メカ

ニズムについて検討した。

ACh は，2 相性の開口放出（初期相と遅発相）を活性化する。PPARα 刺激薬（GW7647）は，ACh 刺激性開口放出の初期相を増強した。この増強は，PPARα 阻害薬（GW6471）により消失するが，遅発相においてゆっくりとした一過性の増強を引き起こした。さらに GW6471 の代わりに PKG 阻害剤（Rp8BrPETcGMPS）あるいは NOS1 阻害剤（N-PLA）を加えても遅発相において同様の一過性の増強を引き起こした。ACh 及び GW7647 刺激は，胃幽門粘膜における NO 産生及び cGMP 量を増加させ，その増強は GW6471 あるいは N-PLA によって抑制された。また，胃幽門腺粘液細胞には NOS1 と PPARα が共局在していた。

胃幽門腺粘液細胞からの粘液開口放出は，ACh による細胞内 Ca^{2+}濃度上昇が，PLA_2 を介し産生された AA が PPARα を刺激し，NOS1 を介した NO/cGMP の集積を起こし，Ca^{2+}調節性開口放出を増強していた。

（2）嚢胞性線維症モデルマウスから単離した小葉間膵管における HCO_3^-輸送

谷口いつか，山本明子，中莖みゆき，山口　誠，持丸由香，石黒　洋
（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）

［目的］嚢胞性線維症は，CFTR を原因分子とする常染色体劣性遺伝性疾患であり，膵液量が減り，膵液のアルカリ化が障害される。本研究では，最も頻度の高い F508del 変異が導入された ΔF マウスの膵臓から小葉間膵管を単離し，HCO_3^- 輸送を解析した。

［方法］実体顕微鏡下で直径約 100 μm の小葉間膵管を単離した。BCECF を 10 分間負荷した単離膵管の管腔を microperfusion し，細胞内 pH を測定した。表層，管腔ともに 25 mM HCO_3^- - 5% CO_2 緩衝液で潅流した。

［結果］ΔF マウスから単離した膵管（ΔF/ΔF duct）では，細胞内 pH が，wild-type マウスから単離した膵管（wt/wt duct）に比べて有意に（$p<0.05$）高く，forskolin を加えるとさらに（$p<0.05$）上昇した（ΔpH : 0.049 ± 0.008, mean ± SE, n=6）。forskolin 刺激下で，NH_4^+ pulse（20 mM, 2 分間）後に表層と管腔潅流液の Na^+を除いて酸負荷した（pH : 6.8～6.9）。表層を high-K^+（70 mM）にした状態で，管腔内灌流液に Na^+を加えた時の細胞内 pH の上昇は，wt/wt duct に比べて，ΔF/ΔF duct の方が有意に（$p<0.05$）早かった。

［結論］ΔF/ΔF duct の高い細胞内 pH は，apical membrane を介する HCO_3^- 分泌の障害によると推定される。また，ΔF/ΔF duct では，apical membrane 上の Na^+依存性 HCO_3^- 吸収メカニズムの活性が亢進していた。

（3）CFTR コレクターの作用機序に基づく嚢胞性線維症の薬物併用療法

沖米田　司（関西学院大学 理工学部 生命科学科）

ABC トランスポーターの CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) は上皮細胞のアピカル形質膜で Cl^- channel として機能し，その遺伝子変異は白色人種間で頻度が高い単一遺伝病である嚢胞性線維症 (CF) の原因となる。大部分の CF 患者で見られる ΔF508 変異は小胞体での CFTR folding を阻害し，ΔF508-CFTR は小胞体関連分解により除去されるため，形質膜に発現できない。現在までに VX-809 などの CFTR folding を改善する化合物 “CFTR コレクター” が開発されているが，そのメカニズムは不明な点が多く，十分な臨床的有効性が得られていない。以前，我々は ΔF508 変異は CFTR の NBD1 と NBD1-MSD2 interface を不安定化すること，また，ΔF508-CFTR 発現・機能の十分な改善には，これらの構造異常を同時に改善する事が必須である事を明らかにした。

本研究では，CFTR コレクターの作用機序を解明する

ために，種々な研究手法を用いて *in silico*, *in vitro* および *in vivo* 解析を行った。その結果，CFTR コレクターは ①NBD1-MSD1/2 interface，②NBD2 または ③NBD1 に作用し，その作用機序から３つのクラスに分類された。これらの CFTR コレクター単独処理では ΔF508-CFTR 改善効果は弱いが，モデル細胞において作用点の異なる３つの化合物を併用すると ΔF508-CFTR の folding および 形質膜発現がほぼ完全に回復した。さらに，CF 患者腸管培養モデルにおいても同様の改善効果が確認された。従って，作用点に基づく合理的な CFTR コレクター併用療法は CF の治療効果を改善し，臨床的にも有効である可能性が期待された。

（4）Notch シグナルは proximal tubule の分化を制御し，distal tubule の伸長を阻害する

堅田智久，櫻井裕之（杏林大学医学部薬理学教室）

腎臓はネフロンを機能単位とし，高度に制御された発生過程を経て形成される臓器である。ネフロンの形成過程を知ることは，腎異形成などの治療や腎再生医療を進める上で重要な知見となる。

そこで本研究では，アフリカツメガエル前腎をモデルとし，腎尿細管の形成機構を明らかにすることを目的とし，特に Notch シグナルが上記機構にどのような影響を及ぼすかを検討した。

その結果，Notch シグナルは glomus と proximal tubule の形成に必要であることと，distal tubule は発生期における段階的な Notch シグナルの活性化によって伸長が停止することとが分かった。この伸長の停止に伴って distal tubule の各セグメントの分化も抑制された。従って distal tubule は Notch の機能抑制による分化と伸長が同時に作用しなければ形成されないことが示唆される。

これらのことから，前腎形成においては，Notch が前腎前駆細胞に proximal cell の identity を与え，細胞の伸長運動を抑制することで，glomus と proximal tubule の細胞運命を確立し，proximal cell の identity を与えられなかった細胞が distal tubule としての分化運命を獲得して伸長および分化していくと考えられる。

（5）Paneth 細胞 α-defensin による腸内細菌叢制御と疾患との関連の解明

中村公則，櫻木直也，綾部時芳
（北海道大学大学院先端生命科学研究院 細胞生物科学分野 自然免疫研究室）

【目的】抗菌ペプチド α-defensin は自然免疫の主要な作用因子の一つであり，小腸陰窩基底部に位置する Paneth 細胞から分泌され，強力な殺微生物作用で感染防御に寄与している。われわれは，マウス α-defensin である cryptdin (Crp)は病原菌を強く殺菌するが，常在菌にはほとんど殺菌活性を示さず，その選択性によって腸内細菌叢を制御している可能性を示した。近年，炎症性腸疾患や肥満など様々な疾病の発症に腸内細菌叢の破綻（dysbiosis）との関連が報告されている。そこで，α-defensin による腸内細菌叢制御という視点から，α-defensin 分泌量の測定法を確立し，分泌された α-defensin と疾患の関係を評価することを目的とした。【方法】炎症性腸疾患マウス（IL10KO），食餌誘導性肥満マウス（DIO）の分泌された α-defensin は，各マウスの糞便を回収し，Crp4 sandwich ELISA 及びイムノブロットを用いて測定した。【結果】IL10KO の Crp の分泌量は野生型に比べ有意に減少していた。また，DIO の Crp の分泌量は通常食に比べ有意に減少していた。【結論】炎症性腸疾患マウス，食餌誘導性肥満マウスにおいて，α-defensin の分泌低下による dysbiosis が病態進行に関与することが示唆された。

（6）上皮バリアの制御機構とその破綻による慢性炎症発症メカニズム

尾畑佑樹 [1,2]，長谷耕二 [3,1]（[1] 東京大学医科学研究所・国際粘膜ワクチン開発センター・粘膜バリア学分野，[2] 千葉大学大学院医学研究院・免疫制御学，[3] 慶応義塾大学薬学部・生化学講座）

腸管粘膜面を覆う腸上皮細胞は，細胞間のタイトジャンクションやムチンによって物理化学的バリアを構築する他，抗菌ペプチドの産生や IgA 抗体の輸送を行うことで生体防御に積極的な役割を果たしている。腸上皮層は，大別すると吸収上皮細胞と分泌上皮細胞（杯細胞，パネート細胞，腸内分泌細胞およびタフト細胞）の 2 種類の細胞系列に分類される。この 2 種類の細胞系列の存在比は Notch シグナルによって調節されている。我々は上皮バリアにおける Notch シグナルの役割を調べるために，上皮の Notch シグナルの責任遺伝子である RBP-J を腸上皮特異的に欠損させたマウス（以下 RBP-J 欠損マウス）を作成した。RBP-J 欠損マウスでは，側方抑制の消失により大腸の杯細胞の数は大幅に増加した。しかしながら，杯細胞の増加に伴うムチンの増加にも関わらず，バリア機能は低下し，慢性大腸炎を自然発症することが判明した。Notch シグナルは上皮細胞の増殖とそれに伴う素早いターンオーバーの維持にも必要であるため，RBP-J 欠損マウスでは，腸上皮の修復が遅延することでバリアに綻びを生じ，腸内細菌の粘膜固有層への侵入を許容することが明らかとなった。RBP-J 欠損マウスに抗菌剤を経口投与すると大腸炎の発症が抑えられることから，上皮層のターンオーバーもまた，腸内細菌の侵入を防ぐための重要なバリアであることが示唆された。以上の結果より上皮の Notch シグナルは腸上皮細胞の活発な増殖を保証しバリアを高めることで，腸管の炎症を未然に防ぐための必須の機構の一つと考えられる。

（7）腎近位尿細管におけるアミノ酸輸送複合体の解析

永森收志 [1]，Pattama Wiriyasermkul[1]，奥山裕久 [1]，Meritxell Espino Guarch[2]，中込咲綾 [1]，高藤和輝 [1]，大垣隆一 [1]，Manuel Palacín[2]，金井好克 [1]
（[1] 大阪大学大学院医学系研究科 生体システム薬理学，
[2]Institute for Research in Biomedicine University of Barcelona）

ヘテロ二量体アミノ酸トランスポーター（HAT）ファミリーは，輸送体本体である軽鎖と補助因子の重鎖からなっており，様々な組織でアミノ酸輸送を担っている。腎尿細管におけるアミノ酸再吸収においても HAT ファミリーが関与しており，塩基性アミノ酸およびシスチンの再吸収が重鎖 rBAT と軽鎖 $b^{0,+}$AT（SLC7A9）からなるヘテロ二量体により行われている。二分子どちらの変異によってもシスチン尿症が発症するが，双方に変異の無い症例も存在する。さらに rBAT の発現は近位尿細管 S3 分節に高いにもかかわらず，$b^{0,+}$AT は S1 分節に発現が高いため，S3 分節には rBAT と結合する未同定のシスチン輸送体が存在すると考えられていた。

我々は，腎特異的に発現する SLC7A13 が rBAT の結合軽鎖であり，アスパラギン酸（Asp）グルタミン酸（Glu），シスチンを主な基質とすることを示し，SLC7A13 と rBAT が近位尿細管でヘテロ二量体シスチン輸送体として機能することが明らかにした。しかしながら，SLC7A13 は交換輸送体であったため，シスチンを取り込むために Asp や Glu を放出する必要があり，S3 分節でのアミノ酸流出を回避する機構の存在が示唆される。SLC1A1 は Na 依存的に Glu・Asp を輸送し，近位尿細管 S3 分節にも発現することが知られている。SLC1A1 の局在を詳細に調べたところ，SLC7A13 と共局在する箇所があり，さらに両者は非常に近接して存在していることが示された。したがって，SLC7A13・rBAT 二量体がシスチンを取り込むために放出した Glu・Asp を，Na 濃度勾配を利用して SLC1A1 が吸収するアミノ酸輸送の機能的複合体の存在が示唆された。

（8）腎集合管側底膜型 Ca 感受性受容体（CaSR）の生理的役割

河原克雅[1]，安岡有紀子[1]，佐藤雄一[2]，野々口博史[3]（[1]北里大学医学部生理学，
[2]北里大学医療衛生学部分子診断学，[3]北里大学メディカルセンター・内科）

副甲状腺に発現する CaSR（Brown et al, 1993）は，血漿[Ca^{2+}]の増減を感知し PTH 分泌を制御し，血漿[Ca^{2+}]を正常域内に維持している。腎尿細管の CaSR は，太い Henle の上行脚（TAL），macula densa（MD），遠位曲尿細管（DCT），集合管（CD）に発現しているが（Riccardi & Brown, 2010; Renkema et al, 2011），TAL の側底膜型 CaSR（Riccardi et al, 1995）を除き，局在・機能がよくわかっていない（Loupy et al, 2012）。我々は，定量型 ISH と免疫組織化学法（IHC）を使って，側底膜型 CaSR（ラット TAL）は，マウス集合管主細胞（PC）（管腔）・A 間在細胞（IC-A）（管腔）には発現せず，TAL, MD, DCT, B 間在細胞（IC-B）の側底膜にのみ発現することを明らかにした。IC-B の CaSR 発現量は 7 日-酸（NH_4Cl）負荷により低下，7 日-アルカリ（$NaHCO_3$）負荷により増加した（Yasuoka Y, et al. ASN2011; IUPS2013）。

方法：C57BL/6J マウス（雄，10 wk）を(a)標準食, (b)高 Ca 塩食, (c)酸/塩基負荷食で飼育し，(1) 血漿・尿組成，（2）集合管細胞の当該・関連遺伝子発現（定量型 ISH 法），（3）蛋白発現（IHC 法）を解析した。

結果：高 CaP/$CaCO_3$（3:2）負荷（7 日）では，血漿・尿組成，集合管の遺伝子・蛋白発現に有意な変化はなかった。しかし，長期投与（28 日）で尿は酸性化し，H^+-ATPase, AE1（IC-A），Pendrin, CaSR（IC-B）の発現量が有意に増加した。膜機能タンパク発現量の指標となる IC-A, IC-B の細胞高は，有意に増大した。

結論：長期高 CaP/$CaCO_3$ 負荷による尿酸性化と IC-B の機能増大は，高 Ca 血症患者の高 Ca 尿において腎結石を予防し，血漿 pH を正常域に保つために有効と考えられた。

（9）唾液腺細胞におけるカルシウムシグナルの時空間制御機構と機能連関

谷村明彦，根津顕弘，森田貴雄（北海道医療大学歯学部薬理学分野）

非興奮性細胞の Ca^{2+}シグナルは，イノシトール 1,4,5 三リン酸（IP_3）による細胞内ストアからの Ca^{2+}放出と，それに続く Ca^{2+}流入によって制御される。Ca^{2+}ウェーブや Ca^{2+}オシレーションなどの時空間的に制御された Ca^{2+}シグナルは，上皮細胞の基底側と腺腔側の協調的な機能制御に関与すると考えられる。我々は IP_3 受容体のリガンド結合ドメインと蛍光タンパク質で構成される FRET センサー「LIBRA」を使って，Ca^{2+}オシレーションと IP_3 動態の同時測定を行った。この実測データと数理モデルによって示される Ca^{2+}オシレーションの発生機構を紹介する。

Ca^{2+}シグナルは，唾液腺細胞などの多くの上皮細胞におけるイオン輸送の主要な調節因子である。唾液分泌における Ca^{2+}シグナルの役割は，腺房細胞におけるイオン輸送や細胞形態の変化（シュリンケージ）などを指標にして解析されてきた。これらの研究を発展させて，生理的な唾液分泌（神経系や血流による調節等）と Ca^{2+}動態を明らかにするための実験系として，genetically encoded calcium indicator (GECI)を使った intravital Ca^{2+}イメージングと，微小圧力センサーによる唾液分泌のリアルタイム測定ができる実験系を確立した。また GECI を使った長時間 Ca^{2+}イメージングによる細胞増殖や細胞運動過程の Ca^{2+}動態について紹介する。

（10）腸管粘膜上皮において短鎖脂肪酸が誘発する起電性経上皮イオン輸送の部位差・種差 ― ヒトは？

唐木晋一郎，桑原厚和（静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命学科／
大学院 薬食生命科学総合学府 環境生理学研究室）

短鎖脂肪酸 short chain fatty acids（SCFAs）は炭素数 2～6 のモノカルボン酸であり，ウシなど反芻動物の第 1 胃や，私たちヒトのような単胃動物でも，盲腸や大腸において，腸内細菌により難消化性炭水化物から発酵産生される。SCFAs は栄養素として吸収される他，特にプロピオン酸（C3）や酪酸（C4）は，粘膜上皮を管腔側から刺激して蠕動運動を惹起したり経上皮アニオン分泌を惹起することが，主としてラット結腸において報告されてきた。しかしこれまで，ヒト結腸においても SCFAs がラットと同様のアニオン分泌を惹起する，という報告は存在していない。そこで私たちは，大腸癌患者より摘出された腸管から正常部分の提供を受け，粘膜－粘膜下組織標本を作製し Ussing chamber に装着して SCFAs の作用を検討した。その結果，ヒトの上行結腸～S 状結腸，直腸においては，粘膜側潅流液にプロピオン酸や酪酸を投与（～10 mM）しても，アニオン分泌は測定されなかった。つまりヒト結腸粘膜上皮における SCFAs 誘発性分泌作用の報告が存在しないのは，そもそもヒト結腸粘膜上皮では SCFAs はアニオン分泌を惹起しないからであると考えられる。しかし今回，ヒト回腸終末部組織の提供を受け SCFAs の作用を検討したところ，回腸終末部粘膜上皮組織においてはアニオン分泌と考えられる短絡電流上昇が測定されたので，ここに報告したい。

（11）味覚神経伝達を担う新規 ATP 放出イオンチャネル CALHM1 の同定

樽野陽幸[1,3]，丸中良典[1,2]，J. Kevin Foskett[3]（[1]京都府立医科大学大学院医学研究科 細胞生理，
[2]京都府立医科大学大学院医学研究科 バイオイオノミクス，[3]ペンシルバニア大学医学部 生理）

Calcium homeostasis modulator 1（*CALHM1*）は遅発性アルツハイマー病発症に関わる遺伝子の１つとして近年同定された新規電位依存性イオンチャネルである。CALHM1 チャネルの薬理学的性質，ポアのイオン透過特性，分子構造が明らかとなってきたが，その生理的役割が不明であった。今回，我々は CALHM1 が味蕾の味細胞から求心性味神経へのプリン作動性神経伝達に必須のイオンチャネルであることを発見した。甘味・苦味・旨味認識は味細胞が飲食物に含まれる化学物質（味物質）を受容して興奮し，P2X2/3 受容体発現味神経へ神経伝達物質 ATP を非小胞性に放出することで行われるが，味細胞の ATP 放出機構の分子実体は不明であった。*Calhm1* は味蕾で甘味・苦味・旨味受容細胞にのみ選択的に発現しており，これと合致して *Calhm1* ノックアウト（KO）マウスにおいては野生型マウスで観察される甘味・苦味・旨味に対する味神経応答及び嗜好性応答が特異的に消失した。強制発現系において CALHM1 発現細胞で形質膜に ATP 透過性が観察され，更には *Calhm1* KO マウスにおいて味刺激による味蕾からの ATP 放出が消失した。以上の結果より，CALHM1 は味蕾における甘味・苦味・旨味のプリン作動性神経伝達に必須の新規電位依存性 ATP 放出イオンチャネルであると結論づけた。

（12）亜鉛欠乏による皮膚炎の発症メカニズム

川村龍吉（山梨大学 医学部 皮膚科）

亜鉛欠乏に伴う皮膚炎の発症メカニズムは長らく不明であったが，同皮膚炎が四肢末端などの外界物質との接

触が頻繁におきる部位に認められることから，我々はこの皮疹が“かぶれ”であると仮説を立てた。そこで，亜鉛正常マウスと低亜鉛食にて飼育した亜鉛欠乏（ZD）マウスにハプテンおよび一次刺激性物質を外用してアレルギー性接触皮膚炎（ACD）および一次刺激性接触皮膚炎反応（ICD）を惹起したところ，1) ZD マウスでは，ACD 反応の有意な減弱を認めたが，ICD 反応の著明な亢進・遷延化が観察された。さらに 2) ZD マウスの一 ICD 炎病変部を病理組織学的に検討したところ，ヒト亜鉛欠乏患者の皮膚炎部に特徴的な病理組織像である表皮細胞の変性像や pale staining が観察されたことより，ヒトにおける亜鉛欠乏による皮膚炎の本態が ICD であることが強く示唆された。また，3) 一次刺激性物質を外用した ZD マウス皮膚からより多量の炎症起因物質：アデノシン三リン酸（ATP）が放出されることや，4) ZD マウスでは細胞外 ATP による炎症に対して抑制的に働くランゲルハンス細胞（LC）が消失していること，5) 亜鉛欠乏患者の病変部の LC も消失していることもわかった。これらの結果から，亜鉛欠乏症患者では，一次刺激物質によってより多くの細胞外 ATP が皮内で蓄積するため一次刺激性接触皮膚炎を発症しやすいことが示唆された。

（13）Pannexin 1 の単一イオンチャネルゲーティングキネティクス解析

野村　健[1]，樽野陽幸[2]，中張隆司[2,3]，曽我部正博[4]，丸中良典[1,2,3]
（[1]京都府立医大・院・医 バイオイオノミクス，[2]京都府立医大・院・医 細胞生理学，
[3]平安女学院大学日本食育・健康研究所，[4]名古屋大学・院・医 メカノバイオロジー）

Pannexin 1 は陰イオン選択性イオンチャネル（Ma et al., *Pflugers Arch*, 2012）であり，細胞膜の脱分極，機械刺激，カスパーゼによる切断，活性化した $P2X_7$ 受容体との相互作用によって活性化し，気道上皮での粘液クリアランスやアポトーシス時の“find-me”シグナルとしての ATP 放出に関与することが知られている。Pannexin 1 チャネル活性は電位依存性を示すことが知られているが，詳細な単一イオンチャネル開閉制御機構については不明である。本研究では，cell-attached patch clamp 単一イオンチャネル電流記録法を用いて，マウス Pannexin 1 の単一イオンチャネルコンダクタンスおよびチャネルゲーティング開閉速度を測定した。その結果，単一イオンチャネルコンダクタンスは内向き電流では約 20 pS および外向き電流では約 80 pS という外向き整流性を示し，単一イオンチャネル開閉速度の膜電位依存性は逆転電位を境にして過分極側および脱分極側で著しく異なることが示唆された。これらのことより，「charge carrier の移動方向および単位時間あたりの移動量が単一イオンチャネル開閉速度の膜電位依存性を制御している」という可能性を見出した。

（14）高速原子間力顕微鏡を用いた自己抗体－抗原反応の 1 分子動態の直接観察

相馬義郎，山下隼人（慶應義塾大学医学部 薬理学教室）

自己免疫疾患において，自己抗体の自己抗原への結合は，病態成立への最初の引き金となる重要なプロセスである。抗体の抗原への結合は，蛍光抗体による間接的な光学顕微鏡レベルの観察か電子顕微鏡による分子レベルの静止画像等によって確認されてきたが，抗体－抗原反応の分子レベルの動態は未知であった。視神経脊髄炎 Neuromyelitis optica (NMO)は，中枢神経系のアストロサイトに発現して Blood-Brain-Barrier (BBB)の形成に寄与している水チャネル AQP4 を自己抗原とする自己免疫疾患である。また，AQP4 は消化管上皮の基底側膜に発現していることが知られている。

最近，我々は，高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)を用いて，脂質２重膜に組み込まれた AQP4 への IgG 自己抗体の結合動態の一分子レベルでの直接観察に成功した。本研究

会では，この HS-AFM 観察による抗体－抗原反応の分子動態に関する最新の知見を紹介する。

（15）容積感受性アニオンチャネルのアクチン依存的活性化

清水貴浩 [1]，大竹宏尚 [1]，藤井拓人 [1]，岡田泰伸 [2]，酒井秀紀 [1]
（[1] 富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）・薬物生理学，[2] 総合研究大学院大学）

容積感受性外向き整流性アニオンチャネル（VSOR）は，細胞の生死を制御するイオンチャネルであると考えられている。最近，ヒトロ腔類表皮癌 KB 細胞とその抗癌剤（シスプラチン）耐性株である KCP-4 細胞を用いた研究において，細胞膨張による VSOR の活性化が KCP-4 細胞で観測できなくなることから，抗癌剤耐性にも VSOR 活性が関わっていることが示唆されている。本研究では，VSOR 関連タンパク質を探索するために，二次元電気泳動法により KB 細胞と KCP-4 細胞の膜サンプルを比較し，KB 細胞で多く発現しているタンパク質を MALDI-TOF/MS 解析した。その結果，候補タンパク質の一つとして，β-アクチンを見出した。免疫細胞染色により β-アクチンの細胞内分布を観察したところ，驚いたことに，KB 細胞で観察されるアクチンフィラメント構造が KCP-4 細胞ではほぼ消失していた。そこで KB 細胞において，β-アクチンをノックダウン，あるいはアクチン重合阻害剤であるサイトカラシン D を処理したところ，細胞膨張後の VSOR の活性化および容積回復過程（調節性容積減少：RVD）が有意に抑制された。以上の結果から，アクチンフィラメント構造が VSOR の活性化に必要不可欠であることが示唆された。

（16）CFTR の R ドメインを介する分子複合体の形成と相互機能制御

杉田　誠（広島大学大学院医歯薬保健学研究院 口腔生理学研究室）

CFTR は粘膜上皮細胞の腺腔側膜 Cl^- チャネルとして働き，その遺伝的機能不全は嚢胞性線維症を引き起こす。従来の CFTR を発現する培養細胞を用いた研究において，butyrate の培養液への添加は成熟型 CFTR の生成と形質膜移行を顕著に促進し，CFTR の R ドメインに結合する分子によって CFTR の生成が制御されることが示唆された。CFTR の R ドメインに接着する分子をスクリーニングし，遺伝子ファミリーを形成する 3 遺伝子(CFTR R-domain Interacting Protein 1(CRIP1), CRIP2・CRIP3)を検出した。CRIP1 は IRF2BP2 や DIF-1 として，CRIP2 は IRF2BP1 や PCTA として，CRIP3 は EAP1 として報告されている。CRIP1・CRIP2・CRIP3 は Zinc Ring Finger を有する C 末端領域で CFTR の R ドメインに結合する。CRIP1・CRIP2・CRIP3 の同 C 末端領域はともに, interferon regulatory factor 2 (IRF2)にも結合した。上皮系培養細胞に CRIP1 を過剰発現させた際には，細胞内 MAPK が活性化されている状態で成熟型 CFTR の生成を促進した。一方，CRIP3 の過剰発現は成熟型 CFTR の生成を抑制した。CRIP1・CRIP2・CRIP3 の過剰発現は IRF2 のタンパク質発現レベルを上昇させ，CFTR の過剰発現は IRF2 の発現レベルを減少させた。CRIP1・CRIP2・CRIP3 は CFTR や IRF2 と結合し，相互にタンパク質発現レベルや機能を制御することが示唆された。

12. 臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み

2014 年 9 月 27 日－9 月 28 日

代表・世話人：山内敏正（東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科）
所内対応者：箕越靖彦（生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門）

（1）オキシトシン末梢投与は求心性迷走神経を活性化し，摂食量を抑制する
岩崎有作（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

（2）視床下部で発見した小タンパク質の生理機能に関する研究
岩越（浮穴）栄子（広島大学大学院総合科学研究科）

（3）アディポネクチンの POMC ニューロンへの効果：グルコース濃度依存的相反性調節
須山成朝（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

（4）視床下部 AMPK による食物嗜好性の調節機構
岡本士毅（生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門）

（5）NMDA 受容体コアゴニストによる食事嗜好性調節
佐々木　努（群馬大学生体調節研究所代謝シグナル解析分野）

（6）摂食リズムが中枢性代謝調節機構に及ぼす影響
志内哲也（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部統合生理学分野）

（7）Atlas of circadian clock gene expression in the body
Masao Doi（Department of Systems Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University）

（8）臓器相関による異所性脂肪蓄積の新たな分子機構
菅波孝祥（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科臓器代謝ネットワーク講座，
科学技術振興機構さきがけ）

（9）脂肪組織生体イメージングによる脂肪組織炎症の動的解析
前田法一（大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学）

(10) 脂質シャペロンによる新たな臓器連関ネットワーク
古橋眞人（札幌医科大学循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座）

(11) 中枢神経性肝糖産生制御における迷走神経・クッパー細胞の役割
井上　啓（金沢大学医薬保健研究域附属脳・肝インターフェースメディシン研究センター
生体統御学部門代謝生理学）

(12) 脂肪組織と肝臓の代謝連関の異常による糖尿病発症のメカニズム
三木隆司（千葉大学大学院医学研究院代謝生理学）

(13) CITED2-GCN5 複合体を介した糖新生制御機構の解明
松本道宏（国立国際医療研究センター研究所糖尿病研究センター分子代謝制御研究部）

(14) 肝細胞の βKlotho による血漿脂質の制御
田中智洋（京都大学医学研究科メディカルイノベーションセンター，
公益財団法人先端医療振興財団先端医療センター）

(15) 代謝関連臓器をターゲットにした抗糖尿病治療薬としてのアディポネクチン受容体アゴニストの開発の試み
岩部美紀（東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科）

(16) 末梢性シグナル分子による運動制御機構の解明
阪上　浩（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部代謝栄養学分野）

（17）オクタン酸は G 蛋白共役型受容体を介してグルコース応答性インスリン分泌を促進する
宗像佑一郎（東北大学大学院医学系研究科糖尿病代謝内科学分野）

（18）膵管上皮細胞と膵島の相互作用
稲田明理（九州大学大学院医学研究院先端医療医学糖尿病遺伝子分野）

【参加者名】

古橋眞人（札幌医科大学），山田哲也（東北大学），宗像佑一郎（東北大学），矢田俊彦（自治医科大学），岩崎有作（自治医科大学），須山成朝（自治医科大学），佐々木努（群馬大学），三木隆司（千葉大学），竹田　秀（東京医科歯科大学），菅波孝祥（東京医科歯科大学），田中　都（東京医科歯科大学），塩飽由香利（東京医科歯科大学），松本道宏（国立国際医療研究センター研究所），山地大介（国立国際医療研究センター研究所），満島　勝（国立国際医療研究センター），岩部真人（東京大学），岩部美紀（東京大学），山内敏正（東京大学），山本章午（星薬科大学），米持奈央美（星薬科大学），楊　立哲（星薬科大学），池田弘子（星薬科大学），羽鳥　恵（慶應義塾大学），籾山俊彦（東京慈恵会医科大学），木下善弘（南信病院），井上　啓（金沢大学），稲葉有香（金沢大学），渡邉一史（金沢大学），内藤清惟（岐阜大学），土居雅夫（京都大学），田中智洋（京都大学），園山拓洋（京都大学），冨田　努（京都大学），前田法一（大阪大学），小林加奈子（先端医療センター研究所），岩越（浮穴）栄子（広島大学），近藤邦裕（広島大学），阪上　浩（徳島大学），志内哲也（徳島大学），稲田明理（九州大学），佐藤貴弘（久留米大学），箕越靖彦（生理学研究所），岡本士毅（生理学研究所），Tang Li Jun（生理学研究所），横田繁史（生理学研究所），髙木一代（生理学研究所），Eulalia Coutinho（生理学研究所），佐藤達也（生理学研究所），Nur Farehan Mohamed Asgar（生理学研究所）
合計 49 名

【概要】

個体の糖・脂質・エネルギー代謝の恒常性維持のメカニズムを明らかにするためには臓器相関を理解することが重要である。本研究会では，臓器相関の中心を担う内分泌系，神経系，炎症・免疫系の専門家が一堂に会し，最新の技術とデータを共有し，共同研究を推進することにより，臓器相関の仕組みを統合的に理解することを目指した。また，糖・脂質・エネルギー代謝の制御においては，遺伝因子と環境因子による臓器相関の修飾の理解が重要と考えられる。そこで，臓器相関とゲノム，エピゲノム，栄養学，運動生理学，加齢・老化，時計遺伝子など他分野の先生にも発表をお願いした。さらに，臓器相関に関わる研究者の教育・人材育成も目的とした。具体的には，脂肪細胞・アディポカインによる全身における代謝制御（山内，阪上，前田，古橋等），脳神経系による全身代謝制御（箕越，山田，井上等）内分泌ホルモンによる全身代謝制御（三木，北村，稲田等），肝臓による代謝制御（松本等），骨制御における代謝や神経系の意義（竹田等），消化管ホルモンによる全身代謝制御（児島等）加齢と代謝制御（田中等），時計遺伝子と代謝制御（土居等）等の発表を行った。

（1）オキシトシン末梢投与は求心性迷走神経を活性化し，摂食量を抑制する

○岩崎有作[1]，前島裕子[1]，吉田昌史[2]，荒井　健[1]，須山成朝[1]，
桂田健一[1]，中林　肇[3]，加計正文[2]，矢田俊彦[1]
（[1]自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門，
[2]自治医科大学さいたま医療センター総合医学第 1 講座，
[3]金沢大学保健管理センター）

【目的】下垂体後葉ホルモンのオキシトシン（OXT）は射乳・分娩調節に関与することはよく知られているが，近年，社会行動，摂食，エネルギー代謝にも関係することが分かってきた。OXT の末梢投与は強力な摂食抑制と

肥満改善作用を示すことを報告したが，その作用経路・機序は不明である。本研究では，OXT の求心性迷走神経への直接作用を調べ，求心性迷走神経を介して摂食抑制に繋がる新規経路を検討した。

【結果】マウスより単離した求心性迷走神経細胞へ OXT を投与すると細胞内 Ca^{2+}濃度が上昇し，活動電位頻度は上昇した。この作用は OXT 受容体阻害剤で抑制された。OXT のマウスへの腹腔内投与は求心性迷走神経の投射先である延髄孤束核での c-Fos 発現量を上昇させ，摂食量を低下させた。一方，カプサイシン処理や外科手術による迷走神経（機能）脱落マウスでは，末梢 OXT 投与は c-Fos 発現を誘導せず，摂食量に影響を与えなかった。レプチン抵抗性・過食を呈する *db/db* マウスにおいても Oxt 末梢投与は摂食量を抑制し，Oxt は *db/db* マウスの求心性迷走神経を著明に活性化した。

【結論】Oxt の末梢投与が求心性迷走神経を介して脳に情報伝達し摂食を抑制する“新規摂食抑制経路”を発見した。本経路は，レプチン抵抗性動物でも有効であり，抗肥満薬開発の新規標的を提供する。

（2）視床下部で発見した小タンパク質の生理機能に関する研究

○岩越-浮穴栄子，鹿野健史朗，谷内秀輔，益田恵子，前嶋　翔，近藤邦裕，
別所裕紀，古満芽久美，浮穴和義（広島大学大学院総合科学研究科）

我々は最近，鳥類や哺乳類において脳の視床下部に特異的に発現し，分泌性小タンパク質をコードする新規遺伝子を発見している。この小タンパク質を C 末端部分のアミノ酸配列（Gly-Leu-NH_2）から Neurosecretory protein GL（NPGL）と命名した。本研究では，ラットを用いて NPGL の生理機能の解明を試みた。まず，浸透圧ポンプを用い，NPGL を脳室内へ 2 週間の慢性投与を行った。次に，アデノ随伴ウィルス(AAV)を用い，視床下部領域での NPGL 遺伝子の過剰発現を約 1.5 ヵ月及び 7 ヵ月間行った。その後，体組成等の測定を行った。加えて，呼吸代謝の解析と脂肪合成関連酵素の遺伝子発現量を解析した。

2 週間の NPGL 脳室内慢性投与及び約 1.5 ヵ月間の NPGL 遺伝子過剰発現では，対照群と比較して体重差はないものの皮下脂肪及び内臓脂肪ともに脂肪蓄積の促進効果が認められた。約 7 ヵ月間の長期過剰発現では，脂肪蓄積により有意に体重が増加した。約 1.5 ヵ月間の過剰発現ラットを用いて呼吸代謝を測定したところ，総エネルギー消費量に変化は認められないが，炭水化物消費が上昇し，脂肪消費は減少していた。また，肝臓，白色脂肪組織，褐色脂肪組織での脂肪合成関連酵素の遺伝子発現を解析したところ，褐色脂肪組織において脂肪合成に関わる遺伝子群の mRNA 発現が有意に上昇していた。

以上の解析から，NPGL は新しいエネルギー代謝調節因子であることが示唆された。

（3）アディポネクチンの POMC ニューロンへの効果：グルコース濃度依存的相反性調節

○須山成朝，矢田俊彦（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

アディポネクチンは 摂食･エネルギー代謝調節の一次中枢である視床下部弓状核ニューロンに作用し AMPK および PI3K のリン酸化をすること，同領域の摂食抑制ニューロンである POMC ニューロンに受容体を発現することが報告されている。しかしアディポネクチン脳室内投与による摂食調節には 亢進（kubota et.al 2007）と抑制（Coope et.al 2008）の相反する報告があり，これを説明できる機序は明らかになっていない。

上記 2 報では脳室内投与のタイミングが空腹時（Coope et.al），満腹時（Kubota et. al）と異なることに着目し，「摂食調節の一次中枢である弓状核 POMC ニューロンに対するアディポネクチンの作用が，栄養代謝状態を反映した脳内グルコース濃度に依存して反転する」と仮説を立て，検証した。

アディポネクチンは，5mMグルコースを含む aCSF 還流下では POMC ニューロン を脱分極させたが，10mM グルコース含有 aCSF 還流下では 過分極させた。 暗期開始時（摂食直前）のアディポネクチン脳室内投与は摂食抑制を示したが，アディポネクチンと共にグルコースを脳室内投与したところ，摂食亢進作用が観察された。

従って中枢アディポネクチンは POMC ニューロンを，空腹時–低グルコース環境下では活性化し，摂食抑制を誘導し，一方，満腹時–高グルコース環境下では神経活動を抑制，摂食亢進を誘導する作用が示唆される。

（4）視床下部 AMPK による食物嗜好性の調節機構

○岡本士毅，箕越靖彦（生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門）

AMP キナーゼ(AMPK)は，酵母から植物，哺乳動物に至るほとんど全ての真核細胞に発現するセリン・スレオニンキナーゼであり，細胞内エネルギーレベルの低下によって活性化し，糖，脂質，タンパク質代謝を制御して細胞の ATP レベルを回復させる。視床下部 AMPK は，摂食調節に関与しており，マウスを絶食させると室傍核（PVH）において AMPK 活性が高まる。

我々は，絶食後に再摂食を施し，高脂肪食ではなく高蔗糖食を多く摂取する食餌嗜好性に変化する事を見出した。この変化は，AMPK に対する shRNA を PVH に発現させると消失した。また CPT1 阻害剤の PVH 投与や，CPT1c に対する shRNA によっても消失する事から，PVH における AMPK が脂肪酸酸化を促して食物嗜好性を変化させると考えられる。また PVH ニューロンに持続活性型 AMPK を発現させると，絶食時と同様に，高脂肪食ではなく高蔗糖食への食物嗜好性増加した。

PVH における食物嗜好性制御ニューロンを決定する為に，PVH に存在する数種類のニューロペプチドの効果を調べたところ，コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)を PVH に微量投与した時のみ，高炭水化物食の選択が有意に増加した。さらに，CRH に対する shRNA を PVH に発現，あるいは CRH ニューロンの AMPK 活性を選択的に shRNA によって抑制すると，絶食及び活性型 AMPK による食物嗜好性の変化が消失した。

以上から，PVH に含まれる CRH ニューロンの内，少なくとも一部のニューロン群が，AMPK-脂肪酸酸化調節機構を介して炭水化物嗜好性を制御することが明らかとなった。

（5）NMDA 受容体コアゴニストによる食事嗜好性調節

○佐々木努[1]，木下善弘[2]，松居　翔[1]，角田　茂[3]，橋本博美[1]，木下久慈[2]，
岩崎有作[4]，木下俊夫[5]，矢田俊彦[4]，天野直二[2]，北村忠弘[1]
（[1]群馬大学生体調節研究所代謝シグナル解析分野，
[2]信州大学医学部精神医学講座，
[3]東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻実験動物学研究室，
[4]自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門，
[5]北里大学薬学部薬品分析学教室）

NMDA 受容体は興奮性神経伝達物質の一つであるグルタミン酸の受容体の一つで，神経系に広く存在する Na^+/Ca^{2+}チャンネルである。グリシンや D-セリンは生体内に存在する NMDA 受容体のコアゴニストである。アゴニストによる NMDA 受容体のフル活性化にはコアゴニストの結合が必須である。他方，グリシンの血中濃度は肥満患者では低下，拒食症患者では上昇していることが知られている。そこで，コアゴニスト活性がグリシンよりも高い D-セリンを用いて，NMDA 受容体コアゴニストが食欲と食事嗜好性に与える影響を検討した。

D-セリン水の自由摂取は，容量依存性に雄マウスの摂食量を強力に抑制し，体重・内臓脂肪重量を減少させた。一部のマウスは餓死した。この効果は普通食では認められず，より嗜好性の高い高脂肪食・高たんぱく食・高ショ糖食で認められた。NMDA 受容体コアゴニスト作用がない L-セリン水ではこの効果は認められなかった。

2 種類の食事の選択肢がある条件下では，D-セリン水摂取群では，より嗜好性の高い食事の摂取量が抑制され，嗜好性の低い普通食を摂取することで餓死は回避された。D-セリン水による高脂肪食嗜好性の抑制は *db/db* マウスや，カプサイシン全身投与による感覚神経脱感作させたマウスでも認められた。

以上より，D-セリンは中枢神経系の NMDA 受容体に作用し，高嗜好性食の摂取を抑制する。

（6）摂食リズムが中枢性代謝調節機構に及ぼす影響

○志内哲也（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部統合生理学分野）

これまでの研究では，マウスの摂食を活動期ではない明期に制限した場合，肝臓における時計遺伝子の発現位相の乱れを伴って，インスリン抵抗性を生じることが報告されている。しかしながら，エネルギー代謝調節に重要な視床下部への影響は明らかにされていない。そこで我々は，雄性 C57BL/6 マウスの摂食時間を，暗期のみ（ZT12-24，Control 群），暗期前半 4 時間のみ（ZT12-16，Morning 群），暗期後半 4 時間のみ（ZT20-24，Evening 群）に制限飼育することで，暗期内での摂食リズムの変化がどのように中枢性代謝調節機構に影響を及ぼすかを調べた。

Morning 群は Control 群と比べて，摂餌量と体重増加が低かったのに対して，Evening 群は Control 群と比べて，1 日当たりの摂餌量は低いにも関わらず体重に差はみられなかった。8 週間後，全身のインスリン抵抗性を示した。また，Evening 群は他の 2 群と比較し，骨格筋における中性脂肪含量および脂肪酸合成酵素（FAS）など脂質蓄積に関与する遺伝子の発現が高く，逆に脂肪酸酸化に関与する CPT1b の発現や AMPK および ACC のリン酸化は低下していた。それに対して，肝臓における FAS 発現，中性脂肪含量およびインスリン感受性には 3 群間で有意な差は見られなかった。

一方，Evening 群の視床下部において AgRP 発現が，摂食リズム形成後早期に大きな乱れを示した。AgRP をマウス脳室内に一過性に投与すると，骨格筋に投射する交感神経の活性および骨格筋における AMPK のリン酸化が低下した。また，AgRP をマウス脳室内に 7 日間連続で投与すると（pair-fed），骨格筋における中性脂肪含量および FAS などの脂肪蓄積に関与する遺伝子の発現が高値を示したことから，持続的な中枢 AgRP の刺激は，摂食量の増加を伴わずに骨格筋における脂肪蓄積を促進することが考えられる。そこで，AgRP のアンチセンスオリゴを Evening 群のマウス脳室内に長期的に投与し，中枢の AgRP 発現を抑制すると，骨格筋におけるインスリン抵抗性が改善した。

以上の結果は，活動期内での摂食リズムが，視床下部における AgRP 発現に影響を与えることで，骨格筋における異所性の脂肪蓄積を伴ってインスリン感受性が変化させる可能性を示唆する。

（7）Atlas of circadian clock gene expression in the body

○Masao Doi and Hitoshi Okamura
（Department of Systems Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University）

We determined stoichiometric numbers of 15 clock gene transcripts across 26 different tissues throughout the day using wild-type and either pharmacologically or genetically modified mice. This allows different multiple tissue-clocks to be compared in parallel in the following three essential characteristics of the biological rhythms: i) baseline, i.e.

average concentration over the day of each clock gene transcript; ii) amplitude, i.e. peak-to-trough fold change of each transcript rhythm; and iii) phasing, i.e. gene-to-gene and tissue-to-tissue phasic order of clock genes. Clustering analysis revealed that among the tissues tested the hypothalamic suprachiasmatic nucleus, a body clock center, displays distinct features, characterized by a robust circadian oscillation with distinctive phasing.

（8）臓器相関による異所性脂肪蓄積の新たな分子機構

○菅波孝祥 [1,3]，田中　都 [2]，伊藤美智子 [1]，小川佳宏 [2]
([1] 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科臓器代謝ネットワーク講座，
[2] 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子内分泌代謝学分野，
[3] 科学技術振興機構さきがけ)

脂肪組織は，余剰エネルギーを中性脂肪として蓄える代謝機能とアディポサイトカインと総称されるホルモンを産生する内分泌機能を有している。最近，肥満により誘導される慢性炎症が脂肪組織機能を障害し，メタボリックシンドロームの病態基盤となることが明らかになってきた。即ち，メタボリックシンドロームは，肥満の脂肪組織を起点として，アディポサイトカインや遊離脂肪酸を重要なメディエータとする複雑な臓器相関を介し，全身に慢性炎症が拡大･波及する病態と考えられる。

肥満の脂肪組織に特徴的に認められる crown-like structure（CLS）は，細胞死に陥った脂肪細胞をマクロファージが貪食・処理する構造物であり，脂肪組織炎症の起点となる。最近，我々は，結核菌に対する病原体センサーMincle が，CLS を形成するマクロファージに局在し，脂肪組織線維化を促進することにより，脂肪肝（肝異所性脂肪）を増悪させることを見出した。一方，我々は，非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）の動物モデルや症例において，CLS 様の組織学的構造（肝臓 CLS）を見出した。脂肪肝が NASH へと進展する過程において，肝臓 CLS を中心に肝線維化が進展すると想定される。

本講演では，臓器相関による異所性脂肪蓄積の新たな分子機構について，慢性炎症の観点より議論したい。

（9）脂肪組織生体イメージングによる脂肪組織炎症の動的解析

○前田法一 [1]，堰本亮平 [1]，石井　優 [2]，船橋　徹 [1,3]，下村伊一郎 [1]
([1] 大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学，
[2] 大阪大学大学院医学系研究科免疫細胞生物学，
[3] 大阪大学大学院医学系研究科代謝血管学寄附講座)

【背景】脂肪組織の炎症過程において，様々な免疫細胞の浸潤が認められ免疫細胞ネットワークの異常が全身の代謝異常に繋がることが明らかとなってきている。しかし，生体内の免疫応答は迅速であり，従来の実験方法だけでは生体内における免疫応答バランスを評価・予測するには限界がある。

【目的】多光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング法を確立し，肥満に伴う脂肪組織の炎症反応過程における免疫細胞動態変化を明らかにすること。

【結果】マクロファージ・顆粒球系に発現する Lysozyme M に EGFP を付したトランスジェニック（$LysM^{EGFP}$）マウスを用い，脂肪組織を数時間にわたり生きたまま観察する手法を確立した。脂肪組織内 $LysM^{EGFP}$ 陽性細胞の運動性は，通常食に比して，高脂肪・高蔗糖（HF/HS）食負荷 5 日目には亢進していた。HF/HS 食負荷 8 週後には，脂肪細胞周囲への $LysM^{EGFP}$ 陽性細胞が形成され，$LysM^{EGFP}$ 陽性細胞の動的活性化は維持されていた。FACS により，脂肪組織における

LysM^{EGFP} 陽性細胞は F8/80^{+}+CD11b^{+}のマクロファージが最も多かった。HF/HS 食負荷 5 日目の早期より脂肪組織 S100A8 mRNA 発現の上昇を認めた。S100A8 は RAW264.7 細胞に対して著明な遊走促進作用を示し，3T3-L1 脂肪細胞においても炎症誘導作用を示した。

【結論】脂肪組織生体イメージング法を確立し，S100A8 の脂肪組織炎症における意義を明らかにした。

（10）脂質シャペロンによる新たな臓器連関ネットワーク

○古橋眞人（札幌医科大学循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座）

脂質シャペロンの 1 つである脂肪酸結合タンパク FABP4 (A-FABP/aP2) は脂肪細胞とマクロファージに発現し，インスリン抵抗性および動脈硬化への関与が示されている。我々は，脂肪細胞とマクロファージの両者の FABP4 がインスリン抵抗性および動脈硬化の病態に関与することを報告した。また，FABP4 特異的阻害薬が糖尿病および動脈硬化に対する新規の治療薬になる可能性を示した。最近，FABP4 はシグナルペプドを持たないものの脂肪細胞から分泌されることが報告され，我々は FABP4 が脂肪分解時に非古典的経路を介して分泌されることを見いだし，FABP4 がアディポカインとしてインスリン抵抗性や炎症惹起に関わることを示した。臨床的な意義について，当教室で 35 年以上継続している端野・壮瞥町研究の血液サンプルを用いて，FABP4 濃度が独立してインスリン抵抗性と関連する事を確認した。別の検討で，FABP4 濃度が本態性高血圧患者で有意に高値であること，高血圧家族歴を有する若年正常血圧者は有さない対照群と比べ有意に FABP4 濃度が高値で，高 FABP4 血症が血圧上昇および将来の高血圧発症に関連する可能性を報告した。さらに，FABP4 濃度が左室拡張能障害と関連することや単にメタボリックマーカーであるのみならず，心血管イベント死に対する独立した新規の予後規定因子になることを初めて明らかにした。最近，内皮傷害とともに異所性に FABP4 が発現することが示されており，分泌型 FABP4 とともに臓器連関の視点から議論したい。

（11）中枢神経性肝糖産生制御における迷走神経・クッパー細胞の役割

○井上　啓（金沢大学医薬保健研究域附属脳・肝インターフェースメディシン研究センター
生体統御学部門代謝生理学）

脳室内インスリン投与の検討から，中枢神経インスリン作用が，迷走神経を介して，肝臓における糖産生系酵素の発現を減少させ，肝糖産生を抑制することが明らかにされている。我々は，中枢神経インスリン作用による遺伝子発現抑制に肝臓での転写因子 STAT3 が重要な役割を果たすことを見出している。脳室内インスリン投与によって肝臓 STAT3 が活性化されるが，この肝臓 STAT3 の活性化は，肝臓局所的な IL-6 作用増強に依存している。リポソーム封入クロドロネート投与によるクッパー細胞除去や迷走神経肝臓枝の切除に伴い，肝臓 STAT3 活性化が減弱する。これは，脳インスリン作用による肝臓 I L-6 作用増強がクッパー細胞・迷走神経に依存的であることを示唆している。

食事摂取に伴い，インスリンなどとともに血中アミノ酸レベルも変化するが，最近我々は，必須アミノ酸である血中ヒスチジンレベルの増加が，中枢神経を介して，肝糖産生抑制作用を発揮することを見出した。マウス個体へのヒスチジン投与は，耐糖能を改善し，肝糖産生を抑制する。また，このようなヒスチジンによる肝糖産生抑制作用は，中枢神経ヒスタミン作用・迷走神経肝枝を介したメカニズムであることを明らかにした。中枢神経作用による肝糖代謝調節のメカニズムには，依然として未解明なメカニズムも多く，今後の一層の検討が期待される。

（12）脂肪組織と肝臓の代謝連関の異常による糖尿病発症のメカニズム

○三木隆司[1]，李　恩瑛[1]，櫻井健一[1]，戸田知得[2]，箕越靖彦[2]
（[1]千葉大学大学院医学研究院代謝生理学，[2]生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門）

インスリン抵抗性を有するインスリン受容体変異マウス（mIR）は，高脂肪食（HFD）負荷により著明な高血糖を示す。本マウス（mIR/HFD）の糖尿病発症のメカニズムを解析したところ，再摂食時の肝臓における G6Pase の発現が著明に増加し，肝臓でのグリセロールからの糖新生は亢進していた。単離脂肪細胞を用いて脂肪分解を測定したところ，mIR/HFD の脂肪細胞はイソプロテレノールによるグリセロール放出が増加し，インスリンによる抑制は障害されていた。脂肪組織での脂肪分解亢進の高血糖誘発への寄与を検討する目的で mIR/HFD に野生型マウスの皮下脂肪を移植したところ，血糖は有意に改善し再摂食時の過剰な肝臓 G6Pase 発現も正常化し，mIR/HFD の脂肪分解亢進による肝臓へのグリセロールの過剰供給が高血糖の原因であることが示された。グリセロールからの糖新生の制御機構を明らかにする目的で野生型マウスにグリセロールを投与したところ G6Pase の発現は著明に増加した。このことから，肝細胞は細胞内の糖新生基質の多寡を感知し糖新生を制御していることが明らかになった。以上の結果から，mIR/HFD では脂肪組織と肝臓のインスリン抵抗性が基盤となり，高脂肪食負荷時にインスリンによる脂肪分解抑制が障害され，肝臓でのグリセロールからの糖新生が亢進することにより，高血糖状態が惹起されることが明らかになった。

（13）CITED2-GCN5 複合体を介した糖新生制御機構の解明

○松本道宏，酒井真志人（国立国際医療研究センター研究所糖尿病研究センター分子代謝制御研究部）

２型糖尿病における空腹時高血糖は，肝臓からの糖新生の病的亢進により惹起され，これには糖新生系酵素の遺伝子発現の亢進が深く寄与している。糖新生の制御分子は糖尿病治療薬開発のための分子標的となることから，我々はこうした分子の探索を行い，転写共役因子 CITED2 を同定した。CITED2 はグルカゴン依存的にアセチル化酵素 GCN5 と相互作用し，糖新生系酵素の遺伝子発現を強力に誘導する転写コアクチベーターPGC-1α のアセチル化を抑制し活性化することにより糖新生を誘導する（Sakai et al. Nat Med 2012）。

一方 GCN5 はヒストンアセチル基転移酵素(HAT)であり，ヒストンのアセチル化修飾を介した転写活性化に関与する。そこで，肝糖新生調節における GCN5 の HAT としての役割を検討し，1) GCN5 は肝糖新生系酵素の遺伝子発現誘導に必須の HAT であること，2) その作用には cAMP/CITED2 依存的に起こる GCN5 の基質指向性の変化が中心的な役割を果たしていることを見出した。現在，この基質指向性の変化を誘導する分子メカニズムの解析を進めている。本発表では，CITED2-GCN5 複合体による肝糖新生調節機構について最新の知見を紹介したい。

（14）肝細胞の βKlotho による血漿脂質の制御

○田中智洋[1,2]，小林加奈子[2]，鷲田美和[2]，鍋島陽一[2]
（[1]京都大学医学研究科メディカルイノベーションセンター，
[2]公益財団法人先端医療振興財団先端医療センター）

βKlotho（βKl）は肝臓，脂肪組織，膵臓，脳に発現する膜蛋白質で，肝臓では回腸由来ホルモン，FGF19 のシグナルを媒介することによりコレステロール（CHOL）からの胆汁酸（BA）合成を負に制御する。BA の合成・分泌は哺乳類における唯一の CHOL 排泄経路であるが，β*klotho* ノックアウトマウス(KO)にみられる BA 合成亢進が血漿脂質に及ぼす影響は明らかではない。

本研究では，BA のプールサイズ，糞便排泄量が各々約 1.5 倍，約 2.5 倍に増加した KO における脂質濃度と動態を解析した。KO では対照と比較し約 40%の有意な血漿トリグリセリド（TG）濃度の低下を認めたが，総 CHOL 濃度の低下は 15%で有意な変化ではなかった。遺伝子発現解析，代謝物解析，^{14}C 酢酸を用いた *in vivo* トレーサー実験を行ったところ，KO では CHOL の *de novo* 合成の亢進を認め，CHOL クリアランスの亢進に応じた代償機転と考えられた。一方，脂肪酸合成は不変で血漿 TG 濃度を維持する代償機転は認められなかった。さらに KO で肝細胞特異的に βKl 発現を回復させたところ，KO の BA 過剰・TG 低下は消失し，KO の低 TG 血症や CHOL 合成亢進には肝細胞での βKl 欠失が必要かつ十分であることが示された。

CHOL 排泄亢進モデルにおける代償性 CHOL 合成亢進と低 TG 血症により，CHOL 恒常性維持機構の強靭性が明らかとなった。

（15）代謝関連臓器をターゲットにした抗糖尿病治療薬としての アディポネクチン受容体アゴニストの開発の試み

○岩部美紀，山内敏正，岩部真人，門脇　孝（東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科）

肥満の病態においては，アディポネクチン作用の低下が糖尿病等の生活習慣病の主要な原因となっていることから，アディポネクチン/アディポネクチン受容体（AdipoR）シグナルの活性化がこれらの根本的な治療法になることが期待され，アディポネクチン/AdipoR シグナル活性化低分子化合物の取得を目指した。

得られた化合物について，in vitro において，アディポネクチンと同様，AMPK 活性化，ミトコンドリア機能上昇を確認した。また，マウスへの経口投与により，AdipoR を介して，高脂肪食負荷によるインスリン抵抗性，耐糖能障害が改善した。骨格筋では，ミトコンドリア機能を上昇，酸化ストレスを抑制し，高脂肪食負荷による肥満によって低下した筋の持久力を回復させた。また，肝臓では，糖新生を抑制，脂肪酸燃焼を促進し，脂肪組織では，炎症性サイトカインを低下させた。さらに，肥満で短くなった寿命を延長する効果があることが示された。

本化合物は，生体内において重要な役割を果たす代謝関連臓器である肝臓，骨格筋，脂肪組織などに作用し，全身の代謝を改善することが分かり，本化合物が抗糖尿病治療薬として開発されると，肥満でリスクが高まる生活習慣病に対する根本的な治療法となり，健康長寿の実現に貢献することが出来ると期待される。

（16）末梢性シグナル分子による運動制御機構の解明

○阪上　浩（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部代謝栄養学分野）

【背景・目的】運動習慣の形成における末梢性シグナルの役割は明らかでなく，また末梢性シグナル分子，特にアディポサイトカインなどの生理活性因子が運動習慣にどのような影響を与えるかはほとんど理解されていない。運動習慣形成における末梢性シグナル分子の生理学的意義を明らかにすることによって，生活習慣病の発症における運動習慣形成の役割を明らかとすることを研究目的とした。

【方法・成果】申請者の教室で樹立された長距離走行能をする高運動性モデルラット（Spontaneously running Tokushima‐Shikoku ラット; SPORTS ラット）は，回転カゴにおける自発運動で６～１０倍の走行距離を示す。自発運動能へ影響を与える末梢性シグナル分子として，レプチン，グレリン，アディポネクチンを同定し，摂取栄養素として食塩や高脂肪食にも運動習慣獲得への作用があることを SPORTS ラットにて明らかとした。

【結論と考察】「臓器相関による生体制御システム」として，末梢性シグナル分子による中枢での自発運動制御機構を明らかとし，新たな生活習慣病の治療法の可能性を探索する。末梢由来のシグナルに関わる生命活動評価の対象として運動習慣獲得をアウトカムとした本研究課題では，単にどの栄養素が運動に良いとか，どの代謝シグナルが運動持久性を高めるなどといった食物や食物成分の健康維持機構を探索するのでなく，運動習慣獲得に関する末梢性シグナルの基本的な「生体制御システム」を解明するという観点から，生活習慣病などの疾病予防の基盤研究を目指している。

（17）オクタン酸はＧ蛋白共役型受容体を介してグルコース応答性インスリン分泌を促進する

○宗像佑一郎，山田哲也，片桐秀樹（東北大学大学院医学系研究科糖尿病代謝内科学分野）

中鎖脂肪酸であるオクタン酸に，膵臓からのグルコース応答性インスリン分泌促進作用があることが報告されていたが，その分子メカニズムは不明であった。今回我々は，オクタン酸がマウスを用いた *in vivo*，単離膵島を用いた *ex vivo*，及び膵β細胞株である MIN6 を用いた *in vitro* 実験で有意にグルコース応答性インスリン分泌を促進すること，また，オクタン酸をリガンドとする G 蛋白共役型受容体（受容体 A）が膵β細胞に発現していることを見出した。さらに，受容体 A を発現抑制すると，膵β細胞株である MIN6 細胞からのオクタン酸によるグルコース応答性インスリン分泌が，ほぼ完全に抑制されることがわかった。次に，PLC（phospholipase C）阻害薬や PLC-β1 のノックダウン，あるいは IP_3（inositol triphosphate）受容体阻害薬を用いた実験を行ったところ，オクタン酸による MIN6 細胞のグルコース応答性インスリン分泌の促進が減弱した。一方，PKA(protein kinase A)阻害薬によっては，このインスリン分泌促進作用は影響を受けず，オクタン酸刺激による細胞内 cAMP 濃度の上昇も認めなかった。以上から，オクタン酸は，膵β細胞で，受容体 A を介する PLC-IP_3 依存性の経路を通じて，グルコース応答性インスリン分泌を促進することが明らかとなった。

（18）膵管上皮細胞と膵島の相互作用

○稲田明理（九州大学大学院医学研究院先端医療医学糖尿病遺伝子分野）

膵管上皮細胞からホルモン陽性細胞が出現する現象，ネオジェネシスは，これまで肥満のヒト，マウス及びラッ

ト，膵管結紮，90%膵切などの膵臓組織再生動物モデルにおいて多く報告されている。私達はネオジェネシスに関与する因子として転写因子 PDX-1 に着目した。PDX-1 は膵臓の発生や内分泌細胞の分化に必須の転写因子で，生後は主に β 細胞に存在するが，一部の膵管上皮細胞にも発現することから，膵管上皮細胞中の PDX-1 が膵島や新しい β 細胞の形成と β 細胞量の維持などに重要な影響を及ぼしているのではないかと考え，この仮説を検討するために膵管上皮特異的に PDX-1 を欠損するマウスを作製し，解析した。その結果，胎児期と生後間もない時期から 10 週齢までは通常の β 細胞量であったが，個々の β 細胞は PDX-1 発現量が非常に低く，NPY 陽性の未成熟細胞であった。その後，17 週齢では膵島の β 細胞量が減少し，耐糖能異常を示した。以上の結果より，膵管上皮細胞中の PDX-1 はネオジェネシス（分化）よりもむしろ成熟や維持に関与しているこのではないかと考えられた。

13. 心血管膜輸送分子の構造・病態の統合的研究戦略

2014 年 9 月 4 日－9 月 5 日

代表・世話人：岩本隆宏（福岡大学医学部薬理学）

所内対応者：西田基宏（心循環シグナル研究部門）

（１）心筋小胞体 Ca^{2+}輸送調節因子ホスホランバンを標的とする心不全治療薬の開発

乾　誠（山口大学大学院医学系研究科分子薬理学分野）

（２）n-3 系多価不飽和脂肪酸による心臓リモデリング抑制機構の解析

有田　誠（理化学研究所統合生命医科学研究センターメタボローム研究チーム／横浜市立大学大学院生命医科学研究科分子エピゲノム科学）

（３）神経伝達物質トランスポーターホモログ LeuT の基質認識・輸送とその阻害

山下敦子（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科構造生物薬学分野）

（４）基礎研究の創薬応用 ―大動脈瘤疾患に対する治療薬の開発―

石川義弘（横浜市立大学大学院医学研究科循環制御医学）

（５）血圧調節におけるカウンターイオンチャネルの機能的役割の解明

山崎大樹（京都大学大学院薬学研究科生体分子認識学分野）

（６）脳血管内皮細胞の細胞増殖に対する CRAC チャネルの役割

鬼頭宏彰（名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野）

（７）血管新生メカニズムの蛍光生体イメージング解析

福原茂朋（国立循環器病研究センター研究所細胞生物学部）

（８）CCR4-NOT 複合体を介した RNA 分解による生体恒常性維持機構の解明

久場敬司（秋田大学大学院医学系研究科分子機能学・代謝機能学講座）

（９）洞房結節細胞におけるミトコンドリアー筋小胞体のクロストーク：シミュレーション解析

松岡　達（福井大学医学部形態機能医科学講座統合生理学）

（10）心筋 Na^{+}チャネルの細胞内分布変化による組織興奮性の低下と Na^{+}チャネル遮断薬の催不整脈性への寄与

津元国親（大阪大学医学系研究科分子細胞薬理学講座）

（11）プロゲステロン受容体を介した心筋イオンチャネル調節機構

児玉昌美（東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理学分野）

（12）マウス心室筋のアドレナリン α 受容体刺激応答と興奮収縮機構の発達変化

濵口正悟（東邦大学薬学部薬物学教室）

（13）高濃度乳酸負荷が心房と心室の収縮性に及ぼす影響の違い

志村大輔（早稲田大学先進理工学研究科生命医科学専攻）

（14）不整脈原性 2 型リアノジン受容体（RyR2）の性質

呉林なごみ（順天堂大学医学部薬理学）

（15）STIM1 ヘテロノックアウトマウスにおける心臓の圧負荷に対する反応

大場貴喜（秋田大学大学院医学系研究科細胞生理学講座）

（16）内皮バリアー障害における細胞辺縁部のミオシン軽鎖２リン酸化の役割

平野勝也（香川大学医学部自律機能生理学）

（17）マウス門脈平滑院細胞に発現する Ca^{2+}活性化 Cl^{-}チャネル TMEM16A の機能解析

山村寿男（名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野）

（18）ジヒドロピリジン系 Ca^{2+}チャネルブロッカーは肺高血圧症で機能亢進する Ca^{2+}感受性受容体を活性化する

山村　彩（金城学院大学薬学部）

（19）BKCa-Cav1.2 複合体形成及び血管平滑筋細胞機能に対するカベオリン１／カベオラの寄与

鈴木良明（名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野）

（20）新規 TRPC6 チャネル阻害剤の末梢循環改善作用

島内　司（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門）

（21）心臓線維化における TRPC3 チャネルの役割

北島直幸（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門／九州大学大学院薬学研究院創薬産学官連携講座）

（22）メチル水銀による心臓リスク増大の分子メカニズム

外山喬士（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門）

（23）アンジオテンシン II 誘発性高血圧における P2Y6 受容体の役割

西村明幸（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門）

（24）特異的 NCX1 阻害薬の膵島保護作用の治療応用

喜多紗斗美（福岡大学医学部薬理学）

（25）腎臓における NCX1・NCX2 アイソフォームの機能的役割

後藤雄輔（福岡大学医学部薬理学）

（26）胃運動調節機構における Na^{+}/Ca^{2+}交換体の役割解析

林　里美（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻応用薬理学）

（27）遠位結腸運動における Na^{+}/Ca^{2+}exchanger の生理学的役割について遺伝子改変マウスを用いた解析

西山和宏（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻応用薬理学）

（28）GPNMB 細胞外フラグメントの新規受容体としての Na^{+},K^{+}-ATPase の同定

小野陽子（岐阜薬科大学生体機能解析学大講座薬効解析学研究室）

（29）KCNQ1/KCNE1 イオンチャネル複合体における電位センサードメインを介したゲーティング制御機構

中條浩一（生理学研究所神経機能素子研究部門）

（30）Cav1.2 Ca^{2+}チャネルとカルモジュリンの相互作用の分子機構

亀山正樹（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経筋生理学）

（31）複数分子同時イメージング法の開発と応用研究: 環境から医療まで

榎本秀一（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科医薬品機能分析学分野／独立行政法人理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター次世代イメージング研究チーム）

（32）亜鉛シグナル：B 細胞の恒常性を司る新しい制御機構

深田俊幸（理化学研究所統合生命医科学研究センター／昭和大学歯学部口腔病理）

（33）上皮型 Na^{+}チャネル（ENaC）過剰発現と粘液貯留を呈する閉塞性肺疾患

首藤　剛（熊本大学大学院薬学教育部遺伝子機能応用学分野）

（34）電位依存性 Ca^{2+}チャネル α2/δ-1 サブユニットを介した機能制御機構

赤羽悟美（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分野）

（35）ヒト iPS 由来心筋を用いた新規心毒性評価法の開発

黒川洵子（東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理学分野）

【参加者名】

榎本秀一（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科／独立行　　政法人理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究セ

ンター），山下敦子（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科），石川義弘（横浜市立大学大学院医学研究科），小野陽子（岐阜薬科大学生体機能解析学大講座），山崎大樹（京都大学大学院薬学研究科），山村　彩（金城学院大学薬学部），首藤　剛（熊本大学大学院薬学教育部），平野勝也（香川大学医学部），諫田泰成（国立医薬品食品衛生研究所薬理部），福原茂朋（国立循環器病研究センター研究所細胞生物学部），中井淳一（埼玉大学理工学研究科），乾　誠，山本久斗（山口大学大学院医学系研究科），亀山正樹（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科），久場敬司（秋田大学大学院医学系研究科），大場貴喜（秋田大学大学院医学系研究科），呉林なごみ（順天堂大学医学部薬理学），深田俊幸（昭和大学歯学部），中條浩一，久保義弘（生理学研究所神経機能素子研究部門），志村大輔（早稲田大学先進理工学研究科），津元国親，倉智嘉久，古谷和春（大阪大学医学系研究科），東　泰孝，西山和宏，林　里美（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科），黒川洵子，児玉（佐藤）昌美（東京医科歯科大学難治疾患研究所），南沢　亨，草刈洋一郎，赤池　徹（東京慈恵会医科大学医学部），赤羽悟美，伊藤雅方（東邦大学医学部），濵口正悟（東邦大学薬学部），渡邊泰秀，山下寛奈（浜松医科大学医学部看護学科），松岡　達，竹内綾子（福井大学医学部），岩本隆宏，喜多紗斗美，藤井　誠，後藤雄輔，田頭秀章（福岡大学医学部），山村寿男，鈴木良明，鬼頭宏彰，松木克仁，山田　茜，林恵介，野田さゆり，栗田　卓，西村歌織，山田啓史，宮本達也，山村英斗，松井未来，安本美貴，仲矢有希，堤香菜子，山越大槻（名古屋市立大学大学院薬学研究科），有田　誠（理化学研究所統合生命医科学研究センター／横浜市立大学大学院生命医科学研究科），西田基宏，冨田拓郎，西村明幸，外山喬士，北島直幸，島内　司（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門），佐藤元彦（愛知医科大学医学部），若林正浩（生理学研究所生体システム研究部門），内田邦敏（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）細胞生理研究部門）

【概要】

イオンチャネルやトランスポーターなどの膜輸送分子は，細胞内イオン環境を維持するとともに，興奮性細胞の電気活動や収縮機能，細胞内シグナル伝達系の修飾，遺伝子発現制御など，様々な生理機能に関わっている。それ故，心血管系のイオンチャネル・トランスポーターの異常は，不整脈，心肥大・心不全，高血圧，動脈硬化など多岐にわたる心血管機能障害（チャネル病・トランスポーター病）の原因となる。本研究会は，心血管イオンチャネル・トランスポーター研究を精力的に推進する研究者を中心に，さらに近年脚光を浴びている膜輸送分子の三次元構造解析や心血管機能の生体イメージング解析の専門家を招いて，最新の研究成果の発表と学際的な研究交流を行い，当該分野の次世代の研究戦略を構築することを目的とした。本研究会は，特別講演（2 題），一般発表（13 題），ポスター発表（20 題）から構成された。参加者は総勢 71 名で，その内訳は，学部生・大学院生 22 名，助教・研究員・ポスドクは 20 名と若手主体であった。特別講演では，山下敦子教授（岡山大学）に膜輸送分子の構造基盤について，榎本秀一教授（岡山大学）に複数分子同時イメージング技術について報告していただき，心血管イオンチャネル・トランスポーター研究への最新技術の応用について幅広く議論することができた。また，一般発表の内容は，心血管系の各種イオンチャネル・トランスポーターの構造と機能を研究テーマとするものから，ヒトやマウスの遺伝子異常による不整脈発生機序の研究，心血管病と細胞内 Ca 制御異常の研究，イオンチャネル・トランスポーターを標的とした創薬や循環器系薬物の作用機序解析，心血管系の分化・再生に関する研究など多岐にわたった。多くの発表者は，研究成果のみならず今後の展望についても報告し，本研究会での議論が今後の研究進展や具体的な共同研究の実施に役立つことが期待された。

（1）心筋小胞体 Ca^{2+}輸送調節因子ホスホランバンを標的とする心不全治療薬の開発

乾　誠[1]，酒井大樹[1]，池田安宏[2]，田中貴絵[1]，本田　健[1]
（[1]山口大学大学院医学系研究科分子薬理学分野，[2]器官病態内科学分野）

心筋小胞体膜蛋白質ホスホランバン（PLN）は，心筋小胞体の Ca^{2+}ポンプ（SERCA2a）の抑制性調節因子である。心筋小胞体機能異常と心不全には密接な関係があり，PLN による抑制解除や SERCA2a 発現増加により心不全が改善されることが報告されている。しかしながら，これらはいずれも遺伝子改変やウイルスを用いた蛋白質発現変化を伴う治療法である。今回，PLN に直接結合し，SERCA2a を活性化するような薬物として PLN アプタマーの開発を試みた。その結果，部分 S 化した RNA ライブラリーから PLN の細胞質ドメインを用いた SELEX 法により PLN アプタマーを得た。この中の Apt-30 は，PLN に対し高親和性（Kd = ~10 nM）を示し，心筋小胞体の SERCA2a 活性を増加させた（EC_{50} = ~20 nM）。さらに，細胞内導入のために修飾 TAT ペプチドを結合した Apt-30 を用いて，成獣ラット単離心筋細胞への効果を調べた。その結果，心筋収縮力の増加，弛緩の促進が見られ，それに対応した Ca^{2+}動態の変化と心筋小胞体内 Ca^{2+}量の増加も認められた。以上の結果より，PLN アプタマーが SERCA2a 活性を増加させて心筋細胞の収縮力増強と弛緩の促進をもたらすことが明らかとなり，新たなタイプの心不全治療薬としての可能性が示された。

（2）n-3 系多価不飽和脂肪酸による心臓リモデリング抑制機構の解析

有田　誠
（理化学研究所統合生命医科学研究センターメタボローム研究チーム
／横浜市立大学大学院生命医科学研究科分子エピゲノム科学）

魚油に多く含まれる EPA や DHA などの n-3 系多価不飽和脂肪酸には，抗炎症作用や心血管保護作用があることが知られている。本研究は，n-3 系脂肪酸合成酵素の遺伝子導入によって，本来ほ乳類にはない n-3 系脂肪酸合成機能をもたせたトランスジェニックマウスと，私たちが独自に開発した脂肪酸代謝物の包括的メタボローム解析との組み合わせにより，n-3 系脂肪酸による心臓保護作用，とくに心不全時の臓器線維化・リモデリングを抑制する作用について検証し，さらにこれまでの栄養学的手法では解明が困難であった“n-3 系脂肪酸の心臓保護効果がどの細胞によって，どのような機構を介しているのか”という問題に取り組んだ。その結果，n-3 系脂肪酸の心臓リモデリング抑制作用には骨髄由来のマクロファージの機能が重要であることを示し，さらに心不全の進行を抑制する効果（心臓リモデリングの抑制効果）をもつ n-3 系脂肪酸由来代謝物（18-HEPE）を同定した。以上，体内の n-3 系脂肪酸バランスが増加することによる心臓保護効果の仕組みの一端が明らかになった。

（3）神経伝達物質トランスポーターホモログ LeuT の基質認識・輸送とその阻害

山下敦子（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科構造生物薬学分野）

Na^+/Cl^-依存性神経伝達物質トランスポーターファミリー(NSS)は，シナプス伝達の際シナプス間隙に放出されたセロトニン，ドーパミンなどをはじめとする神経伝達物質を神経細胞内に再取り込みし，シナプス伝達を終わらせ次のシナプス伝達に備える重要な役割を果たしている。このファミリーのタンパク質は，Na^+イオンと Cl^-イ

オンの膜を介した電気化学勾配をエネルギー源とし，基質である神経伝達物質を濃度勾配に逆らって細胞内に輸送することができる。これらのトランスポーターが，どのような仕組みでこれらの輸送機能を発現することができるのかを明らかにするため，演者らは NSS に構造的・機能的に類似したタンパク質が原核生物にも存在することに着目し，中でも極めて高い安定性を持つ膜タンパク質 LeuT を見いだして，基質結合状態や阻害剤結合状態など様々な機能状態における立体構造を解明した。また，結合解析や輸送解析の結果とも統合し，LeuT が基質やイオンを厳密に認識しながら，機能する過程で構造変化を行うことでこれらの分子を膜を介して輸送するメカニズムを提唱した。その後，他のトランスポーター群の構造解析や，脳神経系由来の NSS の立体構造解析が進展した結果，LeuT に見られた輸送のための巧妙な構造設計が，様々なトランスポーターにおいても有効に利用されていることが明らかとなった。

（4）基礎研究の創薬応用 —大動脈瘤疾患に対する治療薬の開発—

石川義弘（横浜市立大学大学院医学研究科循環制御医学）

大動脈瘤は高齢者に多く，動脈硬化を基礎として発症し，破裂を持って終焉する致死率の高い疾患である。動脈硬化がきたす慢性炎症により，動脈壁の局所における脆弱化を起こすことが原因とされる。根治治療は外科的切除ないしステント留置であり，現存の薬物治療は血圧降下剤などの消極的なものである。病状マーカーもなく，CT で長期間観察しつつ，ベータ遮断剤で心機能を低くすることが主体である。消極的かつ保存的な治療であり，動脈瘤の進展を阻止あるいは血管壁の正常構築を回復する薬剤は存在しない。動脈の脆弱化を規定する因子が慢性炎症による動脈の弾性線維の破壊である。弾性線維では，血管中膜エラスチンが重要であり，血管の脆弱性の主因をなす。エラスチンの生合成には，プロスタグランジンを介した炎症シグナルが関与するが，治療への応用はない。我々は胎児血管である動脈管における弾性制御の研究から，プロスタグランジン受容体 EP4 が大動脈における弾性線維の代謝にも重要な役割を果たすことを発見した。様々なマウス大動脈瘤モデルにおいて EP4 拮抗剤により病変の進行が抑制され，今後の薬物療法としても有望である結論された。

（5）血圧調節におけるカウンターイオンチャネルの機能的役割の解明

山崎大樹，竹島　浩（京都大学大学院薬学研究科生体分子認識学分野）

TRIC チャネルは小胞体膜上に局在し，小胞体からの Ca^{2+}放出に連動して機能するカウンターイオンチャネルである。我々は，興奮性組織に豊富に発現する TRIC-A を欠損したマウスが高血圧を示したことから，TRIC-A による血圧調節メカニズムの解明を試みた。Ca^{2+}チャネル阻害薬による顕著な降圧効果や抵抗血管の恒常的収縮から TRIC-A 欠損マウスは血管平滑筋の機能異常により高血圧を示すことが明らかとなった。そこで，平滑筋特異的 TRIC-A 過剰発現マウスを作製し，TRIC-A 欠損及び過剰発現マウスから血管平滑筋細胞を単離し詳細な検討を行った。TRIC-A 欠損血管が平滑筋の恒常的収縮を示したことから，高血圧の原因は弛緩（過分極）メカニズムの機能異常であると予想された。そこで過分極メカニズムの発端である Ca^{2+}スパークについて検討したところ TRIC-A 欠損平滑筋細胞では Ca^{2+}スパーク頻度の顕著な減少が，逆に TRIC-A 過剰発現平滑筋細胞では顕著な増加が観察された。さらに Ca^{2+}スパークによって惹起される自発的一過性外向き電流（STOCs），その後の静止膜電位及び定常状態 Ca^{2+}レベルに至るまで，TRIC-A 欠損と過剰発現平滑筋細胞は正反対の結果を示した。以上より，血管平滑筋における TRIC-A の発現密度が血圧調節に寄与していることが示唆された。さらに我々はマウスにお

ける TRIC-A の血圧調節機構の解明に加えてヒト TRIC-A 一塩基多型が本態性高血圧の発症リスクを上昇させること，降圧薬感受性に抵抗性を示すことも明らかにした。

（6）脳血管内皮細胞の細胞増殖に対する CRAC チャネルの役割

鬼頭宏彰[1]，山崎大樹[2]，山村寿男[1]，鈴木良明[1]，大矢　進[3]，浅井清文[4]，今泉祐治[1]
（[1]名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野，[2]京都大学大学院薬学研究科生体分子認識学分野，[3]京都薬科大学病態薬科学科系薬理学分野，[4]名古屋市立大学大学院医学研究科分子神経生物学分野）

多くの細胞種において，Ca^{2+}遊離活性化 Ca^{2+}(CRAC)チャネルの活性化を介したストア作動性 Ca^{2+}流入(SOCE)が細胞内 Ca^{2+}動態の調節に寄与し，細胞増殖を含む様々な細胞機能制御に対して重要な役割を担うと考えられている。我々は，ウシ脳血管内皮細胞株(t-BBEC117)において細胞増殖が細胞外からの Ca^{2+}流入により制御されることを明らかにしている。そこで CRAC チャネル構成分子である Orai/STIM を介した Ca^{2+}流入の細胞増殖への影響について検討し，脳血管内皮細胞におけるイオンチャネル活性変化を介した細胞増殖制御機構を解明することを目的とした。

細胞増殖に対する CRAC チャネルの寄与を詳細に検討するために細胞周期依存的な SOCE 活性の変化を測定した。G0/G1 期と比較し G2/M 期において CRAC チャネルの構成分子の一つである Orai2 発現の上昇及び SOCE 活性の有意な低下が認められた。細胞周期進行に対し，G2/M 期における Orai2 の発現上昇が SOCE 活性に与える影響を検討するために，siRNA を適用した Orai2 ノックダウン細胞に対して同調培養を行った。その結果，G2/M 期の SOCE 活性の低下が，コントロール細胞と比較してノックダウン細胞において有意に抑制されることを見出した。また，Orai2 ノックダウンは細胞増殖を有意に抑制した。これらの結果から，Orai2 は G2/M 期において SOCE に対して抑制的に作用することにより細胞内 Ca^{2+}動態を制御し，細胞周期の適切な進行に寄与する可能性が示された。

（7）血管新生メカニズムの蛍光生体イメージング解析

福原茂朋，若山勇紀，望月直樹（国立循環器病研究センター研究所細胞生物学部）

既存の血管から内皮細胞が出芽し，新たな血管網を構築するプロセスを血管新生という。血管新生は，組織が虚血状態に陥ったときにそれを解消するために誘導される一方，癌や網膜症など様々な疾患の際にも惹起され，病態の悪化を引き起こす。我々は，血管新生の分子メカニズムを理解するため，蛍光イメージング技術を駆使して，血管新生過程の内皮細胞の形態，運動を司るシグナル伝達系の解析を行った。

細胞の形態，運動の制御には Rho ファミリー低分子量 G 蛋白質によるアクチン細胞骨格系の制御が必須である。そこで，生きたまま内皮細胞のアクチン細胞骨格と Rho ファミリーG 蛋白質活性を可視化できるゼブラフィッシュを樹立し解析した。その結果，血管新生により尾側静脈が形成される際，Bmp が糸状仮足の形成を介して内皮細胞の遊走を惹起すること，また，内皮細胞における糸状仮足形成には，Rho ファミリーG 蛋白質のメンバーのひとつ Cdc42 によるアクチン重合が重要であることが示された。さらに，Cdc42 はフォルミンファミリーに属するアクチン調節因子 Formin-like 3（Fmnl3）の N 末端領域に直接結合し活性化することで，内皮細胞の糸状仮足形成を誘導することが示された。以上の結果より，尾側静脈の血管新生には，Bmp による Cdc42-Fmnl3 シグナル伝達系を介した糸状仮足の形成が重要であることが明らかになった。

（8）CCR4-NOT 複合体を介した RNA 分解による生体恒常性維持機構の解明

久場敬司（秋田大学大学院医学系研究科分子機能学代謝機能学講座）

CCR4-NOT 複合体は，mRNA 分解において poly(A)の脱アデニル化反応の中心的な役割を担う。私達はこれまでにショウジョウバエの RNAi 心不全スクリーニングから CCR4-NOT 複合体を新規の心機能調節因子として単離した (Cell 2010)。本研究では，CCR4-NOT 複合体の各種構成因子のコンディショナル遺伝子欠損マウスを作製し，解析を行った。CCR4-NOT 構成因子 CNOT3 の筋肉特異的な欠損マウスにおいて，骨格筋には異常を認めなかったが，心臓では著しい収縮能の低下，心電図 QT 時間の延長を認め，マウスは心不全死をきたした。CCR4-NOT 複合体を欠損させても同様であった。遺伝子発現解析の結果，CCR4-NOT 欠損により数千におよぶ遺伝子の発現量が上昇することが分かった。そこで，心筋の構成的蛋白である Myh6 遺伝子について解析したところ，mRNA や蛋白の発現レベルはほとんど変化がないものの，poly(A)鎖が著しく伸長しており，mRNA poly(A)鎖の脱アデニル化が抑制されていることがわかった。心筋組織の ATP は CCR4-NOT 欠損により有意に低下していて，細胞内アデニンの代謝が CCR4-NOT 複合体により制御されていることが明らかになった。CCR4-NOT 複合体は，心臓のエネルギー代謝，高エネルギー代謝物 ATP の細胞内輸送制御などに寄与していることが考えられた。

（9）洞房結節細胞におけるミトコンドリアー筋小胞体のクロストーク：シミュレーション解析

松岡　達，竹内綾子（福井大学医学部形態機能医科学講座統合生理学）

ミトコンドリア Na^{+}-Ca^{2+}交換輸送体 NCLX は，筋小胞体 Ca^{2+}ポンプ SERCA と機能的に連関し，ミトコンドリア―筋小胞体クロストークを構成する (J Physiol, 2012; Sci Rep, 2013)。この機能連関は，培養心房筋細胞 HL-1 においては拍動リズムを制御したが，実心臓のペースメーカーである洞房結節細胞における寄与は不明である。本研究では，マウス洞房結節の電子顕微鏡解析と数理モデル解析により，洞房結節細胞におけるミトコンドリアー筋小胞体クロストークの役割を考察した。

マウス洞房結節細胞において，ミトコンドリア及び筋小胞体はそれぞれ細胞の 19.6 ± 4.8%及び 6.4 ± 1.1%を占め，両オルガネラの一部は極めて近傍に局在した。Maltsev and Lakatta による洞房結節細胞数理モデル(Am J Physiol, 2009)に，新たにミトコンドリア Ca^{2+}動態ならびにミトコンドリア―筋小胞体間サブスペースを導入し，数理解析を行ったところ，NCLX 発現量の減少に応じて筋小胞体 Ca^{2+}含量は減少し，拍動リズムは遅延した。また，筋小胞体に面するミトコンドリアの割合が大きいほど，拍動リズムに対する NCLX の寄与が大きくなった。従って，NCLX を介したミトコンドリア―筋小胞体クロストークが，洞房結節細胞においても重要な役割を果たすことが示唆された。

（10）心筋 Na^{+}チャネルの細胞内分布変化による組織興奮性の低下と Na^{+}チャネル遮断薬の催不整脈性への寄与

津元国親[1]，芦原貴司[2]，原口　亮[3]，中沢一雄[4]，倉智嘉久[1]
（[1]大阪大学医学系研究科分子細胞薬理学講座，[2]滋賀医科大学循環器内科不整脈センター，
[3]国立循環器病研究センター情報統括部，[4]国立循環器病研究センター研究所研究情報基盤管理室）

虚血等によりダメージを受けることで起る gap-junction (Gj)リモデリングを伴った虚血境界領域は，不整

脈基質となることはよく知られている。一方，心筋細胞の興奮性と興奮伝播に重要な役割を担う Na^+チャネルも虚血境界領域内の心筋細胞で分布が変化する。しかしながら，この Na^+チャネルの細胞内分布変化と催不整脈性との関係については未だ不明な点が多い。我々は，心筋細胞の介在板における微小構造に基づく興奮伝導機構(Electric Field 機構)を Gj 結合と共に考慮した心筋線維モデルを用いて，Na^+チャネルの細胞内分布変化が興奮伝導にどのような影響を及すかをコンピュータシミュレーションによって検討した。Electric Field 機構は，Gj 結合が極めて低下した時の Gj 機構を代替する機構として提案された仮想的な興奮伝導機構であるが，もう一つの機能的側面として，心筋細胞における Na^+イオン電流の空間的不均質性にも関わる。我々は，虚血境界領域内の心筋細胞で報告された細胞体側面膜からの Na^+チャネル発現の低下が，組織興奮性の低下に関与する可能性を見出した。また虚血心筋への I 群抗不整脈薬の投与は，この組織興奮性の低下を加速し，催不整脈作用を増強することが明らかとなった。これらの結果は，陳旧性心筋梗塞患者における I 群抗不整脈薬の催不整脈性の背景に，Na^+チャネルの細胞内分布変化が存在することを示唆するものである。

（11）プロゲステロン受容体を介した心筋イオンチャネル調節機構

児玉昌美[1]，五領田小百合[1]，富田太一郎[2]，古川哲史[1]，黒川洵子[1]
（[1]東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理学分野，[2]東京大学医科学研究所分子細胞情報分野）

思春期以降の男女における QT 延長症候群発症リスクは女性で有意に高いが，QT 間隔は女性の性周期によって変動し，血中プロゲステロン(P4)が QT 短縮に作用することが示唆された。これまでに我々は，プロゲステロン受容体(PR)の非ゲノム経路で産生された一酸化窒素(NO)が cGMP 活性型ホスホジエステラーゼ(PDE2)を介し，cAMP 刺激によって活性化された心筋 L 型 Ca^{2+}チャネルを抑制することを電気生理学的に示し，この非ゲノム経路が心電図 QT 間隔の性差に関連すると提唱してきた。本研究では，FRET を基盤とした cAMP/PKA バイオセンサー(AKAR4)に，脂質ラフトまたは非ラフト局在タグ(ラフト：Lyn，非ラフト：Kras)を付加し，生細胞の各マクロドメインにおける PKA 活性を可視化した。β アドレナリン受容体のアゴニストであるイソプロテレノールを添加すると，両センサーで FRET の上昇が観察されたが，さらに P4 を添加すると Lyn-AKAR4 でのみ FRET が抑制され，ラフト特異的な反応であることが示された。この P4 による反応は，PDE2 阻害剤の添加により消失した。以上の結果から，P4-PR の非ゲノム経路は，PDE2 を介して cAMP/PKA によって活性化した $I_{Ca,L}$ を抑制すること，このクロストークには細胞内マクロドメインで局在化された PKA 活性が関連することが示唆された。

（12）マウス心室筋のアドレナリン α 受容体刺激応答と興奮収縮機構の発達変化

濵口正悟，行方衣由紀，田中　光（東邦大学薬学部薬物学教室）

マウス心室筋は，アドレナリン α 受容体刺激に対して，幼若期では陽性変力反応を，成熟期では陰性変力反応を示す。本研究では陽性・陰性変力反応のそれぞれの発生機序の解明と，その発達変化と興奮収縮機構との関連性について検討した。陽性変力反応は L 型 Ca^{2+}チャネル遮断薬 nifedipine に，陰性変力反応は Na^+/Ca^{2+}交換機構(NCX)阻害薬 SEA0400 により抑制された。Nifedipine の収縮力減弱作用は発達とともに減少したが，SEA0400 の収縮力増大作用は発達とともに増大した。L 型 Ca^{2+}チャネルおよび NCX の働きに影響を与えうる活動電位持続時間は発達とともに短縮した。また NCX が Ca^{2+}をくみ出す際に生じる内向き電流により形成される活動電位の後期再分極相は，成熟期にのみ観察され，さらに SEA0400 および SR 阻害薬 ryanodine により抑制された。蛍光イ

メージング法により，発達に伴う SR 量の増大と，NCX が存在するとされる T 管の形成が観察された。以上の結果から，陽性変力反応には L 型 Ca^{2+}チャネルが，陰性変力反応には NCX が関与しており，発達に伴う活動電位持続時間の短縮と NCX-SR 連関の形成により，L 型 Ca^{2+}チャネルおよび NCX の収縮力への寄与が，発達とともにそれぞれ減少，増大することが，アドレナリン α 受容体刺激応答の発達変化に関与している可能性が示唆された。

（13）高濃度乳酸負荷が心房と心室の収縮性に及ぼす影響の違い

志村大輔[1]，草刈洋一郎[2]，合田亘人[1]，南沢　享[2]
（[1]早稲田大学先進理工学研究科生命医科学専攻，[2]東京慈恵会医科大学細胞生理学講座）

心房筋と心室筋では，心房筋には T 管が存在しないなど機能や構造に違いがあることが知られている。我々はこれまで，心房と心室にはそのエネルギー代謝の様式や乳酸を含む代謝産物の取り込み量が異なっていることを明らかにしてきた。しかしながら，乳酸などの代謝産物が Ca^{2+}放出や収縮調節機構に与える影響は，心室筋では調べられているが心房筋では調べられていない。そこで本研究では，乳酸添加による心房筋と心室筋の収縮性に及ぼす影響を解析した。オスの C57/BL6 マウスから心房筋（左心耳）と心室筋（左室乳頭筋）を摘出し，Ca^{2+}感受性発光タンパクであるエクオリンを導入し，張力と細胞内 Ca^{2+}濃度を同時測定した（36℃，1 Hz）。HEPES-Tyrode 溶液（pH 7.4）に乳酸（0，0.1，1，10 mM）を加えて，張力と細胞内 Ca^{2+}濃度の変化を観察したところ，心房筋では張力・細胞内 Ca^{2+}濃度共に濃度依存的に低下した。一方で心室筋では，細胞内 Ca^{2+}濃度が濃度依存的に低下したが，張力は 10 mM 乳酸添加で 1 mM よりも高値を示した。このことは高濃度乳酸負荷で心房筋では張力が回復しないが，心室筋では張力の回復傾向があることを示す。心房と心室は高濃度乳酸負荷に対し，細胞内 Ca^{2+}濃度変化を伴わない異なる収縮性挙動を示すことが明らかになった。

（14）不整脈原性 2 型リアノジン受容体（RyR2）の性質

呉林なごみ[1]，村山　尚[1]，鈴木純二[2]，金丸和典[2]，飯野正光[2]，櫻井　隆[1]
（[1]順天堂大学医学部薬理学，[2]東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理）

RyR2 は心筋の興奮収縮連関において中心的な役割を果たす Ca^{2+}遊離チャネルであり，その突然変異はカテコラミン誘発性多型性心室頻拍や不整脈原性右室心筋症等の不整脈原性疾患を引き起こす。これらの疾患変異は Ca^{2+}による Ca^{2+}遊離（CICR）を亢進すると考えられるが，その分子機構については未だ議論がある。CICR 活性は細胞質側の Ca^{2+}により 3 つの独立したパラメータ（活性化 Ca^{2+}感受性，不活性化 Ca^{2+}感受性，ゲイン）で制御されていると考えられる。また小胞体内腔側からの Ca^{2+}による制御も考えられている。本研究では，野生型および疾患変異を有する RyR2 を HEK 細胞に発現させ，その CICR 活性をライブセル Ca^{2+}イメージングと[^{3}H]リアノジン結合により解析し，どのパラメータが影響されているか調べた。RyR2 発現 HEK 細胞は自発的な Ca^{2+}オシレーションを示すが，その頻度は野生型に比べ疾患変異体で増加していた。小胞体内の Ca^{2+}レベルは多くの変異体で低下していた。[^{3}H]リアノジン結合により得た CICR のパラメータ解析より，ゲインの増大と不活性化 Ca^{2+}感受性の低下が多くの変異体に共通して観察されたが，活性化 Ca^{2+}感受性の増大は一部の変異体にのみ見られた。以上より，疾患変異は RyR2 の CICR の複数のパラメータに影響を与えておりその強さには部位特異性があることが分かった。

（15）STIM1 ヘテロノックアウトマウスにおける心臓の圧負荷に対する反応

大場貴喜[1]，渡邊博之[2]，伊藤　宏[2]，尾野恭一[1]
（[1]秋田大学大学院医学系研究科細胞生理学講座，[2]内科学講座循環器内科学分野）

これまで我々は，心筋細胞における肥大形成機序として Stromal interaction molecule 1 (STIM1)の関与を報告してきた。今回，減少した STIM1 蛋白と心臓の圧負荷に対する反応を検討する目的で，STIM1 ヘテロノックアウトマウス（ヘテロ）を用いて transverse aortic constriction (TAC)による心不全モデルを作製した。10 週齢のヘテロは野生型と比べ，血圧，心拍数，心収縮能に有意差は認められなかったが，ヘテロでは TAC 術後 48 時間までの死亡率が有意に高かった。一方，術後 28 日では TAC により野生型では心肥大が形成されが，ヘテロでは有意に抑制され，生存率は上昇していた。術後 28 日の 4 群（野生型 sham, 野生型 TAC，ヘテロ sham，ヘテロ TAC）の左心室自由壁の組織を用いて RTPCR 解析，Western blot 解析をおこなったところ，STIM1 蛋白は野生型に比べ約 75%減少していた。一方サブタイプである STIM2 は不変であった。さらにヘテロにおいては BNP などの胎児性遺伝子の発現量の増加が認められなかった。ランゲンドルフ法では，ヘテロは急性の圧負荷および 60 分以上の低酸素負荷によってより大きい心拍変動を示した。以上，我々は STIM1 ヘテロでは心肥大の形成が抑制され，急性の圧負荷に対し耐性が低いことを報告した。

（16）内皮バリアー障害における細胞辺縁部のミオシン軽鎖２リン酸化の役割

平野勝也[1]，平野真弓[2]
（[1]香川大学医学部自律機能生理学，[2]九州大学大学院医学研究院分子細胞情報学）

内皮バリアー障害にはミオシン軽鎖（MLC）リン酸化が重要な役割を果たす。本研究は，培養内皮細胞を用いてバリアー障害における MLC の 1 リン酸化（pMLC）と 2 リン酸化（ppMLC）の機能的違いを明らかにした。トロンビン刺激 3 分後，バリアー障害が最大に達した際，pMLC は刺激前の 25％からわずかだけ上昇したが，ppMLC は 2％から 35％に上昇した。この時，pMLC は核周囲領域に，ppMLC は細胞辺縁部に局在した。ppMLC に一致してアクチン線維が形成された。その後，pMLC は一旦低下した後 15 分以降に再上昇したが，ppMLC は漸減した。この時アクチンはストレスファイバーを形成した。Rho kinase 阻害剤は，刺激 3 分後の細胞辺縁部の ppMLC とアクチン線維形成，15 分以降の pMLC を抑制し，透過性亢進を阻害した。T18A+S19A 変異体 MLC を発現する内皮細胞においてトロンビンによる細胞辺縁部の ppMLC とアクチン線維束形成，透過性亢進が阻害された。T18A あるいは S19A 変異体では，野生型と同様の透過性亢進が認められた。以上より，内皮細胞において pMLC と ppMLC は異なる制御を受け，細胞辺縁部の MLC リン酸化とアクチン線維束形成がバリアー障害の初期事象として重要な役割を果たすことが示唆された。バリアー障害には MLC の 1 リン酸化で充分であった。

（17）マウス門脈平滑院細胞に発現する Ca^{2+}活性化 Cl^-チャネル TMEM16A の機能解析

山村寿男，大城隼也，佐伯尚紀，鈴木良明，今泉祐治
（名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野）

Ca^{2+}活性化 Cl^-（Cl_{Ca}）チャネルの活性化は，静止膜電位を脱分極側へシフトさせるため，血管筋緊張の増大を

もたらす重要な要素である。本研究では，マウス門脈平滑筋細胞に発現する Cl_{Ca} チャネル TMEM16A の機能解析を行った。門脈平滑筋細胞にホールセルパッチクランプ法を適用し，細胞内 pCa 6.0 の環境下，脱分極刺激によって活性化する外向き電流と再分極によって惹起される内向き末尾電流が観察された。これらの電流は，ニフルミ酸や T16Ainh-01 によって抑制された。また，門脈平滑筋細胞をサイトカラシン D で前処置したところ，その時定数が有意に延長したことから，Cl_{Ca} チャネル活性は，アクチン骨格によって制御されていることが示唆された。さらに，門脈平滑筋から TMEM16A をクローニングしたところ，スプライスバリアントの abc 体と acd 体が大部分であった。TMEM16A 分子の多量体形成について，TIRF 顕微鏡を用いて FRET 解析した結果，TMEM16A のスプライスバリアント体は，ホモもしくはヘテロ二量体で機能的 Cl_{Ca} チャネルを形成していることが明らかとなった。以上の研究成果は，血管平滑筋に機能発現する Cl_{Ca} チャネルの生理機能を解明する上で重要な知見になると考えられる。

（18）ジヒドロピリジン系 Ca^{2+} チャネルブロッカーは肺高血圧症で機能亢進する Ca^{2+} 感受性受容体を活性化する

山村　彩 [1]，山村寿男 [2]，Jason X.-J. Yuan[3]
（[1] 金城学院大学薬学部，[2] 名古屋市立大学大学院薬学研究科，[3] アリゾナ大学医学部）

肺高血圧症は，肺血管の攣縮や肺血管壁の肥厚による血管内腔の狭小化，血栓形成による肺血管抵抗の上昇によって，持続的に肺動脈圧が上昇する致死性疾患である。最近，我々は，Ca^{2+} 感受性受容体（CaSR）が特発性肺動脈性高血圧症（IPAH）患者由来の肺動脈平滑筋細胞（PASMCs）に高発現し，その機能亢進が肺高血圧症の病態に関与していることを明らかにした。肺高血圧症の臨床的知見として，患者の殆どがジヒドロピリジン系 Ca^{2+} チャネルブロッカーに抵抗性を示すノンレスポンダーであり，場合によっては，その病態が悪化することが知られている。IPAH-PASMCs において，ニフェジピン投与による $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇が観察された。CaSR の選択的阻害薬である NPS2143 や CaSR-siRNA によって，ニフェジピン誘発性 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇は抑制された。ジヒドロピリジン系であるニカルジピンや Bay K 8644 もニフェジピンと同様の Ca^{2+} 応答を示したが，非ジヒドロピリジン系であるジルチアゼムやベラパミルは影響を与えなかった。ジヒドロピリジン系 Ca^{2+} チャネルブロッカーが肺高血圧症で発現亢進した CaSR を活性化するために，この系統の薬剤が肺高血圧症に有効でないことを科学的に裏付ける結果と考えられる。

（19）BKCa-Cav1.2 複合体形成及び血管平滑筋細胞機能に対するカベオリン１／カベオラの寄与

鈴木良明 [1]，山村寿男 [1]，大矢　進 [1,2]，今泉祐治 [1]
（[1] 名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野，[2] 京都薬科大学病態薬科学系薬理学分野）

血管平滑筋細胞において，電位依存性 Ca^{2+} チャネル（Cav1.2）と大コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネル（BKCa）は共に重要な興奮性制御因子である。しかし，両者が複合体を形成して機能的連関を有するか（すなわち，Cav1.2 から流入した Ca^{2+} が BKCa を活性化するか）は不明であった。そこで我々は，細胞膜上の窪み構造（カベオラ）の，BKCa-Cav1.2 複合体形成及び血管平滑筋細胞機能に対する影響の解明を試みた。本研究では，全反射蛍光顕微鏡による一分子可視化法とパッチクランプ法によって，マウス腸間膜動脈平滑筋細胞における BKCa-Cav1.2 複合体の空間的・機能的解析を行った。また，カベオラ構成タンパクであるカベオリン１の遺伝子

欠損マウスを用いて，カベオラの寄与を調べた。その結果，カベオラが，(1)両チャネル間の物理的・機能的カップリング，(2)Cav1.2 の複合体内での集積，(3)Ca^{2+}スパークと一過性外向き電流（STOCs）の連関，(4)血管平滑筋細胞の収縮性制御，などに関与することが明らかになった。本研究により，カベオラが BKCa-Cav1.2 間及び BKCa-リアノジン受容体間の機能連関に重要であり，BKCa 活性を増大させて Cav1.2 に対する負帰還機構を形成することで，血管平滑筋の興奮性制御に関与することが示唆された。

（20）新規 TRPC6 チャネル阻害剤の末梢循環改善作用

島内　司[1]，冨田拓郎[1]，西村明幸[1]，喜多紗斗美[2]，岩本隆宏[2]，西田基宏[1]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門，[2]福岡大学医学部薬理学）

閉塞性動脈硬化症(ASO)は末梢循環障害や運動機能障害を誘発し，心血管イベントの頻度を上昇させる。ASO 患者における末梢機能改善は心血管イベントのリスク軽減へと繋がる。我々は以前，ASO に唯一有効なシロスタゾールが非選択的陽イオンチャネル TRPC6 のリン酸化により末梢血管の緊張性を制御することを報告した。そこで今回，新たな分子標的として TRPC6 に注目し，その末梢動脈閉塞後の血流回復への関与を検討した。恒常的不活性型 TRPC6（TRPC6-DN）を血管平滑筋細胞特異的に過剰発現させたマウスでは，下肢虚血後の末梢血流量および成熟血管数が対照群と比べて有意に増加していた。平滑筋細胞の成熟（筋分化）を指標にスクリーニングを行ったところ，１種類（1-benzilpiperidine 誘導体(1-BP)と命名）がシロスタゾールと同程度の末梢血流改善効果を示した。1-BP は，下肢虚血 7 日後から投与を行ってもその後の慢性的な末梢循環障害を有意に改善した。さらに 1-BP は，家族性高コレステロール血症モデル（LDL 受容体ノックアウト）マウスにおいても内皮細胞の一酸化窒素産生能を維持し，血流改善効果を示した。以上の結果から，TRPC6 チャネル阻害作用をもつ化合物が画期的な ASO 治療薬のシードとなる新たな可能性が示された。

（21）心臓線維化における TRPC3 チャネルの役割

北島直幸[1,2]，冨田拓郎[1]，西村明幸[1]，西田基宏[1,2]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門，[2]九州大学大学院薬学研究院創薬産学官連携講座）

高血圧や虚血などのストレスが心臓にかかった際に生じる間質組織のコラーゲン蓄積（線維化）は，心臓の柔軟性や頑健性を低下させ，心不全を引き起こす原因となる。心臓リモデリングは細胞外の生理活性物質や機械的圧負荷によって誘発される Ca^{2+}流入を介して活性化されることが示唆されている。我々はこれまでに TRPC3/6 チャネルが心臓リモデリングを制御する分子であることを明らかにし，TRPC3 選択的阻害薬が大動脈狭窄による圧負荷誘発性の心肥大のみならず，間質の線維化や心機能不全も有意に抑制することを見出した。本研究では，TRPC3 欠損マウスを用いて，圧負荷誘発性の心不全における TRPC3 チャネルの役割解析を行った。TRPC3 欠損マウスでは圧負荷による心肥大は抑制されず，間質の線維化および心機能低下が強く改善された。線維化は主に低分子量 G タンパク質 RhoA によって仲介され，TRPC3 阻害は圧負荷により誘発される心臓の RhoA 活性化や，ラット新生児心筋細胞の機械的伸展刺激による RhoA 活性化を強く抑制した。以上の結果から，TRPC3 が心臓の圧負荷を特異的に感知することで，Rho 依存的な線維化を誘導することが強く示唆された。

（22）メチル水銀による心臓リスク増大の分子メカニズム

外山喬士，北島直幸，西田基宏
（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門）

メチル水銀（MeHg）は，水俣病の主症状である中枢神経障害を引き起こす環境化学物質である。その一方で，神経障害作用を示さない低濃度の MeHg が心血管リスクを高めることも示唆されている。しかし，その分子機構は不明である。本研究では，MeHg が血行力学的負荷に対する心臓の適応能力を低下させる機構について調べた。雄性マウスに神経疾患症状を呈さない濃度の MeHg を 10 日間与えた後，大動脈狭窄（TAC）による圧負荷を施したところ，4 週間後において MeHg 曝露群では vehicle 群と比べて有意な左心室機能の低下および心臓リモデリング（心肥大，および線維化関連遺伝子発現の促進）が観察された。ラット新生児心筋細胞に細胞死を誘導しない低濃度の MeHg を 24 時間曝露したところ，ミトコンドリアの分裂を伴う細胞内 ATP 産生の低下と活性酸素の生成が観察された。これらはミトコンドリア分裂阻害剤を前処置することで抑制された。この過程には，ミトコンドリア分裂促進に働く GTP 結合タンパク質 Drp1 に含まれる redox-active Cys 残基の MeHg 曝露による多量体化（共有結合）が関与することがわかった。以上より，低濃度の MeHg は dynamin-related protein (Drp) 1 を活性化し，心筋のミトコンドリア分裂を促進することで，心臓の血行力学的負荷に対する適応能力を低下させている可能性が示された。

（23）アンジオテンシンⅡ誘発性高血圧における P2Y6 受容体の役割

西村明幸，Caroline Sunggip，冨田拓郎，西田基宏
（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門）

高血圧は心血管疾患の最も重要な危険因子の一つである。アンジオテンシン II は G 蛋白質共役型受容体（GPCR）である AT1 受容体を介して血管平滑筋の増殖と肥大応答を引き起こすことで末梢血管抵抗性を増大させる。我々はこれまでに圧負荷マウス心臓においてプリン作動性 GPCR である P2Y6 受容体が AT1 受容体の上流因子として働き心線維化を誘導することを明らかにした。しかしながら AT1 受容体と P2Y6 受容体の関係性は詳しくわかっていない。本研究では，アンジオテンシン II により誘導される高血圧に対する P2Y6 受容体阻害の効果について検討を行った。

アンジオテンシン II 持続投与により誘発される高血圧を野生型マウスと P2Y6 受容体欠損マウスで比較したところ，血圧上昇は P2Y6R 欠損マウスで有意に抑制されていた。また，P2Y6 欠損マウスではアンジオテンシン II 投与による血管中膜の肥厚および線維化も有意に抑制されていた。マウス単離血管平滑筋細胞において，アンジオテンシン II 刺激による細胞内カルシウム応答並びに肥大応答は，P2Y6 受容体欠損により有意に抑制された。さらに BRET 解析により，P2Y6 受容体が AT1 受容体とヘテロ二量体を形成し，アンジオテンシン II 刺激による β アレスチン 2 の AT1 受容体へのリクルートを抑制することを明らかにした。以上より，P2Y6 受容体は AT1 受容体と相互作用することで，アンジオテンシン II シグナルの増強に寄与することが明らかとなった。

（24）特異的 NCX1 阻害薬の膵島保護作用の治療応用

喜多紗斗美[1]，米良利之[2]，伊東　威[2]，小玉正太[2]，安波洋一[2]，岩本隆宏[1]
（[1]福岡大学医学部薬理学，[2]再生・移植医学）

1 型 Na^+/Ca^{2+}交換輸送体（NCX1）は，心臓，腎臓，脳，膵臓など種々臓器に発現し，細胞内 Ca^{2+}調節に重要な生理的役割を有している。また，NCX1 は虚血再灌流障害時の Ca^{2+}過負荷の病態にも関与することが知られている。膵島細胞を肝臓内に移植して生着させる膵島細胞移植は，インスリン注射に代わる有効な治療法として期待されるが，移植後 24 時間以内の早期拒絶反応により，移植した膵島細胞が破壊されることが重要な課題となっている。これまでに，膵島細胞自身から放出された HMGB1 が NKT 細胞や多形核白血球を活性化して早期拒絶反応を引き起こすことが明らかになっているが，HMGB1 が放出される機序は不明であった。本研究では，移植直後の膵島細胞が低酸素状態に曝されることによって，膵島 β 細胞の NCX1 を介して細胞内に Ca^{2+}流入して膵島細胞障害が起こり，HMGB1 が放出されることを見出した。また，NCX1 阻害薬により，低酸素・再酸素化による膵島 β 細胞への Ca^{2+}流入および膵島細胞障害が抑制され，HMGB1 の放出が抑制された。さらに，NCX1 阻害薬を前処置した膵島細胞を糖尿病マウスに移植すると血糖値は正常化し，阻害薬未処置の場合に比べて有意な改善効果が得られた。以上，NCX1 が膵島細胞移植時の細胞破壊の引き金となっており，特異的 NCX1 阻害薬は膵島移植時の膵島細胞保護剤として今後の臨床応用が期待される。

（25）腎臓における NCX1・NCX2 アイソフォームの機能的役割

後藤雄輔[1]，喜多紗斗美[1]，藤井　誠[1]，田頭秀章[1]，堀江一郎[1]，荒井勇二[2]，内田信一[3]，岩本隆宏[1]
（[1]福岡大学医学部薬理学，[2]国立循環器病研究センター分子生物学，[3]東京医科歯科大学腎臓内科）

腎臓には Na^+/Ca^{2+}交換体の 2 種のアイソフォーム（NCX1，NCX2）が発現しているが，その生理的役割は明確になっていない。本研究では，特異的 NCX 阻害薬（YM-244769, SEA0400, KB-R7943）および NCX1, NCX2 の両遺伝子欠損マウスを用いて，腎臓における NCX アイソフォームの機能的役割について解析した。野生型 B6J マウスに NCX 阻害薬を経口投与し，尿生成および電解質排泄に対する影響を調べたところ，NCX 阻害薬は用量依存的に Na^+利尿および Ca^{2+}排泄促進を引き起こした。その効果は NCX2 選択性の高い NCX 阻害薬において顕著であり，その機序には腎皮質血流量および糸球体濾過量の増加が一部寄与すると考えられた。また，野生型マウス（WT），NCX1 ヘテロ欠損マウス（N1-KO），NCX2 ヘテロ欠損マウス（N2-KO）およびダブルヘテロ欠損マウス（D-KO）の腎機能特性を比較したところ，N2-KO，D-KO は WT に比べて尿量および電解質排泄が増大していたが，N1-KO では WT と近似していた。さらに，N1-KO では NCX 阻害薬の Na^+利尿効果が WT とほぼ同等に観察されたが，N2-KO，D-KO では同効果が消失していた。これらの結果は，NCX2 の機能抑制により，Na^+利尿および Ca^{2+}排泄促進が誘導されることを示唆している。腎臓において，NCX2 は NCX1 と異なる機能的役割を有しているものと考えられる。

（26）胃運動調節機構における Na^+/Ca^{2+}交換体の役割解析

林　里美[1]，東　泰孝[1]，喜多紗斗美[2]，中嶋秀満[1]，岩本隆宏[2]，竹内正吉[1]
（[1]大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻応用薬理学，[2]福岡大学医学部薬理学）

Na^+/Ca^{2+}交換体(NCX)はNa^+とCa^{2+}を交換輸送する対向輸送体であり，Ca^{2+}を細胞外に流出する forward mode と細胞外から流入する reverse mode が存在し細胞内Ca^{2+}動態に寄与する。NCX には 3 つの isoform が存在しており，胃底部平滑筋には NCX1 および 2 が発現することで知られている。本研究では，遺伝子改変マウスを用いて胃底部運動機能における NCX の役割を解析した。WT マウス，NCX1 heterozygous(NCX1 HET) および NCX2 heterozygous(NCX2 HET)から胃底部を摘出した。実体顕微鏡下で粘膜剥離した筋標本を作製し, organ bath に装着後, マグヌス法により電気刺激(EFS)による反応を輪走筋方向に等張性に記録した。全ての標本は EFS により弛緩反応を生じ，EFS 終了後も，持続性の弛緩を示した。EFS 中の弛緩ならびに EFS 後の持続性弛緩の大きさを WT と比較検討したところ，いずれも NCX1 HET および NCX2 HET の方が有意に増大した。次に，NCX1 HET および NCX2 HET にて増大した弛緩のコンポーネントについて検討した。NO 合成酵素阻害薬である L-NNA 存在下にて EFS を行ったところ，EFS 中の弛緩は 3 群とも著しく抑制されたが，EFS 後の持続性弛緩は，NCX1 HET および NCX2 HET では有意に増大した。一方，PACAP 受容体アンタゴニストである PACAP6-38 存在下にて EFS を行ったところ，NCX1 HET および NCX2 HET の EFS 中の弛緩は WT と比べて有意に増大したままであったが，EFS 後の持続性弛緩は 3 群ともほとんど消失した。以上の結果より，胃底部輪走筋において NCX1 および NCX2 が弛緩機構に重要な役割を持つ可能性が示唆された。

（27）遠位結腸運動における Na^+/Ca^{2+}exchanger の生理学的役割について遺伝子改変マウスを用いた解析

西山和宏[1]，東　泰孝[1]，喜多紗斗美[2]，中嶋秀満[1]，岩本隆宏[2]，竹内正吉[1]
（[1]大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻応用薬理学，[2]福岡大学医学部薬理学）

Na^+/Ca^{2+} exchanger (NCX) は細胞膜を隔てた Na^+の濃度勾配および膜電位に依存してCa^{2+}を輸送するトランスポーターである。近年，神経細胞および平滑筋細胞における NCX の重要性が明らかにされつつある。しかしながら，消化管運動における NCX の役割あるいは関与の可能性については全く不明である。したがって，本研究では消化管運動における NCX の役割解明を目的として NCX 遺伝子欠損マウスを用いて実験を行った。野生型(WT) ，NCX1 heterozygous (NCX1 HET) および NCX2 heterozygous (NCX2 HET)の各マウスから遠位結腸標本を作製し, マグヌス法により経壁電気刺激 (EFS) による反応を縦走筋方向に等張性に記録した。また，各標本から放出される ACh 量を HPLC により定量した。WT 標本では EFS 開始直後から終了まで持続する弛緩が認められ，EFS 後に収縮が認められた。NCX2 HET 標本では，EFS による弛緩反応は WT 標本と比べて有意に増大した。しかしながら，NCX1 HET 標本の弛緩反応は WT 標本と同程度であった。一方，EFS 後に生じる収縮反応および静止張力については各群において明確な差異は認められなかった。続いて, atropine と guanethidine を処置した NANC 条件下では，NCX2 HET 標本における EFS による弛緩反応は，WT 標本と同程度であった。腸神経からの ACh 放出量を比較したところ，NCX2 HET 標本からの EFS による ACh 放出量は WT 標本と比べて有意に減少した。以上の結果より，マウス遠位結腸において腸神経からの ACh 遊離を NCX2 が調節することにより運動制御に関与する可能性が示唆された。

（28）GPNMB 細胞外フラグメントの新規受容体としての Na^+, K^+-ATPase の同定

小野陽子，鶴間一寛，嶋澤雅光，原　英彰（岐阜薬科大学生体機能解析学大講座薬効解析学研究室）

Glycoprotein non-metastatic melanoma protein B (GPNMB) は 1 型膜タンパク質であり，別名 Osteoactivin ともいわれる。本研究室の過去の検討結果より，GPNMB 細胞外フラグメントがPI3K/Akt経路やMEK/ERK経路を活性化させ，筋萎縮性側索硬化症の関連因子である変異型 Superoxide dismutase1 (SOD1)誘発運動神経細胞毒性に対し，保護作用を示すことが見出された。このことから，GPNMB 細胞外ドメインが何らかの受容体に結合し作用を示すことが示唆された。しかしながら，GPNMB 細胞外ドメインが結合する受容体は未だ見つかっていない。そこで，GPNMB の新規受容体を同定することを目的に本研究を行った。GPNMB の新規受容体を同定するために，Membrane Protein Library (MPL) を用いたリガンド/レセプター探索試験を行った。GPNMB 細胞外フラグメントを MPL に結合させ，電気泳動により得られたバンドを LC-FT-MS により解析し，GPNMB の新規受容体を同定した。LC-FT-MS 解析により Na^+, K^+-ATPase α1 および α3 が検出され，GPNMB の新規受容体である可能性が見出された。また，運動神経 NSC-34 細胞における検討により，生体内で実際に GPNMB が Na^+, K^+-ATPase α1 および α3 に結合し，共局在することが明らかになった。さらに，Na^+, K^+-ATPase 阻害剤により，GPNMB の保護作用およびPI3K/Akt経路やMEK/ERK経路の活性化作用が阻害された。以上の結果より，GPNMB 細胞外フラグメントは Na^+,K^+-ATPase に結合し，Na^+,K^+-ATPase を介して神経保護作用やPI3K/Akt経路やMEK/ERK経路の活性化作用を示すことが示唆された。したがって，Na^+,K^+-ATPase が GPNMB 細胞外フラグメントの新規受容体である可能性が考えられた。

（29）KCNQ1/KCNE1 イオンチャネル複合体における電位センサードメインを介したゲーティング制御機構

中條浩一，久保義弘（生理学研究所神経機能素子研究部門）

QT 延長症候群の原因遺伝子でもある KCNQ1 チャネルは，心臓で修飾サブユニットの KCNE1 とともに IKs とよばれる非常にゆっくりと開閉する電位依存性カリウム電流を担う。KCNE1 が共発現することにより，KCNQ1 の活性化キネティクスはおよそ 100 倍遅くなり，電位依存性も 50 mV 近く脱分極側にシフトする。このような変化の少なくとも一部は，電位センサードメインの動きが KCNE1 により変化することによって担われていると考えられる。しかし，なぜKCNE1が存在することでKCNQ1 電位センサードメインの動きが変わるかについてはまだよくわかっていない。我々は，KCNQ1 電位センサードメイン(S4)上のアミノ酸 Phe232 が，脱分極時にポアドメイン(S5)上の Phe279 と物理的に干渉することで，KCNQ1/KCNE1 チャネルが開きにくいチャネルになることを見出した。そしてこの干渉が，KCNE1 存在下においてのみ起こることも見出した。Voltage clamp fluorometry (VCF)により，KCNQ1/KCNE1 チャネルには大きくわけて 3 つの state(closed state, pre-open state, open state)が存在すると考えられ，Phe232 と Phe279 の干渉は open state を不安定化していると結論できた。また QT 短縮症候群の変異である I274V について VCF を適用したところ，closed state が不安定化していることでチャネルが開きやすくなっていることを示唆するデータを得た。電位センサードメインとその周辺部位の分子間相互作用が，正常時あるいは病態時におけるゲーティングに大きく寄与していることを示している。

（30）Cav1.2 Ca^{2+}チャネルとカルモジュリンの相互作用の分子機構

邵　冬雪[1,2]，趙　美眯[1,2]，何　桂林[1,2]，郭　鳳[1,2]，呂　力婷[1,3]，蓑部悦子[4]，
徐　建軍[4]，亀山亜砂子[4]，朱　彤[3]，郝　麗英[1,2]，亀山正樹[4]
（[1]中国医科大学薬学院薬理毒理学，[2]同心血管研究所，[3]中国東北大学機械工程与自動化学院環境生物学，
[4]鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経筋生理学）

Cav1.2 型 Ca^{2+}チャネルの Ca^{2+}依存性促通（CDF）と不活性化（CDI）にはカルモジュリン（CaM）が関与するが，その分子機構は確定してない。このチャネルと CaM の相互作用について，pull-down 法および patch-clamp 法により検討した。チャネルの C 末部近位部（CT1）と N 末部（NT）への CaM 結合は，低[Ca^{2+}]時，CT1 へは Bmax = 0.3（単位：mol/mol），NT は低値であった。高[Ca^{2+}]時は，CT1 へは 1.7，NT へは 0.3 であった。CT1 への CaM 結合の Ca^{2+}依存性増加は，C-lobe の Ca^{2+}結合を消去した CaM34 では消失した。更に，CaM の N-および C-lobe 断片の CT1 への結合を調べた結果，低[Ca^{2+}]時は N-lobe の親和性が高く，高[Ca^{2+}]時は C-lobe の親和性が高くなり，かつ Bmax も 3 に増大した。また，各 lobe のチャネル活性化作用をモルモット心室筋細胞にて検討した結果，N-lobe の方がより高い作用を示した。以上の結果は，低[Ca^{2+}]時は CaM の主に N-lobe がチャネル CT1 の部位（preIQ または IQ）に結合してチャネルの basal activity を起こし，CDF はその部位への CaM 結合の Ca^{2+}依存性増加，CDI は第二の CaM のチャネルへの結合により起こるというモデルを支持する。

（31）複数分子同時イメージング法の開発と応用研究: 環境から医療まで

榎本秀一
（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科医薬品機能分析学分野／独立行政法人理化学
研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター次世代イメージング研究チーム）

がん，糖尿病やその他の生活習慣病を含む多くの疾患の発症過程には，複数の遺伝因子・環境因子が複雑に関与している。われわれは，生体内において実際に機能しているそれら複数の疾患関連因子を，生きたままの個体を傷つけることなく同時に画像化・解析を行う「複数分子同時イメージング」の重要性を提唱してきた。現在，新規複数分子同時イメージング装置「GREI」の開発に成功し，GREI に供する種々の有用放射性核種の製造技術開発，新規放射性核種(RI）標識分子プローブの開発を推進している。GREI プロトタイプを用いたマウス，ラットなどのリアルタイム代謝撮像では，それぞれ異なる核種で標識した複数の放射性薬剤を同時に投与し，それぞれの薬剤の集積部位の違いを明確に示した同時画像化に成功した。本講演では，GREI 装置開発の現状と最新成果，医療への応用を目指した放射性医薬品（抗体薬やペプチド薬）開発，環境中の放射性核種測定における GREI 応用研究について報告した。

（32）亜鉛シグナル：B 細胞の恒常性を司る新しい制御機構

深田俊幸[1,2]，宮井智浩[1,3]，北條慎太郎[1,4]，美島健二[2]
（[1]理化学研究所統合生命医科学研究センター，[2]昭和大学歯学部口腔病理学，
[3]大阪大学大学院生命機能研究科，[4]ドイツリウマチ疾患研究センター）

亜鉛の欠乏は重篤な免疫不全を引き起こす。亜鉛の恒常性は輸送体によって制御され，亜鉛シグナルとして様々な生理機能に関与するが免疫系での役割は不明であった。そこで，リンパ球に発現する亜鉛輸送体 ZIP10 の B 細胞特異的欠損マウスを作製し，B 細胞の顕著な減少を見出した。さらに，このマウスの造血幹細胞は B 細胞を分化誘導できず，ZIP10 の亜鉛シグナルが B 細胞の初期発生に必須であることが判明した。分子機序を検証するために ZIP10 を誘導的に欠損したところ，欠損依存的に Caspase の活性化と細胞死が惹起された。B 前駆細胞の増殖にはサイトカイン刺激による JAK-STAT 経路の活性化が必須であり，実際にサイトカイン刺激で ZIP10 の発現と細胞内亜鉛上昇を確認した。加えて，ヒト悪性リンパ腫において STAT の恒常的な活性化と ZIP10 の過剰発現を見出した。以上より，JAK-STAT 経路→亜鉛シグナル→細胞死抑制の情報変換機構が B 細胞の初期発生と恒常性維持に必要であることが明らかになった（PNAS 2014; EMBO Mol Med 2014）。

（33）上皮型 Na^+チャネル（ENaC）過剰発現と粘液貯留を呈する閉塞性肺疾患

首藤　剛[1]，亀井竣輔[1,2]，野原寛文[1,2]，藤川春花[1]，坂口由起[1]，松本千鶴[1]，
小野智美[1]，菅原卓哉[1]，Mary Ann Suico[1]，甲斐広文[1,2]
（[1]熊本大学大学院薬学教育部遺伝子機能応用学分野，[2]熊本大学博士課程教育リーディングプログラム「グローカルな健康生命科学パイオニア養成プログラムＨＩＧＯ」）

上皮型 Na^+チャネル（ENaC）は，肺や腎臓などの上皮細胞の管腔側形質膜上に発現するアミロライド感受性の Na^+チャネルである。ENaC は，生体の体液量制御を担う重要な分子であり，特に肺上皮組織においては，肺腔内液量（ASL）の調節や上皮細胞自身の細胞内イオン環境の制御に必須である。このような背景の中，我々は，致死率を低下させた気道特異的 ENaC 過剰発現マウス（ENaC-Tg マウス）の産出に成功し，本マウスが，粘液貯留・肺気腫・呼吸機能低下症状を呈する閉塞性肺疾患モデルとなることを明らかにした。さらに，我々は，本マウスの肺組織のマイクロアレイ解析の結果に基づいて明らかになったプロテアーゼおよび酸化ストレス活性化経路に着目し，マウスへの化合物投与を行った。その結果, セリンプロテアーゼ阻害剤および抗酸化剤の一部に，肺病態改善作用が認められた。さらに，マウス体内で産生される内因性抗酸化物質ビタミン C (VC) の肺病態形成における役割を明らかにするため，VC 欠損 ENaC-Tg マウスを作成し，その肺病態について検討した。その結果，内因性 VC の欠損は，酸化ストレス状態を亢進し，マウス肺気腫病態の悪化，呼吸機能の低下を有意に促進させた。以上の結果より，ENaC-Tg マウスは，薬効評価可能な閉塞性肺疾患モデルであり，本病態の形成には酸化ストレスが重要な役割を担うことを明らかとなった。

（34）電位依存性 Ca^{2+}チャネル α2/δ-1 サブユニットを介した機能制御機構

赤羽悟美，伊藤雅方，守本慎一（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分野）

電位依存性 Ca^{2+}チャネル α2/δ-1 サブユニットは，高閾値活性型 Ca^{2+}チャネルの開閉や細胞膜へのトラフィッキングの調節に関わっており，近年，循環器疾患や神経疾患との関連も明らかにされつつある。現在，α2/δ-1 サブユニットに結合する gabapentin（GBP）や pregabalin などの薬物が，神経因性疼痛の治療に使用されている。しかしながら，神経因性疼痛の発症における α2/δ-1 サブユニットの役割は明らかではない。これまで，神経組織の炎症により活性化されたミクログリアから産生放出されるサイトカインや神経栄養因子が神経因性疼痛の発症に関わることが報告されている。そこで我々は，α2/δ-1 サブユニットを含む電位依存性 N 型 Ca^{2+}チャネルがミクログリアの活性化に関与するという仮説を立て，検証を試みた。その結果，α2/δ-1 サブユニットおよび電位依存性 N 型 Ca^{2+}チャネルを遮断すると，神経因性疼痛は抑制されたものの，ミクログリアの活性化には影響しなかった。一方，神経因性疼痛の発症に伴い一次求心性知覚神経における α2/δ-1 サブユニットの発現が上昇し神経終末へ集積され，α2/δ-1 サブユニットを GBP で遮断すると神経終末への α2/δ-1 サブユニットの集積が抑制された。以上の結果から，神経障害に伴う α2/δ-1 サブユニットの一次知覚知覚神経終末への集積による電位依存性 N 型 Ca^{2+}チャネルの機能亢進が，神経因性疼痛の発症メカニズムの一つであることを明らかにした。交感神経活動を介した心血管機能の制御においても，α2/δ-1 サブユニットが同様に関与する可能性が考えられる。

（35）ヒト iPS 由来心筋を用いた新規心毒性評価法の開発

黒川洵子[1]，李　敏[1]，諫田泰成[2]，芦原貴司[3]，関野祐子[2]，古川哲史[1]
（[1]東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理学分野，[2]国立医薬品食品衛生研究所薬理部，[3]滋賀医科大学呼吸循環器内科）

ヒト iPS 由来心筋を非臨床試験に用いることにより，心毒性試験の予測性が向上すると期待されている。しかし，幹細胞由来心筋は未熟な細胞特性を示す事が知られており，成人の薬物誘発性不整脈の評価については慎重に検討する必要がある。我々は，これまでに，パッチクランプ法を使用して，ヒト iPS 由来心筋細胞は自動能があり最大弛緩期の膜電位が浅いという未熟型心筋の特性を持つことと，ヒトでの作用域の HERG 阻害剤による活動電位幅(APD)の延長が計測できないことを示してきた。そこで，ヒト iPS 由来心筋と成人心室筋の電気的性質の違いに注目し，ヒト iPS 心筋に不足している X 遺伝子をアデノウイルスベクターで導入したところ，自律拍動能が消失しペーシングに応じた拍動が見られた。活動電位波形はプラトー相をもつ心室筋様となり，HERG 阻害剤による濃度依存的な APD 延長が見られ，インシリコモデルで X 遺伝子の影響をシミュレートできた。この X 遺伝子導入 iPS 心筋の高密度 2 次元培養標本を作成し，薬剤の作用を調べたところ，HERG 阻害剤による FPD 延長だけでなく，IKs 阻害による再分極予備力の低下や逆頻度依存性の消失も計測することが出来た。以上の結果から，現在開発中の X 遺伝子導入 iPS 心筋は，成人における薬物誘発性不整脈を精確に評価できることが示唆された。

14. TRP チャネル研究を通じて見えてきた新たな生理学への光

2014 年 6 月 5 日－6 月 6 日

代表・世話人：柴崎貢志（群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学分野）
所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理部門）

（1）クローン病線維化狭窄の病態形成における TRP チャネルの役割

倉原（海）琳[1]，住吉美保[1]，青柳邦彦[2]，平石敬三[1]，井上隆司[1]
([1]福岡大学医学部生理学，[2]福岡大学医学部消化器内科学)

（2）脂質平面膜法を用いた TRP チャネルの機能解析

内田邦敏[1]，Lusine Demirkhanyan[1]，富永真琴[2]，Eleonora Zakharian[1]
([1]イリノイ大学医学部薬理学,
[2]岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門)

（3）アストロサイトに発現する TRPV4; その特徴と生理学的意義

柴崎貢志[1]，富永真琴[2]，石崎泰樹[1]
([1]群馬大学医学部分子細胞生物学,
[2]岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門)

（4）TRPV4 のリン脂質による制御

高橋重成[1]，中原明香[2]，伊藤弓弦[2]，竹村和浩[2]，北尾彰朗[2]，森　泰生[1]，末次志郎[3]
([1]京都大学大学院工学研究科，[2]東京大学分子生物学研究所,
[3]奈良先端科学技術大学院大学)

（5）環境ガス早期警報装置としての TRPA1

桑木共之[1]，米　満亨[1]，黒木千晴[1]，高橋重成[2]，森　泰生[2]
([1]鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 統合分子生理学分野,
[2]京都大学大学院工学研究科)

（6）ミクログリアにおける TRPV1 を介した走化性制御

三宅崇仁[1]，白川久志[1]，中川貴之[2]，金子周司[1]
([1]京都大学 薬学研究科生体機能解析学分野,
[2]京都大学医学部付属病院 薬剤部)

（7）TRPV2 は機械受容チャネルか？

長澤雅裕，小島　至（群馬大学 生体調節研究所 細胞調節分野）

（8）網膜杆体入力型双極細胞における TRPM1 チャネルを介したグルタミン酸放出の制御

田丸文信，渡辺修一（埼玉医科大学 医学部 生理学）

（9）第１０回 TRP 研究会を迎えて；　TRP 研究の歩みと今後の展望

富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

(10) TRPC5 チャネル-caveolin-1-eNOS シグナル複合体による Ca2+動員および NO 産生の時空間制御

高橋重成[1]，吉田卓史[1]，小川　臨[1]，植田誉志史[1]，山口佳織[2]，浜野　智[1]，山本伸一郎[1]，
坂口怜子[1]，原　雄二[1]，森　誠之[1]，清水俊一[3]，井上隆司[4]，森　泰生[1]
([1]京都大学大学院工学研究科,
[2]京都大学大学院 地球環境学堂 環境適応生体システム論,
[3]昭和大学薬学部病態生理学教室,
[4]福岡大学医学部生理学教室)

（11）TRPC チャネルを制御する新規膜貫通タンパク質 OGU1

伊藤智哉 [1]，高橋重成 [2]，加藤賢太 [2]，森　泰生 [2]，相澤康則 [1]
（[1] 東京工業大学大学院生命理工学研究科分子生命科学，
[2] 京都大学大学院工学研究科合成生物化学）

（12）中等度および高度低酸素，高酸素，高二酸化炭素に対する換気応答における TRPA1 チャネルの意義

岡田泰昌，武田湖太郎，Mieczyslaw Pokorski
（独立行政法人国立病院機構村山医療センター 臨床研究センター）

（13）炎症性腸疾患モデル動物の内臓痛覚過敏状態における TRPM8 チャネルの機能

松本健次郎 [1]，細谷拓司 [2]，田嶋公人 [2]，天ヶ瀬紀久子 [1]，加藤伸一 [1]，堀江俊治 [2]
（[1] 京都薬科大学薬物治療学分野，[2] 城西国際大学薬学部薬理学）

（14）TRPC3 チャネルによる心臓線維化の分子メカニズム

北島直幸，冨田（沼賀）拓郎，西村明幸，西田基宏
（岡崎統合バイオサイエンスセンター 心循環シグナル研究部門）

（15）口腔粘膜における TRPV3 チャネルを介した創傷治癒制御

合島怜央奈 [1]，王　冰 [1]，高尾知佳 [1]，三原　弘 [2]，加塩麻紀子 [2]，大崎康吉 [1]，
張　旌旗 [3]，水野敦子 [4]，鈴木　誠 [4]，富永真琴 [2]，城戸瑞穂 [1]，
（[1] 九州大学大学院歯学研究院分子口腔解剖学分野，
[2] 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門，
[3] 九州大学大学院歯学研究院口腔常態制御学講座分子口腔解剖学分野，
[4] 自治医科大学医学部薬理学講座分子薬理学部門）

（16）Activation of TRPA1 channel by antibacterial agent Triclosan induces VEGF secretion in human prostate cancer stromal cells

Sandra Derouiche，Pascal Mariot，Marine Warnier，Gabriel Bidaux，
Eric Vancauwenberghe，Pierre Gosset，Brigitte Mauroy，Jean-Louis Bonnal，
Christian Slomianny，Philippe Delcourt，Gilbert Lepage，Natalia Prevarskaya
（Université Lille I Sciences et Technologies）

（17）抗悪性腫瘍薬による肺炎症の TRPM2 チャネルを介した増悪

米澤　龍 [1]，石井正和 [1]，戸田雄大 [2]，森　泰生 [3]，清水俊一 [1]，
（[1] 昭和大学薬学部生理・病態学，[2] 横浜薬科大学薬理学，
[3] 京都大学大学院工学研究科合成生物化学）

（18）透過型電子顕微鏡を用いた TRP イオンチャネルの立体構造解析

三尾和弘 [1]，マミテリ ナシルハシ [1]，小椋俊彦 [1]，丸山雄介 [1]，
守屋俊夫 [1]，清中茂樹 [1]，森　泰生 [2]，佐藤主税 [1]，
（[1] 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門，
[2] 京都大学大学院工学研究科合成生物化学）

（19）TRPC6 による膜電位調節が骨髄間質細胞のストア依存性 Ca2+流入と細胞周期進行を制御する

市川　純，井上隆司（福岡大学医学部生理学教室）

（20）骨格筋機能低下に対する温熱刺激を用いた予防策の実用化に向けた研究

大平宇志（宇宙航空研究開発機構 宇宙医学生物学研究室）

【参加者名】

柴崎貢志（群馬大学大学院），小島　至（群馬大学），長　　澤雅裕（群馬大学），渡邊博之（秋田大学），大平宇志（宇

宙航空研究開発機構），佐藤主税（産業技術総合研究所），三尾和弘（産業技術総合研究所），田丸文信（埼玉医科大学），米澤　龍（昭和大学），入江智彦（国立医薬品食品衛生研究所），岡田泰昌（国立病院機構村山医療センター），相澤康則（東京工業大学），伊藤智哉（東京工業大学），遠近崇裕（東京工業大学），清水俊一（横浜薬科大学），伊藤　理（名古屋大学），波多野紀行（愛知学院大学），鈴木裕可（愛知学院大学），小澤淳一（滋賀医科大学），金子周司（京都大学），白川久志（京都大学），三宅崇仁（京都大学），勝本るみ（京都大学），浅尾靖仁（京都大学），尾山翔平（京都大学），荻野哲也（京都大学），西村大希（京都大学），森　泰生（京都大学），沼田朋大（京都大学），坂口怜子（京都大学），小川　臨（京都大学），桑村昂志（京都大学），長谷英治（京都大学），波多野雅彦（京都大学），澤村晴志朗（京都大学），植田誉志史（京都大学），内山　誠（京都大学），浜野　智（京都大学），牧山　武（京都大学），山本雄大（京都大学），松本健次郎（京都薬科大学），末次志郎（奈良先端科学技術大学院大学），山口陽平（岡山大学），太田利男（鳥取大学），畠山由香里（鳥取大学），城戸瑞穂（九州大学），木附　智子(九州大学)，合島怜央奈（佐賀大学），井上隆司（福岡大学），市川　純（福岡大学），倉原（海）琳（福岡大学），桑木共之（鹿児島大学），新谷真未（アステラス製薬㈱），浅田拓也（花王㈱），加藤賢太（帝人ファーマ㈱），福田隆文（キリン㈱），犀川和佳奈（味の素㈱），永田晃一（田辺三菱製薬㈱），佐々木　淳（田辺三菱製薬㈱），安武晃一（日産化学工業㈱），林　剛光（キッセイ薬品工業㈱），田畑考統（旭化成ファーマ㈱），小山　傑（旭化成ファーマ㈱），高石雅之（㈱マンダム），日向美紀枝（塩野義製薬㈱），笹村　崇（小野薬品工業㈱），上村雄一郎（野薬品工業㈱），崔　泰樹（ラクオリア創薬㈱），西田基宏（岡崎統合バイオ 心循環シグナル），冨田拓郎（岡崎統合バイオ 心循環シグナル），西村明幸（岡崎統合バイオ 心循環シグナル），外山喬士（岡崎統合バイオ 心循環シグナル），北島直幸（岡崎統合バイオ 心循環シグナル），島内　司（岡崎統合バイオ 心循環シグナル），富永真琴（岡崎統合バイオ 細胞生理），鈴木喜郎（岡崎統合バイオ 細胞生理），齋藤　茂（岡崎統合バイオ 細胞生理），内田邦敏（岡崎統合バイオ 細胞生理），Derouiche Sandra（岡崎統合バイオ 細胞生理），周　一鳴（岡崎統合バイオ 細胞生理），高山靖規（岡崎統合バイオ 細胞生理），橘高裕貴（岡崎統合バイオ 細胞生理），Sun Wuping（岡崎統合バイオ 細胞生理），Rupali Gupta（岡崎統合バイオ 細胞生理），西本れい（岡崎統合バイオ 細胞生理），渡辺成樹（岡崎統合バイオ 細胞生理），Erkin Kurganov（岡崎統合バイオ 細胞生理），大野知幸（東京工業大学），古江秀昌（生理学研究所 神経シグナル），佐藤幸治（統合バイオ 生体制御シグナル），細川　浩（京都大学），豊原治彦（京都大学），山野井　遊（㈱池田模範堂），長谷直樹（帝人ファーマ㈱），高井　章（旭川医科大学），作田　拓（基礎生物学研究所），長内康幸（生理学研究所 分子神経生理），山本真理子（生理学研究所 視覚情報），佐藤かお理（生理学研究所 国際連携室），守口由紀子（ラクオリア創薬㈱）

【概要】

H26 年度の TRP チャネル研究会（代表　群馬大学・柴崎（以下敬称略））には多様な分野の研究者が参集し，２日間にわたって最新の研究成果発表と活発な討論が行われた。２０題の最新研究成果が発表された。

倉原らはクローン病線維化狭窄の形成メカニズムについて報告した。内田らは脂質平面膜を用いた TRPM3 の特性解析の結果を発表した。柴崎らはアストロサイト TRPV4 が持つ生理学的意義を報告した。高橋らはリン脂質による TRPV4 の制御を発表した。桑木らは TRPA1 が酸素センサーであることを報告した。三宅らは TRPV1 によるミクログリアの走化性制御を報告した。田丸らは網膜情報処理における TRPM1 の働きを発表した。富永は TRP 研究の歩みと展望を総説的に解説した。高橋らは TRPC5 による NO 産生に関する報告を行った。伊藤らは TRPC1 制御因子に関する発表を行った。岡田らは換気応答における TRPA1 の働きを報告した。松本らは内臓痛覚過敏と TRPM8 の関連性を発表した。北島らは TRPC3 チャネルによる心臓線維化のメカニズムを報告した。合島らは TRPV3 による創傷治癒を報告した。Derouiche らは VEGF による TRPA1 活性化についての発表を行った。米沢らは抗がん剤による肺炎症と TRPM2 の関連性を報告した。三尾らは TRP チャネルの立体構造解析に関してレポートした。市川らは TRPC6 と細胞周期に関する発表を行った。大平は温熱刺激による骨格筋機能低下に関してレポートした。

（1）クローン病線維化狭窄の病態形成における TRP チャネルの役割

倉原（海）琳 [1]，住吉美保 [1]，青柳邦彦 [2]，平石敬三 [1]，井上隆司 [1]
（[1] 福岡大学医学部生理学，[2] 福岡大学医学部消化器内科学）

クローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患は，自己免疫異常に起因する難治性疾患であり，線維化による腸狭窄が大きな問題として残る。消化管筋線維芽細胞は炎症病変部の創傷治癒に寄与し，その働きの遷延が腸管狭窄へ繋がる。本研究では様々な物理化学刺激に応答する TRP チャネルをターゲットとして，消化管筋線維芽細胞内の Ca^{2+}が線維化過程で果たす潜在的な役割について検討を行った。

線維化促進因子 TGF-β1(5ng/ml)で筋線維芽細胞株 InMyoFib を刺激すると，αSMA，コラーゲンⅠ,Ⅲなどの線維化マーカーの上昇に伴って，TRPC4,C6 の mRNA，タンパク発現が著しく上昇した。TRPC6 と αSMA, TRPC4 と N-Cadherin が共沈して，TGF 受容体の下流にある Smad-2，p38-MAPK，Erk1/2 のリン酸化に対して抑制的に働き, IL-10, IL-11, COL1A1 の発現を抑制することが分かった。

TRP ファミリー中，InMyoFib に最も多く発現する TRPA1 チャネルは，TGFβ 刺激によってほとんど増加しないが，クローン病狭窄に使われる「大建中湯」の成分によって活性化され, 発現も増加して TGF 受容体下流のシグナルを抑制することが分かった。

クローン病患者の炎症粘膜の狭窄部位と非狭窄部位から生検組織を採取し，線維化に関わる遺伝子の発現を定量した。非狭窄部位に対し狭窄部位では，TRPC6，N-Cadherin，αSMA，COL1A1，COL3A1，IL-1β，IL-6，IL-10，IL-11 の発現が多く確認され，TRPC4，TRPA1，TNFα は両部位で同程度であった。

これらの結果から，消化管筋線維芽細胞による新しい炎症性腸疾患の制御機構の可能性が示唆された。

（2）脂質平面膜法を用いた TRP チャネルの機能解析

内田邦敏 [1]，Lusine Demirkhanyan[1]，富永真琴 [2]，Eleonora Zakharian[1]
（[1] イリノイ大学医学部薬理学，
[2] 岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

脂質平面膜法は水，塩類，イオンチャネル及びリン脂質のみで構成される実験系であり，特定のイオンチャネル分子そのものの性質，分子機構を単純でコントロールされた環境で解析するための方法の１つである。今回，2013 年にその温度感受性が報告された（Vriens et al. Neuron）TRPM3 チャネルを用いた再構成系を確立し，機能解析を行った。その結果，TRPM3 のリガンドは用量依存的に TRPM3 の開口確率を増加させた。PIP_2 はいくつかの TRP チャネルの活性化に必須であると報告されているが他の TRP チャネルとは異なり TRPM3 活性は PIP_2 非存在下でも認められた。さらに高濃度の PIP_2 を添加すると TRPM3 活性は増強された。温度による活性化についても検討した結果, 42℃までの温度上昇は TRPM3 を活性化しなかった。一方，リガンド存在下ではコンダクタンスが高温になるほど大きくなる傾向が認められたが，その温度依存性はとても小さいものであった。また，温度依存的な開口確率の大きな変化も認められなかった。温度依存的な活性化にはこの再構成系に存在しない何らかの因子が重要な役割を担っている可能性がある。今後はこの脂質平面膜法を他の TRP チャネルについても確立し，この系の特徴を生かして膜脂質が温度感受性 TRP チャネルの性質, 特に温度によるゲーティングに与える影響を検討していきたいと考えている。

（3）アストロサイトに発現する TRPV4; その特徴と生理学的意義

柴崎貢志[1]，富永真琴[2]，石崎泰樹[1]
（[1]群馬大学医学部分子細胞生物学，
[2]岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

我々は温度感受性 TRP チャネルに属する TRPV4（活性化温度閾値： 34℃以上）が海馬に高発現しており，脳内温度を介して海馬神経細胞の興奮性を向上させていることを見いだしている (J. Neurosci 2007)。脳組織標本を詳しく解析したところ，神経細胞の他，アストロサイトにも TRPV4 発現を認めた。非常に興味深いことに，アストロサイトの中に，TRPV4 陽性と陰性の二種類の細胞が存在しており，TRPV4 陽性アストロサイトは約 20% 程度のマイナーなサブタイプを校正していた。この結果は，TRPV4 の発現を指標にアストロサイトのサブクラスを分類できる可能性を示唆している。さらに，TRPV4 陽性アストロサイトは TRPV4 の活性化に伴い，グリオトランスミッターを遊離し，周りのアストロサイトに興奮を伝播していることを突き止めた(JBC 2014)。このようなアストロサイトからの情報伝達物質の遊離は，アストロサイト TRPV4 の活性化 → 周囲のアストロサイトの興奮 → 神経細胞の興奮/抑制というカスケードが存在する可能性を強く示唆しており，神経-グリアの機能連関を調べるのに TRPV4 が非常に有用なツールであることを強く示唆している。

今回の発表では，アストロサイトにおける TRPV4 の局在や TRPV4 活性化に伴うアストロサイト 1 細胞レベルの Ca^{2+}濃度変化に加え，てんかん病態時のアストロサイト TRPV4 発現変化などの最新データも交え，アストロサイトに発現する TRPV4 の特徴を紹介し，その生理学的意義を議論した。

（4）TRPV4 のリン脂質による制御

高橋重成[1]，中原明香[2]，伊藤弓弦[2]，竹村和浩[2]，北尾彰朗[2]，森　泰生[1]，末次志郎[3]
（[1]京都大学大学院工学研究科，[2]東京大学分子生物学研究所，
[3]奈良先端科学技術大学院大学）

TRPV4 は，非選択的なイオンチャネルであり，低浸透圧や，温度によってチャネル活性が制御されていることが知られている。また，シャルコーマリートゥース病(CMT)で多数の変異が報告されている。しかしながら，TRPV4 のリン脂質による制御は明らかではなかった。今回我々は TRPV4 の N 末に存在するアンキリンリピートドメインが，リン脂質に結合することを明らかにした。TRPV4 のアンキリンリピートドメインは，リン脂質の中でも特に PI(4,5)P2 に比較的強く結合した。PI(4,5)P2 の頭部である IP3 とアンキリンリピートドメインの共結晶を用いた X 線結晶解析および分子動力学計算をもとに，IP3／PI(4,5)P2 結合サイトの候補を同定した。これらの結合部位の変異は，チャネル活性の増大をもたらした。また，CMT における変異のいくつかで，脂質結合活性の減弱が認められた。このことは TRPV4 と PI(4,5)P2 の結合は，チャネル活性を負に制御し，CMT においてはこの制御が失われていることを示唆していた。

（5）環境ガス早期警報装置としての TRPA1

桑木共之[1]，米　満亨[1]，黒木千晴[1]，高橋重成[2]，森　泰生[2]
（[1]鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 統合分子生理学分野，
[2]京都大学大学院工学研究科）

TRPA1 は鼻粘膜からの求心路である三叉神経や気道の迷走神経求心性線維に分布することから，血中の酸素濃度が変化する以前に外界のガス環境変化を検出して警告を発する系として機能している可能性があるのではないか，という仮説を検証した。

TRPA1 欠損マウスと対照野生型マウスとを用いて以下の実験を行った。(1)忌避／近接行動を利用して，酸素濃度や刺激物質の検出に寄与している可能性を調べる。(2)睡眠中の低酸素または刺激物暴露による覚醒までの時間を比較する。(3)酸素濃度変化・ホルマリン暴露による迷走神経および三叉神経の活性化を比較する。(4)低酸素及び高酸素環境で長期間飼育し，心血管系および活性酸素種への影響を調べる。TRPA1 欠損マウスは(1)ホルマリン蒸気で充満した部屋に平気で侵入し，(2)強度の低酸素にしないと覚醒せず，(3)三叉神経・迷走神経の活性化が起こりにくく，(4)飼育環境酸素濃度変化による心血管系の障害が増悪した。

以上の結果から TRPA1 は，高・低濃度酸素やホルマリン，アリルイソチアネートなどの有毒ガスの検出とそれに引き続く回避行動・覚醒・呼吸変化などをトリガーする警報装置としての役割を果たしている，と結論した。結果の一部は Scientific Resports 3, 3100（DOI:10.1038/srep03100）に発表済みである。

（6）ミクログリアにおける TRPV1 を介した走化性制御

三宅崇仁[1]，白川久志[1]，中川貴之[2]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科生体機能解析学分野，
[2]京都大学医学部付属病院 薬剤部）

ミクログリアは脳内における免疫担当細胞であり，絶えず周辺環境を監視し，死細胞に対して遊走・貪食を行うことが知られている。TRPV1 のミクログリアにおける役割はほとんど明らかとなっていない。我々は TRPV1 のミクログリアにおける役割の一つとして，走化性制御に着目した。

免疫組織化学的手法によりミクログリアにおいて TRPV1 の免疫陽性が確認されたものの，capsaicin をミクログリアに適応しても電流応答や細胞内 Ca^{2+}応答が観察されなかった。より詳細な免疫組織化学的検討を行い，細胞内局在を検討した結果，TRPV1 は一部のミトコンドリアに存在していた。ミトコンドリアに着目して検討したところ，capsaicin によりミトコンドリア内 Ca^{2+}濃度上昇やミトコンドリアの脱分極が引き起こされることが明らかとなった。ミクログリアの遊走についてボイデンチャンバーを用いて評価したところ，野生型マウス由来ミクログリアでは濃度依存的な走化性が上昇し，TRPV1 欠損マウス由来ミクログリアではこのような現象は観察されなかった。さらにこの遊走は TRPV1 遮断薬や活性酸素種除去剤，p38 阻害薬，JNK 阻害薬で抑制された。

以上の結果より，ミクログリアにおける TRPV1 の活性化はミトコンドリアの脱分極を引き起こし，活性酸素種を産生させ，MAPK を介して走化性を向上させることが示唆される。

（7）TRPV2 は機械受容チャネルか？

長澤雅裕，小島　至（群馬大学 生体調節研究所 細胞調節分野）

TRPV2 は増殖因子，サイトカインなどのリガンド刺激により細胞膜へ移行し，Ca^{2+}透過性チャネルとして機能してCa^{2+}流入を増加させる。一方，血管平滑筋細胞，心筋細胞，血管内皮細胞などにおいては，細胞膜の伸展・機械刺激に応じて活性化され，Ca^{2+}流入を増加させることが報告され，TRPV2 は機械受容チャネルの候補分子の一つと考えられている。我々はがん細胞を用いた検討を昨年の本研究会で報告し，TRPV2 が局所的な機械刺激を受けるとその刺激部位に集積し，Ca^{2+}を流入させることを明らかにした。今回，血管平滑筋細胞を用い，機械刺激による TRPV2 の細胞内動態の変化を検討した。

ガラス電極を用いて血管平滑筋細胞に局所的な伸展刺激を与えると，その部位に Akt 及び TRPV2 が集積し，局所的な細胞質 Ca^{2+}濃度($[Ca^{2+}]_c$)の増加が認められた。この$[Ca^{2+}]_c$ 増加は細胞内を伝播して細胞全体に広がった。PI3 キナーゼを抑制すると，この局所伸展刺激による Akt の集積および TRPV2 の集積は消失し，$[Ca^{2+}]_c$ 増加も消失した。これらの結果は，機械刺激により局所で PI3 キナーゼが活性化され，TRPV2 のトラフィッキングが変化して刺激部位に集積することを示し，TRPV2 が狭義の機械受容チャネルではないことを示唆している。

（8）網膜杆体入力型双極細胞における TRPM1 チャネルを介したグルタミン酸放出の制御

田丸文信，渡辺修一（埼玉医科大学 医学部 生理学）

網膜が光刺激を受けると，杆体視細胞からのグルタミン酸放出量は減少し，mGluR6 を発現している杆体入力型双極細胞は TRPM1 チャネルを開くことで脱分極する。杆体入力型双極細胞は軸索末端からグルタミン酸を放出し，シナプス後細胞である AII アマクリン細胞へと情報を伝達し，最終的に神経節細胞を通って脳へ光情報が運ばれることが知られている。今回の実験で，潅流液の温度を 18 ℃から 35 ℃へ上げると，AII アマクリン細胞では EPSC の頻度と振幅が劇的に増大し，流入してくる電荷量が 3 倍以上になった。mGluR6 の agonist である L-AP4 を投与したところ，AII アマクリン細胞の EPSC が温度にかかわらずほぼ完全に消失した。L-AP4 の存在下で潅流液の温度を 20 ℃から 35 ℃に上げると，ホールセル・パッチクランプ法を用いて杆体入力型双極細胞から記録をした時は 30～50 mV 脱分極したが，穿孔パッチクランプ法を用いて同様の記録をおこなうと 10 mV ほどしか脱分極しなかった。また，TRPM1 KO マウスの AII アマクリン細胞から記録すると，温度を上げても EPSC の頻度や振幅はほとんど変わらなかった。以上の結果から，杆体入力型双極細胞に発現している TRPM1 チャネルの開口確率が，細胞内リガンドと温度によって制御されていることが示唆される。

（9）第１０回 TRP 研究会を迎えて；　TRP 研究の歩みと今後の展望

富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

TRP チャネルは，1989 年にショウジョウバエの遺伝子が同定されて以来，世界で精力的に研究されてきた。Ca^{2+}透過性の高い非選択性陽イオンチャネルとして多彩な細胞機能にかかわることが明らかとなり，チャネル病も数多く，さまざまな後天的疾患やがんの発生にかかわることもわかっている。今後，TRP チャネルの構造や機能の解析が進むことによって，Ca^{2+}や Na^{+}流入にかかわる細胞機能が明らかになり，TRP チャネル機能や発現を制

御することで疾患を治療できるようになることを期待したい．TRP チャネルは今もっとも注目を集める分子群の１つと言えよう。（実験医学　２０１４年３月号より）

今回, TRP 研究会が１０周年の節目を迎えるにあたり，この会を立ち上げ，TRP 研究をリードしてきた富永先生からこれまでの研究の歩みや今後の展望についての特別講演を頂くこととした。

（10）TRPC5 チャネル-caveolin-1-eNOS シグナル複合体による Ca^{2+}動員および NO 産生の時空間制御

高橋重成 [1]，吉田卓史 [1]，小川　臨 [1]，植田誉志史 [1]，山口佳織 [2]，浜野　智 [1]，山本伸一郎 [1]，
坂口怜子 [1]，原　雄二 [1]，森　誠之 [1]，清水俊一 [3]，井上隆司 [4]，森　泰生 [1]
（[1] 京都大学大学院工学研究科，
[2] 京都大学大学院 地球環境学堂 環境適応生体システム論，
[3] 昭和大学薬学部病態生理学教室，
[4] 福岡大学医学部生理学教室）

一酸化窒素（NO）および Ca^{2+}は「協奏的に」血管の弛緩など様々な生理応答を制御する。両者の制御関係は，NO 合成酵素（NOS）が Ca^{2+}依存的に活性化すると同時に，NO が直接的に受容体やチャネルに作用して Ca^{2+}動態を制御するという形で成り立っている。我々は以前の研究で，内皮細胞において，G タンパク質共役 ATP 受容体の下流で内皮型 NOS(eNOS)により産生される NO が，TRPC5 チャネルの S-ニトロシル化を介してチャネルを活性化し，Ca^{2+}流入を引き起こすことを報告した。さらに今回我々は，TRPC5 が eNOS と物理的・機能的に相互作用し，「シグナル複合体」を形成することを見出した。G タンパク質共役 ATP 受容体を刺激し TRPC5 を介した Ca^{2+}流入を誘導すると, eNOS からの NO 産生が見られ，生じた NO は二次的な TRPC5 の活性化を引き起こした。共免疫沈降では TRPC5 と eNOS，そして足場タンパク質である caveolin-1 との結合が見られた。TRPC5，または eNOS の caveolin-1 結合ドメイン変異体では TRPC5-eNOS 間の結合が減弱し，Ca^{2+}流入や NO 産生も低下したことから, caveolin-1 が複合体形成の足場として働くことが示された。また興味深いことに, 細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇は, eNOS を caveolin-1 から脱離させる一方で, 膜近傍における TRPC5-eNOS 相互作用を増強した。このことは, eNOS を caveolin-1 による抑制から解放し, TRPC5 近傍での NO 産生を可能にすることで, より効率的な TRPC5 の二次的な活性化の実現に働くと考えられる。以上から，Ca^{2+}と NO シグナルの制御関係において重要な働きを担う新規シグナル複合体の存在が示された。

（11）TRPC チャネルを制御する新規膜貫通タンパク質 OGU1

伊藤智哉 [1]，高橋重成 [2]，加藤賢太 [2]，森　泰生 [2]，相澤康則 [1]
（[1] 東京工業大学大学院生命理工学研究科分子生命科学，
[2] 京都大学大学院工学研究科合成生物化学）

哺乳類ゲノムの遺伝子間領域には，機能未知な転写領域が数千箇所存在している。これら転写領域は近年，ノンコーディング RNA（Long noncoding RNA; lncRNA）遺伝子候補として注目されているが，その機能実体はほとんど仮説の域を出ていない。

我々は，*OGU1*（osteogenesis upregulating transcript 1）と命名された lncRNA 候補の解析過程で，この lncRNA ゲノム座はノンコーディングではなく，実際はタンパク質遺伝子であることを実証し，さらにその翻訳産物が，TRPC チャネルを介したカチオン流入を促進することを

見出した。また，このカチオン流入量の増加は，OGU1 タンパク質による TRP チャネル細胞内輸送経路の変化に起因することが，これまでの実験結果から示唆されている。本講演では，OGU1 遺伝子同定に端を発した，TRP チャネル細胞内輸送に関する最新データをご紹介し，新しい TRP 制御メカニズムの存在について議論した。

（12）中等度および高度低酸素，高酸素，高二酸化炭素に対する換気応答における TRPA1 チャネルの意義

岡田泰昌，武田湖太郎，Mieczyslaw Pokorski
（独立行政法人国立病院機構村山医療センター 臨床研究センター）

TRPA1 チャネルは，低酸素あるいは高酸素環境を感知するセンサーである可能性が指摘されている（Takahashi et al. Nat Chem Biol 2011）。そこで本研究では，吸入気酸素濃度変化に対する換気応答における TRPA1 チャネルの役割を明らかにすることを目的とした。

計 10 匹のマウス（オス C57BL/6, 平均 18.1 週齢，体重 27.4g）を用いた。呼吸に伴うチェンバー内の微小な圧変化から 1 呼吸毎の換気パラメーターを計測しうる whole body plethysmography 法により一回換気量, 呼吸数, 分時換気量を無麻酔，非拘束下で測定した。コントロールとしての空気呼吸下と比較し，中等度低酸素（13% O_2 in N_2），高度低酸素（7% O_2 in N_2），高酸素（100% O_2），高二酸化炭素（5% CO_2 in O_2）をそれぞれ 2 分間吸入させた際の換気応答を計測した。このようにして行った各ガスに対する換気応答を，TRPA1 チャネルの特異的阻害剤である HC-030031 の腹腔内への投与前（ただし vehicle として 0.53 mL·kg^{-1} の DMSO を投与後），および投与後（投与総量 50 mg·kg^{-1} および 250 mg·kg^{-1} 投与後）で計測した。

HC-030031 投与前には，空気呼吸下と比較し，中等度低酸素，高度低酸素，高二酸化炭素吸入により換気量は有意に増加したが，高酸素吸入によっては換気量に変化を認めなかった。HC-030031 投与は，用量依存的に中等度低酸素に対する換気応答を減弱させたが，高度低酸素に対する換気応答減弱効果はわずかであり，また，高二酸化炭素に対する換気応答には影響を与えなかった。

TRPA1 チャネルは，13%程度の中等度低酸素に対する換気応答において必須の役割を果たしているが，7%程度の高度低酸素に対する換気応答での役割は比較的小である。

（13）炎症性腸疾患モデル動物の内臓痛覚過敏状態における TRPM8 チャネルの機能

松本健次郎[1]，細谷拓司[2]，田嶋公人[2]，天ヶ瀬紀久子[1]，加藤伸一[1]，堀江俊治[2]
（[1]京都薬科大学薬物治療学分野，[2]城西国際大学薬学部薬理学）

冷感受性 TRPM8 チャネルは，メントールやイシリンなどによって活性化される。イシリンの連続投与により，炎症性腸疾患の進行が抑制されることが示唆されており，炎症性腸疾患の病態と TRPM8 チャネルの関与が注目されている。炎症性腸疾患の主症状である腹痛（内臓痛）は患者の QOL を著しく低下させている。これまでに炎症性腸疾患の内臓痛における TRPV1 や TRPA1 チャネルの関与が報告されている。本研究ではマウス大腸における TRPM8 の局在と DSS 誘起炎症性腸疾患モデルにおける内臓痛覚過敏への関与について検討を行った。マウス大腸部位の遠位結腸，横行結腸，近位結腸において TRPM8 発現神経の局在を免疫組織化学的に検討したところ，粘膜，粘膜下層，筋層の神経上に TRPM8 の免疫反応性が観察された。大腸各部位における TRPM8 免疫活性は遠位結腸において最も広く観察された。DSS 誘起炎症性腸疾患モデルでは TRPM8 発現神経数が正常時と比べ増加した。２重染色による検討から TRPM8 は内在性と外来性の知覚神経上に発現していることが示された。

続いて TRPM8 作用薬 WS-12 を注腸することによって誘発される，内臓痛様の症状を正常動物とモデル動物で比較したところ，モデル動物において内臓痛様行動が増加することが明らかとなった。WS-12 による内臓痛様の行動は TRPM8 遮断薬 AMTB によって正常時レベルまで改善した。したがって TRPM8 チャネルは炎症性腸疾患の内臓痛に関与していることが示唆された。

（14）TRPC3 チャネルによる心臓線維化の分子メカニズム

北島直幸，冨田（沼賀）拓郎，西村明幸，西田基宏
（岡崎統合バイオサイエンスセンター 心循環シグナル研究部門）

高血圧や虚血などのストレスが心臓にかかった際に生じる間質組織のコラーゲン蓄積（線維化）は，心臓の柔軟性や頑健性を低下させ，心不全を引き起こす原因となる。心臓リモデリングは細胞外の生理活性物質や機械的圧負荷によって誘発される Ca^{2+}流入を介して活性化されることが示唆されている。我々はこれまでに TRPC3/6 チャネルが心臓リモデリングを制御する分子であることを明らかにし，TRPC3 選択的阻害剤（Pyrazole-3）が大動脈狭窄による圧負荷誘発性の心肥大のみならず，間質の線維化や心機能不全も有意に抑制することを見出した。そこで本研究では，TRPC3 欠損マウスを用いて，圧負荷誘発性の心不全における TRPC3 チャネルの役割解析を行った．TRPC3 欠損マウスでは圧負荷による心肥大は抑制されず，間質の線維化および心機能低下が強く改善された。線維化は主に低分子量 G タンパク質 RhoA によって仲介され，心臓への圧負荷により誘発される RhoA 活性化が TRPC3 阻害により抑制されることを明らかにした。一方, ラット新生児心筋細胞に static mechanical stretch を行うことで TRPC3 依存的な Rho 活性化が観察され，cyclic mechanical stretch では TRPC3 活性化が観察されなかった。以上の結果は，TRPC3 が static mechanical stretch を特異的に感知することで，Rho 依存的な心臓線維化を誘導することを強く示唆している。

（15）口腔粘膜における TRPV3 チャネルを介した創傷治癒制御

合島怜央奈 [1]，王　冰 [1]，高尾知佳 [1]，三原　弘 [2]，加塩麻紀子 [2]，大崎康吉 [1]，
張　旌旗 [3]，水野敦子 [4]，鈴木　誠 [4]，富永真琴 [2]，城戸瑞穂 [1]，
（[1] 九州大学大学院歯学研究院分子口腔解剖学分野，
[2] 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門，
[3] 九州大学大学院歯学研究院口腔常態制御学講座分子口腔解剖学分野，
[4] 自治医科大学医学部薬理学講座分子薬理学部門）

口腔内は，身体の他の部位に比べ幅広い温度に曝される機会が多く，また体表面の皮膚よりも高い温度で維持されている。私たちは口腔粘膜上皮に発現している温度感受性 TRP（transient receptor potential）チャネルファミリーが口腔における多様な刺激を受容し，上皮の維持や防御に積極的に関わっていると考え解析を進めている。

マウス口腔粘膜上皮細胞が温度への感受性を示すこと，その温度感受性は TRPV3 および TRPV4 によることを野生型，TRPV3 遺伝子欠失マウスおよび TRPV4 遺伝子欠失マウスから急性単離した細胞におけるカルシウムイメージングおよび電気生理学的手法により見出した。皮膚角化細胞と口腔上皮細胞の初代培養における TRPV3 の発現を比較したところ皮膚よりも口腔で高かった。そこで，口腔に抜歯創を形成し，その治癒過程を比較したところ，野生型に比べ TRPV3 遺伝子欠失マウスでは抜歯創の治癒が遅延していた。また TRPV4 遺伝子欠失マ

ウスでは治癒の遅延は認められなかった。よって，創傷の治癒に TRPV3 が関与している事が示唆された。一般に感じられる皮膚よりも口腔における創治癒の速さには，口腔における温度環境および TRPV3 の活性化が関与している事が考えられた。

（16）Activation of TRPA1 channel by antibacterial agent Triclosan induces VEGF secretion in human prostate cancer stromal cells

Sandra Derouiche，Pascal Mariot，Marine Warnier，Gabriel Bidaux，
Eric Vancauwenberghe，Pierre Gosset，Brigitte Mauroy，Jean-Louis Bonnal，
Christian Slomianny，Philippe Delcourt，Gilbert Lepage，Natalia Prevarskaya
（Université Lille I Sciences et Technologies）

Accruing evidence indicates that exposure to environmental compounds may adversely impact human health, and promote carcinogenesis. Triclosan (TCS) is an antimicrobial agent widely used as a preservative in personal care products. TCS has been shown to act as an endocrine disruptor in hormone-dependent tissues such as prostate and breast. In this study, we demonstrated a new molecular mechanism by which TCS stimulates the secretion by human prostate cancer stromal cells of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), a factor known to promote tumour growth. This mechanism involves an increase in intracellular calcium levels due to the direct activation of a membrane ion channel. Using calcium imaging and electrophysiology techniques, we showed for the first time that environmentally relevant concentrations of TCS activate a cation channel of the TRP family, TRPA1 (Transient Receptor Potential Ankirin 1), in primary cultured human prostate cancer stromal cells. The TCS-induced TRPA1 activation increased basal calcium in stromal cells and stimulated the secretion of VEGF and epithelial cells proliferation. Interestingly, immunofluorescence labeling performed on formalin-fixed paraffin-embedded prostate tissues showed an exclusive expression of the TRPA1 channel in prostate cancer stromal cells. Our data demonstrate an impact of the environmental factor on the tumor's microenvironmental interactions, by activating a tumor stroma-specific TRPA1 ion channel.

（17）抗悪性腫瘍薬による肺炎症の TRPM2 チャネルを介した増悪

米澤　龍[1]，石井正和[1]，戸田雄大[2]，森　泰生[3]，清水俊一[1]，
（[1]昭和大学薬学部生理・病態学，[2]横浜薬科大学薬理学，
[3]京都大学大学院工学研究科合成生物化学）

TRPM2 は酸化ストレスにより活性化される Ca^{2+}透過性チャネルであり，炎症性細胞に発現が認められている。我々は，これまでに TRPM2 活性化が様々な炎症性疾患の増悪に関わっていることを明らかにしてきた。一方，近年 LPS による肺炎モデルでは，TRPM2 の関与が認められないことが報告されている。これらのことから，炎症が惹起される機構により TRPM2 の関与が異なっている可能性があるが，詳細は全く明らかでない。ブレオマイシン（BLM）は，濃度依存的に肺傷害を引き起こすことが知られている抗悪性腫瘍薬であり，LPS とは異なる機構で肺炎症を引き起こす。そこで，本研究では炎症反応における TRPM2 の役割を明らかにすることを目的とし，BLM 及び LPS 誘発肺炎を比較検討した。実験には，WT 及び TRPM2 KO マウスを用いた。マウスに BLM または LPS を投与後の肺胞における炎症性細胞数及びサイトカイン量の変化を測定した。その結果，KO マウスでは WT マウスと比較し BLM 投与後の炎症性細胞の浸潤やサイトカイン量の抑制を認めた。一方，LPS 投与後の

炎症細胞の浸潤及びサイトカインの産生は WT と KO マウスで差を認めなかった。以上より，BLM による肺炎過程では TRPM2 がサイトカインの産生や炎症性細胞の浸潤を促進することにより肺炎症を増悪させるが，一方 LPS による肺炎では関与のないことが明らかとなった。TRPM2 は細胞傷害により惹起される炎症の進展に関与している可能性が示された。

（18）透過型電子顕微鏡を用いた TRP イオンチャネルの立体構造解析

三尾和弘 [1]，マミテリ ナシルハシ [1]，小椋俊彦 [1]，丸山雄介 [1]，
守屋俊夫 [1]，清中茂樹 [1]，森　泰生 [2]，佐藤主税 [1]，
([1] 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門，
[2] 京都大学大学院工学研究科合成生物化学)

温度感受や酸化ストレス・浸透圧・味覚等の多様な刺激に対するセンサーとして働く TRP チャネルは，6 回膜貫通サブユニットがホモあるいはヘテロ 4 量体で機能する。分子種ごとの機能の相違やマルチモーダル活性化機構を理解するためには, 分子の構造理解が不可欠である。しかし, 500kDa もの高分子量膜タンパク質であるため解析が難しく，現在に至るまで全体の結晶構造は得られていない。

我々は動物細胞培養系で発現させた TRP チャネルを高純度で精製し，大量の電子顕微鏡画像データから統計学的計算で元の 3 次元構造を導き出す，「単粒子解析法」の技術開発とそれを用いた構造解析を行ってきた。その中には細胞内カルシウム濃度に応答する TRPC3，酸化ストレスに応答する TRPM2, アリルイソチオシアネートやプロスタグランジン J2，分子状酸素などを感知する TRPA1 が含まれる。共通する基本構造は持つものの，得られた立体構造からはそれぞれの TRP チャネルの機能に応じた特徴が見出された。

また電子顕微鏡解析は実画像をベースにした解析であり，複合体全体の可視化が可能という，他の構造解析技術には無いアドバンテージが存在する。我々はその利点を活用したラベリング技術の開発も進めており，各サブユニットの特定やチャネルへのリガンド結合の可視化，チャネル本体の構造変化の解析等への応用を目指している。解析の高分解能化への取り組みも併せて報告する。

（19）TRPC6 による膜電位調節が骨髄間質細胞のストア依存性 Ca^{2+}流入と細胞周期進行を制御する

市川　純，井上隆司（福岡大学医学部生理学教室）

骨髄間質細胞(bone marrow stromal cell, BMSC)は骨芽細胞や脂肪細胞，軟骨細胞のみならず神経や血管および心筋へと分化可能な体性幹細胞を含む。その増殖および分化の制御機構を知ることは再生医学の重要なテーマの 1 つである。本研究では，非興奮性細胞の重要な Ca^{2+}動員経路である TRPC および STIM/Orai 分子が BMSC の細胞周期進行に果たす役割について検討した。ラットより単離し一次培養した BMSC を各細胞周期に同調させて mRNA およびタンパク発現量を調べると，S 期において顕著な TRPC1 と STIM/Orai の発現増加，及び TRPC6 の発現減少が観察された。これとは反対に G_1 期において TRPC6 発現量は増加していた。Ca^{2+}イメージング法で細胞内 Ca^{2+}動態を精査するとストア依存性 Ca^{2+}流入 (SOCE)が S 期において増大し, G_1 期において減少していることがわかった。更に膜電位について検討した結果，S 期では BMSC の静止電位が最も深く G_1 期では最も浅いことがわかり, 静止電位と TRPC6 発現量の相関性が示唆された。また RNAi 法により TRPC6 の発現抑制を行うと静止電位が過分極側へ傾き，且つ SOCE が増大することが明らかとなった。細胞外を過剰 K^+(あるいは Na^+-free

液)で灌流し膜を脱分極(過分極)させると SOCE が減少(増大)し，且つ異なる各細胞周期間の差異が消失した。これらの結果より，S 期において TRPC6 の発現が減少することにより膜電位が過分極側へ傾き，Ca^{2+}の駆動電圧が増えることで SOCE が増大し細胞周期進行に影響を及ぼす可能性が示唆された。

（20）骨格筋機能低下に対する温熱刺激を用いた予防策の実用化に向けた研究

大平宇志（宇宙航空研究開発機構 宇宙医学生物学研究室）

宇宙滞在に伴い，骨格筋（特に抗重力筋）に廃用性の機能低下が誘発される。現在，この予防策として運動処方が用いられている。しかし，宇宙飛行士は 1 日約 2 時間，週に 6 日の頻度でトレーニングを行っているにもかかわらず，十分な効果が得られていないという報告も存在する。そこで我々は，運動処方に替わる，または運動処方と組み合わせることで相乗効果が期待される手法として“温熱刺激”に着目し，その有効性を検証する実験を行った。温熱刺激による筋の肥大促進および萎縮抑制効果について同一個体を用いて評価するため，右後肢の坐骨神経のみ切除したラットの後肢全体を恒温槽に張ったお湯に 30 分間浸けた。温熱刺激は吸入麻酔下で行い，刺激中のラットの身体にはビニール袋を纏わせ，お湯との直接接触を避けた。本条件での温熱刺激を 2 日に 1 回の頻度で行い，2 週間後に筋の湿重量および水分含有率，筋線維横断面積を測定した結果，筋肥大が促進されると同時に筋萎縮も抑制されていることを確認することができた。また，筋萎縮の抑制効果を得るための温度閾値の存在も確認できた。以上の結果から，特定の TRP チャネルが筋肥大の促進および筋萎縮の抑制に関与している可能性が示唆された。

15. 痛みと痛覚情動連関の神経機構

2014 年 12 月 10 日－12 月 11 日

代表・世話人：池田　弘（福井大学大学院工学研究科 知能システム工学専攻）

所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門）

（１）一次感覚神経における TRPV1-ANO1 相互作用による疼痛メカニズム

高山靖規（岡崎統合バイオサイエンスセンター　細胞生理研究部門)

（２）成体一次感覚ニューロンに発現する TRPV2 の機械痛覚における役割

片野坂公明（中部大学 生命健康科学部）

（３）口腔内外における切開処置後の痛覚過敏にたいするＴＲＰＶ１とＴＲＰＡ１の役割

浦田健太郎（日本大学 歯学部 補綴学第一講座）

（４）線維筋痛症モデルを用いた病態機構の解明

田口　徹（名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野Ⅱ）

（５）末梢血流低下と不快な異常感覚

倉石　泰（富山大学大学院 医学薬学研究部 応用薬理学研究室）

（６）触覚センサーとして機能する Merkel 触盤の細胞分子機構

池田　亮（東京慈恵会医科大学 整形外科学講座）

（７）インターロイキン(IL)27 欠損による疼痛行動の変化（ノックアウトマウスの解析）

石川亜佐子（佐賀大学 医学部 麻酔・蘇生学講座）

（８）遅発性筋痛を生じる伸張性収縮パラメータとその機械的因子

林　功栄（名古屋大学環境医学研究所 神経系分野Ⅱ）

（９）慢性疼痛発症に関る大脳皮質一次体性感覚野（S1）の役割

石川達也（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門）

(10) 慢性的な痛み病態を理解するための網羅的なマルチレイヤー解析の試み

成田　年（星薬科大学 薬学部 薬理学教室）

(11) リゾフォスファチジン酸誘導性の痒(かゆ)みにおける TRPA1 と TRPV1 を介したシグナリング

橘髙裕貴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門）

(12) 成熟マウス脊髄後角 glycine 性シナプス伝達に対する glycine transporter 阻害の影響

田辺光男（北里大学 薬学部 薬理学教室）

(13) ラット舌癌モデルにおけるエンドセリンの初期癌性疼痛抑制機構

古川明彦（日本大学 歯学部 口腔外科学講座）

(14) パルブアルブミンニューロンによる低閾値機械受容線維終末の制御

八坂敏一（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座）

(15) 光刺激に対するラット三叉神経脊髄路核尾側亜核／上部頚髄移行部における眼侵害受容ニューロンの応答

片桐綾乃（日本大学 歯学部 生理学講座）

(16) ミクログリア BK チャネルを介したモルヒネ鎮痛耐性及び痛覚過敏メカニズム解明

林　良憲（九州大学 歯学研究院 口腔機能分子科学）

(17) 口腔顔面痛の客観的な診断と治療法を目指した臨床研究

岡安一郎（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯科麻酔学分野）

【参加者名】

半場道子（福島県立医科大学），太田大樹（帝京大学），舟久保恵美（慶應義塾大学），岩田幸一・篠田雅路・片桐綾乃・久保亜抄子・浦田健太郎・古川明彦（日本大学），成田　年（星薬科大学），池田　亮（東京慈恵会医科大学），田辺光男（北里大学），上村藍太郎（新潟大学），倉石　泰・歌　大介・酒井晶帆・高槻雄太・城　麻衣・小林奈央（富山大学），尾崎紀之・堀紀代美・平賀慎一郎・松原崇紀・中川達貴（金沢大学），田口　徹・林　功栄・小林正明（名古屋大学），粂　和彦・大澤匡弘・宮本啓補・北尾優花・石倉啓一郎・丸岡純也・中川寛之・飯尾彩加・加藤慎也（名古屋市立大学），水村和枝・片野坂公明・村瀬詩織（中部大学），中川貴之・今井哲司（京都大学医学部附属病院），宗可奈子（京都大学），青柳誠司（関西大学），大久保正道・小林希実子（兵庫医科大学），津田　誠・林　良憲（九州大学），八坂敏一・石川亜佐子（佐賀大学），岡安一郎・山下裕美（長崎大学），倉本恵梨子（鹿児島大学），山野井遊（㈱池田模範堂），今井利安（日本ケミファ㈱），田畑考統・竹内啓太（旭化成ファーマ㈱），福田隆文（キリン㈱），中　誠則（田辺三菱製薬㈱），佐々木淳（田辺三菱製薬㈱），丸山格（キッセイ薬品工業），渡邉修造（ラクオリア創薬），古江秀昌・秋元　望・石川達也・山田彬博・中尾弥起（生理学研究所），富永真琴・鈴木喜郎・齋藤　茂・内田邦敏・高山靖規・橘高裕貴・Derouiche Sandra・田淵紗和子・孫　武平・西本れい・Erkin Kurganov・ Rupali Gupta・藤山雄一（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

当初の提案者である福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻の池田弘准教授が急逝されたために，所内対応者の生理学研究所細胞生理研究部門富永真琴が急遽研究会のオーガナイズを行い，２日間にわたって最新の研究成果発表と活発な討論が行われた。１７題の最新研究成果が発表された。うち２題は特別講演であった。

特別講演で，池田亮は触覚センサーとして機能するメルケル細胞のピエゾチャネルの役割を概説した。また，成田年は慢性痛に関与する分子を明らかにするために行っているゲノム解析，エピゲネティクス解析，トランスクリプトーム解析，メタボローム解析，プロテオーム解析等の結果を紹介した。一般演題では，高山はマウス感覚神経における TRPV1-ANO1 相互作用が新規の痛み増強メカニズムであることを報告した。片野坂は TRPV2 が感覚神経で機械刺激感知に関与することを報告した。浦田はラットを用いた実験で，機械痛覚過敏に口腔外は TRPV1, TRPA1 が，口腔内は TRPA1 が関与することを報告した。田口はレセルピン投与による線維筋痛症モデルを用いて末梢感覚神経レベルでは ASIC3 チャネルが，脊髄レベルではミクログリアが重要な役割を果たしていることを明らかにした。倉石は「しびれ」に酸化ストレスと TRPA1 チャネルの活性化が関わっていると報告した。石川亜佐子はインターロイキン 27 が痛み感覚に関わっていることをノックアウトマウスの行動解析から明らかにした。林功栄は遅発性筋痛を生じる伸張性収縮パラメータとその機械的因子の解析を行った。石川達也は慢性疼痛発症における大脳皮質一次体性感覚野の役割，とくに興奮性神経細胞およびアストロサイトの活動亢進の関与を報告した。橘高はリソフォスファチジン酸誘導体が TRPV1, TRPA1 を活性化して痒みを引き起こすメカニズムを明らかにした。田辺はグリシントランスポータ阻害薬による鎮痛作用に関わるグリシン受容体活性化のシナプス機序を報告した。古川は舌がんの初期がん性疼痛の抑制にエンドセリン A 受容体またはμオピオイド受容体を介したシグナルが関わることを報告した。八坂はパラアルブミン神経による低閾値機械受容線維終末の制御機構を報告した。片桐は光刺激に対するラット三叉神経脊髄路尾側亜核／上部頚髄移行部における眼侵害受容神経の応答メカニズムを報告した。林良憲はミクログリア BK チャネルを介したモルヒネ鎮痛耐性と痛覚過敏メカニズムの解析結果を報告した。岡安は口腔顔面痛の臨床研究について報告した。

（1）一次感覚神経における TRPV1-ANO1 相互作用による疼痛メカニズム

高山靖規 [1]，歌　大介 [2]，古江秀昌 [3,4]，富永真琴 [1,4]
（[1] 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門，
[2] 富山大学 応用薬理学教室，
[3] 生理学研究所 神経シグナル研究部門，
[4] 総合研究大学院大学 生理科学専攻）

カルシウム透過性の高い TRPV1 チャネルは一次感覚神経において侵害性刺激センサーとして働く。近年，Ca^{2+} 活性化 Cl^- チャネルであるアノクタミン１（ANO1）が侵害性熱刺激によって活性化し，灼熱痛に関与することが報告された。また，後根神経節（DRG）ニューロンにおいて ANO1 発現ニューロンの多くが TRPV1 も発現している。このことから，我々は TRPV1 の活性化を介して細胞内に流入するカルシウムによって ANO1 が活性化することで発火頻度が上昇し，痛みが増強するのではないかと考えた。そこで我々は TRPV1 と ANO1 が機能的・物理的に相互作用することを HEK293T 細胞におけるホールセルパッチクランプ法による電流解析と免疫沈降法により明らかにした。また，DRG ニューロンにおいてカプサイシン誘発電流が ANO1 阻害剤で減弱することを発見した。加えて，脊髄膠様質細胞においてカプサイシン灌流投与によって誘起される興奮性シナプス後電流の発生頻度の増加は ANO1 阻害により半減した。さらに，ANO1 阻害剤を投与することでマウスにおいて見られるカプサイシン誘発の痛み関連行動が抑制された。これらの結果は，これまで TRPV1 によるとされてきた疼痛に ANO1 活性が寄与している可能性を示しており，TRPV1 だけでなく TRPV1-ANO1 相互作用の抑制が鎮痛効果をもたらすことを示唆している。

（2）成体一次感覚ニューロンに発現する TRPV2 の機械痛覚における役割

片野坂公明 [1]，高津理美 [2]，水村和枝 [1]，成瀬恵治 [2]，片野坂友紀 [2]
（[1] 中部大学生命健康科学部，[2] 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科）

TRPV2 (transient receptor potential vanilloid 2)は，一次感覚ニューロンに発現する温度感受性イオンチャネルであり，熱痛覚に関与する可能性が示唆されていた。一方で，TRPV2 は伸展刺激でも活性化され，末梢神経系発生期における軸索伸張の促進に関与する(Shibasaki et al., 2010)。しかし，成長後の個体の感覚機能における役割は明らかにされていなかった。我々は，一次感覚ニューロンにおいて TRPV2 を欠損した組織特異的遺伝子欠損マウス(TRPV2cKO) を作成し，成体（adult）の一次感覚ニューロンにおける TRPV2 の役割について検討した。ホットプレートテストおよびプランターテストによる熱性疼痛の評価では，TRPV2cKO と野生型で有意な差は観察されなかった。一方，TRPV2cKO マウスの機械痛覚行動を野生型と比較すると，足底へのフォン・フライ・ヘア・テストで逃避行動の有意な低下が，また尾部でのランダル-セリット・テストでは逃避閾値の上昇が観察された。さらに，TRPV2cKO マウスから培養した脊髄後根神経節（DRG）ニューロンでは，伸展刺激に応答する細胞が有意に減少しており，特に高閾値の伸展に応じる細胞の割合が大きく低下していた。以上の結果から，成体一次感覚ニューロンの TRPV2 は，熱痛覚よりもむしろ機械痛覚に関与することが示唆された。

（3）口腔内外における切開処置後の痛覚過敏にたいするＴＲＰＶ１とＴＲＰＡ１の役割

浦田健太郎[1,2]，篠田雅路[2]，本田訓也[2]，岩田幸一[2]
（[1]日本大学歯学部 歯科補綴学第Ⅰ講座，[2]日本大学歯学部 生理学講座）

組織損傷後の口腔内外の疼痛感受性の違いに対するTRPV1およびTRPA1の役割を検討した。S.D系雄性ラットの頬粘膜または口髭部に切開を加え，浅麻酔下にて，口腔内外に熱，冷および機械刺激を与え，頭部引っ込め反射閾値(HWT)を測定した。また頬粘膜あるいは口髭部に神経逆行性色素を投与し切開後3日目，頬粘膜あるいは口髭部を支配する三叉神経節(TG)細胞における TRPV１およびTRPA1の発現を解析した。さらに，TRPV1アンタゴニスト(SB366791)または TRPA1 アンタゴニスト(HC030031)を切開部へ投与し，頬粘膜および口髭部のHWT の変化を測定した。切開後 3 日目，頬粘膜および口髭部に熱，冷および機械痛覚過敏が発症し，TRPV1 および TRPA1 陽性 TG 細胞数が有意に増加していた。HC030031 により，口腔内外ともに冷，機械痛覚過敏が抑制された。一方，SB366791 により口腔内外とも熱痛覚過敏は抑制されたが，機械痛覚過敏では口腔外において抑制されたのに対して口腔内においては抑制されなかった。以上より組織損傷後に発症する熱痛覚過敏において，口腔外はTRPV1およびTRPA1，口腔内はTRPV1が関与し，冷痛覚過敏において，口腔外口腔内ともにTRPA1 が関与し，機械痛覚過敏において，口腔外はTRPV1およびTRPA1，口腔内はTRPA1が関与していることが示唆された。

（4）線維筋痛症モデルを用いた病態機構の解明

田口　徹[1]，片野坂公明[1,2]，安井正佐也[3]，林　功栄[1]，山下麻衣[1]，
若月康次[1]，木山博資[3]，山中章弘[1]，水村和枝[4]
（[1]名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野Ⅱ，[2]中部大学 生命健康科学部 生命医科学科，
[3]名古屋大学 大学院医学系研究科 機能組織学分野，[4]中部大学 生命健康科学部 理学療法学科）

線維筋痛症 (fibromyalgia, FM)は全身性の疼痛を主症状とする慢性難治性疾患である。近年，FM の動物モデルがいくつか開発され，有効薬物の探索を目的とした行動薬理実験が行われているが，FM の神経機構は未解明である。本研究ではレセルピン投与によるFMモデルを用い，FM の末梢神経・脊髄機構を調べ，以下の所見を得た。１）単一神経記録による電気生理学実験では，筋C線維侵害受容器の機械反応が有意に増大していた。２）皮膚でも機械感受性C線維侵害受容器の機械反応は増大したが，その割合が有意に低下しており，末梢侵害受容器レベルでは機械感受性の逆説的な変化が観察された。３）後根神経節における疼痛関連イオンチャネル(ASIC1-3, TRPA1, TRPV1, TRPV2, TRPV4, P_2X_3, Piezo1-2, Nav1.7-1.9)の発現を定量したところ，ASIC3 のみ有意な発現増大がみられた。４）ASIC3 の選択的阻害薬(APETx2)の皮下投与は，モデル動物の皮膚痛覚過敏行動を有意に抑制した。５）脊髄後角におけるIba1陽性ミクログリアの細胞直径を指標に，ミクログリアの動態を定量したところ，痛覚受容に重要である第I-II層において，顕著な活性化がみられた。６）活性化ミクログリアの阻害剤であるミノサイクリンを投与すると，機械痛覚過敏の発症が有意に減弱した。以上より，末梢神経レベルではASIC3チャネルの発現増大を介したC線維侵害受容器の機械感受性亢進が，また，脊髄レベルではミクログリアの活性化が本モデルの痛覚過敏に関与すると考えられる。これらの変化は線維筋痛症の病態機構にも関わると推測される。

（5）末梢血流低下と不快な異常感覚

倉石　泰，城　麻衣，酒井晶帆，溝口静香，佐々木淳，安東嗣修
（富山大学 大学院医学薬学研究部 応用薬理学研究室）

Oxaliplatin などの抗がん薬による感覚神経障害は，ビリビリ・ジンジン，チクチクあるいは「しびれ」と表現される不快な異常感覚 dysesthesia を伴う。しかし，その発症機序は不明であり確立された治療法はない。ところで，tingling と pricking は正座を解いた時の異常感覚に類似する。そこで，虚血再灌流および oxaliplatin による不快異常感覚の動物実験による評価を試み，その作用機序を調べた。マウスの足首を結紮・虚血後血流を再開させると処置側後足を舐める行動が約 10 分間観察された。この反応は新生仔期の capsaicin 処置で抑制されなかったので無髄 C 線維の関与は少ないと考えられる。また，oxaliplatin 投与により後肢足底の皮膚血流低下が最大となった 10 日目に，血流増加の目的で後肢を 42°C に加温すると後足を舐める行動が観察された。虚血再灌流および oxaliplatin により低下した血流増加による舐め行動が共に抗酸化薬 N-acetyl-L-cysteine と TRPA1 チャネル遮断薬 HC-030031 により抑制された。以上の結果から，末梢血流が低下した状態での局所血流の急激な増加は不快異常感覚の原因となり，酸化ストレスと TRPA1 チャネル活性化の関与が示唆される。

（6）触覚センサーとして機能する Merkel 触盤の細胞分子機構

池田　亮（東京慈恵会医科大学 整形外科学講座）

触覚は，日常生活を営む上で必要不可欠な感覚である。字を書く，歩く，食べる，椅子にすわる，誰かをハグするなど，絶えず私たちは何かに触れることで情報を獲得している。外界からの機械刺激を的確に中枢神経に伝達し物体の形や質感を認識するだけでなく，意識下であれば，触れるあるいは触られることで，不快や快感といった洗練された感覚を生み出すことも可能である。また，糖尿病，慢性炎症，外傷などの病的状態においては，神経が障害されることによって，通常であれば痛むはずのないやさしい触刺激が，耐え難い激痛となる触覚性疼痛（アロディニア）を生じる。その成立機序は複雑で，主病変に引き続いて起こる中枢神経内の可塑的変化が原因であると考えられているが，新たに構築された中枢神経ネットワークに情報伝達する触覚センサーの機能は明らかでなかった。

Merkel 触盤は皮膚に存在する機械受容器のひとつで，Merkel 細胞と Aβ 求心性神経終末から構成される。二点識別など，特に繊細な触覚識別を行う受容器として広く認知されてきたが，機械刺激電気シグナル変換の分子機構は明らかでなかった。特に Merkel 細胞自身が，目の視細胞，耳の有毛細胞，鼻の嗅細胞や舌の味蕾細胞と同様に皮膚の感覚細胞として機能しうるかどうかは長いあいだ議論されてきた。これを明らかにするため，Merkel 細胞を標的とした In situ パッチクランプ法を確立し，その電気生理学的特性を検討した。その結果，Merkel 細胞は機械刺激を的確に電気変換し，活動電位に転換する興奮性細胞であることがわかった。さらに Merkel 細胞の機械刺激活性化電流は，後根神経節ニューロンにも発現する Piezo2 チャネルの開口によって生じていることがわかった。今回はメカノトランスデューサーとして働く Merkel 細胞の不思議な機能を中心に論じたい。

（7）インターロイキン(IL)27 欠損による疼痛行動の変化（ノックアウトマウスの解析）

石川亜佐子[1]，笹栗智子[1]，平川奈緒美[1]，八坂敏一[2]，村田祐造[2]，原　博満[3]，吉田裕樹[4]
（[1]佐賀大学医学部 麻酔・蘇生学講座，[2]佐賀大学医学部 生体構造機能学講座，
[3]鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 免疫学分野，[4]佐賀大学医学部 分子生命科学講座）

近年，痛みに関するサイトカインなど免疫分子の報告が増加している。IL-1β，IL-6，TNF-α，IL-17 など炎症性サイトカインの発痛作用の報告が多いが，抗炎症作用をもつ IL-10 が痛みを抑制する，という報告もある。IL-27 は，T 細胞の分化を介して IL-17 の産生を抑制し，IL-10 の産生を促進することが知られている。我々は，IL-27 が痛みを抑制する作用を持つと仮定しノックアウトマウスの行動実験を行った。IL-27 は，2 つのたんぱく質 p28 と EBI3 から構成される。また，その受容体は特異的受容体 WSX-1 と IL-6 受容体等と共通の gp130 から構成されている。実験は EBI3 と p28，及び WSX-1 のコンベンショナルな KO マウスで疼痛行動解析を行った。その結果，熱刺激，機械刺激，化学刺激のいずれにおいても，疼痛関連行動の増強を示した。リコンビナント IL-27 腹腔投与を行うと，EBI3 KO マウスでは，疼痛関連行動が正常化されたが，受容体のない WSX-1KO マウスでは正常化されなかった。従って，この作用は IL-27 受容体を介していること，KO マウスの表現型は発達過程の不可逆的変化ではないことが示唆された。以上の結果から，IL-27 は，生理的条件下において痛みの感度を調節している可能性が示唆された。

（8）遅発性筋痛を生じる伸張性収縮パラメータとその機械的因子

林　功栄[1]，阿部真博[2]，山中章弘[1]，水村和枝[3]，田口　徹[1]
（[1]名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野Ⅱ，[2]ビタカイン製薬㈱ 学術部，
[3]中部大学 生命健康科学部 理学療法学科）

遅発性筋痛は身体活動を制限するため，持続的な運動が必要な肥満や糖尿病患者，また，アスリートにとって問題となり，遅発性筋痛を生じない適切な運動処方が求められる。これまでに伸張性収縮 (Lengthening contraction, LC) が遅発性筋痛を生じやすいことはわかっているが，LC のどのパラメータが発症に関わるか，また，どの機械的因子が痛覚過敏の強度を規定するかは明らかでなく，本研究ではこれらの点を調べた。イソフルラン吸入麻酔下でラット総腓骨神経に電気刺激を与え，下腿伸筋群に異なる伸張範囲(Range: 30, 60, 90, 120°)と角速度(Speed: 50, 100, 200, 400°/s)の LC を負荷した。LC 負荷前後の機械逃避閾値を測定し，遅発性筋痛の程度を定量した。遅発性筋痛は LC の Range と Speed に依存してその強度を増した。Speed を固定した条件では LC 中に発生するトルクの積分値は Range 依存的に増加し，遅発性筋痛の強度と有意な正の相関を示した。逆に，Range を固定した条件では LC 中に発生するトルクの上昇率は Speed 依存的に増加し，遅発性筋痛の強度と有意な正の相関を示した。以上より，LC の Range と Speed は遅発性筋痛発症に関わるパラメータであり，LC 中に発生するトルクの積分値と上昇率がその発症強度を規定する機械的因子であることがわかった。

（9）慢性疼痛発症に関る大脳皮質一次体性感覚野（S1）の役割

石川達也[1]，石橋　仁[3]，鍋倉淳一[1,2]
（[1]生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門，
[2]総合研究大学院大学 生理科学専攻，
[3]北里大学・医療衛生学部）

慢性疼痛発症には中枢神経系の可塑的変化が関与する事が示唆されている。これまで我々は，患肢と対側の大脳皮質 S1 領域に着目し，慢性疼痛モデルマウスにおいて，(1)患肢と対側の S1 における 2/3 層錐体細胞の神経活動亢進及び，(2)5 層錐体細胞の樹状突起スパインの形成・消失の亢進が認められる事を報告した。一方で fMRI を用いた研究では患肢と同側の S1(以下，ipsi-S1) においても脳機能活動亢進を反映している報告がある。しかし，単一細胞レベルでの神経細胞やグリア細胞の活動は不明である。

そこで，本研究では坐骨神経を結紮したモデルマウスを用い，ipsi-S1 における神経細胞やアストロサイトの活動を in vivo 2 光子 Ca^{2+}imaging 法により観察した。

その結果，ipsi-S1 における 1 層抑制性神経細胞とアストロサイトの活動亢進が確認され，ipsi-S1 で興奮性神経細胞は抑制性神経細胞による過剰抑制を受けている事が示唆された。この抑制活動亢進が痛覚閾値の低下に関連するか検証するため，$GABA_A$ 受容体のアンタゴニストである gabazine を投与したところ，5 層錐体細胞の樹状突起スパインの形成・消失（神経回路再編亢進を示唆する現象）が増加し，患肢と対側の後肢（健常肢）で痛覚閾値の低下が認められた。さらに，この閾値の低下はアストロサイトの活性化を薬理学的に抑制すると生じなかった。以上の結果から，興奮性神経細胞及びアストロサイトの活動亢進により S1 で神経回路再編が誘発される事が疼痛を惹起する基盤となり得ると示唆された。

（10）慢性的な痛み病態を理解するための網羅的なマルチレイヤー解析の試み

成田　年（星薬科大学 薬学部 薬理学教室）

慢性疼痛は適切な初期治療ストラテジーを見出せない場合において，難治性の疾患となる。時間経過を経た慢性疼痛の発現機構を，単一因子による制御で説明することは困難である。持続する激しい痛みは抑うつ状態や不安障害を引き起こし，Quality of Life の低下の原因となるが，その発現メカニズムは未だ不明である。こうした背景から，慢性疼痛発現メカニズム解析は，難治化が予想される岐路に焦点をあてた解析と並行して，難治化した状態におけるマルチプルな基質・機能解析を行い可塑的な変動を生み出す現象や素因を解析していく手立てが重要なアプローチとなる。

そこで本講演では，最新の研究成果を基に，ゲノム，エピジェネティクス，トランスクリプトーム，miRNA，プロテオソーム，メタボロームなど，多階層にわたる分子グローバルネットワークを多角的な方面からアプローチすることによる痛みの統合的理解の重要性について紹介する。こうした理解は，慢性疼痛の本質を理解するための大きな手がかりを見つけ出すきっかけとなるだけでなく，根本的・早期治療方針を提示していく上で非常に重要な意味を持つと思われる。

（11）リゾフォスファチジン酸誘導性の痒（かゆ）みにおける TRPA1 と TRPV1 を介したシグナリング

橘高裕貴[1]，内田邦敏[1,2]，福田直美[1]，齋藤くれあ[1]，富永真琴[1,2]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理研究部門，
[2]総合研究大学院大学・生命科学研究科・生理科学専攻）

痒みとは皮膚に対する掻破欲求を惹起させる不快な感覚である。リゾフォスファチジン酸(LPA) は胆汁うっ滞時における痒み物質の 1 つであることが示唆されているが，作用機序の詳細は未だ不明である。本研究では末梢感覚における LPA の生理的作用および作用機序について詳細に検討した。

はじめに, マウスに cheek injection model を適用し LPA の発痛作用および起痒作用について検討したところ, LPA は痒み関連行動を惹起した。次に，マウスより単離した後根神経節細胞 (DRG ニューロン) を用いたカルシウムイメージングによって LPA の作用を検討した。LPA は DRG ニューロンに細胞外カルシウムに依存的な細胞内カルシウム濃度の上昇をもたらした。したがって DRG に発現する, 痒みシグナルへの関与が報告されているカルシウム透過性カチオンチャネルである transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) および vanilloid 1 (TRPV1) について検討を行い，その関与を示した。また，LPA の惹起する痒み関連行動は TRPA1 および TRPV1 ノックアウトマウスで減少した。これら in vitro/vivo の検討より，LPA は TRPA1 および TRPV1 の活性化を介して DRG ニューロンを活性化し，痒み関連行動を惹起することが示唆された。また，LPA の DRG ニューロンに対する作用メカニズムとして LPA 受容体を介した作用および TRP チャネルに対する直接作用の両者の関与が示唆された。LPA を介した詳細な細胞内シグナリングについて検討する予定である。

（12）成熟マウス脊髄後角 glycine 性シナプス伝達に対する glycine transporter 阻害の影響

田辺光男[1]，尾山実砂[1]（[1]北里大学 薬学部 薬理学教室）

Glycine transporter には GlyT1 と GlyT2 のアイソフォームがあり，どちらの阻害薬も鎮痛作用を示す。本研究では，成熟マウスから作製した脊髄スライス標本の膠様質細胞からホールセル電流を記録し，薬理学的に単離した glycine 性シナプス伝達すなわち誘発性の IPSCs (0.1 Hz で誘発)及び mIPSCs に対する GlyT 阻害薬の影響を検討した。GlyT1 阻害薬 NFPS は IPSCs の振幅を変えずにその減衰を有意に増加させた。同様に，GlyT2 阻害薬 ALX-1393 は IPSCs の振幅に影響せず，その減衰を有意に増加させた。NFPS は mIPSCs の頻度と減衰過程に影響せずに振幅を抑制する傾向を示した。一方，ALX-1393 は NFPS 同様に mIPSCs の減衰過程に影響せず振幅を抑制する傾向を示したが，頻度を有意に増加させた。さらに，GlyT 阻害が glycine 性神経伝達維持に及ぼす影響を検討した。IPSCs 誘発中に刺激を 3 分間 10 Hz に一時的に変更し再び 0.1 Hz に戻すと，ALX-1393 存在下では IPSCs は大幅に抑制された状態が持続したが, NFPS 存在下では影響を受けなかった。これらより，GlyT 阻害薬による鎮痛作用に関わる glycine 受容体活性化のシナプス機序，さらに長期阻害の影響は両アイソフォームで異なることが示唆された。

（13）ラット舌癌モデルにおけるエンドセリンの初期癌性疼痛抑制機構

古川明彦 [1]，篠田雅路 [2]，本田訓也 [2]，岩田幸一 [2]
（[1] 日本大学歯学部 口腔外科学教室，[2] 日本大学歯学部 生理学教室）

舌の癌性疼痛は癌の進展とともに増悪する。しかし，舌癌発症早期においてはほとんど疼痛がないことが臨床的に知られているが，そのメカニズムについてはほとんどわかっていない。今回われわれは，初期舌癌の末梢性疼痛抑制に対するエンドセリンの役割について検討した。ラット由来扁平上皮癌細胞 (SCC) を舌に接種した舌癌モデルラットを作成し，腫瘍の組織学的変化を観察した。浅麻酔下にて癌接種部に機械および熱刺激を与え，経時的に逃避反射閾値を計測した。さらに，SCC 接種群において舌へ endothelin A (ET-A) receptor antagonist または m-opioid receptor antagonist の持続的投与を行い，逃避反射閾値の変化を解析した。SCC 接種後経時的に腫瘍の増大を認めたが，舌への熱刺激に対する逃避反射閾値に変化はみられなかった。SCC 接種後 8 日目において舌への機械刺激に対する逃避反射閾値に変化はみられなかったが，10 日目以降逃避反射閾値が有意に低下した。一方, SCC 接種後 6 日目において, ET-A receptor antagonist または m-opioid receptor antagonist の持続的投与により，逃避反射閾値が有意に低下した。以上の結果より，舌癌の初期癌性疼痛の抑制には ET-A receptor または m-opioid receptor を介したシグナルの関与が示唆された。

（14）パルブアルブミンニューロンによる低閾値機械受容線維終末の制御

八坂敏一 [1]，Kieran Boyle[2]，SA Shehab[3]，Dugald T Scott[2]，John S Riddell[2]，
藤田亜美 [1]，熊本栄一 [1]，Robert J Callister[4]，Brett A Graham[4]，David I Hughes[2]
（[1] 佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座，
[2] グラスゴー大学脊髄研究グループ，
[3]UAE 大学 医学＆健康科学 解剖学，
[4] ニューキャッスル大学 生体医学＆薬理学）

軸策軸策間シナプスは触覚を伝える求心性線維終末や，ある種の侵害受容線維終末で観察されている。しかしながら，これらの抑制性シナプス前終末の由来は未だに明らかになっていない。最近，マウスの脊髄後角 II 層 inner 部（IIi）に入力する有髄線維終末を抑制するシナプス前終末の多くにパルブアルブミン（parvalbumin, PV）が発現していることが報告された。さらに，これらの前終末は IIi 層と III 層にある PV 発現細胞に由来することが示唆された。本研究では，PV 陽性シナプス前終末の由来を確定することを目的とした。IIi 層と III 層にある PV 発現細胞をターゲットとして，パッチクランプ法による電気生理学的記録を行うと同時に細胞内染色を行い，その後免疫組織化学法を用いて解析した。全ての PV 陽性細胞から出る軸策のほとんどの終末は有髄求心性線維終末の抑制性シナプス前終末であった。我々の発見は IIi 層と III 層にある PV 発現細胞が有髄求心性線維終末の抑制性シナプス前終末であることを確定した。これらの細胞はアロディニア発症に重要な役割を持つかもしれない。

（15）光刺激に対するラット三叉神経脊髄路核尾側亜核／上部頚髄移行部における眼侵害受容ニューロンの応答

片桐綾乃，岩田幸一（日本大学 歯学部 生理学講座）

光過敏の増悪は，神経関連性眼病変や慢性頭痛の症状としてしばしば見られる。これまでに我々は，眼の光刺激に応答する三叉神経脊髄路核尾側亜核／上部頚髄移行部（LS Vc/C1 neuron）の興奮性変化および流涙反射について報告した。しかし，疼痛および自律神経系のコントロールに関与する Posterior Hypothalamus (PH)からの疼痛制御機構には不明な点が多く残されている。そこで，GABAa receptor antagonist である bicuculline methiodide (BMI)の PH 投与に対する LS Vc/C1 neuron の光応答および流涙反射を，また，PH で産生・分泌されるオレキシン（Ox）の LS Vc/C1 neuron に対する変調機構を検討した。

LS Vc/C1 neuron の興奮性は PH への BMI 投与により有意に抑制され，経時的に回復した。さらに受容野の縮小，流涙量の減少が認められた。また，Ox を Vc/C1 に投与すると LS Vc/C1 neuron の興奮性は抑制され，この抑制は Ox1 receptor を介する効果であることが判明した。以上の結果より，PH は Ox1 receptor を介し，LS Vc/C1 neuron の興奮性と流涙反射の制御に関与することが考えられる。Acknowledgements: Professor David A. Bereiter (Univ. of Minnesota.)

（16）ミクログリア BK チャネルを介したモルヒネ鎮痛耐性及び痛覚過敏メカニズム解明

林　良憲，中西　博（九州大学歯学研究院口腔機能分子科学）

BK チャネルは細胞内 Ca^{2+}濃度あるいは膜電位によって駆動される K チャネルである。神経系に広く分布し，細胞の興奮性や伝達物質分泌に関わる。これらはガン細胞や免疫細胞等の非興奮性細胞にも発現しているが，その役割は不明である。最近，私たちはミクログリアの BK チャネル活性化が神経障害性疼痛の発症に関与することを明らかにした（Hayashi et al., J Neurosci 2011）。オピオイド誘発性疼痛過敏あるいは鎮痛耐性においてもミクログリアの関与が示唆されている事から，本研究では疼痛過敏，鎮痛耐性におけるミクログリア BK チャネル関与の可能性について検討した。モルヒネの連投によりミクログリアで BK チャネル活性化が認められ，BK チャネル阻害剤の髄腔内投与により鎮痛耐性および痛覚過敏を有意に抑制した。モルヒネで刺激したミクログリアの髄腔内投与により鎮痛耐性および痛覚過敏の形成が促進された。一方，BK チャネル欠損ミクログリアの投与群では鎮痛耐性および痛覚過敏の形成促進は認められなかった。μ 受容体を介して産生されるアラキドン酸及びその代謝産物が BK チャネル活性化に関与し，活性化した BK チャネルはミクログリア $P2X_4$受容体の細胞膜表面への輸送に関与している事が明らかとなった。以上の結果より，ミクログリア BK チャネルが痛覚過敏ならびに鎮痛耐性の形成に重要な役割を担う事が明らかとなった。

（17）口腔顔面痛の客観的な診断と治療法を目指した臨床研究

岡安一郎，鮎瀬卓郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科麻酔学分野）

口腔顔面痛の診断と治療のための客観的評価法として，運動機能，特に，顎反射（開口反射）を利用した研究が過去において精力的になされてきたが，未だ臨床応用に至っていないのが現状である。そのため最近では，運動機能に代わり，感覚機能による評価が重要視されてきている。われわれはこれまで，定量的感覚

検査を用いて，主に顎筋の感覚分析を行ってきた。

本研究では，顔面皮膚および舌感覚を，手指におけるそれと同時に分析し，両者間で比較検討を行った。

被験者は健常成人 16 名（男性 8 名，女性 8 名，平均年齢 35.7 歳）とした。知覚テスターを用いて，顔面皮膚，舌，掌，手背，指の 5 か所における触覚閾値，痛覚閾値，ならびに，痛覚閾値と触覚閾値の差（痛覚閾値-触覚閾値）を測定し，部位間で比較した。

触覚閾値，痛覚閾値のいずれも，部位間で有意差が認められた。ともに，舌で最小値を示し，顔面皮膚，指，掌の順に続き，手背で最大値を示した。口腔顔面と手の感覚閾値を比較した場合，口腔顔面のほうが有意に低い閾値を示すが，手の中でも指先に関しては，顔面皮膚と有意差はみられなかった。痛覚閾値-触覚閾値については，部位間での有意差は認められなかった。

今後，口腔顔面痛患者と健常者間および治療の前後におけるデータを比較することで，口腔顔面痛の診断基準ならびに治療効果の客観的評価の確立が期待できる。

16. 温熱生理研究会

2014 年 8 月 28 日－8 月 29 日

代表・世話人：芝﨑　学（奈良女子大学研究院 生活環境科学系 応用生理学研究室）

所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理）

（１）熱中症とヒトの末梢性体温調節機構

芝﨑　学（奈良女子大学研究院 生活環境科学系 応用生理学研究室)

（２）温度感受性 TRPV4 イオンチャネルの皮膚バリア機能における役割とその応用

大場　愛（ポーラ化成工業㈱ 開発研究部スキンケア開発室）

（３）分子を手掛かりに発熱・体温調節機構にせまる

松村　潔（大阪工業大学 工学部生命工学科 生体情報研究室）

（４）温度感受性 TRP チャネルの化粧品開発への応用

藤田郁尚（㈱マンダム 技術開発センター　）

（５）環境ストレスから生命を守る体温調節システム

中村和弘（京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット）

（６）スポーツ用クーリング素材・保温素材の開発

堀川直幹（帝人フロンティア㈱ 技術開発部）

（７）褐色脂肪組織：マウスからヒトへ

斉藤昌之（北海道大学）

（８）高体温による運動能力の低下と暑さ対策戦略

長谷川　博・鄭 シンエン・鬼塚純玲（広島大学総合科学研究科 環境運動生理学研究室）

（９）スポーツ医科学講座の温熱生理学研究の 10 年

上條義一郎（信州大学大学院医学系研究科 疾患予防医科学系専攻 スポーツ医科学講座）

(10) 皮膚末梢神経の種類と脳応答

乾　幸二（生理学研究所 統合生理研究系 感覚運動調節研究部門）

(11) 発汗活動の中枢性および末梢性機序と皮膚交感神経活動

西村直記（愛知医科大学 医学部生理学講座）

(12) 応用科学としての温熱生理学

過去の研究をもとに，あと１０年何を目指していくか？

永島　計（早稲田大学人間科学学術院 体温・体液研究室）

(13) 温熱科学的ものづくり

岡本智子（㈱ワコール 人間科学研究所 開発二課）

(14) 商品開発に求められる生理反応情報について

石丸園子（東洋紡㈱ 総合研究所コーポレート研究所 快適性工学センター）

(15) ゴールデンハムスターにおける冬眠制御機構の解明

―これまでの中枢体温調節機構に関する基礎研究と今後のモデル動物としての応用を目指して―

渡邊正知，門田麻由子，田村　豊（福山大学 薬学部 薬理学研究室）

(16) 温度感受性 TRP チャネル研究の進展

富永真琴（生理学研究所 細胞器官研究系 細胞生理部門）

【参加者名】

斉藤昌之（北海道大学），佐藤暢夫（東京女子医科大学），永島　計，松田真由美・丸井朱里・綱川みずき・相澤優香・小幡千紗・桑原哲慈・脇　直也・原田大義（早稲田大学），上條義一郎（信州大学），亀山大輔（静岡県立大学），横山大輝（静岡県立大学），西村直記・佐藤麻紀・犬飼洋子（愛知医科大学），梅田真郷・中村和弘・中村佳子（京都大学），松村　潔（大阪工業大学），芝崎　学・中田大貴・安川涼子（奈良女子大学），田村　豊・門田麻由子・渡邊正知（福山大学），長谷川博（広島大学），松崎健太郎（島根大学），鈴木倫保・藤山雄一（山口大学），田上恭子・小幡洋輔・天野恭子（花王㈱），大場　愛（ポーラ化成工業㈱），結城　稔（日産自動車㈱），石丸園子（東洋紡㈱），堀川直幹（帝人フロンティア㈱），白石篤史・島名孝次（ミズノ㈱），藤田郁尚（㈱マンダム），岡本智子・仙波孝之（㈱ワコール），梶原　悠（参天製薬㈱），日野和夫（㈱大塚製薬工場），北村整一（㈱東洋新薬），式井愼一（パナソニック㈱），乾　幸二・若林正浩・高木一代・岡本士毅・郷田直一（生理学研究所），富永真琴・鈴木喜郎・内田邦敏・加塩麻紀子・齋藤　茂・周　一鳴・高山靖規・橘高裕貴・Sun Wuping・Rupali Gupta・Erkin Kurganov・渡辺成樹・西本れい（岡崎統合バイオ）

【概要】

H26 年度の温熱生理研究会（代表奈良女子大学・芝﨑（以下敬称略））には温熱に関連する産学の研究者が参集し，２日間にわたって活発な討論が行われた。

本研究会は，永島と富永が発起人となり H17 年に始まり，今回で 10 回目を迎えたことから，それぞれのグループや研究者のこの 10 年間の研究概要や手法を紹介し，今後の展開を語る総括的な会とした。産学連携を推進するために，本研究会のコアメンバーである大学・研究所に所属する研究者だけでなく，民間企業の研究者も多く招聘した（大学・研究所からは 11 グループ，民間からは５グループが講演した）。

分子レベルでは，松村がプロスタグランジンと発熱について概説するとともに，体温調節の歴史を紹介し，本研究会の発起人である富永が TRP チャネル研究の進展を概説するとともに，本研究会の経緯について紹介した。大場と藤田によって企業の視点から TRP チャネルの研究と商品開発について紹介された。

神経系では，中村がラットを用いた温度知覚から効果器までの中枢神経回路メカニズムについて概説し，乾がヒトにおける知覚神経刺激に対する脳の反応を，上條がヒトの交感神経活動と暑熱時の神経調節メカニズムを，西村が発汗の中枢性および末梢性機序について概説した。また，斉藤が寒冷刺激に対する褐色脂肪組織に関してラットからヒトまでを概説し，渡邊らが冬眠メカニズムとモデル動物の応用に関して概説した。

ホールボディレベルでは，本研究会の発起人である永島が温熱生理学の重要性と，動物とヒトを対象とした研究について概説し，芝﨑が高体温時の末梢性体温調節および循環調節を，長谷川らが高体温による運動能力への影響とその対策について概説した。さらに，堀川，岡本，石丸によって繊維系の企業から温熱をキーワードとした商品開発や研究について紹介された。

分子レベルからホールボディまでを研究の対象とした幅広い分野の産学の研究者によって，多角的な視点から闊達な議論が行われ，共同研究および開発のきっかけとなる場となった。

（1）熱中症とヒトの末梢性体温調節機構

芝﨑　学
（奈良女子大学研究院 生活環境科学系 応用生理学研究室）

本研究室では，ヒトを対象とし，運動時や暑熱環境曝露時の生体機能調節に関する研究に取り組んでいる。運動時の発汗調節をはじめ，同じく熱放散の一つである能動的な皮膚血管拡張に着目し，相互作用や末梢メカニズムを解明するために，皮内マイクロダイアリシスを研究手法として利用している。この手法を応用することで運

動時の発汗反応に貢献する運動起因性要因の影響を明らかにした。皮膚血管は非常にユニークな神経調節によって制御されており，2000 年代には皮内マイクロダイアリシスを利用した研究によって，その複雑なメカニズムを解明するために複数の研究グループが取り組んだ。我々のグループでは筋血流で提唱されていた血管収縮反応性の減弱に注目し，高体温時など皮膚血管が拡張すると皮膚血管収縮反応性が低下することを明らかにした。このことは，熱失神を誘発する要因の一つと考えられる。熱失神には他にも様々な要因が関与しており，これまでは皮膚血管反応からのアプローチであったが，現在はエコーを利用して，心機能や脳血流調節にも注目して研究を進めている。また，本研究会に参加するようになり，温度感覚や中枢経路に興味を持ち，温度感覚や脳機能評価にも取り組み始めた。現在は熱中症に関係する認知機能低下に着目し，事象関連電位から高体温時の認知機能低下を示すなど，高体温による中枢へ影響を検討している。今後は，末梢と中枢の機能から体温調節の研究を発展させていきたいと考えている。

（2）温度感受性 TRPV4 イオンチャネルの皮膚バリア機能における役割とその応用

大場　愛
（ポーラ化成工業㈱ 開発研究部 スキンケア開発室）

温かい温度（＞30℃）を感受して活性化する TRPV4 チャネルが皮膚でも発現している事実から，生理的皮膚温における TRPV4 由来の定常的な Ca^{2+}流入（シグナル）が何か基本的な皮膚生理と関わっていると考え，検討した結果，表皮細胞間接着構造であるアドヘレンスジャンクション・タイトジャンクションの形成・成熟に TRPV4 が関与し，皮膚の基本的なはたらきのひとつであるバリア機能に重要な役割を果たしていることを見出した。

我々の検討結果より，皮膚温の低下は TRPV4 の活性化，ひいては皮膚のバリア機能にも影響を及ぼすことが明らかとなり，これまで冬に皮膚がカサカサするのは空気の乾燥が原因と考えられていたが，低温も原因のひとつであることが示唆された。皮膚温は冬に限らず夏の冷房下でも，また心理的ストレスや睡眠不足によっても低下する可能性があるため，たとえ皮膚温が低くても皮膚バリアを正常に機能させる目的で，TRPV4 を活性化させる化粧品素材を探索した。その結果，オオバナサルスベリの抽出液に有効性を見出した。この素材を配合したスキンケア化粧品を使用することで，皮膚温が低い状態でも TRPV4 が活性化され，バリア機能に弊害を及ぼさないことが期待される。

（3）分子を手掛かりに発熱・体温調節機構にせまる

松村　潔（大阪工業大学工学部生命工学科　生体情報研究室）

体温調節の神経経路

1980 年，私は中山昭雄先生のもとで体温調節の中枢機構の研究を開始した。当時，この分野の研究者の目標は，視床下部温度感受性ニューロンを中心とした体温調節の神経回路を明らかにすることであった。これは現在も道半ばである。現在，私の研究室では，皮膚メントール刺激で発生した信号が，どのような神経経路で体温調節反応を引き起こすのかを検討している。また予期に反してメントール・冷受容体 TRPM8 欠損マウスは低温環境下で体温を維持できる。TRPM8 以外に低い環境温を検知するしくみがあることが示唆されるが，その実体は不明で，興味深い課題である。

発熱の分子機構

プロスタグランジン E2（PGE2）が発熱に必須の脳内メディエータであることは 1970 年代に明らかとなって

いた。しかし，その産生機構と作用様式は長い間不明であった。1990 年，私は渡辺ら（当時大阪バイオ研）の協力を得て，脳内 PGE2 結合部位（受容体）の画像化に成功した。

一方，発熱時の PGE2 産生機構は依然として不明であった。曹と私は LPS 投与により発熱を起こしたラットの脳血管内皮で COX-2 が誘導されることを報告した。そして LPS による発熱に COX-2 が必須であることを示した。

現在，脳出血性発熱の分子機構について研究を進めている。感染・炎症による発熱とは異なり，脳出血による発熱では COX-1 が重要な役割を果たしているらしい。

（4）温度感受性 TRP チャネルの化粧品開発への応用

藤田郁尚（㈱マンダム 技術開発センター）

近年，温度感受性 TRP（Transient receptor potential）チャネルの研究の進展によって温度感覚の分子メカニズムが明らかになりつつある。私たちは岡崎統合バイオサイエンスセンターの富永真琴先生と共同で，温度感受性 TRP チャネルを利用した皮膚感覚の制御方法を開発し，化粧品へ応用してきた。冷温受容体として報告された TRPA1 は広範囲の刺激物質に反応する侵害刺激受容体であることが明らかになっている。我々は，化粧品における感覚刺激を起こすことが知られている成分である防腐剤のパラベン，ヘアカラー剤のアルカリ成分，または，保湿剤として用いられる多価アルコール類なども TRPA1 を活性化させることを明らかにしてきた。アルカリ成分による TRPA1 の活性化は細胞内のアルカリ化により起こり，この細胞内アルカリ化を起こしにくい成分として炭酸イオンを見出し，ヘアカラー剤の刺激緩和に用いている。また，不快な感覚刺激を取り除くために，TRPA1 活性抑制剤を植物由来成分よりスクリーニングし，ユーカリプトールが TRPA1 活性抑制効果を有することを見出した。この成分は，ヒトで TRPA1 を活性化することが知られているメントールを配合する清涼化粧品の刺激緩和に応用している。一方で，清涼化粧品の更なる発展のために，冷感の感じ方が環境温度によって変化するメカニズムについても研究を進めた。その結果，TRPM8 の活性化温度閾値が環境温度に依存すること，また，その変化には PIP_2 が関与することを見出した。この結果は，環境温度による温度感覚の変化には末梢神経も関与することを示唆するものである。

（5）環境ストレスから生命を守る体温調節システム

中村和弘（京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット）

生体は様々な環境ストレスから生命を守る仕組みを備えており，体温調節システムはその一つである。体温調節システムは言うまでもなく，環境温度ストレスによる深部体温の変動を最小限にするために様々な体温調節反応を惹起する。しかしそれだけではなく，感染ストレスを受けたときには発熱を惹起することで体内に侵入した病原体の増殖を抑制し，心理ストレスを受けたときには体温を上昇させることで身体パフォーマンスを上げ，ストレス状況を切り抜ける。また，飢餓ストレスを受けたときには体温を下げることで消費エネルギーを切り詰めて生存を図る。

私達の研究室では，体温調節システムの中枢部である脳内の神経回路メカニズムを研究してきた。こうした研究からわかることは，体温調節システムだと考えているこの神経回路は体温だけでなく，恒常性維持全体を統合的に制御する重要な仕組みであるということである。例えば，体温調節システムを人為的に操作すると，体温調節反応だけでなく循環反応や呼吸反応も惹起される。これは当然のことであり，システムは，生体がおかれた環境の状況を感知し，恒常性（つまり生命）を維持する上

で最も適切な反応を惹起するようにあらゆる末梢効果器を統御するのである。体温調節反応はその一部である。そして，その統御の最上位の司令塔が視索前野であると考えられる。今後，視索前野の局所神経機構の研究から恒常性維持システムの核心部を解明することで，生命の本質に迫りたい。

（6）スポーツ用クーリング素材・保温素材の開発

堀川直幹（帝人フロンティア㈱ 技術開発部）

環境的にも身体的にも極限の状況で使用されるスポーツウェア用素材には，さまざまな高い機能性が求められる。たとえば，暑熱環境下では，運動中の体温上昇を防ぐため，身体からの放熱を促進する機能であったり，日射による身体への熱流入を抑制するような機能，また多量発汗による不快感を抑制する機能が挙げられる。一方，寒冷環境下では，体温の低下を防ぐ保温機能や，さらには積極的に身体を暖めるような発熱機能が要求されてきた。このように，極めて高い機能性が求められるスポーツウェア市場において，合繊各社は常に競って最新の機能素材を開発し，市場に投入してきた。そして，現在ではクールビズ・ウォームビズの認知度の高まりに伴い，ファッションのカジュアル化も進み，これら高機能繊維はスポーツ用途に限定されず，幅広い用途で活用されるようになった。本発表では，当社が近年開発，上市したスポーツ用素材の中でも，クーリング素材，および保温素材について紹介を行った。

（7）褐色脂肪組織：マウスからヒトへ

斉藤昌之（北海道大学）

褐色脂肪組織（以下褐色脂肪と略す）が体温やエネルギー消費・体脂肪の調節に寄与することは，実験動物で1990年頃までにほぼ確定していたが，最近改めて，褐色脂肪が注目されており学術論文数も急増している。その契機の一つは，褐色脂肪細胞が骨格筋細胞と共通する前駆細胞に由来しており，白色脂肪細胞やbeigeあるはbrite細胞（寒冷刺激などによって白色脂肪組織中に出現する褐色様脂肪細胞）とは発生学的に異なることが報告されたことである(Kajimura S & Saito M: Annu Rev Physiol 2014; 76:225-249)。更にほぼ同時期に，ヒト褐色脂肪が新生児期のみならず成人でもある程度存在することが明らかになり，臨床医学，特に肥満や関連代謝異常との関係で多大な関心を集めて研究が一気に加速してきた。

私共は，1984年に視床下部腹内側核破壊ラットでの褐色脂肪異常に関する報告をして以来，ラットやマウス，イヌでの in vivo，並びに分離褐色脂肪細胞での in vitro 研究を行ってきたが，2007年にFDG-PET/CTによってヒト褐色脂肪を検出・評価できることを見出し，現在までに267名の健常者についてのデータを蓄積してきた。その結果，マウスなどと同様にヒト成人でも，褐色脂肪が熱産生活性を通じて体温やエネルギー消費の調節に関与しており，その機能障害が肥満の一因となることが確定した(Yoneshiro T & Saito M: Ann Med 2015; 47:133-141)。これらの流れを中心に，糖代謝やインスリン感受性への褐色脂肪の関与についての最新知見も併せて紹介する。

（8）高体温による運動能力の低下と暑さ対策戦略

長谷川 博，鄭 シンエン，鬼塚純玲
（広島大学大学院総合科学研究科 環境運動生理学研究室）

運動時の高体温が引き起こす疲労や運動能力の低下に関する研究は，この 20 年間で飛躍した。特に近年の研究によると，運動時の高体温は末梢だけでなく脳温，脳血流，脳活動，認知機能，神経筋機能，神経伝達物質，ペース配分，モチベーションなどの中枢神経系の機能に直接的な影響を与えていること，特に高体温が惹起する中枢性疲労機構には視床下部のカテコールアミンなどの神経生化学的要因が重要な働きを担っていることが明らかになってきた。さらに最近の我々の研究によると，カテコールアミンのうち特にドーパミンが運動出力や運動継続のモチベーション，さらには体温調節系にも影響を及ぼすことがカフェイン及びドーパミン受容体拮抗薬を用いた研究により明らかになりつつある。

また近年は，多くの主要な大会が暑熱環境下や高所環境，試合が短期間に集中するような過密スケジュールなど，過酷な環境下で行われている。2020 年東京オリンピック・パラリンピックも例外ではなく，開催時期や環境条件，選手たちの生体負担度を考慮すると，オリンピック史上最も過酷な大会となることが予想されており，暑さ対策を含むさまざまな戦略は不可欠である。また，暑熱環境下での身体活動時には熱ストレスの増大に伴い，熱中症などの危険率が高くなるため，熱中症の予防策を講ずることは極めて重要である。

本発表では，高体温に伴う運動能力の低下の中枢性の要因と暑さ対策やリカバリー戦略について考えたい。

（9）スポーツ医科学講座の温熱生理学研究の 10 年

上條義一郎
（信州大学大学院医学系研究科・疾患予防医科学系専攻・スポーツ医科学講座）

当教室のミッションは，近年直面する地球温暖化，超高齢社会の社会問題に際し，その打開策を社会に提供することである。特に熱中症は年々増加し，2012 年に 1700 人以上の死亡者を出すに至り，その約 80%が 65 歳以上の高齢者であった。ヒトはその優れた二足歩行による運動能と体温調節能によって地球上に広く分布してきたが，食糧・医療事情の改善，アメニティの充実は，これらの能力を劣化させる一方，地球温暖化を促進させるという悪循環に陥っている。そこで，ヒトが生来持っている遺伝形質を再活用して，この悪循環を断ち切るという立場で研究を行ってきた。その研究テーマの一つが「運動時の熱中症予防」である。

ヒトが運動する時，心拍出量は安静時の約 5 倍まで増加し，その多くは活動筋へ分配される。暑熱環境下では熱放散のために皮膚血流量も増加し活動筋血流と競合するが，大量の発汗による脱水や皮膚血管への血液貯留は心臓への静脈還流量を低下させ，心充満圧の低下，一回心拍出量の減少を引き起こし，これが心拍数増加によって補償されなければ，心拍出量の低下，血圧低下を引き起こし，失神してしまう。それを防ぐため，生体は，心臓への静脈還流量が低下して心房の脱伸展おきると，圧反射性に過剰な皮膚血管拡張を抑制し，体温調節を犠牲にしてでも血圧を維持する。従って，運動時の熱中症を防止するためには“いかに血液量を維持・増加させるか”が鍵となる。

そこで我々はこの 10 年間で，1)脱水から速やかに体液の回復を図るために食塩とブドウ糖を含む糖電解質飲料の摂取が有効であること，2)若者や高齢者において，効率よく暑熱馴化のために一定期間の持久性トレーニング直後の糖質・タンパク質摂取が血液量を増加させると皮膚血管拡張反応が亢進すること，3)このような心房を起点とする圧反射性皮膚血流調節は皮膚交感神経活動・心周期同期成分が関わることを明らかにしてきた。

以上の研究成果は，熱中症予防の有効な手段として，全国に広く普及しつつある。

（10）皮膚末梢神経の種類と脳応答

乾　幸二
（生理学研究所 感覚運動調節研究部門）

1960 年代後半から 1970 年代前半にかけて，痛みの特殊説を裏付ける知見が相次いで発見されました。例えば，1967 年の Burgess と Perl による侵害性皮膚 A-delta 線維の発見です。しかしながら，現在でも特殊説で痛みという体験を十分に説明できる大脳に至る伝導路は明らかにされていません。触覚や温度覚についても同様のことが言えます。侵害刺激の意識的認知とそれに伴う不快な内的体験を直接担う脳内部位やその発現機序はわかっていませんし，そもそも感覚入力の認知やそれに伴う情動変化のしくみは，どの感覚系でもわかっていません。私の発表では，様々な皮膚感覚受容器を刺激した際の脳応答について主に教室の研究を紹介します。残念ながら，それぞれの受容器興奮に特異的な脳活動は何一つ見つかっていません。

（11）発汗活動の中枢性および末梢性機序と皮膚交感神経活動

西村直記
（愛知医科大学 医学部生理学講座）

世界で初めて発汗の生理学を体系づけたのは久野寧教授である。久野の後継者である高木健太郎教授の薫陶を受けた小川徳雄（愛知医科大学名誉教授）は，愛知医科大学に着任後も一貫して発汗の生理学について取り組んできたが，その範囲は温熱生理学，環境生理学の分野にまで及んだ。中でも，発汗活動の中枢性と末梢性機序に関する研究は中心テーマの一つであり，発汗波頻度を発汗中枢活動の指標として，種々の外乱に対する動的特性の周波数解析を朝山正巳（現至学館大学大学院特任教授）と共に行った。また，小川は暑熱順化に伴う発汗機能の変化についても主要研究課題の一つとしており，松本孝朗（現中京大学教授）がチェンマイ大学と共同でこのテーマを発展させた。小川の後任である菅屋潤壹（愛知医科大学名誉教授）は，名古屋大学環境医学研究所の間野忠明（現岐阜医療科学大学学長）や岩瀬敏（現愛知医科大学教授）との共同研究として，マイクロニューログラフィーを用いて皮膚交感神経活動を記録し，発汗神経が能動性皮膚血管拡張を仲介する可能性についての研究や発汗発現部位の特異性についての研究を追求した。菅屋の指導を受けた西村は，暑熱順化や軸索反射性発汗に関する研究を行ってきたが，2000 年頃より高濃度炭酸泉への浸漬時にみられる皮膚血管拡張反応や温度感覚上昇の機序について，皮膚の感覚神経末端に発現している TRP チャネルが関与する可能性について検討している。本研究会では，これまで愛知医科大学で行われてきた研究内容を今後の展望と共に概説する。

（12）応用科学としての温熱生理学
過去の研究をもとに，あと１０年何を目指していくか？

永島　計
（早稲田大学人間科学学術院 体温・体液研究室）

私は単なる出来の悪い外科医であった。同じこと繰り返し経験を積むのがよしとされる外科医発想が未だ抜けない。技術を探り，飛躍しすぎる発想で新しいことを探索する生理学者の仕事は時に魅力的で，時にしんどい。[温度感覚]体温維持のための効果器の自律神経を介した調節機構の解析が詳細にされてきている。しかし，動物がこれらのメカニズムを強く用いるのは環境を十分に選択できない場合や運動時に限られている。我々の日常生活においては，環境の選択，探索が，主たる体温調節機構（行動性体温調節）である。では，我々の温度感覚（熱い，冷たい，暑い，寒い）はいかに行動性体温調節を開始させるのであろうか。今に至る研究の根源である。[熱中症]熱中症の原因は，無効な発汗，発汗の停止が大きいと考えられている。高浸透圧血症は増悪因子となる。研究は行動性体温調節の観点から熱中症の原因の探索を行った。[実験動物の知見から] 高浸透圧血症はラットやマウスにおいても自律性体温調節反応を低下させ，暑熱環境での体温上昇を来す。２つの動物種によって異なるが，暑熱環境で高浸透圧血症を人為的におこすと明らかな逃避行動の増加あるいは低下を生じる。[人の知見から] 高浸透圧血症は人において暑さ感覚を抑制する。一方，日常的に運動している人は，この影響を受けない。[最後に]暑さにつよく，かつ快適に生活するにはどうすればよいのだろうか？

（13）温熱科学的ものづくり

岡本智子（㈱ワコール人間科学研究所 開発二課）

人間科学研究所では自社で蓄積した人体データを活用して「かたちの研究」「動きの研究」「心地よさ（快・不快）の研究」「女性美の研究」「新製品の開発と製品評価研究」を行っている。今回は温熱・接触・加圧など人が受けるあらゆる刺激に対する反応の中でも「冬は暖かく，夏は涼しく」といった季節に対応した温熱的な心地よさを得るための人間の生理情報およびその情報をもとに開発した商品を紹介する。

人間の温熱生理特性を知るために，サーモ画像により皮膚表面温，ヨード澱粉法により発汗の状態を観察した。体幹の中でも放熱しやすい部位とそうでない部位，発汗しやすい部位とそうでない部位などの分布があるという実態を科学的に知ることで，季節別にどのような対処をすればよいかのヒントを見出すことができた。

背中中央や殿裂（お尻の割目）などの中心部は常に熱を保持する部位であると同時に放熱しやすい部位でもあるため，冬は寒さを感じやすく，夏は衣類で覆われると熱がこもって不快を感じやすい部位である。これらの部位に着目し開発した商品が，冬の「集中保温」，夏の「エアスルー」である。

（14）商品開発に求められる生理反応情報について

石丸園子（東洋紡㈱ 総合研究所）

快適性の主要因として，熱・水分特性，圧力特性，肌触りがある。快適性に優れる商品開発をするためには，人体－商品－環境の系で考えることが必要である。これは，特定の環境下で，商品の違いを人がどのように感じ

ているのか，かつ，どんな生理反応が生じるのかを正確に把握することが重要である，ということを意味する。刺激に対する生理反応のメカニズムを知ることができれば，その知見を製品設計・商品開発に活用することが可能となる。

本報告では，快適性に優れる商品開発事例を報告する，かつ，商品開発のために把握したい生理反応について述べる。

（1）熱・水分特性について

カーシートの温熱快適領域について検討した結果を報告する。

また，むれ感の小さい衣服・寝具についても紹介する。

（2）肌触りについて

べたつき感が小さく，しっとり感，さらさら感を感じる合成皮革の商品開発事例を紹介する。

（3）衣服圧（衣服着用時に衣服により人体法線方向にかかる圧力）について

不快に感じないレベルの衣服圧で，運動機能性の向上，補型性の向上を目指すため，人体各部位の加圧と感覚との関係を調査した結果を報告する。

（15）ゴールデンハムスターにおける冬眠制御機構の解明 – これまでの中枢体温調節機構に関する基礎研究と今後のモデル動物としての応用を目指して –

渡邊正知，門田麻由子，田村　豊（福山大学 薬学部 薬理学研究室）

冬眠は，厳しい生存環境を乗り切るための適応行動であり，200 種類以上の哺乳動物が有する普遍的な環境適応機構の一つとして考えることができる。

我々は，シリアンハムスター（*Mesocricetus auratus*；以下ハムスター）を用いて，中枢神経系を介した冬眠における体温調節機構の解明を試みている。ハムスターは，一か月以上の寒冷・暗期暴露により，環境温度付近（6℃）まで体温を低下させる（冬眠導入期）。数日間の非活動期(維持期)を経て，再び自力で正常体温まで覚醒する(覚醒期)。これまでに，冬眠導入期・維持期・覚醒期の体温調節は，それぞれ，A1 受容体を介したアデノシン系・μ1 受容体を介したオピオイド系・TRH-オレキシン系を介した中枢神経機構により制御されていることを明らかにした。さらに TRH-オレキシン系は，交感神経の活性化を介して褐色脂肪組織の熱産生を促進し，覚醒期の体温上昇を制御していることも見いだした。

覚醒期のハムスターは，わずか 3 時間程度で体温を 6℃ から 37℃ まで自力復温させる。このことは，低体温時にも一定レベルの神経活動が維持されていること，および急激な体温変化に対する神経細胞障害保護機構が備わっていることを示唆する。今後は，冬眠導入期・維持期・覚醒期の体温制御機構をさらに詳細に解明していくと同時に，冬眠ハムスターを虚血再灌流障害など様々な脳神経疾患の耐性モデル動物として用い，治療法・治療薬の開発に繋げていきたいと考えている。

（16）温度感受性 TRP チャネル研究の進展

富永真琴（生理学研究所 細胞器官研究系 細胞生理部門）

温度感受性 TRP（Transient receptor potential）チャネルの最初の分子は，1997 年にカプサイシンの受容体として遺伝子クローニングされた。それから 17 年，TRP イオンチャネルスーパーファミリーに属する 9 つ（TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, TRPM5, TRPM5, TRPA1）のチャネルが温度感受性をもつと考えられている。その活性化温度閾値は侵害性冷刺激域から侵害性高温域まで幅広く，温度感受性 TRP チャネルが温度感知の中心的分子であることは間違いない。TRPV1, TRPM8 等は感覚神経に発現して温度感知に関わっているが，興味

深いことに，体温近傍の温かい温度によって活性化する温度感受性 TRP チャネルも多い。それらはダイナミックな温度変化に暴露されることのない深部臓器にも発現しており，さまざまな生理機能に関わっていることが明らかになりつつある。こうした事実は，感覚神経のみならず多くの細胞が細胞外環境温度を感知ししながら，それに適応して生存していることを示唆する。また，進化の過程で生物は環境温度の変化に適応しながら生き延びてきたと考えることができ，温度感受性 TRP チャネルの発現や活性化温度閾値も大きく変化してきた。2013 年に熱受容体 TRPV1 の原子レベルでの構造が低温電子顕微鏡を用いた単粒子解析で明らかにされた。しかし，熱刺激がどのようにして TRPV1 チャネルを開講させているかは明らかではない。これまでの温度感受性 TRP チャネル研究を振り返りつつ，今後の進むべき方向を考えてみたい。

17. 細胞センサーの分子機構・相互関連・ネットワーク研究会

2014 年 12 月 4 日－12 月 5 日

代表・世話人：高橋信之（東京農業大学 応用生物科学部）

所内対応者：古江秀昌（生理学研究所 生体情報研究系）

（1）人工ヌクレアーゼによるゲノム改変動物の作製

藤井　渉（東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用動物科学専攻 応用遺伝学教室）

（2）細胞社会学を明らかにするシングルセルバイオロジー

渡辺　亮（京都大学 iPS 細胞研究所 初期化機構研究部門 山中研究室 ゲノム・エピゲノム解析コアファシリティ）

（3）概日時計の発生機構から細胞を考える

八木田和弘（京都府立医科大学大学院 医学研究科 統合生理学部門）

（4）細胞分化センサーとしての生物時計

梅村康浩（京都府立医科大学大学院 医学研究科 統合生理学部門）

（5）CUBIC 法を用いた脳の一日の可視化

幸長弘子（理化学研究所 生命システム研究センター 細胞デザインコア）

（6）春告げホルモン TSH における組織特異的翻訳後修飾の生理機能

池上啓介（近畿大学 医学部 解剖学教室）

（7）温度刺激によるマウスの活動抑制現象について TRP チャネルの欠損が及ぼす影響

太田　航（名古屋大学大学院 生命農学研究科 動物機能制御学研究分野）

（8）新世界ザルにおける TAS2R1 および TAS2R4 の苦味応答の種間差

筒井　圭（京都大学 霊長類研究所 遺伝子情報分野）

（9）発光検出系を用いた旨味受容体 T1R1/T1R3 のリガンド認識機構の解明

戸田安香（東京大学大学院 農学生命科学研究科 生物機能開発化学研究室）

（10）甘味受容体 T1R2/T1R3 の分子メカニズム

實松敬介（九州大学大学院 歯学研究院 口腔常態制御学講座 口腔機能解析学分野）

（11）味覚修飾物質の発見と基本味に対する作用メカニズム

丸山　豊（味の素㈱ イノベーション研究所 食品感覚受容研究グループ）

（12）肝臓免疫系細胞の自然免疫調節機構に対する核内受容体 LXR の役割

梅田（遠藤）香織（日本大学 医学部 生体機能医学系生化学分野）

（13）オキシステロールによる LXR 依存性および非依存性のマスト細胞活性化抑制機構の解析

布村　聡（日本大学 医学部 皮膚科学系 皮膚科学分野）

【参加者名】

高橋信之，岩槻　健（東京農業大学　応用生物科学部），藤井　渉（東京大学大学院　農学生命科学研究科　応用動物科学専攻　応用遺伝学教室），渡辺　亮（京都大学 iPS 細胞研究所 初期化機構研究部門 山中研究室 ゲノム・エピゲノム解析コアファシリティ），八木田和弘，梅村康浩，樽野陽幸（京都府立医科大学大学院 医学研究科），幸長弘子（理化学研究所 生命システム研究センター 細胞デザインコア），池上啓介（近畿大学 医学部 解剖学教室），太田　航（名古屋大学大学院 生命農学研究科 動物機能制御学研究分野），筒井　圭（京都大学 霊長類研究所 遺伝子情報分野），戸田安香（東京大学大学院 農学生命科学研究科 生物機能開発化学研究室），重村憲徳，實松敬介，吉田竜介（九州大学大学院 歯学研究院 口腔常態制御学講座 口腔機能解析学分野），丸山

豊（味の素㈱ イノベーション研究所 食品感覚受容研究グループ），梅田（遠藤）香織，宇野茂之（日本大学 医学部 生体機能医学系生化学分野），布村　聡（日本大学医学部 皮膚科学分野），柴崎貢志（群馬大学 医学部），今井啓雄（総合研究大学院大学 京都大学霊長類研究所分子生理研究部門遺伝子情報分野）,今村公紀, 早川卓志，西 栄美子（京都大学 霊長類研究所 分子生理研究部門遺伝子情報分野），北島龍之介（京都大学大学院 理学研究科 生物科学専攻遺伝子情報分野），久光　隆（国立循環器病研究センター），吉村　崇（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所），田中智洋（京都大学医学研究科 メディカルイノベーションセンター・TK プロジェクト），岡本士毅（生理学研究所 発達生理学研究系），内田邦敏，橘高裕貴（生理学研究所 細胞器官研究系）古江秀昌，秋元　望，池田あずさ，山田彬博（生理学研究所 生体情報研究系），佐藤幸治（OIB 生体制御シグナル），郷　康広（生理学研究所 新分野創成センター），笠井昌俊（生理学研究所 認知行動発達）

【概要】

生物は，様々な生体内外の物理的・化学的環境変化を敏感に察知し，ダイナミックに反応しながら生命を維持している。この分子メカニズムを理解するためには，まずこの生体反応の「起点」となる「センサー」の生理的機能の解明が不可欠である。近年，味覚や温度，痛みなどの五感センサーだけでなく，腸管上皮細胞に発現する味覚センサーなど異所性センサーや頭蓋骨を通した微弱な光刺激を受容する脳内光センサーなど，新たなセンサー研究の展開も甚だしい。しかし，異なるセンサー間の相互連関やセンサーの組織間ネットワーク，そしてこれらが生育環境や社会性が異なる微生物，植物，昆虫，動物などではどう機能変化しているかなど，より多角的な相互理解については未だ不明な点が多い。そこで本研究会では，古典的な五感センサーの研究分野のみならず，これまでセンサー研究が注目されていなかった分野を含め，参加を広く呼びかけ，最新の研究成果の発表とともに活発な討論および発信を行うことを目的とし開催された。

今年度の研究会では，人工ヌクレアーゼによるゲノム改変動物の作製方法および単一細胞のトランスクリプトーム解析を行うシングルセルバイオロジーといった最新の解析技術に関する特別講演を行い，センサー分子の機能解析への応用の可能性について議論した。一般講演では，これまでセンサー研究において欠けていたと考えられる「時間軸」に着目し，概日リズムや季節リズムのメカニズムに関する講演 5 題，古典的なセンサー分子である味覚受容体の最新研究に関する講演 4 題，そして様々な脂溶性物質のセンサーとして作用する核内受容体に関する講演 2 題，合計 11 題の発表があり，活発な討論が行われた。一般講演では，大学教員だけでなく大学院生による講演も複数あり，若手研究者育成を意識したプログラムとなった。参加者についても合計 38 名にのぼり，様々なバックグランドを持つ研究者が集まった。

（1）人工ヌクレアーゼによるゲノム改変動物の作製

藤井　渉（東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用動物科学専攻 応用遺伝学教室）

遺伝子ノックアウト動物やノックイン動物など，個体レベルでゲノム DNA 配列を改変した動物は，遺伝子機能と形質との関係を研究する上で有用であるのみならず，我々にとって有益な形質をもつ動物を作製可能であるという，産業への応用も期待される。しかし, ES 細胞や体細胞核移植を介した従来の作製方法は，応用できる動物種が限定されており，作製には多大なコストや労力，時間を要することから，幅広く利用される技術とは言い難かった。

近年，従来の方法に変わる新たなゲノム改変動物作製法として, ZFN やCRISPR/Cas システムなどの人工ヌクレアーゼを利用した方法が注目を集めている。人工ヌクレアーゼは細胞内で特定の座位に DNA 二本鎖切断を導入できる人工的な制限酵素であり，修復エラーを利用した遺伝子破壊やノックインが行える。我々は, ZFN を数日で作製可能な「OLTA 法」を開発し，わずか 1 ヶ月でノッ

クアウトマウスを作製可能な系を確立した。また，CRISPR/Cas システムによる高効率ノックアウトマウス作製法を開発し，これを応用して高効率なトリプルノックアウトマウスの作製法や大規模ゲノム領域欠失マウスの作製法を確立した。一方，人工ヌクレアーゼによるゲノム改変法は，標的とするゲノム配列に似た塩基配列をも破壊しうる「オフターゲット効果」が大きな課題であった。我々は，CRISPR/Cas の変異体を利用した「Offset-nicking 法」によって，オフターゲット効果を回避しつつ高効率にノックアウト・ノックインマウスの作製が可能であることを明らかにした。本セミナーでは，人工ヌクレアーゼの基本技術を解説しつつ，これに関連する最新のトピックも紹介したい。

（2）細胞社会学を明らかにするシングルセルバイオロジー

渡辺　亮（京都大学 iPS 細胞研究所 初期化機構研究部門 山中研究室
ゲノム・エピゲノム解析コアファシリティ）

我々の体は 1 個の受精卵から発生し，数百種類の細胞へと分化する。例えば，ボディプランに代表されるようにこの分化は非常に厳密に制御されている。まるで人が社会を構成しているように，細胞ひとつひとつが意志をもって分化しているようにも感じられる。このような細胞の自律的な振る舞いを明らかにすることを研究テーマとしている。今回, 細胞運命はどのように決定されるか？の問いに答える新しいアプローチを紹介したい。我々は iPS 細胞から心筋細胞へ分化する過程で変化する遺伝子発現を，シングルセル遺伝子発現解析によって高い解像度で観察することに成功した。まず，分化誘導過程における 8 タイムポイントの各々について 20 以上の細胞のシングルセル RNA-seq を実施した。その後，主成分解析によって，各細胞の分化度を規定した。そして，分化度に伴って変化する転写ネットワークを同定した。従来，分化過程で変化する遺伝子発現は実験における時系列で解析が行われてきたが，本研究では「ひとつひとつの細胞がどれだけ分化しているか？」の情報に基づいた解析を行った。その結果，心筋細胞系譜から逸脱する細胞集団を捉えることに成功した。また，分化過程でダイナミックに変動する転写ネットワークを描写し，各段階における転写制御機構を明らかにした。このように，シングルセル RNA-seq によって，細胞分化の過程で変化する遺伝子発現ネットワークを動画のように捉えることで，これまでに見えなかったシグナルを浮かび上がらせることが可能になった。

（3）概日時計の発生機構から細胞を考える

八木田和弘（京都府立医科大学 大学院医学研究科 統合生理学）

一生にわたって生体内で時を刻み続ける概日時計は，睡眠覚醒リズムをはじめ, 内分泌やエネルギー代謝など，極めて多岐にわたる生理現象の日内変動（概日リズム）を制御している。概日リズムの中枢は，視床下部にある視交叉上核(SCN)だが，一方で，全身の末梢組織を構成する細胞にも概日時計が存在する。視交叉上核であれ末梢細胞であれ，哺乳類の概日時計は，初期胚には見られず，発生過程において獲得されることが知られている。しかし，全身の細胞に備わる概日時計がいつどのように形成されるのか，また，概日時計の発生は in vitro で再現できるのか，など概日時計の発生を制御する「原理・仕組み」はこれまでほとんど分かっていなかった。最近我々は，マウス ES 細胞を用いて, in vitro で概日時計の発生を再現することに成功した。つまり，細胞レベルの概日時計の成立に個体発生は必要ではなく，個々の細胞自律的に約 24 時間周期の時計が形成されることがわかった。しかも，この概日時計の成立は，細胞分化と密接に関連した生命現象であることが示され，概日時計と細胞

分化の意外な接点が見いだされた。今回，概日時計の発生機構を切り口にして細胞について深堀したい。

（4）細胞分化センサーとしての生物時計

梅村康浩，八木田和弘（京都府立医科大学 大学院医学研究科 統合生理学）

哺乳類のほとんどの体細胞には, 約 24 時間周期の概日リズムを刻む生物時計が備わっている。しかしながら, 近年, ES 細胞（胚性幹細胞）のような未分化な細胞では, その概日リズムが抑制されており, ES 細胞を in vitro で分化させても，概日リズムを刻み始めることがわかってきた。さらに, 分化した体細胞をリプログラミングして, iPS 細胞（人工多能性幹細胞）を作製すると，その概日リズムは消失することがわかり，生物時計のリズムの始まりは，細胞分化と共役していることが示唆されている。

本研究では，様々な遺伝子変異型 ES 細胞を用いて，in vitro で分化誘導することによって，細胞分化と生物時計の関係を調べた。その結果，正常な分化が抑制されるような遺伝子変異のある ES 細胞では，概日リズム形成が顕著に阻害されることが明らかになった。このことは，細胞の分化状態を，従来の組織特異的な分化マーカーだけではなく，概日リズムの有無によっても，評価できる可能性を示唆している。

（5）CUBIC 法を用いた脳の一日の可視化

幸長弘子（理化学研究所 生命システム研究センター）
上田泰己（理化学研究所 生命システム研究センター，東京大学大学院 医学系研究科）

睡眠・覚醒のメカニズムは昔から様々な研究が行われていますが，未だ睡眠や覚醒を司る細胞群は完全には明らかになっていません。

当研究室では，脳内の遺伝子発現や神経ネットワークを網羅的かつ定量的に取り扱うために，全脳を 1 細胞レベルの解像度で観察できることのできるイメージング技術の開発を目指しました(Cell, Susaki et al, 2014, Cell, Tainaka et al, 2014)。化合物スクリーニング法によって 40 種類の化合物を探索し，アミノアルコールが成体脳の尿素処理による透明化を促進することを発見し，この透明化手法を CUBIC 法と名付けました。CUBIC 法により，生体マウスの全脳をより高度に透明化することが可能になりました。さらに，脳内の構造や遺伝子発現の様子を一細胞レベルの解像度で 3D イメージ画像を取得し，定量的に比較解析することが可能となりました。CUBIC 法はマウス脳だけでなく小型のサルであるマーモセットの脳も透明化することができます。また，神経活動をモニターできるトランスジェニックマウスを用いることにより，脳活動の可視化も行えるようになってきています。本研究会では, この CUBIC 技術を応用することにより，睡眠・覚醒メカニズムの解明を目指した脳の一日の可視化についてご紹介したいと考えています。

（6）春告げホルモン TSH における組織特異的翻訳後修飾の生理機能

池上啓介（名古屋大学大学院生命農学研究科，現在 近畿大学医学部）
吉村　崇（名古屋大学大学院生命農学研究科，同 鳥類バイオサイエンス研究センター，
名古屋大学 WPI トランスフォーマティブ生命分子研究所，基礎生物学研究所）

甲状腺刺激ホルモン(Thyroid-stimulating hormone: TSH)は下垂体前葉(pars distalis: PD)から分泌されるホルモンとして古くから知られており，甲状腺を刺激して甲状腺ホルモンの合成・分泌を促す。一方，春になると下垂体の付け根に位置する下垂体隆起葉(pars tuberalis: PT)からも TSH が分泌され，これは脳の視床下部に作用することで春を感じる「春告げホルモン」という働きがある。しかし，PT と PD から分泌された二つの全く異なる働きを持つ TSH が身体の中で情報の混線をおこさない仕組みは謎に包まれていた。本研究では，まず PD の TSH (PD-TSH) だけでなく，PT の TSH (PT-TSH) も血中に分泌されるが，血中では生理活性を持たず，甲状腺を刺激できないことが分かった。2 つの TSH の構造について調べたところ，修飾糖鎖の構造が異なっていることを見出した。糖鎖修飾は糖蛋白質ホルモンの半減期や生理活性に影響を及ぼすが，PT-TSH は PD-TSH に比べ長い半減期を持っており，蛋白質の安定性も高かったが，意外にも生理活性に違いはなかった。そこで血中の動態を調べたところ，PT-TSH は血中に分泌されると，その糖鎖構造を認識する免疫グロブリンやアルブミンにトラップされることで「macro-TSH」と呼ばれる複合体を形成して活性を失い，甲状腺を刺激することを防いでいることが明らかになった。本研究では組織特異的な糖鎖修飾と免疫グロブリンが，2 役担う蛋白質における体内での情報の混線を防ぐ仕組みに一役買っているという新しい概念を提供し，生物の巧みな生存戦略の一端を明らかにした。

（7）温度刺激によるマウスの活動抑制現象について TRP チャネルの欠損が及ぼす影響

太田　航[1]，加塩麻紀子[2]，富永真琴[2]，吉村　崇[1,3,4]
（[1]名古屋大学 大学院生命農学研究科 動物機能制御学研究分野，
[2]生理学研究所（岡崎統合バイオサイエンスセンター）細胞生理部門，
[3]基礎生物学研究所 季節生物学研究部門，
[4]名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所）

生物にとって，周辺環境の変化に適応できるかどうかは死活問題である。体内時計を明暗サイクルへと同調させることにより，行動や生理機能を調節する仕組み（概日リズム）の研究が進んでいる一方で，環境変化へのより素早い適応行動である「マスキング反応（概日リズムの振動体への影響を介さず，外的な要因に直接反応して起こる現象)」の制御機構は未だ明らかになっていない。哺乳類の網膜外光受容機構の存在について検討するため実施した光応答実験より，盲目マウスが紫外光照射時にのみ活動量を減少させるネガティブマスキング反応が観察された。この現象は脳組織中へと透過する光を遮断しても引き起こされたため，当初予想していた脳内光受容によるものではなく，紫外光照射により生じた温度変化が鍵である可能性が示唆された。そこで，恒暗条件下においてマウスに様々な温度刺激を与えた結果，活動の抑制割合（マスキング割合）は，与えた刺激の温度差依存的に増加した。このことから，上記の実験で観察された盲目マウスのマスキング反応が，光ではなく環境温度の変化に起因したものであったことが裏付けられた。現在は，この現象を制御する温度受容器の特定を目指し，哺乳類の温度センサーとして知られる TRP チャネルを欠損するノックアウトマウスを用いて，マスキング割合に及ぼす影響の検討を進めている。

（8）新世界ザルにおける TAS2R1 および TAS2R4 の苦味応答の種間差

筒井　圭（京都大学霊長類研究所）

苦味受容体（TAS2R）は舌の味蕾に発現し苦味感覚を担う G 蛋白質共役型受容体（GPCR）である。TAS2R はヒトでは 26 種類が存在し, それぞれがどのような苦味物質を受容するかが明らかになっている。含まれる苦味物質の種類や量は食物によって異なるため, TAS2R の受容特性（どのような苦味物質をどれくらいの感度で受容するか）は動物種間の食性の違いに応じて異なっている可能性が考えられる。しかし，実際にそのような違いが存在するのかはほとんど分かっていない。そこで，近縁な種間で TAS2R の受容特性が異なっている可能性を検討するため，種間で食性が異なることが知られている新世界ザル（マーモセット，オマキザル，ヨザル，クモザル，ホエザル）の TAS2R1 および TAS2R4 を HEK293T 細胞に発現させ，様々な苦味物質に対する応答をカルシウムイメージングにより比較した。その結果，TAS2R1 に関してはショウノウに対する応答が，TAS2R4 に関してはコルヒチンに対する応答の大きさが種間で異なることが明らかとなった。さらに, TAS2R4 に関して種間における感受性の違いをもたらすアミノ酸残基を変異体解析により同定した。

（9）発光検出系を用いた旨味受容体 T1R1/T1R3 のリガンド認識機構の解明

戸田安香（東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻 生物機能開発化学研究室）

甘・旨・苦・酸・塩味の基本５味のうち，嗜好味である甘味・旨味は G タンパク質共役型受容体である T1R により受容される。T1R には 3 つのサブユニットがあり，旨味は T1R1 と T1R3, 甘味は T1R2 と T1R3 のヘテロダイマーにより受容される。産業界における高まる人工甘味料に対するニーズなどを背景に，培養細胞を用いた甘味受容体の機能解析が近年，盛んに行われてきた。一方で, 旨味受容体に関する報告は少ない。その理由として，世界において旨味という味質が甘味に比べて重要視されていないことに加え，旨味評価系の構築が甘味評価系構築に比べて難しいことが挙げられる。

味覚受容体の機能解析には一般的に蛍光 Ca^{2+}指示薬を用いた蛍光検出法が用いられる。当研究室でもこれまで，蛍光検出法を用いて旨味評価系の構築を試みてきたが，高感度な系の構築には至らなかった。そこで，蛍光検出法に代わる方法として Ca^{2+}感受性発光タンパク質を用いた発光検出法の導入を試みた。その結果，蛍光検出系よりも高感度に細胞内 Ca^{2+}濃度の変化を検出することが可能となり，旨味の高感度ハイスループットアッセイの構築に成功することができた。構築した旨味評価系は既に，哺乳類や鳥類の受容体におけるリガンド認識機構の解明に役立てられている。今後も発光検出系が未だ謎の多い旨味の受容機構の解明に大きく貢献することと期待している。

（10）甘味受容体 T1R2/T1R3 の分子メカニズム

實松敬介（九州大学大学院 歯学研究院 口腔常態制御学講座 口腔機能解析学分野）

植物ギムネマシルベスタに含まれるトリテルペン配糖体・ギムネマ酸は甘味を強力に抑制する。また，ラクルフルーツに含まれるタンパク質・ミラクリンは，酸性条件下で甘味を引き起こす甘味誘導効果を有することが知られている。

甘味受容体 T1R2/T1R3 のリガンド特性には顕著な種差がある。ギムネマ酸およびミラクリンはヒトにおいて有効であるが, マウスには無効である。これらの事実は,

甘味受容体 T1R2/T1R3 の，系統発生や進化の過程における食環境に適応した種特異的なアミノ酸変異に基づくものと推定される。本研究では，甘味受容体再構築系を用い，ギムネマ酸とミラクリンにおける甘味受容体との相互作用について解析を行った。その結果，ギムネマ酸はヒト T1R3 の膜貫通ドメインに主に作用すること，またギムネマ酸のグルクロノシル基が甘味抑制効果に重要であることが示唆された。ミラクリンは，ヒト T1R2 の N 末端ドメインに作用し，酸性条件下では，ヒト T1R2 の構造変化により，甘味誘導効果が引き起こされることが示唆された。

（11）味覚修飾物質の発見と基本味に対する作用メカニズム

丸山　豊（味の素㈱ イノベーション研究所）

「おいしさ」の向上には，五基本味はもちろんのこと，香りや食感，また口腔感覚調節物質も重要な要素であると考えられる。我々は口腔感覚調節物質の一つである「コク味」物質に着目し，calcium-sensing receptor (CaSR) が「コク味」物質受容体として機能していることを明らかにした。官能評価の成績から，CaSR リガンドはそれ自体では味を感じさせないが，うま味・塩味・甘味各物質と共存するとそれぞれの味を増強させることがわかった。また細胞生理学的解析から，味蕾において基本味受容味細胞と「コク味」受容味細胞の間でシグナル伝達が行われていることが明らかになった。

本研究会では「コク味」の概論を始めとして，味蕾における「コク味」の発現のメカニズムについて，我々の研究内容を紹介する。

（12）肝臓免疫系細胞の自然免疫調節機構に対する核内受容体 LXR の役割

梅田（遠藤）香織（日本大学 医学部 生体機能医学系生化学分野）

核内受容体 Liver X receptor(LXR)は，肝臓，脂肪組織などのエネルギー代謝臓器においてコレステロール恒常性を維持する代謝調節センサーとして働く転写因子である。近年，マクロファージの LXR が炎症反応を抑制することが報告されたことから，LXR は脂質異常・動脈硬化のみならず炎症・自己免疫疾患の治療における分子標的として期待されている。しかし，各組織常在型免疫細胞における LXR の機能は未だ明らかではない。そこで，本研究では LXR が主に発現，機能する臓器である肝臓の免疫細胞における LXR の機能について野生型(WT)と LXR 欠損(LXR-KO)マウスを用いて検討した。WT または LXR-KO マウスから肝単核球を単離したところ，LXR-KO における単核球数が WT と比べ顕著に増加していた。各細胞組成を分析したところ，LXR-KO において肝マクロファージの増加，NKT 細胞の減少が認められた。単離した単核球を培養しリポ多糖で刺激したところ，LXR-KO 由来単核球において炎症性サイトカインの顕著な産生増加が認められ，一方，WT 単核球において LXR アゴニストを前処理したところ，リポ多糖誘導性サイトカイン発現は抑制された。

以上の結果より，LXR が肝常在単核球の細胞組成及びサイトカイン産生抑制機構に関与することが明らかとなった。今後は高脂肪高コレステロール食摂取による慢性肝障害モデルマウスを作製し，WT および LXR-KO マウスを比較検討することにより肝臓における脂質代謝と自然免疫制御機構における LXR の選択的機能を見出す予定である。

（13）オキシステロールによる LXR 依存性および非依存性のマスト細胞活性化抑制機構の解析

布村　聡（日本大学医学部 皮膚科学系 皮膚科学分野）

Oxysterol は酸化型コレステロールとして知られており，脂質代謝機構においてコレステロール合成経路の抑制，細胞内コレステロールの排出，コレステロールのエステル化, Liver X 受容体(LXR)の活性化などの様々な役割を担っている。近年 LXR の活性化が，マクロファージにおける炎症性サイトカインの産生を抑制することが報告され，脂質代謝制御因子が炎症反応の制御にも関わっていることが明らかになってきた。アレルギー疾患の主たるエフェクター細胞であるマスト細胞は, LXRα および β を発現しており，代表的な Oxysterol である 25-hydroxycholesterol 処理によって，高親和性 IgE 受容体(FcεRI)を介したマスト細胞の活性化（脱顆粒, IL-6 産生）および FcεRI 発現が顕著に抑制される。しかしながら，合成 LXR リガンドを用いた解析から，脱顆粒と IL-6 産生の抑制は LXR 非依存性に誘導される FcεRI の発現低下に起因しており, LXR 依存性に抑制される炎症性サイトカインとしては, FcεRI 刺激によって産生される IL-1α および IL-1β, TLR4 刺激によって産生される IL-1α, β, IL-6 であることが明らかになった。また合成 LXR リガンドの抑制効果は, LXRα 欠損マスト細胞では野生型細胞と同等であったが, LXRαβ 欠損マスト細胞では消失していた。以上の結果から, LXR の活性化を介したマスト細胞における炎症性サイトカイン産生の抑制に関しては LXRβ が重要な役割を果たしていることが示唆された。

18. 電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用
～ 次世代の生物電顕を考える ～

2014 年 11 月 12 日－11 月 13 日

代表・世話人：臼田信光（藤田保健衛生大学）

所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（１）SBF-SEM を用いたマラリア感染赤血球の三次元観察とストラクトーム解析

坂口美亜子（長崎大学 熱帯医学研究所）

（２）連続切片ＳＥＭ法によるゴルジ装置の 3D構造解析

甲賀大輔（新潟大学 顕微解剖学分野）

（３）自動切片回収機ＡＴＵＭを用いた神経組織解析

岩崎広英（東京大学大学院 医学系研究科）

（４）ＳＩＭＳを用いた植物体内における炭素移動の観察

竹内美由紀（東京大学 農学生命科学研究科）

（５）蚊媒介性ウイルスのＸ線レーザーイメージング

岡本健太（ウプサラ大学 Biomedicinskt Centrum）

（６）Revealing the near atomic resolution structure of Noda virus by motion-compensated cryo EM

Weihau Chang（Inst. Chemistry, Academia Sinica, Taiwan）

（７）電子顕微鏡で見るギャップ結合チャネルの構造と多様性

大島篤典（名古屋大学 細胞生理学研究センター）

（８）非結晶性物質のＴＥＭトモグラフィーにおける密度分布３Ｄ再構成の条件

山崎　順（大阪大学 超高圧電子顕微鏡センター）

（９）顕微観察における欠損情報回復法

永谷幸則（生理学研究所 形態情報解析室）

（10）電顕トモグラフィーにおける大規模逆問題の解法

細田陽介（福井大学 工学部）

（11）器官形成における細胞動態解析のためのソフトウェア開発とデータ解析

加藤　輝（自然科学研究機構 新分野創成センター）

【参加者名】

永山國昭（生理学研究所），臼田信光（藤田保健衛生大学），坂口美亜子（長崎大学），甲賀大輔（新潟大学），岩崎広英（東京大学），岡本健太（ウプサラ大学），Weihau Chang（Academia Sinica Institute of Chemistry），大島篤典（名古屋大学），山崎　順（大阪大学），細田陽介（福井大学），加藤　輝（自然科学研究機構），内山淳平（高知大学），深澤有吾（名古屋大学），大野伸彦（山梨大学），山口正視（千葉大学），峰雪芳宣（兵庫県立大学），坂本浩隆（岡山大学），佐生　愛（京都府立大学），松下敦子（総合研究大学），竹内美由紀（東京大学），森山陽介（藤田保健衛生大学），五十嵐郁男（帯広畜産大学），金子康子（埼玉大学），高浪景子（京都府立医科大学），増村威宏（京都府立大学），吉田清和（大阪大学），箕田弘喜（東京農工大学），木下雅美（理化学研究所），村手源英（理化学研究所），齊藤　成（山梨大学），桒原隆亮（大阪大学），井上朋大（山梨大学），佐藤慧太（岡山大学），大東琢治（分子化学研究所），根岸剛文（基礎生物学研究所），長島　駿（東京薬科大学），福田安希（兵庫県立大学），寺西　大（広島工業大学），木森義隆（自然科学研究機構），村山　尚（順天堂大学），加藤幹男（大阪府立

大学），亀谷清和（信州大学），藤原武志（三重大学），Wang,Chun-hsiung（Academia Sinica Institute of Chemistry），Wu,Yi-min（Academia Sinica Institute of Chemistry），林　明子（東京薬科大学），中井朋則（兵庫県立大学），岩間尚文（核融合科学研究所），板倉広治（名古屋大学），日高聰（藤田保健衛生大学），赤木　巧（理化学研究所），田所　治（松本歯科大学），坂本浩隆（岡山大学），峰雪芳宣（兵庫県立大学），渡邊敬文（信州大学），王　淑杰（三重大学），伊藤　優（三重大学），垣内愛加（三重大学），野中茂紀（基礎生物研究研），玉置大介（基礎生物研究研），葦原雅道（FEI Company），二村和孝（日立ハイテクノロジーズ），石川尚史（日立ハイテクノロジーズ），大嶋　卓（日立製作所），荻原伸介（日本電子），平井良治（日本電子），本郷孝四郎（日本電子），高野　清（日本電子），春田知洋（日本電子），中村奈津子（日本電子），金子武司（日本電子），清水有子（日本電子），遠藤　剛（日本電子），酒井泰資（日本電子），前田次郎（日本電子），庄子美南（日立製作所），乙部博英（旭化成ケミカルズ），花市佳明（花市電子），藤谷　洋（日本ローバー），岩井修平（カールツァイスマイクロスコピー），兼崎琢磨（カールツァイスマイクロスコピー），村上武司（荏原製作所），伊佐　敏（アストロン），石井聖士（エー・アンド・デイ），大村　現（富士フィルム），石村貴暢（マックスネット），石川達也（生理学研究所），古瀬幹夫（生理学研究所），谷口篤史（基礎生物学研究所），新井善博（テラベース），香山容子（テラベース），伊藤俊之（テラベース），斎藤善平（テラベース），池田　充（テラベース），宮崎直幸（生理学研究所），村田和義（生理学研究所），小原正裕（生理学研究所），河口美江（生理学研究所），山田幸子（生理学研究所），永吉美代子（生理学研究所）

【概要】

本研究会は，「電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用」“次世代の生物電顕を考える”をテーマにして開催いたしました。100 名を超える参加者を得て，12 演題の口演と 26 演題のポスター発表について活発な議論が行われました。細胞構造の様々な電顕立体観察や蛋白質構造解析の電顕観察法に加え SIMS や X 線レーザーイメージングなど，従来の医学・生物学電子顕微鏡研究に新たなブレークスルーを生むような新規観察法とデータ解析方法をテーマとして取り上げます。そして，これらの最先端の観察法を用いた蛋白質構造解析から細胞・組織の幅広いスケールでの医学・生物学の研究領域から発表をいただくとともに，生理学研究所の共同研究機器（電子顕微鏡）を中心とした共同研究が紹介されました。現在の生物電顕で何ができて何ができないか，今後どのようにすべきかについて，新たな目標が示されました。

本研究会は，2000 年から提案代表者：藤吉好則（元京都大学），所内対応者：永山國昭（生理学研究所）により始まり，今回が 15 回目となりました。2011 年度からは村田和義（生理学研究所脳機能計測・支援センター）が所内対応者を務めております。電子顕微鏡を主な対象として，これまで“定量化”，“位相情報回復”，“生体分子の高分解能構造解析”，“感染症の現場観察”，“環境セル観察”，“次世代の生物電顕を考える”など，生体構造の可視化における先端的な内容を扱ってきました。国内を中心とした最先端顕微鏡群の研究成果とともに，生理学研究所が共同研究機器として提供している超高圧電顕，クライオ位相差電顕，連続ブロック表面 SEM などの成果を持ち寄り，医学・生物学に必要な可視化技術を討論して，新規の生体観察方法を創造する機会を今後も提供していきたいと考えています。

（1）SBF-SEM を用いたマラリア感染赤血球の三次元観察とストラクトーム解析

坂口美亜子[1]，宮崎直幸[2]，藤岡　壽[3]，金子　修[1]，村田和義[2]
（[1]長崎大学熱帯医学研究所，[2]生理学研究所，
[3]ケースウェスタンリザーブ大学）

マラリアは亜熱帯・熱帯地方に見られる病原原虫性感染症であり，重篤な症状を引き起こして年間約 70 万人の死亡者を出す。宿主体内において，蚊によって媒介されたメロゾイトと呼ばれる細胞侵入型のマラリア原虫は赤血球内へ侵入した後その内部でリング，トロホゾイト，シゾントへと発育し，シゾント中に形成された新たなメロゾイトが再び血中に放出されて別の赤血球へと侵入する。原虫は病原性発露に関与する分子の輸送装置として感染赤血球内にマウレル裂と呼ばれる膜状構造を形成し，また血管内皮細胞表面に対する接着分子の土台としてノブと呼ばれる突起構造を形成して赤血球を改変する。

本研究では，熱帯熱マラリア原虫（*Plasmodium falciparum*）及び感染赤血球の詳細な微細構造の理解を深めるために Serial Block Face-Scanning Electron Microscopy（SBF-SEM）を用いて *P. falciparum* の各発育ステージにおける感染赤血球全体の三次元微細構造を再構築し，細胞やオルガネラなどについて定量解析を行った。その結果，各発育ステージに進むにつれ原虫の細胞質やオルガネラの体積は増大していく様子が見られたが，シゾント後期になると原虫のヘモグロビン消化により感染赤血球の体積は従来の半分以下となり大幅に減少した様子が確認された。

（2）連続切片 SEM 法によるゴルジ装置の 3D 構造解析

甲賀大輔，久住　聡，牛木辰男（新潟大学 医歯学総合研究科）

近年，樹脂包埋標本の超薄連続切片を基板に載せ，走査電子顕微鏡(走査電顕)で観察した像を三次元再構築する技法が出現してきている。Array tomography とも呼ばれるこの手法の特徴は，①グリッド操作技術を必要しない。②広領域の標本観察が可能。③試料の Z 軸方向の観察領域が無限。④何度でも再観察することが可能。という点で大きな可能性を秘めたイメージング技法である。一方，細胞内の輸送経路の中間地点として重要な働きをもつゴルジ装置は，今から 100 年以上前に，神経細胞の細胞体に銀で染まる網状構造として発見された。その後，この小器官に対する形態学的研究が多くなされてきたが，その三次元構造，特に全体像に関しては未だに不明な点が多い。そこで本講演では，超薄連続切片の走査電顕観察・3D 再構築法をゴルジ装置の立体構造解析に応用したので紹介する。材料として成獣ラットを用い，麻酔した動物から組織を摘出し，2%四酸化オスミウムで 40 時間(40℃)浸漬した。この過程により，ゴルジ装置のシス槽にオスミウムを沈着させることができる。次に，エポキシ樹脂に包埋した試料をウルトラミクロトームで超薄連続切片を 300-500 枚ほど切削し，スライドガラスに貼り付け，走査電顕により反射電子像を撮影後，これらの像を基にコンピュータソフトウエアで再構築した。ここでは，超薄連続切片の走査電顕法を紹介すると共に，この手法の有用性と今後の可能性についても考察する。

（3）自動切片回収機 ATUM を用いた神経組織解析

岩﨑広英，岡部繁男（東京大学大学院 医学系研究科神経細胞生物学分野）

近年，神経回路の網羅的解析（コネクトームプロジェクト）が全世界的に展開されつつあり，その実現のため

の革新的な技術の創出・開発が目覚ましい勢いで進んでいる。ATUM（Automated Tape-collecting UltraMicrotome）はそのような技術のひとつであり，ダイアモンドナイフで薄切された切片をプラスチックテープの上に自動回収する装置である。連続切片を安定的に回収することができることから，組織の三次元再構築に強力なツールとなりうる。また，同様の目的のために利用されている FIB-SEM や SBF-SEM が破壊的な観察法であり，一度観察した試料は二度と観察することができないのに対し，ATUM で回収された切片はプラスチックテープ上に残るため，何度でも観察することが可能である。

さらに，神経回路の網羅的解析には広い範囲に亘る観察と，シナプスなどの微細構造の高解像度での観察の両方が必要とされるが，ATUM では，同じ切片を光学顕微鏡と電子顕微鏡の両方で観察できる。

本講演では ATUM をはじめとする光学顕微鏡技術と電子顕微鏡技術の融合的技術に焦点を当て，これらの技術を基盤とした神経組織解析法について紹介したい。

（4）SIMS を用いた植物体内の炭素移動の観察

竹内美由紀（東京大学大学院 農学生命科学研究科）

二次イオン質量分析法(Secondary Ion Mass Spectrometry: SIMS)では，一次イオンビームを高真空下で固体試料表面に照射し，試料表面からスパッタリング現象により放出されるイオン（二次イオン）を質量分析計により測定して試料表面の元素分析を行う。SIMS 分析の特長は同位体を含むすべての元素が分析可能であること，高質量分解能，高感度分析であることなどである。SIMS はこれまで主に材料科学や宇宙・地球化学研究において重要な分析手法として使用されてきた。しかし上記の特長に加えて高い二次元空間分解能を持つ SIMS 装置が開発され，元素や同位体の細胞内分布を可視化することが可能となり，近年では医学・生物学分野への応用が広がっている。炭素安定同位体 ^{13}C で標識した二酸化炭素を投与した植物の SIMS 同位体イメージングでは，光合成により植物に取り込まれた ^{13}C が，葉や木部の細胞内の特定の構造に堆積する様子およびその分布の変化が示された。SIMS による元素イメージングは，分子の標識手法等と組み合わせて，生体内での代謝や無機・有機成分の分布や機能を解析する上で有効な方法として今後活用が進むと考えられる。

（5）蚊媒介性ウイルスの X 線レーザーイメージング

岡本健太（ウプサラ大学 Biomedicinskt Centrum）

XFEL (X-ray free electron laser)は，アンジュレータから放出される X 線の位相をそろえることでレーザー増幅を行い，従来の X 線の数億倍を超える光子量の非常に高輝度な光源を実現した新規技術である。LCLS（Linac Coherent Light Source）では，地球表面に降り注ぐ太陽光を 1 mm^2 の領域に集約したエネルギーに匹敵する XFEL 光源を実現している。ウプサラ大学では，超短時間 (10^{-14} 秒)の高輝度 XFEL パルスを用い，生体分子が損傷する前に構造情報を得る，X 線レーザーイメージング法を提唱してきた(Neutze et al., Nature 2000)。現在，本手法を用いた巨大ウイルスの一分子イメージングに成功し（Seibert et al., Nature 2011），細胞やオルガネラの構造解析を進めている（Hantke et al., Nature Photonics 2014）。一方で，LCLS では 100 nm の X 線レーザー焦点を実現し，100 nm 以下の生体分子のイメージングに向けた研究が期待されている。今回の講演では，LCLS における 40 nm の蚊媒介性ウイルスの測定例をもとに，我々がこれまでに達成した結果と直面している課題を示す。また，今後期待される X 線レーザーイメージング法の生体分子構造解析への応用を議論したい。

（6）Revealing the near atomic resolution structure of Nodavirus by motion-compensated cryo-EM
ドリフト補正を組み合わせた低温電子顕微鏡によるノダウイルスの近原子分解能構造解析

Weihau Chang, Institute of Chemistry, Academia Sinica, Taiwan
章　為皓（台灣中央研究院 化学研究所）

A recent technological breakthrough in electron cryo electron microscopy (cryoEM) comes from the introduction of direct electron detectors for imaging. Based on CMOS chip technology, the direct electron cameras can circumvent the loss of signal by traditional charge coupled detectors (CCD) during the process of converting electrons to photons via the phosphor scintillator and fiber optic coupling. As a result, these cameras have greatly enhanced sensitivity and detective quantum efficiency (DQE). In addition, rapid readout by CMOS allows acquisition of movie data, by which image blurring can be compensated to restore image information to near atomic resolution. By using one of such commercially detectors called DDD camera equipped on one JEOL 200 kV cryo-EM in Taiwan, we determined the core structure of a Noda virus like particle with icosahedral symmetry to 3.8-Å-resolution from ~15,000 particles and reveal its major side-chains. Moreover, we determined the structure of RNA polymerase II particle without symmetry to ~8-Å-resolution from ~40,000 particle image movies acquired from a DDD camera on the JEOL 200 kV cryo-EM with phase contrast enhanced by a Zernike phase plate here at Okazaki. The details as to processing those movie data for compensating image blurring in these two cases will be presented in this meeting.

クライオ電子顕微鏡法における最近の技術革新は，イメージングのための直接電子検出カメラの導入から来ている。 CMOS チップ技術に基づいて，直接電子検出カメラは，蛍光体，シンチレータ及び光ファイバーカップリングを介して電子を光子に変換するプロセスを用いることによる，従来の電荷結合検出器（CCD）の信号損失を回避することができる。その結果，電子直接検出カメラは非常に感度および検出量子効率（DQE）を高めることができた。また，CMOS による急速な画像データの読み出しにより，フレームごとの画像のぼけを補正することが可能となり，原子分解能に近い画像情報を回復することが可能となった。我々は，台湾の 200 kV の低温電子顕微鏡（JEOL）に Direct Electron 社製の電子直接検出カメラ（DDD）を搭載することにより，～15000 粒子像から正二十面体対称性を仮定して，3.8 Å 分解能のノダウイルスのコア構造を決定し，その主要な側鎖を明らかにした。また，我々は，Zernike 位相板によって位相コントラストを増強することのできる 200 kV のクライオ電子顕微鏡（岡崎 JEOL JEM2200FS）を使って，DDD カメラから取得した～4 万の粒子像から対称性を仮定せずに，～8 Å 分解能の RNA ポリメラーゼ II 粒子の構造を決定した。これら 2 つの構造決定に使用されたドリフト補正の詳細は，本講演で紹介する。

（7）電子顕微鏡で見るギャップ結合チャネルの構造と多様性

大嶋篤典（名古屋大学 細胞生理学研究センター）

ギャップ結合チャネルは多細胞生物に広く存在する細胞間コミュニケーションチャネルである。イネキシンは無脊椎動物のギャップ結合チャネルを構成するタンパク質であり，神経や筋肉の電気的活性に重要な役割を果たしている。我々は線虫に存在するイネキシン-6（INX-6)の発現と精製に成功し，電子顕微鏡による構造研究を行った。精製した INX-6 チャネルの負染色像から単粒子解析による二次元のクラスアベレージを計算した。その結果，INX-6 ギャップ結合チャネルの外形寸法は長軸径が 220Å, 細胞質端におけるチャネルの径が 110 Å，細胞外のギャップスペースが 60Åであり，コネキシン 26 ギャップ結合チャネルと比べて大きな値であった。

また INX-6 チャネルの二次元結晶を得ることに成功し，極低温電子顕微鏡像から得られた投影マップには 8 個のピークが明確に現れた。これらは INX-6 のサブユニットを特徴づけるものと考えられ，INX-6 ギャップ結合チャネルのサブユニット構成数がコネキシンの 12 量体とは異なる可能性を示すものである。本講演では超薄切片像や極低温電子顕微鏡像のデータを交えながら，無脊椎動物に存在するギャップ結合チャネルの脊椎動物に存在するコネキシンとは異なる構造を紹介する。

（8）非結晶性物質の TEM トモグラフィーにおける密度分布 3D 再構成の条件

山﨑　順（大阪大学超高圧電子顕微鏡センター）

TEM トモグラフィーにおいては，mass-thickness コントラストの膜厚増加に伴う指数関数減衰を前提として三次元再構成が行われるが，実際には主に多重散乱の影響による非線型な強度減衰の影響を受ける。従来の電子線トモグラフィー解析では主に三次元形状の把握に重点が置かれる傾向にあるが，さらに高いレベルの再構成，すなわち正しい内部密度を与える再構成を達成するべく，TEM 像強度減衰の非線型性が再構成結果に与える影響を定量的に検証した。

一様なアモルファス構造からなるカーボンマイクロコイルを試料として用いることにより，外形から算出した試料厚さと像強度から求めた透過率との関係を測定することが可能である。非線形性を含む場合，強度減衰は片対数グラフにおいて直線ではなく曲線となる。トモグラフィー再構成に先立ち，TEM 像強度減衰の線型性が保たれる厚さ範囲を加速電圧 400-1000kV で対物絞りサイズごとに計測したところ，透過率と直線からの外れ度合いとの間に単調な関係が見出された。いくつかの結像条件での 3D 再構成結果を吟味しこの単調関係に当てはめたところ，内部強度が正しく再構成されるためには透過率が 0.64 以上必要であることが求まった。この結果を判断基準として活用することにより，傾斜シリーズ取得前に対物絞りサイズや加速電圧の見直しを行うことが可能となり，実用上重要な結論であると言える。

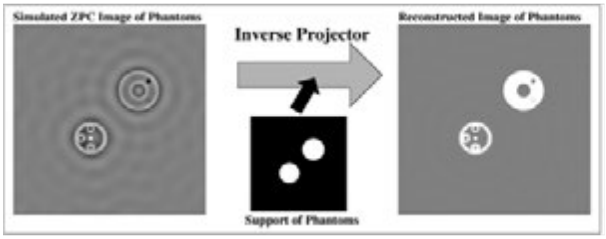
（9）顕微観察における欠損情報回復法

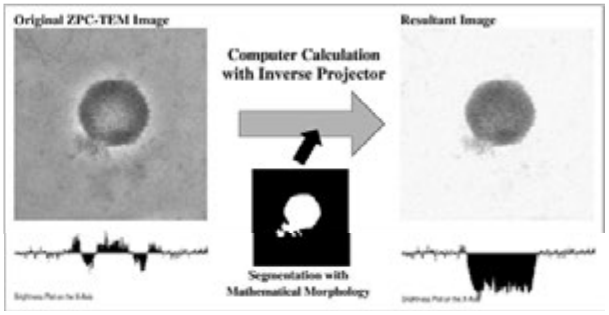
永谷幸則（生理学研究所）

電子顕微鏡による画像計測は，試料内部の３次元の微細構造や電位分布などを計測可能な手法であるが，電子ビームの現実的な取り扱いに起因して，試料の情報を部分的にしか取得できないという情報欠損問題が存在する。位相板を後方焦点面に導入する事により長距離間の電子線の干渉を顕在化させ，位相物体のコントラストを強化する位相差電子顕微法は，生物試料の無染色での高コントラスト観察を可能とするが，位相板の物理的構造（有限穴径）に起因して，最も低い周波数領域を検出できない「超低周波数領域欠損問題」が存在し，像にフリンジ状のアーチファクトをもたらす他，大域的な電位分布の計測に障害となっている。また，試料切片を回転させ投影像を連続的に撮影し，試料切片内部を３次元再構成するトモグラフィ法では，高チルト角領域の投影像を取得できないという「ミッシング・ウエッジ問題」が存在し，取得像に特有のアーチファクトが生じ，立体構造再構成の障害となっている。

本講演では，欠損した情報を試料の既知情報を用いて回復する画像処理手法について報告する。これは情報欠損と情報既知を射影演算として取り扱い，欠損情報を方程式の漸近解として代数的に回復させる数理的手法である。本手法のシミュレーション結果およびウイルス実データへの適用結果を示す。この手法により，現実の位相差像から理想的な位相差像を得られるだけでなく，位相板の中心穴径をある程度大きくしてもそれを補う事が可能となる。即ち，高強度の電子ビームスポットから

カーボン膜への距離をとれ，位相板の寿命を延ばす事が出来る他，アラインメントが容易になる。位相板アラインメントがずれた場合でも，それを画像処理で補正する手法についても報告する。





（10）電顕トモグラフィーにおける大規模逆問題の解法

細田陽介（福井大学 工学部）

電子顕微鏡ＣＴ像再構成問題は，数学的に定式化すると，第１種フレドホルム型積分方程式となる。この積分方程式は離散化して連立一次方程式に変換すると悪条件な方程式となる。悪条件方程式は観測データに混入した微小なノイズにも敏感に反応して数値的に不安定となるため，安定な数値計算法が必要となる。また，３次元ＣＴ像再構成問題では，係数行列が大規模かつ疎となるため，その特性に合わせた解法である必要もある。

一般に大規模で疎な係数行列を持つ連立一次方程式に対しては反復解法が用いられる。反復解法とは，通常のＬＵ分解などと異なり，行列を方程式が解きやすい形に分解するのではなく，解に収束するようなベクトルの列を生成する方法を指す。しかし，通常よく用いられている反復解法は悪条件性に弱く，我々が想定しているような問題では精度よい解が期待できないことが多い。本発表では，電顕トモグラフィー問題を例にとり，このような問題に対しての我々のアプローチを数値例をもとに紹介する。

（11）器官形成における細胞動態解析のためのソフトウェア開発とデータ解析

加藤　輝（自然科学研究機構 新分野創成センター・イメージングサイエンス研究分野）

生物の器官は，胚発生期において平板状の細胞群が巧みに折れ込む過程を経る事により，立体的かつ複雑な構造として構築される。この種の現象は，器官原基に属する個々の細胞の挙動の総和であると考えられる。従って，この過程を理解する為には，個別の細胞の形態及び動態を計測する必要がある。

我々は，共焦点レーザ顕微鏡による器官形成の系時的生体観察により得られた 4D 観察データから，個々の細胞の輪郭を立体空間中から抽出，立体細線化骨格としてモデル化し細胞の形態的な特徴とその系時変化を記述するソフトウェアを開発している。

また，実験系によっては，蛍光標識の制約等により個々の細胞の峻別が困難な事例が生じる。そのような条件で得られた器官形成過程をも定量的解析の対象とするため，蛍光ムラなどによって生じる局所画像特徴を検出し，それらの時間経過に伴う移動を追跡する Particle Image Velocimetry (PIV) ソフトウェアを開発している。これにより，個別の細胞を識別することなく組織変形を計測する事が可能となる。

さらに，これら自動的な特徴抽出が困難な対象から目視により画像特徴抽出を手動で行う為の Graphical User Interface (GUI) を備えたソフトウェア開発を行っている。

これらの実装と，実際の実験系への適用について主に技術的な側面を紹介する。

19. 唾液腺形態形成研究会～機能解析から器官再生へ～

2014 年 8 月 4 日－8 月 5 日

代表・世話人：柏俣正典（朝日大学歯学部歯科薬理学分野）

所内対応者：村上政隆（自然科学研究機構生理学研究所）

（1）耳下腺・膵外分泌腺における MARCKS リン酸化を共通としたアミラーゼ分泌メカニズム

佐藤慶太郎 [1]，成田貴則 [2]，杉谷博士 [2]，瀬尾芳輝 [1]

([1] 獨協医科大学医学部生理学（生体制御）教室，[2] 日本大学生物資源科学部獣医生化学研究室）

（2）唾液腺腺房細胞における分泌タンパク質の選択輸送制御

吉垣純子（日本大学松戸歯学部生理学講座）

（3）潅流顎下腺の共焦点顕微鏡および急速凍結割断レプリカの電子顕微鏡による形態観察

村上政隆 [1]，橋本貞充 [2]，成田貴則 [3]，福島美和子 [4]，佐藤正樹 [2]，澁川義幸 [2]

([1] 自然科学研究機構生理学研究所，[2] 東京歯科大学，

[3] 日本大学生物資源科学部，[4] 昭和大学歯学部口腔病理学部門）

（4）再生唾液腺原基移植による機能的な唾液腺の再生

小川美帆 [1,2]，辻　孝 [1,2]

([1] ㈱オーガンテクノロジーズ，[2] 独立行政法人理化学研究所発生・再生科学研究センター）

（5）再生をめざした唾液腺形成機構の解析　～iPS 細胞の応用～

阪井丘芳，小野　瞳，尾花　綾（大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能治療学教室）

（6）唾液腺再生への subtilisin-like proprotein convertase PACE4 の関与

赤松徹也，姚　陳娟，長谷川敬展，吉村　弘

（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部口腔分子生理学分野）

（7）胎生期マウス顎下腺における概日リズムの発振過程

内田仁司（鶴見大学歯学部病理学講座）

（8）胎仔マウス唾液腺上皮の発生を制御する組織間 microRNA 輸送

林　徹 [1,2]，柏俣正典 [1]，Matthew P. Hoffman[2]

([1] 朝日大学歯学部歯科薬理学分野，[2]LCDB, NIDCR, NIH）

（9）唾液腺におけるアクアポリン 5 の翻訳後修飾

杉谷博士，岡田純一，成田貴則，岡林　堅

（日本大学生物資源科学部・獣医生化学研究室）

（10）Intravital Ca^{2+}イメージングによる唾液分泌制御機構の解析

谷村明彦 [1]，根津顕弘 [1]，森田貴雄 [1]，東城庸介 [1]，佐藤寿哉 [2]，石井久淑 [2]

([1] 北海道医療大学歯学部薬理学分野，[2] 同生理学分野）

（11）細胞と基底膜の動態からみた唾液腺分枝形態形成

門谷裕一（北里大学医療衛生学部基礎医学部門解剖・組織学）

（12）増殖因子シグナルによる上皮管腔組織形成の分子基盤

菊池　章（大阪大学大学院医学系研究科・分子病態生化学）

（13）Occludin と p63 転写因子の発現パターンから明かされるマウス顎下腺の腺・管腔形成での上皮細胞の挙動

松浦幸子（白寿医療学院）

【参加者名】

赤井崇浩（朝日大学歯学部口腔外科），赤松徹也（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部口腔分子生理学分野），内田仁司（鶴見大学歯学部病理学講座），小川美帆（㈱オーガンテクノロジーズ独立行政法人 理化学研究所），柏俣正典（朝日大学歯学部歯科薬理学分野），門谷裕一（北里大学医療衛生学部解剖・組織学），菊池章（大阪大学大学院医学系研究科），小山典子（朝日大学歯学部歯科薬理学分野），阪井丘芳（大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能治療学教室），佐藤慶太郎（獨協医科大学医学部生理学(生体制御)教室），杉谷博士（日本大学生物資源科学部・獣医生化学研究室），竹山　旭（大阪歯科大学口腔外科学第１講座），谷村明彦（北海道医療大学歯学部薬理学分野），橋本貞充（東京歯科大），林徹（朝日大学歯学部歯科薬理学分野），松浦幸子（白寿医療学院），松下　巧（大阪歯科大学口腔外科学第１講座），水越堅詞（朝日大学歯学部歯科薬理学分野），村上政隆（自然科学研究機構生理学研究所），吉垣純子（日本大学松戸歯学部生理学講座），吉田　博（大阪歯科大学口腔外科学第１講座）

【概要】

ES 細胞や iPS 細胞などの多能性細胞が確立され，医療系各分野では試験官内での器官の形成研究が進められている。外分泌腺としての形態だけでなく充実した機能を有する器官の形成には多方面にわたる知識と技術が求められる。本研究会は，外分泌腺形態形成研究をリードしている唾液腺形態形成研究を，機能研究者との討論を通じ，さらに発展させ再生医療の実現を目指すことを目的とした。研究会当日は唾液腺の唾液分泌および形態形成について，生理活性物質などの生体分子から細胞や組織の動態まで，幅広いスケールに渡る話題が提供され議論が深まった。特に，急速に加速する再生医療技術を用いた研究発表では，形態形成を専門とする参加者との間で，視点が異なる多様な意見交換がなされ，本研究会の本懐を遂げた有意義な時間であった。遺伝子工学やイメージングなどの解析手法にも著しい進展がみられたほか，従来に無い概念を提供する演題も複数あり，唾液腺の知られざる動態が今後ますます明らかになると思われる。形態形成研究の積み重ねられてきた成果や，これから拓かれていく萌芽的な研究発表を聴くにつれ，唾液腺の機能修復や *in vitro* 再生の早期実現を予感した研究会であった。

（1）耳下腺・膵外分泌腺における MARCKS リン酸化を共通としたアミラーゼ分泌メカニズム

佐藤慶太郎[1]，成田貴則[2]，杉谷博士[2]，瀬尾芳輝[1]
([1] 獨協医科大学医学部生理学（生体制御）教室，
[2] 日本大学生物資源科学部獣医生化学研究室）

Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) は PKC の基質であり可逆的膜ドメインとして働くことから，開口放出など細胞膜周辺の現象に寄与すると考えられている。アミラーゼは耳下腺および膵外分泌腺腺房細胞から開口放出により分泌される。細胞内シグナル伝達は，耳下腺では cAMP が，膵臓では Ca^{2+}が，それぞれセカンドメッセンジャーとして働く。本研究では，開口放出における MARCKS リン酸化の関与について，耳下腺および膵外分泌腺アミラーゼ分泌をモデルに検討した。両腺房細胞において，アミラーゼ分泌刺激により MARCKS リン酸化とそれに続く細胞内局在変化を検出し，MARCKS 阻害ペプチドによりアミラーゼ分泌が抑えられた。以上より，耳下腺・膵外分泌腺アミラーゼ分泌に MARCKS リン酸化が共通して起こり，分泌に関与していることが示唆された。

（2）唾液腺腺房細胞における分泌タンパク質の選択輸送制御

吉垣純子（日本大学松戸歯学部生理学講座）

唾液腺には外分泌的に口腔内へ唾液タンパク質を供給するが，内分泌的に血液にもタンパク質を分泌すると言われている。唾液タンパク質は分泌顆粒に貯留され，刺激依存的に管腔に分泌される（調節性分泌）。一方，合成された後，細胞内に貯留することなく直ちに分泌されるタンパク質も存在し，構成性分泌と呼ばれている。構成性に分泌されるタンパク質は，多くが基底膜側，つまり血中に放出されると考えられている。しかし，唾液腺内で合成されたタンパク質が調節性分泌と構成性分泌へ振り分けられるメカニズムは明らかになっていない。我々は，分泌タンパク質の細胞内輸送を解析するために，耳下腺腺房細胞の初代培養細胞にリポータータンパク質である HaloTag と分泌タンパク質の融合遺伝子を導入し，２つの経路への選別機構について検討している。

（3）潅流顎下腺の共焦点顕微鏡および急速凍結割断レプリカの電子顕微鏡による形態観察

村上政隆 [1]，橋本貞充 [2]，成田貴則 [3]，福島美和子 [4]，佐藤正樹 [2]，澁川義幸 [2]
([1] 自然科学研究機構生理学研究所，[2] 東京歯科大学，
[3] 日本大学生物資源科学部，[4] 昭和大学歯学部口腔病理学部門）

ムスカリニック受容体刺激時には唾液腺水分分泌の大部分は傍細胞経路を通る。本研究では傍細胞輸送経路の三次元画像観察を試みた。1)凍結割断レプリカの傾斜 TEM 像の三次元再構成と 2)高速共焦点レーザ顕微鏡画像の三次元再構成である。

ラット顎下腺の摘出灌流標本からスライスを切出し，液体 He 温度に冷却した純銅ブロックに圧着し凍結試料を作成，凍結状態で割断，エッチングを施し，Pt− C を回転蒸着してレプリカを得た。摘出灌流腺は共焦点レーザ顕微鏡ステージ上で血管灌流し，sulfo-rhodamine B を灌流し，毛細血管及び細胞間隙を描出した。同時に細胞間分泌細管は蛍光色素の入り難い部分として negative に描出された。細胞間隙から個々の分泌細管に進入する色素量を計測した。本システム(5 Live, Zeiss)では 2 秒毎に 30 画像を取り込み，２秒毎の三次元画像を再構成した。

1) Carbachol/isoproterenol の刺激はタイト結合直下の細胞内骨格の格子が無刺激時に比べ狭小になった。2) carbachol 刺激時には細胞容積が縮小し，細胞骨格格子が狭小化し，骨格線維の反応性が高まり，運動性上昇を促していることが示唆された。細胞骨格の運動性増加はタイト結合索条粒子 (Claudine)の運動性を増加させ，傍細胞輸送の透過性上昇を起こすことが予想された。

（4）再生唾液腺原基移植による機能的な唾液腺の再生

小川美帆 [1,2]，辻　孝 [1,2]
([1] ㈱オーガンテクノロジーズ，[2] 独立行政法人理化学研究所発生・再生科学研究センター）

唾液腺は口腔内の湿潤を保ち，口腔の機能と恒常性を維持する役割を担っている。そのため口腔乾燥症は，口腔機能を低下させることから，人工唾液の補充療法や神経刺激薬に代わる新たな治療法として再生医療の技術開発が期待されている。私たちは，上皮性幹細胞と間葉性幹細胞から器官原基を作製する「器官原基法」を開発し，機能的な歯や毛包が再生可能であることを示した。唾液腺の器官再生に向けて，この技術を応用して再生した唾液腺原基を導管接続して唾液腺欠損マウスに移植することにより，口腔内に唾液を分泌しうる唾液腺の再生を可

能とした。再生唾液腺は，味覚刺激に応じて口腔内に唾液を分泌し，口腔乾燥による口腔内の洗浄機能や嚥下機能の低下に対する改善効果を示したことから，口腔乾燥症に対する新たな治療法としての可能性を示した。本講演では，次世代再生医療としての唾液腺置換再生を目指した研究の進展について紹介したい。

（5）再生をめざした唾液腺形成機構の解析　—iPS 細胞の応用—

阪井丘芳，小野　瞳，尾花　綾
（大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能治療学教室）

さまざまな組織で再生医療が試みられているが，三次元的な立体構造を有する臓器を再生させるのは困難であるのが現状である。我々は，マウス胎仔唾液腺と共培養することで，iPS 細胞の分化誘導を試みた。マウス歯肉と口蓋粘膜を採取し，山中 4 遺伝子をレトロウィルスで導入した iPS 細胞を用いた。無血清培地中で 2 日間浮遊培養を行い，細胞塊の形成を行った(以下 EB とする)。そして, 胎生 13 日目の胎仔唾液腺の浮遊培養を行った上にメンブランを置き, そのメンブラン上でEBの培養を行った。培養後の EB において Amylase の発現をリアルタイム RT-PCR 法で検討した。更に培養後の EB を SCID マウスの腎皮膜下に移植し, 4 週間後の EB の変化を解析した。器官培養中の EB に唾液腺様の上皮構造が確認され，移植を行うことにより EB に成熟した唾液腺様の上皮構造が確認された。また，胎仔唾液腺と共培養を行った EB 細胞が，共培養を行っていない EB 細胞に比べて，Amylase の発現の亢進を認めた。胎仔唾液腺と共培養を行うことにより，唾液腺様の上皮構造と唾液腺に特異的な遺伝子発現の亢進を認めた。より効率的に EB を唾液腺組織に誘導できるように，さらなる研究を推進していきたい。

（6）唾液腺再生への subtilisin-like proprotein convertase PACE4 の関与

赤松徹也，姚　陳娟，長谷川敬展，吉村　弘
（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部口腔分子生理学分野）

PACE4 は Ca^{2+}依存性セリンプロテアーゼで，増殖・分化因子等の不活性型前駆体の活性化を触媒する。唾液腺発生過程においても重要な役割を果たし，本酵素の機能や発現を阻害あるいは抑制すると，唾液腺の分枝形成が抑制される。また，胎生期唾液腺では強く発現するが，生後の唾液腺腺房細胞の分化・成熟に伴い，その発現は抑制され，成体では認められなくなる。一方，唾液腺は主導管結紮後に再開放することで，腺房部がアポトーシスにより消失後，再生することが報告されているが，そのメカニズムは未解明である。本唾液腺再生モデルでの PACE4 発現を，唾液分泌に関わる水チャネル AQP5 発現と比較した。その結果，PACE4 発現は AQP5 発現の減少時には誘導され，AQP5 発現の増加（回復）時には抑制される傾向が見られ，主導管結紮により誘起される唾液腺再生に PACE4 の関与が考えられた。

（7）胎生期マウス顎下腺における概日リズムの発振過程

内田仁司（鶴見大学歯学部病理学講座）

【背景】概日リズムは，約 1 日を周期とした変動を示す。これまでに，成体におけるマウス顎下腺に固有の概日リズムが存在する事を明らかにした。しかしながら，発生期の顎下腺における概日リズムは明らかでない。本研究では，胎生期マウス顎下腺の概日リズムの発振過程を検討した。

【方法】時計遺伝子 *Per2* の下流に *luciferase* を組込んだ遺伝子改変発光レポーターマウス（*Per2::luc* knock-in mouse）を用いて，胎生 13.5 日齢から胎生 17.5 日齢の顎下腺の概日リズムを測定した。

【結果】発生初期である胎生 13.5 日齢の顎下腺は PER2::LUC の発現に概日リズムを示さなかった。胎生 14.5 日齢以降の顎下腺では，分枝形態形成に伴って PER2::LUC の発現に変動を生じ，胎生 17.5 日齢で明瞭な概日リズムを示した。概日リズムを示さない胎生 13.5 日齢の顎下腺を約 2 週間，器官培養を行うと明瞭な概日リズムを確立した。

【結論】マウス顎下腺において，発生初期に概日リズム発振機構が内在しており，発生に伴って概日リズムを確立する。

（8）胎仔マウス唾液腺上皮の発生を制御する組織間 microRNA 輸送

林　徹[1,2]，柏俣正典[1]，Matthew P. Hoffman[2]
（[1]朝日大学歯学部歯科薬理学分野，[2]LCDB, NIDCR, NIH）

ノンコーディング RNA のうち，21-23 塩基からなる内在性の小分子 RNA ，microRNA(miRNA)が注目を集めている。miRNA は mRNA に相補的に結合することで，その発現および翻訳を抑制する。このとき，一種類の miRNA が数百の遺伝子を標的にしうるため，あたかも転写因子のように細胞固有の遺伝子群の発現を規定し，その形態・形質に大きなインパクトをもたらすことが分かっている。近年，様々な細胞が miRNA を分泌し別の細胞によって取り込まれていることが明らかになり，miRNA はホルモンなどと同じく mobile signal として細胞間コミュニケーションを仲介していることが示唆されている。我々は miRNA が mobile signal として上皮間葉相互作用に関与しているのではないかと仮説を立てた。いくつかの実験の結果，胎仔マウス唾液腺の上皮間葉間で miRNA が移動していることが示唆された。輸送された miRNA について，マイクロアレイおよびレポーターアッセイによる解析から，現在までに少なくとも一種類の標的遺伝子を同定した。さらに輸送された miRNA により，唾液腺の形態形成および上皮の分化が調節されていることが示唆された。

（9）唾液腺におけるアクアポリン５の翻訳後修飾

杉谷博士，岡田純一，成田貴則，岡林　堅
（日本大学生物資源科学部・獣医生化学研究室）

アクアポリン（AQP）は水チャネルとしての機能を持つタンパク質であり，唾液腺においては腺房細胞の腺腔側膜に AQP5 が発現している。ラット顎下腺遊離細胞を 37℃でインキュベートした後の粗膜画分において，AQP5 より約 1 kDa 大きなバンドが時間依存的に出現することを，抗 AQP5 抗体を用いたイムノブロット法により認めた。翻訳阻害剤処理した細胞においてもこのバンドの出現を認めたことから，新バンド出現は翻訳後修飾の結果

と考えられた。バナジウム酸処理した細胞では濃度依存的に修飾が増強された。一方，Ca^{2+}を含まない溶液中でバナジウム酸処理した細胞では，修飾は認められなかった。バナジウム酸による修飾バンドの出現はマウス顎下腺や耳下腺においても認められた。以上の結果から，唾液腺において，バナジウム酸により増強される AQP5 タンパク質の翻訳後修飾が存在し，反応にはCa^{2+}が関わることが示唆された。

（10）Intravital Ca^{2+}イメージングによる唾液分泌制御機構の解析

谷村明彦[1]，根津顕弘[1]，森田貴雄[1]，東城庸介[1]，佐藤寿哉[2]，石井久淑[2]
（[1]北海道医療大学歯学部薬理学分野，[2]北海道医療大学歯学部生理学分野）

Yellow Cameleon や G-CaMP 等の genetically encoded calcium indicator (GECI)は，細胞内分布や安定性等において有機系 Ca^{2+}指示薬にはない利点がある。我々は GECI の１つ YC-Nano50 を使った intravital Ca^{2+}イメージングと微小圧力センサーによる唾液分泌測定によって，ラット顎下腺腺房細胞のCa^{2+}応答と分泌を同時解析する実験系を確立した。この実験系では，0.2 μM に相当する Ach 刺激による顎下腺 Ca^{2+}応答と，100 nL/sec 程度の唾液分泌のリアルタイム測定が可能である。この実験系で明らかになった分泌刺激薬や神経刺激による反応から，唾液分泌調節における Ca^{2+}応答と血流の寄与について考察する。また，GECI で可能になった長時間イメージングによる唾液腺培養細胞の細胞増殖や細胞運動過程の Ca^{2+}動態について紹介する。

（11）細胞と基底膜の動態からみた唾液腺分枝形態形成

門谷裕一（北里大学医療衛生学部解剖・組織学）

発生期唾液腺の分枝形態形成には基底膜が関わり，実際，基底膜成分やそれらの受容体の阻害抗体やブロッキングペプチドは in vitro 組織形成を阻害する。しかしながら，これらの基底膜分子のシグナルがどのように組織を変形させるのかはほとんど解っていない。分枝形態形成では上皮細胞集団基底側での凹部（クレフト cleft）による上皮集団の分割が繰り返される。クレフトは細胞間の間隙に基底膜が侵入することで伸長し，これにはクレフト最深部にある微細線維束を芯とする細胞質突起（シェルフ shelf）が関わる。本講演では，クレフトの形成・伸長やそれに際しての基底膜の動態のタイムラプス観察について紹介し，基底膜による分枝形態形成の制御機構を考察したい。

（12）増殖因子シグナルによる上皮管腔組織形成の分子基盤

菊池　章（大阪大学大学院医学系研究科・分子病態生化学）

上皮管腔組織は肺や肝臓，腎臓，唾液腺等の器官構築のための必須の構造である。上皮管腔組織の形成過程では，上皮細胞は伸長や運動，極性化しながら細胞外基質内でその形態を変化させる。正常腸管上皮細胞 IEC6 を基底膜基質中で三次元培養し，Wnt3a と EGF を組み合わせて作用させると，上皮細胞は活発に増殖しながら分岐を伴った管腔構造を形成した。Wnt3a と EGF の組み合わせにより Arl4c が発現し，Arl4c は Rac と Rho の活性を調

整することにより，基底膜基質内での上皮細胞の形態を変化させた。この細胞骨格の変化は YAP の細胞内局在を変化させることにより，管腔先導端細胞での増殖を誘導した。また，Arl4c の発現はマウス胎児から調整した尿管芽の伸長や分岐にも必要であった。これらの実験に並行して，私共は胎生期のマウス唾液腺の器官培養法を用いて外分泌腺の分岐と導管形成における Wnt シグナルの役割も解析した。唾液腺原基から間質を剥離し，腺上皮を基底膜基質内で FGF1 と共に培養すると，導管が伸び分岐が認められた。ここに，Wnt シグナル活性化剤を加えると導管の伸長と分岐数は増加し，Wnt シグナル阻害剤により導管の伸長と分岐数は抑制された。現在，本表現型における Wnt シグナルの作用点を見出す過程であり，本研究会でそれらのデータも紹介して討論したい。

（13）Occludin と p63 転写因子の発現パターンから明かされるマウス顎下腺の腺・管腔形成での上皮細胞の挙動

松浦幸子（白寿医療学院）

上皮細胞間の密着帯タンパク質 Occludin（OCLN）は唾液腺の管腔・腺腔直下に局在し，p63 は上皮の重層化と重層上皮から発生する腺器官形成に必須であり顎下腺（SMG）の基底部上皮細胞に発現し，腔に面する頂上側と間葉に面する基底側細胞の挙動をよく表現する。本研究では OCLN と p63 の発現動態から，ICR マウス SMG の腔形成過程での上皮細胞の挙動を検索し, SMG 原基が均一な上皮細胞塊でない可能性を示唆する次の結果を得た。(1) 導管中央に p63 を発現しない小型の核を持ち頂上側細胞膜に OCLN が局在する細胞が配列し，頂上側極性を維持する向かい合う上皮シートとして陥入，伸長し管腔を形成する。(2) 終末球 TB では頂上側極性を持たない細胞塊が分岐に伴い配列変化し OCLN を発現，腺腔を形成する。口腔が中胚葉性間葉を欠く内・外胚葉 2 層の口咽頭膜から発生する事実に照らすと, SMG の導管と腺房は，細胞系譜の異なる集団に由来する可能性を示唆する。

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔　目　　次　〕

１．A Quarter Century after the Direct and Indirect Pathways Model of the Basal Ganglia and Beyond
（代表者：藤山文乃　2014 年 9 月 8 日－9 月 9 日）..... 440
２．Conference on Neural Oscillation
（代表者：池田昭夫　2014 年 7 月 17 日－7 月 18 日）..... 449

1．A Quarter Century after the Direct and Indirect Pathways Model of the Basal Ganglia and Beyond

2014 年 9 月 8 日－9 月 9 日
代表・世話人：藤山文乃（同志社大学）
所内対応者：南部　篤（生体システム）

（1）Interactions between the cerebellum and basal ganglia
Henrik Jörntell (Lund University, Sweden)

（2）Associative learning with blindsight
Tadashi Isa (NIPS, Okazaki)

（3）Rewards, midbrain and visual cortex
Wim Vanduffel (Leuven Katholic University, Belgium)

（4）The micro-circuitry of the basal ganglia in relation to cortical innervation
Fuyuki Karube (Doshisha University, Kyoto)

（5）Dopamine D1 and D2 receptors differently modulate information processing through the basal ganglia
Satomi Chiken (NIPS, Okazaki)

（6）Motor and reward information in striatal direct and indirect pathway neurons
Yoshikazu Isomura (Tamagawa University, Tokyo)

（7）Striatal control of direct and indirect pathways: concepts, experimental approaches and paradoxes
Olivier Darbin (South Alabama University, USA)

（8）Cortico-basal ganglia networks subserving goal-directed behavior mediated by conditional visuo-goal association
Eiji Hoshi (Tokyo Metropolitan Institute for Medical Science, Tokyo)

（9）Neuronal activity in the motor thalamus of dopamine-intact and Parkinsonian rats: firing rate vs. pattern
Kouichi C. Nakamura (Kyoto University, Kyoto)

（10）Functions of basal ganglia pathways in the healthy brain and their dysfunctions in Parkinson’s and Huntington’s disease
Henning Schroll (Chemnitz University of Technology, Germany)

（11）A spiking neural network based on the basal ganglia functional anatomy
Javier Baladron Pezoa (Chemnitz University of Technology, Germany)

（12）Corticostriatal temporal difference (CS-TD) hypothesis challenges the Go/No-Go learning model of the basal ganglia
Kenji Morita (The University of Tokyo, Tokyo)

【参加者名】

礒村宜和（玉川大学），星　英司（東京都医学総合研究所），藤山文乃，苅部冬紀，高橋　晋，呉　胤美，中野泰岳，水谷和子（同志社大学），森田晶子，和中明生（奈良県立医科大学），中村公一，森田真規子，疋田　貴俊，Tom Macpherson（京都大学），Youcef Bouchekioua（慶応義塾大学），Fred H. Hamker（Prof. Dr.-Ing., Artificial Intelligence, Computer Science Chemnitz University of Technology），Javier Baladron Pezoa，Henning Schroll（Professur Künstliche Intelligenz Fak. für Informatik TU Chemnitz），Henrik Jörntell（Department of Experimental Medical Science, Lund University），Wim Vanduffel（Leuven Katholic University），森田賢治，加藤郁佳（東京大学），引間卓弥，Violeta Lopez Huerta，Hermina Nedelescu（沖縄科学技術大学），伊佐　正，Olivier Darbin，知見聡美，川口泰雄，植田禎史，南部　篤，永井　渉，加藤利佳子，Alsayed A. Mohamed，大塚　岳（生理研）

【概要】

大脳基底核の神経連絡を説明する標準的なモデルである「直接路・間接路モデル」が提唱されてから四半世紀が過ぎようとしている。このモデルによって，大脳基底核の機能，パーキンソン病をはじめとする基底核疾患の病態生理，脳深部刺激療法（DBS）を含む定位脳手術のメカニズムなどの理解が飛躍的に進んだ。しかし，その一方，多くの矛盾点，解決できない問題が指摘され，見直すべき時期にきている。そこで国内外の神経生理学，神経解剖学，数理モデルの成果を結集して，新しい基底核研究の戦略を構築することを目的に, Neuroscience 2014 のサテライトシンポジウムとして, 戦略的国際科学技術協力推進事業, 包括脳，日本学術振興会二国間交流事業からの支援を得て，本研究集会を 2014 年 9 月 8 日に生理学研究所（明大寺キャンパス）にて開催した。１２の講演（講演者としては，スウェーデン，ベルギー，独，米から５名，国内から７名）と１３のポスター発表があり，５８名（海外１２名，国内４６名）が参加した。「直接路・間接路モデル」に関して関連周辺領域も含め，より大きな視野で，講演者同士が活発に議論し問題点を深めることができた。また，比較的ゆったりした雰囲気の中で，参加者と講演者との交流もはかれた。

（1）Interactions between the cerebellum and basal ganglia

Henrik Jörntell
Neural Basis for Sensorimotor Control,
Department of Experimental Medical Science, Lund University
SE-221 84 Lund, Sweden

Numerous indications of interactions between the cerebellum and the basal ganglia have appeared recently. So far, the evidence for the mechanisms is limited but the possible links have been suggested to be potentially important in the clinical states associated with primary basal ganglia disease. This presentation will be a brief overview of where the links could lie. In addition, for discussing the potential functional significance of the individual links, the presentation will start with an overview of the functional organization of the cerebellum and the changing view on the general organization of movement control in the brain.

The links of interaction between the cerebellum and basal ganglia exist both at the functional level and at the circuitry level. Functionally, the link is natural since both structures regulate both motor and cognitive functions of the brain. At the more general functional level, both structures are assumed to be important for associative learning. In addition, dystonia can be a consequence of disease in either structure, which may have a deeper functional implication for the interaction between these two structures than is generally appreciated. At the circuitry level, recent studies indicated a link in the cerebello-thalamo-striatal and subthalamo-pontocerebellar pathways. Additional potential circuitry links are discussed.

（2）Associative learning with blindsight

Tadashi Isa
National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan

Associative learning is a fundamental aspect of brain function that animals use to modify their behavior in natural environments. To test whether subjective awareness of conditioned stimuli is essential for visual associative learning, we examined the associative properties of visual cues presented to the hemianopic field of macaque monkeys with unilateral lesions of primary visual cortex, an animal model of human blindsight. We showed that conditioned anticipatory responses could be evoked by classically conditioned visual stimuli presented to the subjects' lesion-affected hemifield. Similarly, in an instrumental conditioning paradigm, visual cues presented to the lesion-affected hemifield were effective secondary reinforcers, despite evidence that the monkey was unaware that a reinforcing stimulus had been presented. These results show that subjective awareness of visual stimuli is not a requirement for visual associative learning, and that the residual, probably subcortical visual pathways, can access fundamental reinforcement mechanisms within the brain. We will also present our preliminary data of the single unit recordings from dopamine neurons while the blindsight monkeys are performing the classical conditioning task.

（3）Rewards, midbrain and visual cortex

Wim Vanduffel
Leuven Katholic University, Belgium

In my talk I will discuss how rewards can selectively modulate activity in the visual cortex of monkeys. This selective reward signal, which has all the properties of a reward prediction error signal, depends on dopaminergic signalling. Since we found a correlation between activity in ventral midbrain and this spatially-selective reward signal in visual cortex we started to manipulate activity in ventral midbrain and I will discuss the first behavioral primate results of stimulating the ventral tegmental area.

（4）The micro-circuitry of the basal ganglia in relation to cortical innervation

Fuyuki Karube [1,2], Kazuko Mizutani [1], Yoon Mi Oh [1], Fumino Fujiyama [1,2]
[1] Laboratory of Neural Circuitry, Graduate School of Brain Science, Doshisha University, Kyoto, Japan
[2] CREST, JST.

The concept of direct/indirect pathways has been an attractive model of the basal ganglia (BG), which classically compared to combination of an accelerator and a brake for motor behaviors. Recent experiments have revealed more complicated interrelationship between these different pathways in behavioral control. The neural circuits for direct/indirect/hyper-direct pathways therefore should be investigated more finely to explain actual complicated behaviors.

To re-examine the BG neural circuitry anatomically, we

focused on two aspects: the cortical innervation of the BG and the interrelationship among the each BG nucleus. For the first aspect, because wide range of cortical area provides massive excitatory inputs to the striatum and subthalamic nucleus (STN), it is important to know how these inputs segregate or converge in the BG. For the latter aspects, each BG nucleus could be divided into subregions in various ways. Calcium binding protein calbindin-D28K (CB) is expressed heterogeneously among striatal projection neurons, showing CB-immunopositive (matrix) and immunonegative (patch) components. Globus pallidus external segment (GPe) and substantia nigra (SN) are also composed of CB-subregions, although the functional meaning of the subregions is not fully uncovered. Thus, here we investigated the intra-BG circuitry in relation to CB-subregions and its relationship with the cortical innervation.

We found that the primary motor, secondary motor, and non-motor lateral orbital area differentially innervated both the striatum and STN. In the striatum, the cortico-striatal terminal distribution partially related to the CB expression, including patch and matrix components. Single cell reconstruction and tracing studies revealed each GPe subregion possessed characteristic projection patterns toward the striatum and SN. In addition, STN subregions distinguished by either cortical or GPe innervation patterns seemed to be well matched with each other, namely, the STN subregions innervated by the frontal (no-motor) cortical area mainly received pallidal projections from the CB-immunopositive GPe, whereas the central STN subregion was innervated by the primary motor cortex and the CB-immunonegative GPe subregion.

These data suggest that topographic organization of cortico-BG projections could well correlated with that of the intra- BG micro circuitry. These correlated circuits could contribute to control coordinated motor and non-motor behaviors efficiently.

（5）Dopamine D1 and D2 receptors differently modulate information processing through the basal ganglia

Satomi Chiken and Atsushi Nambu
Division of System Neurophysiology, National Institute for Physiological Sciences,
and The Graduate University for Advanced Studies, Okazaki, Japan

Dopamine in the basal ganglia plays a crucial role in controlling voluntary movements. The striatum, a main input station of the basal ganglia, receives excitatory inputs from the cerebral cortex and dopaminergic inputs from the substantia nigra pars compacta. Striatal projection neurons are divided into two groups: direct pathway neurons with dopamine D1 receptors (D1Rs) projecting to the internal segment of the globus pallidus (GPi) and indirect pathway neurons with dopamine D2 receptors (D2Rs) projecting to the external segment of the globus pallidus (GPe). To clarify the role of D1Rs and D2Rs in information processing through the basal ganglia, we recorded activity of GPi and GPe neurons in (1) D1R knockdown (D1RKD) mice whose D1Rs are conditionally and reversibly regulated by doxycycline (Dox), and (2) D2R knockout (D2RKO) mice under awake state.

In both GPi and GPe neurons of D1RKD mice before Dox administration, cortical stimulation evoked triphasic responses composed of early excitation followed by inhibition and late excitation, similar to those observed in wild-type mice. However, after suppression of D1R expression by Dox administration, the cortically evoked inhibition of GPi neurons was markedly attenuated, while no significant changes were observed in GPe neurons. The cortically evoked inhibition of GPi neurons is mediated by the cortico-striato-GPi pathway, suggesting that excitability of striato-GPi direct pathway neurons was decreased after suppression of D1R expression. In addition, spontaneous motor activities reduced significantly after suppression of D1R expression. On the other hand, in D2RKO mice, the cortically evoked inhibition and following excitation in GPe

neurons were drastically increased. The cortically evoked inhibition and late excitation of GPe neurons are mediated by the cortico-striato-GPe and cotico-striato-GPe-subthalamo-GPe pathways, respectively, suggesting that excitability of striato-GPe indirect pathway neurons was enhanced in D2RKO mice.

These results suggest that dopamine crucially controls striatal excitability through D1Rs and D2Rs: dopaminergic inputs through D1Rs are essential to maintain excitability of striato-GPi direct pathway neurons and to release appropriate movements, while those through D2Rs suppress excitability of striato-GPe indirect pathway neurons.

（6）Motor and reward information in striatal direct and indirect pathway neurons

Yoshikazu Isomura
Brain Science Institute for Neuroscience, Tamagawa University, Tokyo, Japan

The dorsolateral part of striatum in the rat, receiving synaptic inputs from the primary motor cortex, plays a crucial role in controlling voluntary movements as a component of the skeletomotor loop. It is well known that most of striatal neurons are the medium spiny neurons (the only types of projection neurons) which receive glutamatergic inputs from the cerebral cortex and send GABAergic outputs to other parts of the basal ganglia. The striatal projection neurons participate in either the direct pathway (expressing dopamine D1 receptors) or the indirect pathway (D2 receptors) exclusively. The D1- and D2-expressing neurons should be excited and inhibited, respectively, by dopamine release from substantia nigral dopaminergic neurons encoding a reward prediction error. So far, people have believed that the activation of direct pathway results in an enhancement of voluntary movements (like as an accelerator in automobile), while the activation of the indirect pathway results in a depression of them (a brake). However, it remains unknown how differently individual striatal neurons for the two pathways represent motor information, and whether their motor information is modulated by reward expectation. Recently, we juxtacellularly examined the spike activity of single dorsolateral striatal neurons in the rats performing voluntary forelimb movements in a reward-expectable condition. Our observations suggest that the two-pathway system may work, not just antagonistically, but rather coordinately by functional activations of individual striatal neurons to integrate motor and reward information.

Isomura Y et al. (2013) Reward-modulated motor information in identified striatum neurons. J Neurosci 33(25): 10209-10220

（7）Striatal control of direct and indirect pathways: concepts, experimental approaches and paradoxes

Olivier Darbin, PhD
Department of Neurology, University South Alabama, Mobile AL, USA.
Div. of Syst. Neurophysiol., National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan.
Animal Research Program, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA.

The concept of direct and indirect pathways is built upon the anatomical organization of the striatal output neurons, also referred as medium spiny neurons (MSNs). About half of these medium spiny neurons carries directly the information to the output nuclei of the basal ganglia (the globus pallidus external and the substantia nigra reticulata) while the other half carries the information indirectly to these output nuclei via a relay into the globus pallidus internal. The unique

segment of the direct pathway and the two segments of the indirect pathway use GABA as neurotransmitters. Under the assumption that striatal MSNs are principally driven directly by the cortical inputs, and respond homogenously to this excitatory drive, the two pathways have been envisaged to have strict opposing affects on the activities of the basal ganglia output nuclei (1).

More recently, the interconnections between MSN neurons and the striatal network have been under growing interest. Striatal MSN neurons are embedded in a complex local micro-circuitry which include various afferences, interneurons (GABAergic, cholinergic) and collaterals between MSNs. The functional importance of this striatal network on the local control of MSNs has recently been integrated in new models (2). These models suggest that the striatal microcircuitry interconnects the MSNs from both direct and indirect pathways and renders their activity interdependent. The fact that direct and indirect pathways exhibit specific interconnections with the striatal micro-circuitry challenge previous assumptions and suggest (i) that MSNs neurons may respond heterogeneously to the cortical drive and (ii) that direct and indirect pathways may have effects more complex than a strictly opposed control on basal ganglia output nuclei and, ultimately, motor processing.

The updated view on the striatal control of the direct and indirect pathways is offering new challenges to functionally investigate this higher order of complexity in the processing of motor information. After reviewing the inter-connections of the MSNs within the striatal microcircuitry, we will discuss some new avenues to further investigate the functional role of the striatal microcircuitry in the control of the direct and indirect pathway and, ultimately, the output nuclei of the basal ganglia(3).

1. Gatev, P., Darbin, O., and Wichmann, T. (2006) Oscillations in the basal ganglia under normal conditions and in movement disorders. Mov Disord 21, 1566-1577

2. Cui, G., Jun, S. B., Jin, X., Pham, M. D., Vogel, S. S., Lovinger, D. M., and Costa, R. M. (2013) Concurrent activation of striatal direct and indirect pathways during action initiation. Nature 494, 238-242

3. Darbin, O., Adams, E., Martino, A., Naritoku, L., Dees, D., and Naritoku, D. (2013) Non-Linear Dynamics in Parkinsonism. Front Neurol 4, 211

（8）Cortico-basal ganglia networks subserving goal-directed behavior mediated by conditional visuo-goal association

Eiji Hoshi
Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo, Japan

Action is often executed according to information provided by a visual signal. Based on a framework derived from conditional visuomotor association, prior studies have identified neural mechanisms in the dorsolateral prefrontal cortex (dlPFC), ventrolateral prefrontal cortex (vlPFC), and dorsal premotor cortex (PMd), and basal ganglia (BG). However, applications resting solely on this conceptualization encounter problems related to generalization and flexibility, essential processes in executive function, because the association mode involves a direct one-to-one mapping of each visual signal onto a particular action. To overcome this problem, we extend this conceptualization and postulate a more general framework, conditional visuo-goal association. According to this new framework, the visual signal identifies an abstract behavioral goal, and an action is subsequently selected and executed to meet this goal. Neuronal activity recorded from the four key areas of the brains of monkeys performing a task involving conditional visuo-goal association revealed three major mechanisms underlying this process. First, visual-object signals are represented primarily in the vlPFC and BG. Second, all four areas are involved in initially determining the goals based on the visual signals, with the dlPFC and PMd playing major roles in maintaining the salience of the goals. Third, the cortical areas (dlPFC,

vlPFC, and PMd) play major roles in specifying action, whereas the role of the BG in this process is restrictive. These new lines of evidence reveal that the four areas involved in conditional visuomotor association contribute to goal-directed behavior mediated by conditional visuo-goal association in an area-dependent manner.

(9) Neuronal activity in the motor thalamus of dopamine-intact and Parkinsonian rats: firing rate vs. pattern

Kouichi C. Nakamura
Department of Morphological Brain Science, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan

The cerebral cortex, basal ganglia and thalamus together form looping circuits that are critical for movement. Some cardinal movement difficulties of Parkinson's disease are associated with the emergence of abnormal neuronal oscillations, particularly at beta frequencies (13-30 Hz), in the cortex and basal ganglia. Defining the activity of neurons of the motor thalamus is imperative for understanding the neural basis of normal and impaired movement because they are key mediators of basal ganglia influences on cortical information processing. The motor thalamus is parcellated into two major zones according to their distinct subcortical inputs; the 'basal ganglia-recipient zone' (BZ) is bombarded by inhibitory GABAergic inputs from basal ganglia whereas the 'cerebellar-recipient zone' (CZ) is bombarded by excitatory glutamatergic inputs from cerebellar nuclei. To address the key issues of whether neurons in the two anatomically-defined zones of motor thalamus exhibit different activities, and how their activities might be disturbed in Parkinsonism, we recorded the spontaneous firing of identified BZ and CZ neurons under anesthesia in dopamine-intact rats as well as rats rendered Parkinsonian by unilateral 6-hydroxydopamine (6-OHDA) lesions. Although the firing rates and patterns of thalamic neurons in both zones in dopamine-intact rats were clearly brain state- dependent, the mean firing rates of BZ neurons remained similar to those of CZ neurons during slow-wave activity and cortical activation. During slow-wave activity, the low-threshold spike bursts fired by BZ neurons were slower than those of CZ neurons, and the firing of BZ neurons was better phase-locked to cortical slow (1 Hz) oscillations. Thus, the contrasting input organizations of the two zones of motor thalamus are not reflected in firing rates at rest, but by subtle differences in firing patterns. In the 6-OHDA-lesioned rats, we found no evidence of pathologically-reduced firing rates in either zone of motor thalamus, contrary to classic schemes of Parkinsonian circuit dysfunction. However, after dopamine depletion, the tight coupling of firing of BZ neurons to cortical slow oscillations was phase-shifted. Moreover, during cortical activation, many BZ neurons, but not CZ neurons, exhibited pronounced beta oscillations, which were not seen in dopamine-intact rats. We conclude that, within motor thalamus, the effects of dopamine loss in Parkinsonism are confined to the BZ, and that the thalamocortical substrates of Parkinsonian movement difficulties are more closely related to abnormal firing patterns, as exemplified by excessive beta oscillations, than altered firing rates.

（10）Functions of basal ganglia pathways in the healthy brain and their dysfunctions in Parkinson's and Huntington's disease

Henning Schroll
Professur Künstliche Intelligenz, Fak. für Informatik, TU Chemnitz, Chemnitz, Germany

I will present a computational model of synaptic plasticity in basal ganglia pathways. Via synaptic self-organization, these pathways learn to establish associations between stimuli and rewarded responses, where the direct pathway facilitates rewarded responses, the hyperdirect pathway inhibits competing responses and the indirect pathway inhibits previously rewarded but now unrewarded responses. Simulating dopamine loss in this model to study pathway dysfunctions in Parkinson's disease resulted in increased response conflict due to less consistent facilitation of rewarded responses (direct pathway), active inhibition of rewarded responses (indirect pathway) and even facilitation of unrewarded responses (direct pathway). Simulating lesions of basal ganglia pathways to scrutinize the neurodegenerative basis of learning deficits in patients with Huntington's disease revealed that only combined lesions of direct and indirect pathways could reproduce empirical data, while neither any of these lesions alone nor lesions of the hyperdirect pathway could reproduce effects. Overall, I want to demonstrate the usefulness of computational modeling for the study of basal ganglia pathway dysfunctions in neurological and psychiatric disorders.

（11）A spiking neural network based on the basal ganglia functional anatomy

Dr. Javier Baladron Pezoa
Professur Künstliche Intelligenz, Fak. für Informatik, TU Chemnitz, Chemnitz, Germany

In this talk I will introduce a spiking neural network of the basal ganglia capable of learning stimulus-action associations. We model learning in the three major basal ganglia pathways, direct, indirect and hyperdirect, by spike time dependent learning and considering the amount of dopamine available (reward). Moreover, we allow to learn a cortico-thalamic pathway that bypasses the basal ganglia. As a result the system develops new functionalities for the different basal ganglia pathways: The direct pathway selects actions by disinhibiting the thalamus, the hyperdirect one suppresses alternatives and the indirect pathway learns to inhibit common mistakes. Numerical experiments show that the system is capable of learning sets of either deterministic or stochastic rules.

（12）Corticostriatal temporal difference (CS-TD) hypothesis challenges the Go/No-Go learning model of the basal ganglia

Kenji Morita
Physical and Health Education, Graduate School of Education, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

The cortico-basal ganglia system has been suggested to be centrally involved in value-based learning and decision making. The prevailing hypothesis is that the direct (D1) and indirect (D2) pathways of the basal ganglia separately serve learning from good (appetitive) and bad (aversive) outcomes to reinforce 'Go' and 'No-Go' responses, respectively (Frank et al., 2004, Science 306:1940). This Go/No-Go learning hypothesis relies on, but does not explain, a widely

appreciated notion that dopamine (DA) represents reward prediction error (RPE). Recently, we have proposed a mechanism for the DAergic representation of RPE (Morita et al., 2012, Trends Neurosci 35:457; Morita et al., 2013, J Neurosci 33:8866) named the corticostriatal temporal difference (CS-TD) hypothesis, based on the recently revealed intracortical connectivity of intratelencephalic- (IT-) and pyramidal-tract- (PT-) type corticostriatal cells, as well as on the anatomical suggestion about preferential activation of D1 and D2 pathways by IT- and PT-type corticostriatal cells, respectively. A later work (Kress et al., 2013, Nat Neurosci 16:665) reported that brief optogenetic stimulation of IT, or PT, axons induces comparable, or D1 pathway-dominant, responses, respectively, apparently contradictory to the CS-TD hypothesis. However, my subsequent model fitting of past physiological results under the constraint of the optogenetic results (Morita, 2014, J Neurophysiol 112:120) indicates that repetitive (rather than brief) IT or PT inputs can indeed preferentially activate D1 or D2 pathway, respectively, by virtue of a combination of anatomical connection preferences and connection type-dependent short-term synaptic plasticity, providing a renewed support for the CS-TD hypothesis. Importantly, the CS-TD hypothesis posits that D1 and D2 pathways cooperate, with time difference, for any type of value learning including both appetitive and aversive learning, thereby clearly distinct from the Go/No-Go learning hypothesis. It is thus of particular interest to examine if the CS-TD hypothesis can explain empirical findings that have so far been regarded as evidence for the Go/No-Go learning hypothesis. I have successfully addressed this issue through modeling and simulations of four different experiments, and also obtained testable predictions. In this talk, I would like to explain the results of these works, to argue that the CS-TD hypothesis is a powerful alternative to the Go/No-Go learning hypothesis.

２．Conference on Neural Oscillation

2014 年 7 月 17 日－7 月 18 日

代表・世話人：池田昭夫（京都大学大学院医学研究科てんかん・運動異常生理学）

美馬達哉（京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター）

所内対応者：南部　篤（自然科学研究機構生理学研究所生体システム研究部門）

（１）「Possible Functional Role of Cortical Beta Rhythm: a Modeling Approach」
大脳皮質のβ律動の機能的役割：モデリングによるアプローチ
森田賢治（東京大学）

（２）「Slow calcium oscillation in striatum」
線条体における遅いカルシウムオシレーション
小山内実（東北大学）

（３）「Glutamatergic and GABAergic Control of Monkey Pallidal Neuronal Activity during Performance of a Motor Task」
運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロン活動のグルタミン酸および GABA 作動性調節
畑中伸彦（生理学研究所）

（４）「Global brain dysrhythmia, it role in nonhuman primate movement disorders and its response to deep brain stimulation」
Kevin W. Maccairn（京都大学）

（５）「Orchestrating brain activity towards neuroenhancement」
Matteo Feurra (University of Siena)

（６）「Supraspinal Control of Locomotor Rhythm」
上位中枢による歩行リズムの制御
高草木薫（旭川医科大学）

（７）「Variability in response to non-invasive brain stimulation protocols」
非侵襲的脳刺激による可塑性のばらつきとその機序について
濱田　雅（東京大学）

（８）「Phase-dependent modulation of transcranial alternating current stimulation in the primary motor cortex」
一次運動野における経頭蓋交流電気刺激の位相に依存した効果
中薗寿人（九州大学）

（９）「Transcranial slow-oscillatory DC stimulation (tSOS) for neurorehabilitation of gait」
径頭蓋的徐波律動刺激 (rSOS) による歩行のニューロリハビリ
小金丸聡子（京都大学）

(10)「Diversity and Universality of Neural Oscillations from the Aspect of Mathematical Modeling」
数理モデリングから見た神経振動現象の多様性と普遍性
津田一郎（北海道大学 電子科学研究所）

(11)「Generative process of epileptic high-frequency oscillations」
てんかん性高周波振動の発生プロセスを探る
小林勝弘（岡山大学）

(12)「Interictal and ictal synchronization of cortical high frequency oscillation in　focal epilepsy patients」
Yu-Ping Wang (Capital Medical University)

（13）「Brain modules revealed by resting-state functional connectivity」
安静時機能的結合解析による脳モジュール回路解明にむけて
小西清貴（順天堂大学）

（14）「Social interaction represented by inter-individual neural synchronization」
二個体間での脳活動共振として表現される「社会性」
小池耕彦（生理学研究所）

（15）「An analysis on temporal dynamics of neuromagnetic activities related to the perception of illusory motion」
運動錯視知覚に関連する神経磁場活動の時間的動態解析
竹田昂典（九州大学）

（16）「Optogenetic retrogression of epileptogenesis」
光遺伝学によるてんかん原生獲得の後退
下田由輝（東北大学）

（17）「Decreased tonic inhibition in cerebellar granule cells causes motor dysfunctions in mouse model of Angelman syndrome」
アンジェルマン症候群小脳持続抑制の減少が小脳機能障害を引き起こす
江川　潔（北海道大学）

（18）「$GABA_A$ receptor activation underlies the temporal regulation of cellular properties of the neural stem cells in the mouse developing cortex」
$GABA_A$ 受容体刺激がマウス大脳皮質神経幹細胞の発生の時系列に伴う性質制御の基礎となる
栃谷史郎（福井大学）

【参加者名】

Borgil Bayasgalan（京都大学），Dwi Wahyu（生理学研究所），Kevin W. Mccairn（京都大学），Matteo Feurra（University of Siena），YuPing Wang（Capital Medical University），芦塚あおい（京都大学），池田昭夫（京都大学），石井　徹（京都大学），石橋　遼（京都大学），稲田浩之（生理学研究所），稲野理賀（京都大学），井上岳司（京都大学），井上　洋（大阪大学），岩崎真樹（東北大学），上田禎史（生理学研究所），江川　潔（北海道大学），太田宏之（防衛医科大学校），太田真紀子（京都大学），緒方勝也（九州大学），小山内実（東北大学），岡本秀彦（生理学研究所），尾所光三（生理学研究所），小野健太郎（京都大学），加藤健治（生理学研究所），金沢星慶　（京都大学），金子将也（生理学研究所），小池耕彦（生理学研究所），小金丸聡子（京都大学），小西清貴（順天堂大学），小林一太（日本大学），小林勝弘（岡山大学），小林勝哉（京都大学），斎藤景子（京都大学），櫻井健世（京都大学），櫻庭理絵（東北大学），佐藤　啓（京都大学），佐野裕美（生理学研究所），下田由輝（東北大学），下竹昭寛（京都大学），白水洋史（西新潟中央病院），鈴木迪諒（生理学研究所），大封昌子（京都大学），高草木薫（旭川医科大学），髙田昌彦（京都大学），竹田昂典（九州大学），田村篤史（東北大学），知見聡美（生理学研究所），津田一郎（北海道大学），十河正弥（神戸中央市民病院），十川純平（京都大学），栃谷史郎（福井大学），飛松省三（九州大学），中江卓郎（京都大学），中薗寿人（九州大学），中谷光良（京都大学），南部　篤（生理学研究所），西巻拓也（大日本住友製薬），野嶌一平（名古屋大学），橋爪　幹（埼玉医科大学），畑中伸彦（生理学研究所），花川　隆（国立精神・神経医療研究センター），濱田　雅（東京大学），林　拓也（理化学研究所），福田敦夫（浜松医科大学），藤岡真生（東京大学），文室知之（京都大学），松橋眞生（京都大学），松本理器（京都大学），三上祐介（京都大学），美馬達哉（京都大学），宮崎　茜（北海道大学），虫明　元（東北大学），村井智彦（京都大学），村越隆之（埼玉医科大学），森田賢治　（東京大学），柳澤琢史（大阪大学），横地房子（都立神経病院），吉田正俊（生理学研究所），吉永健二（京都大学），吉村　弘（徳島大学），若林正浩（生理学研究所），渡邊秀光（生理学研究所），渡邊龍憲（名古屋大学）

【概要】

本究会は，神経活動の特徴の一つである律動性，即ちオシレーションに着目し，回路モデルから単一神経細胞記録やスライス実験，ヒトでの研究，臨床応用に至る異なる分野の研究者が領域横断的かつ有機的に連携することで，その機能的意義を統一的に理解し発展させるとともに，次世代の研究者を育成することを目指すものである。

本年の研究会では学生 20 人を含む 83 人の参加があり，皮質・基底核ネットワーク（大脳皮質のβ活動の機能的役割，線条体における遅いカルシウム濃度変化，淡蒼球における神経伝達物質の作動調節，パーキンソン病モデル脳のネットワーク），神経調節（経頭蓋交流刺激と記憶，上位中枢による歩行リズムの制御，非侵襲的脳刺激による脳の可塑性，一次運動野における経頭蓋交流電気刺激の位相と効果，経頭蓋直流徐波律動刺激による歩行リハビリ，など），てんかんと高次脳機能（てんかん性高周波振動の発生プロセス，高周波数律動とてんかん性活動の焦点，安静時脳機能結合解析による脳モジュール回路解明，2 個体間での脳活動共振として表現される社会性，運動錯視知覚に関する神経磁場活動の時間的動態解析，など），神経回路の律動制御（光遺伝学によるてんかん原生獲得の後退，アンジェルマン症候群小脳持続抑制の減少と小脳機能障害，$GABA_A$ 受容体刺激とマウス大脳皮質神計幹細胞の発生，など）の分野について口演と活発な討論が行われた。また，北海道大学の津田教授が教育講演として数理モデリングから見た神経振動現象について日本語で解説していただいた。その他，主に若手研究者による 15 のポスター演題についてはベテラン・若手を交えた意見交換がなされた。

（1）「Possible Functional Role of Cortical Beta Rhythm: a Modeling Approach」
大脳皮質のβ律動の機能的役割：モデリングによるアプローチ

Kenji Morita (Physical and Health Education, Graduate School of Education, The University of Tokyo)

It has been observed that a variety of rhythms can appear in the neural activity in the cerebral cortex. Among them, as for the gamma rhythm, ranging from 30 Hz to 80 Hz, the cellular and circuit mechanisms for its generation and maintenance have been extensively studied, and quite a few findings and suggestions have been obtained, especially those about the presumably pivotal roles of the fast-spiking GABAergic interneurons. In contrast, regarding the beta rhythm, ranging from around 15 Hz to 30 Hz, it appears that much less about its cellular and circuit basis has so far been revealed. However, there are some recent implications that a different type of GABAergic interneuron, namely, low-threshold spiking (LTS) Martinotti cells targeting (distal) dendrites of pyramidal cells, might be involved in the generation of the beta rhythm. If so, then it would occur rather frequently that pyramidal cells receive inhibitory inputs, which are oscillatory as a population at the frequency of beta rhythm, in the distal dendrites. How does such oscillatory inhibition affect the input integration and the output firing activity of pyramidal cells, and what is functional relevance of them? In this talk, I introduce a recent work that has addressed these issues by computational modeling and simulations. In particular, I discuss resonance of neuronal response found in the simulations and its potential functional relevance in relation to a widely known observation that the beta rhythm (coherence) is attenuated upon (prior to) initiation of movements.

References

1) Xiumin Li, Kenji Morita, Hugh P. C. Robinson, Michael Small. Control of layer 5 pyramidal cell spiking by oscillatory inhibition in the distal apical dendrites: a computational modelling study. J Neurophysiol.2013: 109, 2739-2756.

（2）「Slow calcium oscillation in striatum」
線条体における遅いカルシウムオシレーション

Makoto Osanai, Atsushi Tamura, Satomi Kikuta (Tohoku University Graduate School of Medicine; CREST, JST)
Noriyasu Homma (Tohoku University Graduate School of Medicine;)
Naohiro Yamada, Yuichi Yaguchi, Fumito Oboshi (Graduate School of Engineering, Osaka University)

The striatum plays an important role in linking cortical activity to basal ganglia outputs. Group I metabotropic glutamate receptors (mGluRs) are densely expressed in the medium spiny projection neurons. The group I mGluRs are known to modulate the intracellular calcium (Ca^{2+}) signaling. Ca^{2+} is a universal intracellular messenger, and plays enormous versatile rolls in cells. However, the properties of the Ca^{2+} signaling in the striatum remain less understood.

We have found the long-lasting spontaneous calcium transients (referred to as slow Ca^{2+} oscillation), which lasted up to about 300 s, in the striatal neurons and astrocytes (1, 2). Neither the inhibition of action potentials nor ionotropic glutamate receptors blocked the slow Ca^{2+} oscillation. Depletion of the intracellular Ca^{2+} store and the antagonization of inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) receptors blocked the slow Ca^{2+} oscillations. The application of an antagonist against mGluR5 also blocked the slow Ca^{2+} oscillations in both putative-neurons and astrocytes. Thus, the mGluR5-IP3 signal cascade is the primary contributor to the slow Ca^{2+} oscillation in both putative-neurons and astrocytes.

The slow Ca^{2+} oscillations have poor regularity but feature multicellular synchrony. In the condition of blockade of action potentials, the regularity of the Ca^{2+} oscillations was increased, however the cellular correlation of the Ca^{2+} oscillations was reduced. These phenomena were observed only in the corticostriatal slice but not in the striatal slice. Thus, the cortical activities might contribute to the slow Ca^{2+} oscillations.

We found the long-lasting slow Ca^{2+} oscillations in both putative-neurons and astrocytes. These slow Ca^{2+} oscillations were TTX-resistant and mGluR5-dependent. The slow Ca^{2+} oscillations exhibited multicellular synchrony. This phenomenon was similar to the action potential-induced Ca^{2+} transients, in spite of TTX-resistant slow Ca^{2+} oscillations. Intracellular Ca^{2+} can modulate various proteins, thus, the slow Ca^{2+} oscillations we found may regulate the cellular functions leading to change the state of cellular networks in the striatum. Though in a simulation study, we found out that the slow Ca^{2+} oscillation could alter the firing rate of the medium spiny neuron via modulation of Ca^{2+}-activated potassium channels.

References

1) Tamura A, Yamada N, Yaguchi Y, Machida Y, Mori I, Osanai M. Both neurons and astrocytes exhibited Tetrodotoxinresistant metabotropic glutamate receptor-dependent spontaneous slow Ca^{2+} oscillations in Striatum. PLoS ONE (2014) 9: e85351.

2) Osanai M, Yamada N, Yagi T. Long-lasting spontaneous calcium transients in the striatal cells. Neurosci Lett (2006) 402: 81-85.

（3）「Glutamatergic and GABAergic Control of Monkey Pallidal Neuronal Activity during Performance of a Motor Task」
運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロン活動のグルタミン酸および GABA 作動性調節

Nobuhiko Hatanaka, Nobuya Kaneko, Atsushi Nambu (Division of System Neurophysiology, NIPS)
Sayuki Takara (Bio-function Imaging Team, CLST, RIKEN)

The basal ganglia (BG) are a group of nuclei composing loop circuitry with the cerebral cortex (Cx) and thalamus, and are essential for control of voluntary movements. Lesions in the BG result in severe disturbance in the voluntary movements. The subthalamic nucleus (STN) and striatum (Str) are input stations of the BG. The external segment of the globus pallidus (GPe) connects reciprocally with the STN and sends projection to the internal segment of the globus pallidus (GPi). The GPi receives inputs from the STN, GPe and striatum (Str), and sends projections to the Cx via the thalamus. Thus, it is a key to analyze the mechanism controlling GPi and GPe activity through these BG connections during voluntary movements in order to understand the functions of the BG. Moreover, oscillatory activity in the STN may propagate to other BG structures through these connections during Parkinson's disease.

Macaque monkeys were trained to perform a goal-directed reaching task with delay. An electrode assembly consisting of a microelectrode for unit recording and two silica tubes for drug delivery was inserted into the GPi/GPe. After confirmation of response to stimulation of motor cortices, neuronal activity during the performance of the task was recorded. Then, one of following drugs was injected through a silica tube in the vicinity of recoding neurons: (1) a mixture of the AMPA/kainate receptor antagonist (NBQX, 0.5mM) and the NMDA receptor antagonist (CPP, 0.5mM) (NBQX+CPP) to block the glutamatergic input from the STN; (2) the $GABA_A$ receptor antagonist gabazine (0.5mM) to block the GABAergic inputs from the GPe and Str. After confirmation of response change to the cortical stimulation, the task-related unit activities were recorded. Similarly, the effect of the other drug was also examined.

The present study showed the following results: 1) Both glutamatergic and GABAergic inputs contributed to the movement-related GPi/GPe activity, and their weights were different among neurons; 2) Phasic glutamatergic and GABAergic changes preceded the onset of movements in more than half of GPi/GPe neurons; 3) Both phasic glutamatergic and GABAergic inputs were dependent on directions of movements; 4) In addition to incremental glutamatergic and decremental GABAergic components, decremental glutamatergic and incremental GABAergic minor components were also observed. They are considered to be caused by disfacilitatory and disinhibitory mechanism; 5) Sustained glutamatergic inputs in the GPi were observed during delay periods.

（4）「Global brain dysrhythmia, its role in nonhuman primate movement disorders and its response to deep brain stimulation」

Kevin W. McCairrn (Movement disorders laboratory, Korea Brain Research Institute)

Low-frequency oscillations and enhanced synchrony between single cells and local field potentials are a common feature and diagnostic signal for movement disorders such as Parkinson’s disease (PD). These oscillatory phenomena have been repeatedly identified in the mid-and-fore brain cortico-basal ganglia networks of both PD patients and animal models. Recent studies have suggested that the basal ganglia not only have strong reciprocal connections with the cortical mantle but large projections also exist connecting the basal ganglia with the cerebellum. In this talk, I will discuss our

findings with respect to cerebella activity in a nonhuman primate model of PD. Using simultaneous multi-electrode recording from cortico-basal ganglia-cerebella networks, I will demonstrate that increased oscillatory activity in local field potentials can be found at all the major nodes of the brain – Including the cerebellum. Then using Granger causality computation, show that the causal flow of the pathological dysrhythmia can be localized to the output of the basal ganglia.

The data will then be expanded to include data from deep brain stimulation (DBS) studies that have targeted the output nuclei of the basal ganglia – the globus pallidus internus (GPi). This data will show that DBS induces complex patterns of firing around the stimulating electrode that suppresses locally occurring PD related oscillations; and this suppression of oscillatory activity is reflected in downstream motor centers of the cerebral cortex.

（5）「Orchestrating brain activity towards Neuroenhancement」

Feurra Matteo, Giulia Galli, Simone Rossi
(Dipartimento di Scienze Neurologiche e Neurosensoriali, Sezione di Neurologia e Neurofisiologia Clinica, Azienda Ospedal iera-Universitaria Senese, Policlinico Le Scott e, Siena, Italy)
Enea Francesco Pavone, Alessandro Rossi (Fondazione Santa Lucia, IRCCS, Rome, Italy)

In the last two decades, non-invasive brain stimulation (NIBS) techniques allowed to establish causal relationships between some brain regions and some cognitive functions. Recently this research area has taken some giant steps forward, by moving towards the frequency-specific interaction between external stimulation and the endogenous oscillatory brain activity: the so-called “Entrainment Phenomenon” 1. It may now be possible to orchestrate the brain oscillatory activity by external periodic electrical forces. Not so long ago, pioneer studies demonstrated first frequency-dependent and then state-dependent entrainment of brain oscillatory activity to Transcranial Alternating Stimulation (tACS) 2-5. Here we assessed whether transcranial Alternating Current Stimulation (tACS) can increase healthy individuals’ verbal memory span. Online imperceptibly weak electrical currents in the alpha (10 Hz), beta (20 Hz), theta (5 Hz) and gamma (40 Hz) range, as well as a sham stimulation, were randomly delivered over the left lateral posterior parietal cortex, an area which has been previously associated with digit span performance. Each session of stimulation lasted 3-3.5 minutes. In the forward digit span, stimulation in the beta range significantly increased the number of items recalled, confirming the critical role of beta rhythm in the maintenance and rehearsal of information in working memory. Only minor effects of tACS were observed in the backward task. These results provide one of the first evidence that tACS can have enhancing effects on memory, even on a relatively stable trait as memory span capacity. Our findings thus pave the way for clinical application of this technique in patients with memory disorders.

（6）「Supraspinal Control of Locomotor Rhythm」
上位中枢による歩行リズムの制御

Kaoru Takakusaki (Research Center for Brain Function and Medical Engineering, Asahikawa Medical University)

未公表データのため，抄録非掲載

（7）「Variability in response to non-invasive brain stimulation protocols」
非侵襲的脳刺激による可塑性のばらつきとその機序について

Masashi Hamada (Dept of Neurology, the University of Tokyo)

Non-invasive brain stimulaiton (NIBS) is an effective tool to stimulate neurons in intact human brain. Several protocols inducing lasting effects in the motor cortex have been described, such as theta burst stimulation (TBS), transcranial direct current stimulation (TDCS), paired associative stimulation (PAS), and quadripulse stimulation (QPS). Subsequent studies showed that the effects depended on synaptic plasticity as NMDA anatagonist abolished NIBS induced plasticity. Accordingly, NIBS is an attractive tool to investigate synaptic plasticity as well as learning and memory in humans.

However, it has been recently recognized that the effects of NIBS are highly variable with around 50% of individuals having poor or absent responses. Understanding the variabilty is quite important if NIBS is to be used therapeutically since any successful treatment should have repeatable effects on a high proportion of treated individuals. Number of factors has been identified to explain this variablity, such as age, gender, time of the day, synaptic history, state of the cortex and interneuron networks. In this talk, I will introduce recent research on the variablity in response to NIBS protocols and discusse potential mechanisms for this variability.

（8）「Phase-dependent modulation of transcranial alternating current stimulation in the primary motor cortex」
一次運動野における経頭蓋交流電気刺激の位相に依存した効果

Hisato Nakazono, Katsuya Ogata, Tsuyoshi Kuroda, Shozo Tobimatsu
(Dept. of Clinical Neurophysiology, Kyushu University)

Introduction: Recently, transcranial alternating current stimulation (tACS) has been introduced, which can enhance cortical excitability depending on the stimulus frequency. The underlying mechanism of tACS has not been fully elucidated, but tACS possibly synchronizes ongoing neural oscillation. If this is the case, the effect of tACS could be dependent on its phases as well as frequency. The current experiment was conducted to gain further insights into the effect of tACS over M1, focusing on phase-dependent modulation of tACS on MEPs.

Methods: Sixteen healthy subjects participated in this study. Alternating current of 1mA passed between the left M1 and Pz electrodes. The frequency of tACS was set at 10 Hz and 20 Hz, M1 excitability was evaluated by MEPs with TMS. The timing of TMS was adjusted to one of the phase of 90˚ 180˚ 270˚ or 360˚ according to the phase angle of the sine wave of tACS at each frequency.

Results: The MEP amplitudes significantly increased at 10 Hz tACS at only 90° phase compared with that of baseline session.

Discussion: We found that the effect of tACS was phase-dependent for both at 20 Hz and 10 Hz tACS. This finding would be in line with a previous report of an animal experiment that the neural firing was synchronized to a phase of tACS. On the other hand, the modulatory effects of tACS at 90° were different between the tACS frequencies. Since tACS electrodes was placed over sensorimotor areas including primary sensory cortex, the difference in tACS effect may be derived from the difference in synchronizing region or network of the brain.

（9）「Transcranial slow-oscillatory DC stimulation (tSOS) for neurorehabilitation of gait」
径頭蓋的徐波律動刺激 (rSOS) による歩行のニューロリハビリ

Satoko Koganemaru (Dept. of Brain Integrative Science, Kyoto University)
Tatsuya Mima (Human Brain Research Center, Kyoto University)

Transcranial DC stimulation (tDCS) is now widely used in the field of neurorehabilitation and neuroscience, because tDCS is easy to perform and safe with minimal risks of epilepsy. Neurophysiological effects of tDCS are polarity-specific; anodal stimulation is excitatory and cathodal one is suppressive.

In addition to conventional tDCS, recent studies applied patterned tDCS, such as, transcranial AC stimulation (tACS) (1), slow-oscillatory stimulation (tSOS) (2, 3), and random-noise stimulation (tRNS) (4). Although the exact mechanism of patterned tDCS has not been clarified yet, it is likely that patterned stimulation would enhance the specific neuronal circuit associated with intrinsic rhythmicity.

Since the human bipedal gait requires supraspinal motor control in addition to subcortical pattern generator system and the walking ability is important for patients' QOL, we investigated whether tSOS given over M1 foot area simulating the gait cycle can induce plastic changes of corticospinal tracts of the lower extremities.

Nine healthy subjects participated in the study. In the experiments, they were given tSOS during gait (SOS+gait), sham stimulation during gait (Sham+gait) or tSOS only in a cross-over design. Results showed the significant enhancement of corticospinal excitability in TA muscles of the stimulated side after tSOS+gait, but not after Sham+gait nor tSOS only. We believe that tSOS in combination with gait might be a promising method for enhancement of the supraspinal control during gait, and especially in neurorehabilitation for patients with gait disturbances.

References

1) Antal A, Paulus W. Transcranial alternating current stimulation (tACS). Front Human Neurosci. (2013) 7: 317.

2) Marshall L, Helgadottir H, Molle M, Born J. Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. Nature (2006) 444: 610-613.

3) Groppa S, Bergmann TO, Siems C, Molle M, Marshall L. Neuroscience (2010) 166: 1219-1225.

4) Terney D, Chaieb L, Moliadze V, Antal A, Paulus W. Increasing human brain excitability by transcranial high-frequency random noise stimulation. J Neurosci. (2008) 28: 14147-14155.

（10）「Diversity and Universality of Neural Oscillations from the Aspect of Mathematical Modeling」
数理モデリングから見た神経振動現象の多様性と普遍性

Ichiro Tsuda (Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido, Japan)

We review 10 classes of mathematical modeling from neurons to a society of brains. Various mathematical models at hierarchical levels of function from a single neuron to a society of brains, that is, a level of communication have been proposed so far in the field of cognitive neuroscience. However, no clear classification of such mathematical models has been made, so far. In the present talk, we try to clarify the functional significance of the mathematical models at each hierarchical level, showing typical models for each class. Through the study of these neural models, the importance of mathematical modeling in complex brain dynamics and neural correlates of functions will be shown clearly.

In particular, the following type of mathematical modeling is challenging, as it may elucidate the mechanism of functional differentiation in the mammalian cortex. In conventional mathematical models of nonlinear systems

including neurobiological systems, coupled dynamical systems such as coupled-map and coupled-oscillator systems have been adopted widely and investigated in detail. A coupled system can be recognized as providing a good model for the emergence of varieties of spatiotemporal patterns over various hierarchies from the microscopic to the macroscopic level. In particular, it can be recognized as describing even mesoscopic dynamics. In this type of model, the presence of the element itself and its function are presupposed. This is true, for example, for chemical reactions, where starting chemical materials are given, they begin to interact with each other, and the reactions develop, forming products of the system.

Different processes operate in differentiations, such as cell differentiations in embryos, and functional differentiations in the brain because the function of interacting units cannot be determined before the system development starts. Rather, the functional elements are produced by a certain constraint, which acts on the whole system [1], [2]. From the viewpoint of systems development, it is important to investigate the manner in what components emerge in a network system. We model this process, adopting a certain 'variational' principle. Here we show the computation results of two mathematical models: one treats the emergence of neuron-like components from interacting maps, and the other addresses the emergence of hierarchical module-like components from interacting neuron-like units. In both models, maximum transmission of information was used as a "variational" principle. All mathematical models described in the present talk will probably be useful for future studies on neural oscillations.

References

1) I.Tsuda, A hermeneutic process of the brain. Prog.Theor. Phys., suppl.79(1984), 241-259.

2) R. Rosen, Life Itself: A Comprehensive Inquiry into the Nature, Origin, and Fabrication of Life. Columbia University Press, New York, 1991.

（11）「Generative process of epileptic high-frequency oscillations」
てんかん性高周波振動の発生プロセスを探る

Katsuhiro Kobayashi, Tomoyuki Akiyama (Department of Child Neurology, Okayama University Graduate School of Medicine; Dentistry and Pharmaceutical Sciences and Okayama University Hospital)

The importance of epileptic high-frequency oscillations (HFOs) in electroencephalogram (EEG) is growing. HFOs are now suggested to have a closer relationship with epileptogenicity than epileptic spikes have.

Action potentials generating some HFOs are observed in the vicinity of neurons in experimental animals. However electrodes that are remote from neurons, as in case of clinical situations, should not record action potentials. We propose to resolve this question by a realistic simulation of epileptic neuronal network of the rat dentate gyrus with sclerosis. We computed the current dipole moment generated by each granule cell and the field potentials in a measurement area far from neurons.

The dentate gyrus was stimulated through synaptic input to evoke discharges resembling interictal epileptiform discharges, which had superimposed HFOs ≤ 295 Hz that were recordable with remote electrodes and represented bursts of action potentials of granule cells. The increase in power of HFOs was associated with the progression of sclerosis, the reduction of GABAergic inhibition, and the increase in cell connectivity. Spectral frequency of HFOs had similar tendencies.

HFOs recorded with electrodes remote from neurons could actually be generated by clusters of action potentials. The phenomenon of action potentials recorded with remote electrodes can possibly extend the clinical meaning of EEG.

（12）「Interictal and ictal synchronization of cortical high frequency oscillation in focal epilepsy patients」

Yu-Ping Wang (Beijing Key Laboratory of Neuromodulation (BKLN), Comprehensive Epilepsy Center of Beijing (CECB), Xuanwu Hospital, Capital Medical University)

High-frequency oscillations (HFO; gamma: 40-100 Hz, ripples: 100-200 Hz, and fast ripples: 250-500 Hz) have been widely studied, which serves as biomarkers for epileptic brain. The distribution of interictal HFOs is reasonably consistent with the seizure onset zone. The construction of interictal spatial HFO distribution maps appears to be useful for the presurgical mapping of the epileptogenic zone. The seizure onset zone defined by ictal high-frequency oscillations is smaller in spatial distribution than that defined by conventional frequency activity. The resection of HFO onset areas resulted in favorable seizure outcome. Synchronization in multiple electro encephalogram (EEG) signals provides a perspective tool to understand the mechanism of brain communication. Interictal synchronization analysis showed that the EEG connectivity increased in the epileptogenetic region. During the initial phase of ictal EEG, the connectivity in the epileptogenic zone increased further, and the connective network pattern might change. The independent interictal modular networks are connected in the ictal phase. Connectivity analysis of HFO combining with conventional EEG might provide insightful information for studying brain epileptogenetic network.

（13）「Brain modules revealed by resting-state functional connectivity」
安静時機能的結合解析による脳モジュール回路解明にむけて

Seiki Konishi (Dept of Physiology, Juntendo University School of Medicine)

Recent advancement of resting-state functional connectivity magnetic resonance imaging (MRI) has provided a method for drawing boundaries of brain areas (1, 2). However, it remains to be elucidated how the parcellated areas in the association cortex relate to the spatial extent of the brain activation which ought to reflect a functional unit in the neural network supporting that particular function. To address this issue, we first mapped boundaries and 2 adjacent activations in the human inferior frontal cortex, and then examined the spatial relationship between the boundaries and the 2 activations (3). The boundaries mapped with high-resolution functional magnetic resonance imaging revealed a collection of micromodules, the size of which was approximately only 12 mm on average, much smaller than the Brodmann areas. Each of the 2 activations associated with 2 functions, response inhibition and feedback processing, was smaller in size than the micromodules. By comparing the spatial patterns between the boundaries and the 2 activations, it was revealed that the brain activations were less likely to be located on the boundaries. These results suggest the functional relevance of the areas in the association cortex delineated by the boundary mapping method based on resting-state functional connectivity MRI.

We further developed a novel analysis for areal boundary mapping that requires only the signal timecourses within a region of interest, without reference to the information from outside the region (4). The areal boundaries were generated by the novel analysis and were compared with those generated by the previously-established standard analysis. The boundaries were robust and reproducible across the two analyses, in two regions of interest tested. These results suggest that the information for areal boundaries is readily available inside the region of interest.

References

1) Margulies DS, Kelly AM, Uddin LQ, Biswal BB, Castellanos FX. Mapping the functional connectivity of anterior cingulate cortex. Neuroimage (2007) 37: 579–588.

2) Cohen AL, Fair DA, Dosenbach NU, Miezin FM, Dierker D, Van Essen DC, Schlaggar BL, Petersen SE. Defining functional areas in individual human brains using resting functional connectivity MRI. Neuroimage.(2008) 41: 45–57.

3) Hirose S, Watanabe T, Wada H, Imai Y, Machida T, Shirouzu I, Miyashita Y, Konishi S. Functional relevance of micromodules in the human association cortex delineated with high-resolution fMRI. Cereb Cortex (2013) 23:2863-2871.

4) Hirose S, Watanabe T, Jimura K, Katsura M, Kunimatsu A, Abe O, Ohtomo K, Miyashita Y, Konishi S. Local signal time-series during rest used for areal boundary mapping in individual human brains. PLoS ONE (2012) 7: e36496.

（14）「Social interaction represented by inter-individual neural synchronization」
二個体間での脳活動共振として表現される「社会性」

Takahiko Koike, Norihiro Sadato (Division of Cerebral Integration, NIPS)
Saori Abe (Dept. of Medicine, Tokyo Medical and Dental University)
Jorge Bosch-Bayard (Division of Cerebral Integration, NIPS; Cuban Neuroscience Center)

Because human behaviors are deeply associated with relationship between others, multi-subject neuroimaging, known as a hyperscanning, was recently introduced to reveal a neural basis of social interaction in which behavior of two participants were intricately associated each other. The hyperscanning has revealed inter-individual neural synchronization during cooperative social interaction tasks1. However, it is not clear that: (1) inter-individual neural synchronization could change when two participants share an experience of cooperative tasks together, and (2) a neural basis of inter-individual neural synchronization emergence.

With the hyperscanning fMRI, we have tackled to reveal two issues mentioned above. We conducted experiment on two separate days. On the first day, participants did a task in which they only have eye-contact each other, watching their partner's face. The eye-contact is a basis of social interaction, and previous study suggested that there might be inter-individual neural synchronization during eye contact2. After an eye-contact task, participants did a joint attention task in which they required to cooperatively look one of the objects. On the second day, participants did the eye contact task again with the same partner as the first day. Brain activations of two participants in eye-contact were recorded simultaneously using 3 Tesla MRI scanners. The brain activation time-courses collected in each eye-contact state was used to evaluate inter- and intra-individual neural synchronization (temporal correlation).

In the right hemisphere, the inter-individual neural synchronization significantly increased after the joint attention task experience, while there is no increase when participants has never participated to same joint attention task. In addition, enhances of the inter-individual neural synchronization is correlated with enhances of intra-individual neural synchronization between the visual area and middle superior temporal sulcus. It suggests that the emergence of inter-individual neural synchronization might be associated with relatively lower-level brain network. The finding indicates that hyperscanning fMRI enables us to evaluate the neural dynamics of the social interaction as the pair of the brains, thus can open up the field of 'we-mode' neuroscience.

References

1) Babiloni F, Astolfi L. Social neuroscience and hyperscanning techniques: Past, present and future. Neurosci Biobihav Rev. (2012) in press.

2) Saito DN, Tanabe HC, Izuma K, Hayashi MJ, Morito Y, Komeda H, Uchiyama H, Kosaka H, Okazawa H, Fujibayashi Y, Sadato N. "Stay tuned": Inter-individual neural synchronization during mutual gaze and joint attention. Front Integr Neurosci. (2010) 4: 127.

（15）「An analysis on temporal dynamics of neuromagnetic activities related to the perception of illusory motion」
運動錯視知覚に関連する神経磁場活動の時間的動態解析

Akinori Takeda, Toshihiko Maekawa, Katsuya Ogata, Naruhito Hironaga, Shozo Tobimatsu
(Dept. of Clinical Neurophysiology, Kyushu University)
Tomokazu Urakawa (Dept. of Informatics, Kyushu University)
Tsuyoshi Okamoto (Div. for Arts and Science, Kyushu University)

"Rotating Snakes (RS)" image is a static picture which yields rotatory illusory motion for the observers. Luminance difference in the color arrangement of the RS image plays an essential role in producing the perception of illusory motion1). It has also been reported that microsaccades2) and area hMT/V5+3) are relevant to the illusion. In this study, we focused onelucidating the temporal dynamics of neural mechanisms which cause the illusory motion.

Thirteen healthy volunteers (5 females, aged 28.9±8.4 years) participated in this study. Illusory image and control non-illusory image were presented for 5 seconds in random order with inter-stimulus interval of 2 seconds. Neuromagnetic signals were recorded by a 306-channel whole-head MEG system (Elekta Ltd., Neuromag). Participants were required to push a computer mouse button as quickly as possible when they perceived the illusory motion and to stop the button press when the perception ended. Data were analyzed by time frequency analysis using Wavelet transformation and signal source estimation using an adaptive beamformer method.

In the grand average data, we found that alpha- and beta-band desynchronizations in bilateral temporal regions began from around 500 ms before the subjects reported the illusory perception. Furthermore, these desynchronized neural activities were estimated on the areas including area hMT/V5+ in the individual data. Our results showed the temporal aspect of neural activity related to the occurrence of the rotatory motion illusion.

Reference

1) Conway, B.R. et al. Neural basis for a powerful static motion illusion. J Neurosci. (2005) 25:5651-5656.

2) Otero-Millan, J. et al. Microsaccades and Blinks Trigger Illusory Rotation in the "Rotating Snakes" Illusion. J Neurosci. (2012) 32: 6043-6051.

3) Ashida, H. et al. Direction-specific fMRI adaptation reveals the visual cortical network underlying the "Rotating Snakes" illusion. NeuroImage. (2012) 61:1143-1152.

（16）「Optogenetic retrogression of epileptogenesis.」
光遺伝学によるてんかん原生獲得の後退

Yoshiteru Shimoda (Division of Interdisciplinary Medical Science; Dept of Neurosurgery, Tohoku University)

A large number of patients are suffering from epilepsy. Temporal lobe epilepsy is the most major type of drug-resistant epilepsy in adults. One of the animal models of temporal lobe epilepsy is the hippocampus kindling model. Kindling is a phenomenon, whereby provocation of focal seizures induces a clear progressive change by daily stimulation. The seizure limited in a local area in the first day begins to spread spatially and temporary after successive stimuli. Finally, the brain changes pathologically and spontaneous seizures emerge. Understanding this model of acquired epileptogenesis is important for development of a new therapy counteracting epileptogenesis

A recent report shows that seizure can be artificially induced in optogenetic rat under anesthesia1). The transgenic

rats expressed light-sensitive protein, channelrhodopsin-2 (ChR2), only in neurons, and light stimulation though optical fibers inserted into the hippocampus produced seizures that could be detected with EEG and behaviors, such as twitching of the whiskers and clonus. However, these experiments were done in animals under anesthesia and restraint. The animals were also sacrificed shortly after the experiments which lasted only several hours.

Here we developed an animal model where both the EEG and behaviors were monitored 24hrs for days with plastic optical fibers implanted into the hippocampus in freely moving animals. Development of such long-term recording and stimulation was required to study the kindling phenomenon induced by optogenetics. In the first part of this session, I will describe the process and feature of optogenetically induced kindling phenomenon. Short burst of optical stimuli was given once per hour, 12 times a day. Hyperexcitation of neurons and oscillatory brain wave signals seemed to spread beyond the stimulation site and afterdischarge (AD) of EEG outlasted the optical stimulation period by seconds to minutes. We observed that the duration of AD progressively increased with each trial and day, and behavioral seizures also developed. By the 4th day, Racine stage 5 seizures were often induced, which includes violent rearing and falling, with the same strength of optical stimuli which produced almost no response on the 1st day. We also checked the EEG response to single short light pulse and found that it was not significantly altered from the 1st day to 4th day. These results indicate that optically stimulated neurons themselves were unchanged and the plastic change induced by kindling is in the downstream of the initial firing and probably the circuit dynamics likely changed making the brain vulnerable to oscillations.

In the later part of the talk, I will mention about the retrogressive phenomenon observed in this model and discuss the significance of this process with future visions.

References

1) Osawa S, et al. Optogenetically induced seizure and the longitudinal hippocampal network dynamics. PloS One 8(4):e60928, 2013

（17）「Decreased tonic inhibition in cerebellar granule cells causes motor dysfunctions in mouse model of Angelman syndrome」
アンジェルマン症候群小脳持続抑制の減少が小脳機能障害を引き起こす

Kiyoshi Egawa (Dept. of Pediatrics, Hokkaido University)
Atsuo Fukuda (Dept. of Neurophysiology, Hamamatsu University, School of Medicine)

Angelman syndrome (AS) is a neurodevelopmental disorder caused by loss-of-function of the UBE3A gene encoding a ubiquitin E3 ligase. Motor dysfunction is one characteristic feature of AS, and neither the mechanisms of action nor effective therapeutic strategies have yet been elucidated. Here, we report that tonic inhibition is specifically decreased in cerebellar granule cells of Ube3a deficient mice. As a mechanism of the decrease of tonic inhibition, we show that Ube3a controls degradation of γ-aminobutyric acid (GABA) transporter 1 (GAT1) and its deficiency induces a surplus of GAT1 that results in decreased GABA levels. Decreased tonic inhibition increases its own excitability of cerebellar granule cells and alters the firing pattern of a population of Purkinje cells. While only half of the WT PCs presented a tonic pattern, the proportion reached 80% in Ube3a deficient mice Administering low doses of 4,5,6,7-tetrahydroisothiazolo-[5,4-c] pyridin-3-ol (THIP), a selective extrasynaptic $GABA_A$-receptor agonist, can improve this aberrant firing pattern and ataxic motor dysfunctions in vivo. These results indicate that pharmacologically increasing tonic inhibition can be a pragmatic strategy for alleviating motor problems in AS.

Reference

Decreased tonic inhibition in cerebellar granule cells causes motor dysfunction in a mouse model of Angelman syndrome. Egawa K, Kitagawa K, Inoue K, Takayama M, Takayama C, Saitoh S, Kishino T, Kitagawa M, Fukuda A. Sci. Transl. Med.(2012) 4:163ra157.

（18）「$GABA_A$ receptor activation underlies the temporal regulation of cellular properties of the neural stem cells in the mouse developing cortex」
$GABA_A$ 受容体刺激がマウス大脳皮質神経幹細胞の発生の時系列に伴う性質制御の基礎となる

Shiro Tochitani (Research Center for Child Mental Development, University of Fukui)
Tomonori Furukawa, Atsuo Fukuda (Department of Neurophysiology, Hamamatsu University School of Medicine)
Takashi Ito, Junichi Azuma (Department of Clinical Pharmacogenomics, Hyogo University of Health Sciences)

Precise temporal regulation of the intrinsic properties of neural stem cells (NSCs) to produce the diverse type of neurons and glial cells is essential for the histogenesis of the complex structure of central nervous system. We obtained evidences that $GABA_A$ receptors participate in this regulatory machinery. Immunohistochemical and qRT-PCR based analyses revealed that NSCs expressed multiple subunits of $GABA_A$ receptors including α2, α4, β2 and β3. Fetal exposure to phenobarbital or pentobarbital, both of which are positive allosteric modulators for $GABA_A$ receptors, at E10-11 accelerated the transition from neuroepithelial cells to BLBP-positive radial glia and increased the frequency of the progenitors undergoing asymmetrical division to produce neurons. Exposure to $GABA_A$ positive modulators at E10-E12 enhanced the differentiation into Satb2-positive upper-layer neurons and suppressed the differentiation into Tbr1-positive deep-layer neurons. Exposure to a $GABA_A$ antagonist, either picrotoxin or pentylenetetrazole, at the same embryonic stages caused the opposite effects in terms of these four properties of neural progenitors. Both GABA and taurine are known as endogenous ligands for $GABA_A$ receptors. Immunohistochemical analyses and HPLC quantification showed that taurine is dominant in quantity among the ligands for $GABA_A$ receptors in the developing cortex before E14. The decrease in the frequency of the Tbr2-positive basal progenitors, the increase in the number of Pax6-positive apical progenitors and the decrease in the thickness of Doublecortin-positive layers were observed in the neocortices of the E13.5 embryos obtained from the dams injected with D-cysteine sulfinic acid (DCSA), an inhibitor of taurine synthesis. The differentiation into Satb2-positive upper-layer neurons was suppressed, while the differentiation into Tbr1-positive deep-layer neurons was enhanced in the E13.5 neocortices exposed to the taurine-deficient condition induced by DCSA. The E12 taurine transporter-knockout mouse cortices exhibited the phenotypes that resembled those observed in the embryos exposed to $GABA_A$ antagonists. These results suggest that $GABA_A$ receptor activation principally by taurine underlies the regulation of the properties of NPCs in the early phase of cortical development.

【 各種シンポジウム 】

2014（平成 26）年度生理研国際シンポジウム

The 45th NIPS international Symposium

第 45 回生理研国際シンポジウムは，英国生理学会の刊行する The Journal of Physiology との共催シンポジウムとして, 2014 年 11 月 26 日から 28 日までの 3 日間, 岡崎コンファレンスセンターで開催された。本シンポジウムは, また, 井上科学振興財団からの経費助成，さらに，自然科学研究機構の国際的学術拠点の形成プロジェクトのひとつである「機能生命科学における揺らぎと決定」のサポートを得て，実施された。運営は，技術課の協力を得て，神経機能素子研究部門が中心となって行った。参加者は，総計で 106 名であった。

特別講演者の Lily Jan 教授（カリフォルニア大学サンフランスシスコ校）をはじめとする 10 名の海外からの招待講演者（USA 4, Canada 2, UK 1, France 1, Israel 1, Australia 1），13 名の国内の招待講演者，および 3 名の所内講演者の，合計 26 名から講演をいただいた。イオンチャネル・受容体等の膜機能タンパク質の機能のメカニズムの理解に向け，分子機能とその調節機構，構造機能連関，結晶構造，動的構造変化，構造機能連関，生理機能等の様々なトピックスに関する最前線の研究成果が紹介された。また，これらのトピックスに関連する 36 題のポスター発表をいただいた。講演セッション，ポスターセッションとも，充分な討論時間を確保し，活発な質疑応答や意見交換が行われた。

なお，本シンポジウムの講演者の中の 6 人のシンポジウム講演に関連した Review が，The Journal of Physiology 誌の Symposium issue に出版された。(Journal of Physiology (2015) 593 (12): 2551-2634)

The 45th NIPS International Symposium, Co-sponsored by The Journal of Physiology “Cutting-edge approaches towards the functioning mechanisms of membrane proteins”

November 26- 28, 2014,
Okazaki Conference Center, Okazaki, Japan

The 45th NIPS International Symposium co-sponsered by The Journal of Physiology was held from November 26th to 28th, 2014 at the Okazaki Conference Center. This symposium was supported also by Inoue Science foundation and by “Fluctuation and determination in the functional life science” project of National Institutes for of Natural Sciences. The total number of participants was 106.

Ten invited oversea speakers (USA 4, Canada 2, UK 1, France 1, Israel 1, Australia 1) including one special lecturer, Professor Lily Jan (University of California San Francisco) and 13 domestic invited speakers as well as 3 NIPS speakers gave 26 presentations in total. Towards the understanding of functioning mechanisms of membrane proteins such as ion channels and receptors, achievements of cutting-edge researches of various topics were introduced, including molecular function and its regulation mechanisms, crystal structure, dynamic structural rearrangements, structure-function relationship and physiological function. There were also 36 poster presentations on these topics. In both sessions of oral and poster presentations, participants enjoyed intensive and fruitful discussion.

From among the speakers, six has published review articles related to their presentations in the symposium issue of The Journal of Physiology. (Journal of Physiology (2015) 593 (12): 2551-2634)

Program

Nov 26 (Wed) AM 9 :00 – PM 6:00

Opening remarks
Junichi Nabekura (Vice Director General, NIPS)
Introduction
Yoshihiro Kubo (NIPS)

Session 1　Potassium channel #1
(**Chair:** Harley Kurata)

KCNE1 facilitates interaction between the S4 and S5 segments and slows the gating in KCNQ1/KCNE1 channel
Koichi Nakajo (NIPS)
Polyunsaturated fatty acid analogues act anti-arrhythmic on the cardiac I_{Ks} channel
Peter Larsson (Univ Miami, USA)
Getting to the heart of hERG K^+ channels: A translational perspective
Jamie Vandenberg (Victor Chang Cardiac Res Inst, Australia)

Session 2　Special Lecture
(**Chair:** Yoshihiro Kubo)

Recent studies of potassium channels and calcium-activated chloride channels
Lily Jan (Univ Calif San Francisco, USA)

Session 3　Dynamic aspects and movies #1
(**Chair:** Eitan Reuveny)

Let's "See" ATP-dependent gating of CFTR channels
Yoshiro Sohma (Keio Univ, Japan)
Channel function reconstitution and re-animation: Single-channel strategy in the post-crystal age
Shigetoshi Oiki (Univ Fukui, Japan)
Mechanics of novel motors revealed under advanced optical microscopes
Takayuki Nishizaka (Gakushuin Univ, Japan)

Session 4　Dynamic aspects and movies #2
(**Chair:** Jamie Vandenberg)

Excitability tuning by two-P-domain channels: from inhibitory potassium-selective channels to excitatory cationic channels
Florian Lesage (Univ Nice Sophia Antipolis, France)
NMR study of membrane proteins
Ichio Shimada (Univ Tokyo, Japan)
Structure-function of bacterial mechanosensitive channels MscL and MscS: from tension sensing to channel-opening and -inactivation: experimental and modeling approaches
Masahiro Sokabe (Nagoya Univ, Japan)

Nov 27 (Thu) AM 9 :00 – PM 6:30

Session 5　Potassium channel #2
(**Chair:** Ruth Murrell-Lagnado)

Calcium-dependent potassium channels, blood pressure and fish oil (pills)
Toshinori Hoshi (Univ Pennsylvania, USA)
Atomic resolution pharmacology of anti-epileptic drugs
Harley Kurata (Univ British Columbia, Canada)
Molecular mechanism of partial agonism and a novel role of RGS protein in regulation of the m2 muscarinic receptor-mediated K^+ currents
Kazuharu Furutani (Osaka Univ, Japan)

Session 6　Regulation and physiology #1
(**Chair:** Yasuo Mori)

Local control of neurohormonal signaling regulation in cardiac ion channels
Junko Kurokawa (Tokyo Med Dent Univ, Japan)
Potent inhibition of olfactory transduction channels by natural compounds may degrade the quality of foods and beverages
Takashi Kurahashi (Osaka Univ, Japan)

Session 7　Ligand-gated channel
(**Chair:** Florian Lesage)

Signal transmission within the P2X2 trimeric receptor and the voltage dependent structural rearrangements
Yoshihiro Kubo (NIPS)
What mechanism underlies the apparent dynamic selectivity of P2X receptor channels?
Shai Silberberg (NIH, USA)
The danger sensing P2X7 receptor: Diversity of structure and function
Ruth Murrell-Lagnado (Cambridge Univ, UK)
Defining the structural basis of ionotropic glutamate receptor activation
Derek Bowie (McGill Univ, Canada)

Session 8　Poster session

Nov 28 (Fri) AM 9 :00 – PM 3:00

Session 9　Crystal structure
(**Chair:** Yasushi Okamura)

Molecular mechanisms of membrane channel and transporter
Osamu Nureki (Univ Tokyo, Japan)
Structural physiology of Adhennels
Yoshinori Fujiyoshi (Nagoya Univ, Japan)

Session 10　Proton channel
(**Chair:** Peter Larsson)

Gating mechanisms of voltage-gated proton channel
Yasushi Okamura (Osaka Univ, Japan)
Proton influx mechanisms in the plasma membrane of osteoclasts
Miyuki Kuno (Osaka City Univ, Japan)

Session 11　Regulation and physiology #2
(**Chair:** Toshinori Hoshi)

Functional Interaction between TRP channels and anoctamin1
Makoto Tominaga (NIPS)
TRP Channels in redox biology
Yasuo Mori (Kyoto Univ, Japan)
Regulation of cellular calcium homeostasis by SARAF
Eitan Reuveny (Weizmann Inst, Israel)

Closing remarks
Yoshihiro Kubo (NIPS)

【トレーニングコース】

第 25 回生理科学実験技術トレーニングコース
“生体機能の解明に向けて”—分子・細胞レベルからシステムまで—

2014 年 7 月 28 日－8 月 1 日
担当：南部　篤（生体システム研究部門）

【概要】

生理科学実験技術トレーニングコースは，今年で 25 回目を迎え，7 月 28 日（月）より 8 月 1 日（金）までの 5 日間，生理学研究所の明大寺･山手両キャンパスで開催された（担当：南部 篤）。生理学研究所は，分子，シナプスから個体・行動レベルまでの各階層を縦断する研究を行い，大型共同利用機器を保有している。これらの利点を生かして, 生理科学･神経科学に関する多様な技術を普及させたり, それらを使って研究レベルを向上させることが, このコースの目的である。生理研実験研究棟の耐震改修が終わり，コースや募集人員が例年並みに復活し（19 コース，約 120 名），160 名の応募があった。116 名の方々が採択され，下記のコースを受講された。受講者の 8 割程が大学院生で，他は学部学生と，大学や企業の研究者であった。開催にあたって，日本生理学会からご援助をいただいた。実習指導には生理研職員を中心として，他大学からの講師の先生も含めて，80 人程の研究者があたった。

【講演】

1. 「神経回路の再編とグリア　－２光子励起顕微鏡による生体内観察－」
   鍋倉淳一（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門 教授）
2. 「大規模神経回路の機能シフト」 及び 「生理学研究所の紹介」
   伊佐　正（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門 教授）

【講義】

「動物実験教育訓練：－生理学研究と動物実験－」
佐藤　浩（生理学研究所 動物実験コーディネータ室 特任教授）

【実習内容】

(1)　海馬神経初代培養法とシナプス超解像イメージング
(2)　In situ hybridization 法
(3)　ジーンターゲティングマウス作製の基礎から応用へ
(4)　2 光子顕微鏡による細胞内分子活性化の FRET イメージング
(5)　TEM トモグラフィーおよび連続ブロック表面 SEM による細胞の三次元形態解析
(6)　2 光子励起顕微鏡による生体内微細構造・細胞活動イメージング
(7)　In vitro 発現系を用いたイオンチャネル・受容体の機能解析
(8)　パッチクランプ法
(9)　スライスパッチクランプ法
(10)　In vivo およびスライスブラインドパッチクランプ法
(11)　神経性代謝調節研究法入門
(12)　視知覚の脳内メカニズムの実験的解析
(13)　行動下動物での実験・データ解析の基礎
(14)　慢性動物実験法入門
(15)　脳磁図によるヒト脳機能研究の基礎
(16)　ヒト脳機能マッピングにおけるデータ解析入門
(17)　心臓の圧受容・適応シグナル評価法
(18)　生理学実験のための電気回路・機械工作

（19） 生理学実験のためのプログラミング

各コースのさらに具体的な内容に関しては，以下を参照されたい。
http://www.nips.ac.jp/training/2014/courses3.html

トレーニングコース終了時には，例年参加者からアンケートをいただいている。下記 URL にアンケートの集計結果を示す。
http://www.nips.ac.jp/training/2014/questionnaire/TC2014Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. 我慢をする脳内メカニズム　－視床下核の新たな機能を探る－

橘　吉寿（統合生理学研究系 生体システム研究部門 ）

（2014.4.4）

視床下核は,大脳基底核の主要な入力部の一つである。もうひとつの入力部である線条体，あるいはドーパミン細胞が脳研究の花形であるのに対し，視床下核はとりわけ忘れられた存在と言えるのではなかろうか。しかしながら，この小さな核には重要な機能が隠されている。実際，視床下核が破壊されるとバリスム（不随意運動のひとつ）が生じる。また，パーキンソン病の発現に視床下核の活動亢進を伴う報告が数多くなされている。このように，視床下核は運動制御，とりわけ「運動抑制」に深く関与すると考えられてきた。この運動機能に加えて，視床下核と認知・情動を司る大脳皮質との線維連絡が最近報告された。今回の発表では,情動に基づく行動制御，なかでも，我々の日常生活に重要な「我慢する」という機能が視床下核に備わっていることを紹介したい。

2. 疾患モデル動物の神経活動から大脳基底核の運動制御機構を考える

知見聡美（生理学研究所・生体システム研究部門）

（2014.4.16）

疾患モデル動物の神経活動から大脳基底核の運動制御機構を考える

3. 'Lessons from developmental neurobiology applied to translational neuroscience: BDNF in the cochlea

Gary Housley（The University of New South Wales Chair and Head of Physiology Director, Translational Neuroscience Facility School of Medical Sciences）

（2014.4.21）

Across the breadth of brain and nervous system injury and disease, neurotrophin signalling is moving to the vanguard of neurotherapeutics. The potency of neurotrophins to stimulate neural repair following sensorineural hearing loss exemplifies this. The establishment of the afferent innervation of the cochlea occurs via a precise spatiotemporal program, where promiscuous spiral ganglion neurite outgrowth is followed by pruning and selective neuronal apoptosis; processes inherently tied to neurotrophin signalling. Sensori-neural hearing loss, for example with noise or chemical ototoxicity, causes loss of the neurotrophin source and consequent auditory nerve atrophy. Cell-based, drug or gene therapy strategies around the neurotrophin translational research platform in the cochlea promote vigorous auditory nerve regeneration, with directional guidance queues reminiscent of the developmental programming. Such control of neural repair provides an opportunity to enhance medical bionics neural prosthetic interfaces; a neurotrophin gene delivery platform we have developed has established proof of principle showing improve hearing performance with cochlear implants.

4. Nitric Oxide Neurons and Neurotransmission

Steven R Vincent（Department of Psychiatry University of British Columbia, Canada）

（2014.5.9）

Nitric oxide was identified as a biological molecule just over 25 years ago, and its presence and potential importance in the nervous system was immediately noted. With the cloning of NO synthase and the physiological NO receptor, soluble guanylyl cyclase, a variety of methods quickly led to a rather complete picture of where NO is produced and acts in the body. In particular we developed the NADPH-diaphorase histochemical method, which allows for a very simple and elegant detection of the NO syntase enzyme activity. NO was quickly recognized as a major intercellular messenger in the central and peripheral nervous systems. It is distinct from other neurotransmitters many key ways. NO is not stored in synaptic vesicles nor released in a quantal fashion. Instead NO production is regulated by intracellular calcium in cells expressing NO synthase. Rather than acting discretely in a temporal and spatial way at synapses, NO quickly spreads from the source of production to affect an entire volume of brain tissue. The details regarding the subcellular localization of NO synthase and the identity of its molecular binding partners require further clarification. Although the hypothesis that calcium influx via activation of NMDA receptors is a key trigger for NO production has proven very popular and led to suggested roles for NO in synaptic plasticity, there is little direct evidence to support this notion. Instead, studies from the peripheral nervous system indicate a key role for voltage-sensitive calcium channels in regulating NO synthase activity. In the peripheral nervous system NO acts to regulate various organ systems on a timescale of minutes, rather than milliseconds. A similar mechanism may also be important in central neurons where NO production appears to vary with behavioural state. It remains an important task to identify the precise sources of calcium regulating NO production in specific NO neurons. Since cGMP production appears to mediate the physiological signaling by NO, understanding the specific roles of cGMP-dependent ion channels, protein kinases and phosphodiesterases in mediating NO action is key. Our recent work points to cGMP-stimulated phosphodiesterase as a key mediator of NO action. This NO-regulated enzyme exists in multipe forms which can be targeted to particular sites within neurons to regulate cAMP levels. The cGMP-regulated enzymes may provide useful targets for pharmacological manipulation of the NO system at specific sites.

5. 上皮細胞シートの漏れを防ぐ分子機構

古瀬幹夫（脳形態解析研究部門）

（2014.5.14）

上皮に共通する本質的なはたらきの一つは，バリアとして空間を仕切りながらその間で選択的な物質輸送を行うことにより，体内の様々な区画に特有の液性環境を形成，維持し，ひいては高次生命機能を支えることである。上皮がバリア機能を果たすためには，上皮細胞同士の隙間を介する物質の漏れを防ぐ必要があり，この重要な役割を担うのが細胞間接着装置タイトジャンクション（以下 TJ）である。1963 年に電子顕微鏡観察により TJ が初めて報告されて以来，長らくその分子構築の解明が待たれていたが，生理研における TJ の膜タンパク質オクルディンの発見を経て，35 年後にようやく TJ の核心部分を構成する膜タンパク質クローディンファミリーが同定された。その後のクローディンの機能解析から TJ のバリア機能と傍細胞経路の受動輸送制御の基本的分子基盤，個体における意義が実験的に明らかにされている。　本セミナーでは，電子顕微鏡形態学と生理学による古典的研究により描かれた TJ 像に対して，クローディンファミリーの機能解析がその分子基盤をどこまで明らかにして，何が未解明の課題であるかを紹介し，本研究領域について理解を深めていただく。

6. P2Y 受容体を介するミクログリアの機能解析（Role of P2Y purinergic receptors in microglia）

齊藤秀俊（九州大学薬学研究院 薬理学分野(Dept of Molecular and System Pharmacology, Kyushu Univ)）

（2014.5.20）

脳内マクロファージとも呼ばれるミクログリアは中枢組織内の環境を常に監視し，その異常を捉えて走化性運動，貪食，炎症性応答等を引き起こす。プリン作動性(P2)受容体ファミリーのいくつかはミクログリアに発現しておりサブタイプごとにミクログリアの多彩な機能を制御している。私達はこれら受容体の中でも GPCR 型の P2Y6，P2Y12 受容体に注目し，P2Y6 受容体を介した飲作用の促進に PKD が関与すること，ミクログリアの P2Y12 受容体が細胞内カルシウム濃度の上昇を引き起こしてある種のケモカイン産生を惹起することを見出した。私達はこれらの P2 受容体シグナルは，ミクログリアによるアミロイドβの取り込みや，脊髄ミクログリアの P2Y12 受容体介する神経障害性疼痛の発症に深く関与していることを明らかにしつつある。

Microglia are constantly surveying the brain parenchyma. Incidents in the brain rapidly activate microglia and activated microglia induce chemotaxis, phagocytosis and inflammatory responses. Extracellular nucleotides are signaling molecules used by microglia to sense adverse physiological conditions. They act through several purinoceptors in microglia. We have found that P2Y6 receptor enhances microglial macropinocytosis which regulated by protein kinase D, and P2Y12 receptor elicit transient intracellular calcium increases which leads to the de novo production of several chemokines. Each findings are now associated with amyloid beta uptake by microglia and microglial P2Y12 receptor mediated development of neuropathic pain.

7. The effect of temporal information among events on Bayesian causal inference in rats

澤　幸祐（専修大学学習心理学教室）

（2014.5.26）

本セミナーは日本語で行われます。

A temporal relationship between events of potential cause and effect is critical to generate a causal relationship because the cause has to be followed by the effect. The present study investigated the role of temporal relationships in predictive inference based on Bayesian networks in rats via Pavlovian pairings. Subjects in Group Successive received training trials whereby Event 1 was followed by Events 2 and 3, whereas those in Group Simultaneous received simultaneous pairings of Events 1 and 2, and Events 1 and 3. During testing, a lever was inserted into the experimental chamber, where subjects were allowed to press the lever followed by Event 2. By measuring nose-poke responses during the presentation of Event 2, subjects in Group Successive showed a relatively lower response rate than did those in Group Simultaneous. These results suggest that rats have the ability to use temporal information between events, even after integration of the temporal map and temporal relationship acquired in training, which is critical to Bayesian causal inference.

8. Dynamic representation of saccades in mouse frontal cortex

佐藤博士（ドイツ・チュービンゲン大学統合神経科学センタージュニア・グループ・リーダー）

（2014.6.3）

本セミナーは英語で行われます。

Vision is an active process that depends on the positions of the eyes. Although the eye positions of mice occasionally change through saccades, it is unclear whether these saccades can be made voluntarily, and if so whether they are mediated by the cerebral cortex. Here, we investigated the cortical control of saccades in mice by training them to perform voluntary eye movements. During the task, mice moved their eyes in a binocularly coupled fashion, even though the training was always performed on the left eye. A small portion of frontal cortex (frontal eye field, FEF) was identified, through microstimulation and optogenetic inhibition, to be responsible for binocularly-coupled contraversive saccades. In vivo two-photon calcium imaging revealed that the neurons in this area tend to be more active during contraversive saccades. However, this role of FEF on contraversive saccades is not fixed but can be modified to adapt to a new environment. Our data indicate that the cortical control of voluntary saccades is dynamic in mice, ensuring the capacity to explore the natural environment through eye movements.

9. Skilled reaching and grasping; microcircuit physiology and behavior.

Bror Alstermark（スウェーデン・ウメオ大学）

（2014.6.3）

Skilled reaching and grasping are amongst the most complex voluntary movements that many different species of animals perform for their daily living and survival. We will describe our research in this field that has stretched over a long time from the cat, monkey and man, rat and mouse. Comparison will be made between the animal models as to the circuitry and behavioral skills. Finally, we will address recent findings regarding internal feedback control of motor commands for reaching involving precerebellar processing.

10. 視床神経回路の発達とその維持

宮田麻理子（東京女子医科大学医学部第一生理）

（2014.6.5）

本セミナーは日本語で行われます。

神経系では発達初期に一旦過剰なシナプスが形成され，経験依存的あるいは非依存的に必要なものは強化され，不必要なものは弱化しやがて除去されて，結果的に成熟した精巧な神経回路網が形成される。また，完成された回路が経験依存的に維持される期間があることも近年明らかになってきた。視床シナプスの神経回路においても同様のシナプス除去が生じる事が知られている。感覚視床の投射ニューロンへ入力する上行性線維シナプスは発達のごく初期に過剰なシナプスを形成した後，生後第二週目からシナプス除去が生じる。しかしながら，このシナプス除去の機能的意義は十分明らかになっていなかった。即ち，シナプス除去において，どのような感覚情報が残存し，どのような情報が除去されるかといった質的な意味づけが不明であった。そこで，我々は顔面の触感覚の視床核（VPm）に入力する上行性線維に体部位情報を蛍光ラベルしたマウスを用いることに

よって，シナプス除去が発達期の体部位情報の先鋭化に必要であることを明らかにしたので，今回紹介する。また，最近，網膜から視覚視床核（dLGN）へのシナプス維持に代謝型グルタミン受容体 1 型の関与する知見を得たので紹介し，一緒に議論したい。

11. 分子相同性による自己免疫性神経疾患の発症機序

結城伸泰（シンガポール国立大学医学部内科）

（2014.6.18）

これまで自己免疫病発症における分子相同性の研究は，ペプチドに対する自己反応性 T 細胞に主として目が向けられていたため，分子相同性仮説の立証には至らなかった。演者は，Campylobacter jejuni 腸炎後に自己免疫性末梢神経疾患（ギラン・バレー症候群やフィッシャー症候群）の発症機序を解明すべく研究に取り組んできた。そして，糖脂質の糖鎖に対する自己抗体という別の着眼点から切り込むことにより，分子相同性仮説を完全に証明し，糖鎖相同性によって自己免疫病が発症しうることを示した。さらに，「感染微生物の遺伝子多型が，自己免疫病患者の臨床像まで規定してしまう」という，新しいパラダイム提出に至った。そうした研究の経緯を披露したい。

参考文献:

１）Yuki N, Hartung HP. Guillain-Barré syndrome. N Engl J Med (2012)

２）Yuki N. Guillain-Barré syndrome and anti-ganglioside antibodie s: a clinician-scientist's journey. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci (2012)

12. Improvements in 3D electron microscopy for mapping neuronal circuitry

Benjamin Titze（Max Planck Institute for Medical Research,ドイツハイデルベルク）

（2014.6.23）

本セミナーでは, diamond knife cutting type Serial Block-face Electron Microscopy (SBEM) の先端的な使用方法や問題点の対処方法等を紹介して頂く予定です。

abstract: In the first part of the talk, I will give an overview of novel 3D electron microscopy methods for neuroscience that have been developed in the past 10 years. I will discuss the strengths, weaknesses and current performance parameters of these methods with respect to large-scale neuronal circuit reconstruction. I will cover Serial Block-face Electron Microscopy (SBEM) in most detail and will describe how sample surface charging and electron beam damage cause limitations for SBEM imaging. In the second part of the talk, I will present experimental approaches to overcome these limitations: low-energy ion bombardment and in-chamber deposition of thin metallic films to solve the charging problem, and low-temperature SBEM operation to reduce the effects of beam damage with the aim to allow higher electron doses.

13. 心筋におけるミトコンドリアの伸展刺激誘発性反応の生理的意義

入部玄太郎（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学）

（2014.6.23）

本セミナーは日本語で行われます。

心筋は拡張期の左室充満（心筋伸展）に抗して血液を駆出（心筋収縮）する。さらに心筋を伸展（前負荷増加）させると，一心拍の機械的総エネルギーは「フランク・スターリングの心臓法則」にしたがって増加する。この心筋が行う機械仕事のための ATP はミトコンドリアで産生されるが，その産生には電子伝達系における活性酸素 reactive oxygen species (ROS)の産生を伴う。ROS は組織の酸化損傷を引き起こす物質であると同時にシグナル伝達物質としても重要である。我々はこれまで心筋伸展刺激が筋小胞体機能を修飾することを明らかにしてきたが，最近になってミトコンドリアの伸展刺激誘発性の ROS 産生がこれらの現象を含めた細胞反応に大きく関わっていることを示す知見が得られつつある。

14. Hyperscanning fMRI を用いたコミュニケーションの神経基盤の解明

小池耕彦（生理学研究所 心理生理学研究部門）

（2014.6.24）

ヒトのコミュニケーションは一般的に，二者以上が互いに相手に影響を与えあう行為を，連鎖的に繰り返すことで成り立っている。また，コミュニケーションは二人の間で，その二者の間に特異的な何らかの情報，または雰囲気などの心理的な状態を共有するためのものである。これらを考えれば，コミュニケーションの神経基盤を検討するときには，コミュニケーション中の個人の脳活動だけではなく，その最中に二者の脳活動が互いに影響しあう仕組みを検討することが重要であろう。この目的のために近年の研究では，コミュニケーション中の二者の脳活動を同時に記録/解析する，Hyperscanning neuroimaging と呼ばれる手法が用いられ始めている。我々は生理学研究所の二台の MRI 装置を利用した Hyperscanning fMRI で，視線を介した非言語コミュニケーション(アイコンタクト)中に，二者の脳活動がどのように互いに影響しあっているかを検討してきた。さらに最近では，高速撮像法と光マイクを組み合わせた実験系を構築し，ビデオチャット中の二者の脳活動を同時に記録することも可能になり，言語コミュニケーションの神経基盤を検討することも可能になりつつある。

本セミナーでは，社会性の神経基盤を Hyperscanning fMRI を用いて検討している幾つかの研究について，その内容および今後の展望について紹介する。

15. Subcortical and Cortical Control of Skilled Hand Function

Roland Philipp（UCL Institute of Neurology, Sobell Department of Motor Neuroscience & Movement Disorders, London）

（2014.6.25）

Neuronal activity in the deep layers of the macaque (Macaca mulatta) superior colliculus (SC) and the underlying reticular formation is correlated with the initiation and execution of arm movements (Werner, 1993). Although the correlation of this activity with EMGs of proximal arm muscles is as strong as in motor cortex (Werner et al., 1997a; Stuphorn et al., 1999), little is known about the influence of electrical microstimulation in the SC on the initiation and trajectories of arm movements. The experiments on three macaque monkeys I am presenting here clearly show that arm movements can be elicited by electrical microstimulation in the deep layers of the lateral SC and underlying reticular formation. A large repertoire of arm movements categorized into three movement types were elicited and compared before and after training. Therefore, arm movements induced by electrical stimulation in the monkey SC represent a further component of the functional repertoire of the SC using its impact on motoneurons in the spinal cord perhaps directly in the initiation, execution, and amendment of arm and hand movements. Evidence is accumulating that neurons in

primary motor cortex (M1) respond during action observation, a property first shown for mirror neurons in monkey premotor cortex. I will show here for the first time that the discharge of a major class of M1 output neuron, the pyramidal tract neuron (PTN), is modulated during observation of precision grip by a human experimenter. Many PTNs increased their discharge during observation (facilitation-type mirror neuron), but a substantial number exhibited reduced discharge or stopped firing (suppression-type). Simultaneous recordings from arm, hand, and digit muscles confirmed the complete absence of detectable muscle activity during observation. The discharge of the same population of neurons was compared with activity during active grasp by the monkeys. We found that facilitation neurons were only half as active for action observation as for action execution, and that suppression neurons reversed their activity pattern and were actually facilitated during execution. Thus, although many M1 output neurons are active during action observation, M1 direct input to the spinal circuitry is either reduced or abolished and may not be sufficient to produce overt muscle activity. Little is known about the gaze pattern during an action observation task and whether gaze direction per se affects the activity of mirror neurons. We analysed the coordination between gaze behaviour and dexterous manipulation in two monkeys that first observed and then grasped three differently shaped objects (execution trials). On randomly interleaved trials, the monkey watched as the same objects were presented to, and then grasped, by a human experimenter (observation trials). During both execution and observation trials, monkeys spent a significant amount of time looking both at the presented object and at the subsequent grasping action. Gaze patterns during execution and observation were well correlated. We recorded from mirror neurons in M1 and F5. The monkey's eye fixation and saccadic patterns were then analysed in relation to their neuronal firing rates. The correlations with gaze behaviour appeared to arise mostly because of the close co-ordination of eye and hand movements during the task. Detailed analysis showed that when this factor was removed, only a small proportion of mirror neurons showed a significant correlation with gaze direction. Thus monkeys' gaze behaviour suggests that they show attention to both executed and observed tasks, but this does not significantly affect the activity of the sampled mirror neurons.

16. 報酬および忌避学習に関わる線条体の経路特異的役割

矢和多智（大阪バイオサイエンス研究所）

（2014.6.27）

大脳基底核神経回路には，線条体から黒質網様部に投射する直接路と，淡蒼球を介する間接路があり，そのバランスにより機能を果たしていると考えられている。しかしながら，二つの経路の神経細胞は形態的・電気生理学的にも違いがなく，それぞれの経路がどのような機能を果たしているか不明であった。我々は， 経路特異的神経伝達阻止法を開発し，直接路または間接路を特異的に神経遮断し，それぞれの経路特異的な機能を解析した。その結果，報酬学習には腹側線条体の直接路細胞およびドーパミンＤ１受容体が，また行動柔軟性には間接路およびドーパミンＤ２受容体が必要であることが分かった。また，忌避学習における直接路および間接路の特異的役割を明らかにした。

直接路および間接路細胞は腹側被蓋野からのドーパミンにより制御されている。そこで，光遺伝学的手法を用いドーパミン細胞の活動を制御することで，どのような行動が誘導されるかを観察した。その結果，ドーパミン細胞の活動低下が場所嫌悪学習を引き起こすこと，またその学習にはドーパミンＤ２受容体が必要であることを明らかにした。

Yawata S, Yamaguchi T, Danjo T, Hikida T, Nakanishi S. Pathway-specific control of reward learning and its flexibility via selective dopamine receptors in the nucleus accumbens Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Jul 31;109(31)

Danjo T, Yoshimi K, Funabiki K, Yawata S, Nakanishi S. Aversive behavior induced by optogenetic inactivation of ventral tegmental area dopamine neurons is mediated by dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens. Proc Natl Acad Sci U S A. 111(17):6455-60, 2014

17. 大脳皮質入力依存性神経回路再編成の機序の解明

江藤　圭（Department of Pharmacology, University of North Carolina at Chapel Hill）

（2014.7.3）

大脳皮質神経回路は発達期や病態時に再編成することで，その機能を変化させる。そのため，大脳皮質神経回路再編成の機序を理解することは，生理学的にも病態生理学的にも重要である。そこで，２つの入力依存性神経回路再編モデルを用い，大脳皮質神経回路再編成とその機序に関する研究を行った。まず，過剰入力神経回路再編成モデルの慢性疼痛に着目した。慢性疼痛は，末梢からの過剰入力による中枢神経系の可塑的変化により起きる。このモデルを用いて調べた，一次体性感覚野の興奮性神経回路の可塑的変化，抑制性細胞よる興奮性細胞活動制御機構，および，アストロサイト活動変化について紹介する。

次に，神経回路再編成を誘導する因子としてシナプス形成やシナプス可塑性に関与するアストロサイトに着目した。アストロサイトの神経回路再編成における役割を調べるために，神経回路再編成モデルとして視覚野の片眼遮蔽モデルを用いた研究を行った。視覚野において，幼弱期では片眼遮蔽により神経回路再編成が起きるが，大人では再編成が起きにくくなる。そこで，細胞特異的に刺激する方法を用いた視覚野アストロサイトの慢性刺激が，大人視覚野における片眼遮蔽神経回路再編成を誘導するかどうか検討した。本セミナーでは，この結果について報告するとともに，アストロサイトが神経回路再編成を誘導する機序に関する研究計画についても紹介する。

18. Functional significance of GABAergic interneuron clusters in the mouse visual cortex

蝦名鉄平（理化学研究所 脳科学総合研究センター 大脳皮質回路可塑性研究チーム）

（2014.7.3）

The lecture will be delivered in English.

Neocortical neurons with similar functional properties assemble into spatially coherent circuits, but it remains unclear how inhibitory interneurons are organized in the cerebral neocortex. Recent in vitro studies suggested that the clusters of inhibitory interneurons originated from the same progenitor cells are clustered in the spatial domain of the developing neocortex. However, it is still not clear how long such a clustered distribution persists during postnatal development, and even if it persists to the adulthood, it remains unknown what is the functional significance of spatial clustering of GABAergic interneurons in operation of cortical circuits.To address these questions, we applied in vivo two-photon functional Ca2+ imaging and whole-cell recording of synaptic currents to record visual responses of cortical neurons, and analyzed their spatial arrangements. GABAergic interneurons were clustered in the three-dimensional space of the adult visual cortex, and the three subtypes of interneurons, parvalbumin-, calretinin- and somatostatin-positive neurons also formed clusters with slightly overlapping each other. Excitatory neurons located within the clusters (insiders) had a lower amplitude and sharper orientation tuning of visual responses than outsiders, whereas the neurons near and far from non-clustered

interneurons did not show the location-tuning/amplitude relationship. Furthermore, inhibitory synaptic currents recorded from the insiders were larger than those of the outsiders. These findings suggest that GABAergic interneurons form spatial clusters to make their inhibitory function more effective than isolated interneurons.

In this talk, I would like to discuss the functional significance of the spatial clustering of GABAergic neurons in the cortical circuit.

19. サル下側頭皮質における光沢細胞集団の情報表現

西尾亜希子（生理研 感覚認知情報研究部門）

（2014.7.10）

目の前にある物体が，どんな素材で出来ているのか，つるつるしていそうか， みずみずしそうなのか…などといった情報を，我々は視覚情報のみから簡単に識別する事が出来る。このように表面状態の識別をする際，重要な手がかりの一つとなるのは光沢情報である。そこで我々は，光沢情報処理の神経メカニズムを明らかにするために，様々な光沢刺激に対するニホンザルの下側頭皮質のニューロンの反応を，単一細胞外記録を用いて調べている。その結果，下側頭皮質に特定の光沢に反応する細胞が存在すること，またそれらの細胞の集団レベルでの活動は，光沢に関わる変数を表現している可能性が高いことなどが分かってきた。本セミナーでは，これまでの研究によって得られた光沢情報処理に関する知見を報告する。

20. 運動学習中に大脳皮質の一次運動野でおきる層特異的な神経活動変化について

正水芳人，田中康裕（基礎生物研究所 National Institute for Basic Biology）

（2014.7.16）

本セミナーは日本語で行われます。This talk will be given in Japanese.

特定の運動を繰り返すことで，学習が成立し運動課題の成功率が高くなるとき， 大脳皮質の一次運動野では，神経細胞集団の活動による運動情報の符号化が改善されていくことが知られている。一次運動野は，脊髄への運動出力を第 5b 層から出すが，その前に 2 つの中間層として第 2/3 層と第 5a 層を持つ。どちらの層も様々な脳部位から入力を受け大脳皮質間投射があるが，第 5a 層はそれに加えて皮質下への投射もあり，これらの 2 層で神経細胞集団の再編成は異なると考えられる。そこで我々は，毎日 1 時間，2 週間連続でレバー引き運動課題をマウスに行わせて，課題実行中に 2 光子カルシウムイメージングを一次運動野の第 2/3 層と第 5a 層で行った。神経集団の再編成を見るため，細胞集団・及び単一細胞の神経活動からレバー軌道をサポートベクター回帰により予測した。さらに，神経活動から予測されたレバー軌道と実際に記録されたレバー軌道とのコピュラ密度を推定し， 予測精度を相互情報量によって評価した。第 2/3 層では神経細胞集団によるレバー軌道の予測精度は全体としてあまり変わらないものの，一部の神経細胞は課題訓練期間を通して高い予測精度を示した。一方で，第 5a 層では，細胞集団によるレバー軌道の予測精度は課題訓練期間を通して改善し，皮質下に投射する細胞を含む 1/3 の神経細胞が学習後期における細胞集団による予測精度に貢献するようになった。第 2/3 層の神経回路は学習を通じて，他の領域からのシグナルをうまく統合しながら変化していき，一方で第 5a 層ではよく学習された運動を表現する学習回路に関わるようになるものと考えられる。

21. GABAergic neurones control the activity of spatial coding and synchronous network activity in the hippocampal-entorhinal formation thereby affecting spatial learning

Hannah Monyer（Department of Clinical Neurobiology Medical Faculty of Heidelberg University and German Cancer Research Center (DKFZ)）

（2014.7.18）

皮質抑制性ニューロンの分子生物学・生理学的解析で著名な，ハイデルベルク大学の Hannah Monyer 教授にセミナーをお願いしました。多数のご参集をお待ちしています。

GABAergic interneurons are crucially involved in the generation and maintenance of rhythmic synchronous activity in many forebrain regions, including the hippocampal-entorhinal formation. Genetic manipulations affecting the recruitment of GABAergic interneurons or abolishing the electrical coupling between GABAergic interneurons highlighted the functional role of GABAergic interneurons for spatial and/or temporal coding in the hippocampus. The genetic manipulations were always associated with distinct spatial memory deficits. To manipulate activity of selective neurons "online", we use optogenetics combined with in vivo recordings in freely moving mice. This allows the study of distinct interneurons, their connectivity with neighboring excitatory cells, as well as whether and how interneuron recruitment accounts for distinctive firing properties of spatially tuned cells. I will also present data demonstrating the presence of long-range GABAergic cells that connect the hippocampus and entorhinal cortex bi-directionally. By virtue of their connectivity - the target cells are most often local interneurons - this class of cells is ideally suited to synchronize brain regions over long distance. I will show that long-range GABAergic cells connect many more brain regions, and will discuss in more detail the septum-entorhinal cortex connectivity.

Finally I will present recent data focusing on the anatomical and functional characterization of distinct cell types in the medial entorhinal cortex, their local and long-range connectivity, and will discuss whether these empirical findings match theoretical considerations that were forwarded to explain grid cell firing.

22. The visual representation of 3D object pose in parietal cortex.

Ari Rosenberg（Baylor College of Medicine）

（2014.7.25）

Interacting with objects in three-dimensional (3D) space often requires the brain to determine their spatial pose (position and orientation) from visual signals. In 3D space, an object’s pose has six degrees of freedom – three specifying position and three specifying orientation. Conversely, retinal images are 2D and thus have only three degrees of freedom – two positional and one orientational. The missing three degrees of freedom must be inferred by the brain, making the construction of 3D visual representations a complex, but fundamental task. In this talk, I will discuss experiments we are conducting in the caudal intraparietal area (CIP) of the macaque monkey to elucidate the neural coding of 3D object pose.Using novel analytical tools, I will first show that CIP neurons encode the 3D orientation of a planar surface Rosenberg et al., 2013). I will then discuss experiments examining how texture and disparity cues contribute to CIP orientation selectivity. We find that the onvergence of these cues depends on their reliabilities, suggesting that CIP plays an important role in creating robust, multimodal visual representations. Lastly, I will discuss ongoing work showing that individual CIP neurons jointly encode an object’s 3D position and orientation. Together, these results reveal a sophisticated representation of 3D visual spatial information, and suggest that CIP can answer two fundamental questions faced whenever we interact with an object: Where is it? and How is it oriented?

Rosenberg A, Cowan NJ, Angelaki DE (2013) The Visual Representation of 3D Object Orientation in Parietal Cortex. J Neurosci 33:19352-19361.

23. Interneuron subtypes and orientation tuning

Seung-Hee Lee,（Division of Neurobiology, Department of Molecular and Cell Biology, Helen Wills Neuroscience Institute, Howard Hughes Medical Institute, University of California, Berkeley, California 94720, USA Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute）

（2014.9.9）

韓国 KAIST で 2013 年に研究室を新たに立ち上げられた，Seung-Hee Lee 先生にセミナーをお願いしました。Lee 先生はマウス一次視覚野をモデルとし，最先端の技術を取り入れ大脳皮質局所神経回路における感覚情報処理のネットワークメカニズムの解明に取り組んでおられる新進気鋭の研究者です。

Abstract

Parvalbumin-positive (PV+) and somatostatin-positive (SST+) interneurons are two principal subtypes of cortical GABAergic neurons that differ in morphology, physiological properties and postsynaptic targeting. Although GABAergic inhibition is known to be crucial for shaping orientation tuning in the visual cortex, it is unclear whether PV+ and SST+ interneurons have different roles. Recently, we addressed this issue by optogenetically manipulating each interneuron subtype. We found that PV+ and SST+ interneurons show distinct roles in orientation selectivity, depending on the level and duration of interneuron activation. Our results showed that prolonged activation of PV+ interneurons in the mouse primary visual cortex (V1) sharpens neuronal feature selectivity and improves perceptual discrimination. These results provide the first demonstration that visual coding and perception can be improved by increased spiking of a specific subtype of cortical inhibitory interneurons.

Key words: Orientation selectivity, interneuron, primary visual cortex.

24. Acute and Chronic Therapeutic strategies in Spinal Cord Injury

ANGELO ALL（Assistant Professor SINAPSE Institute, National University of Singapore）

（2014.9.9）

Focus of my research is on contusive spinal cord injury, repair and regeneration. My translational research projects involves acute hypothermia treatment as well as chronic cell replacement therapy using oligodendrocyte precursor cells (OPC) derived from human embryonic stem cells, iPS cells and Directly Converted cells from human mature fibroblasts in rodent model of spinal cord injury. My laboratory has pioneered the monitoring and quantitative analysis of multi-channel somatosensory and motor evoked potentials in order to assess the electrical integrity at various stages- both pre and post peripheral and spinal cord injury. Our team also uses different Imaging techniques to monitor anatomical changes in the injured spinal cord architectures at various time points. These images allow us to identify spared fibers and track the extent of secondary injury and determine the therapeutic benefit of the therapy. In addition, my lab is studying the adult central nervous system capabilities of adaptive changes enabling spared neuro-pathways for reorganization following neuro-trauma..

25. 適正な実験動物と適切な動物実験を目指して

浦野　徹（生理学研究所 動物実験センター）

（2014.9.10）

「適正な実験動物と適切な動物実験を目指して」について，私自身がこれまでに行ってきた実験動物と動物実験に関する研究，教育，管理運営及び社会的活動の中の，できるだけ皆さんに直接的・間接的にかかわる内容を中心にご紹介をさせて戴く。前半は，私の研究テーマの一部である緑膿菌感染，ノーマルフローラ，さらにマウス・ラットにおける微生物学的品質管理（微生物モニタリング・コントロール・クリーニング）についてお話しする。後半は，我が国における実験動物と動物実験に関する各種規制について，特に動物の親法である「動物の愛護及び管理に関する法律」が５年ごとに改正されていることに伴って，その都度起きている法改正をめぐる激しい動きに関する最新情報をお話しする。

26. R 低分子量 G 蛋白質 Arf6 の意外な生理機能

金保安則（筑波大学医学医療系・生理化学教室）

（2014.9.12）

本セミナーは日本語で行われます。

低分子量 G 蛋白質の Arf6 は，シグナル伝達系において分子スイッチとして機能しており，細胞レベルで細胞膜リサイクリングを制御することが知られている。我々は，1999 年に Arf6 がリン脂質キナーゼの PIP5K の活性をして細胞膜形態を制御するという非常に興味深い発見をして以来，Arf6 の個体レベルでの生理機能と病態への関与について解析を進めている。本セミナーでは，これらの点について，極めて新規な知見を紹介し，議論したい。

27. mRNA 分解の分子メカニズムと遺伝子発現調節

星野真一（名古屋市立大学大学院薬学研究科遺伝情報学分野）

（2014.9.12）

本セミナーは日本語で行われます。

mRNA 分解は転写と同様遺伝子発現において重要な役割をはたしている。一般的に mRNA 3'末端に存在するポリ A 鎖の短縮化（デアデニレーション）が mRNA 分解の第一段階であり，また律速段階でもある。我々はこれまで翻訳終結が mRNA（ポリ A 鎖）分解を引き起こすことを見出し，その翻訳終結と共役した mRNA 分解開始のメカニズムを提唱してきた。すなわち，翻訳終結後，終結因子 eRF3 が mRNA から解離し，それに置き換わる形でポリ A 鎖分解酵素 Pan2-Pan3 と Caf1-Ccr4 がリクルートされ，mRNA 分解が開始する。本セミナーにおいては，このポリ A 分解を標的とする新規の遺伝子発現制御機構について紹介する。

28. Involvement of androgen hormones in brain repair: A special focus on myelin Disorders

Said Ghandour（Biopathology of Myelin, Neuroprtection and Therapeutic Strategies University of Strasbourg）

（2014.10.16）

この度，東京に来日されているので，Said Ghandour 教授を招待しました。Said Ghandour 教授は，長年，脱

髄疾患の病態解明に取り組んでこられました。皆様のご来聴をお待ちしています。

Myelin regeneration has become major therapeutic goal in demyelinating diseases. There is indeed strong evidence that the failure of myelin repair is a major contributing issue to the progression of multiple sclerosis and to its evolution into a chronic disorder. Recently, we demonstrated that treatment of chronic demyelination in mice with testosterone and analogs efficiently stimulates the formation of new myelin and reverses myelin deficiency. Androgen therapy promotes repair by stimulating the recruitment and differentiation of myelin forming cell precursors (OPC). Furthermore, we identified the neural androgen receptor (AR) as a novel therapeutic target in myelin disorders.

29. グリシン受容体の活性化に伴う局在変化

中畑義久（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門）

（2014.10.22）

神経細胞間の主要な情報伝達様式である化学シナプスでは，放出された神経伝達物質に対応した受容体が，シナプス後膜において適切な局在することが不可欠である。こうした受容体の局在に着目したシナプス編成の研究は，これまでグルタミン酸作動性シナプスを中心に行われ，神経活動に伴う細胞内 Ca2+上昇がシナプスにおける受容体の局在に重要であることが知られている。一方，GABA／グリシン作動性シナプスは，発達に伴う K+Cl-共輸送体２（KCC2）の機能発現によって細胞内 Cl-濃度が低下し，これにより GABA／グリシン応答が脱分極から過分極に変化する（D-H シフト）という特徴を持つ。そのため，GABA／グリシン作動性シナプスにおける受容体の局在は，グルタミン酸作動性シナプスと同様，幼若期にみられる GABA／グリシンの興奮性応答によって説明されてきた。しかし，近年，こうした神経伝達物質受容体は，細胞内および細胞膜上においてダイナミックに変化し，動的平衡状態にあることがわかってきた。　そこで，我々は脱分極から過分極へ D-H シフトするグリシン作動性シナプスに着目し，成熟した神経細胞においても新たなグリシン作動性シナプスが形成されるのか，検討を行った。

本セミナーでは，これまで我々が行ってきた光褪色後蛍光回復法，量子ドットイメージングなどライブセルイメージングでの知見に加え，今後の展開についても紹介したい。

30. Beyond the Dopamine Receptor: Regulation and Roles of Serine/Threonine Protein Phosphatases

Angus C. Nairn（Charles B. G. Murphy Professor of Psychiatry, Yale University）

（2014.10.22）

ドーパミンに関わる細胞内情報伝達機構を長年研究してこられた Yale 大学の Angus C. Nairn 教授にセミナーをお願いしました。多数のご来聴をお待ちしています。

Dopamine plays an important role in the central nervous system, helping to control critical aspects of motor control, as well as of reward learning. Moreover, the disruption of normal dopaminergic neurotransmission is known to underlie neurological diseases, including schizophrenia, Huntington's and Parkinson's disease. Modulation of dopamine-regulated signaling pathways is also likely to play an important role in the addictive actions of various drugs of abuse. Our studies focus on the molecular actions of dopamine in the medium spiny neurons of the striatum. Striatally-enriched phosphoproteins, particularly DARPP-32, RCS (Regulator of calmodulin signaling) and ARPP-16, have been found to mediate a variety of actions of dopamine. Notably, each of these proteins either directly or indirectly acts to control the

activity of three major sub-classes of serine/threonine protein phosphatases, PP1, PP2B and PP2A, respectively. Recent studies highlighting novel aspects of the functions of these dopamine-regulated pathways will be discussed, with a focus on the regulation of cell signaling in specific populations of striatal neurons.

31. Chemical Medicine と Physical Medicine の今後の医療への展開

甲斐広文（熊本大学大学院 生命科学研究部（薬学系）遺伝子機能応用学分野）

（2014.10.28）

我々は，筋肉収縮に影響を及ぼさないレベルの物理的刺激の作用に着眼し，医薬品開発と同様の研究を展開しながら刺激条件を最適化した医療機器の開発を進めてきた（経済産業省「課題解決型医療機器開発事業」採択，平成２６年度より「医工連携事業化推進事業」として継続推進中）．これまでの研究により，分子メカニズムという観点から，微弱直流パルス電流刺激がインスリン刺激下の AKT 活性化，p53 の活性化において増強反応を示すこと，刺激電流に最適かつ共通のパルス幅が存在する現象を発見した．また，周波数により，生体への影響が大きく異なることがわかってきた．最適化物理的刺激療法は，糖尿病や慢性腎臓病の各モデル動物において有効であることが明らかにされてきただけでなく，熊本大学医学部附属病院代謝内科の荒木教授，近藤助教らが主導して，メタボリック症候群や 2 型糖尿病患者を対象とした臨床試験において治療効果を実証してきた．　本発表では，皮膚組織に対する影響も遺伝子レベルで網羅的に解析した結果も最新の情報として話題提供する予定である. また, 医薬工連携を基盤とする Physical Medicine と Chemical Medicine を駆使した，今後の医療技術の開発・展望についても議論を深めたいと願っている。

32. 超薄型フレキシブル電極による生体計測

キム　ドンミン（東京大学工学系研究科）

（2014.11.13）

数 μm の超薄型フレキシブル電極は，複雑な形をする生体や臓器の表面に密着・追従し，脳や心臓などに対して多点での刺激や信号取得が可能である．また，このようなフレキシブル電極では，導体が薄いために，MRI 測定においては RF 信号と干渉せず，電極を埋め込んだ状態で電極周りでの MRI 信号取得も可能である．　本発表では，JST ERATO 染谷生体調和エレクトロニクスプロジェクトで取り込んでいる超薄型フレキシブル電極の開発やその生体応用について紹介する．また，　ラット用の超薄型フレキシブル刺激電極を用いた運動野刺激による機能的 MRI から得られた脳活動の変化やその意義について紹介する.

33. Enhancing the Value of Research Findings: Ongoing Activities at NIH and Beyond

Shai Silberberg Program Director（Extramural Research Program, NIH/NINDS）

（2014.11.25）

The quality of research depends on the rigor with which researchers conduct studies and control for potential biases. Recent publications and meetings have focused on the observation that published research results are often not reproducible. Although there are many possible causes for this problem, poor experimental design and inadequate

reporting of research methodologies appear to be significant contributing factors. Evidence for this deduction will be presented, as well as actions taken by the US National Institutes of Health (NIH) and by publishers to address the issues

34. 入力依存的な視覚マップ形成における空間情報の暗号化/Spatial-Temporal-Spatial transformation in visual map plasticity A novel rule in input dependent organization of circuit

Masateru Hiramoto（The Scripps Research Institute, USA）

（2014.11.26）

脳は感覚入力を自然界の特徴に沿った形で解釈する。神経回路は現在の情報を読み取るだけでなく，その情報を元に回路をチューニングし，将来の入力をより正しく解釈する様に変化する。この特性は脳の発達や損傷からの回復の過程で働くだけでなく，人工網膜などの人工感覚器からの入力を元に，外界を正しく認識できる様になるためにも重要になると予想される。自然界では「物体は瞬間移動しない」あるいは「光は上から注がれる」などの法則があり，そこから得られる感覚入力はこれらのルールに従っている。この様な自然界の特徴と神経細胞自体の性質により，自然環境からの刺激は神経細胞に特徴的な活動パターンを誘導する。この活動パターンは，脳内での情報表現・処理だけでなく，回路の調整にも関わると考えられる。しかし外界に関する基本的な情報がどの様なルールで活動パターンに変換されて伝達され，その後どの様に情報が抽出されるかについては良く分かっていない。感覚神経の脳内での投射位置は，その神経が伝達する情報を反映している。さらにその投射位置は過去の入力に応じて変化する事が知られている。そこで，視神経の活動パターンを操作し，視覚マップにおける投射位置をリードアウトとして用い，情報伝達機能を持つ活動パターンの同定を試みた。実験系には，優れた再生能力を持ち，モデルシステムの中で最も高い可塑性を持つと言われる Xenopus 幼生の視覚マップを用いた。視覚マップを外界に合った形にチューニングするには，それぞれの視神経がどこの空間を見ているかに関する情報を神経活動から得る必要がある。今回，その空間情報が視神経が発火する順番から抽出されている事が分かった。この事は学習的な視覚マップ形成において，空間の順序は時間の順序で表現されている事を示している。同時に，視神経の投射先は，各々の視神経が発火する順番を操作する事で制御できる事も分かった。

To generate an accurate visual perception of our surroundings, animals must “tune” neural connections from the retina to the brain in order to compensate for various noise, such as optical errors in eyes, natural variance in neural structures, and developmental disorders. A prime target for the tuning process is retinotopy, the projection of axons from the retina to the brain. While retinotopy is initially mapped by molecular cues, the projection pattern of axons can be further tuned through visual experience. By imaging retinal axon projection while exposing Xenopus tadpoles to various visual stimuli, I show that this tuning mechanism exploits relationships between the spatial order in the vision and the temporal order of input in the optic flow generated by the animal’s forward-directed locomotion. The predominant anterior to posterior optic flow activates retinal ganglion cells in a stereotyped sequence. This temporal sequence driven by natural optic flow refined retinotopy by regulating axon arbor branch dynamics, whereas the opposite sequence of retinal activity prevented map refinement. Our study shows that sensory projection strategy takes advantage of the intrinsic bias in the way that animal receives information of its surroundings. This organizational principle likely applies to other sensory modalities and projections in the brain.

35. EM-based Connectomics: The ATUM Method

Daniel Berger（Jeff Lichtman Lab, Harvard University, Boston, USA）

（2014.12.1）

Recent advances in automating tissue processing, data collection and analysis have spurred new interest in electron microscopy (EM) as a tool for neuroscience. It is now possible to acquire three-dimensional EM-resolution data sets which are large enough to reconstruct circuits between neurons at the synaptic level. This talk will discuss the ATUM (Automatic Tape-collecting Ultra-Microtome) method for serial sectioning followed by Scanning Electron Microscopy (SEM) imaging, as well as processing and analysis of multi-Terabyte nanometer-resolution 3D image data sets.

36. 触覚パターン時空間認知のオプトジェネティクス研究

八尾　寛（東北大学生命科学研究科脳機能解析分野）

（2014.12.1）

単細胞緑藻類クラミドモナスの一種 Chlamydomonas reinhardtii に由来するチャネルロドプシン 2（ChR2）は，微生物型ロドプシンファミリータンパク質の一員であり，460-480 nm の青色光に応答して陽イオンを透過させ，膜電位を制御することにより，光依存的な行動を制御していると考えられている。Karl Deisseroth のグループおよびわれわれのグループは，それぞれ独立に，ChR2 の遺伝子をニューロンに導入する実験を行い，光パルスとニューロン活動を同期させることに成功した。特定の神経細胞に光感受性を組み込み，光刺激によるネットワーク活動の制御を可能にするオプトジェネティクス（光遺伝学）により，脳・神経系の機能が高い時空間分解能により解析される。この技術を推進する目的で，ChR2 遺伝子を thy1.2 プロモーター制御下に発現するトランスジェニックラットを開発した。このラットの一系統においては，中枢神経系のさまざまなニューロンにおいて，ChR2 が発現し，光刺激に応答し活動が惹起できた。たとえば，海馬においては，歯状回顆粒細胞，CA3 錐体細胞，CA1 錐体細胞などの主要な細胞を光刺激できた。また，網膜においては，神経節細胞特異的な発現が認められた。したがって，脳機能の生理・病態生理研究，視覚再建研究などへの応用が期待される。

脊髄後根神経節（DRG）や三叉神経節（TG）は，皮膚，筋肉，関節などの体性感覚受容に関わるニューロンの集合である。本ラットにおいて，触覚などの機械受容や深部感覚を掌る大型の DRG/TG ニューロンに ChR2 が発現していることを確認した。しかし，痛覚，温度感覚などの侵害受容に関与する小型の後根神経節細胞には発現していなかった。また，メルケル小体やマイスナー小体などの皮膚の触覚受容器を構成している機械受容ニューロンの末梢神経終末にも ChR2 が分布していた。このラットの足裏に青色 LED の光を照射したところ，光に反応した足の動きが認められた。このラットの皮膚では，光が機械感覚受容器の神経終末で受け取られ，活動電位を発生し，脊髄，脳へと伝えられ，触覚などの知覚を引き起こしたことが示唆される。しかし，痛覚などの侵害感覚は引き起こされていない。本研究は，世界で初めて，皮膚で光を感知するラットの作製に成功したものである。

ラット口吻部に規則正しく配置されている頬ひげ（ウィスカ）の接触は，毛根において感知され，三叉神経→脳幹→視床を経て，反対側の大脳皮質一次感覚野へトポグラフィカルに情報が受け渡される。一次感覚野においては，ウィスカの 2 次元的な配列に対応した 2 次元的なバレル構造が形成されている（バレル野）。ウィスカの毛根に分布する機械受容神経叢にも ChR2 が発現していた。さまざまな時空間パターンの光をウィスカ配列に照射することにより，ウィスカへの様々な触覚入力が大脳皮質でどのような時空間的活動パターンを経て処理されているのかが明らかになると期待される。

37. Can anti-Alzheimer's disease agent be developed from Thai medicinal plant?

Suchinda Malaivijitnond（Director of the National Primate Research Center of Thailand Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand）

（2014.12.10）

Aging population and age-related diseases, i.e., osteoporosis, cardiovascular disease and neurodegenetation, are increasing across the globe. Searching for a better, safer and cheaper alternative treatment has become a focal point for many researchers. Pueraria mirifica (PM) is an endemic medicinal Thai plant which contains at least 17 phytoestrogens. Its estrogenic activity has been widely tested in in vitro cell lines and in vivo laboratory animals, including humans, on reproduction, cancer and bone. Recently, we have been researching the effects of PM on neurodegeneration which also highly occurs in postmenopausal women. PM exhibited positive effects on anit-Alzheimer's disease tested in rat hippocampal H19-7 cell lines and in ovariectomized rats. In rats, PM showed either neuroprotective or neurotherapeutic action by decreasing expression of genes associated with amyloid plaques (App, Adam10 and Bace1) and neurofibrillary tangles (Tau3 and Tau4) at mRNA and protein levels, and cognitive impairment. This leads to the idea of developing PM as agent for anti-Alzheimer's disease to improve humans' health for the pharmaceutical company.

38. Spontaneous Activity in Visual System

Donggen Luo（McGovern Institute for Brain Research Center for Quantitative Biology College of Life Sciences, Peking University）

（2014.12.10）

北京大学の Donggen Luo 博士にセミナーをお願いしました。多数のご参集をお待ちしています。

We are going to hold seminar by Dr. Donggen Luo at Peking University. I'm looking forward to your attendance to the seminar.Our eyes are extremely sensitive to light. Absorption of only 5-7 photons can trigger light perception in our brain. Indeed, rod photoreceptors, the dim-light sensors in our eyes, have the ability to detect single-photon absorption. In another word, the photoactivation of single visual-pigment molecule (light-sensing molecules in photoreceptors) produces an electrical signal large enough to report to the brain. However, rods also have noise. About once per minute, a rod produces a false signal, equivalent to the absorption of a photon, owing to the spontaneous (thermal) activation of a rod-pigment molecule (rhodopsin). This thermal noise limits our absolute visual threshold by acting as "dark light".

39. MT 野細胞の 3 次元周波数受容野の測定

稲垣未来男（大阪大学大学院 生命機能研究科）

（2014.12.10）

サルの大脳皮質において背側視覚経路に属する MT 野の神経細胞は，運動刺激に対して強い反応を示す。運動刺激の空間周波数や時間周波数を変化させると反応強度も変化することから，MT 野細胞の性質は，2 つの空間周波数（fx, fy）と時間周波数（ft）で構成される 3 次元周波数空間上で記述する必要がある。本研究では，限られた計測時間で MT 野細胞の 3 次元周波数受容野を測定するため，新規に視覚刺激を作成して実験を行った。視覚刺激は独立した運動する正弦波縞を 6 つ重ね合わせたもので，各正弦波縞の時間，空間周波数は 250 ミリ秒ごとに別の値に切り替わるようにした。通常は 1 つの正弦波縞だけを呈示するが 6 つを同時に呈示することで計測時間の短縮を試みた。鎮痛不動化したアカゲザルの MT 野から細胞外電位記録を行い，この視覚刺激に対

する細胞のスパイク列に対して逆相関法を適用して 3 次元周波数受容野を測定した。その結果，いくつかの MT 野細胞では，空間周波数（cycles/deg）が高くなると最適時間周波数 （cycles/s） も高くなる傾向が見られた。この結果は空間周波数と時間周波数の比である速さ（deg/s）に対して選択性をもつことを示唆する。

40. Mesoscopic brain networks regulate cognitive enchainment

Zenas C Chao（RIKEN Brain Science Institute）

（2014.12.11）

Cognitive processes have been attributed to interactions between distributed brain areas coordinated by large-scale neuronal networks, termed neurocognitive networks. However, these processes are typically simultaneous and interdependent, and how their underlying neural structures are organized during behavior remains unknown. We hypothesize that the neurocognitive network consists of structured subcomponents that are regulated by discrete brain-wide activity patterns, and aim to characterize the spatiotemporal dynamics of these mesoscopic network structures. We use an electrocorticography array covering a cortical hemisphere in macaque to collect high-fidelity broadband neuronal signals during various cognitive behaviors, ranging from visual perception to social cognition, and use multivariate connectivity analyses to quantitate the content and directionality of information transfer within the network. With an unbiased deconvolution analysis, we show that the neurocognitive network consists of a battery of latent mesoscopic components, each a cognitive fingerprint of spatio- spectro-temporal dynamics discharging each other to propel a cognitive chain. For example, we show that a bottom-up network could coordinate multiple remote cortical areas to encode the content of a specific social context, and that later retrieval of the same context could be reactivated by bottom-up sensory signals, allowing top-down signals to align with ongoing sensory perception. Our findings show how brain networks remodel at each step to process cognitive information, and reveal how apparently seamless cognition is constructed from a dynamic chain of network communication modules. The technology we describe may be used for organizing whole brain function into constituent network patterns, including cognitive impairments in diseases of network coordination.

41. 蛍光生体イメージングによる「細胞動態学」研究の最前線

石井　優（大阪大学大学院医学系研究科･医学部･感染免疫学講座／生命機能研究科･個体機能学講座 免疫細胞生理学）

（2014.12.17）

本セミナーは日本語で行われます。

The lecture will be delivered in Japanese.

生命システムでは「動き」が重要である。多種多様な細胞の動態は時空間的に精緻にコントロールされている。このようなシステムの研究には，従来の組織学的解析法では不十分であった。固定・薄切した組織観察では，細胞の「形態」や「分子発現」などを解析することはできるが，細胞の「動き」を解析することはできない。細胞の動きを見るためには，「生きた細胞」を，「生きた組織」「生きた個体」の中で観察する必要がある。本演者は深部組織の観察に適した多光子励起顕微鏡を駆使して，生きた細胞の生きたままの動きのある世界を捉えることを可能にしてきた。本講演では，演者がこれまで行ってきた骨髄や免疫組織の生体イメージング研究を中心に紹介し，見ることによって初めて分かった様々な免疫細胞の巧妙な動きとその制御機構について解説する。破骨細胞は炎症によって活性化して骨を破壊・吸収するマクロファージであるが，骨髄内の血管から出入り

しながら「壊すべき場所」を探していた。また，一旦骨に引っ付いても，骨表面で奇妙な動きをしながら機能を発揮していた。リンパ節で，皮膚で， 肺で，腸内で，脂肪組織で，様々な免疫細胞はそれぞれに特徴ある動きと機能を示していた。これら細胞の生きた動きの制御機構は，時間軸をもって生命現象を捉えることが可能な，生体イメージング技術があったからこそ得られた新知見である。

42. Sustained β-adrenergic receptor stimulation mediates cardiac insulin resistance in a PKA-dependent manner

Supachoke Mangmool（Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thailand）

（2014.12.22）

Insulin resistance is a condition in which there are defects in the insulin actions to induce tissue glucose uptake. Overstimulation of β-adrenergic receptors (βARs) leads to the development of heart failure and is associated with the pathogenesis of insulin resistance in the heart. However, the mechanisms by which βARs overstimulation affect insulin resistance in the heart are incompletely understood. We examine the mechanism for insulin resistance regulated by overstimulation of βARs. In this study, we show that sustained βAR stimulation with isoproterenol (ISO) showed the inhibition of insulin-induce glucose uptake and glucose transporter-4 (GLUT4) expression is mediated by the β2AR subtype in cardiomyocytes and heart tissue. Moreover, ISO stimulation attenuated insulin-induced GLUT4 translocation in β2AR-overexpressing HEK-293 cells. Overstimulation of βARs plays a key role in the enhancement of insulin resistance in the heart through cyclic adenosine monophosphate (cAMP)-dependent and protein kinase A (PKA)-dependent pathways. Treatment with β-blockers is able to antagonize the action of ISO-mediated insulin resistance in the heart. The essential role for βARs and identification of the molecular mechanism of βARs on the induction of insulin resistance in the heart advances our understanding, leading to a new therapeutic target for heart diseases.

43. 光刺激によって誘発される大脳皮質のオシレーション活動

大塚　岳（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

（2014.12.24）

大脳皮質は，様々な脳領域に情報を出力している。多様な領域への情報出力を形成する皮質の回路基盤として，これまでに投射先に対応した錐体細胞サブネットワークを同定してきた。しかし，大脳皮質が高次機能を発揮するには多様な脳領域への情報出力を協働させることが必要不可欠である。そこで今回，皮質のサブネットワーク間でどのように活動を相互に制御しているのかについて検討した。子宮内電気穿孔法を用いてチャネルロドプシンをラットの 2/3 層錐体細胞に発現させ，光刺激によって誘発される活動を 5 層の細胞においてスライス標本で解析したので本セミナーにおいて紹介する。

44. 生理学研究所・拡大部門公開セミナー（大脳基底核機能研究会）

（2014.12.25）

認知学習と薬物依存における直接路と間接路の役割
疋田貴俊（京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター）

大脳基底核－視床－大脳皮質投射による運動制御機構
知見聡美（生理学研究所生体システム研究部門）

線条体に投射する 2 種類の大脳皮質 5 層細胞局所回路について
森島美絵子（生理学研究所大脳神経回路論部門）

総合討論
木村 實（玉川大学脳科学研究所）×川口泰雄×南部 篤

45. シナプス伝達修飾リガンド LGI1 の変異体解析によるてんかん分子病態の解明

横井紀彦（生理学研究所 生体膜研究部門）

（2015.1.6）

シナプス間の情報伝達効率は使用状況によって柔軟に変化し，記憶や学習の基盤を成すと考えられている。一方，この制御機構の破綻はてんかん等の神経疾患の重要な一因となる。すなわち，「シナプス伝達の制御機構」と「神経疾患の分子病態」の解明は表裏体の関係にある。これまでに私共のグループは，シナプス足場タンパク質 PSD-95 を含む脳内タンパク質複合体として，てんかん関連タンパク質 LGI1 リガンド/ADAM22 受容体を同定し，LGI1/ADAM22 が AMPA 型グルタミン酸受容体を介した興奮性シナプス伝達を制御することを見出している。今回，私は LGI1 によるシナプス伝達制御機構の生理的意義を明らかにするために，家族性てんかんにおける LGI1 変異体の分子病態を解析した。まず，報告されている 34 種類の LGI1 変異を分泌型変異と分泌不全型変異に分類し，それぞれの LGI1 変異体を発現するてんかんモデルマウスを作製した。このてんかんモデルマウス脳に発現する変異タンパク質の性状解析により，LGI1 変異によるてんかんがタンパク質構造病(conformation disease)であることを明らかにし，LGI1 とその受容体 ADAM22 との結合不全が本てんかんの分子病態であることを明らかにした。さらに，ケミカルシャペロンによる LGI1 構造異常の修復がてんかん治療に有効である可能性を見出した（Yokoi et al. Nat. Med. in press）。すなわち，LGI1-ADAM22 結合が，正常な脳機能に必須なシステムであることを示した。今回の発表では，LGI1 リガンド/ADAM22 受容体によるシナプス伝達の制御機構の全容解明を目指した現在の取り組みも合わせて紹介したい。

46. Differential connections of the orbital and medial prefrontal networks with the ventral and dorsal temporal pole in monkeys

近藤秀樹（Center for Molecular and Behavioral Neuroscience, Rutgers University, U.S.A.）

（2015.1.14）

Previous anatomical studies have shown that the orbital and medial prefrontal cortex is organized into “orbital” and “medial” networks, which have distinct connections with cortical, limbic, and subcortical structures. We examined, using retrograde and anterograde tracing methods, whether the orbital and medial prefrontal networks have differential

connections with the ventral and dorsal temporal pole in monkeys. Our findings indicate that the ventral and dorsal temporal pole are reciprocally connected with the orbital and medial network areas, respectively. We also found that the ventral and dorsal temporal pole receive differential inputs from visual and auditory areas of the inferior and superior temporal cortex and that intrinsic connections within the temporal pole are restricted to dorsal or ventral parts. These results indicate that the ventral and dorsal temporal pole, which are located at the final processing stages of ventral visual and auditory cortical pathways, are associated respectively with the orbital and medial prefrontal networks.

The talk will be given in Japanese.

47. GPCR シグナルの多様性と相互作用蛋白質--BRET による研究をもとに
GPCR interacting proteins and signaling diversity - Studies based on BRET assay

小林弘幸（モントリオール大学 癌・免疫研究所 分子薬理学部門研究員
Molecular Pharmacology Unit (Michel Bouvier), Institut de Recherche en Immunologie et en Cancérologie, Université de Montréal）

（2015.1.15）

G 蛋白共役型受容体(GPCR)は細胞内へのシグナル伝達に関与する非常に大きな膜蛋白質のファミリーである。GPCR による情報伝達は，旧来情報のオン／オフに対応した GPCR 蛋白の状態を仮定する Two-state model で理解されていたが，近年，単一の GPCR がさまざまなシグナル伝達系を同時に活性化しうること，同一の GPCR であっても，結合するリガンドや相互作用する細胞内蛋白質によって，異なる伝達系を活性化させることが知られてきている。このような GPCR が周囲の微小環境に応じて機能を変化させる現象は「GPCR のリガンドバイアス」として知られており，GPCR 研究，GPCR 創薬の両面から，重要な意味を持つ。本講演では我々の研究室で行っている，BRET（生物発光共鳴エネルギー転移）を用いたプローブの開発及び，GPCR シグナルの多様性を制御する蛋白質群の機能解析について紹介する。

G protein-coupled receptor (GPCR) is one of the largest families of proteins transducing extracellular signals through cellular membrane. Although GPCRs are described as ‘ON’ or ‘OFF’ switches in the classical two state model, recent studies revealed that one GPCR can activate many GPCR-dependent/independent signaling pathways simultaneously, but limit the pathways it activates depending on the functional states determined by ligand binding and/or signalosome formation. This concept that GPCR can change the downstream signal dynamically depending on the receptor microenvironment, is called “Ligand-biased signaling”, and creates new paradigm in the receptor research and drug design. We are aiming at elucidating the structural determinants of this GPCR signaling diversity, and developed assay tools based on BRET, bioluminescence resonance energy transfer, techniques.

48. What can local field potentials tell about subcortical area?

池田琢朗（カナダ・クイーンズ大学）

（2015.1.21）

Local field potentials (LFPs) are becoming more popular in neurophysiological studies. However, to date, most of the knowledge about LFPs has been obtained from cortical recordings. Here, we recorded single unit activity (SUA) and LFPs simultaneously from the Superior Colliculus (SC) of behaving non-human primates. The SC is a midbrain structure, which plays a central role in the visual orienting response. Previous studies have characterized the visual and visuomotor

response properties of SUA in the superficial layers of the SC (SCs) and the intermediate layers of the SC (SCi), respectively. We found that the signal properties of SUA were well preserved in the LFPs recorded from the SC. SUA and LFPs had similar spatial and temporal properties, and response properties of LFPs differed across layers: purely visual in the SCs while showing significant motor responses in the SCi. There were also differences between SUA and LFPs. LFPs showed a significant reversal of activity following the phasic visual response, suggesting that the neighbouring neurons were suppressed. Motor related bursts were relatively weaker in LFPs compared to SUA, suggesting that the saccadic motor bursts are generated within the SC. The results indicate that the LFP can be a useful tool to understand the sensorimotor processing within the SC.

49. Heterogeneous spatial origins and functions of astrocytes in the mammalian CNS

David Rowitch（The Department of Pediatrics, UCSF School of Medicine / Howard Hughes Medical Institute）

（2015.1.22）

この度, 新学術で招聘中の Frank Kirchhoff 教授, David Rowitch 教授を招待し下記の通り，所長招聘セミナーを開催いたします。皆様多数ご来聴ください。セミナーは英語で行われます。

Astrocytes are heterogeneous in morphology, marker and gene expression, and physiological properties. Our recent studies have shown that astrocytes are allocated according to a regional/segmental template, and that regionally diverse astrocytes of ventral spinal cord encode distinct gene functions essential for motor neuron survival and sensorimotor circuit integrity. How is such diversity determined? This talk will focus on advances in understanding astrocyte development including the role of neural tube patterning in specification and developmental functions of astrocytes during synaptogenesis, axon path finding and motor neuron survival. We propose that a precise understanding astrocyte development is critical to defining heterogeneity and could lead to a better appreciation for their roles in neurological disease.

50. Evidence for oligodendrocyte dedifferentiation and subsequent formation of astrocytes after acute cortical injuries

Frank Kirchhoff（The Department of Molecular Physiology, Institute of Physiology, University of Saarland）

（2015.1.22）

この度, 新学術で招聘中の Frank Kirchhoff 教授, David Rowitch 教授を招待し下記の通り，所長招聘セミナーを開催いたします。皆様多数ご来聴ください。セミナーは英語で行われます。

Acute brain injuries lead to glial scar formation. Quiescent mature astrocytes get activated and proliferate in response to brain injuries. In recent years, studies suggested that a population of oligodendrocyte precursor cells (OPCs) could generate astrocytes after acute cortical injuries, though the contribution of OPCs to astrogliosis varied with animal and injury models. Here, we report that not only OPCs but also oligodendrocytes take part in the astrogliosis. Using NG2-CreERT2 knock-in mice we selectively induced a genetic label into OPCs and their putative progeny. Subsequently, we observed that acute brain injuries induced more astrocytes with this genetic marker when the pool of labeled oligodendrocytes was increased. Immunohistochemical and in vivo two-photon laser scanning microscopy analyses showed that a subpopulation of activated oligodendrocytes displayed astroglial transgenic GFAP promoter activity after a variety of acute cortical injuries. We termed these cells "OA cells" because of their oligodendro- and astroglial properties.

Targeting exclusively OA cells with a split-Cre mouse model showed a broader but glia-restricted differentiation potential of OA cells differentiating to astrocytes, OPCs and oligodendrocytes. The differentiation of OA cells appeared to be dependent on local cues: OA cell-derived astrocytes were more frequently found in the superficial cortical layers I-III, while OA cell-derived oligodendrocytes were preferentially located in layers V-VI near the corpus callosum. Using qRT-PCR, we found higher expression levels of glial differentiation factors such as bone morphogenetic protein 4 (BMP4), interleukin 6 (IL-6), ciliary neurotrophic factor (CNTF) and leukemia inhibitory factor (LIF) at the lesion site. In addition, we could promote the formation of OA cells by injection of IL-6, while LIF appeared to inhibit the dedifferentiation of oligodendrocyte. In conclusion, our data suggest that not only OPCs but rather the whole oligodendroglial lineage including oligodendrocytes has the ability to generate astrocytes after acute cortical injuries dependent on local cues.

51. 動的区画である軸索起始部および海外留学で学べたことと学べなかったこと

吉村　武（生理学研究所 分子神経生理研究部門）

（2015.1.26）

軸索起始部（Axon Initial Segment: AIS）は軸索の根元（起始部）の区画であり，軸索と細胞体/樹状突起の間の架け橋である。そこには特有の分子群が集積している。軸索起始部は主に２つの機能を持ち，活動電位の発生と神経極性の維持を担う。脳は経験や加齢，病気などにより絶えず変化している。シナプス可塑性は多くの研究者から注目され研究されてきた。最近の研究により，軸索起始部も可塑的であり神経活動や病気などに応答して変化することが分かりつつある。

本セミナーでは軸索起始部がどのように形成されるか，その分子メカニズムを紹介する。特に，私がアメリカ留学中に行った細胞骨格系タンパク質であるアンキリンやスペクトリンを制御する分子メカニズムについて紹介する。また，２年間の留学中の体験談も紹介する。私の個人的な体験談であるため全員には当てはまらないが，留学を考えている学生やポスドクには何かの参考にして欲しい。

52. 超解像可視化によるポストシナプス膜ナノドメインの発見

深田優子（生理学研究所 生体膜研究部門）

（2015.2.5）

AMPA 型グルタミン酸受容体(AMPA 受容体)は脳内の興奮性シナプス伝達の大部分を担うので，その神経活動依存的なポストシナプス膜 PSD への動的移動は，脳の可塑的性質の根幹をなすと考えられる。PSD-95 は AMPA 受容体を PSD にアンカリング（捕捉）する主要な足場蛋白質であることから，PSD における足場蛋白質 PSD-95 の数や機能を時・空間的に制御する分子機構は，PSD の AMPA 受容体捕捉量に直結する。これまでに私共は PSD-95 のシナプス局在を担うパルミトイル化脂質修飾酵素 DHHC2 を発見し，その性状解析を進めてきた。また，パルミトイル化 PSD-95 を特異的に認識する組換え抗体プローブを開発し，STED 超解像顕微鏡と組み合わせて，PSD 内部にパルミトイル化 PSD-95 が形成するサブドメイン構造(PSD ナノドメイン)を発見した。このナノドメインは PSD 構築の基本単位と考えられ，各ナノドメインがそれぞれ AMPA 受容体の捕捉単位となっていることを見出した。さらに，PSD-95 は，樹状突起スパイン内局所でパルミトイル化-脱パルミトイル化状態間をサイクルすることを見出した。シナプス局所でパルミトイル化サイクルのオン・オフや速度を制御する機構が，

ナノドメインのサイズと数を規定し，神経活動依存的な PSD の再構築を可能にすると考えられる。今後は，シナプス可塑性やシナプス病態に伴うナノドメインの構造的（サイズ・数）および質的（AMPA 受容体捕捉量）変化を明らかにし，AMPA 受容体シナプス伝達の本質的な制御機構を解明する。

53. Synapse reorganization in the living brain

Yi Zuo（University of California, Santa Cruz, USA）

（2015.2.9）

One fundamental question in neuroscience is how the brain processes and stores information. As the information-processing elements in the brain, neurons communicate via specialized connections called synapses. The majority of excitatory synapses reside at dendritic spines, which serve as a good proxy for synaptic connectivity. Using transcranial two-photon microscopy to visualize fluorescently-labeled neurons in transgenic mice, our recent studies followed the dynamics of spines on apical dendrites of L5 pyramidal neurons in the living brain. In this talk, I will discuss our findings on the spatiotemporal changes of spine dynamics during motor-skill learning. I will also present our new data exploring the molecular/cellular mechanisms underlying activity-dependent spine pruning during development.

54. 脳機能構築の鍵を握る神経発生の分子メカニズム解析

鹿川哲史

(2014.2.9)

脳機能構築の鍵を握る神経発生の分子メカニズム解析

55. 前帯状回における presynapse の可塑的変化が不安と慢性疼痛に関与する

古賀浩平（トロント大学医学部生理学）

（2015.2.10）

慢性疼痛が不安やうつなどの情動を増大させる事は，臨床で問題となっている。

しかしながら，そのメカニズムの詳細はシナプスレベルでは明らかとなっていない。今回我々は，痛みの中枢部位の一つであり，高次脳機能に深く関わると考えられている前帯状回に注目して研究を行った。Long-term potentiation（LTP）は記憶，学習や痛みに関わるシナプス可塑性のモデルである。従って，まず初めに，パッチクランプ記録法を用いて前帯状回の presynaptic LTP（pre-LTP）を確立した。次に，慢性疼痛モデルマウスから記録を行った結果，pre-LTP が有意に抑制された。また，不安様行動テストに曝されたマウスは pre-LTP を抑制した。以上の事から，前帯状回の pre-LTP が不安と慢性疼痛に関与する可能性が示された。

本セミナーでは，これまで得られた皮質 pre-LTP の機序，前帯状回における痛みと不安の関係について紹介したい。

56. 消化器疾患と新しい治療標的分子

杉山敏郎（富山大学大学院消化器造血器腫瘍制御内科学講座）

（2015.2.18）

代表的な消化器疾患である消化性潰瘍の 2 大原因は H.pylori 感染と非ステロイド系抗炎症剤(NSAIDs)であり，今日，除菌治療が普及し，前者は激減した。一方，NSAIDs 潰瘍形成には多要因が関与しているが，プロトンポンプ阻害剤(PPI)が第一選択の治療および予防法であることは多くの大規模臨床研究から明らかにされてきた。胃がんや胃 MALT リンパ腫も大部分が H.pylori 感染に起因することが明らかとなり，除菌により胃がんを予防あるいは胃 MALT リンパ腫が治癒することも明らかにされてきた。今なお病態が未知の疾患のひとつは，NSAIDs 起因性小腸潰瘍で，PPI はむしろ増悪因子であり，本疾患の新規治療法の社会的ニーズは大きい。NSAIDs 潰瘍動物モデルの検討から，腸内細菌の存在が潰瘍形成には重要であることが知られてきたが，その詳細な機序はほとんど明らかとされていない。我々は，NSAIDs 投与により，小腸上皮細胞膜のアラキドン酸カスケードが阻害され，結果として代謝産物の 5,6-EET が TRPV4 の活性化を介して上皮細胞の細胞透過性を亢進させ，腸内細菌由来炎症惹起因子の組織内侵入を容易にし，潰瘍形成に至る機序を明らかにし，　この経路に関わる分子が新たな治療標的分子となり得る可能性を明らかにしてきた。本講演では本病態を中心に述べるが，治療法が未知の消化器疾患（機能性ディスペプシア，GERD）の新たな病態関連分子についても言及したい

57. 歯状回の神経回路形成機構からみたてんかん発症メカニズム

小山隆太（東京大学 大学院薬学系研究科 薬品作用学教室）

（2015.2.19）

本セミナーは日本語で行われます。

The lecture will be delivered in Japanese.

皮質と海馬を繋ぐ領域である歯状回は Pattern separation や Pattern completion に関与する脳領域として近年注目されているが，側頭葉てんかんの発作起始に関与する領域としても古くから重要な研究対象領域となっている。我々は，げっ歯類の複雑型熱性けいれんモデルを使用し，歯状回の神経回路再編成に着目しながら，熱性けいれんが将来のてんかん発症や記憶学習機能に影響を与えるメカニズムを解明するための研究を遂行してきた。

てんかん発症への関連について，熱性けいれんが歯状回に異所性顆粒細胞の出現を誘導し，これが将来のてんかん発症に関与することを示した。また，異所性顆粒細胞出現のメカニズムとして，移動細胞への興奮性 GABA 入力の増強を明らかにし，この原因となる NKCC1 共輸送体の機能を利尿薬ブメタニドで阻害することにより，てんかんの発症を抑制することに成功した。

記憶学習への関連については，1 歳以降に熱性けいれんを発症した場合には，学童期における記憶・学習成績が向上するという興味深い報告があったため，我々はこの現象を実験科学的に追求した。その結果，複雑型熱性けいれんモデルマウスにおいても，熱性けいれん誘導時期依存的に，成体期における歯状回依存的記憶学習テストの成績が上昇することを発見した。なお，成績が上昇したマウスにおいては，歯状回-CA3 野間のシナプスの肥大化と数の増加が確認された。

以上の結果は，小児期のけいれんによって誘導される歯状回神経回路の再編成が，将来の脳機能に影響を及ぼす可能性があることを示すとともに，てんかん原生獲得過程をターゲットとした薬物によって将来のてんかん発症が抑制可能であることを実験的に初めて示した。

58. グリア細胞から探る神経障害性疼痛のメカニズム，そして創薬への展開

津田　誠（九州大学大学院薬学研究院ライフイノベーション分野）

（2015.2.19）

神経の障害や機能不全により，既存の鎮痛薬に抵抗性を示す神経障害性疼痛が発症する。神経障害性疼痛の発症維持メカニズムは依然として不明であるため，有効な治療薬の開発も遅れているのが現状である。

従来の研究では，神経の障害が原因で発症する慢性疼痛であることから，神経細胞での変化が主に注目されてきた。しかし我々は，ATP 受容体の研究から，神経障害性疼痛動物モデルの脊髄後角で，P2X4 受容体がミクログリアに高発現し，その受容体の遮断によりアロディニア（異痛症：触刺激で誘発される痛み）が抑制されることを見出した。さらに，アロディニア発現に重要なニューロン機能異常がミクログリア由来因子で起こることも明らかにした。ミクログリア細胞は，神経損傷などに応答してさまざまな遺伝子を発現し，活性化状態へと移行する。最近我々は，神経損傷後に脊髄で発現増加する遺伝子として数種類の転写因子を特定し，その中で IRF8 がミクログリア特異的であること，さらに IRF8 の欠損により ATP 受容体や炎症性サイトカインなど神経障害性疼痛に関連する遺伝子発現が抑制され，アロディニアの発症も抑制されることを見出した。また，IRF8 は他の転写因子 IRF5 の発現も直接制御しており，IRF8-IRF5 転写因子カスケードが P2X4 受容体陽性のミクログリアを作り上げ，活性化状態へと誘導し，神経障害性疼痛の発症に寄与することを明らかにした。一方，ミクログリアの P2X4 受容体を刺激する ATP の放出源は長らく不明であった。最近我々は，ATP の放出に重要な小胞型ヌクレオチドトランスポーターVNUT の欠損やノックダウンにより神経障害性疼痛が抑制されることを見出した。これまで，VNUT を介した ATP 放出は様々な細胞種で想定されていたが，我々は脊髄後角ニューロン特異的な VNUT 欠損マウスで ATP 放出および神経障害性疼痛の抑制が認められることを明らかにし，脊髄後角ニューロンが神経障害性疼痛を引き起こす ATP の放出源である可能性を示した。以上の成果は，活性化ミクログリアが神経損傷によるニューロンの機能異常および神経障害性疼痛に非常に重要な役割を果たしていることを一貫して示している。

本セミナーでは，上記の成果に加えて，最近スタートした研究についても紹介し，さらに P2X4 受容体を標的にした創薬に関する九大薬学研究院での取り組みにも触れたい。

59. 視床下部神経回路発生過程におけるホメオボックス型転因子 Dbx1 の機能

江角重行（熊本大学大学院生命科学研究部脳回路構造学分野）

（2015.2.19）

視床下部は，摂食行動，性行動，攻撃行動，捕食者からの逃避行動など本能行動や情動行動，社会行動に関与し，様々な領域に投射し神経活動を調節していることがわかっている (Sokolowski K and Corbin J,2012,Front Mol Neurosci)。しかしながら，これらの行動を司る神経核の発生，発達機構は未だわかっていない。ホメオボックス型転写因子 Dbx1　(developing brain homeobox 1)は，終脳発生過程で一過的(E9.5-E12.5)に発現することは知られていたが，扁桃体や視床下部における神経核や回路形成における機能不明であった。そこで， 我々は Dbx1 が視床下部における神経回路の形成に寄与すると考え，Dbx1 を視床下部領域でのみ欠損するコンディショナルノックアウトマウスを作成し，「成体の行動レベル」，「成体の組織レベル」，「胎仔脳の発生レベル」で詳細に解析を行った。その結果，成体マウスにおいて摂食異常が認められ，さらに，嗅覚系は正常であるにもかかわらず，捕食者の臭いに対する逃避行動が低下していることが明らかになった。このマウスを組織レベルで解析すると，摂食に関係する外側視床下部や弓状核において摂食に関連するペプチド陽性の神経細胞の減少が認められた。

異常が認められた視床下部の領域の発生段階においてもマーカーとなる遺伝子の発現変化が認められることから，視床下部で一過的に発現する Dbx1 は摂食やストレス反応に関与する神経群の発生発達過程に関与していることが明らかになった。

60. ミトコンドリア Na^+/Ca^{2+} 交換体 (NCXm) のキネティクスと生理的役割

金鳳柱（徳島大学 疾患プロテオゲノム研究センター遺伝子実験施設 助教）

（2015.2.23）

ミトコンドリア内 Ca^{2+}濃度はダイナミックに変化し，NADH の産生に関わる脱水素酵素を活性化することから，細胞に必要な ATP 供給を調節する重要な役割を担うと考えられる。ミトコンドリアからの Ca^{2+}排出を担う NCXm が 1970 年代に発見されて以来，NCXm の膜電位依存性，起電性については結論が得られていなかった。心室筋ミトコンドリアの Ca^{2+}輸送メカニズムを解析し，その結果として NCXm によりミトコンドリア膜電位が変化することと，NCXm 活性がミトコンドリア膜電位に依存することが明らかになり，心筋 NCXm が膜電位依存性かつ起電性であることを示した。さらに，NCXm 遺伝子（NCLX）をノックアウトした DT40 B 細胞(NCLX+/−)を作成して解析した結果，NCXm はミトコンドリアから小胞体へCa^{2+}を受け渡すことで小胞体Ca^{2+}取り込みに寄与し，小胞体 Ca^{2+}含量を調節することが明らかになり，B リンパ球細胞の免疫反応にNCXmが重要な役割を果たすことを発見した。

61. 原核生物由来膜電位感受性 Na^+ チャネルの機能・構造解析

下村拓史（名古屋大学 細胞生理学研究センター 特定研究員）

（2015.2.23）

膜電位感受性 Na^+ チャネルは神経における活動電位の伝達を担う分子であり，局所麻酔薬の標的分子としても重要である。Na^+ チャネルの状態遷移や薬理作用についての分子メカニズムをより詳細に解明するためには，その立体構造情報を元にした理解が必要となる。原核生物由来の Na^+ チャネル（NavBac）はすでに結晶構造が解明されていること，また哺乳類の Na^+ チャネルより単純な構造をしていることから，機能・構造解析のモデルとして適している。今回のセミナーでは，主に電気生理学的手法と結晶構造解析を組み合わせることで我々が明らかにしてきた，NavBac の立体構造，活性制御メカニズム，局所麻酔剤の作用モデルなどについて紹介したい。

62. The role of RGS4 in partial agonism and voltage-dependent response of the M2 muscarinic receptor-activated K^+ currents

I-Shan Chen（大阪大学 大学院医学系研究科 分子細胞薬理学 特任研究員）

（2015.2.23）

The regulator of G-protein signalling (RGS) proteins are a family of well-known GTPase-activating proteins that negatively regulate G-protein cycle. Cardiac predominant subtype, RGS4, plays an important role in modulating the M2 muscarinic receptor (M2R)-activated G-protein-gated inwardly rectifying K^+ (KG) currents. However, the

mechanism of RGS4-mediated regulation still remains unclear. By investigating KG currents in rat atrial myocytes and Xenopus oocyte expression system, I found that RGS4 is a determinant for partial agonism of M2R. M2R partial agonist pilocarpine acted like a full agonist in the absence of RGS4. RGS4 suppressed the pilocarpine-evoked KG currents in a pilocarpine concentration- and voltage-dependent manner. Hyperpolarization enhanced the RGS4-mediated regulation of KG. These data help us to understand the molecular components and mechanism underlying the RGS4-mediated regulation on the M2R-activated physiological responses.

63. TRPC チャネルの細胞内輸送を制御する新規タンパク質遺伝子 OGU1 の発見
Identification of a novel protein-coding gene OGU1 regulating intracellular transport of TRPC channels

伊藤智哉（京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻森研究室）

（2015.2.24）

哺乳類ゲノムの遺伝子間領域からは，数千種もの長鎖 RNA が転写されていることが明らかになっている。近年，これら転写産物は，ノンコーディング RNA（lncRNA）遺伝子候補として研究が進められているが，ほとんどの LncRNA の機能実体は依然として不明である。私たちは，OGU1（osteogenesis upregulating transcript 1）と命名された lncRNA 遺伝子候補の解析を進め， OGU1 が実際はタンパク質遺伝子であり, その翻訳産物が TRP チャネルの活性化因子であることを明らかにした。またその後のメカニズム解析から，OGU1 タンパク質はこれまで知られていない細胞内輸送経路を介して TRP チャネルを形質膜に輸送しているという仮説を得るに至っている。

Thousands of transcribed long RNAs have been discovered in mammalian intergenic region. Although recent study indicates that these intergenic transcripts are predicted to be long noncoding RNA (lncRNA) gene candidates, biologically functional entities of these most gene candidates remain elusive. We revealed that lncRNA locus OGU1 (osteogenesis up-regulating transcript 1) is indeed endogenously translated into a small protein that activates TRP (transient receptor potential) channels. Moreover, our present study suggests that OGU1 recruits TRPC channels to the cell surface by regulating unconventional intracellular trafficking.

64. レドックスシグナルとタンパク質修飾の新たな潮流
/ Paradigm-shifting protein modifications in redox signal regulation

赤池孝章（東北大学大学院医学系研究科 環境保健医学分野）

（2015.3.16）

生物種に普遍的に見られる多くの生命現象は，分子状酸素のユニークなレドックス活性に依存している。すなわち，生命の系譜は，酸素分子の化学的反応性に基づくリモデリング機能により制御されてきた。一方，近年，活性酸素によるレドックスシグナル伝達機構が注目されている。そこで，本セミナーでは，酸素関連レドックス活性小分子が惹起するシグナル経路を司る新規なタンパク質化学修飾を，翻訳と翻訳後レベルで横縦断的に俯瞰して，レドックスバイオロジーと酸化ストレス病態理論にパラダイムシフトをもたらす新たな潮流について議論する。

Many organisms conduct high-level vital activities by energy metabolism that uses the chemical reactivity of molecular oxygen (oxidation-reduction: redox activity). The redox-based cellular signaling is now thought to be modulated by various protein effector molecules, as affected critically by reactive oxygen species via translational and post-translational pathways. Through this seminar, I will shed

light on a previously unrecognized protein modification, i.e., protein S-polythiolation, as a paradigm-shifting discovery evolving from the changing concept of redox biology, as well as redox pathology known as oxidative stress.

65. 親電子物質のレドックスシグナル伝達変動とそれを制御する活性イオウ分子 / Electrophiles-mediated modulation of redox signal transduction pathways regulated by reactive sulfur species

熊谷嘉人（筑波大学医学医療系環境生物学分野）

（2015.3.16）

親電子物質は分子内に電子密度の低い部位を有するために，タンパク質のシステイン残基のような求核置換基と共有結合してタンパク質付加体を形成する。たとえば，反応性チオール基を有するセンサータンパク質は化学修飾を受けて，当該タンパク質により負に制御されている応答分子（キナーゼ，転写因子等）は結果的に活性化される。我々はこれまで発がん，組織傷害等を生じることで“悪玉”とされてきた環境中親電子物質が有害性を示さない低濃度で，種々のレドックスシグナル伝達系を活性化し，曝露濃度の増加に伴い，当該シグナル伝達は破綻することを見出した。さらに我々は，親電子物質の捕獲に“活性イオウ分子”と呼ばれる反応性求核低分子の存在を明らかにした。本講演では，これまで得た研究成果を紹介し，親電子物質によるレドックスシグナル伝達変動および有害性の制御における活性イオウ分子の生物学的意義を考察する。

Electrophiles react readily with protein thiolate ions, resulting in protein adduct formations. For example, endogenous electrophiles covalently modify sensor proteins with reactive thiols, leading to reduction of those activities, thereby activating effector molecules (e.g., kinases, transcription factors). We found that exogenous electrophiles in the environment activate redox-signal transduction pathways through chemical modification of the sensor protein thilate ions; however, such reactive chemicals disrupt these signaling, resulting in occurrence of toxicity at higher concentrations. More interestingly, environmental electrophiles-mediated these events are regulated by reactive sulfur species through those sulfur adduct formations. In this lecture, I will introduce our recent findings associated with modulation of redox-signal transduction pathways mediated by environmental electrophiles and also discuss biological significance of reactive sulfur species in repression of the activation of signal transduction pathways and toxicity.

66. Working memory を司る海馬-歯状回ネットワークの神経機構

佐々木拓哉（東京大学大学院薬学系研究科）

（2015.3.19）

演者の佐々木拓哉先生グリア細胞の研究でこれまで数多くのすばらしいご研究を発表されております。今回は海馬-歯状回ネットワークの神経機構についてご発表いただきます。

本セミナーは日本語で行われます。The lecture will be delivered in Japanese.

内側側頭葉に位置する海馬および歯状回は，working memory（作業記憶）において重要な役割を果たす。しかし，その詳細な神経活動については明らかになっていない。本研究では，八方迷路を用いたワーキングメモリ課題中のラットにおいて，歯状回と海馬 CA3 野の神経活動をマルチユニット計測法（テトロード電極 12 本）により記録した。報酬時には，歯状回顆粒細胞の発火頻度および海馬 CA3 野のシャープウェーブリップル波の頻度が増加した。また，歯状回の選択的破壊により，課題成績が有意に低下し，CA3 野において報酬に関連した

シャープウェーブリップル波が消失した。この脳波中には海馬場所細胞の前向き活動が再生され，この活動が行動成績と相関し，さらに歯状回破壊によって減少することが明らかになった。すなわちワーキングメモリ課題中には，シャープウェーブリップル波に誘発された神経活動が将来の行動を表象しており，この形成には歯状回-海馬 CA3 野の神経回路が重要な役割を果たすことが示唆された。

67. 中枢神経系の傷害と修復を制御する分子機構

村松里衣子（大阪大学大学院医学系研究科分子神経科学／JST さきがけ研究員）

（2015.3.19）

演者の村松里衣子先生はグリア細胞の研究でこれまで数多くのすばらしいご研究を発表されております。今回薬理学会で名古屋におこしになられるので，セミナーを開催していただけることになりました。

本セミナーは日本語で行われます。

The lecture will be delivered in Japanese.

炎症により脳と脊髄からなる中枢神経系が傷つくと様々な後遺症が現れる。この症状はわずかではあるが自然に回復する。それは，傷害による細胞死を免れた神経細胞が，傷ついた神経回路を修復させるためと知られている。しかし，大人の中枢神経系には神経回路の修復を阻害するものが豊富に備わると指摘されていたため，なぜ傷ついた神経回路が自然に修復するのか，不明だった。我々は，炎症とともに発達する血管新生が，神経回路の修復を促すことを発見した。分子機構は，血管内皮細胞が恒常的に産生するプロスタサイクリンという生理活性物質が，神経細胞の軸索やオリゴデンドロサイト前駆細胞に発現する受容体に直接作用することであった。これまでの検討から，プロスタサイクリン以外の血管由来物質も，神経回路の修復を後押しする働きをもつことがわかってきた。本セミナーでは，新生血管による神経回路修復のメカニズムと，最近の知見について紹介したい。

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 174 回（2014.4.30）
   演者：発達生理学研究系・生体恒常機能発達機構研究部門　鍋倉淳一　教授
   演題：大脳皮質神経回路の再編とグリア

2. 第 175 回（2014.5.14）
   演者：生体情報研究系・心循環シグナル研究部門　西田基宏　教授
   演題：血行力学的負荷に対する心臓の適応・不適応の分子メカニズム

3. 第 176 回（2014.6.11）
   演者：生体情報研究系・視覚情報処理研究部門　吉村由美子　教授
   演題：視覚野神経回路と機能の経験依存的発達

4. 第 177 回（2014.9.17）
   演者：生体情報研究系・神経シグナル研究部門　井本敬二　教授
   演題：脳と記憶

5. 第 178 回（2014.10.15）
   演者：脳機能計測・支援センター　ウィルスベクター開発室　小林憲太　准教授
   演題：遺伝子操作技術を利用した脳機能の解析

6. 第 179 回（2014.11.5）
   演者：浜松医科大学　瀬藤光利　教授
   演題：質量分析を用いた代謝生理の可視化

7. 第 180 回（2014.12.3）
   演者：発達生理学研究系・認知行動発達機構研究部門　伊佐　正　教授
   演題：盲視と視覚的意識

8. 第 181 回（2015.1.14）
   演者：個別研究　村上政隆　准教授
   演題：唾液腺水分分泌とその経路の探索

9. 第 182 回（2015.2.4）
   演者：藤田保健衛生大学　　宮川　剛　教授
   演題：遺伝子・脳・行動：遺伝子改変マウスを用いた精神疾患の研究

10. 第 183 回（2015.3.4）
    演者：細胞器官研究系・細胞生理研究部門　　富永真琴　教授
    演題：温度感受性 TRP チャネルの生理機能と進化

生理学研究所年報　第３６巻

発　　行　　2015 年 12 月 25 日
編 集 者　　柿　木　隆　介
発 行 者　　自然科学研究機構
生　理　学　研　究　所
〒444-8585　岡崎市明大寺町字西郷中 38
電話〈0564〉55-7700
FAX〈0564〉52-7913
URL：http://www.nips.ac.jp/
印 刷 製 本　　株式会社　エニウェイ
〒171-0014　東京都豊島区池袋 2-19-3
万葉ビル 2F
電話〈03〉3988-5656