自然科学研究機構

生理学研究所年報

第37巻

2016

はじめに

生理学研究所年報第 37 巻をここに刊行し，2015（平成 27）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。2015 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（174 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。2015 年度は論文数が減少しましたが，113 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 3 割が Journal of Neuroscience 以上のインパクトファクター値（5.9 以上）を持つ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。2015 年度は，「一般共同研究」41 件，「計画共同研究」79 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」34 件，「研究会」19 件，「国際シンポジウム」１件，「国際研究集会」１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 10 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。

2016（平成 28）年 9 月 5 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（2015 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 …… 30
大脳皮質機能研究系 …… 38
発達生理学研究系 …… 49
個 別 研 究 …… 61
行動・代謝分子解析センター …… 64
多次元共同脳科学推進センター …… 70
脳機能計測・支援センター …… 71
岡崎統合バイオサイエンスセンター …… 77
動物実験センター …… 79
技　術　課 …… 83

研究発表

ａ．発　表　論　文 …… 101
ｂ．学　会　発　表 …… 117

一般共同研究報告 …… 147

計画共同研究報告 …… 175

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告 …… 229

生体機能イメージング共同利用実験報告 …… 241

研究会報告 …… 261

国際研究集会 …… 421

各種シンポジウム

2015（平成 27）年度生理研国際シンポジウム …… 435

トレーニングコース

第 26 回生理科学実験技術トレーニングコース …… 441

セミナー報告 …… 445

大学院特別講義 …… 473

職員（2015年度）

所　　長　井本啓二

【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	下村拓史（2015.4.1～）
特任助教	陳　以珊（2015.4.1～）
大学院生	粂　慎一郎
〃	ANDRIANI, Rizki Tsari
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
NIPS リサーチフェロー	橋本弘和（～2016.3.31）
〃	長内康幸（2015.5.1～）
研究員	長内康幸（2015.4.1～2015.4.30）
大学院生	江　文（～2016.3.31）
〃	半田（鳴海）麻衣
〃	國澤和生（～2016.3.31）
〃	李　佳益
〃	菊地原沙織
技術支援員	田口理恵
〃	赤坂英里子
事務支援員	田中真由美

【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
助教	横井紀彦（2015.4.1～）
大学院生	村上達郎（～2016.3.31）
〃	宮崎裕理（2015.10.1～）
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
〃	齋藤　茂（2015.12.1～）
〃	内田邦敏
特任助教	高山靖規
〃	齋藤　茂（～2015.11.30）
NIPS リサーチフェロー	DEROUICHE, Sandra（2015.11.1～）
生理研研究員	橘髙裕貴
研究員	孫　武平
〃	ISLAM, Md. Rafiqul（2015.12.1～）
〃	齋藤くれあ（2015.12.1～）
日本学術振興会外国人特別研究員	DEROUICHE, Sandra（～2015.10.31）
〃	ISLAM, Md. Rafiqul（～2015.11.28）
大学院生	新宅健司（～2015.9.30）
〃	西本れい（～2016.3.31）
〃	GUPTA, Rupali
〃	KURGANOV, Erkin
〃	山野井　遊（2015.10.1～）
〃	李　天邦（2015.10.1～）
特別共同利用研究員	藤山雄一
技術支援員	福岡慶子（2015.4.16～）
〃	重本久実
〃	齋藤くれあ（～2015.11.30）
事務支援員	伊藤嘉美

【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
NIPS リサーチフェロー	西尾亜希子（2015.4.1～）
研究員	波間智行（～2015.4.12）

研　究　員　　馬　場　美　香（2015.10.1～）
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（～2016.3.31）
特別共同利用研究員　山　田　彬　博
技術支援員　　田　中　美　穂
〃　　中　村　亜由美

視覚情報処理研究部門

教　　授　　吉　村　由美子
助　　教　　石　川　理　子（2015.4.1～）
特 任 助 教　　宮　下　俊　雄
〃　　木　村　梨　絵
NIPS リサーチフェロー　山　浦　　洋
研　究　員　　杉　村　岳　俊（2015.4.1～2016.3.31）
日本学術振興会特別研究員　西　尾　奈　々（～2016.3.31）
大 学 院 生　　山　本　真理子
〃　　唐　木　智　充（2015.4.1～）
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
特 任 助 教　　西　村　明　幸
NIPS リサーチフェロー　伊　藤　智　哉（2015.4.1～）
共同利用研究員　　重　松　智　博（～2015.5.15）
〃　　永　井　直　杜（～2015.5.15，2015.8.16～2015.11.18）
〃　　松　金　良　祐（～2015.5.15）
特別共同利用研究員　島　内　　司（2015.4.1～2016.3.31）
外国人研究職員　　MANGMOOL, Supachoke（2015.6.7～2015.9.6）
技術支援員　　藤　森　仁　美
〃　　重　松　智　博（2015.5.16～2015.11.20）
〃　　永　井　直　杜（2015.5.16～2015.8.15）
技術支援員　　松　金　良　祐（2015.5.16～2015.11.20）
事務支援員　　中　西　綾　乃（2015.4.1～）

【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
助　　教　　三　木　研　作（～2016.3.31）
特任助教（併任）　坂　本　貴和子
NIPS リサーチフェロー　中　川　　慧（～2015.6.30）
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（～2016.3.31）
日本学術振興会外国人特別研究員　KECELI, Sumru（～2015.9.30）
技術支援員　　廣　岡　裕　子

生体システム研究部門

教　　授　　南　部　　篤
助　　教　　畑　中　伸　彦
〃　　知　見　聡　美
特 任 助 教　　佐　野　裕　美（～2016.3.31）
〃　　近　藤　秀　樹
NIPS リサーチフェロー　金　子　将　也
研　究　員　　長谷川　　拓
〃　　DARBIN, Olivier Eric（2015.11.1～2015.12.31）
〃　　WANG, Tsui-Chin（2016.1.19～）
大 学 院 生　　DWI WAHYU, Indriani（～2016.3.31）
〃　　若　林　正　浩
〃　　WONGMASSANG, Woranan
技術支援員　　磯　谷　ひとみ
〃　　粟　村　香奈子
〃　　後　藤　美　穂（2015.4.1～）
〃　　鈴　木　規　子（2015.11.1～）

【大脳皮質機能研究系】

脳形態解析研究部門

教　　授　　古　瀬　幹　夫
准　教　授　　泉　　裕　士（2015.4.1～）

助　　教　　大谷哲久（2015.10.1～）
特任助教　　菅原太一（2015.4.1～）
技術支援員　　渡邉美香（2015.4.1～）
〃　　古瀬京子（2015.6.1～）

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
NIPS リサーチフェロー　牛丸弥香（2015.4.1～2015.11.15）
生理研研究員（外国人研究職員）　YOUNES, Hassan Ahmed Ahmed Mohamed（2015.4.22～2015.10.18）
研究員　　植田禎史（～2015.7.31）
〃　　畠中由美子
技術支援員　　犬塚小百合
〃　　北啓子
〃　　服部宣子
〃　　兵藤智栄美
〃　　渡邉晴子
〃　　江川尚美（2015.5.16～）

心理生理学研究部門

教　　授　　定藤規弘
准教授　　福永雅喜
助　　教　　北田亮
特任助教　　原田宗子
〃　　小池耕彦
NIPS リサーチフェロー　菅原翔（～2016.3.31）
外国人研究職員　　廣谷昌子（2015.4.6～2015.8.31）
研究員　　岡崎俊太郎（～2016.3.31）
〃　　高橋陽香（2015.10.1～2016.3.31）
大学院生　　高橋陽香（～2015.9.30）
〃　　橋口真帆（～2015.6.30）
〃　　濱野友希
〃　　青木直哉
〃　　小山総市朗（～2016.3.31）
〃　　角谷基文
〃　　山崎英明（～2016.3.31）
〃　　吉本隆明
研究生　　大関一央（2015.4.1～2015.9.30）
特任専門員　　木村玲子
技術支援員　　竹中邦子
〃　　岩瀬恵

【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（～2015.9.30，10.1～兼任）
准教授　　西村幸男（～2016.3.31）
特任准教授　　郷康広
助　　教　　吉田正俊
特任助教　　小川正晃
〃　　CHAO, Zenas（2015.5.1～）
研究員　　山根到（2015.4.1～）
〃　　加藤利佳子
〃　　笠井昌俊
〃　　石野誠也
VEALE, Richard Edmund（2015.7.16～）
日本学術振興会外国人特別研究員　VEALE, Richard Edmund（～2015.7.8）
〃　　MATROV, Denis
大学院生　　高桑徳宏
〃　　鈴木迪諒
〃　　西原陽子
〃　　辻本憲吾
〃　　中尾弥起
〃　　St.CLAIR, Griffin Thomas
〃　　徳岡広太
〃　　山本勇祐
特別共同利用研究員　當山峰道
特任専門員　　伊佐かおる
〃　　柴田あゆみ
〃　　嶋田ゆう
技術支援員　　高田和子
〃　　山西ユミ
〃　　高橋伸明
〃　　山崎瞳子
〃　　石野真麻

技術支援員　桑　原　寿　江

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（～2016.3.31）
特任助教　稲　田　浩　之
〃　江　藤　　圭
NIPS リサーチフェロー　堀　内　　浩（2015.10.1～）
研 究 員　宮　本　愛喜子
〃　堀　内　　浩（2015.4.1～2015.9.30）
特別協力研究員　加　藤　大　輔
日本学術振興会特別研究員　中　畑　義　久
大学院生　中　村　佳　代
〃　穐　吉　亮　平
〃　戸　田　拓　弥
〃　春　若　航一路（2015.4.1～）
技術支援員　大　場　多津子
〃　市　橋　結　貴
〃　石　田　順　子（2015.5.1～）
〃　小　林　知　子
〃　戸　山　　彩（2015.4.1～）
〃　蜂須賀　由香里
事務支援員　齋　藤　永　子（～2015.7.31）
〃　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　横　田　繁　史
研 究 員　髙　木　一　代（～2016.3.31）
大学院生　COUTINHO, Eulalia Annette（～2015.9.30）
〃　佐　藤　達　也
〃　MOHAMED ASGAR, Nur Farehan Binte
技術支援員　林　　めぐみ

【個 別 研 究】

個別研究（村上グループ）

准 教 授　村　上　政　隆
特別協力研究員　古　家　園　子

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

【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
NIPS リサーチフェロー　原　　弘　真（2015.4.1～2016.2.29）
日本学術振興会特別研究員　後　藤　哲　平（2015.4.1～2016.3.31）
技術支援員　山　内　恵　子
〃　道　木　美　香
〃　大　西　皆　子
〃　橋　本　　恵

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
教　　授（兼任）　高　雄　啓　三（2015.10.1～）
特任准教授　高　雄　啓　三（～2015.9.30）
特別訪問研究員　林　　愛（～2016.3.31）
大学院生　村　野　友　幸（2015.4.1～）
特任専門員　腰　高　由美恵
技術支援員　今　井　篤　子
〃　古　川　佐千子
〃　兵　藤　美　和
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（～2015.9.30）
〃　（併任）　鍋　倉　淳　一（2015.10.1～）

脳科学新領域開拓研究室

教　　授（併任）　池　中　一　裕
客員教授　小　林　和　人（～2016.3.31）
〃　佐　倉　　統（～2016.3.31）
〃　高　田　昌　彦
〃　西　田　眞　也（～2016.3.31）
〃　宮　田　卓　樹（～2016.3.31）
〃　望　月　秀　樹（～2016.3.31）

客員教授　小早川　令　子（2015.4.1～2016.3.31）
〃　狩　野　方　伸（2015.11.1～）

脳情報基盤研究開発室

教　授（併任）伊　佐　正（～2015.9.30）
〃（併任）鍋　倉　淳　一
客員教授　川　人　光　男（～2016.3.31）
〃　銅　谷　賢　治（～2016.3.31）
〃　横　井　浩　史（～2016.3.31）
〃　大　木　研　一（～2016.3.31）
客員教授　森　郁　恵（～2016.3.31）
客員准教授　大　野　伸　彦（～2016.3.31）
特任助教　中　川　恵　理（2015.4.1～）

社会的脳表現解析開発室

教　授（併任）定　藤　規　弘
〃（併任）小　松　英　彦
客員教授　酒　井　邦　嘉（～2016.3.31）
〃　尾　崎　紀　夫（～2016.3.31）
〃　友　田　明　美（～2016.3.31）

【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　永　谷　幸　則
〃　宮　崎　直　幸
〃　富　田　雅　人（2015.12.1～）
〃　SONG, Chihong（2016.2.1～）
技術支援員　山　田　幸　子
〃　加　藤　三津子（2015.4.1～）
〃　加　藤　勝　己
事務支援員　河　口　美　江

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
日本学術振興会特別研究員
柴　田　明　裕（2015.4.1～）
技術支援員　恩　田　麻　紀（2015.4.15～）
〃　佐　藤　愛　子（2015.4.15～）

電子顕微鏡室

教　授（併任）古　瀬　幹　夫
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（～2015.9.30）
〃（併任）南　部　篤
准教授　小　林　憲　太
特任専門員　影　山　梨　衣（2015.4.1～）

霊長類モデル動物室

教　授（併任）伊　佐　正（～2015.9.30）
〃（併任）南　部　篤（2015.10.1～）
特任助教　東　濃　篤　徳（2015.9.1～）
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（～2015.9.30）
准教授（併任）村　上　政　隆

医学生理学教育開発室

客員教授　渋　谷　まさと（～2016.3.31）

【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
〃（併任）伊　佐　正（～2015.9.30）
〃（併任）柿　木　隆　介
〃（併任）吉　村　由美子
〃（併任）箕　越　靖　彦
〃（併任）久　保　義　弘
〃（併任）南　部　篤
特任教授　浦　野　徹
〃　鹿　川　哲　史（2015.4.1～）
特任准教授　丸　山　めぐみ（2015.4.1～）
特任助教　坂　本　貴和子
特任専門員　内　山　千保美
〃　岡　安　友　美
事務支援員　安　井　亜　紀

事務支援員　土　井　優
（2015.5.16～2015.12.31）

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
技術支援員　住　田　明日香（2016.1.16～）

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（～2016. 3. 31）

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
助　教　王　振　吉
技術支援員　水　野　みどり
〃　松　永　ゆう子
〃　古　山　真基子（～2015.8.31）
〃　不　退　久　恵
〃　矢　田　徹（2015.4.1～）
〃　小　林　明　子（2015.4.1～）
〃　亀　岡　一　乃（2015.11.1～）
〃　山　中　緑
〃　山　本　忍
〃　本　多　千　佳
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（～2016.3.31）

分子生理研究系　技術係

係　長　佐　治　俊　幸
主　任　山　本　友　美
係　員　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
〃　稲　橋　宏　樹（2016.1.1～）

生体情報研究系　技術係

係　長　永　田　治
主　任　髙　木　正　浩
係　員　森　将　浩
〃　石　原　博　美

統合生理研究系　技術係

係　長　竹　島　康　行
主　任　佐　藤　茂　基

大脳皮質機能研究系　技術係

係　長　伊　藤　嘉　邦

発達生理学研究系　技術係

係　長　戸　川　森　雄
〃　齊　藤　久美子（～2015.6.30）
主　任　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　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　神　谷　絵　美
〃　窪　田　美津子

行動･代謝分子解析　技術係

係　長　齊　藤　久美子（2015.7.1～）

主　　任　　三　寳　　誠
特任専門員　　腰　高　由美恵

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
〃　　岡　安　友　美

技術支援員・事務支援員

技術支援員　　加　藤　勝　己
〃　　粟　村　香奈子
〃　　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
〃　　加　藤　三津子（2015.4.1～）
〃　　亀　岡　一　乃（2015.11.1～）
〃　　小　林　明　子（2015.4.1～）
〃　　齋　藤　くれあ（～2015.11.30）
〃　　澤　　栄　恵
〃　　鈴　木　規　子（2015.11.1～）
〃　　鈴　木　由　美
〃　　高　田　和　子
〃　　田　口　理　恵
〃　　田　中　美　穂
〃　　内　藤　千津江
〃　　新　関　奈央子
〃　　橋　本　　恵（～2016.3.31）

技術支援員　　林　　めぐみ
〃　　廣　岡　裕　子
〃　　福　岡　慶　子（2015.12.1～）
〃　　藤　森　仁　美
〃　　不　退　久　恵
〃　　古　山　真基子（～2015.8.31）
〃　　本　多　千　佳
〃　　松　永　ゆう子
〃　　水　野　みどり
〃　　矢　田　　徹（2015.4.1～）
〃　　山　田　幸　子
〃　　山　中　　緑
〃　　山　本　　忍
〃　　渡　邊　美　香（2015.4.1～）
事務支援員　　浅　井　明　代
〃　　浦　川　裕　乃
〃　　大　竹　麻　衣（2015.4.1～2016.3.31）
〃　　小　澤　祐　子
〃　　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，陳　以珊，久保義弘，周　麗，夏目里恵，崎村建司，今野幸太郎，渡辺雅彦）
オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた in vitro 発現系における電気生理学的解析
（陳　以珊，山本友美，久保義弘）
オーファン代謝型受容体 Prrt3 のリガンドの同定に向けたスクリーニング
（陳　以珊，久保義弘，上杉志成）
G タンパク質共役型受容体の KCNK13 チャネル電流増加作用に関与するシグナル分子の解明
（立山充博，久保義弘）
Gq 共役型受容体の電位依存性に関する研究
（立山充博，久保義弘，王　培冰）
Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）における 2 つの S4 ヘリックスによる膜電位依存性制御機構の解析
（下村拓史，久保義弘）
hERG チャネルの脱活性化機構に関与する C 末端細胞内ドメインの研究
（粂　慎一郎，久保義弘）
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，久保義弘）
哺乳類における「非視覚」の光受容機能を支えるメラノプシンの分子基盤
（塚本寿夫，古谷祐詞，久保義弘，小柳光正，寺北明久，David Farrens）
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，李　佳益，池中一裕）
アストロサイトの機能
（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）
糖鎖の構造決定と機能解析
（吉村　武，半田（鳴海）麻衣，江　文，橋本弘和，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
シナプス足場タンパク質 PSD-95 の脱パルミトイル化酵素の同定と性状解析
（深田優子，横井紀彦，関谷敦志，村上達郎，小林憲太，深田正紀）
パルミトイル化修飾の化学量論的解析法の開発
（横井紀彦，関谷敦志，深田優子，深田正紀）
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，深田優子，井本敬二，深田正紀）
LGI1-ADAM22 複合体は PSD-95 を介して，シナプスの成熟を制御する
（深田優子，深田正紀，Nicoll RA）
ヒトにおける ADAM22 の compound heterozygous 変異の解析
（深田優子，深田正紀，Lehesjoki AE）
神経細胞構築研究部門 …… 20
概　要

脊髄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，徐　冬闽，瀬藤光利）
細胞生理研究部門 …… 21
概　要
TRPV1 と anoctamin1 の機能連関による侵害刺激増強機構
（高山靖規，富永真琴）
マウス膀胱上皮における TRPM7 による細胞接着能制御
（渡邊成樹，鈴木喜郎，富永真琴）
膵臓 β 細胞における TRPM2 のレドックス制御とインスリン分泌
（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
サル下側頭皮質における光沢選択的細胞の応答のダイナミクス
（西尾亜希子，小松英彦，下川丈明）
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）
素材画像刺激に対するマカクザル下側頭葉皮質ニューロンの反応
（横井　功，小松英彦）
プロジェクションマッピングによる画像素材刺激を用いたマカクザルの行動実験
（横井　功，小松英彦，岩井大輔）
大脳皮質 V4 野における色情報の空間的統合のメカニズム
（眞田尚久，小松英彦）
神経シグナル研究部門 …… 25
概　要
ノルアドレナリン神経による前帯状回神経活動の制御機構
（古江秀昌，山田彬博，秋元　望，井本敬二）
軸索終末 Ca^{2+}マイクロドメインにおいて内在性 Ca^{2+}結合タンパク質が担う役割
（佐竹伸一郎，井本敬二）
カルモジュリンキナーゼ II 活性による学習・記憶の制御
（山肩葉子，柳川右千夫，井本敬二）
視覚情報処理研究部門 …… 26
概　要
一次視覚野における同期発火の形成プロセスと視覚特徴依存性
（石川理子，吉村由美子）
大脳皮質眼優位可塑性のシナプス基盤
（杉村岳俊，小松由紀夫，吉村由美子）
一次視覚野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）
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，吉村由美子，三宝　誠，平林真澄，八木　健）
二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，吉村由美子，三宝　誠，平林真澄，八木　健）
視知覚・運動連関に関する一次視覚野の神経活動
（木村梨絵，吉村由美子）
心循環シグナル研究部門 …… 28
概　要
免疫 B 細胞における TRPC3-PKCβ 複合体形成を介した ERK 活性化機構
（冨田拓郎，西田基宏）
P2Y6R によるアンジオテンシン II 誘発性高血圧発症の分子機構
（西村明幸，Caroline Sunggip，西田基宏）
β2 アドレナリン受容体シグナル活性化による心筋インスリン抵抗性発症のメカニズム
（Supachoke Mangmool，島内　司，西田基宏）

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門 …… 30
概　要
周波数変調音により惹起されたヒト聴覚誘発脳磁界
（岡本秀彦，柿木隆介）
周波数変化及び経時変化により惹起されたミスマッチ反応の左右半球による違い
（岡本秀彦，柿木隆介）
ヒト聴覚野における音刺激の経時変化に対する階層的な神経活動
（ケセリ・スムル，岡本秀彦，柿木隆介）
視覚誘発磁界に及ぼす屈折誤差の影響
（鈴木雅也，長江泉希，永田裕子，熊谷直也，乾　幸二，柿木隆介）
自己顔に対する拒食症児の脳活動の特徴　-近赤外分光法（NIRS）による脳活動計測で，世界で初めて明らかに-
（井上　建，作田由衣子，島村圭一，市川寛子，小林　恵，大谷良子，山口真美，金沢　創，
柿木隆介，作田亮一）
顔倒立効果における質的・量的処理機構の皮質経路の乖離
（松吉大輔，守田知代，河内山隆紀，田邊宏樹，定藤規弘，柿木隆介）
刺激の消滅信号による意識知覚の発生
（野口泰基，君島進太郎，柿木隆介）
学童期における顔認知過程の発達による変化
（三木研作，本多結城子，竹島康行，渡邊昌子，柿木隆介）
咀嚼が運動遂行過程と運動抑制過程へ及ぼす影響
（坂本貴和子，中田大貴，湯本真人，定藤規弘，柿木隆介）
脳波と脳磁図を用いた運動遂行・運動抑制に関係する神経活動の時間特性
（中田大貴，坂本貴和子，本多結城子，柿木隆介）
体性感覚刺激 Go/No-go 課題中に記録した事象関連電位の繰り返し効果
（中田大貴，坂本貴和子，柿木隆介）
生体システム研究部門 …… 34
概　要
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，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）
大脳基底核内情報伝達におけるドーパミン神経伝達の機能
（知見聡美，佐藤朝子，笹岡俊邦，南部　篤）
運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロンの相互相関
（Waranan Wongmassang，知見聡美，長谷川　拓，Olivier Darbin，南部　篤）
大脳皮質－線条体路による大脳基底核の制御機構の解析
（佐野裕美，小林憲太，加藤成樹，小林和人，南部 篤）
線条体－黒質投射ニューロンによる大脳基底核の制御機構の解析
（佐野裕美，田中謙二，南部　篤）
ジストニア様症状を示す突然変異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）
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）
マーモセットの運動関連大脳皮質の大脳皮質間，皮質－皮質下間の解剖学的結合
（近藤秀樹，畑中伸彦，南部 篤）

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門 …… 38
概　要
ゲノム編集技術によるタイトジャンクション裏打ちタンパク質の機能解析
（大谷哲久，古瀬幹夫）
トリセルラータイトジャンクションの膜タンパク質アンギュリンファミリーの機能解析
（菅原太一，古瀬幹夫）

ショウジョウバエの腸管バリア機能を規定する細胞間接着装置の分子構築
（泉　裕士，古瀬幹夫）
Vangl2 と N カドヘリンの相互作用が二分脊椎の発生に果たす役割
（永岡唯宏，古瀬幹夫，岸　将史）
MDCKII 細胞におけるチャネル型クローディン・クローディン 2 の不活化
（徳田深作，古瀬幹夫）
静水圧による培養上皮細胞の重層化
（徳田深作，古瀬幹夫）
大脳神経回路論研究部門 …… 40
概　要
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）
前頭皮質 5 層抑制性細胞から錐体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 Up 状態における細胞種依存的発火時系列
（牛丸弥香，川口泰雄）
大脳皮質における運動学習の形成機構
（大塚　岳，川口泰雄）
線条体中型有棘細胞の抑制性シナプスを受ける棘突起の分布
（窪田芳之，畑田小百合，北　啓子，江川尚美，川口泰雄）
心理生理学研究部門 …… 42
概　要
7 テスラ MR による高度脳計測基盤技術の開発
（福永雅喜，菅原　翔，定藤規弘）
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）
触覚による素材知覚の神経基盤
（北田　亮，Rajaei Nader，青木直哉，高橋陽香，宮岡　徹，大岡昌博，楊　家家，河内山隆紀，
于　英花，牧田　快，荒木雄太，呉　景龍，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）
特徴に向けられる注意共有の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究
（小池耕彦，田邊宏樹，吉岡　歩，定藤規弘）
リアルタイムでのアイコンタクトの神経基盤：Dual fMRI を用いた研究
（小池耕彦，中川恵理，角谷基文，岡崎俊太郎，定藤規弘）
アイコンタクト中の瞬目への過剰同期：自閉症者における検討
（高橋陽香，小池耕彦，岡崎俊太郎，定藤規弘）
共同注意の神経基盤の解明：Dual fMRI を用いた研究
（小池耕彦，田邊宏樹，定藤規弘）
体動の無意識な同期を引き起こす２つのメカニズムの定量的分析
（岡崎俊太郎，小池耕彦，吉本隆明，定藤規弘）
系列運動技能の定着における宣言的記憶システムの関与
（菅原　翔，濱野友希，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，河内山隆紀，定藤規弘）
手指の系列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，定藤規弘）
学習時の口頭復唱による外国語単語の定着促進
（青木直哉，菅原　翔，Masako Hirotani，岡崎俊太郎，山崎英明，吉本隆明，吉田晴世，横川博一，
定藤規弘）
社会的随伴性に関する神経基盤
（角谷基文，小池耕彦，岡崎俊太郎，北田　亮，定藤規弘）
ヒトの満腹時の甘味に対する選好性の神経学的検討
（吉本隆明，岡崎俊太郎，近添淳一，角谷基文，高橋晴香，中川恵理，小池耕彦，北田　亮，岡本士毅，
矢田俊彦，小阪浩隆，定藤規弘）

両側弁蓋部への経頭蓋直流電気刺激が痛み関連脳磁場に与える影響
（小山総市朗，中川　慧，定藤規弘，田中悟志）

Does joint attention help adults learn new words?
（Masako Hirotani，Koji Shimada，Shuntaro Okazaki，Hiroki C. Tanabe，Norihiro Sadato）

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門 …… 49

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，辰本将司，石橋みなか，渡我部昭哉，山森哲雄，下郡智美，大石高生，豊田　敦，藤山秋佐夫，久島　周，尾崎紀夫，柿田明美，那波宏之，重信秀治，磯田昌岐，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）

統合失調症患者の静止画自由視時の視線計測データのサリエンシー計算論モデルによる解析
（吉田正俊，三浦健一郎，橋本亮太）

刺激－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，石野誠也，伊佐　正）

「盲視」サルにおける両側 LIP 野の視覚誘導性サッケードへの寄与
（加藤利佳子，吉田正俊，伊佐　正，林　拓也，河原正幸，尾上浩隆）

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）

Saliency Map Computation in Superior Colliculus Simulations
（Richard Veale, Tadashi Isa, Masatoshi Yoshida）

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
（當山峰道，小林憲太，伊佐　正，木下正治，渡邉　大，小林和人，里宇明元）

第一次視覚野損傷後における中脳ドーパミンニューロンへの視覚情報入力経路の解析
（高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave，伊佐　正）

一次体性感覚野における運動前活動が保持する情報の解析
（梅田達也，西原陽子，鈴木迪諒，山西ユミ，伊佐　正，西村幸男）

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）

二丘傍核から上丘浅層へのコリン作動性投射の解剖学的研究
（徳岡広太，伊佐　正）

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）

生体恒常機能発達機構研究部門 …… 56

概　要

In Vivo 多光子顕微鏡を用いたミクログリアによる大脳皮質神経回路再編機構の解析
（和氣弘明，宮本愛喜子，加藤大輔，穐吉亮平，春若航一路，鍋倉淳一）

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，戸田拓弥，中村佳代，鍋倉淳一）

伝達物質のスイッチングのメカニズム細胞応答
（中畑義久，鍋倉淳一）

生殖・内分泌系発達機構研究部門 …… 58

概　要

社会的ストレスが引き起こす食餌選択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
（佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦）

骨格筋細胞株 C2C12 細胞の分化に及ぼす AMPK の調節作用
（Nur Farehan Asgar，岡本士毅，箕越靖彦）

インスリン受容体遺伝子変異マウスの脂肪分解活性が肝糖新生と胆汁酸代謝に及ぼす効果
（Eun Young Lee，Xilin Zhang，三木隆司，櫻井健一，田中知明，橘　香穂里，横手幸太郎，
Meizi Jiang，白澤卓二，Antonio Vidal-Puig，戸田知得，箕越靖彦）

個別研究

個別研究（村上グループ）…… 61
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
—蛍光ビーズによるポンプアーチファクトの除去—
（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）…… 62
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）…… 62
概　要
ウニ卵受精時の熱産生測定
（毛利達磨，岡部弘基，坂口玲子）
イトマキヒトデ卵母細胞成熟過程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，経塚敬一郎）

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室…… 64
概　要
細胞核に *tdTomato* 遺伝子を発現するノックインラットの作製
（後藤哲平，平林真澄）
代謝生理解析室…… 64
概　要
心臓の容積調節における TRPC3 チャネルの役割解析
（冨田拓郎，西村明幸，西田基宏）
末梢血管成熟における TRPC6 チャネルの役割解析
（島内　司，冨田拓郎，西田基宏）
膀胱上皮細胞における TRP チャネルの役割
（渡邊成樹，鈴木喜郎，富永真琴）
TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明
（平田　豊，鈴木喜郎，富永真琴）
代謝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）
運動異常症の病態生理の解析
（竹林浩秀，堀江正男，ホサイン イブラヒム，森　由紀子，久保田　光，一瀬　宏，佐野裕美，
知見聡美，南部　篤）
行動様式解析室…… 67
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 …… 70

概　要

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室…… 71

概　要

神経ネットワークのシナプス結合解析を超高圧電子顕微鏡トモグラフィーで効率的に行える手法を開発
（村田和義，佐藤慧太，高浪景子，坂本竜哉，坂本浩隆，河田光博）

キメラサポウイルス VLP のクライオ電子顕微鏡による構造解析
（宮崎直幸，David W. Taylor，村田和義，Grant S. Hansman）

生体機能情報解析室…… 72

概　要

多光子顕微鏡室…… 72

概　要

無蛍光赤色蛍光タンパク質によるアストロサイト内分子活性化イメージング
（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“無蛍光”黄色蛍光タンパク質の開発
（村越秀治，柴田明裕）

ウイルスベクター開発室…… 74

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）

皮質-線条体ニューロンの生存における Rho シグナル伝達系の機能解析
（小林憲太，佐野裕美，加藤成樹，黒田啓介，中牟田信一，伊佐　正，南部　篤，貝淵弘三，小林和人）

線条体-黒質投射ニューロンに制御される運動機能のメカニズム解析
（小林憲太，佐野裕美，黒田啓介，中牟田信一，貝淵弘三，南部　篤）

霊長類モデル動物室…… 75

概　要

オリオンプロジェクト　生体制御シグナル研究部門…… 77

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…… 78

概　要

移動運動の速度変化に伴う筋活動の変化を制御する脊髄神経回路の解析
（木村有希子，東島眞一）

動物実験センター…… 79

概　要

管理運営

研　究

教　育

社会貢献

技術課 …… 83

概　要
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) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）
（小原正裕，山田　元）
(3) 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 電極膜電位固定法，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，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，陳　以珊，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）
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）

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，過去に，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，やむを得ず KO ヘテロマウスを用いて網羅的行動解析を行い，空間記憶の長期保持および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 マウスを作成した。さらに，大脳特異的 KO ホモマウスとして flox ホモかつ Emx1-Cre ヘテロマウスを得，このマウスにおいて大脳，海馬，視床等における Prrt3 タンパク質の発現がほぼ失われていることを western blot 法による解析，および免疫組織化学的解析に確認した。大脳特異的 KO ホモマウスは生存率がやや低かったため，網羅的行動解析に向けての充分数の確保は難航したが，今年度，ようやく，充分数の同腹の，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，flox ホモマウス（コントロールマウス）を得る見込みが立った。準備が整い次第，網羅的行動解析を実施する計画である。

オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた in vitro 発現系における電気生理学的解析

陳　以珊，山本友美，久保義弘

Prrt3 は大きな N 末細胞外領域と 7 回膜貫通部位を持つオーファン代謝型受容体である。(1) これまでに，免疫共沈タンパク質の質量分析結果に $G_{i/o}$ が含まれていたため，$G_{i/o}$ 系に機能的に結合する可能性が示唆された。そこで，Prrt3 は $G_{i/o}$ タンパク質共役型受容体であるかどうかを解明するため，Prrt3 をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ，二電極膜電位固定法により検討した。その結果，ムスカリン性アセチルコリン受容体アゴニストで知られている Oxotremorin-M (Oxo-M) は，Prrt3 を介して G_i 結合型の GIRK チャネル電流増加作用を示すことが明らかとなった。これに対して，Prrt3 を介して G_q 活性化により Ca^{2+} 依存性 Cl^- チャネル電流の増加は認められなかった。このことから，Prrt3 は G_i 共役型受容体であることが強く示唆された。(2) 次に，マウス脳には，N 末端細胞外領域が根元付近で切断された Prrt3 受容体が多く存在する。そこで，N 末端細胞外領域の切断による受容体活性への影響を，共発現させた GIRK チャネル電流の Oxo-M 投与による増加の解析により検討した。Furin 共発現法および Mutagenesis 法による N 末端細胞外領域の切断は，免疫組織化学染色法により明確に確認されたが，電流増加に有意差は見られなかった。よって，Prrt3 の Oxo-M に対する感受性は，N 末端細胞外領域の切断により変化しないことが明らかとなった。

オーファン代謝型受容体 Prrt3 のリガンドの同定に向けたスクリーニング

陳　以珊，久保義弘
上杉志成（京都大学化学研究所ケミカルバイオロジー・京都大学 iCeMS）

オーファン代謝型受容体 Prrt3 の生理的リガンドの同定は新しい神経伝達メカニズムに関わると考えられる。そこで，アセチルコリン等生理的リガンドを含めたリガンドライブラリーを用い，GIRK チャネル電流の解析によるスクリーニングを行ってきた。その結果，Oxotremorin-M と同じムスカリン性アセチルコリン受容体アゴニストに属する数個の化合物が，Prrt3 の活性化を介して GIRK チャネル電流増加作用を示すことが明らかとなった。ただし，アセチルコリンは作用を示さなかったため，生理的リガンドは未同定である。また，1000 個を超えるリガンドライブラリーのスクリーニングを開始し，数個の化合物による Prrt3 の活性化による GIRK チャネル電流の増加が確認された。これに対して，Prrt3 と同じ Family C に属する代謝型グルタミン酸受容体のリガンド群等のスクリーニングでは，Prrt3 を介して GIRK チャネル電流増加作用を示す化合物は認められなかった。今後，リガンドライブラリーのスクリーニングを継続し，また Prrt3 の活性化作用を持つ化合物群の構造解析により，Prrt3 の生理的リガンドの同定を目指す。

G タンパク質共役型受容体の KCNK13 チャネル電流増加作用に関与するシグナル分子の解明

立山充博，久保義弘

KCNK13 チャネルは背景電流を構成する 2 ポア K^+ チャネルの一種であり，その機能制御は細胞の興奮性に影響を与えると考えられる。これまで，アラキドン酸のみが KCNK13 チャネル機能を制御する生体内物質として報告されていた。我々は，KCNK13 チャネルを HEK293T 細胞に発現させると，その電流が Gi/o 共役型

受容体あるいは Gq 共役型受容体の活性化により増加することを見出した。また，Gi/o と Gq 共役型受容の電流増加作用は加算的であったことから，それぞれ異なる機構により KCNK13 チャネルを活性化するものと考えられた。そこで，Gi/o および Gq シグナリング下流に位置し電流増加作用に関与するシグナル分子の特定を目的に実験を行ったところ，Gi/o 共役型受容体の作用は Gβγ サブユニットを介すること，Gq 共役型受容体の作用は Gq 活性化により産生される脂質の一種である diacyl glycerol を介することが明らかとなった。現在，各シグナル分子による KCNK13 チャネル機能修飾機構を解明すべく研究を進めている。

Gq 共役型受容体の電位依存性に関する研究

立山充博，久保義弘
王　培冰（新潟大学医学部医学科）

幾つかの G タンパク質共役型受容体は膜電位依存性を示すことが知られており，特に，Gi/o 共役型受容体について多くの報告がなされてきた。我々は，Gq 共役型受容体の膜電位依存性の解明を目的として，作用薬の濃度と KCNK13 チャネル電流増加作用の関係を異なる膜電位にて解析した。ムスカリン性 M1 受容体では，膜電位を 0 mV に保持した時の濃度作用曲線が膜電位を-80 mV に保持した時より低濃度側にシフトするという従来の知見と一致した結果を得た。これに対し，アドレナリン α1B 受容体やセロトニン 5-HT2A 受容体では，濃度作用曲線は膜電位の影響を受けなかった。一方，代謝型プリン P2Y1 受容体は KCNK13 チャネル電流に対し低濃度で増加，高濃度で抑制という二相性の作用を示したが，この作用曲線が脱分極により低濃度側にシフトすることを見出した。現在，P2Y1 受容体の荷電性アミノ酸残基に荷電を消失させるよう変異を導入し電位依存性に関与する部位の特定を進めている。

Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）における 2 つの S4 ヘリックスによる膜電位依存性制御機構の解析

下村拓史，久保義弘

膜電位依存性カチオンチャネルファミリーでは，電位センサードメイン中の 4 番目のヘリックス（S4）が膜電位感知に重要であることが知られている。Two-pore Na^+ channel (TPC) は 2 つの異なる S4 を持つ特徴的なチャネルであり，TPC における 2 つの S4 はチャネル全体の電位依存性に対して異なる役割を果たしていると推定される。本研究では，この 2 つの異なる S4 による膜電位依存性制御メカニズムを明らかにすることを目指す。本年度はまず，カエル卵母細胞に *Xenopus tropicalis* 由来の TPC ファミリー3（TPC3）を発現させ，電気生理学的解析を行う系を確立した。続いて， TPC3 オルソログ間において，リピート I の S4 には存在せずⅡのみで保存されている Asp511 に着目し，変異導入の影響を解析した。その結果，この Asp511 の負電荷が活性化の電位依存性に重要であることがわかった。次に，2 つの S4 上の相同な残基（Gln164, Phe514）をアルギニンに変異させたところ，リピート I の場合は野生型と比べて明確な変化が無かったのに対し，リピートⅡではより深い膜電位でも活性化するように電位依存性が大きく変化した。これらの結果から，TPC の 2 つの膜電位センサーは配列の違いを反映して異なる機能と役割を担っていることが示唆された。

hERG チャネルの脱活性化機構に関与する C 末端細胞内ドメインの研究

粂　慎一郎，久保義弘

電位作動性 K^+チャネルファミリーに属する hERG チャネルは，同ファミリーの他のチャネルと比較して脱活性化が遅く，細胞内ドメインがこの制御に関与することが示唆されている。C 末端側細胞内領域に存在する C-リンカードメイン（CLD）と環状ヌクレオチド結合相同ドメイン（CNBHD）も，その遅い脱活性化の制御に関与することが示唆されているが，その詳細な制御機構は不明である。我々は，この hERG チャネルの遅い脱活性化の制御に関与する C 末端側細胞内ドメインの構造的特徴を解明することを目的に研究を行った。

初めに，hERG チャネルの近縁チャネルで解明された同ドメインの結晶構造を基にホモロジーモデリングを行った。その後，得られた hERG チャネルのホモロジーモデルを参考に，これらのドメインに変異を導入し，遅い脱活性化への影響を解析した。その結果，CLD に存在する正電荷を有する Arg696 と CNBHD に存在する負電荷を有する Asp767 間の機能的な相互作用が遅い脱活性化の制御に重要であることが示唆された。さらに，CLD に存在する Asp727 と CNBHD に存在する Arg752 が静電相互作用することで，遅い脱活性化を制御していることが示唆された。これらの結果から，遅い脱活性化の制御機構には，C 末端細胞内ドメイン間の相互作用が重要であることが示唆された。

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，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ような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，我々は報告してきた。次のステップとして，膜電位と ATP に依存する動的構造変化を蛍光強度の変化として捉える実験を計画した。汎用されている蛍光物質を結合した Cys 修飾剤を用いて Cys 残基を蛍光ラベルする方法では，Cys 修飾剤がアクセスできない部位の解析は不可能で，またラベルの特異性と効率が高くない。そこで，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 Anap 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，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。さらに，細胞外の ATP 結合領域の近傍，膜貫通部位，両者をつなぐリンカー領域の様々な個所に非天然蛍光アミノ酸を取り込ませて解析を行った。ATP 投与により，Trp46Anap では蛍光強度の増加が，Ser326Anap では減少が観察されるなど，多くの箇所で変化が観察された。しかし，これまで，膜電位に依存する蛍光強度変化は観察されておらず，発現レベル等の条件を検討しつつ解析を継続している。

哺乳類における「非視覚」の光受容機能を支えるメラノプシンの分子基盤

塚本寿夫，古谷祐詞　（分子科学研究所・生体分子情報研究部門）
久保義弘
小柳光正，寺北明久（大阪市立大学・生体高分子機能学Ⅱ）
David Farrens（Oregon Health Science University, USA）

メラノプシン (Opsin4) は，哺乳類の網膜視細胞に存在し，体内時計のリセットなどの非視覚の光受容において役割を果たしている。メラノプシンは脊椎動物の視覚を担うオプシンよりも，むしろ無脊椎動物の視物質に類似している。マウスのメラノプシンと無脊椎動物ハエトリグモの視物質の分子機能を比較した結果，37℃に保持すると，ハエトリグモの視物質は大きな変化を示さないのに対し，マウスのメラノプシンは光を受容するために必要なレチナールとの結合が不安定で，自発的に放出することで光を受容できなくなっていくことを見出した。さらに，ヒトのメラノプシンは，マウスのそれと比べて，レチナールとの結合がいっそう弱くなっていた。ヒト以外の霊長類（サル）のメラノプシンについてもレチナールの結合の強さを解析し，さらに，レチナールとの結合強度の構造基盤を決定するために，変異体の機能解析を行った。その結果，霊長類の種間でもレチナールとの結合強度には大きな違いがあり，3 アミノ酸残基の違いが結合強度の違いに寄与していることが明らかになった。この 3 残基の様々な哺乳類のメラノプシンでの比較により，ヒト・チンパンジー・テナガザルなど類人猿のメラノプシンが，分子進化の過程でレチナールとの結合を弱める配列を獲得・保持していることが示唆された。

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，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。我々はすでにOL―ニュー

ロン間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に成功している。今年度は，活動電位を抑制する遺伝子Kir2.1と，活動電位を亢進させる遺伝子Nachbacを用いてニューロンの活動を人為的に変化させることができるマウス実験系を確立した。このマウスに対して前述の技術を適応し，現在，ニューロンの活動とミエリン形成との相関を調べている。また我々は OL―ニューロン間に形成される paranodal junction の破綻を誘導できるノックアウトマウスを保持している。今年度はマウス脳内の内包領域の paranodal junction 破綻を誘導した後，大脳皮質の運動野を刺激した際のマウス前肢筋電図計測を行った。その結果，内包領域の paranodal junction 破綻により筋電図計測の伝導速度に遅延が認められた。この結果から，脳内の限局した領域の paranodal junction の崩壊のみでも脳高次機能へ影響を及ぼす可能性が示唆された。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 の発現を制御する分子機構と，その機能解析を行っている。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 non-canonical Wnt シグナルにより神経変性が引き起こされることを明らかにした。

アストロサイトの機能

菊地原沙織，池中一裕

脳の可塑性には，神経細胞間のシナプスの形成・刈り込み・維持の一連の過程（シナプスの精緻化）が強く関係している。近年，グリア細胞がシナプスの精緻化に積極的に関わっている可能性が示唆されてきており，その詳細を解明することが必要となっている。我々は，シナプスの精緻化におけるアストロサイトの役割を調べるために, Mlc1 の過剰発現マウスが有用なモデルであることを見出した。なお，*Mlc1* とは白質脳症 MLC 病の原因遺伝子である。

Mlc1 過剰発現マウスでは, 小脳特異的なアストロサイト（バーグマングリア。以下，BG）の位置が異常になっている。大多数の BG の細胞体は，プルキンエ細胞層から分子層へと移動する。本年度は，プルキンエ細胞層での BG の存在の有無が，シナプスの精緻化に与える影響を調べた。下オリーブ核ニューロンの軸索終末（登上線維，以下 CF）-プルキンエ細胞(以下 PC)間のシナプスに着目した。免疫組織化学的解析の結果，Mlc1 過剰発現マウスでは CF シナプスの刈り込みと PC 樹状突起への移行が大幅に阻害されていた。電気生理学的解析から，複数本の CF 間での活動依存的な選択に異常が起きていることがわかった。刈り込みの前半の時期(5,6 本から 3，4 本への選択)はほぼ正常だった一方，後半の時期(3,4 本から 1 本への選択)が著しく阻害されていることがわかった（東京大学狩野方伸教授，渡邉貴樹特任助教との共同研究）。

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。本年度も昨年に引き続き 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プロテオグリカン異常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。

糖鎖の構造決定と機能解析

吉村　武，半田（鳴海）麻衣，江　文，橋本弘和，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，神経系に発現している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，ケラタン硫酸と呼ばれる糖鎖が神経発生に関与することを報告した（Hashimoto et al., Neurochem Res, 2016）。また，ヘパラン硫酸脱硫酸酵素 Sulf2 がマウス脊髄において細胞の運命決定を制御することを見出した（Jiang et al.，投稿中）。脳発達期に発現レベルが上昇する新規シアル酸化Ｎ結合型糖鎖構造（6-sialyl Lewis C）が神経細胞のシナプスに集積していることを見出した。末梢神経系の髄鞘には硫酸化Ｎ結合型糖鎖が豊富に存在し，硫酸転移酵素 GlcNAc6ST-1 がＮ結合型糖鎖の硫酸化を独占的に担っていることを突き止めた。硫酸転移酵素ノックアウトマウスでは髄鞘構造の異常や軸索変性が観察された。故に，末梢神経系において硫酸化糖鎖が髄鞘形成を制御していることが明らかとなった（Yoshimura et al.，投稿中）。

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。さらに最近，長年未知であった, PSD-95 の脱パルミトイル化修飾酵素の同定も達成した。そして，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ルイ化修飾の定量的解析法，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。

シナプス足場タンパク質 PSD-95 の脱パルミトイル化酵素の同定と性状解析

深田優子，横井紀彦，関谷敦志，村上達郎，小林憲太（ウイルスベクター開発室），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，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た。そして，過剰発現系で PSD-95 に対して，ABHD17 ファミリー蛋白質が脱パルミトイル化活性を示すことを見出した。さらに，これら酵素を海馬神経細胞でノックダウンすることで, PSD-95 の脱パルミトイル化反応が特異的に抑制されることを見いだした。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。

Yokoi N, Fukata Y et al (2016) J Neurosci. 36:6431-6444

パルミトイル化修飾の化学量論的解析法の開発

横井紀彦，関谷敦志，深田優子，深田正紀

パルミトイル化修飾は他の脂質修飾（プレニル化やミリストイル化）と異なる可逆的な翻訳後修飾で，蛋白質の局在や機能を制御している。これまで多くのパルミトイル化修飾部位が同位体標識法等によって同定されてきたが，その化学量論（ある蛋白質のシステイン残基がどの程度の割合でパルミトイル化修飾されているか）に

ついては解析手法が無かった。今回，我々は蛋白質上のパルミトイル基を高分子化合物 Polyethylene glycol（PEG）に置換し，パルミトイル化/非パルミトイル化蛋白質を電気泳動で分離し，それらのウェスタンブロットでの検出強度を比較することによって，パルミトイル化修飾の化学量論を同定する方法を開発した。この手法により，パルミトイル化/脱パルミトイル化サイクルの動的制御に関する詳細な解析が可能になり，パルミトイル化修飾の総合的な理解に関して大きな役割を果たすと考えられる。実際に，シナプス蛋白質の中で PSD-95 のパルミトイル化サイクルが特異的に速いこと，シナプスの成熟によってその速度が変化することが分かり，パルミトイル化反応が蛋白質ごとに精密に制御されている事が明らかとなってきた。

Yokoi N, Fukata Y et al (2016) J Neurosci. 36:6431-6444

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，深田優子，井本敬二（神経シグナル研究部門），深田正紀

近年の我々を含む研究から，神経分泌蛋白質 LGI1 の機能障害は，遺伝性側頭葉てんかんや，記憶障害やけいれんを主訴とする辺縁系脳炎を引き起こすことが明らかになってきた。すなわち，LGI1 はヒトの脳の興奮性制御や記憶形成に重要な役割を担っていると考えられる。これまでに我々は分泌蛋白質 LGI1 その受容体である ADAM22 との複合体が AMPA 受容体を介したシナプス伝達を制御すること，そして，LGI1 を欠損させたノックアウトマウスでは，シナプス伝達異常により，生後 2-3 週間で致死性てんかんを必発することを報告してきた。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

LGI1-ADAM22 複合体は PSD-95 を介して，シナプスの成熟を制御する

深田優子，深田正紀，Nicoll RA（カルフォルニア大学サンフランシスコ校）

今回，まず LGI1 が神経細胞のどの領域（軸索，樹状突起のいずれか）から分泌されるのかを明らかにするために，LGI1 ノックアウトマウスの海馬歯状回の顆粒細胞のみに LGI1 を発現させたマウスを樹立した。このマウスにおいて LGI1 は顆粒細胞の軸索に相当する Mossy 繊維と樹状突起が分布する分子層に特異的に発現していることを見出した。すなわち，LGI1 はプレシナプス（軸索側）とポストシナプス（樹状突起側）の両方から分泌されることが明らかとなった。次に，UCSF の Nicoll 博士との共同研究にて，ADAM22 ノックアウトマウスにおいても LGI1 ノックアウトマウスと同様に AMPA 受容体を介したシナプス伝達が減弱していることを見出した。興味深いことに，LGI1 ノックアウトマウスにおいては，PSD-95 の過剰発現やノックダウンで見られる AMPA 受容体機能変化が全く認められなかった。すなわち，LGI1-ADAM22 は PSD-95 による AMPA 受容体の機能制御（シナプス成熟）に必須であることが明らかとなった。

Lovero K et al (2015) PNAS 112: E4128-E4137

ヒトにおける ADAM22 の compound heterozygous 変異の解析

深田優子，深田正紀，Lehesjoki AE（ヘルシンキ大学）

我々は, ヘルシンキ大学の Lehesjoki 博士との共同研究にて，進行性の脳萎縮と痙攣，知的障害を呈する患者において，ADAM22 の compound heterozygous 変異（すなわち異なる２つの変異を一人の患者が有する）を見出した。そして，一つの変異が LGI1 との結合能を欠損し，もう一方の変異が PSD-95 および LGI1 との結合能を欠損していることを明らかにした。本結果はヒトにおいて ADAM22 の変異と脳疾患との関連を初めて示した点で重要であり，また LGI1 と ADAM22 の結合不全が脳の形態形成にも重要であることを示した点で意味深いと言える。

Muona M et al (2016) Neurology Genetics 2: e46

神経細胞構築研究部門

【概要】

本研究部門では神経細胞極性や微小領域特性の構築や脱構築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，更には神経変性疾患に見られるそれらの破綻に寄与する物質，特に脂質や翻訳後修飾の特異的局在情報の蓄積を進めている。多次元データを元に統計学的手法とバイオインフォマティクスを融合させ, 新しい視点で研究に挑戦している。これらにくわえ，質量顕微鏡などのイメージング技術で発見したユニークな局在を示す物質の中で，特に脂質に焦点を絞り，それらの局在を人為的に操作することで神経細胞極性をコントロールする挑戦的な研究を展開している。とりわけ，光刺激で脂質の局在を時間・空間的に自由自在に操作する「オプトリピドミクス」に力を入れている。

脊髄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），徐　冬闽（浜松医大），瀬藤光利

筋委縮性側索硬化症（ALS）モデルマウスであるスーパーオキシドディスムターゼ 1（SOD1）変異マウスの脊髄を質量顕微鏡で観察し，疾患の進行レベルとホスファチジルコリン（PC）組成の相関を解析した。ALS 終末期の 22 週齢マウスの第 5 腰髄（L5）を解析した結果，前角において，ドコサヘキサエン酸（DHA）を含有する PC 分子種，PC (16:0/22:6)，PC (18:0/22:6)，PC (18:1/22:6) の有意な減少が見られた。これら DHA 含有 PC 分子種の減少は，前角の運動ニューロンの消失を伴った。一方で，後角で特異的に検出された PC(16:/0/16:0) は，終末期の脊髄においても特に減少せず，後角の感覚ニューロンが ALS において影響を受けないことが示唆された（文献 1）。

末梢神経の損傷に対する中枢神経におけるリン脂質代謝の変化を質量顕微鏡で解析した。坐骨神経の切断により，神経線維に対応する脊髄の前角および後角において，アラキドン酸（AA）を含有する特定の PC 分子種，PC(16:0/20:4) の有意な増加が観察された。他の AA 含有 PC である PC(18:1/20:4)，PC(18:0/20:4) や DHA 含有 PC の PC(16:0/22:6)，PC(18:0/22:6)，PC(18:1/22:6) などは変化しなかった。PC(16:0/20:4) の増加は坐骨神経切断後 4 週でも観察され，Iba1 陽性のミクログリアおよび GFAP 陽性のアストロサイトの増加が随伴した（文献 2）。

1. Arima et al. Neuroscience (2015) 297: 127-136.
2. Arima et al. Sci Rep (2016) 6: 26427.

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。

TRPV1 と anoctamin1 の機能連関による侵害刺激増強機構

高山靖規，富永真琴

昨年に脈絡叢情報細胞における TRPV4 とカルシウム活性化クロライドチャネルの１つアノクタミン１(ANO1)の機能連関がクロライド流出から脳脊髄液放出をもたらす可能性を報告した。そこで，同じようにカルシウム透過性の高いカプサイシン受容体 TRPV1 と ANO1 の機能連関を検討した。マウス後根神経節で TRPV1 と ANO1 の強い共発現を観察した。HEK293T 培養細胞において，TRPV1 と ANO1 が複合体を形成し，TRPV1 を介して流入したカルシウムが TRPV1 と結合している ANO1 を活性化することを見いだした。この機能連関はワサビ受容体 TRPA1 と ANO1 の間にも確認された。感覚神経は細胞内クロライド濃度が高いので，クロライドは流出してさらなる脱分極をもたらす。マウス後根神経細胞では，カプサイシンによる内向き電流の半分近くがクロライドの流出によってもたらされていることが明らかになった。後根神経細胞でも TRPV1, ANO1 は複合体を形成することが分かった。ANO1 阻害剤は，マウス感覚神経でのカプサイシンによる活動電位発生を有意に抑制し，カプサイシンによる疼痛関連行動を有意に抑制した。これは，全く新しい痛み増強メカニズムであり，TRPV1/ANO1 複合体の形成阻害は新たな鎮痛療法となるものと推察された。

マウス膀胱上皮における TRPM7 による細胞接着能制御

渡邊成樹，鈴木喜郎，富永真琴

マウス膀胱上皮，特に最上層のアンブレラ細胞に TRPM7 チャネルが強く発現していることを遺伝子レベルおよびタンパク質レベルで確認した。そこで，アンブレラ細胞特異的に TRPM7 を欠損する conditional KO マウスを作成した。野生型膀胱上皮細胞でパッチクランプ法を用いて観察された細胞外マグネシウム依存性で酸で

活性化される電流が TRPM7 欠損細胞で減少していた。TRPM7 conditional KO マウスでは，尿重量が減少し，膀胱間質に炎症が観察された。電子顕微鏡による観察で上皮間隙が大きく，接着能の低下が推測された。よって，TRPM7 機能低下による膀胱上皮間接着が尿等の膀胱間質への侵入をもたらし，炎症を惹起したものと考えられた。

膵臓 β 細胞における TRPM2 のレドックス制御とインスリン分泌

加塩麻紀子，富永真琴

以前に，TRPM2 の一つのメチオニン残基が過酸化水素によって酸化されて感作さることを報告した（P.N.A.S., 2012）。この TRPM2 の感作はマウス腹腔マクロファージで機能し，温度依存的なマクロファージのサイトカイン産生能や貪食能に関与し，よく言われる「体温上昇による免疫能の増大」を説明する一つの分子メカニズムと考えられた。同じような過酸化水素による TRPM2 の感作はマウス膵臓 β 細胞でも検討し，同様のメカニズムが作用していることが観察された。膵臓は，還元酵素活性が非常に低いことが知られている。また，グルコースは膵臓での過酸化水素の産生をもたらす。グルコースによって産生された過酸化水素が温度依存的に膵島からのインスリン分泌を促進し，その温度依存的なコンポーネントは還元剤感受性であることが分かった。膵臓はグルコース摂取時に過酸化水素を産生し，TRPM2 を感作させて活性を増強させ，インスリン分泌増大につなげていることが推測された。

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を表現するニューロン活動，（２）素材知覚の神経機構と学習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。

サル下側頭皮質における光沢選択的細胞の応答のダイナミクス

西尾亜希子，小松英彦，下川丈明（ATR 国際電気通信基礎技術研究所）

サルの下側頭皮質中央部の上側頭溝下壁皮質には光沢に選択性を持つニューロンが限局して存在しており，これらのニューロンは，光沢知覚空間の軸を作るハイライトのコントラスト（c)とハイライトの鮮明さ（d）を正確に表現することが分かっている。そこで，光沢知覚に関する情報処理のダイナミクスを明らかにするために，光沢選択的細胞集団の時間応答について調べた。光沢知覚パラメータ（c と d）とニューロン集団応答との相関値の時間変化を調べた結果，c と d でわずかに時間差が見られた。そこで個々のニューロンの時間毎の応答と刺激パラメータとの相互情報量解析を行ったところ，c に選択的に応答する細胞と d に選択的に応答する細胞では情報表現の時間特性が異なっていた。これらの結果は，光沢のコントラスト（c）と鮮明さ（d）で情報処理の過程が異なる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明らかにする研究を進めてきた。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。これまでに，高次視覚野の情報表現は，この視触覚経験によって大きな影響を受けることを明らかにしてきた。本年度においては，実物体素材刺激の外観と手触りに関する心理実験を追加実施し，それらから得られた視覚的・触覚的素材特性と脳活動との関係を詳細に調べた。その結果，視触覚経験後においては，後部下側頭皮質（PIT）の情報表現は，素材の視覚的・触覚的特性（硬さ，重さなど）を良く反映していることが確認された。以上の成果は論文として発表した（Goda et al. 2016）。

素材画像刺激に対するマカクザル下側頭葉皮質ニューロンの反応

横井　功，小松英彦

素材知覚の神経メカニズムを明らかにするために，９種類の素材カテゴリー（金属，ガラスなど）からなる素材画像刺激（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呈示し，単一細胞外電位記録法を用いて下側頭皮質（IT 野）のニューロンから視覚応答を記録した。多くの細胞が１種類または数種類の素材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を示した。また，数種類の素材画像に対して鋭い選択性を示す細胞も少数みられた。ニューロンの選択的反応と視覚刺激に含まれる画像特徴との関係を調べるために，視覚刺激の画像特徴量（色，輝度，空間周波数など）を用いて反応強度の回帰分析を行ったところ，大部分のニューロンの反応は単純な画像特徴量では説明できなかった。これらの結果はＩＴ野では複数の画像特徴が絡み合った高次の画像特徴が選択的に表現されていることを示唆する。

プロジェクションマッピングによる画像素材刺激を用いたマカクザルの行動実験

横井　功，小松英彦，岩井大輔（大阪大学）

視知覚の神経メカニズムの解明を目的とした行動実験および生理実験ではディスプレイ上に呈示した画像刺激が一般的に用いられる。画像刺激は作成や呈示などの操作について簡便であるが，実物に含まれる質感は少なからず失われる。一方，実物刺激はリアルな質感を持っているが，操作が容易ではない。プロジェクションマッピング（ＰＭ）技術を用いて画像を実物のように立体に表示する視覚刺激呈示システムを開発し，サルの行動実験において評価を行った。実物素材把持課題を遂行中のサルに，素材画像を円柱形の物体に投影したＰＭ刺激（８素材カテゴリー：金属，陶器など）を呈示した。実物素材刺激を呈示したときに低い成功率を示す素材カテゴリー（毛）において，ＰＭ刺激は成功率の低下と反応時間の延長を生じた。この結果はＰＭ刺激が実物に近い質感を表現していることと，ＰＭ技術が視知覚の研究領域において有用な実験ツールとなり得ることを示唆する。

大脳皮質 V4 野における色情報の空間的統合のメカニズム

眞田尚久，小松英彦

色の見えは観察する環境によって影響を受けるが，私たちはそれを意識せずに物体認識ができる。これは視覚システムが物体とその周辺を含めた色情報を統合することで，周辺環境による効果を色知覚に反映させた結果だと考えられる。これまでの色に関する生理学研究では単色に対する神経応答を調べてきたが，この手法では周辺環境が色知覚に及ぼす効果の生理学的基盤を理解したとは言えない。そこで複数色に対する神経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調べた。CIE-Luv 色度座標から 2 色をランダムに選び，サル V4 野細胞受容野に同時呈示することで色の組合わせに対する応答特性を計測した。その結果約半数の細胞が２色刺激に強く応答し，その応答特性は単色に対する応答からでは説明できないことが分かった。このことから，V4 野における色情報処理は従来考えられていたよりも複雑に処理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，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解析し，更に in vivo 標本を用いた解析や行動解析など統合的視点から個体や行動に対するその生理的役割を明らかにする独創的な研究を行っている。

今年度は主に，シナプスにおける伝達物質の開口放出と Ca^{2+}マイクロドメインの関係を追求し，その機構が興奮性と抑制性シナプスで著しく異なることを見出した。また，今まで明らかにしてきた海馬に対する影響に加え，Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ IIα 分子の不活性化が小脳・線条体依存性の学習・記憶に与える影響を明らかにした。また，脳幹より大脳皮質や脊髄へ上下行性に投射するノルアドレナリン神経回路に着目し，痛みの情動的側面の 1 つを担う前帯状回における神経活動調節機構の研究を開始した。その他に，排尿の中枢機構や下部尿路の脊髄痛覚伝達機構の研究を遂行した。

ノルアドレナリン神経による前帯状回神経活動の制御機構

古江秀昌，山田彬博，秋元　望，井本敬二

痛みには組織傷害を感知する生体警告系としての感覚と，快・不快に加え感情や共感を含めた痛みの情動的側面がある。感情や共感を含む痛みの情動的側面には前帯状回が関与すると考えられているが，その詳細は不明なことが多い。そこで前帯状回から in vivo パッチクランプ記録や細胞外記録を行い，その神経活動に対するノルアドレナリンの役割を調べた。全身麻酔下の前帯状回における神経活動は皮膚への機械的刺激に応答し，第一次体性感覚野に比べ多くの細胞が応答した。この応答や自発性の活動は麻酔深度に影響を受け，ノルアドレナリンの局所投与によりその活動が亢進した。また，光遺伝学的あるいは電気刺激により青斑核ノルアドレナリン神経を賦活化すると，前帯状回における神経活動が増加した。今後さらに，ノルアドレナリンが前帯状回の活動を調節し，痛みの応答を亢進する機構を詳細に調べる予定である。

軸索終末 Ca^{2+}マイクロドメインにおいて内在性 Ca^{2+}結合タンパク質が担う役割

佐竹伸一郎，井本敬二

Ca_v2 チャネル作用薬 roscovitine と細胞膜透過性 Ca^{2+}キレート剤（EGTA-AM ならびに BAPTA-AM）を用いて，神経伝達物質の開口放出と軸索終末 Ca^{2+}マイクロドメインの関係を追究した。ラット小脳皮質において，顆粒細胞－プルキンエ細胞間グルタミン酸作動性シナプスと分子層介在神経（籠細胞，星状細胞）－プルキンエ細胞間 GABA 作動性シナプスでは，各キレート剤が roscovitine のシナプス後電流亢進作用（$Ca_v2.1$ チャネルに依存した前シナプス性作用）におよぼす影響は著しく異なっていた。顆粒細胞と分子層介在神経の軸索終末に発現する Ca^{2+}結合タンパク質の違い (calretinin, parvalbumin) と関連性があると推定し，さらに詳細な検討を進めている。

カルモジュリンキナーゼ II 活性による学習・記憶の制御

山肩葉子，柳川右千夫（群馬大学），井本敬二

Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ IIα（CaMKIIα）は，中枢神経系に最も多く存在するプロテインキナーゼのひとつで，海馬シナプス可塑性の主要な担い手と考えられている。我々は，CaMKIIα のキナーゼ活性をなくした不活性型ノックインマウス（CaMKIIα-KI）を用いて，CaMKIIα 活性が制御する脳機能について調べている。これまでに，CaMKIIα 活性が海馬依存性の学習・記憶に必須であることはわかったが，それ以外のタイプの学習・記憶にどの程度関与するのかについては不明であった。そこで，手続き記憶への関与について検討したところ，CaMKIIα-KI マウスにおいては，加速型のロータ・ロッドや十字迷路学習で明らかな障害が認められなかったことから，小脳・線条体依存性の学習・記憶は正常と考えられた。このことは，CaMKIIα が高次記憶に特異的に関わる分子であることを示唆している。

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）大脳皮質一次視覚野と中心とした神経回路特性と視覚反応の対応関係，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 月から杉村岳俊研究員と唐木智充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。

一次視覚野における同期発火の形成プロセスと視覚特徴依存性

石川理子，吉村由美子

一次視覚野（V1）神経細胞の同期発火の形成プロセスとその特性を浅層と深層に分けて解析した。開眼直後のラット，正常な視覚環境下および視覚経験を遮断下で飼育した 3 週齢のラット V1 より記録したスパイク活動に相互相関法を適用し，同期発火を定量解析した。正常ラットの浅層では，類似した視覚反応性をもつ細胞間に高い割合で同期発火が観察された。この視覚特徴に依存した同期発火は，開眼直後および視覚遮断ラットでは見られなかった。深層においても，発達に伴い同期発火は強化された。同期発火は視覚反応の類似度に依存したが，浅層ほど顕著ではなかった。また，同期発火の発達は視覚遮断により障害されなかった。以上の結果は，V1 の同期発火特性とその形成機構は，高次視覚野に出力する浅層と皮質下領域に出力する深層で異なることを示す。浅層で同期発火する細胞群は，皮質下へ投射する深層に比べて，より詳細な視覚刺激特徴を高次視覚野に伝達すると考えられる。

大脳皮質眼優位可塑性のシナプス基盤

杉村岳俊，小松由紀夫，吉村由美子

視覚野細胞の眼優位性の可塑的変化は，シナプス可塑性に基づくと考えられているが，視覚野内のどのシナプスにどのような可塑的変化が起きるかは明らかでない。この問題を解決する目的で，片眼遮蔽したラットの視覚野から切片標本を作製し，ケージドグルタミン酸局所刺激法により誘発される単位興奮性シナプス後電流（EPSC）を 2/3 層錐体細胞から記録した。遺伝子工学的手法により予め非遮蔽眼に反応する細胞を蛍光標識し，非遮蔽眼に反応する細胞と反応しない細胞を識別して解析した。その結果，遮蔽 3 日目には，2/3，4 層細胞を介した，遮蔽眼に由来する信号を伝える単位 EPSC の数と振幅が減少した。遮蔽 6 日目には，2/3，4，5 層細胞を介した，非遮蔽眼に由来する信号を伝える単位 EPSC の数と振幅が増大した。この EPSC の変化は，片眼遮蔽後最初に起きる遮蔽眼反応の減弱および遅れて出現する非遮蔽眼反応の増大の基盤と考えられる。

一次視覚野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

一次視覚野の空間周波数選択性の可塑的変化の感受性期を特定する目的で，様々な発達段階のマウスの両眼を一週間縫合し，視覚遮断が視覚野細胞の最適空間周波数に及ぼす影響を調べた。フラビンによる内因性イメージングにより視覚野の視覚反応を調べたところ，生後 4 週齢あるいは 5 週齢からの視覚遮蔽により最適空間周波数の低周波へのシフトが誘導され，生後 3 週齢および 6 週齢の視覚遮蔽では変化が見られなかった。さらに，2 光子励起 Ca^{2+}イメージングにより個々の一次視覚野細胞の視覚反応を調べた。生後 3 週齢では多くのニューロンが低空間周波数に強く反応し，5 週齢では高い空間周波数を最適刺激とするニューロンの割合が増加した。この発達に伴う変化は両眼遮蔽により阻害された。この結果は，PV 陽性抑制性細胞と興奮性細胞で同じであった。したがって，興奮性細胞と抑制性細胞の最適空間周波数の経験依存的調整は調和して進行すると考えられる。

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，吉村由美子
三宝　誠，平林真澄（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）

我々はこれまで細胞系譜を可視化したキメラマウスとパッチクランプ法を用いて，　大脳皮質バレル野 4 層の星状細胞間に細胞系譜依存的な双方向性結合が形成されることを見出した。またそれは，初期胚に発現する DNA メチル化酵素 3b（Dnmt3b）の欠損，および Dnmt3b により細胞ごとの発現種が制御されるクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）の欠損によって阻害されることを明らかにした。細胞系譜依存的な双方向性結合は，発達に伴い一過性のシナプス結合増加および一方向性シナプス結合の脱落を経て形成される。この二つの形成過程における Dnmt3b および cPcdhs の関与を検証した結果，Dnmt3b-KO キメラマウスでは，一方向性シナプス結合の脱落不全，　cPcdh-KO キメラマウスでは，野生型キメラマウスよりも早期のシナプス増加および双方向性結合の脱落が明らかとなった。以上の結果より，cPcdhs 分子の発現と細胞ごとの発現様式が細胞系譜依存的な双方向性結合形成の異なる過程に関与する可能性が示唆された。

二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，吉村由美子
三宝　誠，平林真澄（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，DNA メチル基転移酵素 Dnmt3b に注目しゲノム DNA メチル化によるエピジェネティック修飾とマウス一次視覚野局所神経回路形成の関係を明らかにする。Dnmt3b 欠損(KO)マウスより樹立した 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，KO 遺伝型及び野生型細胞の視覚応答を，同一個体の一次視覚野(V1)より二光子励起カルシウムイメージングにより記録し解析した。GFP 標識された移植細胞から効率よく視覚応答を記録するために，赤色蛍光を発するカルシウム指示薬 Cal590 を使用した。現有している二光子顕微鏡では高波長光による励起は出来ないが 770nm の励起光により蛍光シグナルを検出でき，GFP 蛍光とも分離できることを確認し，実験条件の最適化を行った。現在，野生型及び KO 遺伝型キメラマウス V1 より視覚応答を記録し細胞の遺伝型及び大脳皮質内の三次元空間上の配置と各細胞の視覚刺激選択性の関係を解析している。

視知覚・運動連関に関する一次視覚野の神経活動

木村梨絵，吉村由美子

生物は外部の刺激を知覚・認知して，特定の行動出力をする。本研究では，視知覚（入力）・運動（出力）連関の基盤となる神経回路を明らかにする。頭部固定のラットに，昨年度立ち上げた視覚弁別誘発性の運動課題を行わせた。この課題遂行中に，一次視覚野の多細胞の神経活動を多点電極にて記録した。視覚刺激コントラストの違いによる，難易度に応じた神経活動を検討した。麻酔下ではコントラストが高いと神経活動が強くなるが，課題遂行中には，このような細胞のみならず，低コントラストの難易度が高い課題時に神経活動が強くなるような細胞も観察された。また，抑制性細胞である FS 細胞の多くは，課題の正解時に神経活動が強くなった。この傾向は，低コントラストで活動が強くなるような細胞で顕著であった。このような神経活動は，判別が難しいあいまいな情報でも，正しく入力・出力関係を作動させるのに関与すると考えられる。

心循環シグナル研究部門

【概要】

全身の血液循環恒常性は，心筋・平滑筋・骨格筋などの筋肉細胞によって支えられている。筋肉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に着目し，筋肉の形態構造変化を制御する重要なシグナル伝達分子として，電位非依存性 Ca^{2+}透過型カチオンチャネルである transient receptor potential canonical 3 /6 (TRPC3/6) やプリン作動性 P2Y6 受容体（P2Y6R）を見出してきた。今年度は，これら創薬標的分子のユニークな機能とその生理的役割を免疫 B 細胞や血管平滑筋組織を用いて明らかにした。また，タイ Mahidol 大学との共同研究により，交感神経過敏による心筋のインスリン抵抗性発症の分子機構についても明らかにした。以下に各課題ごとの概要を示す。

免疫Ｂ細胞における TRPC3-PKCβ 複合体形成を介した ERK 活性化機構

冨田拓郎，西田基宏

免疫 B 細胞において，B 細胞受容体刺激に惹起される細胞内シグナル伝達はその増殖・分化・活性化に必須である。これまでに我々は，非選択的カチオンチャネル TRPC3 が B 細胞受容体シグナルにおいてカルシウムシグナルと MAPK シグナルを統合するための形質膜上の基盤であることを明らかにしてきた。本研究において，我々は B 細胞受容刺激に惹起される MAPK シグナルが急性期と持続層の 2 つに分けられ，TRPC3 チャネルの活性化がこの 2 層性 MAPK シグナルのスイッチ機構に重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究は，TRPC3 のようなカルシウム透過性イオンチャネルが形質膜上でのシグナル複合体形成という空間的制御だけでなく時間的なシグナルダイナミクスをも制御することを明らかにした。

P2Y6R によるアンジオテンシン II 誘発性高血圧発症の分子機構

西村明幸，Caroline Sunggip，西田基宏

P2Y6R は細胞外ヌクレオチドに応答する G タンパク質共役型受容体である。アンジオテンシン II (Ang II) による血圧上昇と血管肥厚作用が，P2Y6R 欠損マウスで抑制されることを見出した。血管平滑筋細胞において，P2Y6R は Ang II 受容体（AT1R）とヘテロ二量体を形成することで G タンパク質依存性の肥大応答を増強、逆に β アレスチン依存性の増殖応答を減弱させることを見出した。Ang II は胎児由来の血管平滑筋細胞においては増殖応答，成体由来の細胞においては肥大応答を引き起こす。P2Y6R は発生に伴って発現が上昇し，Ang II による増殖応答から肥大応答への表現型転換に関与することが明らかとなった。また，P2Y6R 阻害剤が AT1R-P2Y6R ヘテロ二量体化を抑制することで Ang II 誘発性高血圧を抑制することも明らかとなった。以上の結果より，加齢に伴う P2Y6R の発現上昇が，アンジオテンシン II 誘発性高血圧症の発症リスクに関与することが示唆された。

β2 アドレナリン受容体シグナル活性化による心筋インスリン抵抗性発症のメカニズム

Supachoke Mangmool，島内　司，西田基宏

インスリン抵抗性はインスリンによる筋組織の糖取り込み促進作用が起きなくなった状態である。交感神経の過剰興奮による心筋アドレナリン受容体の持続的活性化は心機能低下とともに，インスリン抵抗性を発症する原因となる。ラット心臓において，交感神経系の過剰な活性化が β2 アドレナリン受容体（β2AR）を介してインスリン刺激によるグルコース輸送体（GLUT4）の発現増加および糖取り込みを著しく低下させることを新たに見出した。また，心筋細胞の β2AR 持続的活性化が，cAMP-PKA 経路を介してインスリン刺激による GLUT4 の膜移行も顕著に抑制することも見出した。さらに，プロプラノロールやメトプロロールのような β1/β2 blocker が心臓の交感神経刺激によるインスリン抵抗性発症を競合的に抑制することも明らかとなった。以上より，心筋の β2AR-PKA 経路の持続的活性化がインスリン抵抗性の発症要因となる可能性が示された。

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門

【概要】

初めに 2015 年の人事異動を列挙する。国内では，7 月に中川慧博士が，母校である広島大学医学部保健学科の助教に栄転されました。新しい研究室での活躍を祈っています。Sumru KECELI さんは出産，育児のためトルコに帰国中でしたが，一身上の都合により退職されました。

2015 年も他施設との共同研究が順調に進んでいます。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，西原教授），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），米国 Temple 大学（Prof. Yosipovitch）との共同研究を行っています。

脳波と脳磁図を用いた研究が本研究室のメインテーマですが，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ます。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す。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います。

周波数変調音により惹起されたヒト聴覚誘発脳磁界

岡本秀彦，柿木隆介

日常生活において FM 音は重要な役割を果たしている。特に会話音の子音部分の知覚に重要であり，例えば周波数変化を少し変更するだけで “da” は “ga” に聞こえる。本研究では周波数情報に関しては等しい条件下で，周波数の変調速度が異なる音を聞かせた場合の聴覚誘発脳磁界磁界反応を測定した。その結果，0.1 sec の潜時に現れる N1m 反応は右半球で振幅が有意に大きく，また変調速度が速いほど振幅が減少した。それとは反対に，0.5 - 1.0 秒の潜時で出現する sustained fields (SF)反応は変調速度が速いほど振幅は増大した。FM 音における周波数変調速度はヒト脳神経活動に有意な影響を与えている。

(*Sci Rep* **5: 18143, 2015**)

周波数変化及び経時変化により惹起されたミスマッチ反応の左右半球による違い

岡本秀彦，柿木隆介

語音や音楽といった比較的高次な音信号処理に関する脳の左右半球差はよく知られているが，そのメカニズムには不明な点が多い。ヒト脳において，ある特定の音を反復して呈示されている時に逸脱した刺激が挿入されると，ミスマッチ反応と呼ばれる陰性波が生じる。本実験では音を構成する基本的な要素である周波数成分と経時成分において逸脱刺激が呈示された時に惹起するミスマッチ反応を調べた。その結果，周波数成分変化による神経活動は右半球優位であるのに対して，経時成分変化に対する神経活動は左半球有意である事が分かった。この結果は，ヒト脳が左右で異なった時間統合窓を用いているという仮説を裏付けるものである。音信号処理のヒト脳左右半球差は，高次の音処理に限られているのではなく，周波数変化と経時変化という音の基本成分信号処理に由来するのではないかと考えられる。

(*Brain Topogr* **28: 471-478, 2015**)

ヒト聴覚野における音刺激の経時変化に対する階層的な神経活動

ケセリ・スムル，岡本秀彦，柿木隆介

聴蝸牛ではコードできない非常に低い周波数成分は，語音の知覚などで重要な働きを担っていることが知られている。本実験では，白色雑音を一定周期で繰り返し提示することで，非常に低い周波数の時間規則性が誘発脳磁場反応に与える影響を調べた。その結果，時間周期性がある雑音の方が有意に大きい誘発反応を惹起した。蝸牛でコードされない時間規則性は聴覚中枢で比較的遅い潜時で処理されていると考えられる。

(*Brain Topogr* **28: 459-470, 2015**)

視覚誘発磁界に及ぼす屈折誤差の影響

鈴木雅也（東海光学），長江泉希（東海光学），永田裕子（東海光学）
熊谷直也（東海光学），乾　幸二，柿木隆介

視覚誘発脳活動の潜時と振幅は，屈折状態に影響を受けることが知られており，このことは，これらが屈折誤差の客観的指標となる可能性を示している。我々は簡便に屈折誤差を評価する方法の確立を目指し，脳磁図を用いて検討を行った。0.16cd/m^2 の単純格子模様を下視野に呈示し，屈折が最適である場合 (0D) と焦点が網膜よりも前方にある場合 (+1D, +2D, +4D のレンズ負荷) で比較した。誘発主活動 (M100) はおよそ刺激後 120 ミリ秒で頂点となる活動で，鳥距溝起源と思われた。 M100 の潜時は，負荷度数と共に延長し，振幅は小さくなった。全ての負荷レンズで，有意な変化を示した。このことから，低輝度下視野刺激はわずかな屈折誤差を検出するのに十分であり，視覚誘発脳活動は屈折誤差の客観的評価に有用であると考えられる。

(*BMC Ophthalmology* **15: 162, 2015**)

自己顔に対する拒食症児の脳活動の特徴
-近赤外分光法（NIRS）による脳活動計測で，世界で初めて明らかに-

井上　建，作田由衣子，島村圭一，市川寛子，小林　恵，大谷良子
山口真美，金沢　創，柿木隆介，作田亮一

神経性やせ症（Anorexia Nervosa; AN）は，著しい低体重，体重増加を妨げる持続的行為，自分の体重・体型の感じ方の障害を呈し（DSM-Ⅴ,2013［脚注参照］），若い女性の 0.5%前後の有病率を持ち，10%前後の高率な死亡率をもつ疾患である。今回は，その神経性やせ症の，自己顔と他者顔を見るときの脳活動が，健常児とは異なることを，近赤外分光法（near-infrared spectroscopy; NIRS）を用いて，明らかにした。

神経性やせ症児における自己顔認知の特性を脳活動から検討するため，神経性やせ症児が自己顔または他者顔を観察しているときの脳活動を計測し，健常児の脳活動と比較した。その結果，健常児では自己顔にのみ右半球で強い活動がみられた。一方，神経性やせ症児では自己顔と他者顔の双方に対して活動が認められた。この結果から，神経性やせ症児では，自己顔を見るための神経基盤が異なる可能性が示唆された。

今回の研究は，神経性やせ症児の自己顔の認知の特徴を明らかにした世界で初めての研究である。

なお，本研究は，独協医科大学越谷病院小児科，中央大学文学部，東京女子大学文学部との共同研究である。

(*PLOS ONE* **10:e0132050, 2015**)

顔倒立効果における質的・量的処理機構の皮質経路の乖離

松吉大輔，守田知代，河内山隆紀，田邊宏樹，定藤規弘，柿木隆介

ヒトの物体認識能力は様々な見え方に対して頑健であるが，顔が逆向きに呈示された場合にはその認識能力は格段に低下する。この倒立顔の認識が正立顔と比較して著しく低下する現象は，顔倒立効果 (FIE) と呼ばれ，長らく正立顔と倒立顔の処理が「質的に」異なっている（別個の処理機構が関与する）ために生じると考えられてきた。しかし近年，正立顔と倒立顔処理は「量的に」異なっているために生じる（同一の処理機構の程度の差）とする報告があり，議論が行われている。我々は，本研究で FIE 中の脳領域間結合のダイナミクスを fMRI 信号の動的因果モデリングによって検討し，正立顔と倒立顔を別個の経路で処理する機構と，共通経路において重み付けを変えて処理する 2 つの機構が存在し，それらが乖離することを見出した。具体的には，正立顔では顔処理領域から物体処理領域への抑制が行われている一方，倒立顔ではそのような抑制が見出されず，視覚作業記憶を担う領域への結合が増強されており，正立・倒立顔処理で別個の処理経路が確認された。同時に，正立・倒立顔は顔処理領域内部では共通の経路で処理されており，その結合強度差が行動成績と相関していた。これらの結果は，正立顔と倒立顔が質的にも量的にも異なった形で処理されている事を示しており，FIE のメカニズムに関する中心的な議論の解決に寄与する。すなわち，正立顔と倒立顔は「質的か量的か」ではなく，「質的にも量的にも」異なっていると考えられる。

(*J Neuroscience* **35: 4268-4279, 2015**)

刺激の消滅信号による意識知覚の発生

野口泰基，君島進太郎，柿木隆介

我々は通常，目の前に刺激が出現する（オンセット）ことによって，その刺激を意識的に知覚・認識する。反対に刺激が消えれば（オフセット），その刺激の知覚表象も消える。つまり視覚刺激の意識表象はオンセットによって発生し，オフセットによって消滅する。今回我々は，このような通常の意識認識とは逆に，ある刺激のオフセット信号が，その刺激の意識表象を発生させる現象を発見した。両眼間闘争（binocular rivalry）によって意識的な知覚が抑制されている刺激を画面から物理的に消したところ，被験者はその刺激の出現を報告した。つまり「見えない」刺激の物理的なオフセット信号が，結果としてその刺激の意識知覚を発生させた。さらに我々は脳磁図を用いて，この現象が起こっている時の脳活動を計測した。その結果，刺激の意識認識に特徴的な視覚野の神経反応が，オフセット信号によって実際に引き起こされていることを確認した。これらの結果は，従来は消滅信号と考えられていたオフセット信号が，意識表象を誘発するという新しい役割を持っていることを示す。

(*Cortex* **65: 159-172, 2015**)

学童期における顔認知過程の発達による変化

三木研作，本多結城子，竹島康行，渡邊昌子，柿木隆介

今回，顔認知を反映する誘発成分 N170 を指標として，日本人学童の顔認知過程の発達による変化を検討した。

被験者は 8〜13 歳の日本人学童 82 名で，用いた刺激条件は，正立顔，倒立顔，目だけの画像であった。左右側頭部の T5，T6 電極にみられた各刺激条件に対する N170 の頂点潜時と最大振幅を比較検討した。

正立顔に対する N170 は，8〜11 歳においては，幅広い形で, 少なくとも 2 つのピークを持つ波形であったが，12〜13 歳においては，1 つのピークを持つ明瞭な波形であった。

10 歳と 12 歳では，目だけに対する N170 は，正立顔に比べ，有意に延長かつ増大していた。13 歳では，8〜12 歳までとは異なり，正立顔に対する N170 の頂点潜時が，倒立顔，目だけに比べ有意に短くなっていた。この N170 の頂点潜時の違いは，今までの健常成人における先行研究で報告されている違いと同じであった。

今回の結果より，13 歳の時点で，顔認知に関する脳活動は成人のパターンに達していることが示された。

（*Frontiers in Human Neuroscience* **9:263**）

咀嚼が運動遂行過程と運動抑制過程へ及ぼす影響

坂本貴和子，中田大貴，湯本真人，定藤規弘，柿木隆介

脳波を用いて事象関連電位を記録し，運動遂行過程と運動抑制過程に関連する脳活動に及ぼす咀嚼の効果を検討した。被験者は健常成人 20 名（男性 11 名，女性 9 名，平均年齢 25.5 歳）とし，左手の示指と小指にリング電極を装着し，各々へランダムに体性感覚刺激が提示されるよう設定した（刺激強度：感覚閾値の 2.5 倍，刺激感覚：0.3Hz）。示指に刺激刺激が来た際には右手親指でできるだけ早くボタンを押すよう指示をし，対して小指に刺激が来た際にはボタンを押さないよう指示をした。実験は合計 7 セッション行い，セッション間に設けた 5 分間の休憩中にガム噛みを行った条件（Mastication 条件）と，安静に過ごした条件（Control 条件）の 2 条件を各々別日に検討した。結果，反応時間はコントロール条件よりも Mastication 条件で短縮し，反応時間のばらつき（SD of RT）は Control 条件よりも Mastication 条件で小さくなった。エラー率に咀嚼の効果はみられなかった。また事象関連電位の N140 成分と P300 成分のピーク潜時は，Control 条件よりも Mastication 条件において短縮し，その効果は Go 試行，No-go 試行ともにみられた。以上より，咀嚼は，運動遂行と運動抑制のいずれの場合においても，認知処理のスピードに影響を与えていると考えられる。

（*Clin Neurophysiol* **126:2099-2017, 2015**）

脳波と脳磁図を用いた運動遂行・運動抑制に関係する神経活動の時間特性

中田大貴，坂本貴和子，本多結城子，柿木隆介

脳磁場計測器と脳波事象関連電位を同時に用いることにより，運動遂行および運動制御に関わる神経活動の時間特性について検討した。11 名の健康成人を対象とし，体性感覚野刺激 Go/No-go 課題を行った。運動遂行過程（Go 試行）・運動抑制過程（No-go 試行）において，刺激後約 100 ミリ秒までは刺激対側一次運動野と両側二次体性感覚野が同様の活動を示したが，刺激後 150 ミリ秒付近からそれぞれの処理過程に関わる脳活動部位が異なることが示された。運動遂行過程では，Go 刺激後約 150 ミリ秒に補足運動野が，約 250 ミリ秒に一次運動野が特異的な活動を示した。運動抑制過程では No-go 刺激後約 170 ミリ秒に前頭前野が特異的な活動を示した。事象関連電位 N140 成分ならびに P300 成分の振幅は, No-go 試行時の方が Go 試行時よりも有意に増大した。以上の結果は，運動遂行および運動制御に関わる神経活動の違いを明らかにしたものと示唆される。(*Eur J Neurosci* **41: 1448-1458**）。

この N170 の頂点潜時の違いは，今までの健常成人における先行研究で報告されている違いと同じであった。

今回の結果より，13 歳の時点で，顔認知に関する脳活動は成人のパターンに達していることが示された。

（*Frontiers in Human Neuroscience* **9:263**）

体性感覚刺激 Go/No-go 課題中に記録した事象関連電位の繰り返し効果

中田大貴，坂本貴和子，柿木隆介

本研究では，体性感覚刺激 Go/No-go 課題中に脳波事象関連電位を計測し，課題の繰り返し効果に関する脳活動動態について検討した。健康成人 25 名を対象とし，約 3 分の Go/No-go 課題を 7 回繰り返した。課題間は 5 分の休憩を挟んだ。その結果，反応時間の平均値は徐々に短縮したが，統計的に有意差は認められなかった。また反応時間の標準偏差（反応時間のばらつき），エラー率といった行動指標にも課題の繰り返し効果は認められなかった。

事象関連電位における体性感覚 N140 成分と P300 成分の振幅は，課題を繰り返すことにより徐々に低下し，また P300 成分の潜時は繰り返し効果により徐々に遅延した。N140 成分の潜時に繰り返し効果は認められなかった。Go/No-go 課題は運動遂行過程・運動抑制過程をそれぞれ反映する課題であることから，運動遂行や運動抑制に関わる神経活動は，課題の繰り返し効果により影響を受けることが示唆された。

(*Neurosci Lett* **594: 82-86, 2015**)

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ことを行っている。

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，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２７年度は MPTP を用いたパーキンソン病モデルマーモセットを用いて，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た。現在サンプル数が少ないため，２８年度以降サンプル数を増やして解析する予定である。

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た。平成 27 年度は 4 種類の課題（Global-go, Global-stop, Local-go および Local-stop）を遂行中の淡蒼球内節・外節の単一ユニット記録を行った。その結果，淡蒼球外節にストップ課題に強い反応を示すニューロンが存在することがわかった。

大脳基底核内情報伝達におけるドーパミン神経伝達の機能

知見聡美，佐藤朝子（北里大学），笹岡俊邦（新潟大学），南部　篤

大脳基底核のドーパミン神経伝達は，運動制御において重要な役割を果たす。本研究ではドキシサイクリンの投与によってドーパミン D1 受容体の発現を制御することが出来るコンディショナルノックアウトマウスの神経活動を記録した。大脳基底核出力部である淡蒼球内節の自発発火を調べたところ，D1 受容体の発現を抑制しても変化はみられなかった。一方，大脳皮質に電気刺激を加えたときの応答様式を調べてみると，D1 受容体が発現しているときは野生型マウスと同様な早い興奮－抑制－遅い興奮という 3 相性応答が記録されたが，D1 受容体の発現を抑制すると「直接路」を介して伝達される抑制が著しく減弱した。また，このマウスの自発運動量を測定したところ，D1 受容体の発現を抑制すると運動量が低下することがわかった。これらのことから，ドーパミン D1 受容体を介する情報伝達は「直接路」を介する情報伝達と正常な運動の惹起に必須であることが示唆された。

運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロンの相互相関

Waranan Wongmassang，知見聡美，長谷川　拓，Olivier Darbin，南部　篤

大脳基底核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，大脳皮質から入力を受け情報処理のあと，視床を介して大脳皮質の活動を制御している。これまでの研究により，大脳皮質や小脳では神経活動の相互相関が情報伝達において重要な役割を果たすことが示唆されているが，一方，運動を行っていない覚醒下のサルでは，大脳基底核ニューロンは相互相関を示さず独立に発火していることが示されている。本研究では，ニホンザルに到達運動課題を行わせ，淡蒼球外節と内節の上肢支配領域において複数ニューロンから同時記録を行い，その相互相関を調べた。運動課題遂行中，多くの淡蒼球ニューロンは活動の増大または減少を

示した。しかし，運動課題遂行中に有意な相互相関を示したペアーは少数であった。これらの結果から，淡蒼球のニューロンは相互相関を示さず独立に活動することにより，運動情報を投射先に伝達していることが示唆された。

大脳皮質－線条体路による大脳基底核の制御機構の解析

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

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では興奮－抑制－興奮という三相性の応答が主に認められるのに対し，光刺激では抑制－興奮という二相性の応答が主に認められ，興奮－抑制－興奮という三相性の応答も一定の割合で認められた。早い興奮は大脳皮質－視床下核を経由して伝達されると考えられていることから，大脳皮質－視床下核路の側枝が線条体に投射しており，その側枝からウイルスベクターによる遺伝子導入が起こった結果，三相性の応答も認められたと考えられた。

線条体－黒質投射ニューロンによる大脳基底核の制御機構の解析

佐野裕美，田中謙二（慶応義塾大学），南部　篤

線条体－黒質投射ニューロンによる大脳基底核の神経活動の調節機構を解明するため，線条体－黒質投射ニューロンにチャネルロドプシンを発現するマウス（M4-tTA::tetO-ChR2 マウス）を利用した。線条体に光ファイバー，淡蒼球内節あるいは黒質網様部に記録電極を刺入し，線条体－黒質投射ニューロンの興奮を誘導した時の応答を記録した。淡蒼球内節，黒質網様部では抑制－興奮あるいは抑制という一過性の応答が認められた。この淡蒼球内節，黒質網様部で認められた抑制は線条体－黒質投射ニューロンによる抑制であると考えられるが，遅い興奮は淡蒼球外節に投射する線条体－黒質投射ニューロンの側枝を介する応答であるのか，黒質網様部の抑制に対するリバウンドなのかを，今後検討する必要がある。

ジストニア様症状を示す突然変異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

理研 BRC の吉木先生らのグループが発見した突然変異マウス（dt-23Rbrc）は上肢の捻転，下肢の伸展，歩行時の体幹捻転などが認められ，ジストニア様の表現型を示す。このマウスの突然変異は，第 1 染色体の Dystonin (Dst)遺伝子の近傍にあることが分かっている。そこで，このマウスの筋電図を記録したところ，持続的な筋収縮が認められたり，伸筋と屈筋が同時に収縮するといった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。dt-23Rbrc 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。

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，off では大脳皮質運動野を電気刺激したときの黒質網様部における遅い抑制が減弱しており，さらに on では大脳皮質由来の抑制が増強していた。黒質網様部における抑制は運動を惹起し，遅い興奮は運動をストップさせるのに役立っていることを考えると，ジスキネジアは不必要な運動が不必要な時間に惹起され，さらにそれらがストップできない状態だと考えられる。

マーモセットの運動関連大脳皮質の大脳皮質間，皮質－皮質下間の解剖学的結合

近藤秀樹，畑中伸彦，南部 篤

これまでマカクサルにおいて，大脳皮質－大脳基底核－視床－大脳皮質ループ回路における運動関連領野ごとの神経連絡は基本的に分離していることが示されてきたが，マーモセットにおいては，その詳細は不明であった。そこで，無麻酔と鎮静下の条件で，マーモセットの補足運動野と一次運動野での体部位局在を電気刺激と神経活動記録によってマッピングした後，体部位の同定された部位にアデノ随伴ウイルス(AAV), BDA, FB, FR などの順行性，逆行性のトレーサーを注入し，大脳皮質，大脳基底核，視床における標識された軸索終末や標識細胞の分布を調べた。その結果，以下のことが明らかとなった。補足運動野の前肢の領域は，運動前野，一次運動野，帯状回，背内側前頭前野，頭頂葉などと結合している。さらに，補足運動野は，大脳基底核の被殻と尾状核に両側性に投射し，一次運動野からの投射よりも被殻のより内側部に投射する。補足運動野から視床下核への投射も一次運動野からの投射に比べて視床下核のより内側部に投射する。一方，補足運動野や一次運動野と視床との結合は同側のみに見られる。マーモセットにおいてもマカクサルに近い体部位局在のマッピングが得られ，マーモセットの大脳皮質や皮質下の解剖学的結合を調べるトレーサーとして AAV が使用できる。

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門

【概要】

体の様々な器官を形作る上皮に共通する重要な機能として，二つの空間を隔てるバリアとしてはたらきながら選択的な物質輸送を行うことがあげられる。上皮を横切る物質輸送は，細胞膜上の輸送タンパク質と細胞質を介する経細胞輸送と細胞間隙を介する傍細胞輸送に分けられる。このうち受動輸送である傍細胞輸送の特性は，各器官の生理機能に応じて多様であり，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。当研究部門は，傍細胞輸送と上皮バリア機能を制御する細胞間接着装置に着目し，その構成分子・制御分子の同定と機能解析を通じて，これらの上皮機能を制御する分子メカニズムの解明を目指している。主な研究対象は，タイトジャンクション（密着結合）と，その特殊な形態として３つの上皮細胞の角が接する部分に形成されるトリセルラータイトジャンクションで，これらの構成分子の機能を培養上皮細胞，遺伝子改変マウスを用いて解析している。また，腸管バリア機能を担う細胞間接着装置のモデルとして，ショウジョウバエのセプテートジャンクションの分子構築の解明と機能解析も進めている。2015 年 4 月に泉准教授と菅原特任助教が，10 月に大谷助教が着任し，新しい研究をスタートさせた。

ゲノム編集技術によるタイトジャンクション裏打ちタンパク質の機能解析

大谷哲久，古瀬幹夫

タイトジャンクション（TJ）は上皮細胞の細胞間隙においてバリアとして働く細胞間接着構造である。TJ が上皮細胞の頂端部と側基底部の境界部に位置することから，TJ が細胞膜内の膜タンパク質・脂質の拡散を制限することにより上皮細胞の極性を維持すると考えられてきた。しかし，最近になって TJ の形成を阻害しても上皮細胞の極性は影響を受けないことが報告され，TJ が上皮細胞の極性の形成・維持において果たす役割については未だ議論がある。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 TJ の裏打ちタンパク質である ZO-1 と ZO-2 遺伝子を TALEN によるゲノム編集を用いて破壊した細胞株を樹立することに成功した。この細胞においては TJ の形成不全が認められ，上皮バリアが破綻していた。また，この細胞においては上皮極性の異常が認められたことから，MDCK 細胞においては ZO-1，ZO-2 が TJ 形成に上皮極性の形成・維持に必要であることが明らかになった。

トリセルラータイトジャンクションの膜タンパク質アンギュリンファミリーの機能解析

菅原太一，古瀬幹夫

上皮シートにおける上皮細胞同士の隙間には，2 細胞間の隙間に加えて 3 つの細胞が接する狭い領域の隙間があり，これらを塞ぐ細胞間接着装置として前者にはタイトジャンクション（TJ），後者には TJ の特殊な形態であるトリセルラータイトジャンクション(tTJ)が存在する。tTJ を構成する膜タンパク質として我々が同定したアンギュリン-1/LSR の機能を明らかにするために，マウス乳腺由来上皮細胞株 EpH4 を用いて，ゲノム編集技術であ

る CRISPR/Cas9 システムによりアンギュリン-1/LSR 遺伝子破壊細胞を樹立した。この細胞を詳細に観察したところ，2 細胞間の TJ のクローディンの量が蛍光抗体染色レベルで増加していることが明らかになった。このことから，tTJ 構成分子であるアンギュリン-1/LSR が TJ 形成の制御に関与することが示唆された。

ショウジョウバエの腸管バリア機能を規定する細胞間接着装置の分子構築

泉　裕士，古瀬幹夫

スムースセプテートジャンクション (sSJ)は節足動物の内胚葉上皮における細胞間隙の透過障壁としてはたらく細胞間接着装置であり，その構成分子として我々が同定した 2 種の膜タンパク質 Ssk, Mesh が知られている。今回，sSJ 形成に関わる分子の同定を目的として，Mesh の局在異常を指標としたショウジョウバエの遺伝学的スクリーニングを行った。その結果，新規 sSJ 構成分子として膜タンパク質テトラスパニンファミリーに属する Tsp2A を同定した。Tsp2A 変異系統では，Mesh，Ssk の局在異常，sSJ の形成異常，腸管バリア機能の破綻が認められた。さらに，Tsp2A は Ssk，Mesh と複合体を形成し，その sSJ への局在は Ssk，Mesh に依存していることが分かった。これらの結果より，Tsp2A は Mesh，Ssk と協調して sSJ 形成を制御していることが明らかになった。

Vangl2 と N カドヘリンの相互作用が二分脊椎の発生に果たす役割

永岡唯宏，古瀬幹夫，岸　将史

二分脊椎は，先天的な神経管閉鎖障害であり，顕在性二分脊椎は難病に指定されている。二分脊椎の発生は，平面内細胞極性の異常が主要な原因の一つとして知られるが，その機序は不明である。我々は，これまでに神経シナプスにおいて平面内細胞極性因子 Vangl2 が細胞接着分子 N カドヘリンと結合することを見出し，Vangl2 が N カドヘリンのエンドサイトーシスを促進させることを示した。N カドヘリンは神経管に豊富に発現しており，この相互作用の異常が二分脊椎の発生に関与するか調べることは，意義のあることだと考えられる。そこで，自然発生の Vangl2 変異（Lpt）及び，Cdh2 （N カドヘリン）のダブルヘテロ接合体マウス（$Vangl2^{Lpt/+}$;$Cdh2^{+/-}$）胎児の脊椎を観察した結果，二分脊椎様の，神経管下部の閉鎖不全が認められ，Vangl2 と Cdh2 の遺伝学的相互作用が二分脊椎の発生に関与することが示唆された。

MDCKII 細胞におけるチャネル型クローディン・クローディン 2 の不活化

徳田深作（神戸大学大学院医学研究科），古瀬幹夫

典型的な上皮細胞株として汎用されているイヌ腎臓由来 MDCKII 細胞は，発達したタイトジャンクションを持つ一方で細胞シートの電気抵抗が低く，生理学的にはリーキー上皮とみなされる。その要因と考えられるチャネル様クローディンであるクローディン 2 の遺伝子をゲノム編集技術の TALEN 法により破壊した MDCK II 細胞を樹立したところ，細胞シートの電気抵抗が約 50 倍増加した。このことから，MDCK II 細胞がもつリーキー上皮の性質のほぼ全てがクローディン 2 に起因することが明らかになった。さらに，MDCK II 細胞とクローディン

2 欠失細胞の共培養実験から，クローディン 2 が細胞境界に局在するには，隣り合う両細胞にクローディン 2 の発現が必要であった。このことは，MDCK II 細胞においてクローディン 2 がホモに集積することを意味し，クローディン 2 が形成するチャネルの構造に関して重要な示唆が得られた。

静水圧による培養上皮細胞の重層化

徳田深作（京都大学大学院医学研究科），古瀬幹夫

様々な細胞外環境変化に対する上皮の応答機構を研究する目的で，フィルター上に培養した上皮細胞株をモデルとして上皮を挟む静水圧差の影響を調べた。十分な極性と細胞間接着を有するイヌ腎臓由来 MDCK I 細胞とヒト結腸ガン由来 Caco-2 細胞に側底側から 0.6 cm Hg の静水圧をかけたところ，予想外の効果として両細胞株において上皮細胞が重層化することを見出した。MDCKI 細胞の重層化は細胞死の抑制に起因すること，細胞層内に閉じた管腔構造が形成されることがわかった。さらに，プロテインキナーゼ A の活性がこの重層化に負に作用することが明らかになった。本現象の生理的意義はまだ明らかでないが，上皮が静水圧差に応答する何らかの仕組みが示唆される。

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，多様な錐体細胞の発生系譜，それらの錐体細胞サブタイプへの抑制作用や発火時系列，運動学習と皮質ガンマ振動の関係，皮質から興奮性入力を受ける線条体細胞のシナプス入力様式を調べた。

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

本研究では，発生学的視点から興奮性神経細胞の基本タイプの分類を試みている。これまでに神経細胞は分化直後から内側・外側の 2 つの出力様式細胞に二分されること，これらは順次生まれてくることを明らかにした。昨年度からはこれらが幹細胞からどのように生じるか，細胞系譜との関連を解析している。本年度は，このうち特に，幹細胞から増殖性神経前駆細胞を介して分化する細胞との関連を調べた。神経分化関係の遺伝子プロモー

ター下にCreERT2を導入したマウス（G2A-CreERT2: 遺伝研平田先生より供与）と，Cre 依存的相同染色体間組換えでレポーターを発現するマウスを交配し，薬剤投与によって時期特異的に増殖性細胞を標識した。その結果，少なくとも皮質深層において，神経前駆細胞は，初期出力様式が相同で，同じ層に分布するペアを産生することが示唆された。

前頭皮質５層抑制性細胞から錐体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。新皮質 GABA 細胞がこれらの 2 種類の錐体細胞に対してどのような結合及び伝達特性をもっているのかは不明である。そこで，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，抑制性結合様式と伝達特性を解析した。LTS 細胞は，錐体細胞サブタイプによって抑制性結合確率に違いがあったが，シナプス強度及び，短期可塑的変化については差がなかった。一方，FS 細胞ではサブタイプ依存性は見られなかった。これらのことから，LTS 細胞は，錐体細胞サブタイプに対して選択的に結合することを明らかとした。

前頭皮質 Up 状態における細胞種依存的発火時系列

牛丸弥香，川口泰雄

新皮質ニューロンは睡眠時や麻酔下では Up 状態と呼ばれる脱分極が周期的に起きており，覚醒時におけるニューロン発火順が再現されるのではないかと考えられている。新皮質の錐体細胞・GABA 細胞ともに軸索投射・シナプス結合様式が異なる多様なサブタイプからできている。しかし，Up 内での発火様式がサブタイプによって異なるのかや，その時系列が局所回路の違いを反映しているかどうかはわかっていない。今回，前頭皮質の主要な錐体細胞サブタイプである橋核投射細胞と対側線条体投射細胞，主要な GABA 細胞である FS 細胞の Up での発火様式を，異なる層（3 層，5a 層，5b 層）で比較した。Up 内における発火時期選択性がサブタイプ間で大きく違うだけでなく，同じサブタイプであっても層によって異なることが分かった。この発火順の違いには，これまでに明らかにしてきた局所興奮性結合特性が反映されている可能性が考えられた。

大脳皮質における運動学習の形成機構

大塚　岳，川口泰雄

大脳皮質運動野における運動学習の形成機構について，神経活動の光操作と行動解析を用いて検討した。回転カゴを用いた強制運動において，回転カゴの足場バーの間隔を変え，バー間隔のパタン学習をラットに行わせた。足場バーからの脱落回数は，トライアルごとに減少を示しパタン学習の形成がみられた。そこで，子宮内電気穿孔法を用いて皮質運動野の 2/3 層錐体細胞群にチャネルロドプシンを発現させ，一次運動野の活動を運動学

習中に光操作し，学習形成過程における影響について検討した。皮質回路においてオシレーション活動（ガンマ波）を誘発することができるランプ形の光刺激を運動学習中に行った結果，光刺激を行った動物では脱落回数のトライアル間の減少速度が速くなり運動学習が促進されることがわかった。これらの結果は，皮質運動野におけるオシレーション活動が運動学習の形成に関与していることを示唆する。

線条体中型有棘細胞の抑制性シナプスを受ける棘突起の分布

窪田芳之，畑田小百合，北　啓子，江川尚美，川口泰雄

線条体の中型有棘細胞への GABA 陽性と GABA 陰性のシナプス入力を定量的に解析した。ラット脳を灌流固定した後，線条体の連続超薄切片を ATUMtome で作成し，GABA postembedding 免疫反応処理を施した。樹脂をエッチングして GABA 抗原を露出させるため，0.1%濃度の Triton X-100 を入れた緩衝液に抗 GABA 抗体を混ぜた第 1 抗体溶液で処理した後，15 nm colloidal gold ラベル第 2 抗体溶液で反応させた。その結果，良好な GABA 免疫染色を伴う組織像を観察する事ができた。観察したシナプスのおよそ 1 割が GABA 陽性シナプスであった。また，そのうちの 4 割が棘突起に，6 割が樹状突起にシナプスを形成していた。また，その棘突起には，GABA 陰性でおそらく興奮性と思われるシナプス入力がある二重神経支配を受ける棘突起である事を確認した。

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。特に，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，さらに 7 テスラ MR による超高解像度画像と組合せることにより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することを目標とする。

7 テスラ MR による高度脳計測基盤技術の開発

福永雅喜，菅原　翔，定藤規弘

MRI による生体観察において，静磁場強度の上昇は，信号雑音比（SNR）に加え，磁気共鳴の物理パラメータである共鳴周波数の上昇をもたらし，MR 信号の位相分散や周波数シフトが顕著となる。超高磁場 MR にみられるこれらの特性は，感度改善による空間分解能の向上や組織コントラストの増強に作用する。本研究ではこれらをふまえ，平成 27 年春に稼働を開始した超高磁場 7 テスラ MR 装置の初期検討を実施した。T1 強調画像では，サブミリメーターオーダー（0.75 mm 等方ボクセル）の形態画像を，10 分以内の計測時間にて収集可能となり，単独の計測にて海馬の微細形状が確認された。また，T2* 緩和時間の短縮によって BOLD 効果の感度改善が得られ，fMRI や静脈描出能の上昇がみられた。引き続き，計測系の最適化を進めると共に，脳微細構造・機能連関研究への応用を推進する予定である。

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。注意や感情のほか，抑制機能や実行機能等に関連を持つ大脳皮質下領域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，強調運動や報酬系との関連，前頭葉との回路が報告されており，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。本研究成果は，Molecular Psychiatry 誌に掲載された。

触覚による素材知覚の神経基盤

北田　亮，Rajaei Nader（名古屋大学），青木直哉，高橋陽香，宮岡　徹（静岡理工科大学）
大岡昌博（名古屋大学），楊　家家（岡山大学），河内山隆紀（ATR-Promotions）
于　英花（岡山大学）牧田　快（広島大学），荒木雄太，呉　景龍（岡山大学），定藤規弘

人は手で物体に触れたとき，素材や形状など多様な物体の属性を知覚することができる。しかし属性の抽出に関する神経基盤には不明な点が多い。本年度は素材属性に関わる 2 つの実験データを解析した。最初の実験では，指に呈示した点状パターンの周期性に関わる神経基盤を描出した。点状パターンの周期性に応じて一次体性感覚野・後頭頂葉が賦活したが，これらの領域の活動は表面を異なる速度で呈示しても変化しなかった。次の実験ではベルベット錯覚を用いて，2 本のワイヤからベルベット状の素材を知覚する際の神経基盤を描出した。錯覚経験時の活動は，一次体性感覚野に観察され，その活動は本物のベルベットに触れたときの活動と重複した。従来の脳機能イメージング研究では，二次体性感覚野や島部が主に素材属性の抽出に関わるとされてきたが，本研究は一次体性感覚野も素材属性の抽出とその意識的な知覚に関わることを示唆している。

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 誌に採択された。

特徴に向けられる注意共有の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究

小池耕彦，田邊宏樹（名古屋大学大学院・環境学研究科）
吉岡　歩（名古屋大学大学院・環境学研究科），定藤規弘

共同注意とは，ある位置に存在する物体に対して一人が視線を向け，パートナーが追従し，最終的に物体上で空間位置に対する視覚的注意が共有される過程である。しかし，視覚的注意とは空間位置だけではなく，視覚的特徴に対しても向けられうる。本研究では，共同注意の神経基盤が空間的注意に特異的なのか，または注意共有全般に寄与するのかを検討した。二者には複数の視覚的特徴の組み合わせが呈示された。被験者は特徴の中から一つを選んで注意を向け，どの特徴に注意を向けたかをパートナーに口頭で伝える。パートナーはその特徴に注意を向け，そのことを相手に伝達する。これにより二者は，視覚特徴の上で，注意共有をおこなう。共同注意課題において重要な役割を果たすとされる島皮質や下前頭回は，特徴的注意を共有した場合も，高い脳活動を示した。このことは，これらの領域が，他者と情報を共有する過程全般に寄与している可能性を示唆する。

リアルタイムでのアイコンタクトの神経基盤：Dual fMRI を用いた研究

小池耕彦，中川恵理，角谷基文，岡崎俊太郎，定藤規弘

アイコンタクトとは相互に目をみつめあう行為である。このようなリアルタイム相互作用では，自他の行動が影響を与え合い二者を繋ぐ。我々は，リアルタイムでのアイコンタクトを調べる事により，自他の行動を繋ぐ働きを持つ神経基盤を検討した。2 名の被験者は，dual-fMRI 装置に入り，ビデオコミュニケーション装置を介してアイコンタクトをおこなった（オンライン）。また映像遅延装置を利用することで，相互作用が存在し得ないオフライン条件のアイコンタクトもおこなった。参加者は条件の違いに全く気が付かなかったにも関わらず，オンライン条件時には，瞬目のタイミングが相手のそれに影響を受けていた。また小脳半球および前補足運動野の脳活動が，オンライン時に高かった。加えて前補足運動野から前部島皮質への機能的結合が，オンライン時に増強されていた。 これらの領域が，無意識に二者を繋ぐ役割を果たすことが示唆される。

アイコンタクト中の瞬目への過剰同期：自閉症者における検討

高橋陽香，小池耕彦，岡崎俊太郎，定藤規弘

瞬目は，視覚的注意の区切りを表す。これまでに我々は，定型発達者が対面で共同注意課題をおこなっている最中のアイコンタクト時に，二者の瞬目の時間的パタンに強い同期が見られる，すなわち相手から大きな影響を受けることを明らかにした。本研究では，自閉症者について，共同注意中のアイコンタクト時の瞬目パタンを検討した。共同注意時に比較してアイコンタクト中には，相手の行動に合わせる必要性は相対的に低いにもかかわらず，自閉症者が定形発達者の瞬目から受ける影響量（NCR；ノイズ寄与率）は，定形発達者のそれと比べて

有意に高く，かつ共同注意中の NCR よりも高かった。加えて，自閉症者の NCR は，課題の切り替え能力に関連するとされる WAIS 知能検査における言語性知能スコアと，強い相関を示した。この結果は，自閉症者は課題に対応した機能の切り替えに困難を抱えており，相手の行動に過剰に引きこまれている可能性を示唆する。

共同注意の神経基盤の解明：Dual fMRI を用いた研究

小池耕彦，田邊宏樹（名古屋大学大学院・環境学研究科），定藤規弘

共同注意とは，視線を介したコミュニケーションであり，ある空間位置に存在する物体に対して一人が視線を向け，パートナーが追従し，最終的に物体上で視覚的注意を共有する。共同注意は，それを開始し相手を先導する IJA，相手の視線についていく RJA という 2 つの役割を，二者が交互に担うことにより成り立っている。IJA と RJA の能力は発達の異なる段階において現れることから，それらは異なる神経基盤を持っていることが予想される。本研究では RJA と IJA に特異的な神経基盤を明らかにすること，また IJA で自分の意思で共有する物体を選択することに関連する領域を解明することを試みた。解析の結果，前部島皮質において RJA と IJA に特異的な領域が重なりあうとともに，その重複領域は IJA を開始する意図に関わっていることが明らかになった。これらの結果は，前部島皮質が，RJA と IJA に関連した神経基盤を繋ぎ切り替えるハブとなっている可能性を示す。

体動の無意識な同期を引き起こす２つのメカニズムの定量的分析

岡崎俊太郎，小池耕彦，吉本隆明，定藤規弘

社会的状況において，人間の行動はしばしば同期する。同期のメカニズムとして，二者間の感覚運動システムの相互作用と環境からの共通感覚入力の２つが考えられているが，これらを定量的に分析するための方法論的枠組みは不十分だった。本研究では，対面で見つめ合う被験者ペア（38 名 19 組）と，個別に同一の運転風景動画を観察した被験者ペア（18 名 9 組）の立位体動を重心動揺計で計測した。相互相関解析では，どちらの条件においても有意な同期（時間遅れ 0 での相互相関値）が観測された。しかし，多変量自己回帰モデルによる分析では，ペア間の因果的影響量は見つめ合い条件のみで有意に大きく，システムへの共通入力と関連するノイズ項の共分散値は運転風景動画観察群のみで有意に大きかった。

これらの結果から，多変量自己回帰モデルなどの時系列分析によって，社会的同期現象の２つのメカニズムが分離できる可能性が示唆された。

系列運動技能の定着における宣言的記憶システムの関与

菅原　翔，濱野友希，定藤規弘

海馬は宣言的記憶の重要な神経基盤であるが，運動技能学習でも近年注目されている。宣言的記憶は睡眠中の海馬再活動により定着すると考えられており，特定の運動技能も睡眠により定着することが知られている。しかし，海馬の活動と運動技能定着の関係は明らかになっていない。我々は睡眠中に起こる海馬再活動を練習中に意図的に起こすことで，技能定着による成績上昇が先取りされると予想した。参加者を最大速度で系列運動技能を

学習する統制群と，それに加えてゆっくり技能を再生する定速条件を再活動手続きとして組み合わせた実験群に割り付け，学習と翌日のテスト時に fMRI 計測を行った。練習終了時の技能成績は実験群でより高く，海馬の活動も大きかった。一方，テスト時には統制群でのみ有意な成績上昇が見られ，海馬活動の上昇も統制群でより大きかった。これらの結果は，海馬の再活動と運動技能定着が関連することを示唆している。

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
河内山隆紀（㈱ATR-Promotions），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の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。この結果は，脳の内側部は他者の感情を推測するときに重要な役割を持つことを示している。本研究成果は「脳で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り，Neuroscience Research 誌に採択された。

手指の系列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，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。これまで機能的 MRI を用いて，早期の運動技能学習において一次運動野・線条体・小脳といった皮質および皮質下領域での神経活動変化が，学習に伴う動作特性変化とは無関係に起こることを明らかにした。これらの領域が学習に果たす役割をより明瞭にするため，本年度はさらに神経回路変化に着目した解析を実施した。結果として，背側運動前野と頭頂葉の神経回路における中心性（Centrality）が運動学習に伴い増大することが明らかとなった。さらに，一次運動野から運動前野および頭頂葉への機能的結合が学習進展とともに上昇していた一方，線条体と小脳からの機能的結合に大きな変化を認められなかった。以上の結果から，皮質下領域は学習自体に関与しているが，学習した技能の記憶保持は一次運動野と運動前野および頭頂葉を含む皮質回路で担われていることが明らかとなった。

学習時の口頭復唱による外国語単語の定着促進

青木直哉，菅原　翔，Masako Hirotani（Carleton University），岡崎俊太郎，山崎英明，吉本隆明
吉田晴世（大阪教育大学），横川博一（神戸大学），定藤規弘

外国語単語の定着への学習時の口頭復唱と学習後の睡眠の効果を検討するため，55 名の日本語話者に英語の無意味音声と無意味図形を単語として連合する学習を課し，12 時間後に再テストを施行した。1）聞いた音声を復唱する，2）音声を二度聞く，3）無関係な数列を復唱するという 3 つの条件で，参加者は単語を学習した。

さらに，睡眠の効果を検証するため，参加者を学習後に寝る群と寝ない群に分けた。結果として，音声を復唱して覚えた単語は，他の条件で学習した単語より，再テスト時によく保持されていた。また，学習後に寝た群は寝なかった群より単語の保持率が高かった。以上の結果から，学習時の口頭復唱および学習後の睡眠は外国語単語の定着を促進すると結論づけた。一方，口頭復唱の効果が睡眠と関係しないため，外国語単語の定着は睡眠に依存しない過程を含むことが示唆される。これらの効果を支える神経基盤を fMRI を用いて現在検討している。

社会的随伴性に関する神経基盤

角谷基文，小池耕彦，岡崎俊太郎，北田　亮，定藤規弘

社会的随伴性，すなわち自己の行動に対する相手の反応は，社会的コミュニケーションの重要な要素である。線条体を含む報酬系は社会的随伴性の処理を行うことで，行動の選好形成に関与すると考えられるが，その機序には不明な点が多い。本研究では，参加者と他者が冗談で聞き手を笑わせる実験を行った。内側前頭前野は，自分の冗談に対する聞き手の反応に強く活動し，聴覚野は聞き手の肯定的な反応に対し強く活動した。腹側線条体は，自分の冗談に随伴する肯定的な反応に対し特異的に活動した。内側前頭前野の活動は聴覚野と腹側線条体の機能的結合を変化させた。聴覚野から腹側線条体への入力により，感覚情報は報酬価値に変換されると考えられるが，本研究の結果は自己の行動を表象する内側前頭前野がその入力の制御に関わることを示している。

ヒトの満腹時の甘味に対する選好性の神経学的検討

吉本隆明，岡崎俊太郎，近添淳一，角谷基文，高橋晴香，中川恵理，小池耕彦，北田　亮，岡本士穀
矢田俊彦（自治医科大学），小阪浩隆（福井大学），定藤規弘

ヒトは，代謝的需要を満たすためだけでなく，満腹時にデザートを食べるような快楽性の食行動を示すことが知られている。満腹時に比べて空腹時において，高カロリー食品の報酬価値が上がり，脳内報酬系の神経活動が活発となることが報告されている。一方で，快楽性の食行動については不明な点が多い。

24 名の健常かつ正常体重の男性被験者に対し，主食類もしくはデザート類の食品の写真を提示し，食品の食べたさを評定させ, fMRI の撮像により脳活動を計測した。その結果，空腹・満腹の状態と食事写真の刺激の主食・デザートのカテゴリーの間に交互作用を認め，満腹時の主食に対してのデザート類への選好が示された。また脳活動について，脳内報酬系の中心領域である前頭眼窩皮質の活動が行動実験と同様の交互作用を示した。前頭眼窩皮質の，快楽性の食品の報酬処理への関与が示された。

両側弁蓋部への経頭蓋直流電気刺激が痛み関連脳磁場に与える影響

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）

本研究は両側弁蓋部への経頭蓋直流電気刺激（transcranial direct current stimulation, tDCS）が痛み関連脳磁場に与える影響を健常成人 12 名で検討した。実験は，被験者盲検，偽刺激対照，クロスオーバー比較デザインを用いた。被験者は 3 種類の tDCS 条件（左弁蓋部陽極刺激と右弁蓋部陰極刺激（LA/RC），左弁蓋部陰極

刺激と右弁蓋部陽極刺激（LC/RA），偽刺激）全てに参加した。LA/RC と LC/RA 条件は刺激強度 2mA で 12 分間刺激し，偽刺激条件は最初の 15 秒間のみ刺激した。tDCS 前後で表皮内電気刺激によって誘発される両側弁蓋部領域の脳磁場を計測した。結果，LA/RC と LC/RA 条件は両側弁蓋部の脳磁場強度が有意に減少し($p<0.05$)，偽刺激は変化を認めなかった。この結果は，疼痛抑制を目的とした tDCS の刺激領域として両側弁蓋部が有用となる可能性を示唆した。

Does joint attention help adults learn new words?

Masako Hirotani[1,2], Koji Shimada[2,3,4,5], Shuntaro Okazaki[2], Hiroki C. Tanabe[2,3,6], Norihiro Sadato[1,2,4]
([1]Carleton University, Ottawa, Canada,
[2]National Institute for Physiological Sciences (NIPS), Aichi, Japan,
[3]Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies (Sokendai), Aichi, Japan,
[4]Research Center for Child Mental Development, University of Fukui, Fukui, Japan,
[5]Biomedical Imaging Research Center (BIRC), University of Fukui, Fukui, Japan,
[6]Nagoya University, Nagoya, Japan)

It is well known that social context helps infant word learning. However, data concerning adults are scarce. This study investigated the extent to which eye-gaze parameters associated with joint attention helped adults learn new words. Paired participants learned new words in four social contexts. After each learning session, their mastery of new words was tested. This process was repeated five times. An earlier test session revealed that learners' word mastery was best when their attention towards the target objects was elevated by multiple eye-gaze parameters shared between them. An additional learning effect was also found at later test sessions, suggesting that an eye-gaze driven context in which learners followed their partners' eye-gaze towards the target objects was as effective as the context mentioned above. The eye-gaze driven context likely helped learners allocate their cognitive resources to word learning. This study demonstrated the significance of joint attention in adult word learning.

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門

【概要】

平成２７年の１０月１日より，伊佐が京都大学大学院医学研究科・高次脳科学講座・神経生物学分野に異動になり，生理学研究所は兼任となった。実際には研究室スペースの改修工事が必要で，研究室の引っ越しは平成２８年の６－７月になることが見込まれた。従って伊佐は京都大学と生理学研究所の間を行き来して，京都大学での業務をこなしつつ，研究室の改修工事を進めたが，生理研の研究室の活動はこれまでと変わらず継続させた。

主な研究成果としては，京都大学医学研究科からの受託大学院生であった澤田真寛氏が中心として行った脊髄損傷からの回復過程において，側坐核が運動野を活性化することで機能回復に寄与することを示した論文が Science 誌に発表された。また，名古屋市立大学医学部の飛田秀樹教授，石田章真助教との共同研究で，ラットにおいて脳出血後の麻痺肢強制使用による機能回復が，皮質運動野から赤核への経路への投射線維の増加によって引き起こされることをウィルスベクター２重感染法による経路選択的機能遮断法を駆使して証明した論文が Journal of Neuroscience 誌に発表された。多くの注目を浴び，主要全国紙を含め全国４７紙と１テレビ局で報道された。

西村幸男准教授が日本学術振興会賞を受賞した。伊佐が年度末（３月）に札幌で開催された第 93 回日本生理学会大会で特別講演を行った。また，高桑徳宏が同学会での大学院生ポスター発表賞を受賞した。

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，辰本将司，石橋みなか（新分野創成センター）
渡我部昭哉，山森哲雄，下郡智美（理化学研究所脳科学総合研究センター）
大石高生（京都大学霊長類研究所），豊田　敦，藤山秋佐夫（国立遺伝学研究所）
久島　周，尾崎紀夫（名古屋大学医学研究科），柿田明美，那波宏之（新潟大学脳研究所）
重信秀治（基礎生物学研究所），磯田昌岐（関西医科大学），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，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】二頭のニホンザルで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および視覚障害は見受けられなかった。無視症状の定量的評価のため，ヒト半側空間無視患者でのテストに用いられる線分抹消課題を参考にして「標的選択課題」を作成した。損傷後にこの課題の成績の低下，応答潜時の延長が見られたことから，無視症状が起きていることが確認できた。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。

統合失調症患者の静止画自由視時の視線計測データのサリエンシー計算論モデルによる解析

吉田正俊
三浦健一郎（京都大学大学院医学系研究科認知行動脳科学）
橋本亮太（大阪大学大学院医学系研究科精神医学）

統合失調症の中間表現型を探索するために本研究グループは以前，静止画像を自由視しているときの視線計測を行い，統合失調症患者では年齢などをマッチさせた統制群と比べて視線の移動距離が短くなっているなどの幾つかの点で眼球運動に違いが見られることを明らかにした (Miura et.al. 2014) 。ではこのような眼球運動の違いはなにから引き起こされるのだろうか？ 本研究では，自由視時に画像のどこに注意を向けるかが患者群と統制群とで異なっている可能性について検証した。著者が以前開発したサリエンシー計算論モデル(Yoshida et.al. 2012)によって，自由視時の視線位置を解析した。サリエンシー計算論モデルでは静止画像のうち輝度の違いや色の違いなどの低次の視覚属性によってどの位置が注意を惹くかを定量化する。視線位置のサリエンシーの大きさが各画像を 8 秒間見ている間にどのように時間変動するか計算し，患者群と統制群とで比較した。統制群では画像ごとに最初に視線を向けた位置のサリエンシーが最も高く，時間が経過するごとに視線位置のサリエンシーは低化していった。患者群でも同様な時間パターンは見られたが，全時間を通してサリエンシーは統制群よりもより高かった。以上のことは統合失調症では自由視時に画像のどこに注意を向けるかに影響を受けていることを示唆している。以上のことは「精神症状のサリエンシー異常仮説」とも整合的である。

刺激－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，石野誠也，伊佐　正

前頭前野の一部である眼窩前頭皮質(OFC)は，刺激－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－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，遺伝子改変マウスを用いた皮質層特異的なOFC抑制では，その効果が逆になるプレリミナリーデータを得た。

また，頭部固定のラットを用いて，条件刺激－反応行動－不確実な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を開始した。中脳細胞から記録したところ，不確実な報酬を予測する条件刺激に対して，確実な報酬を予測する条件刺激よりも強く反応する細胞を見出した。今後は新規に開発する遺伝子改変ラットと OFC 神経活動のタイミング特異的抑制と組み合わせて電気活動記録を行い，その神経回路機構の統合的理解を目指す。

「盲視」サルにおける両側LIP野の視覚誘導性サッケードへの寄与

加藤利佳子，吉田正俊，伊佐　正
林　拓也，河原正幸，尾上浩隆
（理化学研究所）

第一次視覚野(V1)を損傷すると，障害視野に提示された視覚刺激に対し‘見えた’という視覚意識が失われる。しかし，「その刺激の場所に目を向けてください。」と依頼すると‘見えない’にもかかわらず，目を向けることが可能な患者がいる。この乖離現象は「盲視」と呼ばれている。これまでの研究において，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，損傷前には lateral intraparietal area (LIP 野)においてサッケードと関連した活動は見られなかったが，損傷後には，両側の LIP 野で関連した活動が見られた。そこで，V1 損傷サルのLIP野より，サッケード課題遂行中に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野において，障害視野に提示された視覚刺激に対する視覚応答が観察された。また，その活動はサッケード開始まで持続していた。健常側のLIP野においては，障害視野への視覚刺激提示後，わずかながら活動の減少が見られた。次に，LIP野の視覚誘導性サッケードへの寄与を確認するために，ムシモル（$GABA_A$ 受容体アゴニスト）の微量注入実験を行った。結果，損傷側，健常側，どちらのLIP野の活動を抑制しても，障害視野への視覚誘導性サッケードにおいてパフォーマンスの低下が見られた。これらの結果から，V1 損傷後には，両側のLIP野が障害視野への視覚誘導性サッケードに寄与していることが示された。

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，細胞集団の神経活動のパタンから，上丘の視覚情報処理機構の解明にアプローチしてきた。本年度はさらに，サッカードと呼ばれる眼球運動の最中の神経活動をとらえるために，頭部固定下のマウスを覚醒下において記録するシステムの構築をおこなった。眼球運動の計測には，産業技術総合研究所の松田圭司博士の開発した iRecHS2 を利用した。頭部固定下のマウスの場合，無麻酔の状態であっても安静時には脳活動および運動が抑制されると考えられていることから，円盤状の回転式トレッドミルを作成し，マウスは歩行・走行様運動をおこなえるようにした。

また，サッカード誘発のための刺激についても検討をおこなった。動きのある縞や，物体が近づいたり遠ざかったりするようなサイズが継時的に変化する刺激を提示した。このような動きのある刺激を用いた場合，単に，静的な刺激を数秒提示するよりも，眼球運動および，歩行運動の頻度が高いことが観察された。今後はさらにイメージングも組み合わせることで，視覚刺激とそれによって誘発されるサッカードが上丘内でどのような空間的な活動パタンを示すのかについて明らかにしていく。

Saliency Map Computation in Superior Colliculus Simulations

Richard Veale, Tadashi Isa, Masatoshi Yoshida

The superior colliculus is a layerd midbrain structure that is responsible for visually guided orienting movements of the eyes and head. We have recently focused on using hybrid techniques such as differential evolution combined with Markov Chain Monte Carlo (DE-MCMC) to estimate the parameters of large-scale spiking neural circuit models of the superior colliculus based on electrophysiological data from horizontal slices of mouse superior colliculus. The experiments measured the responses of neurons at different distances from a point of electrical stimulation. The superficial layers of the colliculus showed Mexican-hat-like response, with net excitation locally around the point of electrical stimulation, and inhibition further away. The deeper layers showed a hill-like respone, with net excitation gradually falling of as one moved further from the locus of electrical stimulation. The next step is to use these simulations to understand the functional circuit properties of the superior colliculus. Towards this end, we have begun to input visual information (such as simple images) into the superior colliculus simulations to understand how the brain region responds to more complex stimuli. We are particularly interested in how different layers of the superior colliculus respond to inputs in different ways, due to recent evidence that the superior colliculus may implement something like a *saliency map* to guide visual attention to parts of the world that are perceptually conspicuous. Using our simulations of the superficial layer, we found that the superficial layers of the superior colliculus indeed act as as a soft winner-take-all filter on visual input, only sending excitatory output from the regions with the highest input density. In future studies, we will look at the corresponding respone of the deeper layers.

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

當山峰道，小林憲太，伊佐　正
木下正治（弘前大学），渡邉　大（京都大学）
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 4/5 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 4/5 頚髄で皮質脊髄路を損傷したサル 6 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[1]。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 4 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。これらにより PNs が皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復に因果律的に寄与することが示された。

1. Kinoshita et al. *Nature.* 2012;487(7406):235-8.

第一次視覚野損傷後における中脳ドーパミンニューロンへの視覚情報入力経路の解析

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などに分布するドーパミン(DA)ニューロンはあらかじめ予測していた報酬の価値と実際に得られた報酬の価値の差(報酬予測誤差)をコードしており，連合学習の成立に貢献していると考えられている。しかし，その報酬価値を予測させる感覚情報がどのような経路を介して DA ニューロンに伝達されているかはわかっていない。以前に我々の研究によって，第一次視覚野(V1)が損傷した後においても，中脳上丘を介する視覚情報を用いて連合学習が可能であることが分かった。そのため，連合学習課題を習得した片側 V1 を損傷したニホンザルから，課題遂行中に DA ニューロンの単一ユニット活動記録を行った。さらに上丘に muscimol を注入し，神経活動を抑制することで上丘経由の視覚情報の DA ニューロン応答への寄与について検証した。その結果，上丘を不活性化することにより，DA ニューロンは皮質盲視野に提示された視覚情報に応答することが出来なくなることが分かった。加えて，視覚刺激提示後に与えられる報酬に対する応答が大きくなった。これは，上丘抑制前では視覚情報を使用して後の報酬を予測できていたため報酬に対して応答がなかったが，上丘を抑制することで報酬の予測ができなくなり，予測していなかった報酬が得られたときのように DA ニューロンが応答したものだと考えられる。これらの結果から，第一次視覚野損傷後において，上丘を経由する視覚情報を使って DA ニューロンは報酬予測誤差情報を有する応答をすることが分かった。

一次体性感覚野における運動前活動が保持する情報の解析

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）
西原陽子，鈴木迪諒，山西ユミ，伊佐　正，西村幸男

一次体性感覚野（SI）は末梢からの感覚情報のボトムアップ的な検出に機能していると考えられてきた。一方，随意運動時には運動前より神経活動の上昇があることが知られている。この運動前の神経活動がどう生成され，どのような情報を有しているのかわかっていない。本研究では，SI の運動前活動の由来とコードする情報を明確にするために，デコーディングアルゴリズムを使用して SI 活動の情報表現について調べた。

我々は，2 匹のサルが上肢の到達把持運動を行っている時に，SI 及び一次運動野（MI）を含む皮質領域から多チャンネル皮質脳波を，求心性神経の活動を伝える後根神経節（DRG）より多数のニューロン活動を，11 の上肢筋肉より筋活動を，さらに上肢の運動軌跡を同時に記録した。SI も MI と同様に上肢到達運動に関連した high gamma 帯域の活動がみられ，デコーディングの結果，上肢関節角度情報を有していることがわかった。SI の high gamma 帯域の活動は運動開始前より上昇し，運動前の神経活動を反映していると考えられる。SI は，末梢神経と MI から入力を受けていると考えられるが，どのように SI 活動を形成しているか検討するため，MI と DRG ニューロンの活動から SI の活動を，スパース線形回帰分析を用いて計算した。その結果，多数の DRG ニューロン群の活動から運動開始後の SI の high gamma 帯域の活動は予測できたが，運動前活動は予測できなかった。生成モデルに MI の high gamma 帯域の活動を含めると，運動前活動も予測することができた。一方，MI の代わりに運動前野の high gamma 帯域の活動を用いると，運動前活動を予測できなかった。以上の結果は，SI の運動前活動は，末梢や運動前野からではなく，MI の活動から説明することができ，末梢神経からの体性感覚フィードバック信号の入力前に MI から入力を受けている事を示唆している。

次に，SI の運動前活動がどのような情報をコードしているか調べた。SI・MI の運動前活動から筋活動の大きさを線形回帰分析したところ，両領域の運動前活動から筋活動の大きさを推定する事ができた。このことは，SI には，運動開始前から MI から未来に起こる運動情報のコピーが入力されていることを示唆している。以上の結果から，SI では，体性感覚に関する事前情報をあらかじめ保持しており，末梢由来の感覚情報と比較する事ができるようになっていると考えられる。

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おり，モチベーションが運動の成果を左右することがスポーツやリハビリテーションの現場でも言われている。しかし，そのモチベーションと運動成果を繋ぐ神経科学的な根拠は不明な点が多い。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。中脳辺縁系を構成する腹側被蓋野は運動を制御する一次運動野に直接投射する経路を有していることが明らかとされているが，その経路の機能的役割は明らかとなっていない。これまで，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被蓋野を電気刺激すると一次運動野および筋活動が誘発される部位がある事を見出した。しかし，誘発された筋活動に一次運動野が関与しているかどうかに関しては不明であった。そこで，一次運動野を薬理学的に不活性化させた前後で，腹側被蓋野を電気刺激し，誘発される筋活動を記録した。その結果，一次運動野を不活性化すると誘発される筋活動が有意に減少することを明らかとした。このことは，モチベーションの生成に関与するとされる腹側被蓋野が一次運動野を活

性化し，さらに脊髄運動ニューロンを興奮させ，運動パフォーマンスを向上させうることを示唆し，モチベーションが運動パフォーマンスを制御する神経メカニズムの一端を明らかとした。

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[1,2,4]，西村幸男[1,2]
([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]京都大学 大学院 医学研究科 高次脳科学講座 神経生物学)

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 2 頭のサルにおいて，M1 の electrocorticogram (ECoG, monkeyC: 7ch, monkeyT: 8ch)，DRG からの多数の単一ニューロン活動同時記録（monkeyC: C6 から 12-16 units, monkeyT: C7-8 から 36 units），および上肢の 6 つ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，推定された筋活動の振幅に対する M1 と DRG の貢献度を求めた。

その結果，M1 と DRG からの筋活動推定結果は，いずれか一方の信号から推定した結果よりも高い推定精度を示した。また，到達把持運動遂行中において，M1 と DRG はそれぞれのどの時点で貢献しているか，筋肉の種類によってそれらの貢献度が変化す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と変化する筋活動の生成には 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も貢献していることが示唆された。

二丘傍核から上丘浅層へのコリン作動性投射の解剖学的研究

徳岡広太，伊佐　正

動物の視覚情報処理は，注意や覚醒レベルなどの内部状態による修飾を受ける。上丘浅層は，視覚的に顕著な刺激や，注意を誘引する物体の検出を担う中心的な構造である一方で，同じ中脳の二丘傍核から密なコリン作動性神経の投射を受ける。コリン作動性神経は，他の中枢神経の活動を修飾する役割があるため，二丘傍核は上丘浅層の視覚情報処理を調節する役割を担っていることが考えられる。しかし，そのような仮説に関する検証は生理学的，解剖学的解析のいずれにおいてもなされていない。そこで，まず，その解剖学的知見を得るために，二丘傍核から上丘浅層へのコリン作動性神経の投射パターンを調べた。二丘傍核コリン作動性神経を特異的に標識するために，コリン作動性神経特異的に遺伝子組み換え酵素 Cre を発現している ChAT-IRES-Cre ノックインマウスの右二丘傍核に，Cre 依存的に ChR2-EYFP を発現する AAV ベクターを注入した。注入約 3 週間後に灌流し，EYFP に対する免疫染色を行い，連続切片から二丘傍核コリン作動性神経の投射パターンを調べた。その結果，二丘傍核コリン作動性神経は，同側の上丘浅層，外側膝状体へ直接的に投射するものと，視索を通り，視交叉を介して，対側の上丘浅層，外側膝状体に投射するものが確認できた。次に，上丘浅層の各位置におけるコリン作動性の投射量の違いを調べるために，EYFP の発現量を画像解析により定量化した。その結果，二丘傍核

からの密なコリン作動性投射は，特定の視野空間，ここでは視野上方を表現する位置に集中していることがわかった。これらの結果から，二丘傍核コリン作動性神経は，主に特定の視野空間の上部に現れた物体の検出を調節する役割を持つことが示唆される。

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。この下肢麻痺の原因は損傷によって上位中枢からの下行性指令が，その損傷領域より下流にある神経回路網に伝達されないことにより生じる。本研究ではこれまでに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上肢筋－腰髄間の人工神経経路 (人工神経接続)によって，下肢麻痺を示す脊髄損傷患者でもその下肢の歩行運動を随意的に制御可能であるできることを示してきた。本年度は上肢筋－腰髄間の人工神経接続を異なる損傷レベルの患者へ適用し(4 名)，歩行機能の回復が可能な条件について検証した。

4 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。損傷レベルは胸髄が 2 名(1 名が完全損傷，1 名が不完全損傷)，腰髄が 2 名(完全損傷)であった。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。これらの被験者に対し人工神経接続による歩行トレーニングを数ヶ月にわたって繰り返し行い，そのトレーニング効果を検討した。

2 名の胸髄レベル損傷患者は繰り返しのトレーニングによって人工神経接続により生じる下肢歩行運動が増大した。一方で，2 名の腰髄レベル損傷患者はトレーニングによる歩行運動の増大は生じなかった。

これらの結果は上肢筋－腰髄間の人工神経接続の適応によるトレーニング効果を得られる条件として，損傷レベルが重要であることを示している。また，このことは歩行運動パターンを作り出す神経回路網が腰髄に存在することを示唆する。

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，特に各種グリア細胞の関与について検討を行っている。

2) 発達期や傷害後にダイナミックに変化する GABA 作動性回路の変化について，２つの観点から検討を加えている。一つは細胞内イオン環境の変化による GABA の興奮性から抑制性へのスイッチとその制御機構について細胞内 Cl イオンくみ出し分子 KCC2 の機能制御を中心に，神経栄養因子，環境／回路活動による制御を検討している。加えて，発達期における再編のメカニズムとして，シナプスレベルにおいて，GABA とグリシン間の伝達物質のスイッチングのメカニズムを観察している。

人事として，本年度中に堀内浩氏が研究員，春若航一路氏が総研大後期博士課程大学院生として参画した。また，和氣弘明准教授が神戸大学医学部システム生理学講座教授として転出した。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いたミクログリアによる大脳皮質神経回路再編機構の解析

和氣弘明，宮本愛喜子，加藤大輔，穐吉亮平，春若航一路，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週目に死滅させると大脳皮質体性感覚野第２・３層錐体細胞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。このミクログリアによるシナプス新生は未熟期に限定しておこり，成熟後の大脳皮質第４層から２・３層への入力の構築にかかわっていることが判明した。このミクログリアによるシナプス新生は未熟期に限定して起こることから，発達期における脳内免疫環境が成熟後の脳機能へ影響を与える可能性が示唆される。ミクログリアがシナプスに接触するとスパイン内カルシウムイオン濃度が上昇することが判明した。これにより接触される神経細胞活動の上昇を引き起こし，局所回路の同期活動を促進していることが分かった。これは覚醒下におけるシナプスとミクログリアの接触を観察するという非常に高度な技術により観察可能となった，今後は同期活動と運動学習の関連をミクログリアの除去を行ったマウスを用いて観察する予定である。

マウス大脳皮質薄切片法を用いて，パッチクランプ法を用いて，大脳皮質錐体細胞に脱分極刺激を与え，けいれん様の過剰興奮を与えると，同細胞の軸索が膨張する。膨張すると，しばしば細胞の異常な脱分極が観察される。膨張した部位にミクログリアの突起の集積が観察され，その後膜電位は静止膜状態に回復する。これは膨張部位から ATP 放出がミクログリアを誘引する。ミクログリアの集積を薬理学的に阻害すると脱分極は持続し細胞死が促進された。この結果から，ミクログリアは癲癇などの過剰興奮による細胞死から保護している可能性が示唆される。

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），戸田拓弥，中村佳代，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。$GABA_A$ 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化の可能なマウスを作成した。

現在，運動神経細胞の軸索損傷後に同細胞における KCC2 発現が低下する機能的な意義について，同細胞に KCC2 を強制発現させたマウスの運動機能回復について，軸索再生や脊髄前角内の回路機能回復について検討を行っている。また，KCC2 過剰発現マウスの運動学習について，大脳皮質運動野のシナプス再編と対応させて観察している。

伝達物質のスイッチングのメカニズム細胞応答

中畑義久，鍋倉淳一

ラットおよびマウス聴覚中継路核である外側上オリーブ核に内側台形体核から入力する伝達物質自体が未熟期の GABA から成熟期のグリシンに単一終末部内で発達変化する。この伝達物質のスイッチングは脊髄など他の中枢神経系の部位でも報告されているが，単一神経終末部から GABA とグリシンのどちらが放出されるかなど，その制御機構は十分には明らかになっていない。本研究課題では，脊髄および海馬の培養ニューロンを用いて，GABA およびグリシンを放出する機構を解明することを目的としている。神経回路活動が上昇すると，共放出シナプスにおける GABA 放出量が増加するが，グリシン放出は減少することが明らかとなり，両伝達物質の放出が神経回路活動に依存して変化することが示唆された。

どちらの伝達物質がシナプス小胞内に取り込まれるかは，細胞質における伝達物質の濃度に依存するが，GABA はグリシンよりシナプス小胞に取り込まれやすいことが判明した。一方，シナプス伝達にはシナプス直下に存在する受容体も重要であるが，グリシン受容体拮抗薬のストリキニーネ存在下でニューロンを培養すると，シナプス直下のグリシン受容体が著明に減少し，グリシン放出開始後には，グリシン受容体の側方移動によりシナプス外からシナプス直下へ移動・集積することをグリシン受容体動態をＱドットを用いた１分子イメージング技術等を用いて明らかにした。その結果，グリシン応答の増大を引き起こすことが判明した。シナプス前神経終末部からの伝達物質の放出自体がシナプス後膜の受容体の集合に重要であることが示唆された。現在，これらの現象のメカニズムや生理的意義について検討を進めている。

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）社会的ストレスが引き起こす食餌選択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，２）骨格筋細胞株 C2C12 細胞の分化に及ぼす AMPK の調節作用，３）インスリン受容体遺伝子変異マウスの脂肪分解活性が肝糖新生と胆汁酸代謝に及ぼす効果。

社会的ストレスが引き起こす食餌選択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

佐藤達也，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。私共は，これまでに，視床下部室傍核 CRH ニューロンが AMPK を介して食餌選択行動を制御することを明らかにしてきた。本研究では，視床下部室傍核の CRH ニューロンに発現する AMPK が，ストレスによる食餌選択行動の変化にどのような効果を及ぼすかを調べた。C57BL/6J マウスに social defeat stress を負荷し，高脂肪食，高炭水化物食を同時に与えた場合にどちらの食餌を選ぶかをストレス負荷前後において測定した。その結果，ストレス負荷後に炭水化物摂取量が有意に増加した。この食餌選択行動の変化は，CRH 選択的 Cre マウスとレンチウイルスを用いて AMPK に対する shRNA を室傍核 CRH ニューロン特異的に発現させると，完全に抑制された。また，CRH に対する shRNA を室傍核に発現させた場合も，ストレスによる食餌選択行動の変化が消失した。以上の結果は，CRH ニューロンの AMPK が，ストレスによって引き起こされる炭水化物食嗜好性の亢進作用に関与することを示唆する。

骨格筋細胞株 C2C12 細胞の分化に及ぼす AMPK の調節作用

Nur Farehan Asgar，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，骨格筋においても代謝，遺伝子発現に調節を及ぼす。しかし，骨格筋の分化に AMPK がどのような調節作用を営むかは分かっていない。本研究では，骨格筋細胞株 C2C12 細胞の分化に AMPK がどのような調節作用を営むかを，AMPKα1，AMPKα2，AMPKα1 と AMPKα2 の両方に作用を及ぼす shRNA を C2C12 細胞に発現させ，分化に及ぼす影響を調べた。その結果，AMPKα1 は分化初期に，AMPKα2 は分化後期に必須であることが分かった。さらに，AMPKα2 はミトコンドリア蛋白質の発現，ミトコンドリア量の維持に必須であることを見出した。実際に，AMPKα2 及び AMPKα1 と AMPKα2 の両方に作用する shRNA は，C2C12 細胞のミトコンドリア量を低下させ，筋細胞も有意に細いことが分かった。AMPKα2 は AMPKα1 と異なり核移行シグナルを有する。そこで AMPKα2 の核移行シグナルに変異を加えてその効果を調べた。その結果，AMPKα2 の核移行が，ミトコンドリア合成に関わる転写調節因子の発現に必須であることが分かった。以上のことから，AMPK は C2C12 細胞の分化に重要な調節作用を営むことが明らかとなった。

インスリン受容体遺伝子変異マウスの脂肪分解活性が肝糖新生と胆汁酸代謝に及ぼす効果

Eun Young Lee，Xilin Zhang，三木隆司（千葉大学大学院医学研究院代謝生理学）
櫻井健一，田中知明，橘　香穂里，横手幸太郎（千葉大学大学院医学研究院細胞治療内科学講座）
Meizi Jiang（千葉大学大学院医学研究院臨床遺伝子応用医学）
白澤卓二（順天堂大学大学院加齢制御医学講座）
Antonio Vidal-Puig（Institute of Metabolic Science, University of Cambridge）
戸田知得，箕越靖彦

高脂肪食がインスリン抵抗性と糖尿病を惹起することはよく知られているが，そのメカニズムは不明である。本研究では，インスリン受容体遺伝子変異マウスに高脂肪食を与えた時の肝糖産生亢進作用に及ぼす分子機構を調べた。その結果，同マウスに高脂肪食を与えると脂肪分解が亢進し，これによって生成されたグリセロールが肝糖産生の基質になって肝糖産生が亢進することが分かった。事実，正常マウスの脂肪組織（脂肪分解活性が正常である）を同マウスに移植すると，肝糖産生関連遺伝子の発現が低下した。さらに，同変異マウスにおいて胆汁酸合成酵素の発現が低下すること，正常マウスの脂肪組織を移植すると回復することを見出した。以上のことから，高脂肪食によって脂肪分解が亢進するとグリセロールが肝糖産生を亢進する基質となること，また胆汁酸の合成を低下させることが分かった。胆汁酸はコレステロールの吸収に関わるだけでなく，糖，脂質，エネルギー代謝の調節にも関与する。胆汁酸合成が低下することが同マウスのインスリン抵抗性に関与する可能性がある。

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きたが，外分泌腺のモデルとして水分分泌の多い唾液腺の傍細胞輸送機構の研究を継続した結果，上皮膜レベルのみならず，これを取り囲む腺循環系の調節も水分分泌に寄与することを示すことが観察された。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，持続刺激中にはタイト結合を越えて細胞間隙を細胞間隙を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きた。

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し，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て，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。

また，血管灌流臓器の小動脈，毛細血管，小静脈を血管灌流中に固定・染色し，静止時および分泌刺激時の腺内血管を観察した。

唾液分泌における傍細胞輸送と細胞内信号による調節
−蛍光ビーズによるポンプアーチファクトの除去−

村上政隆，魏　飛（南京薬科大学）
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）

血管灌流ラット顎下腺を用いて共焦点レーザー顕微鏡により，細胞間隙の蛍光色素の動的挙動を観察する実験系を立ち上げたが，拍動ポンプの振動が伝播し，細胞の実際の動きを検出する際のアーチファクトとなった。この人工的拍動の 3D ムービー画像からの除去を試みた。

麻酔下で Wistar 雄性ラットの顎下腺（約 180 mg）を個体から遊離し，動脈に挿管して血管灌流を行い，分泌導管にも挿管した。臓器灌流は Sulforhodamine B (SRB, Sigma) を含む Krebs 灌流液で行い，分泌はカルバコール (CCh) で誘発した。1) 実験に先立ち，振動のマーカーとして微小緑色蛍光ビーズを動脈より加え，血管壁に留置され不動になることを確認した。SRB を加えない状態で拍動ポンプを動かしビーズの動きを 3D で撮像した。実験後 Imaris(Bitplane)上でビーズの動きを追尾し軌跡を記録した。2)次に SRB を灌流液に加え，定常状態でビーズが高輝度で観察されることを確認し，刺激実験を行った。

拍動ポンプの駆動により血管内の蛍光ビーズの三次元的な振動が観察された。2 波長のレーザーの混合照射により赤色の蛍光色素である SRB と緑色蛍光ビーズの同時シグナル検出を行なった。励起波長の違いにより緑色蛍光ビーズのシグナル強度が強く SRB と容易に識別することが可能であった。

CCh の刺激により血管の拡張や細胞の収縮が見られ，蛍光ビーズの比較的大きな移動が観察された。画像解析ソフトウェアの Imaris 上で蛍光ビーズの軌跡を記録し三次元座標化した。蛍光ビーズの座標が一点に固定されるように画像の再構成を行った。これらの操作により，ポンプの振動および刺激時の細胞収縮に起因するアーチファクトの除去が可能となった。

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。近年，この「古典的な」物流機能に加え，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，発生過程のシグナル制御，特に平面細胞極性(PCP)形成に注目し，そこで細胞内膜系がはたす役割と，その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いる。その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（基礎生物学研究所）

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相補的に利用し，PCP シグナルを制御する細胞内膜系タンパク質の候補を見出してきた。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，その作用が，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ている。また，タンパク質機能阻害実験系の工夫と，それを元にした機能阻害スクリーニングによって，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た。その結果,制御分子の同定，細胞内局在と機能の相関の解析をよどみなく行う事が可能となってきた。現在，シグナル検出の定量性を高めることを念頭に，実験系の完成を目指す一方，前年に引き続き，シグナル制御を担う分子間相互作用の知見を得ようとしている。

個別研究（毛利グループ）

【概要】

受精現象とは雌雄の性を持つ生物における雄性配偶子（精子）と雌性配偶子（卵）の融合に伴う個体発生への的普遍的で劇的な活性化現象である。生物学的には精子の卵への接近から卵を活性化させる現象の間に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，もっと単純な海産無脊椎棘皮動物ウニやヒトデではまだ不明である。本年度は新規温度センサーによる受精時の変化の測定，昨年に引き続き，イトマキヒトデ卵母細胞の成熟過程について電気生理学とイメージングを組み合わせて，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行った。

ウニ卵受精時の熱産生測定

毛利達磨，岡部弘基（東京大学大学院薬学研究科），坂口玲子（京都大学工学研究科）

岡部弘基により開発された新規蛍光温度センサーFPTと坂口玲子らにより開発されたFRETベースのGFP新規温度センサーtsGFP1を用いて共同研究を着手した，ウニ受精時の卵活性化に伴う温度変化があるのかどうか検討を試みた。蛍光ポリマーFPTは温度が上昇すると凝集する性質があり，蛍光強度が増すことが知られている。そこで，FPT をバフンウニ卵に顕微注入してその変化をイメージング装置を用いて測定を試みた。ウニ卵受精時にはこのセンサーによる蛍光変化は見られなかった。tsGFP1 も顕微注入をして蛍光イメージングを試みたが，大きなFRETの変化は見られなかった。異なる温度の海水を還流した時に蛍光変化が起こるのか確かめたところ，±5℃以上の温度差では両センサーで蛍光の変化を確認できた。このことから，受精時にはあっても，もっと小さい温度変化が起こっていることが示唆された。今後は低温でも感受性のあるプローブの出現に期待をしたい。

イトマキヒトデ卵母細胞成熟過程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，経塚敬一郎（東北大学大学大学生命科学研究科）

イトマキヒトデ卵母細胞の成熟過程において，精子刺激に対する細胞内カルシウム遊離機構と活性電流について測定を試みた。イトマキヒトデは閾値以下（0.02-0.04 μM）の卵成熟ホルモン 1—メチルアデニンの処理で成熟が不完全な成熟途上卵になる。卵母細胞の成熟度による電位固定下での活性電流の測定をした。イトマキヒトデ卵でも受精時の膜電流の一部は細胞内カルシウムイオン依存性のカチオン電流を示した。しかしまだ詳細な検討が必要である。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，成熟途上卵，成熟卵でのそれぞれの活性電流は細胞内カルシウム濃度に対応した特徴的なパターンを示した。特に成熟途上卵では細胞内カルシウムの変化が増減するパターンを多く観察した。このカルシウム変化に伴う電流もカルシウムの増減に対応して変化をしていた。しかしながら，多くのイトマキヒトデを使用している研究者の意見では本年度のイトマキヒトデは状態が良くないとの報告があったので，この変化が真の変化であるのかどうか来年度に持ち越して調べる必要が出てきた。

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室

【概要】

分子生物学的・発生工学的技術を駆使して作製する遺伝子改変動物は脳機能研究に有益な解析ツールといえる。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，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) ラットを作製できるようになった。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， Rosa26 領域に H2B/tdTomato を挿入することで蛍光下で細胞核を可視化できるノックインラットの作製に成功したので紹介する。

細胞核に *tdTomato* 遺伝子を発現するノックインラットの作製

後藤哲平，平林真澄

Rosa26 遺伝子座にヒストン H2B 融合赤色蛍光タンパク (tdTomato) を導入した核可視化ラットの作製を試みた。H2B-tdTomato (RHT) 遺伝子を ES 細胞株の Rosa26 遺伝子座にノックインし，胚盤胞注入法によってキメララットを作製した。雄キメラと野生型雌ラットとの交配によりヘテロ RHT 個体を得，ヘテロ同士の交配によりホモ個体を作製した。ホモ RHT ラット由来の排卵卵子，及びそれに活性化処理を施すことで単為発生誘起した前核期，2 細胞期，4 細胞期，桑実期，胚盤胞期の全ステージの胚において，核に局在する赤色蛍光が観察された。このようにして作製した RHT ノックインラットは，胚発生中の核，ひいては染色体動態を追跡することを可能にするばかりでなく，体細胞クローンラット作製時の脱核・核注入操作を容易にすることにも役立つ。

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）。

心臓の容積調節における TRPC3 チャネルの役割解析

冨田拓郎，西村明幸，西田基宏

TRPC3 チャネルを欠損したマウスに大動脈狭窄を施したところ，圧負荷誘発性の心肥大は抑制されないものの，間質の線維化とそれに伴う心臓硬化（拡張機能不全）がほぼ完全に抑制された。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，メカニカルストレス誘発性の ROS 生成が TRPC3 阻害により完全に抑制された。このメカニズムとして，TRPC3 タンパク質がチャネル活性非依存的に ROS 生成酵素（NADPH オキシダーゼ）タンパク質のプロテオソーム分解を抑制することで安定化していることがわかった。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。実際，高齢の TRPC3 欠損マウスでは，同じ高齢の野生型マウスと比べて心臓が大きくなっているものの，心機能は高く保持されていた。以上の結果は，TRPC3 チャネルを介する Ca^{2+}流入から ROS 生成へのシグナル変換が，心臓の容量負荷に対する負の調節因子として働く可能性を示している。

末梢血管成熟における TRPC6 チャネルの役割解析

島内　司，冨田拓郎，西田基宏

閉塞性動脈硬化症（PAD）の末梢循環障害における血管平滑筋 TRPC3/6 チャネルの役割解析を行った。TRPC6 欠損マウスでは，大腿動脈結紮後の末梢血流量が顕著に回復することがわかった。このメカニズムとして，虚血肢における新生血管数の増加は野生型マウスのそれと比べて差がなかったものの，成熟血管数が著しく増加していた。マウス大動脈血管から平滑筋細胞を単離し，初代培養を行ったところ，TRPC6 欠損平滑筋細胞では野生型の平滑筋細胞と比べて収縮型マーカータンパク質である SM22a の発現量が有意に増加していた。それにもかかわらず，TRPC6 欠損平滑筋細胞の増殖能・遊走能は，野生型平滑筋細胞のそれと差がなかった。平滑筋細胞に低酸素刺激を施したところ，TRPC6 タンパク質の発現量が有意に増加し，増殖マーカーである Ki67 発現量も有意に増加した。以上の結果は，虚血ストレスによる血管平滑筋細胞 TRPC6 チャネルの発現増加は細胞増殖を促進するものの，その後の血管成熟が十分に行えないために末梢循環障害が引き起こされる可能性が示された。

膀胱上皮細胞における TRP チャネルの役割

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。また伸展刺激を受容した後，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の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，TRPM7 欠損マウスの一回排尿量において野生型との有意な違いが観察された。さらに間質における浮腫と炎症性サイトカインの発現増加が確認された。電子顕微鏡において上皮細胞間隙の有意な開大が認められため，TRPM7 欠損により上皮バリア機能が低下することによって浮腫と伴う炎症が惹起され，一回排尿量の減少につながったものと推測された。これらの結果から TRPM7 欠損マウスは間質性膀胱炎のモデル動物となり得ることが示唆された。

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 PCO2/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。 我々は TRP チャネル欠損マウス群に対する高 CO2 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。その TRP チャネル発現 HEK 細胞株にて高 CO2 負荷による Ca 応答が検出された。今後，延髄における TRP チャネルの分布を観察する予定である。

代謝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，BAT の脱共役タンパク質（UCP1）と骨格筋において代謝調節に関与する AMPK (AMP-activated protein kinase)が全身の代謝にどのような相互作用を及ぼすかは不明である。本研究では，BAT の脱共役タンパク質（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おける代謝変化を調べた。その結果，KO x Tg マウスでは他グループのマウスと比べて脂肪酸の利用が大きく低下することを見出した。また，KO x Tg マウスでは，骨格筋において選択的にミトコンドリア関連蛋白質の発現が低下することが分かった。このことは骨格筋のミトコンドリア機能が, 骨格筋 AMPK だけでなく, BAT の UCP1 によっても間接的に制御されており，dnAMPK-mTg，UCP1-KO 単独では各々が代償的に働くので影響は無いが，両者が共に異常を来すと骨格筋でのミトコンドリア蛋白質の発現及びその機能に異常を来すと考えられる。近年，褐色脂肪組織から液性因子が分泌され，全身の代謝を制御することが示されており，KO x Tg マウスの異常にもこれらの因子が関与する可能性がある。

運動異常症の病態生理の解析

竹林浩秀，堀江正男，ホサイン イブラヒム，森　由紀子（新潟大学大学院）
久保田　光，一瀬　宏（東京工業大学大学院）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

運動異常症モデルのうち，以下のマウスの記録･解析を行った。

１，*Dystonia musculorum* (*dt*) マウス

Dystonin (*Dst*) 遺伝子の変異により，感覚神経変性と，四肢や体幹の異常な捻転運動などのジストニア様症状を示す。前腕二頭筋と三頭筋に慢性的に電極を埋め込み筋肉活動を記録したところ，同時収縮や周期性の収縮などが観察された。これらのことから，本マウスはジストニアモデルと考えられる。

２，セピアプテリン還元酵素(SPR)欠損マウス

遺伝性ジストニアの一つである DYT5 は，ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンなどの生合成に必須な補酵素テトラヒドロビオプテリン（BH4）の部分欠乏に起因すると考えられる。BH4 生合成の第３段階に働く酵素である SPR を欠損するマウス(*Spr*-KO マウス)の運動障害を調べた。前腕二頭筋と三頭筋の筋電図は，同時収縮や周期性の収縮を示した。また，大脳基底核，特に淡蒼球内節･外節から神経活動を記録したところ，正常では観察されない異常なバースト発射が記録できた。

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 84 系統，4664 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「未成熟歯状回 (immature Dentate Gyrus; iDG)」という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。この論文に対しては，もとの論文の著者からの反論 (Warren HS, et al., ***Proc Natl Acad Sci USA***, 2015) や別の研究者からのコメント (Shay T, et al., ***Proc Natl Acad Sci USA***, 2015) が出された。これらに対する返答として，補足記事 (Takao, Hagihara & Miyakawa ***Proc Natl Acad Sci USA***, 2015) を発表した。補足記事では，ヒトの炎症性疾患とそのマウスモデルで見られる遺伝子の発現変化について，ヒトで有意に発現変化している遺伝子のうち 5.9〜15.0%がマウスでも同じ方向で有意な発現変化を示しており，少なくとも統計的に有意な類似性が見られる事を再度確認した。この共通性は炎症性疾患の病態解明や新規治療法の開発に有用だと考えられる。これら研究成果は，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遺伝子改変マウス 170 系統を含むおよそ 200 系統の 10000 匹以上のマウス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。これらの解析により，実験を行う週齢が進むにつれて活動性，社会的行動，驚愕反応，参照記憶が低下し，プレパルス抑制が増加することなどが明らかとなった (Shoji et al., ***Mol Brain***, 2016)。また，実験を行う際にケージから取り出す順番によっても体温，痛覚感受性，不安様行動などの指標が影響されることも明らかとなった (Takao et al., ***Front Behav Neurosci***, 2016)。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 58 系統 4096 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が，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)となり，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がれた。

多次元共同脳科学推進センターでは 2009 年度から毎年 これから脳科学を目指す大学や企業の若手研究者や大学院生を対象に脳科学入門コースとして 多次元脳トレーニング＆レクチャーを開催している。2015 年度は 2015 年 3 月 10 日～13 日に 多次元脳トレーニング＆レクチャー「ヒト，サル，ラットの脳解剖から神経回路を観察・解析・操作する技術へ」を高田昌彦客員教授（京都大学霊長類研究所）の協力を得て，公募に応募した 15 名が参加して行われた。参加者には旅費と滞在費の支給を行った。

また，平成 27 年度 10 月よりセンター長の伊佐が京都大学に転出したため，鍋倉副所長がセンター長となった。

2016 年度から生理研の組織改編により，組織としての多次元共同脳科学推進センターは終了する。

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）などを駆使して，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から，細胞，ウイルス，タンパク質などの無染色氷包埋試料による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も全国から募集している。平成27 年度は，ウイルス粒子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，膜タンパク質からウイルス粒子の高分解能単粒子構造解析，SBF-SEM では，神経細胞や寄生性病原虫の立体形態解析などの共同研究が行われた。本研究室では，これらの共同研究を遂行すると伴に，それぞれの課題を達成するための手法および付属装置の開発，電顕画像からの最適な立体再構成法の研究も合わせて行っている。

神経ネットワークのシナプス結合解析を超高圧電子顕微鏡トモグラフィーで効率的に行える手法を開発

村田和義
佐藤慧太，高浪景子，坂本竜哉，坂本浩隆（岡山大学理学部付属牛窓臨界実験所）
河田光博（京都府立医科大学）

超高圧電子顕微鏡はその高い試料透過能から，神経組織など細胞どうしが複雑に入り組んだ試料の形態解析に有用であると考えられてきた。ところが，これまで厚い試料を均一に染色する手法が限られていたため，一般的な解析手法となっていなかった。我々の共同研究グループは, 連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）の観察で用いられる OTO ブロック染色法と免疫組織化学法とを組み合わせるにより，神経ネットワークのシナプス結合解析を超高圧電子顕微鏡トモグラフィーにより行える効率的に手法を開発した。その結果，目的の神経細胞とこれに投射する神経細胞とを三次元的に効率よく解析できるようになった。

Satoh K, Takanami K, Murata K, Kawata M, Sakamoto T, Sakamoto H (2015). Effective synaptome analysis of itch-mediating neurons in the spinal cord : A novel immunohistochemical methodology using high-voltage electron microscopy. *Neurosci. Let.*, **599**, 86-91.

Satoh K, Takanami K, Murata K, Kawata M, Sakamoto T, Sakamoto H (2015). Three-dimensional visualization of multiple synapses in thick sections using high-voltage electron microscopy in the rat spinal cord. *Data Br.* **4**:566-570.

キメラサポウイルス VLP のクライオ電子顕微鏡による構造解析

宮崎直幸，David W. Taylor，村田和義
Grant S. Hansman（University of Heidelberg）

サポウイルスはノロウイルスと並ぶ下痢を引き起こすウイルスの一つで，時に幼児に感染が広がり易い特徴を持つ。これらウイルスには多くの遺伝子型（突然変異体）があり，現在のところ有効な治療薬が存在しない。そこで，症状を少しでも軽減するためのより汎用性の高いウイルス中和抗体の開発が検討されている。その研究の中で，遺伝子型 GI.1 と GI.5 とを部分的に組み合わせたキメラウイルスは，より多くの抗体に反応することがわかってきた。そこで，我々の共同研究グループでは，これらのキメラウイルスの殻（ウイルス様粒子：VLP）を作製して，その構造をクライオ電子顕微鏡の単粒子解析法を使って 8.5 Å という解像度で解析し，さらにホモロジーモデルングという手法を使って VLP の分子構造を明らかにした。その結果，サポウイルスでは，外殻と内殻の間に少し隙間があり，外殻に加えて内殻にも多くの抗体の結合部位を持つことがわかった。これらの結果は，世界で初めてサポウイルスの殻の構造を明らかにしただけでなく，より汎用性の高い中和抗体の開発に向けての大きな知見となると考えられる。

Miyazaki N, Taylor DW, Hansman GS & Murata K (2015). Antigenic and cryo-electron microscopy structure analysis of a chimeric sapovirus capsid. J. Virol. 90, 2664-2675.

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。

無蛍光赤色蛍光タンパク質によるアストロサイト内分子活性化イメージング

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。特に，蛍光寿命イメージング顕微鏡により FRET を可視化する方法は，計測のアーチファクトが出にくく，しかも定量的である。そこで本研究では，この方法を用いて，アストロサイト内でのカルシウムとシグナル分子活性の同時観察を試みた。今年度，我々が開発に成功した色素タンパク質（dark mCherry，赤色蛍光タンパク質（mCherry）と同じ吸収スペクトルを示すが量子収率が 10 分の 1）を用いて，mRuby から dark mCherry への FRET を観察することによって，低分子量 G タンパク質である Cdc42 と RhoA の分子活性化を可視化する系を立ち上げた。この方法の特徴は赤色の波長域のみで分子活性計測が可能になることである。すなわち，緑の波長域が別の計測に利用できるようになるため，緑色蛍光タンパク質をベースにしたカルシウム指示タンパク質である G-GECO と Cdc42/RhoA 活性の同時観察を行った。G-GECO と Cdc42/RhoA FRET プローブを発現した培養アストロサイトに ATP を投与したところ，細胞内で一過的な Ca^{2+}上昇が見られた。また，Ca^{2+}上昇に数十秒遅れて RhoA と Cdc42 が活性化することが明らかとなった。今後は，Cdc42/RhoA と Ca^{2+}上の関係を各種薬剤処理により調べる予定である。

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。また，今年度は阻害の特異性を生化学アッセイにより詳細に調べた。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。また，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も成功している。今年度は，シナプス内で光応答性 CaMKII を活性化することによって，AMPA 受容体がリクルート出来ることを確認した。すな

わち，スパイン形態の変化だけでなく，シナプス長期増強を惹起することができることを強く示唆する結果を得ることができた。今後は，光応答性 CaMKII の活性化により長期増強が惹起できるかどうかを電気生理学的手法で調べていく予定である。

分子間相互作用検出のための“無蛍光”黄色蛍光タンパク質の開発

村越秀治，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（FLIM-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，アーチファクトを抑えることができるプローブを得ることに成功し，ShadowY 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の特性を詳細に調べる予定である。

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

今年度は，国内外の研究室からの要望に応じて，延べ 245 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。

皮質-線条体ニューロンの生存における Rho シグナル伝達系の機能解析

小林憲太，佐野裕美，加藤成樹（福島県立医科大学）
黒田啓介（名古屋大学），中牟田信一（名古屋大学）
伊佐　正，南部　篤，貝淵弘三（名古屋大学），小林和人（福島県立医科大学）

AAV ベクターと高頻度逆行性遺伝子導入レンチウイルス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 の活性を抑制したマウスを作製した。この遺伝子改変マウスを組織学的に解析したところ，皮質-線条体ニューロンに顕著なアポトーシスが誘導されていた。このことから，Rho シグナル伝達系は，皮質-線条体ニューロンの生存に重要な役割を果たすことが明らかになった。さらに，大脳皮質-線条体路において Rho の主要な標的タンパク質の一つである Rho-kinase の活性を抑制したマウスを作製して，このマウスの皮質-線条体ニューロンに関して組織学的な解析を進めている。

線条体-黒質投射ニューロンに制御される運動機能のメカニズム解析

小林憲太，佐野裕美，黒田啓介（名古屋大学），中牟田信一（名古屋大学）
貝淵弘三（名古屋大学），南部　篤

AAV ベクターを利用して，線条体-黒質投射ニューロンで特異的に目的遺伝子を発現誘導する実験系を確立した。このシステムを利用して，線条体-黒質投射ニューロンにおいて MAP kinase のドミナントアクティブ変異体を発現誘導した遺伝子改変マウスを作製した。このマウスでは，随意運動の変化と思われる表現型が観察された。引き続き，MAP kinase のドミナントネガティブ変異体や，PKA のドミナントアクティブあるいはドミナントネガティブ変異体を発現誘導した遺伝子改変マウスの作製に取組んでいる。これらの遺伝子改変マウスを用いて，行動生理学的・電気生理学的な解析を行うことにより，線条体-黒質投射ニューロンによる運動機能制御の分子メカニズムの解明を目指す。

霊長類モデル動物室

【概要】

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」は平成１４年に発足し，自然科学研究機構生理学研究所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。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。NBRP ニホンザルは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２７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

ニホンザル繁殖事業の集約のために（年間８０～９０頭を生産して年間７０頭を出荷する体制へ移行），生理学研究所外部委託施設でのサル繁殖事業の停止を続けている。なお，平成２７年度末時点で繁殖母群２１０頭，育成仔ザル１５１頭を飼養保管している。

（２）研究用ニホンザルの提供事業の実施

提供数については１６件５３頭の応募があり，１６件

４８頭が採択された。平成２７年度内の提供は７９頭，そのうち４６頭は去年度積み残し分であり，今年度申請に対しては３３頭が提供された。３３頭の提供先機関は大阪大学２件６頭，岡山大学１件１頭，近畿大学１件２頭，筑波大学１件１頭，自然科学研究機構２件４頭，東京医科歯科大学１件２頭，国立精神・神経医療研究センター１件６頭，東北大学１件２頭，新潟大学４件４頭，金沢大学１件５頭である。

（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，血液などの組織試料を要望する研究者からの問い合わせが増えたため，組織試料の確保や輸送方法など解決すべき課題は多くあるが，平成２６年度から組織試料の提供を試験的に開始し，引き続き平成２７年度も組織試料の提供を行っている。

応募数：１２件（血液２件，全身３件，皮膚２件，骨格筋１件，生殖器４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（１０月）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。サル提供時にはユーザーとの打合せを個別に実施し，最大限希望に添えるように努力している。サルユーザー会議や，事前講習会において，本事業の必要性を説明している。去年度は SRV 感染症が再発生したため，全頭 SRV 血液検査を繰り返し安全な個体の提供に努めている。生理研外部委託施設における SRV 再発生に対し，（１）生理研に設置されている NBR 関係の委員会の組織体制の見直しを行った。（２）代表機関と分担機関における意見交換の場として合同会議を設置した。（３）SRV 感染対応マニュアルを作成した。また危機管理マニュアルを作成した。（４）危機が起こった際の連絡体制を強化するために，代表・分担機関内外の NBR 関係者を対象としたメーリングリストを設定した。（５）代表機関である生理学研究所でもリソースの高度化のために研究開発体制を整備した。SRV 検出系の高感度化・高精度化を目標とし digital PCR を導入した。その結果，従来のゲル電気泳動法に比べて，検出感度・精度を向上することができた。（６）さらにリソースの繁殖・育成の事業等の集約を進めるためにニホンザル終生飼養保管施設ワーキンググループを設置した。

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 万倍であるとも言われている。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の，匂いの認識における機能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。そのため，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。当研究室では，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

これまでの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するとともに，カルシウムイメージングを用いた，細胞外構成成分のスクリーニングを行っている。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。これまでにヒト STIM1 およびショウジョウバエ STIM を用いた BACCS を開発し，さまざまな培養細胞や遺伝子改変動物でその機能を確認している。興味深いことにショウジョウバエ型 BACCS と dOrai を発現したヒト由来の培養細胞は，ヒト型 BACCS 発現細胞による内在性 Orai1 の活性化よりも高い光応答性を示した。今後，より広範な生物種で BACCS を機能させるための改変を試みるとともに，ヒト型とショウジョウバエ型の機能差について検討する。

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。

移動運動の速度変化に伴う筋活動の変化を制御する脊髄神経回路の解析

木村有希子，東島眞一

ヒトの歩行と走行では足の運び方が異なるように，脊椎動物が移動運動を行う際には，移動スピードの変化に応じて歩容が変化する。この現象は，移動に用いる筋肉の種類や活動が速度に応じて変化することによって生じる。しかし，この筋活動の変化を制御する神経回路の詳細は解明されていない。これは，哺乳類の歩行に関わる筋肉やニューロンは多種多様で複雑なため，解析が困難なためである。一方，ゼブラフィッシュ幼魚の筋肉は単純で，容易に弁別可能な速筋と遅筋があり，この２種類の筋肉の活動の強さが遊泳速度に応じて変わるため，解析がしやすい。我々は，異なる速度での筋活動の変化制御に関与する脊髄介在ニューロンの種類を明らかにするために，特定の介在ニューロンを遺伝学的に除去した数種類のゼブラフィッシュ幼魚の解析を行った。その中に，速筋と遅筋の切り替えに異常が見られる魚があることが分かり，除去したニューロンが速度変化に伴う筋肉の活動変化に関与する可能性が示された。今後は，このニューロンの遊泳運動中の活動や他のニューロンとの結合パターンを明らかにし，異なる速度での筋活動の変化を制御する脊髄神経回路の機能を解明する予定である。

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）を検出し，感染対策を実施した。山手地区ではマウスから *Pasteurella pneumotropica* 汚染事故が確認され，疫学調査及び隔離飼育の微生物コントロール等を行った。空調機等の補修管理について，特に明大寺地区の動物棟 I（本館）の空調機が自動運転で安定運転不能に陥っていることは重大な問題で，可及的速やかな解決が必要である。その他に，サル類微生物検査に向けての整備，サルの定期的健康診断，齧歯類微生物自家検査の実施に向けての整備などを進めた。

第二の研究は，サル類における下痢原性大腸菌の疫学調査研究を行った。飼育管理方法に関する研究は利用者管理システムの構築，マウス凍結精子による系統導入の事例報告，動物福祉に配慮した実技講習会の開催について行った。

第三の教育は，センター利用者を対象に，前年度までと同様に利用者講習会を開催した。今年度からは新たに齧歯類の取り扱い初心者を対象に実験動物の基本的な実技講習会を開始した。

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の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

明大寺地区動物種別の飼育数は，マウス 3,315 匹，ラット 34 匹，魚類 18,901 匹，両生類 23 匹，サル類 45 匹であった。

山手地区動物種別の飼育数は，マウス 4,742 匹，ラット 484 匹，魚類 3,020 匹，両生類 145 匹であった。年間入館者数は 11,674 人（延べ），登録者数 167 名であった。

2. 飼養室の使用状況

明大寺地区陸生動物の飼養保管室利用部門数は，14 部門（生理研 12 部門，基生研 1 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養保管室利用部門数は，13 部門（生理研 8 部門，基生研 1 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。明大寺及び山手地区水生動物の利用状況は，明大寺地区の利用部門数は，6 部門（生理研 1 部門，基生研 5 部門）であった。山手地区の利用部門数は，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）が水槽を利用している。

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

明大寺地区の検査件数はマウス 131 件とラット 31 件であった。山手地区の検査件数はマウス 102 件とラット 31 件であった。

(3) 微生物モニタリングの結果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

2016 年 2 月 5 日に行った微生物モニタリングの結果速報で，センター内 203 室のラットから *Clostridium piliforme* 陽性が検出されたと報告があった。同室お

よび前室を同じくする飼養保管室の隔離飼育等の微生物コントロールを行った。その後，緊急検査のため全ケージから検体を採取し，同時に 203 室ラットは必要最小限を残し，安楽殺を行い，微生物検査を行ったところ，203 室の 10 ケージで陽性を認めた。203 室ラットのクリーニングを行うために一部ラットを外部機関に輸送し，残りのラットは安楽死し，203 室のクリーニングを行った。

B. 防除対策

a. 汚染状況把握

まず，センター内の 203 室と 204 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 室と前室が同じ飼養保管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汚れ床敷き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，繁殖は禁止し，204 室の動線は最後とした。

d. 除去成功

2016 年 3 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 4 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 *Pasteurella pneumotropica* 汚染事故

2015 年 8 月の定期検査において SPF 飼育室の 1 室で *Pasteurella pneumotropica* が確認された。その飼養保管室を隔離飼育等の微生物コントロールを行った。バイトリルを飲水に混ぜて 2 週間投与，2 週間休止，2 週間投与を行った後，培養検査を行ったところ，陰性が確認されたため，11 月に対策を終了した。

2016 年 2 月の定期検査において，SPF 飼育室の 1 室で *Pasteurella pneumotropica* が確認された。その飼養保管室を隔離飼育等の微生物コントロールを行った。2015 年 8 月の対策時に，哺乳仔がいる中でバイトリル投与を行ったが，哺乳仔は十分な投与が出来ていない可能性が疑われたため，今回は哺乳仔を予め安楽殺した上で，バイトリルを飲水に混ぜて 2 週間投与，2 週間休止，2 週間投与をした後，糞便による微生物検査を行うこととした。その後，培養検査を行ったところ，全て陰性が確認されたため，2016 年 5 月 25 月に感染症終息とした。

3. 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 32 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 9 件，融解・移植は 16 件，それぞれ実施した。

4. 空調機等の補修管理

(1) 明大寺地区主な工事修理

1) 動物棟 I（本館）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。真冬では温水槽に蒸気を直接吹き込んだり，温水・冷水ポンプを強制的に稼働させたりするなど，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・増築と併せて，整備していくことが必要である。

2) 動物棟 I（本館）洗浄機の蒸気配管に穴が開き，修理を行った。また動物棟 II（新館）の高圧蒸気滅菌機の蒸気配管にも穴が開き，修理を行った。

3) 動物棟 II（新館）の 1，2 階の空調排気ダンパーが落ち，火災報知器が鳴動する誤報があった。防炎防火ダンパーに不具合が発生した。

4) 貯湯槽から空調機への温水配管が老朽化により穴

が開いたため修理した。また，各部屋へ伸びている給湯配管でも管が破裂し，修理を行った。

5) 導入当初，マーモセット飼育装置の不具合が頻繁にあり，不具合の改善を行った。また恒温装置が故障し修理を行った。

(2) 山手地区主な工事修理

1) 空調機湿度異常のため調整を行った。空調機器類の経年劣化による不具合が増えつつあり，アクチュエーターについては次年度に点検，修理を予定している。

2) ケージ洗浄機緊急停止ボタンが故障し，応急修理を行った。SPF1，3，7，9 飼育室，3F・4F 洗浄倉庫，4F SPF 実験室，4F 融解移植室，3F クリーン準備室，3F クリーン廊下のアクチュエーター不調のため調整を行った。

3) オートクレーブ 3 台の真空ポンプ交換，オートクレーブ 1 号機温度センサー交換，オートクレーブ 2 号機蒸気漏れ修理，オートクレーブ 3 号機給水配管の漏水修理を行った。

山手の施設は 14 年を越えており，空調機器類の経年劣化による不具合が増え，今後の対策が必要である。

5. サル類の定期的健康診断

サルの定期的健康診断を実施した。全頭（59 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およびイベルメクチン予防投与を行った。

6. 検疫業務の強化と微生物検査室の整備

明大寺地区サル類微生物検査に向けての整備は動物棟 II の 134 室に安全キャビネットを購入し整備を行った。齧歯類微生物自家検査の実施に向けての整備は動物棟 II の 432 室にクリーンベンチ，安全キャビネット，オートクレーブ，ゲル泳動装置，光学顕微鏡等を購入し整備を行った。

7. 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は建設されてから 36 年あまりを経過しており，動物棟 I が老朽化して空調設備等に多くのトレブルが発生し，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，動物棟 I（マウス，ラット等）と動物棟 II（マウス，ニホンザル，マーモセット等）を含む施設の機能改善および機能高度化を目的に，改修することで検討した。検討した改修・改築計画案については，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. サル類の下痢原性大腸菌に関する研究

センターで飼養保管中のニホンザルとマーモセットは，日常飼育管理で軟便・下痢の臨床症状がよく観察される。下痢の原因は非感染性と感染性のものがある。近年，下痢発症のアカゲザルとカニクイザルは下痢原性大腸菌（Diarrheagenic *Escherichia coli*）の感染が関わることが知られている。しかし，ニホンザルとマーモセットについては不明である。そこで，下痢発症サル類動物の新鮮糞便から腸内細菌用の選択培地上の大腸菌様コロニーを単離培養し，生化学性状により細菌同定を実施した。特定病原遺伝子を標的として PCR 方法で確認し，下痢原性大腸菌の疫学調査研究を行った。

2. マーモセット肥満モデルの作製と解析

本研究では生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門の箕越教授の指導下に小型霊長類肥満モデル動物の確立を目指し，実現することである。これまでに，箕越研の研究成果により摂食行動と代謝調節への視床下部室傍核に慢性的に選択的に持続活性化型 AMPK（CA-AMPK）を発現させ観察したところ，高脂肪食よりも高炭水化物食を多く摂食し，体重が大幅に上昇することを見出した。しかし，霊長類にみられる高度な認知・学習・行動発現や意志決定などを司る中枢神経系の嗜好性調節メカニズムを明らかにするためには，モデルマウスでの実験は難しい。また小型霊長類では，肥満研究に使用する為の適切なモデル動物が非常に少ないため，新たなマーモセット肥満モデルの作成と解析の研究を推進した。

3. 飼育管理方法に関する研究

(1) センター明大寺地区 IC カード導入に伴い，どの飼育室を利用するかを含む，各種講習会の受講歴，利用動物種，利用者メーリングリスト等の管理が円滑に行っていくためには，これらの多量な個別情報を簡便に一

元管理ができるように，利用者管理システムの構築について検討を行った。

(2) センターに搬入されるマウスは，個体で導入すること以外に，凍結受精卵で系統導入をしている。しかし近年，凍結精子による系統導入の相談が増えてきてある。そこで，通常 FERTIUP 凍結保存液を使用した凍結精子と，使用していない凍結精子による体外受精の受精率に関して比較検討を行った。

(3) センター利用者を対象に，マウスの取り扱いに不慣れな方，動物実験初心者の方が，動物の福祉に配慮したマウスの正しい取り扱い方と，基本的な手技を習得し，3R の原則に基づく実技講習会をめざす。講習時間は実技のみ 4 時間。講習内容として性別判定，個体識別，ジェノタイピング用の採材，保定法，腹腔内投与，経口投与，吸入麻酔法，下顎静脈採血，心臓採血，解剖法を行った。

4. 受賞

飼育管理方法等に関する研究成果に対して，窪田美津子技術職員と神谷絵美技術職員は，それぞれ「マウスの取り扱い実技講習会」と「微生物モニタリング研修と自家検査準備」について，生理学研究所「安全で信頼できる動物実験の基盤形成における新しい取り組み」の特別賞を共同受賞した。

【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 23 名であった。

今年度より新たに，齧歯類の取り扱い初心者を対象に，実験動物の基本的手技の実技講習を開始した。受講者数は合計 7 名であった。

その他，明大寺地区は IC カードによる入退館システムの導入整備を行い，利用者講習会を行う準備などを行った。

【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 法人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，市川修班長が定年退職を迎えたため，当該職員の業務の整理と引き継ぎ作業を進めた。そこで，技術職員が持つスキルと部門が必要とするスキルを考慮した配属換えを検討し，関係職員には業務を兼務させながら引き継ぎ作業に当たらせた。まずは，稲橋宏樹技術職員を採用し，生体膜研究部門に配属させた。また，多光子顕微鏡室の技術支援業務を一段落させ，当室に配属させていた前橋寛技術係長には電子顕微鏡技術等の整備に当たらせた。

技術課組織の強化と研究支援体制の充実を図るため，齊藤久美子技術主任，竹島康行技術主任，吉村伸明技術主任の3名を技術係長に，山本友美技術係員，髙木正浩技術係員，三實誠技術係員の3名を技術主任に昇任させた。

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，各コースに3名づつ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38回を，基礎生物学研究所・技術課と合同で2016年2月18日－19日の2日間にわたり開催した。会では，口演発表が22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40題あり，研修講演として『ほ乳類初期発生を考える』（藤森俊彦，基礎生物学研究所 初期発生研究部門 教授），話題提供として『医学教育研究における技術の変遷と共に』（柴田清，浜松医科大学　技術部）を行った。これらの報告は『生理学技術研究会報告（第38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12回の報告会（2016年2月19日）を11演題で行った。この報告は『生理学技術研究会報告（第38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10回を生理学研究所で開催した（2015年6月18－19日）。会では21演題の発表があり，詳細は『第10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，本年は電気・電子コース（金沢大学，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（福井大学，1名）に参加し，今後の研修会開催について議論を進めた。

また，第41回国立大学法人動物実験施設協議会総会（千葉，1名）），微生物モニタリング研修（神奈川，1名），ウルトラミクロトーム講習会（東京，1名），電子顕微鏡講習会（東京，1名），第49回日本実験動物技術者協会総会（静岡，3名），平成27年度実験動物関係教職員高度技術研修（理研，1名），3Dプリンター工作技術打ち合わせ（幸田，1名，天文学に関する技術シンポジウム（東北大学，1名），ビジネスセミナー（名古屋，1名），新学術のキックオフシンポジウム（東京大学，1名），革新的先端研究開発支援事業・CREST会議（大阪大学，1名），CREST合同ミーティング（山梨，1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，暮らしに役立つバイオサイエンス'15（1名），統計学'13（1名）の2科目を選択し，2名が受講した。

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) 永田 治：理科第 2 分野(行動のしくみ)に活用する体験型実験プログラム製作の試み

(2) 齊藤 久美子：非放射性試薬による消化管のナトリウム依存性グルコース輸送体活性測定法の開発

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。今年度は，その編集を技術係員に移し，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ている。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，第第 11 回労働安全衛生に関する情報交換会（核融合研，2 名），平成 27 年度東海・北陸地区国立大学法人等安全衛生担当者連絡会（豊橋技術科学大学，1 名），七大学安全衛生管理協議会リスクアセスメント WG 勉強会（名古屋大学，1 名），安全衛生管理における情報管理システムの汎用性向上の検討会（東京大学，1 名），化学物質による爆発・火災等のリスクアセスメントセミナー（名古屋，2 名），震災時等における仮貯蔵・仮取扱いの申請手続きの概要説明会（岡崎市，2 名），化学物質取扱いとリスクアセスメント講習会（名古屋，1 名），化学物質に関する改正安衛法の概要とリスクアセスメントに必要な基本知識のセミナー（蒲郡，2 名），リスクアセスメント義務化に係る改正法説明会（岡崎市，1 名）を受講した。

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（4 中学校，10 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，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， JST フェア 2015，COI 夏フェス，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 統合生理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している。

下表に生体磁気計測装置の稼動率を示す。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業者による三ヶ月毎の定期点検を基本としており，今年度は計測装置本体のハードサイクルをおこない，センサーを良好な状態に保っている。また，ノイズリダク

ションのパラメータの調整を数回おこなったが，利用者の要望により再調整を検討している。

昨年度と同様に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能の状態が数回発生したが，替えの部品を用意しており数時間で復旧することができ，実験計画に大きな影響は無かった。

数年前から解析システムを HP-UX から PC の Linux システムに移行しているが，解析ソフトウエアの一部にライセンスの関係で移行できないものがあるため，利用者の要望に合わせて HP-UX の運用も続けている。

2015 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	
2015 年　4 月	30	9	0	15	71	23	17	
5 月	31	13	3	12	80	16	8	定期点検
6 月	30	8	0	12	55	14	11	SQC ボード交換(3 回)
7 月	31	9	0	16	73	18	13	
8 月	31	10	0	17	81	17	12	SQC ボード交換(2 回)
9 月	30	11	2	15	88	16	10	定期点検
10 月	31	10	0	17	81	17	10	
11 月	30	11	0	8	42	9	8	
12 月	31	12	3	6	38	6	5	ハードサイクル
2016 年　1 月	31	12	5	9	64	9	8	ハードサイクル,定期点検
2 月	29	8	0	15	71	15	15	
3 月	31	9	2	14	70	14	14	定期点検，SSP パラメータ調整
	366	122	15	156	68	174	131	（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，2015 年度に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 の装置 3 台と合わせて 4 台が稼働している。

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。

これらに加えて 2015 年度に新たに稼働を開始した 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。装置の調整や周辺の実験機器の整備を行いつつ、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 装置で撮影された DICOM 画像を保存するための DICOM サーバーの更新を行った。本サーバーは，生理研のネットワークから独立した MRI 装置専用の高速ネットワーク上におかれ，データ転送速度の高速化とデータの保守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，今年度は周辺の実験装置調整中のため，心理生理学部門による試験運用を中心に行っている。

2015 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（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2015 年　4 月	30	9	8	13	31	4	0	
5 月	31	13	4	14	29	4	0	
6 月	30	8	5	17	29	5	0	定期保守
7 月	31	9	6	16	19	3	0	液体ヘリウム補給
8 月	31	10	3	18	22	4	0	
9 月	30	11	6	13	15	2	0	
10 月	31	10	6	15	40	6	0	定期保守，液体ヘリウム補給
11 月	30	11	4	15	13	2	0	
12 月	31	12	7	12	38	4	0	
2016 年　1 月	31	12	2	17	24	4	0	
2 月	29	9	3	17	41	7	0	定期保守
3 月	31	9	2	20	30	5	1	液体ヘリウム補給
計	366	123	56	187	28	50	1	

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	
2015 年　4 月	30	9	7	14	71	7	3	
5 月	31	13	2	16	50	6	2	
6 月	30	8	2	20	65	10	3	
7 月	31	9	2	20	50	10	0	定期保守
8 月	31	10	2	19	74	2	12	
9 月	30	11	1	18	75	5.5	8	
10 月	31	10	0	21	74	9.5	6	
11 月	30	11	1	18	61	5	6	定期保守
12 月	31	12	1	18	56	7	3	
2016 年　1 月	31	12	2	17	59	10	0	
2 月	29	9	0	20	70	10	4	
3 月	31	9	3	19	71	6.5	7	定期保守
計	366	123	23	220	65	88.5	54	

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	
2015 年　4 月	30	9	8	13	46	4	2	
5 月	31	13	2	16	50	4	4	定期保守
6 月	30	8	1	21	71	8	7	
7 月	31	9	2	20	35	7	0	
8 月	31	10	2	19	74	1	13	
9 月	30	11	1	18	72	4	9	定期保守
10 月	31	10	0	21	86	9	9	
11 月	30	11	1	18	67	2	10	
12 月	31	12	0	19	63	1	11	
2016 年　1 月	31	12	3	16	44	6	1	定期保守
2 月	29	9	0	20	45	4	5	
3 月	31	9	3	19	37	3	4	
計	366	123	23	220	57	53	75	

7T-MRI

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	
2015 年　5 月	31	13	4	14	57	8	0	新規開所式（5/25） 定期保守
6 月	30	8	3	19	5	1	0	
7 月	31	9	5	17	12	2	0	
8 月	31	10	5	16	13	2	0	定期保守
9 月	30	11	1	18	22	4	0	
10 月	31	10	2	19	5	1	0	
11 月	30	11	1	18	11	2	0	定期保守
12 月	31	12	2	17	18	3	0	
2016 年　1 月	31	12	1	18	0	0	0	
2 月	29	9	1	19	32	6	0	定期保守
3 月	31	9	5	17	0	0	0	
計	336	113	30	193	16	29	0	

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。今年度も電子顕微鏡は順調に稼働し，大がかりな修理・改良は行われなかった。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，今年度は，一部フィルム撮影もなされたが，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。

2015 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
2015 年 4 月	30	10	4	16	0	0	0	0	
5 月	31	12	4	15	0	1	1	7	
6 月	30	8	5	17	1	4	5	29	
7 月	31	11	4	16	0	1	1	6	
8 月	31	8	5	18	0	0	0	0	
9 月	30	10	4	16	1	0	1	6	
10 月	31	11	6	14	0	0	0	0	
11 月	30	10	6	14	1	2	3	21	
12 月	31	12	4	15	0	1	1	7	
2016 年 1 月	31	12	4	15	0	2	2	13	
2 月	29	8	5	16	0	0	0	0	
3 月	31	10	4	17	1	12	13	76	
計	366	122	55	189	4	23	27	14	

フィラメント点灯時間　100.3 時間
使用 CMOS イメージ枚数　1594 枚
使用フィルム枚数　73 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 15 課題が採択され，全課題が実施された。

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平日数より求めている。また，昨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位相板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，定期メンテナンスとして Gun 交換を行い，その作業による保守に一週間程度を要した。

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，必要なときに容易に交換可能となり，位相板交換の時間短縮に貢献出来た。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，さらなる改善が望まれる。

2015 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	保守日数	使用可能平日数	所内利用日数	所外利用日数	利用日数合計	利用率［%］	フィラメント点灯時間［hr］	備考
2015 年 4 月	21	1	20	3	2	5	25.0	33	Emission OFF Restart
5 月	18	3	15	5	5	10	66.7	45	位相板交換　5 回 Emission OFF Bake Emission Restarat
6 月	22	0	18	11	12	23	104.5	150	位相板交換　4 回
7 月	22	0	20	5	9	14	63.6	103	位相板交換　2 回
8 月	21	8	11	5	4	9	69.2	58	位相板交換　2 回 Gun exchange SF6 supply 0.1 Mpa OLA exchange FEG off Bake　& Conditioning FEG Restart
9 月	19	1	18	7	1	8	44.4	37	DE20 reinstalled
10 月	21	3	17	16	3	19	105.6	96	位相板交換　2 回 EM ストップ Bake FEG Restart
11 月	19	0	16	3	12	15	78.9	80	位相板交換　3 回
12 月	19	4	14	7	1	8	53.3	68	位相板交換　1 回 チラートラブルで EM ストップ FEG　Restart レンズ用ヒューズ交換
2016 年 1 月	19	2	16	11	4	15	88.2	120	位相板交換　1 回 DE20 mag calibration
2 月	20	1	18	14	3	17	89.5	116	位相板交換　2 回 CLA2 交換
3 月	22	1	20	14	1	15	68.2	125	位相板交換　2 回
計	243	23	220	101	57	158	71.8	1031	

2015 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	
東京理科大学	基礎工学部	石黒　孝	○	○	人工ナノ・リポソーム創製とその構造評価
結核予防会	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
国立感染症研究所	ウイルス第二部	片山和彦	○	○	マウスノロウイルスの高分解能構造解析
麻布大学	獣医学部	内山淳平	○	○	低温位相差電子顕微による黄色ブドウ球菌ファージの 3 次元構造解析とその感染機構の解析
ウプサラ大学	BMC	岡本健太	○	○	新規蚊媒介性ウイルスの三次元構造解析

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	
Academia Sinica	Institute of Chemistry	CHANG, Wei-hau	○	○	Revealing the architecture and dynamics of RNA polymerase I complex by Zernike phase plate cryo-EM(ZEM)
岡山大学	大学院教育学研究科	安藤元紀	○	○	原生生物ハリタヨウチョウにおける新規微小管調節機構の解明
分子科学研究所	生命動秩序形成研究領域	飯野亮太	○	○	腸内連鎖球菌 V-ATPase の電子顕微鏡 1 粒子構造解析
基礎生物学研究所	環境生物学領域	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
信州大学	繊維学部	鈴木大介	○	○	ヒドロゲル微粒子をコアに用いたシード乳化重合による新規異形複合微粒子の創製および構造評価
名古屋市立大学	大学院薬学研究科	佐藤匡史	○	○	プロテアソーム形成に関わる集合シャペロンタンパク質複合体の電子顕微鏡解析
豊橋技術科学大学	エレクトロニクス先端融合研究所	中鉢　淳	○	○	昆虫細胞内共生細菌の特異なチューブ様微細構造の解析
岡山大学	大学院自然科学研究科	坂本浩隆	○	○	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
神戸大学	大学院理学研究科	洲崎敏伸	○	○	原生生物等の細胞内共生生物と染色体の微細構造解析
兵庫県立大学	大学院自然科学研究科	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

(2) 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。

山手地区に常設することになった走査型電子顕微鏡 ΣIGMA は，改修工事が終了するまでの仮設ということでプレハブの TEM7 室に設置されていたが，本体と同室に騒音源である冷却装置，コンプレッサ，真空ポンプが設置されており，観察環境が劣悪であった。

山手地区の電子顕微鏡室には，本来電子顕微鏡設置を前提とした複数の部屋がある。しかし，これらの部屋はこれまで他の機器が設置されていたため当室の電子顕微鏡をあまり望ましくない設置環境に置かざるを得なかった。

その後，既設機器の老朽化による廃棄や部門転出により当室に空きができたが，移設のための十分な費用を確保できなかったため，機器倉庫やデータ解析室として利用し，設置環境の改善を行うことができなかった。

これらの問題に関して，本年度整備のための予算を電子顕微鏡室の予算外にて配分して頂いたため，設置環境に問題があった２台を，電子顕微鏡を設置するために設計された，専用の部屋に移設することとなった。

１台目は，TEM7 室に設置されていた走査型電子顕微鏡 ΣIGMA で，これを TEM3 室に移設した。２台目は，空調の温度調節が隣のミーティングスペースと連動しており大変使い勝手が悪かった透過型電子顕微鏡 JEM-1010（TEM6 室）で，これを TEM5 室に移設した。この大移動により騒音と温度問題が解消し，観察環境が大幅に改善された。

一方，走査型電子顕微鏡 ΣIGMA は，移設前に発生したコントローラの不具合により，操作時以外にも試料台が勝手に上昇するというトラブルが数回発生した。このコントローラは，試料の上下と XY 移動，回転を行う機能を有しており，その中の上下移動を行うジョイスティックの戻りが悪くなったため，試料が勝手に上昇して反射電子検出器と衝突して破損させるという事故が発生した。このトラブルにより，コントローラと反射電子検出器の交換が必要となった。しかし，年度末の事故で予算の確保が難しく，やむを得ず次年度に修理・交換を行うこととなった。

電子顕微鏡室としては，明大寺地区電子顕微鏡室に透

過型電子顕微鏡 JEM-1010 が，山手地区には透過型電子顕微鏡 JEM-1010 と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 台目の高解像度 SBF-SEM（MERLIN）は，TFE-Tip や検出器交換等の通常メンテナンス以外は，数回の調整とクリーニングがあった以外は，現在安定して稼働している。しかし，通常の走査型電子顕微鏡 ΣIGMA は，前述のように今年度は多くの故障に見舞われ，電子顕微鏡室に配分されている予算うち多くの金額をこれらの修理費用に充てた。今後設置年数が長くなるにつれ，ΣIGMA だけでなく SBF-SEM を含めて更に修理費用が嵩んでいくことが予想されるため，少しでもこれらの出費を抑えかつ迅速な修理対応を行うため，保守契約の締結などの検討が必要となると思われる。

【活動】

本年度は電子顕微鏡室の新規利用を希望する利用者が多くみられた。これまで予算の削減や廃棄物の減少などの目的から，山手地区電子顕微鏡室では電子顕微鏡試料作成のための環境を十分に整えることはなく，必要に応じて明大寺地区電子顕微鏡室での試料作製を推奨してきた。しかし，上記の状況に対応しより利用者の利便を図るために，同地区において試料作製のための試薬，機器の充実を行った。これにより山手，明大寺両地区において電子顕微鏡の試料作製を十分に行える環境が整った。同時に，これら新規利用者のための利用者講習会を随時開催し，利用者サービスの向上に努めた。

明大寺地区電子顕微鏡室でも新規の利用者が多く現れ，山手地区電子顕微鏡室と同様の対応を行った。

山手地区電子顕微鏡室では，前述の 2 台の SBF-SEM と通常の走査型電子顕微鏡 ΣIGMA 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。

また，これまで中心となって SBF-SEM を使用し，保守・管理も行っていた研究者の異動に伴い，電子顕微鏡室技術職員も SBF-SEM の使用方法と保守・管理等の引き継ぎを行なった。SBF-SEM を実際に操作できるようになったことで，利用者の使用やトラブル対応がより迅速に行えるようになった。

【研究内容一覧表】

本年度は山手，明大寺の両地区の電子顕微鏡室が本格的に稼働したことが周知されたことにより，これまでの利用者だけでなく，多くの新規利用者が電子顕微鏡の利用を希望した。

前年同様，SBF-SEM に関連した利用者も多く，通常の SEM も含めすべての電子顕微鏡で多くの利用者があった。

以下，代表的な利用者の研究課題を掲載する。

平成 27 年度（2015 年度）　SBF-SEM　MERLIN 稼働率

年　月	総平日数	保守日数	使用可能日数	利用日数	利用時間（hr）	のべ利用者数	稼働率（日数）（利用日数/使用可能日数）（%）	備考
2015 年 4 月	21	0	21	28	566.0	40	133.3	
5 月	18	0	18	27	475.0	60	150.0	
6 月	22	0	22	18	230.5	22	81.8	
7 月	22	7	15	15	423.0	41	100.0	TFE-Tip，V3 バルブ交換
8 月	21	0	21	26	422.5	35	123.8	
9 月	19	1	18	12	149.0	15	66.7	光軸ズレ調整
10 月	21	0	21	19	254.0	19	90.5	
11 月	19	0	19	15	224.5	15	78.9	
12 月	19	0	19	22	354.0	35	115.8	
2016 年 1 月	19	0	19	15	237.5	23	78.9	
2 月	20	0	20	11	169.0	18	55.0	
3 月	22	0	22	12	187.0	20	54.5	
合計（平均）	243	8	235	220	3692.0	343	94.1	

平成 27 年度（2015 年度）　SBF-SEM　ΣIGMA/VP 稼働率

年　月	総平日数	保守日数	使用可能日数	利用日数	利用時間（hr）	のべ利用者数	稼働率（日数）（利用日数/使用可能日数）（%）	備考
2015 年 4 月	21	0	21	8	110.0	9	38.1	
5 月	18	0	18	7	168.0	10	38.9	
6 月	22	1	21	10	179.0	11	47.6	ペニングゲージ清掃
7 月	22	0	22	7	295.0	7	31.8	
8 月	21	0	21	12	183.0	15	57.1	
9 月	19	1	18	13	158.0	15	72.2	検出器交換と調整
10 月	21	1	20	11	328.0	26	55.0	画像が歪む不具合発生
11 月	19	0	19	9	145.0	10	47.4	
12 月	19	0	19	12	331.0	23	63.2	
2016 年 1 月	19	0	19	12	213.0	19	63.2	
2 月	20	0	20	11	176.0	17	55.0	
3 月	22	2	20	16	251.0	16	80.0	Option License インストール（Optiprobe）
合計（平均）	243	5	238	128	2537.0	178	54.1	

2015 年度　代表的な利用者の研究課題一覧

研究所・大学	研究部門	研究内容
生理学研究所	大脳神経回路	ラット大脳皮質の神経回路の研究
		大脳皮質の局所神経回路解析
		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
	細胞構造	上皮バリア機能を担う細胞間接着装置の微細形態の観察
基礎生物学研究所	進化発生	数種昆虫の翅形成過程観察
	環境光生物学	藻類の電顕試料作製と観察
		シロイヌナズナの花器官の観察
	初期発生	マウス 9 日目胚の外観撮影

(3) 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 7 名，基生研 10 名で，各コース共に半日の講習を行った。

数年前より導入されている 3D プリンターが活用されつつある。従来は，石膏を使用するフルカラープリンターを用いて，分子モデルや展示用模型を作ることが多かったが，本年より実験に直接使用する樹脂製品の製作依頼が増えている。試作により形状が確定したら，外部業者による高精度製作や当施設では利用できない材料（アクリルやチタン）での製作依頼を行っている。

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。

2015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

生理研					
認知行動発達機構	144	感覚認知情報	46	生体恒常機能発達機構	38
視覚情報処理	16	技術課	10	心理生理学	9
生体システム	9	形態情報解析室	5	大脳神経回路論	4
多光子顕微鏡	3	NBR 事業推進室	1	感覚運動調節	1
心循環シグナル	1	生体膜	1		

基生研					
光脳回路	14	環境光生物	12	光学解析室	7
共生システム	6	生物進化	5	NBR メダカ	3
形態形成	2	生物機能情報分析室	2	核内ゲノム動態	1
神経生理	1				

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	23	2	25	49
5	16	6	22	43
6	37	2	39	83
7	34	8	42	82
8	23	4	27	45
9	15	5	20	56
10	17	12	29	57
11	14	1	15	28
12	14	4	18	25
1	37	3	40	72
2	17	2	19	46
3	16	2	18	28
合計	263	51	314	614

機器研究試作室　利用機器表（件数）

月	フライス盤	ボール盤	横切り盤	コンタマシン	NC フライス	旋盤	ベルトグラインダー	切断機	その他
4	18	1	6	6	0	6	4	1	3
5	12	5	4	9	0	3	3	1	4
6	22	10	13	17	1	6	2	0	2
7	20	11	9	13	1	5	2	3	2
8	15	10	5	2	0	2	2	4	2
9	14	9	9	11	0	10	1	1	1
10	14	8	5	8	0	2	2	0	6
11	11	3	4	5	0	3	2	1	3
12	7	4	4	6	0	0	0	1	9
1	18	11	3	11	1	7	2	0	4
2	8	5	4	6	0	3	2	1	1
3	10	5	4	4	0	7	1	1	2
合計	169	82	70	98	3	54	23	14	39

機器研究試作室　依頼製作品例

機械工作	マウス用固定器	電気生理用チェンバー	恒温バス
電気工作	インキュベータ用 LED 照明	赤外線心拍計	UV ライトボックス
３Ｄ工作	可変容量計量スプーン	マウス下肢固定器	ガス麻酔用マスク

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，整備やサイバー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，数値計算，データ解析，可視化，数式処理，統計解析，DNA 配列情報解析，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。これらのアプリケーションはネットワーク認証により，各部門施設の PC 上で動作可能である。登録者は 116 名で，研究推進のために活用されている。

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，同様の認証機能を持つ無線 LAN は構内全域で利用可能である。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，策定したサイバーセキュリティポリシー等に基づいて対応をおこなうと共に，次なる対策を検討している。

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 450 名。WWW 登録者が 99 名。LAN の端末数が 2,076 台。所外からのメール受信数は 2,600 通／日，所外へのメール発信数は 3,000 通／日であった。WWW は 2,700 IP ／日の端末から 12,000 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】

齧歯類の授受件数は昨年度と比べ，導入はほぼ変わらず，搬出は 47%増加した。マウス受精卵凍結・クリーンアップ事業では，昨年と比べ，クリーンアップ件数が 4.5 倍，融解件数が 3 倍増加した。凍結精子や凍結受精卵による系統の授受が増加したためと考えられた。

齧歯類の微生物統御では，明大寺地区において *Clostridium piliforme*（Tyzzer 菌）を検出，山手地区 SPF 室において *Pasteurella pneumotropica* を検出し，それぞれに感染症対策を実施した。

施設整備面において，齧歯類微生物モニタリングの自家検査を行うための整備や，サル類検疫業務及び微生物検査を充実させるための整備を行った。また，齧歯類の取り扱い初心者を対象に，実験動物の基本的手技の実技講習を開始した。その他，明大寺地区は IC カードによる入退館システムの導入整備を行い，利用者講習会を行う準備などを行った。

明大寺の動物棟Ｉは，建設されてから 36 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，ラット等）と動物棟Ⅱ（マウス，ニホンザル，マーモセット等）を含む施設の機能改善および機能高度化を目的に，増築・改修に向けた話し合い，さらに概算要求に向けて

の準備が行われた。

山手の施設は 14 年を越えており，空調機器類の経年劣化による不具合が増え，今後の対策が必要である。

【明大寺/山手共通業務】

①齧歯類の授受について

年間でのべ 83 件の導入と 129 件の供与があった。平均すると毎週約 4 件の授受が行われており，昨年より増加した。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。

②受精卵凍結・クリーンアップ事業

受精卵凍結保存は 32 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 9 件，融解・移植は 16 件それぞれ実施した。昨年度と比較してクリーンアップ，凍結及び融解・移植件数が軒並み増加した。融解件数が増加したのは，外部からのマウス導入の際，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，凍結胚での導入が増加したことが考えられた。また同様の理由でマウス個体でなく，マウス凍結精子による系統の導入が昨年より増え，4 件行った。マウス凍結胚，マウス凍結精子による導入は，今後も増える傾向にあると考えられる。

【明大寺地区　陸生動物室】

①施設の利用状況について

陸生動物の飼養保管室利用部門数は，14 部門（生理研 12 部門, 基生研 1 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生殖・内分泌部門が 2 飼養保管室利用から 1 飼養保管室利用になったこと，年度末には，認知行動発達部門と光脳回路部門が異動に伴い匹数を減らしたため減少した。ラットは年度当初に認知行動発達部門が飼育を開始したため増加した。サルは昨年と比べ減少した。新たにマーモセット飼養保管室を立ち上げ飼養を開始した。

②齧歯類微生物モニタリングについて

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。

（1）Tyzzer 菌汚染：2016 年 2 月の定期検査において，明大寺地区 203 ラット室で Tyzzer 菌が検出された。同室および前室を同じくする飼養保管室の隔離飼育等の微生物コントロールを行った。その後，緊急検査のため全ケージから検体を採取し，同時に 203 室ラットは必要最小限を残し，安楽殺を行い，微生物検査を行ったところ, 203 室の 10 ケージで陽性を認めた。203 室ラットのクリーニングを行うために一部ラットを外部機関に輸送し，残りのラットは安楽死し，203 室のクリーニングを行った。緊急検査と同時にセンター内飼養保管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うこととし経過観察を行った。

（2）マウス地下 SPF 室は，1 部門 1 飼養保管室の利用があり，3 ヶ月に 1 度の定期微生物モニタリングを行ったが，問題無く運用出来た。

③施設整備について

（1）齧歯類の微生物検査が出来るよう，クリーンベンチ，安全キャビネット，オートクレーブ，ゲル撮影装置，プレートリーダー等を購入し，動物棟Ⅱ432 室の整備を行った。また技術職員 1 名が実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターへ微生物検査の技術習得のため 1 ヶ月間出張した。

（2）サル類検疫業務及び微生物検査を充実させるため，安全キャビネットを購入し，動物棟Ⅱ134 室の整備を行った。

（3）明大寺地区は IC カードによる入退館システムの導入整備を行い，利用者講習会を行う準備を行った。

（4）動物棟Ⅰの改修・増築，動物棟Ⅱの改修計画を概算要求に向けて立案した。

④主な工事及び修理について

（1）動物棟Ⅰの高圧蒸気滅菌機のタイマーが故障し真空行程から次の滅菌工程に移行しないため，その応急処置を行った。

（2）動物棟Ⅰ洗浄機の蒸気配管に穴が開き，修理を行った。また動物棟Ⅱの高圧蒸気滅菌機の蒸気配管にも穴が開き，修理を行った。

（3）動物棟Ⅱ432 室を齧歯類微生物モニタリング室に整備するため，電源コンセントの増設を行った。

（4）貯湯槽から空調機への温水配管が老朽化により穴が開いたため修理した。また，各部屋へ伸びている給湯配管でも管が破裂し，修理を行った。

（5）サル飼育室の飲水用フィルターのハウジングに亀裂が入り交換した。

（6）動物棟Ⅱの 1・2 階の空調排気ダンパーが落ち，火災報知器が鳴動する誤報があった。防炎防火ダンパーに不具合が発生した。

（7）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が不具合のため修理を行った。

（8）導入当初，マーモセット飼育装置の不具合が頻繁にあり，不具合の改善を行った。また恒温装置が故障し修理を行った。

（9）マウス検疫室の IVC 給排気装置の修理を行った。

（10）飼養保管室の照明安定器が故障し，333，336 室で交換を行った。131，132 室の照明タイマーが故障し交換を行った。

（11）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。真冬では温水槽に蒸気を直接吹き込んだり，温水・冷水ポンプを強制的に稼働させたりするなど，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・増築と併せて，整備していくことが必要である。

【山手地区 陸生動物室】

①施設の利用状況について

（1）陸生動物の飼養保管室利用部門数は，13 部門（生理研 8 部門，基生研 1 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。1 部門が新規に利用を開始した。

（2）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 23 名，そのうち実務講習会受講者は 16 名であった。

②齧歯類微生物モニタリングについて

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。

（1）*Pasteurella pneumotropica* 汚染事故・その 1： 2015 年 8 月の定期検査において SPF 飼育室の 1 室で *Pasteurella pneumotropica* が確認された。その飼養保管室を隔離飼育等の微生物コントロールを行った。バイトリルを飲水に混ぜて 2 週間投与，2 週間休止，2 週間投与を行った後，培養検査を行ったところ，陰性が確認されたため，11 月に対策を終了した。

（2）*Pasteurella pneumotropica* 汚染事故・その 2：2016 年 2 月の定期検査において，SPF 飼育室の 1 室で *Pasteurella pneumotropica* が確認された。その飼養保管室を隔離飼育等の微生物コントロールを行った。2015 年 8 月の対策時に，哺乳仔がいる中でバイトリル投与を行ったが，哺乳仔は十分な投与が出来ていない可能性が疑われたため，今回は哺乳仔を予め安楽殺した上で，バイトリルを飲水に混ぜて 2 週間投与，2 週間休止，2 週間投与をした後，糞便による微生物検査を行うこととした。

③施設整備について

施設運用面では，齧歯類の取り扱い初心者を対象に，動物福祉に配慮をした実験動物の基本的手技の実技講習を開始した。年 2 回行うこととし，7 名が受講した。

④主な工事及び修理について

（1）オートクレーブ 3 号機給水配管の漏水修理

（2）リボイラー・オートクレーブ 2 号機蒸気漏れ修理

（3）オートクレーブ 1・3 号機ドアセンサー異常（その後正常に戻ったため未修理）

（4）オートクレーブ 1 号機温度センサー交換

（5）オートクレーブ 3 台の真空ポンプ交換

（6）4 階パイプスペース配管の蒸気漏れ修理

（7）ケージ洗浄機緊急停止ボタンが故障し，応急修理 SPF1,3,7,9 飼育室，3･4 階洗浄倉庫，4 階 SPF 実験室，4 階融解移植室，3 階クリーン準備室，3 階クリーン廊下のアクチュエーター不調のため調整

（8）2 階自動扉前天井の上水配管からの漏水のため修理

（9）吸収式冷温水発生機故障のため修理

（10）空調機湿度異常のため調整

（11）空調機器類の経年劣化による不具合が増えつつあり，アクチュエーターについては次年度に点検，修理を予定している。

【明大寺及び山手地区 水生動物室】

①　施設の利用状況について

（1）明大寺地区では，生理研 1 部門，基生研 5 部門が利用している。

（2）山手地区では，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。

②主な工事及び修理について

（1）山手地区水生室排水トラップの錆による劣化修理

（2）山手地区水生室水槽用加熱冷却ユニット故障のため新規交換

陸生動物　部門別・動物種別搬入数（2015 年度）

部門＼動物種	明大寺地区							山手地区	
	マウス	ラット	ハムスター	モルモット	ウサギ	マーモセット	サル	マウス	ラット
神経機能素子	14								
生体膜								173	56
分子神経生理	69							153	4
神経シグナル		6						62	220
感覚認知情報							5		
生体システム	281	12				8	3	2	
認知行動発達	385	38				16	10	42	
脳形態解析								32	2
大脳神経回路論	80							97	61
形態情報解析室									
生体機能情報解析室									
広報展開推進室									
生殖内分泌系	255								
生体恒常機能	711	21						1	
行動様式解析室	57							38	
多光子顕微鏡室	30	48							
動物実験センター	28	10				2		332	26
統合神経生物学									92
光脳回路	533							42	
核内ゲノム動態								83	
視覚情報処理	434	614						3	5
個別研究									20
分子環境生物学									
細胞生理								711	3
遺伝子改変動物作製室								1,554	749
心循環シグナル								615	187
合計	2,877	749				26	18	3,940	1,425

【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 102
分子神経生理研究部門 102
生体膜研究部門 102
細胞生理研究部門 103
感覚認知情報研究部門 104
神経シグナル研究部門 104
視覚情報処理研究部門 105
心循環シグナル研究部門 105
感覚運動調節研究部門 106
生体システム研究部門 107
脳形態解析研究部門 107
大脳神経回路論研究部門 108
心理生理学研究部門 108
認知行動発達機構研究部門 109
生体恒常機能発達機構研究部門 111
生殖・内分泌系発達機構研究部門 112
個別研究（村上グループ） 112
遺伝子改変動物作製室 112
行動様式解析室 113
形態情報解析室 113
多光子顕微鏡室 113
ウイルスベクター開発室 114
霊長類モデル動物室 114
生体制御シグナル研究部門 114
神経分化研究部門 115
動物実験センター 115

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1) 英文原著論文

1. 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: 27-46. doi: 10.1093/ chemse/bju057.
2. Kitazawa M, Kubo Y, Nakajo K (2015) Kv4.2 and Accessory Dipeptidyl Peptidase-like Protein 10 (DPP10) Subunit Preferentially Form a 4:2 (Kv4.2: DPP10) Channel Complex. J Biol Chem 290: 22724-22733. doi: 10.1074/jbc.M115.646794.
3. Tsukamoto H, Kubo Y, Farrens DL, Koyanagi M, Terakita A, Furutani Y (2015) Retinal Attachment Instability Is Diversified among Mammalian Melanopsins. J Biol Chem 290: 27176-27187. doi: 10.1074/jbc.M115.666305.

2) 英文総説（査読のあるもの）

1. Nakajo K, Kubo Y (2015) KCNQ1 channel modulation by KCNE proteins via the voltage-sensing domain. J Physiol 593: 2617-2625. doi: 10.1113/jphysiol.2014.287672.

《分子神経生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Fan K, Li D, Zhang Y, Han C, Liang J, Hou C, Xiao H, Ikenaka K, Ma J (2015) The induction of neuronal death by up-regulated microglial cathepsin H in LPS-induced neuroinflammation. J Neuroinflammation 12:54. doi: 10.1186/s 12974-015-0268-x.
2. Takebayashi H, Ikenaka K (2015) Oligodendrocyte generation during mouse development. Glia 63: 1350-1356. doi: 10.1002/glia.22863.
3. Hoshino M, Seto Y, Nakatani T, Kawaguchi Y, Ikenaka K, Takebayashi H, Ono Y, Yamada M (2015) Spatiotemporal regulation of neural progenitor identities by transcription factors. Int J Dev Neurosci 47(Pt A): 70-71. doi: 10.1016/j.ijdevneu.

《生体膜研究部門》

1) 英文原著論文

1. Yokoi N, Fukata Y, Kase D, Miyazaki T, Jaegle M, Ohkawa T, Takahashi N, Iwanari H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Imoto K, Meijer D, Watanabe M, Fukata M (2015) Chemical corrector treatment ameliorates increased seizure susceptibility in a mouse model of familial temporal lobe epilepsy. Nat Med 21:19-26. doi: 10.1038/nm.3759.
2. Zhu D, Li C, Swanson AM, Villalba RM, Guo J, Zhang Z, Matheny S, Murakami T, Stephenson JR, Daniel S, Fukata M, Hall RA, Olson JJ, Neigh GN, Smith Y, Rainnie DG, Van Meir EG (2015) BAI1 regulates spatial learning and synaptic plasticity in the hippocampus. J Clin Invest 125:1497-1508. doi: 10.1172/JCI74603.
3. Suzuki M, Murakami T, Cheng J, Kano H, Fukata M, Fujimoto T (2015) ELMOD2 is anchored to lipid droplets by palmitoylation and regulates ATGL recruitment. Mol Biol Cell 15:26:2333-2342. doi: 10.1091/mbc.E14-11-1504.
4. Lovero KL, Fukata Y, Granger AJ, Fukata M, Nicoll RA (2015) The LGI1-ADAM22 protein complex directs synapse maturation through regulation of PSD-95

function. Proc Natl Acad Sci USA 112: E4129-E4137. doi: 10.1073/pnas.1511910112.

2) 英文総説

1. Fukata M, Sekiya A, Murakami T, Yokoi N, Fukata Y (2015) Postsynaptic nanodomains generated by local palmitoylation cycles. Biochem Soc Trans 43:199-204. doi: 10.1042/BST20140238.

3) 研究関係著作

1. 横井紀彦, 深田正紀, 深田優子 (2015) ケミカルシャペロンを用いた蛋白質構造異常の修復はてんかんモデルマウスの上昇したけいれん感受性を軽減する. 細胞工学(秀潤社) 34: 512-513.（転載）細胞工学別冊「最新バイオ論文解説総集編 今, この論文が熱い 1」34-35

《細胞生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. 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 (2015) The thermosensitive TRPV3 channel contributes to rapid wound healing in oral epithelia. FASEB J 29: 182-192. doi: 10.1096/fj.14-251314.
2. Ohara K, Fukuda T, Okada H, Kitao S, Ishida Y, Kato K, Takahashi C, Katayama M, Uchida K, Tominaga M (2015) Identification of Significant Amino Acids in Multiple Transmembrane Domains of Human Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) for Activation by Eudesmol, an Oxygenized Sesquiterpene in Hop Essential Oil. J Biol Chem 290: 3161-3171. doi: 10.1074/jbc.M114.600932.
3. Shibasaki K, Tominaga M, ishizaki Y (2015) Hippocampal neuronal maturation triggers post-synaptic clustering of brain temperature-sensor TRPV4. Biochem Biophys Res Commun 458: 168-173. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.087.
4. Takayama Y, Uta D, Furue H, Tominaga M (2015) Pain-enhancing mechanism through interaction between TRPV1 and anoctamin 1 in sensory neurons. Proc Natl Acad Sci USA 112: 5213-5218. doi: 10.1073/pnas.1421507112.
5. Kashio M, Tominaga M (2015) Redox Signal-mediated Enhancement of the Temperature Sensitivity of Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) Elevated Glucose-induced Insulin Secretion from Pancreatic Islets. J Biol Chem 290: 12435-12442. doi: 10.1074/jbc.M115.649913.
6. Hatakeyama Y, Takahashi K, Tominaga M, Kimura H, Ohta T (2015) Polusulfide evokes acute pain through the activation of nociceptive TRPA1 in mouse sensory neurons. Molec Pain 11: 24. doi: 10.1186/s12990-015-0023-4.
7. Yoshiyama M, Mochizuki T, Nakagomi H, Miyamoto T, Kira S, Mizumachi R, Sokabe T, Takayama Y, Tominaga M, Takeda M (2015) Functional roles of TRPV1 and TRPV4 in control of lower urinary tract activity: dual analysis of behavior and reflex during the micturition cycle. Am J Physiol Renal Physiol 308: F1128-F1134. doi: 10.1152/ajprenal.00016.2015.
8. Peng G, Kashio M, Morimoto T, Li T, Zhu J, Tominaga M, Kadowaki T (2015) Plant-Derived Tick Repellents Activate the Honey Bee Ectoparasitic Mite TRPA1. Cell Rep 12: 190-202. doi: 10.1016/j.celrep.2015.06.025.
9. Nishimoto R, Kashio M, Tominaga M (2015) Propofol-induced pain sensation involves multiple mechanisms in sensory neurons. Pflüger Archiv Eur J Physiol 467: 2011-2020. doi: 10.1007/s00424-014-1620-1.
10. Jang Y, Lee SH, Lee B, Jung S, Khalid A, Uchida K, Tominaga M, Jeon DJ, Oh U (2015) TRPM2, a Susceptibility Gene for Bipolar Disorder, Regulates Glycogen Synthase Kinase-3 Activity in the Brain. J Neurosci 35: 11811-11823. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5251-14.2015.
11. Kurashina T, Dezaki K, Yoshida M, Sukma Rita R, Ito K, Taguchi M, Miura R, Tominaga M, Ishibashi S, Kakei M, Yada T (2015) The β-cell GHSR and downstream cAMP/TRPM2 signaling account for insulinostatic and

glycemic effects of ghrelin. Sci Rep 5: 14041. doi: 10.1038/srep14041.

12. Suzuki N, Mihara H, Nishizono H, Tominaga M, Sugiyama T (2015) Protease-Activated Receptor-2 Up-Regulates Transient Receptor Potential Vanilloid 4 Function in Mouse Esophageal Keratinocyte. Dig Dis Sci 60: 3570-3578. doi: 10.1007/s10620-015-3822-6.
13. Watanabe M, Suzuki Y, Uchida K, Miyazaki N, Murata K, Matsumoto S, Kakizaki H, Tominaga M (2015) Trpm7 Protein Contributes to Intercellular Junction Formation in Mouse Urothelium. J Biol Chem 290: 29882-29893. doi: 10.1074/jbc.M115.667899.
14. Kim M, Goto T, Yu R, Uchida K, Tominaga M, Kano Y, Takahashi N, Kawada T (2015) Fish oil intake induces UCP1 upregulation in brown and white adipose tissue via the sympathetic nervous system. Sci Rep 5: 18013. doi: 10.1038/srep18013.
15. Yatsu R, Miyagawa S, Kohno S, Saito S, Lowers RH, Ogino Y, Fukuta N, Katsu Y, Ohta Y, Tominaga M, Guillette LJ Jr, Iguchi T (2015) TRPV4 associates environmental temperature and sex determination in the American alligator. Sci Rep 5: 18581. doi: 10.1038/srep18581.

2) 英文総説

1. Saito S, Tominaga M (2015) Functional diversity and evolutionary dynamics of thermoTRP channels. Cell Calcium 57(3): 214-221. doi: 10.1016/j.ceca.2014.12.001.

3) 研究関係著作

1. 富永真琴 (2015) TRP チャネルのレドックス制御. “別冊「医学のあゆみ」レドックス UPDATE―ストレス制御の臨床医学・健康科学―”（淀井淳司, 平家俊男 監修; 生田宏一, 杉田昌彦, 塚原宏一, 豊國伸哉, 前田裕弘 編）, 医歯薬出版, pp 80-84.
2. 富永真琴 (2015) TRP チャネル(TRPV1, TRPA1)と侵害刺激受容. Journal of Neuroscience for Pain Research 18: 1-5.
3. 富永真琴 (2015) 温度感受性 TRP チャネルと疾患. ファルマシア 51(11): 1047-1052.
4. 富永真琴 (2015) わさびで「つーん」とするのはなぜですか？ Clinical Neuroscience 34(4): 483.

《感覚認知情報研究部門》

1) 英文原著論文

1. Okazawa G, Tajima S, Komatsu H (2015) Image statistics underlying natural texture selectivity of neurons in macaque V4. Proc Natl Acad Sci USA 112:E351-E360. doi: 10.1073/pnas.1415146112.
2. Sasaki K.S., Kimura R, Ninomiya T, Tabuchi Y, Tanaka H, Fukui M, Asada YC, Arai T, Inagaki M, Nakazono T, Baba M, Kato D, Nishimoto S, Sanada TM, Tani T, Imamura K, Tanaka S, Ohzawa I (2015) Supranormal orientation selectivity of visual neurons in orientation-restricted animals. Sci Rep 5:16712. doi: 10.1038/srep16712.
3. Suzuki W, Banno T, Miyakawa N, Abe H, Goda N, Ichinohe N (2015) Mirror neurons in a New World monkey, common marmoset. Front Neurosci 9:459. doi: 10.3389/fnins.2015.00459.

2) 研究関係著作

1. 小松英彦 (2015) 質感がなぜ重要か. Brain and Nerve 67(6): 663-668.

《神経シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Mori Y, Tomonaga D, Kalashnikova A, Furuya F, Akimoto N, Ifuku M, Okuno Y, Beppu K, Fujita K, Katafuchi T, Shimura H, Churilov LP, Noda M (2015) Effects of 3,3',5-triiodothyronine on microglial functions. Glia 63: 906-20. doi: 10.1002/glia.22792.
2. Kase D, Uta D, Ishihara H, Imoto K (2015) Inhibitory synaptic transmission from the substantia nigra pars

reticulata to the ventral medial thalamus in mice. Neurosci Res 97:26-35.
doi: 10.1016/j.neures.2015.03.007.

3. Yamagata Y, Nairn AC (2015) Contrasting features of ERK1/2 activity and synapsin I phosphorylation at the ERK1/2-dependent site in the rat brain in status epilepticus induced by kainic acid *in vivo*. Brain Res 1625:314-323. doi: 10.1016/j.brainres.2015.08.023.
4. Tonomura S, Ebara S, Bagdasarian K, Uta D, Ahissar E, Meir I, Lampl I, Kuroda D, Furuta T, Furue H, Kumamoto K (2015) Structure-function correlations of rat trigeminal primary neurons: Emphasis on club-like endings, a vibrissal mechanoreceptor. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 91:560-576. doi: 10.2183/pjab.91.560.

2) 英文総説（査読あり）

1. Satake S, Inoue T, Imoto K (2016) Synaptic multivesicular release in the cerebellar cortex: its mechanism and role in neural encoding and processing. Cerebellum 15:201-207. doi: 10.1007/s12311-015-0677-5.

3) 研究関係著作}

1. 山田彬博，古江秀昌 (2015) 神経障害性痛で生じるClイオン濃度勾配はGABAで痛みが生じるほど大きな変化なのですか．Life Support and Anesthesia 22:130-131.

《視覚情報処理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Sugimura T, Yoshimura Y, Komatsu Y (2015) TNFα is required for the production of T-type Ca^{2+} channel-dependent long-term potentiation in visual cortex. Neurosci Res 96: 37-44. doi: 10.1016/j.neures.2015.02.005.

2) 研究関係著作

1. 石川理子 (2015) 視覚経験依存的な大脳皮質視覚野の微小神経回路網の形成．日本神経回路学会誌 22(1): 37-43.

《心循環シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Gentry LR, Nishimura A, Cox AD, Martin TD, Tsygankov D, Nishida M, Elston TC, Der CJ (2015) Divergent Roles of CAAX Motif-signaled Posttranslational Modifications in the Regulation and Subcellular Localization of Ral GTPases. J Biol Chem 290: 22851-22861.
doi: 10.1074/jbc.M115.656710.
2. Shinkai Y, Abiko Y, Ida T, Miura T, Kakehashi H, Ishii I, Nishida M, Sawa T, Akaike T, Kumagai Y (2015) Reactive Sulfur Species-Mediated Activation of the Keap1-Nrf2 Pathway by 1,2-Naphthoquinone through Sulfenic Acids Formation under Oxidative Stress. Chem Res Toxicol 28: 838-847. doi: 10.1021/tx500416y.
3. Torii M, Kojima D, Nishimura A, Itoh H, Fukada Y (2015) Light-dependent activation of G proteins by two isoforms of chicken melanopsins. Photochem Photobiol Sci 14: 1991-1997. doi: 10.1039/c5pp00153f.
4. Numaga-Tomita T, Nishida M, Putney JW Jr, Mori Y (2016) TRPC3 amplifies B cell receptor-induced ERK signaling via protein kinase D-dependent Rap1activation. Biochem J 473(2):201-210. doi: 10.1042/BJ20150596..
5. Mangmool S, Denkaew T, Phosri S, Pinthong D, Parichatikanond W, Shimauchi T, Nishida M (2016) Sustained βAR stimulation mediates cardiac insulin resistance in a PKA-dependent manner. Mol Endocrinol 30:118-132. doi: 10.1210/me.2015-1201.

2) 英文総説（査読あり）

1. Nishida M, Kuwahara K, Kozai D, Sakaguchi R, Mori Y (2015) TRP Channels: Their Function and Potentiality as Drug Targets. “Innovative Medicine: Basic Research and Development” (eds Nakao K, Minato N, Uemoto S), Springer Open, pp 195-218.
doi: 10.1007/978-4-431-5561-0_17.
2. Fujii S, Sawa T, Nishida M,, Ihara H, Ida T, Motohashi H,

Akaike T (2016) Redox signaling regulated by an electrophilic cyclic nucleotide and reactive cysteine persulfides. Arch Biochem Biophys 595:140-146. doi: 10.1016/j.abb.2015.11.008.

3. Nishida M, Kumagai Y, Ihara H, Fujii S, Motohashi H, Akaike T (2016) Redox signaling regulated by electrophiles and reactive sulfur species. J Clin Biochem Nutr 58(2):91-98. doi: 10.3164/jcbn.15-111.

3) 研究関係著作

1. 西田基宏, 森泰生 (2015) RSS による G タンパク質/TRP シグナル制御.　細胞工学 34: 366-371.
2. 西田基宏, 西村明幸 (2015) 心臓レジリエンスを制御する酸素シグナリング. 実験医学(増刊) 33:1562-1567.
3. 西田基宏, 島内司 (2015) ガス様シグナルの破綻と疾患. 医学のあゆみ 254: 334-338.

《感覚運動調節研究部門》

1) 英文原著論文

1. Suzuki M, Nagae M, Nagata Y, Kumagai N, Inui K, Kakigi R (2015) Effects of refractive errors on visual evoked magnetic fields. BMC Ophthalmol 15:162. doi: 10.1186/s12886-015-0152-6.
2. Inoue T, Sakuta Y, Shimamura K, Ichikawa H, Kobayashi M, Otani R, Yamaguchi MK, Kanazawa S, Kakigi R, Sakuta R (2015) Differences in the pattern of hemodynamic response to self-face and stranger-face images in adolescents with anorexia nervosa: A near-infrared spectroscopic study. PLoS ONE 10: e0132050. doi: 10.1371/journal.pone.0132050.
3. Keceli S, Okamoto H, Kakigi R (2015) Hierarchical neural encoding of temporal regularity in the human auditory cortex. Brain Topogr 28:459-470. doi 10.1007/s10548-013-0300-3.
4. Okamoto H, Kakigi R (2015) Hemispheric asymmetry of auditory mismatch negativity elicited by spectral and temporal deviants: a magnetoencephalographic study. Brain Topogr 28:471-478. doi:10.1007/s10548-013-0347-1.
5. Miki K, Honda Y, Takeshima Y, Watanabe S, Kakigi R (2015) Differential age-related changes in N170 responses to upright faces, inverted faces, and eyes in Japanese children.　Front Hum Neurosci 9:263. doi: 10.3389/fnhum.2015.00263.
6. Nakata H, Sakamoto K, Kakigi R (2015) Effects of task repetition on event-related potentials in somatosensory Go/No-go paradigms. Neurosci Lett 594:82-86. doi: 10.1016/j.neulet.2015.03.055.
7. Nakata H, Sakamoto K, Honda Y, Kakigi R (2015) Temporal dynamics of neural activity in motor execution and inhibition processing. Eur J Neurosci 41:1448-1458. doi: 10.1111/ejn.12889.
8. Matsuyoshi D, Morita T, Kochiyama T, Tanabe HC, Sadato N, Kakigi R (2015) Dissociable cortical pathways for qualitative and quantitative mechanisms in the face inversion effect. J Neurosci 35: 4268-4279. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3960-14.2015.
9. Sakamoto K, Nakata H, Yumoto M, Sadato N, Kakigi R (2015) Mastication accelerates Go/No-go decisional processing: An event-related potential study. Clin Neurophysiol 126:2099-2107. doi: 10.1016/j.clinph.2014.12.034.
10. Noguchi Y, Kimijima S, Kakigi R (2015) Direct behavioral and neural evidence for an offset-triggered conscious perception. Cortex 65: 159-172. doi: 10.1016/j.cortex.2015.01.017.
11. Okamoto H, Kakigi R (2015) Encoding of frequency-modulation (FM) rates in human auditory cortex. Sci Rep .5:18143. doi: 10.1038/srep18143.

2) 英文総説（査読あり）

1. Mochizuki H, Kakigi R (2015) Itch and Brain. J Dermatol 42:761-767. doi: 10.1111/1346-8138.12956.
2. Kida T, Kakigi R (2015) Neural mechanisms of attention involved in perception and action: From neuronal activity to network. J Physic Fitn Spor Med 4:161-169. doi: org/10.7600/jpfsm.4.161.
3. Nakata H, Sakamoto K, Kakigi R (2015) Meditation reduces pain-related neural activity in the anterior

cingulate cortex, insula, secondary somatosensory cortex, and thalamus. Front Psychol 5:1489. doi: 10.3389/fpsyg.2014.01489.

3) 研究関係著作

1. 柿木隆介 (2015) 中枢神経内における痛みの調節.“痛みの臨床テキスト”(小川節郎 編), 南江堂, 東京, pp 80-85.
2. 三木研作, 柿木隆介 (2015) 脳波・脳磁図を用いた顔認知機構の解明.“顔の百科事典”(日本顔学会編), 丸善出版, pp 251-255.
3. 中田大貴, 柿木隆介 (2015) 運動による除痛効果. ペインクリニック 36: 592-600.
4. 柿木隆介 (2015) 大脳皮質を見る：脳磁図(MEG). Brain and Nerve 67:451-466.
5. 柿木隆介 (2015) 神経イメージング手法を用いた痛みの脳内認知機構の解明　ー特に運動による除痛効果についてー. Practice of Pain Management 6: 49-53.

《生体システム研究部門》

1) 英文原著論文

1. Sano H, Murata H, Nambu A (2015) Zonisamide reduces nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in a mouse genetic model of Parkinson's disease.　J Neurochem 134: 371-381. doi: 10.1111/jnc.13116
2. Chiken S, Sato A, Ohta C, Kurokawa M, Arai S, Maeshima J, Sunayama-Morita T, Sasaoka T, Nambu A (2015) Dopamine D1 receptor-mediated transmission maintains information flow through the cortico-striato-entopeduncular direct pathway to release movements. Cereb Cortex 25: 4885-4897. doi: 10.1093/cercor/bhv209

2) 英文総説

1. Nambu A, Tachibana Y, Chiken S (2015) Cause of parkinsonian symptoms: Firing rate, firing pattern or dynamic activity changes?　Basal Ganglia 5:1-6. doi: 10.1016/j.baga.2014.11.001
2. Chiken S, Nambu A (2016) Mechanism of Deep Brain Stimulation: Inhibition, Excitation, or Disruption? Neuroscientist 22: 313-322. doi: 10.1177/ 1073858415581986

3) 研究関係著作

1. 佐野裕美, 小林和人, 南部 篤 (2015) 大脳基底核による運動制御と病態生理.“分子脳科学 : 分子から脳機能と心に迫る”(三品昌美 編), 化学同人, pp 44-55.
2. 南部 篤 (2015) 強化学習.“神経科学の最前線とリハビリテーション：脳の可塑性と運動”(里宇明元, 牛場潤一 監修), 医歯薬出版, pp 31-36.
3. 南部 篤 (2015) 大脳基底核の機能解剖.“脳神経外科医が知っておくべきニューロサイエンスの知識. 脳神経外科診療プラクティス 6”(橋本信夫 監修), 文光堂, pp 75-76.
4. 知見聡美, 南部 篤 (2015) 視床の機能解剖.“脳神経外科医が知っておくべきニューロサイエンスの知識. 脳神経外科診療プラクティス 6”(橋本信夫 監修), 文光堂, pp77-78.

《脳形態解析研究部門》

1) 英文原著論文

1. Yokouchi M, Kubo A, Kawasaki H, Yoshida K, Ishii K, Furuse M, Amagai M (2015) Epidermal tight junction barrier function is altered by skin inflammation, but not by filaggrin-deficient stratum corneum. J Dermatol Sci 77:28-36. doi: 10.1016/j.jdermsci.2014.11.007.
2. Tokuda S, Furuse M (2015) Claudin-2 knockout by TALEN-mediated gene targeting in MDCK cells: claudin-2 independently determines the leaky property of tight junctions in MDCK cells. PLoS ONE 10:e0119869. doi: 10.171/journal.pone.0119869.
3. Higashi T, Katsuno T, Kitajiri S, Furuse M (2015) Deficiency of angulin-2/ILDR1, a tricellular tight junction-associated membrane protein, causes deafness

with cochlear hair cell degeneration in mice. PLoS ONE 10:e0120674. doi: 10.1371/journal.pone.0120674.

4. Tokuda S, Kim YH, Matsumoto H, Muro S, Hirai T, Mishima M, Furuse M (2015) Effects of Hydrostatic Pressure on Carcinogenic Properties of Epithelia. PLoS ONE 10:e0145522. doi: 10.1371/journal.pone.0145522.

2) 研究関係著作

1. 古瀬幹夫 (2015) タイトジャンクションと上皮バリア機能. 臨床免疫・アレルギー科 64:1-6.
2. 古瀬幹夫, 岩本典子 (2015) タイトジャンクションの分子生物学. G.I. Research 23:473-478.

《大脳神経回路論研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kubota Y, Kondo S, Nomura M, Hatada S, Yamaguchi N, Mohamed AA, Karube F, Lübke J, Kawaguchi Y (2015) Functional effects of distinct innervation styles of pyramidal cells by fast spiking cortical interneurons. eLife 4:e07919. doi: 10.7554/eLife.07919.
2. Morita K, Kawaguchi Y (2015) Computing reward prediction error: an integrated account of cortical timing and basal-ganglia pathways for appetitive and aversive learning. Eur J Neurosci 42: 2003-2021. doi: 10.1111/ejn.12994.
3. Ushimaru M, Kawaguchi Y (2015) Temporal structure of neuronal activity among cortical neuron subtypes during slow oscillations in anesthetized rats. J Neurosci 35: 11988-12001. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5074-14.2015.

2) 英文総説（査読あり）

1. Kubota Y (2015) New developments in electron microscopy for serial image acquisition of neuronal profiles. Microscopy 64: 27-36. doi: 10.1093/jmicro/dfu111.
2. Sakakibara A, Hatanaka Y (2015) Neuronal polarization in the developing cerebral cortex. Front Neurosci 9:116. doi: 10.3389/fnins.2015.00116.

3) その他

1.畠中由美子 (2015) 大脳皮質興奮性ニューロンの軸索伸長方向から見た、興奮性回路の形成のルール. 科研費 NEWS 2:16.

《心理生理学研究部門》

1) 英文原著論文

1. Koyama S, Tanaka S, Tanabe S, Sadato N (2015) Dual-hemisphere transcranial direct current stimulation over primary motor cortex enhances consolidation of a ballistic thumb movement. Neurosci Lett 588:49-53. doi: 10.1016/j.neulet.2014.11.043.
2. Kawamichi H, Kitada R, Yoshihara K, Takahashi H, Sadato N (2015) Interpersonal touch suppresses visual processing of aversive stimuli. Front Hum Neurosci 9:164. doi: 10.3389/fnhum.2015.00164.
3. Ohi K, Hashimoto R, Ikeda M, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Fukunaga M, Fujino H, Watanabe Y, Iwase M, Kazui H, Iwata N, Weinberger DR, Takeda M (2015) Glutamate networks implicate cognitive impairments in schizophrenia: genome-wide association studies of 52 cognitive phenotypes. Schizophr Bull 41(4):909-918. doi:10.1093/schbul/sbu171.
4. Kawamichi H, Yoshihara K, Sugawara SK, Matsunaga M, Makita K, Hamano YH, Tanabe HC, Sadato N (2015) Helping behavior induced by empathic concern attenuates anterior cingulate activation in response to others' distress. Soc Neurosci 11(2):109-122. doi: 10.1080/17470919.2015.1049709.
5. Kawamichi H, Yoshihara K, Sasaki AT, Sugawara SK, Tanabe HC, Shinohara R, Sugisawa Y, Tokutake K, Mochizuki Y, Anme T, Sadato N (2015) Perceiving active listening activates the reward system and improves the

impression of relevant experiences. Soc Neurosci 10(1):16-26. doi:10.1080/17470919.2014.954732.

6. Shimada K, Hirotani M, Yokokawa H, Yoshida H, Makita K, Yamazaki-Murase M, Tanabe HC, Sadato N (2015) Fluency-dependent cortical activation associated with speech production and comprehension in second language learners. Neuroscience 300:474-492. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.045.
7. Mizuno K, Tanaka M, Tanabe H. C, Joudoi T, Kawatani J, Shigihara Y, Tomoda A, Miike T, Imai-Matsumura K, Sadato N, Watanabe Y (2015) Less efficient and costly processes of frontal cortex in childhood chronic fatigue syndrome. NeuroImage: Clinical 9:355-368. doi: 10.1016/j.nicl.2015.09.001.
8. Hayashi MJ, Ditye T, Harada T, Hashiguchi M, Sadato N, Carlson S, Walsh V, Kanai R (2015) Time adaptation shows duration selectivity in the human parietal cortex. PLoS Biol 13(9): e1002262. doi:10.1371/journal.pbio.1002262.
9. Hayashi MJ, Ditye T, Harada T, Hashiguchi M, Sadato N, Carlson S, Walsh V, Kanai R (2015) Correction: Time Adaptation Shows Duration Selectivity in the Human Parietal Cortex. PLoS Biol 13(11):e1002296. doi: 10.1371/journal.pbio.1002296.
10. Okazaki S, Hirotani M, Koike T, Bosch-Bayard J, Takahashi HK, Hashiguchi M, Sadato N (2015) Unintentional interpersonal synchronization represented as a reciprocal visuo-postural feedback system: a multivariate autoregressive modeling approach. PLoS ONE 10(9):e0137126. doi: 10.1371/journal.pone.0137126.
11. Koike T, Tanabe HC, Okazaki S, Nakagawa E, Sasaki AT, Shimada K, Sugawara SK, Takahashi HK, Yoshihara K, Bosch-Bayard J, Sadato N (2015) Neural substrates of shared attention as social memory: A hyperscanning functional magnetic resonance imaging study. NeuroImage 125:401-412. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.09.076.
12. Takahashi HK, Kitada R, Sasaki AT, Kawamichi H, Okazaki S, Kochiyama T, Sadato N (2015) Brain networks of affective mentalizing revealed by the tear effect: The integrative role of the medial prefrontal cortex and precuneus. Neurosci Res 101:32-43. doi: 10.1016/j.neures.2015.07.005.
13. Mizuno K, Takiguchi S, Yamazaki M, Asano M, Kato S, Kuriyama K, Watanabe Y, Sadato N, Tomoda A (2015) Impaired neural reward processing in children and adolescents with reactive attachment disorder: A pilot study. Asian J Psychiatr 2015 Oct;17:89-93. doi: 10.1016/j.ajp.2015.08.002.

2) 英文総説（査読あり）

1. Koike T, Tanabe HC, Sadato N (2015) Hyperscanning neuroimaging technique to reveal the "two-in-one" system in social interactions. Neurosci Res 90C:25-32. doi: 10.1016/j.neures.2014.11.006.

3) 研究関係著作

1. 定藤規弘 (2015) 脳科学より褒めの教育効果を考える. LD 研究 24(1):61-67.
2. 定藤規弘 (2015) 社会神経科学の諸課題と展望. Clinical Neuroscience 33(2):136-138.
3. 福永雅喜 (2015) fMRI の検出原理と脳機能解釈 -- BOLD 信号の起源とその意味. インナービジョン 30:9:7-9.
4. 定藤規弘 (2015) 機能的 MRI(fMRI)の基本.“脳神経外科プラクティス 6. 脳神経外科医が知っておくべきニューロサイエンスの知識”(橋本信夫 監修, 三國信啓, 深谷親 編集), 文光堂, 東京, pp153-154.

《認知行動発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Sawada M, Kato K, Kunieda T, Mikuni N, Miyamoto S, Onoe H, Isa T, Nishimura Y (2015) Function of nucleus accumbens in motor control during recovery after spinal cord injury. Science 350: 98-101. doi: 10.1126/science.aab3825.
2. Yoshida M, Isa T (2015) Signal detection analysis of blindsight in monkeys. Sci Rep 5:10755. doi: 10.1038/srep10755.
3. Kato K, Sasada S, Nishimura Y (2015) Flexible

adaptation to an artificial recurrent connection from muscle to peripheral nerve in man. J Neurophysiol 115：978-991. doi: 10.1152/jn.00143.2015.

4. Murata Y, Higo N, Hayashi T, Nishimura Y, Sugiyama Y, Oishi T, Tsukada H, Isa T, Onoe H (2015) Temporal plasticity involved in recovery from manual dexterity deficit after motor cortex lesion in macaque monkeys. J Neurosci 35: 84-95. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1737-14.2015.
5. Kondo T, Yoshihara Y, Saito-Yoshino K, Sekiguchi T, Kosugi A, Miyazaki Y, Nishimura Y, Okano HJ, Nakamura M. Okano H, Isa T, Ushiba J (2015) Histological and electrophysiological analysis of the corticospinal pathway to forelimb motoneurons in common marmosets. Neurosci Res 98: 35-44. doi: 10.1016/j.neures.2015.05.001.
6. Murata Y, Higo N, Oishi T, Isa T (2015) Increased expression of the growth-associated protein-43 gene after primary motor cortex lesion in macaque monkeys. Neurosci Res 98: 64-69. doi: 10.1016/j.neures.2015.04.007.
7. Watakabe A, Ohtsuka M, Kinoshita M, Takaji M, Isa K, Mizukami H, Ozawa K, Isa T, Yamamori T (2015) Comparative analyses of adeno-associated viral vector serotypes 1, 2, 5, 8 and 9 in marmoset, mouse and macaque cerebral cortex. Neurosci Res 93:144-157. doi: 10.1016/j.neures.2014.09.002. Epub 2014 Sep 18.
8. Carelli FN, Hayakawa T, Go Y, Imai H, Warnefors M, Kaessmann H (2016) The life history of retrocopies illuminates the evolution of new mammalian genes. Genome Research 26：301-314 doi: 10.1101/gr.198473.115.
9. Suzuki-Hashido N, Hayakawa T, Matsui A, Go Y, Ishimaru Y, Misaka T, Abe K, Hirai H, Satta Y, Imai H (2015) Rapid expansion of phenylthiocarbamide non-tasters among Japanese macaques. PLoS ONE 10:e0132016. doi: 10.1371/journal.pone.0132016.

2) 研究関係著作

1. Isa T (2015) Large-scaled network reorganization during recovery from partial spinal cord injury. “Clinical Systems Neuroscience” (eds. Kansaku K, Cohen LG, Birbaumer N), Springer, pp121-138.
2. 當山峰道, 伊佐正 (2015) 第１章神経科学の基礎, ３学習と再学習に関わる脳領域, (2) 可塑性の実態, 脊髄レベル.“神経科学の最前線とリハビリテーション 脳の可塑性と運動”(里宇明元, 牛場潤一 監修; 岡野ジェイムス洋尚, 大高洋平, 小池康晴, 辻哲也, 西村幸男, 長谷公隆, 花川隆, 藤原俊之, 正門由久, 森本淳 編), 医歯薬出版, pp 49-52.
3. 西村幸男 (2015) 第１章神経科学の基礎 ３学習と再学習に関わる脳領域 (2) 可塑性の実態 大脳皮質レベル, ３章 リハビリテーション治療の今と未来 1 ニューロモデュレーション 神経活動依存的刺激.“神経科学の最前線とリハビリテーション 脳の可塑性と運動”(里宇明元, 牛場潤一 監修; 岡野ジェイムス洋尚, 大高洋平, 小池康晴, 辻哲也, 西村幸男, 長谷公隆, 花川隆, 藤原俊之, 正門由久, 森本淳編), 医歯薬出版, pp 53-55.
4. 當山峰道、伊佐正. (2015) ２章リハビリテーションによる脳の変化, ３手指の機能回復を可能にする神経回路の解明.“リハビリテーションのためのニューロサイエンス”(西条寿夫, 伊佐正 監修; 浦川将編集), メジカルビュー社, pp 137-150.
5. 中尾弥起, 笹田周作, 西村幸男 (2015) 脊髄内神経回路網による歩行制御. Clinical Neuroscience 33(7): 772-775.
6. 笹田周作, 西村幸男 (2015) 磁気刺激 --随意制御された経椎骨磁気刺激による脊髄損傷後の歩行機能再建に向けて. Clinical Neuroscience 33(7): 835-838.

3) その他

1. Yoshida M, Miura K, Hashimoto R, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Ohi K, Fukunaga M, Takeda M, Isa T (2015) Saliency-guided eye movement during free-viewing in schizophrenic patients. J Vis 15(12):61. doi: 10.1167/15.12.61.
2. Watanabe H, Takahashi K, Isa T (2015) Phase locking of β oscillation in electrocorticography (ECoG) in the monkey motor cortex at the onset of EMGs and 3D reaching movements. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc 2015 Aug;2015:55-58. doi: 10.1109/EMBC.2015.7318299.
3. Veale R, Isa T, Yoshida M (2015) Spatiotemporal dynamics in spiking simulations of superior colliculus fit via MCMC suggest disinhibition responsible for superlinear summation. BMC NEUROSCIENCE 16

(Suppl 1): P293.
4. Veale R, Isa T, Yoshida M (2015) Technical Implementation of a Visual Attention Neuro-Prosthesis. Proceedings of the 2015 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics (SMC) pp1403-1408.
5. Veale R, Isa T, Yoshida M (2015) Applying Differential Evolution MCMC to Parameterize Large-scale Spiking Neural Simulations. Proceedings of the 2015 IEEE Congress on Evolutionary Computation (CEC). pp1620-1627.

《生体恒常機能発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Takaki M, Goto K, Kawahara I, Nabekura J (2015) Activation of 5-HT4 receptors facilitates neurogenesis of injured enteric neurons at an anastomosis in the lower gut. J Smooth Muscle Res 51:82-94.
doi: 10.1540/jsmr.51.82.
2. Takatsuru Y, Nabekura J, Ishikawa T, Kohsaka S, Koibuchi N (2015) Early-life stress increases the motility of microglia in adulthood. J Physiol Sci 65(2):187-194.
doi: 10.1007/s12576-015-0361-z.
3. Sadakane O, Watakabe A, Ohtsuka M, Takaji M, Sasaki T, Kasai M, Isa T, Kato G, Nabekura J, Mizukami H, Ozawa K, Kawasaki H, Yamamori T (2015) In Vivo Two-Photon Imaging of Dendritic Spines in Marmoset Neocortex(1,2,3). eNeuro 2(4):ENEURO.0019-15.2015.
doi: 10.1523/ENEURO.0019-15.2015.
5. Ijiro T, Nakamura K, Ogata M, Inada H, Kiguchi S, Maruyama K, Nabekura J, Kobayashi M, Ishibashi H (2015) Effect of rovatirelin, a novel thyrotropin-releasing hormone analog, on the central noradrenergic system. Eur J Pharmacol 761:413-422.
doi: 10.1016/j.ejphar.2015.05.047.
6. Ieda N, Hishikawa K, Eto K, Kitamura K, Kawaguchi M, Suzuki T, Fukuhara K, Miyata N, Furuta T, Nabekura J, Nakagawa H (2015) A double bond-conjugated dimethylnitrobenzene-type photolabile nitric oxide donor with improved two-photon cross section. Bioorg Med Chem Lett 25:3172-3175.
doi: 10.1016/j.bmcl.2015.05.095.
7. Takihara Y, Inatani M, Eto K, Inoue T, Kreymerman A, Miyake S, Ueno S, Nagaya M, Nakanishi A, Iwao K, Takamura Y, Sakamoto H, Satoh K, Kondo M, Sakamoto T, Goldberg JL, Nabekura J, Tanihara H (2015) In vivo imaging of axonal transport of mitochondria in the diseased and aged mammalian CNS. Proc Natl Acad Sci USA 112:10515-10520. doi: 10.1073/pnas.1509879112.
8. Hirao K, Eto K, Nakahata Y, Ishibashi H, Nagai T, Nabekura J (2015) Noradrenergic refinement of glutamatergic neuronal circuits in the lateral superior olivary nucleus before hearing onset. J Neurophysiol 114:1974-1986. doi: 10.1152/jn.00813.2014.

2) 研究関係著作}

1. 和氣弘明, 加藤大輔 (2015) 神経・グリア細胞の生体イメージング. CLINICAL CALCIUM 25: 859-870.
2. 和氣弘明, 加藤大輔 (2015) 白質と脳機能. BRAIN and NERVE 67: 505-512.
3. 和氣弘明, 宮本愛喜子, 堀内 浩, 鍋倉淳一 (2015) ミクログリアによるシナプス修飾機構. Clinical Neuroscience 別冊 (中外医学社) 33: 1346-1349.
4. 江藤 圭, 鍋倉淳一 (2015) 2 光子顕微鏡による大脳皮質のシナプス再編の生体内解析. Clinical Neuroscience 33(6): 634-638.
5. 高鶴裕介, 中村佳代, 戸田拓弥, 宮本愛喜子, 鍋倉淳一 (2015) 神経損傷後の神経回路再編成. リハビリテーションのためのニューロサイエンス (9 月号) 75-88.
6. Tremblay MÈ, Paolicelli, RC, Stevens B, Wake H, Bessis A (2014) Developing and mature synapses. “Microglia in Health and Disease” (Eds Tremblay MÈ, Sierra A), Springer, pp 223-248.
doi: 10.1007/978-1-4939-1429-6_9.

3) その他

1. 中畑義久, 石橋仁, 鍋倉淳一 (2015) ゲフィリン. “脳科学辞典.
2. 中畑義久, 稲田浩之, 加藤 剛, 鍋倉淳一 (2015) 抑制性シナプス. “脳科学辞典”.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Tang L, Okamoto S, Shiuchi T, Toda C, Takagi K, Sato T, Saito K, Yokota S, Minokoshi Y (2015) Sympathetic Nerve Activity Maintains an Anti-Inflammatory State in Adipose Tissue in Male Mice by Inhibiting TNF-αGene Expression in Macrophages. Endocrinology 156:3680-3694. doi: 10.1210/EN.2015-1096.
2. Lee EY, Sakurai K, Zhang X, Toda C, Tanaka T, Jiang M, Shirasawa T, Tachibana K, Yokote K, Vidal-Puig A, Minokoshi Y, Miki T (2015) Unsuppressed lipolysis in adipocytes is linked with enhanced gluconeogenesis and altered bile acid physiology in *Insr*$^{P1195L/+}$ mice fed high-fat-diet. Sci Rep 5:17565. doi: 10.1038/srep17565.

2) 研究関係著作

1. 箕越靖彦 (2015) 摂餌量・エネルギー代謝量の評価法. 日本糖尿病・肥満動物学会 NEWS LETTER 19:3.
2. 箕越靖彦 (2015) エネルギー代謝.“糖尿病学” (門脇孝, 荒木栄一, 稲垣暢也, 羽田勝計, 綿田裕孝 編), 西村書店, 東京, pp 29-38.

《個別研究（村上グループ）》

1) 英文原著論文

1. Wei F, Wei MX, Murakami M (2015) Mechanism involved in Danshen-induced fluid secretion in salivary glands. World J Gastroenterol 21: 1444-1456. doi: 10.3748/wjg.v21.i5.1444.

2) 研究関係著作

1. 村上政隆 (2015) 唾液分泌. 日本歯科評論 75(1): 135-142.

《遺伝子改変動物作製室》

1) 英文原著論文

1. Goto T, Tomikawa J, Ikegami K, Minabe S, Abe H, Fukanuma T, Imamura T, Takase K, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Maeda K, Tsukamura H, Uenoyama Y (2015) Identification of hypothalamic arcuate nucleus-specific enhancer region of Kiss1 gene in mice. Mol Endocrinol 29: 121-129. doi: 10.1210/me.2014-1289.
2. Uenoyama Y, Nakamura S, Hayakawa Y, Ikegami K, Watanabe Y, Deura C, Minabe S, Tomikawa J, Goto T, Ieda N, Inoue N, Sanbo M, Tamura C, Hirabayashi M, Maeda KI, Tsukamura H (2015) Lack of pulse and surge modes and glutamatergic stimulation of luteinising hormone release in Kiss1 knockout rats. J Neuroendocrinol 27: 187-197. doi: 10.1111/jne.12257.
3. Yashiro I, Tagiri M, Ogawa H, Tashima K, Takashima S, Hara H, Hirabayashi M, Hochi S (2015) High revivability of vitrified-warmed bovine mature oocytes after recovery culture with α-tocopherol. Reproduction 149: 347-355. doi: 10.1530/REP-14-0594.
4. Minabe S, Deura C, Ikegami K, Goto T, Sanbo M, Hirabayashi M, Inoue N, Uenoyama Y, Maeda K, Tsukamura H (2015) Pharmacological and morphological evidence of AMPK-mediated energy sensing in the lower brain stem ependymocytes to control reproduction in female rodents. Endocrinology 156: 2278-2287. doi: 10.1210/en.2014-2018.
5. Goto T, Kobayashi T, Hara H, Sanbo M, Hochi S, Nakauchi H, Hirabayashi M (2015) Knock-in of a histone H2B-tdTomato reporter into the Rosa26 locus allows visualization of cell nuclei in rats. Mol Reprod Dev 82: 916-917. doi: 10.1002/mrd.22584.

《行動様式解析室》

1) 英文原著論文

1. Nakao A, Miki T, Shoji H, Nishi M, Takeshima H, Miyakawa T, Mori Y (2015) Comprehensive behavioral analysis of voltage-gated calcium channel beta-anchoring and -regulatory protein knockout mice. Front Behav Neurosci 9:141. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00141.
2. Shibasaki K, Sugio S, Takao K, Yamanaka A, Miyakawa T, Tominaga M, Ishizaki Y (2015) TRPV4 activation at the physiological temperature is a critical determinant of neuronal excitability and behavior. Pflügers Arch-Eur J Physiol 467(12):2495-2507. doi:10.1007/s00424-015-1726-0.
3. Choi JK, Zhu A, Jenkins BG, Hattori S, Kil KE, Takagi T, Ishii S, Miyakawa T, Brownell AL (2015) Combined behavioral studies and in vivo imaging of inflammatory response and expression of mGlu5 receptors in schnurri-2 knockout mice. Neurosci Lett 609:159-164. doi: 10.1016/j.neulet.2015.10.037.
4. Ageta-Ishihara N, Yamazaki M, Konno K, Nakayama H, Abe M, Hashimoto K, Nishioka T, Kaibuchi K, Hattori S, Miyakawa T, Tanaka K, Huda F, Hirai H, Hashimoto K, Watanabe M, Sakimura K, Kinoshita M (2015) A CDC42EP4/septin-based perisynaptic glial scaffold facilitates glutamate clearance. Nat Commun 6:10090. doi: 10.1038/ncomms10090.
5. Abbas MG, Shoji H, Soya S, Hondo M, Miyakawa T, Sakurai T (2015) Comprehensive behavioral analysis of Ox1r-/-mice showed implication of orexin receptor-1 in mood, anxiety and social behavior. Front Behav Neurosci 9:324. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00324.

《形態情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Ichimura K, Miyazaki N, Sadayama S, Murata K, Koike M, Nakamura K, Ohta K, Sakai T (2015) Three-dimensional architecture of podocytes revealed by block-face scanning electron microscopy. Sci Rep 5: 8993. doi: 10.1038/srep08993.
2. Satoh, K, Takanami, K, Murata, K, Kawata, M, Sakamoto, T, Sakamoto, H (2015) Effective synaptome analysis of itch-mediating neurons in the spinal cord : A novel immunohistochemical methodology using high-voltage electron microscopy. Neurosci Lett 599:86-91. doi: 10.1016/j.neulet.2015.05.031.
3. Satoh K, Takanami K, Murata K, Kawata M, Sakamoto T, Sakamoto H (2015) Three-dimensional visualization of multiple synapses in thick sections using high-voltage electron microscopy in the rat spinal cord. Data Br 4:566-570. doi: 10.1016/j.dib.2015.07.005.
4. Miyazaki N, Taylor DW, Hansman GS, Murata K (2015) Antigenic and cryo-electron microscopy structure analysis of a chimeric sapovirus capsid. J Virol 90: 2664-2675. doi: 10.1128/JVI.02916-15.
5. Watanabe M, Suzuki Y, Uchida K, Miyazaki N, Murata K, Matsumoto S, Kakizaki H, Tominaga M (2015). Trpm7 contributes to intercellular junction formation in mouse urothelium. J Biol Chem 290; 29882-92. doi: 10.1074/jbc.M115.667899.

2) 研究関係著作

1. 宮崎直幸，村田和義（2015）Serial Block-Face SEM（SBF-SEM）による細胞小器官の 3 次元形態観察 Plant Morphology 27: 9-13.

《多光子顕微鏡室》

1) 英文原著論文

1. Shibata AC, Maebashi KH, Nakahata Y, Nabekura J, Murakoshi H (2015) Development of a molecularly evolved, highly sensitive CaMKII FRET sensor with

improved expression pattern. PLoS ONE 10:e0121109. doi: 10.1371/journal.pone.0121109.
2. Murakoshi H, Shibata AC, Nakahata Y, Nabekura J (2015) A dark green fluorescent protein as an acceptor for measurement of Förster resonance energy transfer by fluorescence lifetime imaging microscopy. Sci Rep 5:15334. doi: 10.1038/srep15334.

2) 研究関係著作

1. 村越秀治 (2015) シナプス内シグナル分子動態イメージング. “ブレインサイエンスレビュー2015”(ブレインサイエンス振興財団 編), クバプロ, 東京, pp 191-210.
2. 村越秀治 (2015) 二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計測．顕微鏡 50(2): 106-110.

《ウイルスベクター開発室》

1) 英文原著論文

1. Nagai T, Nakamuta S, Kuroda K, Nakauchi S, Nishioka T, Takano T, Zhang X, Tsuboi D, Funahashi Y, Nakano T, Yoshimoto J, Kobayashi K, Uchigashima M, Watanabe M, Miura M, Nishi A, Kobayashi K, Yamada K, Amano M, Kaibuchi K (2016) Phospho-proteomics of the dopamine pathway enables discovery of Rap1 activation as a reward signal in vivo. Neuron 89:550-565. doi: 10.1016/j.neuron.2015.12.019.

2) 研究関係著作

1. 小林憲太 (2015) ウイルスベクターを利用した神経科学研究. 実験医学 33:3093-3095.

《霊長類モデル動物室》

1) その他

1. 東濃篤徳, 浜井美弥, 中村克樹, 南部篤, 伊佐正 (2016) ナショナルバイオリソースプロジェクト「ニホンザル」の紹介. LABIO21, No. 63: 5-8 (日本実験動物協会)

《生体制御シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Miura, S., Sato, K., Kato-Negishi, M., Teshima, T. and Takeuchi, S. (2015) Fluid shear triggers microvilli formation via mechanosensitive activation of TRPV6. Nature Communications6: doi:10.1038/ncomms9871.
2. Ishii, T., Sato, K., Kakumoto, T., Miura, S., Touhara, K., Takeuchi, S. and Nakata, T. (2015) Light generation of intracellular Ca^{2+} signals by a genetically encoded protein BACCS. Nature Communications6: doi:10.1038/ncomms90213.

2) その他

1. 佐藤幸治, 竹内昌治（2015）The olfactory receptors for the volatile compound sensing technology. Journal of Japan Association on Odor Environment 46:182-190.
2. 佐藤幸治, 竹内昌治（2015）遺伝子情報から構築する「人工鼻」の実現を目指して. Aroma Research 61: 36-37.

《神経分化研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kawamura A, Ovara H, Ooka Y, Kinoshita H, Hoshikawa M, Nakajo K, Yokota D, Jujino Y, Higashijima S, Takada S, Yamasu K (2016) Posterior-anterior gradient of zebrafish *hes6* expression in the presomitic mesoderm is established by the combinatorial functions of the downstream enhancer and 3'UTR. Dev Biol 409: 543-554. doi: 10.1016/j.ydbio.2015.11.010.
2. Marquart GD, Tabor KM, Brown MR, Strykowski JL, LaFave MC, Varshney GK, Mueller T, Burgess SM, Higashijima S, Burgess HA (2015) A 3d-searchable database of transgenic zebrafish Gal4 and Cre lines for functional neuroanatomy studies. Front Neural Circuits 9: 78. doi: 10.3389/fncir.2015.00078.

《動物実験センター》

1) 研究関係著作

1. 川辺正等美, 中村直子, 浦野徹, 中潟直己（2015）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. 日本実験動物技術者協会九州支部会報 39:15-19.

b.　学会発表

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 118
分子神経生理研究部門 118
生体膜研究部門 120
細胞生理研究部門 120
感覚認知情報研究部門 122
神経シグナル研究部門 123
視覚情報処理研究部門 124
心循環シグナル研究部門 124
感覚運動調節研究部門 126
生体システム研究部門 127
脳形態解析研究部門 128
大脳神経回路論研究部門 129
心理生理学研究部門 130
認知行動発達機構研究部門 133
生体恒常機能発達機構研究部門 136
生殖・内分泌系発達機構研究部門 138
個別研究（村上グループ） 139
個別研究（毛利グループ） 139
遺伝子改変動物作製室 140
行動様式解析室 140
形態情報解析室 141
多光子顕微鏡室 143
ウイルスベクター開発室 143
生体制御シグナル研究部門 143
神経分化研究部門 144
動物実験センター 144

学　会　発　表

《神経機能素子研究部門》

1. 久保義弘，Keceli B (2015.3.18) Signal transmission within the P2X2 trimeric receptor and the voltage dependent structural rearrangements. Symposium “Molecular diversity of ion channels and its regulation of biological functions” 第 88 回日本薬理学会年会
2. 久保義弘，北沢和寛，中條浩一 (2015.3.21) Expression density dependent changes of the stoichiometry and function of ion channel complexes. Symposium “Dynamic aspects of microscopic localization, stoichiometry and function of membrane protein complexes” 第92回日本生理学会大会（神戸）
3. 立山充博，久保義弘 (2015.3.21) The Gi/o coupled muscarinic receptors form signaling complex with the G protein dependent inwardly rectifying potassium channel. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
4. 中條浩一，久保義弘 (2015.3.21) Altered voltage sensor movements in KCNQ1 channels with a mutation causing short QT syndrome. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
5. 山本泉，横井紀彦，深田優子，今野幸太郎，山本友美，渡辺雅彦，深田正紀，久保義弘 (2015.3.21) LC-MS/MS analysis of an orphan metabotropic receptor Prrt3 complex. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
6. 北沢和寛，中條浩一，久保義弘 (2015.3.21) The stoichiometry of Kv4.2/DPP10 complex has a preference to 4:2. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
7. 粂慎一郎，中條浩一，久保義弘 (2015.3.21) The C-linker of hERG channel interacts with EAG domain and S4-S5 linker to regulate the slow deactivation. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
8. 松原美紀，立山充博，久保義弘 (2015.3.21) The KCNK13 channel current is increased by the activation of either the Gi/o- or the Gq-coupled receptor. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
9. 平井志伸，堀田浩二，久保義弘，岡村康司，岡戸晴生 (2015.3.21) Exploring the original function of AMPA receptor. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
10. Kubo Y (2015.6.29) Signal transmission within the P2X2 trimeric receptor and the voltage dependent structural rearrangements. (Keynote lecture) The 5th International Ion Channel Conference (Luzhou, China)
11. 立山充博，久保義弘 (2015.7.28) The Gi/o coupled muscarinic receptors form complex with the G protein gated inwardly rectifying potassium channel for the efficient channel activation. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
12. 粂慎一郎，久保義弘 (2015.11.13) C 末端側細胞内ドメイン間の相互作用による hERG チャネルの遅い脱活性化の制御機構の解析 第 62 回中部日本生理学会（富山）
13. Tateyama M, Kubo Y (2015.11.23) The Gi/o coupled muscarinic receptors form complex with the G protein gated inwardly rectifying potassium channel. The 8th FAOPS (Bangkok, Thailand)

《分子神経生理研究部門》

1. 池中一裕（2015.5.22）日本神経化学学会企画シンポジウム：髄鞘の形成と維持におけるアストロサイトの役割　第 56 回日本神経学会学術大会シンポジウム（新潟）
2. 國澤和生，清水健史，畑中伸彦，小林憲太，長内康幸，Manzoor A. bhat，久島周，尾崎紀夫，池中一裕 (2015.5.23) 髄鞘-軸索間相互作用破綻に応答して発現変化するニューロン遺伝子の解析および脳機能に与える影響　第 79 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム（松本）
3. 橋本弘和，江文，Jinwoong Bok，池中一裕(2015.5.23) 胎生期脊髄の発生におけるプロテオグリカンネット

ワークの役割　第 79 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム（松本）

4. Kazuhiro Ikenaka (2015.7.15) How does an oligodendrocyte select axons to myelinate? XII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease Symposium (Bilbao)
5. 橋本弘和，江文，Jinwoong Bok，池中一裕（2015.7.31）胎生期脊髄の発生におけるプロテオグリカンネットワークの役割　第 34 回日本糖質学会（東京）
6. 吉村武，林明子，内村健治，門松健治，矢木宏和，加藤晃一，馬場広子，池中一裕（2015.7.31）GlcNAc6ST-1 は N 結合型糖鎖の硫酸化を介して末梢神経系の髄鞘形成を制御する　第 34 回日本糖質学会（東京）
7. Mai Handa (2015.8.23) 6-sialyl-LewisC on N-glycan may be involved in microglial phagocytosis of neuron. 25th ISN-APSN Joint Biennial Meeting (Cairns)
8. Kazuo Kunisawa (2015.8.23) Analysis of neuronal responses against disruption of neuro-glial interaction and its effect on brain functions.　25th ISN-APSN Joint Biennial Meeting　(Cairns)
9. Takeshi Yoshimura (2015.8.26) GlcNAc6ST-1 regulates sulfation of N-glycans and myelination in the peripheral nervous system. 25th ISN-APSN Joint Biennial Meeting (Cairns)
10. Takeshi Yoshimura (2015.8.28) GlcNAc6ST-1 regulates sulfation of N-glycans and myelination in the peripheral nervous system. 12th Bienneial ISN Satellite Meeting Myelin Biology 2015 Glial Neuronal Interactions (Cairns)
11. Kazuhiro Ikenaka (2015.9.13) History and future of Japanese Society for Neurochemistry (JSN) and International Society for Neurochemistry (ISN) JSN/ISN の歴史を探り今後の発展を考える。第 58 回神経化学会（埼玉）
12. 清水健史，スミッツロン，池中 一裕（2015.9.12）Microglia-dependent neurodegeneration in demyelinating mouse model. 第 58 回神経化学会（埼玉）
13. 吉村武，林明子，内村健治，門松健治，山口宜秀，馬場広子，池中一裕（2015.9.12）GlcNAc6ST-1 regulates sulfation of N-glycans and myelination in the peripheral nervous system. 第 58 回神経化学会（埼玉）
14. 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（2015.9.11）Analysis of axon selective myelination depending on neuronal subtypes and neuronal activity. 第 58 回神経化学会（埼玉）
15. 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（2015.9.11）Brgmann glia alignment along the Purkinje cell layer is important for the proper translocation of climbing fiber synapses from the Purkinje cell soma to dendrites. 第 58 回神経化学会（埼玉）
16. Jiayi Li, Wilaiwan Wisessmith, Takahiro Shimizu, Kenji F Tanaka , Yoshitaka Kimori , Kazuhiro Ikenaka（2015.9.11）Fnction of Cathepsin C and Cystatin F during demyelination. 第 58 回神経化学会（埼玉）
17. 吉村武 (2015.10.20) 硫酸化糖鎖は髄鞘形成を制御する。第 13 回　糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム（名古屋）
18. 清水健史（2015.12.5）Microglia-induced activation of non-canonical Wnt signaling aggravates neurodegeneration in demyelinating disorders 第 20 回グリア研究会（名古屋）
19. 吉村武（2015.12.5）GlcNAc6ST-1 regulates sulfation of N-glycans and myelination in the peripheral nervous system　第 20 回グリア研究会（名古屋）
20. 長内康幸（2015.12.5）Oligodendrocytes myelinate axons by sensing neuronal subtypes and/or sensory inputs, but its selectivity shows individual variance. 第 20 回グリア研究会（名古屋）
21. 菊地原沙織（2015.12.5）Bergmann glia alignment along the Purkinje cell layer is important for the proper translocation of climbing fiber synapses. 第 20 回グリア研究会（名古屋）
22. 橋本弘和（2015.12.5）Roles of the floor plate in the glial development in embryonic mouse spinal cord. 第 20 回グリア研究会（名古屋）

《生体膜研究部門》

1. Masaki Fukata. (2015.3.23) Specialized membrane nanodomain organized by lipid modification "Synaptic organization regulated by PSD-95 palmitoylation machinery".第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会/大会第 92 回日本生理学会大会 合同大会（神戸）招待講演
2. Masaki Fukata. (2015.6.30) Postsynaptic nanodomains organized by PSD-95 palmitoylation machinery. 第 67 回日本細胞生物学会大会（東京）招待講演
3. Masaki Fukata (2015.7.22) Regulatory mechanism for local palmitoylation cycles on PSD-95. FASEB Science Research Conference “Protein Lipidation, Signaling, and Membrane Domains”. (Saxtons River, VT, USA) 招待講演
4. Fukata Y., Sekiya A., Murakami T., Yokoi N., Kobayashi K., Fukata M. (2015.7.22) Postsynaptic nanodomains organized by local palmitoylation machinery. FASEB Science Research Conference “Protein lipidation, Signaling, and Membrane Domains” (Saxtons River, VT, USA)
5. Norihiko Yokoi, Atsushi Sekiya, Tatsuro Murakami, Yuko Fukata, Masaki Fukata (2015.7.22) Stoichiometric analysis of palmitoylation cycles on PSD-95 FASEB Science Research Conference “Protein Lipidation, Signaling, and Membrane Domains”. (Saxtons River, VT, USA)
6. Tatsuro Murakami, Atsushi Sekiya, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Yuko Fukata, Masaki Fukata. (2015.7.22) Characterization of a mouse model with genetic deletion of DHHC2 palmitoyl acyl transferase. FASEB Science Research Conference “Protein lipidation, Signaling, and Membrane Domains” (Saxtons River, VT, USA)
7. Tatsuro Murakami, Atsushi Sekiya, Yuko Fukata, Masaki Fukata. (2015.7.29) Exploration of depalmitoylating enzymes regulating bi-directional trafficking of small GTPase HRas. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
8. Masaki Fukata (2015.7.30) Role of LGI1-ADAM22 in synaptic function and disorders 第 38 回日本神経科学大会（神戸）招待講演
9. 深田優子（2015.11.7）「ケミカルシャペロンによるてんかん原因遺伝子産物 LGI1 構造異常の修復」第 10 回　臨床ストレス応答学会大会　シンポジウム「RNA ストレスとシャペロン療法」2015 年 11 月 6-7 日（東京農工大学　東京）招待講演
10. Norihiko Yokoi, Yuko Fukata, Daisuke Kase, Taisuke Miyazaki, Martin Jaegle, Keiji Imoto, Deis Meijer, Masahiko Watanabe, Masaki Fukata (2015.10.19) Molecular pathogenic mechanisms of epilepsy caused by LGI1 mutations. 45th annual meeting of the Society for Neuroscience, (Chicago, IL, USA)
11. 深田正紀（2015.12.3）Local palmitoylation cycles organize postsynaptic nanodomains. 第 38 回日本分子生物学会年会/第 88 回日本生化学会大会　合同大会（神戸）招待講演
12. Masaki Fukata (2015.12.15) Postsynaptic nanodomain regulated by PSD-95 palmitoylation machinery. Pacifichem 2015, (Honolulu, HI, USA) 招待講演
13. 横井紀彦，深田優子，村上達郎，宮崎太輔，山崎美和子, 阿部学, 﨑村建司, 渡辺雅彦, 深田正紀 (2015.12.18) シナプス修飾リガンド/受容体, LGI1/ADAM22 の結合不全がてんかんを誘引する 2015 年度　包括型脳科学研究推進支援ネットワーク　冬のシンポジウム（東京）

《細胞生理研究部門》

1. Tominaga Makoto（2015.1.22）Functional Interaction between TRP channels and anoctamin1. AND mini-winter conference（Atami）
2. 富永真琴（2015.2.12）末梢神経での侵害刺激受容メカニズム.第 3 回北河内産婦人科疼痛研究会（枚方）
3. Sun Wuping（2015.2.13）TRPV2 is critical for the maintenance of brown adipose tissue structure and function in mice. 名古屋グローバルリトリート（大府）
4. 内田邦敏（2015.3.5）脂質平面膜法を用いた TRP チャネルの機能解析.　生理研・新潟脳研合同シンポジ

ウム（新潟）

5. 橘高裕貴（2015.3.5）リゾフォスファチジン酸誘導法の痒みにおける TRPA1 と TRPV1 を介したシグナリング．生理研・新潟脳研合同シンポジウム（新潟）
6. 鈴木喜郎（2015.3.20）選択的スプライシングによる TRPA1 活性制御の神経障害性疼痛への関与．第 88 回日本薬理学会年会（名古屋）
7. 内田邦敏（2015.3.21）Single channel analysis of the TRPM3 channel in planar lipid bilayers. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
8. Sun Wuping（2015.3.21）TRPV2 is critical for the maintenance of brown adipose tissue structure and thermogenesis in mice. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
9. 高山靖規（2015.3.21）A pain-enhancing mechanism through the interaction between TRPV1 and anoctamin. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
10. Kurganov Erkin（2015.3.21）Involvement of extracellular Ca2+ in the heat-evoked activation of green anole TRPA1.第 92 回日本生理学会大会（神戸）
11. Gupta Rupali（2015.3.21）Identification of amino acid residues involved in the TRPA1 inhibition by utilizing species specific differences. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
12. 橘高裕貴（2015.3.23）Involvement of LPA receptors and phospholipases in LPA-evoked peripheral itch sensation of mice. 第 92 回日本生理学会大会（神戸）
13. Tominaga Makoto（2015.6.22）Lysophosphatidic acid induced itch sensation involves LPA5 receptor-PLD signaling and TRPA/TRPV1. 10th International Conference for Neurons and Brain Disease（Xi'an, China）
14. Sun Wuping（2015.6.27）Absence of TRPV2 impaired BAT thermogenesis in mice. 5th International Ion Channel Conference （Luzhou, China）
15. 富永真琴（2015.6.30）TRPV1,TRPA1 を介した侵害刺激受容の分子機構．第 42 回日本毒性学会学術年会（金沢）
16. 橘高裕貴（2015.7.4）マウスにおけるリゾフォスファチジン酸による痒みおよび TRPA1・TRPV1 を介したメカニズム．第 37 回日本疼痛学会（熊本）
17. 齋藤茂（2015.7.13）Evolutionary change in thermoperception between Xenopus species inhabiting different thermal environments: from molecules to behavior. 2015 Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution（Vienna, Austria）
18. 富永真琴（2015.7.26）痛み，痒み感覚と TRP チャネル．第 2 回 GSK 皮膚免疫カンファレンス（大津）
19. 富永真琴（2015.7.28）Regulation mechanism of thermosensitive TRP channels and their functional evolution. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
20. 高山靖規（2015.7.29）Inhibition of anoctamin 1-mediated currents by menthol. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
21. 橘高裕貴（2015.7.29）Lysophosphatidic acid-induced itch sensation and cellular signaling in primary sensory neurons. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
22. 富永真琴（2015.8.1）温度感受性 TRP チャネルと脳機能．第 59 回脳の医学・生物学研究会（名古屋）
23. 齋藤茂（2015.8.22）生息環境に応じた温度感覚を生み出す分子基盤：ツメガエル近縁種間の比較解析を例にして．日本進化学会第 17 回大会（東京）
24. Tominaga Makoto（2015.9.1）Molecular mechanisms of nociception in the peripheral nerve endings. 12th World Congress of Veterinary Anesthesiology（Kyoto）
25. Tominaga Makoto（2015.9.1）Regulation mechanisms of TRPV1 and TRPA1. 12th World Congress of Veterinary Anesthesiology（Kyoto)
26. 西本れい（2015.9.5）静脈麻酔薬プロポフォールはアノクタミン１（TMEM16A）活性を制御する．東海・北陸支部第 13 回学術集会（名古屋）
27. 富永真琴（2015.9.10）TRP チャネルと piezo 1 チャネルの排尿機能への関与．第 22 回日本排尿機能学会（札幌）
28. 富永真琴（2015.9.13）TRP チャネルによる温度感知の分子機構．第 53 回日本生物物理学会年会（金沢）
29. 内田邦敏（2015.9.14）脂質平面膜法を用いた TRPM３チャネルの機能解析．第 53 回日本生物物理学会年会（金沢）
30. Takayama Yasunori（2015.9.17）TRPV1-ANO1 interaction in sensory neurons. TRP2015（Leuven, Belgium）
31. Derouiche Sandra（2015.9.17）Functional interaction between TRPV4 and ANO1 in salivary and lacrimal acinar cells. TRP2015（Leuven, Belgium）

32. Gupta Rupali（2015.9.17）Identification of single amino acid residue involved in the human TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species specific differences. TRP2015（Leuven, Belgium）
33. Tominaga Makoto（2015.9.18）TRP channels and pain. TRP2015（Leuven, Belgium）
34. 齋藤茂（2015.9.18）温度センサー分子の機能進化による感覚受容の種間多様性の創出機構．日本動物学会第 86 回大会（新潟）
35. 内田邦敏（2015.9.24）Involvements of thermosensitive TRP channels in energy metabolism.　日本味と匂い学会第 49 回大会（岐阜）
36. Kittaka Hiroki（2015.9.29）Cellular and molecular signaling of lysophosphatidic acid-induced itch sensation. 8th World Congress on Itch（Nara）
37. Sun Wuping（2015.10.2-3）Absence of TRPV2 impaired BAT thermogenesis in mice. The 8th Asia-Oceania Conference on Obesity（Nagoya）
38. 富永真琴（2015.10.10）TRP チャネルとかゆみ. 順天堂大学環境医学研究所　第 2 回公開シンポジウム（東京）
39. Kittaka Hiroki（2015.10.21）LPA-induced peripheral itch sensation and cellular signaling involving LPA5 receptor, phospholipase D and TRPA1/TRPV1. Neuroscience 2015（Chicago, USA）
40. Tominaga Makoto（2015.11.2）Analgesic mechanisms of essential oil components. The 13th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception（Fukuoka）
41. Tominaga Makoto（2015.11.9）Microglial purinergic signaling in the spinal cord and neuropathic pain.　The 6th Asian Pain Symposium（Suzhou, China）
42. 鈴木喜郎（2015.11.12）TRPM7 は尿路上皮細胞間結合の形成に関与する. 第 62 回中部日本生理学会（富山）
43. Gupta Rupali（2015.11.12）Identification of a single amino acid residue involved in the human TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species specific differences. 第 62 回中部日本生理学会（富山）
44. Suzuki Yoshiro（2015.11.24）Role of TRPM6 and TRPM7 in maternal-fetal calcium transport. 8th FAOPS Congress（Bangkok, Thailand）

《感覚認知情報研究部門》

1. 西尾亜希子 (2015.5.7) サル下側頭皮質における光沢情報の表現, 日本生体医工学会大会 (名古屋)
2. Komatsu H (2015.5.22) Neural representation of color in visual cortex, AIC2015 (東京)
3. 安川涼子(奈良女子大学), 堀川直幹(帝人フロンティア㈱), 重村幸弘(帝人フロンティア㈱), 小松英彦, 郷田直一(2015.6.28) 繊維素材における触覚的印象の心理評価と風合い計測, 日本繊維製品消費科学会 2015 年年次大会 (長野)
4. Sanada TM, Komatsu H (2015.7.4, 7.6) Neural response to color combinations in macaque area V4, The 23rd Symposium of the International Colour Vision Society (仙台)
5. Komatsu H (2015.7.6) How are the rays colored in the brain?, The 23rd Symposium of the International Colour Vision Society (仙台)
6. Namima T, Komatsu H (2015.7.28) Effects of luminance contrast on the color selective responses in the macaque lateral geniculate nucleus, 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
7. 横井 功, 小松英彦 (2015.7.28) Neuronal responses to material images in the inferior temporal cortex of the monkey, 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
8. Goda N (2015.7.29) Neural representation of material properties of objects in visual cortex: Impact of visuo-tactile experiences, 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
9. 眞田尚久, 小松英彦 (2015.7.29) Selectivity to color combination in macaque area V4, 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
10. 眞田尚久, 小松英彦 (2015.8.19) V4 野における色の組み合わせに対する反応特性, 視覚科学フォーラム第 19 回研究会 (福島)

《神経シグナル研究部門》

1. 歌大介, 井本敬二, 古江秀昌（2015.7.4）ラット脊髄における TRPA1 発現線維からの入力を受ける膠様質細胞の発火パターンについて－*in vitro* 及び *in vivo* パッチクランプ解析を用いて－. 第 37 回日本疼痛学会（熊本）
2. 秋元望, 箱崎敦志, 河谷正仁, 井本敬二, 古江秀昌 (2015.7.4)下部尿路から脊髄に入力する痛覚伝達機構の *in vivo* 解析. 第 37 回日本疼痛学会（熊本）
3. 山田彬博, 大澤匡弘, 粂和彦, 井本敬二, 古江秀昌 (2015.7.4) 脊髄後角シナプス伝達に対するエタノールの作用. 第 37 回日本疼痛学会（熊本）
4. 田島諒一, 古賀啓祐, 山本将大, 樋口瞳, 高露雄大, 八尾寛, 井上和秀, 古江秀昌, 津田誠（2016.7.4）神経損傷後の一次求心性神経 Aβ 線維を介する疼痛関連行動：光遺伝学的アプローチを用いた神経障害性疼痛の新しい評価法. 第 37 回日本疼痛学会（熊本）
5. Satake S, Ikeda K, Kawakami K, Imoto K (2015.7.28) Weakened glutamate transporter currents in cerebellar Purkinje cells of the *Atp1a3*-deficient heterozygous mice. Neuroscience 2015 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
6. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2015.7.29) Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase IIα and procedural memory. 第 38 回日本神経科学大会, Neuroscience 2015（神戸）
7. Furue H（2015.9.1）Descending pain modulatory system and its activation by systemic alpha 2 agonist. 12th World congress of Veterinary Anaesthesiology. Kyoto International Conference Center ICC Kyoto（Kyoto, Japan）
8. Yamagata Y, Nairn AC, Obata K, Imoto K (2015.9.11) Contrasting feature of ERK1/2 activation and synapsin I phosphorylation at the ERK1/2-dependent site in the rat brain during epileptic seizure activity in vivo. 第 58 回日本神経化学会大会（大宮）
9. 山肩葉子, Nairn AC, 井本敬二 (2015.9.19) 持続てんかん発作活動時における脳内 ERK1/2 キナーゼの活性化と基質蛋白シナプシン I の脱リン酸化. 第５回名古屋大学医学研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
10. 歌大介, 井本敬二, 古江秀昌（2016.2.6）成熟ラット脊髄膠様質における TRPA1 及び TRPV1 作動薬の作用比較－電気生理学的及び形態学的解析を用いて－. 第 37 回脊髄機能診断研究会（旧 脊髄電気診断研究会）（東京）
11. 秋元望（2016.3.1-2）自律神経系を介した内臓感覚情報の中枢性制御機構. 新潟脳研－生理研合同シンポジウム（岡崎）
12. 古江秀昌（2016.3.10）脊髄ノルアドレナリンネットワーク人為的操作と鎮痛機構の解析. 第 89 回日本薬理学会（横浜）
13. 歌大介, 安東嗣修, 倉石泰, 井本敬二, 古江秀昌（2016.3.11）*In vivo* パッチクランプ法を用いた脊髄後角ニューロンにおけるセロトニン誘発そう痒シナプス伝達解析. 第 89 回日本薬理学会（横浜）
14. 古賀啓祐, 兼久賢章, 齊藤秀俊, 古江秀昌, 津田 誠（2016.3.11）VGAT 陽性脊髄後角抑制性介在ニューロンの抑制によって自発痛関連行動が誘発される. 第 89 回日本薬理学会（横浜）
15. 田島諒一, 古賀啓祐, 高露雄太, 八尾寛, 井上和秀, 古江秀昌, 津田誠（2016.3.11）光遺伝学的手法を用いた神経障害性疼痛モデルにおけるアロディニアの新規評価法. 第 89 回日本薬理学会（横浜）
16. 山田彬博, 大澤匡弘, 粂和彦, 井本敬二, 古江秀昌（2016.3.23）*In vivo* 細胞外記録およびパッチクランプ法を用いた前滞状回皮質感覚応答の解析. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
17. 秋元望, 箱崎敦志, 河谷正仁, 井本敬二, 古江秀昌（2016.3.23）下部尿路カプサイシン刺激に対する *in vivo* 髄後角痛覚応答. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
18. 古江秀昌（2016.3.24）顔面領域刺激による青斑核ノルアドレナリンニューロンの賦活化と痛み伝達の調節. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
19. 高山靖規, 秋元望, 古江秀昌, 富永真琴（2016.3.24）ANO1 阻害剤の検討とその TRPV1 関連疼痛に対する効果. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）

《視覚情報処理研究部門》

1. 吉村由美子 (2015.3.23) 大脳皮質の細胞系譜に依存した双方向性神経結合形成はエピジェネティックに制御される．第 92 回 日本生理学会大会 （神戸）
2. Ishikawa AW (2015.7.27) Experience-dependent development of fine-scale networks and synchronous firing in rat primary visual cortex. A Satellite Symposium to Neuroscience 2015, “Neural Circuits, Development and Plasticity of the Early Visual System” (Kobe)
3. 足澤悦子，三宝 誠，平林敬浩，長谷川園子，金子涼輔，豊田峻輔，小林俊寛，平林真澄，八木 健，吉村由美子 (2015.7.28) 細胞系譜依存的な双方向性シナプス結合形成は，胎生期におけるエピジェネティックな遺伝子発現制御の影響を受ける．第 38 回日本神経科学大会（神戸）
4. 西尾奈々，石川理子，吉村由美子 (2015.7.29) 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．第 38 回日本神経科学大会（神戸）
5. Ishikawa AW (2015.10.17) Experience-dependent and independent development of feature-selective synchronization in rat visual cortex. Neuroscience 2015 (Chicago, USA)
6. 石川理子，小松由紀夫，吉村由美子(2015.11.13) 大脳皮質一次視覚野神経細胞の同時発火特性とその発達．第 62 回中部日本生理学会（富山）
7. Yoshimura Y (2015.11.14) Experience-dependent maturation of fine-scale networks and feature-selective synchronization in visual cortex. East Asia Joint Symposium 2015 (Okinawa)

《心循環シグナル研究部門》

1. 西田基宏（2015 年 9 月 1 日）Negative regulation of cardiac remodeling by S-polythiolation of G proteins．2nd Symposium of SPU Innovative Project for Pharmaceutical Analyses of Covalent Modification in Biomolecule.（東京都，昭和薬科大学）．
2. 西田基宏, 冨田拓郎, 島内司, 松金良祐, 西村明幸（2015 年 10 月 16 日）Imitation of kinesitherapy by inhibition of TRPC6 channel activities．International Symposium on Chronic Inflammatory Diseases, Kumamoto (ISCIDK2015).（熊本県，熊本大学）
3. 西田基宏，島内司，冨田拓郎，西村明幸，石川達也（2015 年 12 月 10 日）ミトコンドリア品質管理を主眼とするエコファーマ研究. 第 36 回日本臨床薬理学会学術総会（東京都，新宿京王プラザホテル）
4. 西田基宏，西村明幸，永井直杜，外山喬士，冨田（沼賀）拓郎，熊谷義人，赤池孝章（2015 年 6 月 26 日）Dynamin-related protein 1 の酸化修飾による病的心臓リモデリング制御. 第 15 回日本 NO 学会学術集会（大阪府，千里ライフサイエンスセンター）
5. 西田基宏（2015 年 7 月 16 日）がん遺伝子産物 Ras の親電子シグナル制御. 第 3 回がんと代謝研究会（石川県，金沢）
6. 西田基宏（2015 年 9 月 5 日）TRPC チャネルによる心循環恒常性の制御機構. 生理学会北海道地方会（北海道，旭川医科大学）
7. 西田基宏（2016 年 3 月 10 日）Increase in cardiac risk via electrophile-medaited activation of dynamin-related protein 1．第 89 回日本薬理学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
8. 西田基宏（2016 年 3 月 27 日）運動療法を模倣する循環器疾患治療薬の開発．第 136 回日本薬学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
9. 西田基宏（2016 年 3 月 29 日）活性イオウによる生体レドックス恒常性制御基盤の構築．第 136 回日本薬学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
10. 島内司，西村明幸，冨田拓郎，西田基宏（2015 年 11 月 20 日）心筋梗塞後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 128 回日本薬理学会近畿部会（大阪府，千里ライフサイエンスセンター）
11. 西村明幸, Caroline Sunggip, 冨田拓郎, 西田基宏（2015 年 11 月 20 日）アンジオテンシン II 誘発性高血圧に対する P2Y6 受容体の役割．第 128 回日本薬理学会近畿部会（大阪府，千里ライフサイエンスセンター）

12. 重松智博，西村明幸，浜瀬健司，井手友美，西田基宏（2015 年 11 月 21 日）P2Y6 受容体のリガンド非依存的活性化の分子機構. 第 68 回日本薬理学会西南部会（山口県，海峡メッセ下関）
13. 永井直杜，西村明幸，浜瀬健司，井手友美，西田基宏（2015 年 11 月 21 日）有機水銀による Drp1 ポリ硫黄枯渇を介した心臓リスク増加. 第 68 回日本薬理学会西南部会（山口県，海峡メッセ下関）
14. 松金良祐，冨田拓郎，浜瀬健司，井手友美，西田基宏（2015 年 11 月 21 日）心筋の低酸素ストレス適応における TRPC3 チャネルの役割．第 68 回日本薬理学会西南部会（山口県，海峡メッセ下関）
15. 島内司，石川達也，西田基宏（2016 年 3 月 11 日）Eco-Pharma of approved drugs focused on inhibition of mitochondrial fission．第 89 回日本薬理学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
16. 伊藤智哉，高橋重成，加藤賢太，西田基宏，森泰生，相澤康則（2015 年 11 月 13 日）TRPC チャネルを制御する新規膜貫通タンパク質 OGU1 の機能解析．第 62 回中部日本生理学会（富山県，富山大学）
17. 冨田拓郎，島内司，西村明幸，西田基宏（2015 年 11 月 13 日）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割. 第 62 回中部日本生理学会（富山県，富山大学）
18. Takuro Numaga-Tomita, James Putney, Yasuo Mori, Motohiro Nishida（2016 年 3 月 23 日）TRPC3 amplifies B cell receptor-induced ERK signaling via protein kinase D-dependent Rap1 activation. 第 93 回日本生理学会年会（北海道，札幌）
19. Tsukasa Shimauchi, Takuro Numaga-Tomita, Akiyuki Nishimura and Motohiro Nishida（2015 年 6 月 4 日）Inhibition of TRPC6 mimics voluntary exercise-induced improvement of peripheral artery disease. NIPS International Workshop（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
20. Ryosuke Matsukane, Tsukasa Shimauchi, Akiyuki Nishimura, Takuro Tomita and Motohiro Nishida（2015 年 6 月 4 日）Improvement of peripheral arterial disease by a novel TRPC3/6-selective inhibitor. NIPS International Workshop（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
21. Naoyuki Kitajima, Takuro Numaga-Tomita, Akiyuki Nishimura and Motohiro Nishida（2015 年 6 月 4 日）TRPC3 mediates pressure overload-induced maladaptive cardiac remodeling. NIPS International Workshop（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
22. Takuro Tomita, Tsukasa Shimauchi, Akiyuki Nishimura and Motohiro Nishida（2015 年 6 月 4 日）Phosphorylation of TRPC6 underlies promotion of endothelium-dependent arteriogenesis after hindlimb ischemia. NIPS International Workshop（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
23. 島内司，石川達也，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏（2015 年 10 月 29 日）ミトコンドリア品質管理に着目した Ca^{2+}拮抗薬の適応拡大．心血管膜輸送研究会 2015（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
24. 永井直杜, 外山喬士, 西村明幸, 浜瀬健司, 井手友美, 西田基宏（2015 年 10 月 29 日）有機水銀による Drp1 ポリ硫黄枯渇を介した心臓リスク増加. 心血管膜輸送研究会 2015（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
25. 松金良祐，冨田拓郎，浜瀬健司，井手友美，西田基宏（2015 年 10 月 29 日）心筋の低酸素ストレス適応における TRPC3 チャネルの役割. 心血管膜輸送研究会 2015（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
26. 重松智博，西村明幸，浜瀬健司，井手友美，西田基宏（2015 年 10 月 29 日）P2Y6 受容体のリガンド非依存的活性化の分子機構．心血管膜輸送研究会 2015（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
27. 伊藤 智哉, 高橋 重成, 加藤 賢太, 西田 基宏, 森 泰生，相澤 康則（2015 年 10 月 29 日）TRPC チャネルの細胞内輸送を制御する新規膜貫通タンパク質 OGU1 の機能解析．心血管膜輸送研究会 2015（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
28. 冨田拓郎，島内司，西村明幸，西田基宏（2015 年 12 月 19 日）下肢虚血後の骨格筋および末梢循環回復における TRPC3/C6 チャネルの重要性．筋生理の集い（東京都，慈恵医科大学）
29. 冨田拓郎，松金良祐，島内司，西田基宏（2015 年 9 月 19 日）血管平滑筋に発現する TRPC6 の血管成熟における役割. 名大合同シンポ（愛知県，生理学研究所）
30. 冨田拓郎（2016 年 3 月 2 日）運動を模倣した創薬．新潟脳研シンポ（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
31. 伊藤智哉，西村明幸，永井直杜，西田基宏（2015 年 9 月 19 日）活性硫黄によるミトコンドリアの品質機能管理．名大合同シンポ（愛知県，生理学研究所）

《感覚運動調節研究部門》

1. Kakigi R, Mochizuki H (2015. 9. 27) Itch perception in humans. President-Invited-Lecture, 8th World Congress of Itch (Nara, Japan)
2. Kakigi R (2015.8.23) Face perception in humans. Advance Education Program in Clinical Neurophysiology, Kaohsiung (Taiwan)
3. 木田哲夫 (2015.11.5) 注意のメカニズムを脳波と脳磁図で探る：振幅からネットワークへ．第 45 回日本臨床神経生理学会学術大会　奨励賞受賞記念講演.（大阪）
4. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介 (2015.11.5) 注意課題遂行に伴う脳内ネットワーク機能的特性の時空周波数動態．第 45 回日本臨床神経生理学会（大阪）
5. 和坂俊昭，木田哲夫，柿木隆介 (2015.11.5) 筋張力発揮と弛緩時における体性感覚誘発電位の変動．第 45 回日本臨床神経生理学会（大阪）
6. 岡本秀彦，柿木隆介 (2015.11.6) 介在する音が 2 つ以上存在しても先行する静寂の持続時間はヒト聴覚野における神経活動に影響を与える．第 45 回日本臨床神経生理学会 (大阪)
7. 岡本秀彦(2015.10.23) 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 60 回日本聴覚医学会総会・学術講演会　(東京)
8. 関谷健一, 高橋真理子, 村上信五, 岡本秀彦(2015.10.23) 脳磁図を用いた他覚的耳鳴評価法の研究.　第 60 回日本聴覚医学会総会・学術講演会（東京）
9. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介 (2015.9.18) 注意制御を司る脳の機能的ネットワーク特性のダイナミクス．第 70 回日本体力医学会大会（和歌山）
10. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介 (2015.9.10) 注意制御を司る脳ネットワーク特性のダイナミクス．第 2 回感性脳工学研究会（浜松）
11. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介 (2015.9.10) 注意制御を司る脳ネットワーク特性のダイナミクス．第 2 回感性脳工学研究会（若手ポスター発表）（浜松）
12. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介 (2015.6.4) 注意制御に関わる脳内ネットワーク機能的特性のダイナミクス．第 30 回日本生体磁気学会（旭川）
13. 柿木隆介（2015.11.12）「僕と臨床神経生理学」，島薗レクチャー, 第 45 回日本臨床神経生理学会 (大阪)
14. 柿木隆介（2015.11.13）「痛みと痒みの脳内認知機構」，特別講演，第 42 回日本脳科学会 (宮崎)
15. 柿木隆介（2015.11.14）「痒みと痛みの脳内認知機構」，特別講演，第 25 回日本磁気歯科学会 (東京)
16. 三木研作（2015.11.6）学童期における顔認知過程の発達による変化. 第 45 回日本臨床神経生理学会学術大会 (大阪)
17. 柿木隆介（2015.10.23）痛覚認知に影響する諸因子：運動，心理効果など. モーニングセミナー，第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会 (福井)
18. 三木研作（2015.9.19）学童期における顔認知過程の発達による変化　第 5 回　名古屋大学・生理学研究所合同シンポジウム (岡崎)
19. 三木研作（2015.9.10）学童期における顔認知過程の発達による変化　第 2 回 COI 夏の研究会 (浜松)
20. 三木研作（2015.9.12）学童期における顔認知過程の発達による変化.　第 20 回日本顔学会大会（フォーラム顔学 015）　(名古屋)
21. 柿木隆介（2015.7.25）運動の臨床神経生理学，教育講演，第 23 回日本運動生理学会大会 (東京)
22. 三木研作（2015.7.2）学童期における顔認知過程の発達による変化　第 17 回ヒト脳機能マッピング学会 (大阪)
23. 岡本秀彦，柿木隆介 (2015.7.29) ヒト聴覚野における神経活動の静寂への適応：脳磁図による研究 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
24. 岡本秀彦，柿木隆介（2015.7.12）　先行する静寂の持続時間の沿革がヒト聴覚野における神経活動に与える影響.　第 10 回 ERA_OAE 研究会 (東京)
25. 岡本秀彦，柿木隆介 (2015.7.3) 静寂の持続時間の軌跡がヒト聴覚野脳活動に与える影響.　第 17 回日本ヒト脳機能マッピング学会 (大阪)
26. 岡本秀彦 (2015.6.14) 環境によりしなやかに変化するヒトの脳神経活動.　若手研究者による Rising Sun Ⅳ (東京)
27. 岡本秀彦，柿木隆介 (2015.6.4) 3 以上先行する静寂の持続時間が聴覚誘発脳磁場に与える影響.　第 30 回日本生体磁気学会大会　(旭川)
28. 岡本秀彦 (2015.5.23) 突発性難聴に対するリハビリテーション（CI）療法　第 116 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 (東京)

29. 柿木隆介（2015.6.13）痛みと痒みの脳内認知機構.第40回日本口腔外科学会中部支部学術集会，特別講演(岡崎)
30. 三木研作（2015.6.5）学童期における顔認知過程の発達による変化.　第30回生体磁気学会大会 (旭川)
31. 柿木隆介（2015.4.25）痛みと痒みのニューロモデュレーション, 第29回日本ニューロモデュレーション学会 (東京)

《生体システム研究部門》

1. 金子将也（2015.1.10）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．生理学研究所研究会「行動システム脳科学の新展開」（岡崎）
2. 南部篤 (2015.1.23) Electrophysiological study using marmosets: advantages and disadvantages. 第4回日本マーモセット研究会大会（犬山）
3. 知見聡美 (2015.1.25) 大脳基底核疾患の病態生理とDBS の作用機序．ジストニア研究会（東京）
4. 知見聡美 (2015.3.5) パーキンソン病モデルサルにおける大脳基底核内情報伝達の異常．第 4 回生理研－新潟脳研シンポジウム（新潟）
5. Chiken S, Sato A, Ohta C, Sasaoka T, Nambu A (2015.3.5-6) Dopamine D1 receptor-mediated transmission maintains information flow through the cortico-striato-internal pallidal direct pathway to release movements. BRI International Symposium 2015 “Genome Editing Technology; its Current State-of-Art and Application to Brain Research" (新潟)
6. 南部篤（2015.3.13）大脳皮質－大脳基底核ループとパーキンソン病. Kyushu Neuroscience Conference（福岡）
7. Nambu A (2015.3.23) Dystonia, basal ganglia and cerebellum. The 92th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (神戸)
8. Kawakami K, Ikeda K, Chiken S, Sugimoto H, Nambu A (2015.3.23) Dystonia model mouse deficient of Na-pump alpha3 subunit gene. The 92th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (神戸)
9. Chiken S, Takada M, Nambu A (2015.3.23) Disturbance in information flow through the cortico-basal ganglia pathways in parkinsonian monkeys. The 92th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (神戸)
10. Horie M, Watanabe K, Hossain I, Sano H, Chiken S, Nambu A, Ono K, Takebayashi H (2015.3.23) Histological analysis of the brain in Dystonia-deficient mice. The 92th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (神戸)
11. 南部篤（2015.4.2) 大脳皮質－大脳基底核ループ異常としてのパーキンソン病．和歌山パーキンソン病研究会（和歌山）
12. Chiken S, Nambu A (2015.6.25) Pallidal and cerebellar control of thalamocortical activity. 神経オシレーションカンファレンス (京都)
13. 知見聡美，南部篤 (2015.6.27) パーキンソン病モデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核路の情報伝達異常．第９回 Motor Control 研究会 (京都)
14. 南部篤 (2015.7.28) システム神経生理学：これまでの３０年，これからの２０年．第３８回日本神経科学大会（神戸）
15. Horie M, Sano H, Chiken S, Kobayashi K, Ono K, Nambu A, Takebayashi H (2015.7.28) Examination for possible involvement of the vestibular and reticular nuclei in the emergence for dystonia-like movements in Dystonin-deficient mice. 第３８回日本神経科学大会（神戸）
16. Kubota H, Chiken S, Homma D, Takakusaki K, Ichinose H, Nambu A (2015.7.30) Abnormal neuronal activity of the basal ganglia in a transgenic mouse model of dopa-responsive dystonia with sepiapterin reductase deficiency. 第３８回日本神経科学大会 (神戸)
17. Ozaki M, Sano H, Chiken S, Ogura M, Nakao N, Nambu A (2015.7.30) Neuronal responses in the basal ganglia evoked by optical stimulation of mice motor cortex. 第３８回日本神経科学大会（神戸）
18. Sasaoka T, Sato A, Chiken S, Maeshima J, Arai S, Sunayama-Morita T, Oda K, Maeda Y, Sakai S, Jinbo Y, Umakawa E, Sato T, Okubo T, Fujisawa N, Yokoyama M, Nambu A (2015.7.30) D1 dopamine receptor-mediated signal is required to maintain normal motor activity. 第３８回日本神経科学大会 (神戸)

19. Indriani DW, Sano H, Chiken S, Nambu A (2015.7.30) Basal ganglia activity in a mouse model of dyskinesia. 第３８回日本神経科学大会 (神戸)
20. Chiken S, Takada M, Nambu A (2015.7.30) Abnormal information flow through the cortico-basal ganglia circuits in MPTP-treated parkinsonian monkeys. 第３８回日本神経科学大会 (神戸)
21. 知見聡美，南部篤（2015.9.19）大脳基底核による視床－大脳皮質投射の制御機構。第５回名古屋大学医学研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
22. 佐野裕美，南部　篤（2015.9.19）抗パーキンソン病薬ゾニサミドの神経保護作用。第 5 回名古屋大学医学研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
23. 南部篤 (2015.9.30) 大脳皮質－大脳基底核ループとパーキンソン病. 第５回パーキンソン病 QOL 懇話会（広島）
24. 知見聡美（2015.10.16）大脳基底核は，どのように運動を制御しているのか？第９回パーキンソン病· 運動障害疾患コングレス（東京）
25. Sano H, Kobayashi K, Chiken S, Kato S, Kobayashi K, Nambu A (2015.10.17-21) Cortically induced responses in the basal ganglia through the cortico-striatal neurons. Neuroscience 2015 (Chicago, USA)
26. Chiken S, Sato A, Sasaoka T, Nambu A (2015.10.31) Dopamine D1 receptor activation maintains information flow through the cortico-basal ganglia direct pathway to release movements. International Symposium on Prediction and Decision Making (東京)
27. Chiken S, Nambu A (2015.11.5) Pallidal and cerebellar control of thalamocortical activity. 5th NIPS-CIN Joint Symposium (岡崎)
28. Sano H (2015.11.5) Physiological roles of striatal projection neurons in voluntary movement. 5th CIN - NIPS Joint Symposium（岡崎）
29. Chiken S, Sano H, Kawaguchi Y, Kimura M, Nambu A (2015.11.24) Basal ganglia and cerebellar control of thalamocortical activity. 8th FAPOS Congress (Bangkok, Thailand)
30. Woranan W, Chiken S, Nambu A (2015.11.24) Correlated pallidal activity during voluntary reaching movements in a macaque monkey. 8th FAPOS Congress (Bangkok, Thailand)
31. Nambu A, Koketsu D, Chiken S, Hisatsune T, Miyachi S (2015.11.24) Functions of the cortico-subthalamic hypedirect pathway investigated by a photodynamic technique. 8th FAPOS Congress (Bangkok, Thailand)
32. 南部篤 (2015.12.5) システム神経科学がめざすもの. 生理学研究所研究会「行動システム脳科学の新展開」（岡崎）
33. 南部篤 (2015.12.9) 大脳基底核の機能からパーキンソン病を理解する. ハッピーフェイスセミナー in 宮崎（宮崎）

《脳形態解析研究部門》

1. Furuse M (2015.4.1) Molecular organization of tricellular tight junctions. Experimental Biology 2015 (Boston, USA)
2. Furuse M，Izumi Y (2015.7.1) Molecular dissection of septate junctions in the insect midgut and Malpighian tubules．Society for Experimental Biology Annual Main Meeting 2015（Prague, Czeck）
3. Furuse M (2015.7.5) The angulin-tricellulin system at epithelial and endothelial tricellular tight junctions．The 18th International Symposium on Signal Transduction at the Blood-Brain and Blood-Retina Barriers（Paris, France）
4. 泉裕士，元石美奈子，今川裕貴，古瀬幹夫（2015.12.1）ショウジョウバエ腸管上皮細胞のセプテートジャンクション形成に関与する分子群の同定. 第 88 回日本生化学会大会合同大会（神戸）
5. Kishi M，Nagaoka T（2015. 12. 3）Planar Cell Polarity in the Neural Circuit. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会（神戸）
6. Furuse M (2015.12.5) Molecular organization of epithelial tricellular junctions. 第 31 回国際生物学賞記念シンポジウム（京都）
7. Nagaoka T，Kishi M（2015. 12. 15）Role of planar cell polarity protein Vangl2 in synapse formation．2015 Cell Biology ASCB Annual Meeting（San Diego, USA）

《大脳神経回路論研究部門》

1. 窪田芳之 (2015.1.7) FS バスケット細胞の錐体細胞神経支配様式. HIGO セミナー（熊本）
2. Wahab L, 窪田芳之, 川口泰雄 (2015.2.13) Inhibitory synapse distribution on pyramidal cell in cortical layer II/III. The 7th NAGOYA Global Retreat（大府）
3. 川口泰雄 (2015.2.21) 大脳領域間結合と局所回路網の統合的解析. CREST「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域　第二回公開シンポジウム「脳神経回路研究の最前線 2015」（東京）
4. 窪田芳之 (2015.2.22) FS バスケット細胞の神経終末が大脳皮質５層の錐体細胞を神経支配する様式. CREST「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域　第二回公開シンポジウム「脳神経回路研究の最前線 2015」（東京）
5. 植田禎史, 川口泰雄 (2015.3.4) 皮質間投射からみた前頭皮質錐体細胞の分化. 第 4 回生理学研究所－新潟脳研究所合同シンポジウム（新潟）
6. 窪田芳之 (2015.3.11) 大脳皮質錐体細胞棘突起へ入力する抑制性シナプスの動態. 自然科学研究機構プロジェクト合同シンポジウム「脳神経情報の階層的研究」「機能生命科学における揺らぎと決定」（岡崎）
7. 窪田芳之 (2015.3.22) Dynamic behavior of inhibitory synapse on pyramidal cell. 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（神戸）
8. 窪田芳之 (2015.3.25) ATUMtome および SBEM を使った脳組織観察法. 日本顕微鏡学会「SEM 連続断面観察による生物組織三次元再構築法研究部会」第三回研究会（甲州）
9. Kubota Y (2015.4.8) Functional effects of distinct innervation styles of pyramidal cells by fast spiking cortical interneurons.セミナー (Qena, Egypt)
10. 窪田芳之 (2015.5.12) 大脳皮質 FS バスケット細胞による５層錐体細胞神経支配の様式. 岡部 CREST グループミーティング（京都）
11. 窪田芳之 (2015.6.18) ATUMtome を使った脳組織観察法. 第 10 回自然科学研究機構技術研究会（岡崎）
12. 窪田芳之 (2015.7.17) 連続 EM 画像からの３次元再構築法の紹介とその問題点. IGER セミナー（名古屋）
13. 窪田芳之 (2015.7.29) Functional effects of distinct innervation styles of pyramidal cells by fast spiking cortical interneurons. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
14. Mohamed AA, Kubota Y, Kondo S, Yamaguchi N, Hatada S, Nomura M, Younes HA, Tanaka YR, Abdalla KEH, Lübke J, Kawaguchi Y (2015.7.29) Conserved morphology of dendritic trees in cortical pyramidal cell. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
15. Ushimaru M, Kawaguchi Y (2015.7.30) Temporal order of firing activity among cortical neuron subtypes in slow wave. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
16. Morishima M, Kawaguchi Y (2015.7.30) Interaction between two types of pyramidal cells and GABAergic cells in the layer 5 of the frontal cortex. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
17. Kubota Y, Villa KL, Berry KP, Subramanian J, Cha JW, So PT, Nedivi E, Kawaguchi Y (2015.8.3) Correlative light and electron microscopy of brain tissue using two-photon microscope and FIB/SEM. Microscopy & Microanalysis 2015 (Portland, USA)
18. Kondo M, Morishima M, Kawaguchi Y, Morita K (2015.9.15) Multi-compartmental models of corticopontine- and crossed corticostriatal neurons of rat frontal cortex. 11th Bernstein Conference 2015 (Heidelberg, Germany)
19. Kubota Y (2015.9.29) Functional effects of distinct innervation styles of pyramidal cells by fast spiking cortical interneurons. セミナー (Crete, Greece)
20. Kubota Y, Kondo S, Nomura M, Hatada S, Yamaguchi N, Mohamed AA, Karube F, Lübke J, Kawaguchi Y (2015.10.19) Functional effects of distinct innervation styles of pyramidal cells by fast spiking cortical interneurons. 45th annual meeting of the Society for Neuroscience (Chicago, USA)
21. 川口泰雄 (2015.10.31) Temporal organization of pyramidal neuron output to the striatum. International Symposium on Prediction and Decision Making 2015（東京）
22. Hatanaka Y, Namikawa T, Yamauchi K, Kawaguchi Y (2015.11.5) Cortical divergent projections in mice originate from two sequentially generated, distinct populations of excitatory cortical neurons with different initial axonal outgrowth characteristics. The 5th NIPS-CIN

Joint Symposium（岡崎）

23. 窪田芳之 (2015.11.5) Functional effects of distinct innervation styles of pyramidal cells by fast spiking cortical interneurons. The 5th NIPS-CIN Joint Symposium（岡崎）
24. Kubota Y, Sekigawa A, Hatada S, Kawaguchi Y (2015.11.25) An excitatory and inhibitory synapse density on various nonpyramidal cells in the rat cerebral cortex. The 2nd East-Asia Microscopy Conference（姫路）
25. 窪田芳之 (2015.12.3) 大脳皮質 FS バスケット細胞による５層錐体細胞神経支配の様式. 平成 27 年度生理研研究会「シナプス・神経ネットワークの機能ダイナミクス」（岡崎）
26. 川口泰雄 (2015.12.4) 大脳皮質パルブアルブミン細胞の歴史と謎. 平成 27 年度生理研研究会「行動システム脳科学の新展開」（岡崎）

《心理生理学研究部門》

1. 福永雅喜（2015.1.17）マルチスケール MR イメージングによる生体システムの可視化．自然科学研究機構新分野創成センターシンポジウム「生命現象を全体として理解する新しい科学の創成」（岡崎，愛知）
2. 福永雅喜，小池耕彦，定藤規弘（2015.1.19）スポーツ選手のブレインバイオマーカー探索．新学術「スポーツ脳」集会（岡崎，愛知）
3. Koyama S, Tanaka S, Tanabe S, Sadato N (2015.2.13) Dual-hemisphere transcranial direct current stimulation over primary motor cortex enhances consolidation of a ballistic thumb movement. 第 7 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府，愛知）
4. 北田亮 (2015.2.21) 他者の身体と行動の理解に視覚経験は必要か？ 関西学院大学 CAPS シンポジウム「こころと身体の関係を捉え直す―学際的な身体科学研究の新展開（西宮，兵庫）
5. 小池耕彦，中川恵理，角谷基文，岡崎俊太郎，定藤規弘 (2015.3.4) On-line eye contacts activates the left cerebellum hemisphere lobule IV．第四回生理研-新潟脳研合同シンポジウム（新潟、新潟）
6. 北田亮 (2015.3.11) MRI の原理に関する概説．第４回 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」（岡崎，愛知）
7. 北田亮 (2015.3.14) 他者の行動理解と模倣に関わる脳内ネットワーク．日本認知科学会知覚と行動モデリング（P&P）研究分科会ワークショップ「社会神経科学と知覚研究」（東京）
8. 原田宗子 (2015.3.14) 脳機能イメージングで探る認知の文化差の神経基盤．日本認知科学会 P&P 研究分科会ワークショップ「社会神経科学と知覚研究」（東京）
9. 福永雅喜（2015.3.14）functional MRI の現状と最近の動向 - resting state, hyperscanning, ultra high field -．第 27 回 臨床 MR 脳機能研究会（徳島、徳島）
10. 北田亮 (2015.3.19) 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 新学術領域研究 質感脳情報学 班会議（豊中，大阪）
11. 角谷基文，五十嵐一枝，宮原資英（2015.3.20）思春期の自閉症スペクトラム児の友人関係－孤独不安に注目した質的研究－．一般社団法人日本発達心理学会第 26 回大会（東京）
12. 福永雅喜，吉田正俊（2015.3.25）MRI による脳画像研究 - トランスレーショナル研究への応用を目指して -．第３回 霊長類認知ゲノミクスワークショップ（東京）
13. 定藤規弘 (2015.5.9) 脳機能解剖の多次元解析 : PET・機能的 MRI によるアプローチ 機能地図からネットワーク解析へ. 第 35 回日本脳神経外科コングレス総会（横浜，神奈川）
14. Kitada R (2015.6.5) The supra-modal brain network for the recognition of faces and bodies: is visual experience necessary for the development of high-order visual cortices? The 5th International Conference on Cognitive Neurodynamics (ICCN) (Sanya, China)
15. Koike T, Nakagawa E, Sumiya M, Shuntaro O, Sadato N (2015.6.16) The cerebellar-thalamic area represents the shared perceptual activity during real-time eye contact. OHBM2015 Annual Meeting (Honolulu, USA)
16. Tanabe HC, Koike T, Okazaki S, Sadato N (2015.6.16)

Common and cue-specific neural substrates of joint attention: a hyperscanning functional MRI study. OHBM2015 Annual Meeting (Honolulu, USA)

17. Rajaei N, Kitada R, Aoki N, Takahashi HK, Miyaoka T, Ohka M, Sadato N (2015.6.18) The brain network underlying the velvet hand illusion: An fMRI study. The 21st Annual Meeting of Organization for Human Brain Mapping (Hawaii, US)
18. 北田亮（2015.6.26）触覚による物体認知メカニズムの理解に向けて．身体性情報学研究会（京都）
19. Sadato N (2015.6.30) Development of Social Cognition: Functional Neuroimaging Approach. RIKEN Molecular Imaging Seminar (Kobe, Japan)
20. 島田浩二，Hirotani M，中川恵理，牧田快，濱野友希，岡崎俊太郎，Fox J，定藤規弘（2015.7.2）外国語産出能力の習熟過程に関わる大脳基底核の脳活動の可塑的変化．第 17 回日本ヒト脳機能マッピング学会 (大阪，大阪)
21. Hamano YH, Sugawara SK, Yamazaki-Kindaich H, Aoki N, Yoshimoto T, and Sadato N (2015.7.28) Both primary motor area and striatum hold the memory of the sequential motor skill during the early training stage. 38th Annual meeting of Japan Neuroscience Society (Kobe, JAPAN)
22. Koike T, Tanabe HC, Okazaki S, Sadato N (2015.7.28) Neural substrates of initiating and responding to joint attention: a hyperscanning fMRI study. 38th Annual meeting of Japan Neuroscience Society (Kobe, JAPAN)
23. 宍戸恵美子，山崎拳一郎，伊藤竜樹，伊藤嘉邦，岡崎俊太郎，井本敬二，定藤規弘，福村直博，尾崎紀夫 （2015.7.28）線をなぞるときの目と腕の協調運動で書道家はどこを見ているか．第 38 回日本神経科学大会（神戸，兵庫）
24. Nakagawa E, Koike T, Makita K, Shimada K, Yoshida H, Yokokawa H and Sadato N (2015.7.29) The neural substrates of syntactic processing by second language learners: Evidence from syntactic priming. 38th Annual meeting of Japan Neuroscience Society (Kobe, JAPAN)
25. Tanabe HC, Koike T, Okazaki S, Sadato N (2015.7.30) Verbal-cued joint attention: a hyperscanning fMRI study. 38th Annual meeting of Japan Neuroscience Society (Kobe, JAPAN)
26. 岡崎俊太郎，廣谷昌子，小池耕彦，高橋陽香，定藤 規弘（2015.7.30）無意識の社会的相互作用における視覚体動フィードバックシステムを定量化する．第 38 回日本神経科学大会（神戸，兵庫）
27. 中谷駿，高橋陽香，青木直哉，北田亮，定藤規弘，神谷之康，宮脇陽一（2015.9.2）触覚刺激時におけるヒト視覚野の活動と触覚情報表現．第 25 回日本神経回路学会全国大会（東京）
28. Hamano YH, Sugawara SK, Yamazaki-Kindaich H, Aoki N, Yoshimoto T and Sadato N (2015.9.10) Neural substrates of sequential motor skill in the early training stage: an fMRI study. COI 夏の研究会（浜松，静岡）
29. 菅原翔，福永雅喜，小池耕彦，濱野友希，滝沢修，定藤規弘（2015.9.10）Multi-band GE-EPI 法を用いた脳機能イメージングにおける最適パラメータの検討．第 43 回日本磁気共鳴医学会大会（東京）
30. 定藤規弘（2015.9.11）MRI から迫る脳科学 Overview．第 43 回日本磁気共鳴医学会大会（東京）
31. 福永雅喜，定藤規弘（2015.9.11）超高磁場 MRI でせまる脳の構造と機能．第 43 回日本磁気共鳴医学会大会（東京）
32. 小池耕彦，中川恵理，角谷基文，岡崎俊太郎，定藤規弘（2015.9.18）みつめあい状態における社会的随伴性の神経基盤：Hyperscanning fMRI を用いた研究．日本認知科学会第 32 回大会（千葉，千葉）
33. Shishido E, Okazaki S, Itoh Y, Imoto K, Sadato N, Ozaki N, Fukumura N (2015.9.19) How the eye moves when humans trace a line. 名古屋大学-生理学研究所合同 Symposium（岡崎，愛知）
34. 高橋陽香，北田亮，佐々木章宏，川道拓東，岡崎俊太郎，河内山隆紀，定藤規弘（2015.9.19）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．名古屋大学・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎，愛知）
35. 定藤規弘（2015.9.24）「私たち」の脳科学へ向けて 2 個体同時計測 fMRI によるアプローチ．第 45 回日本神経精神薬理学会・第 37 回日本生物学的精神医学会合同年会（東京）
36. 越山太輔，福永雅喜，岡田直大，山下典生，山森英長，安田由華，藤本美智子，大井一高，藤野陽生，笠井清澄，橋本亮太（2015.9.25）統合失調症の皮質下体積と認知機能の相関解析．第 45 回日本神経精神

薬理学会･第 37 回日本生物学的精神医学会合同年会（東京）

37. 岡田直大，福永雅喜，山下典生，越山太輔，山森英長，大井一高，安田由華，藤本美智子，渡邉嘉之，八幡憲明，根本清貴，磯部昌憲，磯村周一，夏堀龍暢，成田尚，橋本直樹，宮田淳，小池進介，高橋努，山末英典，松尾幸治，鬼塚俊明，飯田哲也，吉村玲児，渡邉義文，鈴木道雄，武田雅俊，尾崎紀夫，笠井清澄，鈴木亮太（2015.9.25）ENIGMA-SZJ：統合失調症の皮質下体積のメタアナリシス. 第 45 回日本神経精神薬理学会･第 37 回日本生物学的精神医学会合同年会（東京）
38. 三浦健一郎，橋本亮太，藤本美智子，山森英長，安田由華，藤野陽生，福永雅喜，武田雅俊（2015.9.26）第 45 回日本神経精神薬理学会･第 37 回日本生物学的精神医学会合同年会（東京）
39. 橋本亮太，山森英長，安田由華，藤本美智子，藤野陽生，三浦健一郎，福永雅喜，武田雅俊（2015.9.26）第 45 回日本神経精神薬理学会･第 37 回日本生物学的精神医学会合同年会（東京）
40. 定藤規弘（2015.10.10）間主観性（inter-subjectivity）の脳的基盤．第 38 回日本精神病理学会（名古屋，愛知）
41. 菅原翔（2015.10.16）社会的称賛と学習の定着：運動学習の神経基盤を踏まえて．シンポジウム 2：患者の行動を決めるのは何か？第 22 会日本行動医学会（仙台，宮城）
42. Aoki N, Sugawara SK, Hirotani M, Okazaki S, Yamazaki-Kindaich H, Yoshimoto T, Yokokawa H, Yoshida H and Sadato N (2015.10.18) The enhanced consolidation of foreign word learning by overt pronunciation. The 45th annual meeting of the Society for Neuroscience (Chicago,U.S.A.)
43. Sumiya M, Koike T, Okazaki S, Kitada R & Sadato N (2015.10.20) A rewarding nature of conversation: an fMRI study on the contingency between own action and positive outcome. The 45th annual meeting of the Society for Neuroscience (Chicago., U.S.A.)
44. Abe M, Koike T, Okazaki S, Sugawara S, Takahashi K, Watanabe K, Sadato N (2015.10.21) Neural substrates of motor coordination in joint action. The 45th annual meeting of the Society for Neuroscience. (Chicago, U.S.A.)
45. Hamano YH, Sugawara SK, Yamazaki-Kindaich H, Aoki N, Yoshimoto T & Sadato N (2015.10.21) The cortico-striatal network holds the memory of the sequential motor skill during the early training stage. Society for Neuroscience's 45st Annual Meeting (Chicago, USA)
46. Sugawara SK, Hamano YH, Aoki N, Yamzaki-Kindaichi H, Yoshimoto T & Sadato N (2015.10.21) Combined speed- and accuracy-focused training prevents offline performance improvements in sequential motor skill. Society for Neuroscience's 45st Annual Meeting (Chicago, USA)
47. 北田亮（2015.10.23）触覚による物体認識の脳内ネットワーク．日本心理学会第 79 大会（名古屋，愛知）
48. 北田亮（2015.10.24）脳機能イメージングは心理学研究にどのように貢献できるのか-多感覚と視覚障害の fMRI 研究を例として-. 日本心理学会第 79 大会（名古屋，愛知）
49. 北田亮（2015.11.1）他者理解の神経基盤．日本社会心理学会第 56 回大会（東京）.
50. Fukunaga M and Sadato N (2015.11.6) Ultra High Field MRI of Human Brain Structure and Function. The 10th Asian Oceanian Congress of Neuroradiology (Fukuoka, Japan)
51. Sumiya M, Koike T, Okazaki S, Kitada R & Sadato N (2015.11.6) Brain networks underlying the contingency effect between own actions and positive outcome in conversation: an functional MRI study. The 5th Tübingen University/NIPS Joint Neuroscience Symposium (Okazaki, Japan)
52. 中谷駿，高橋陽香，青木直哉，北田亮，定藤規弘，神谷之康，宮脇陽一（2015.11.7）触覚刺激時におけるヒト視覚野の活動と触覚情報表現．第七回多感覚研究会（東京）
53. 北田 亮（2015.11.28）触覚による物体認知の脳内ネットワーク． 触覚講習会「触覚技術の基礎と応用」（草津，滋賀）

《認知行動発達機構研究部門》

1. 郷康広，臼井千夏，石川裕恵，辰本将司（2015 年 1 月 22 日）マーモセットにおける精神・神経疾患関連遺伝子解析. 第 4 回日本マーモセット研究会大会（愛知県犬山市）
2. 伊佐正（2015 年 1 月 31 日）霊長類モデルを用いた脊髄損傷からの回復過程の多角的研究. 第 20 回スパインフロンティア（愛知県常滑市）
3. Isa T（2015 年 2 月 4 日） Large-scaled network reorganization during recovery from partial spinal cord injury. First IBRO-APRC Global Advocacy Workshop（Mumbai, India）
4. 伊佐正（2015 年 2 月 21 日） Large-scaled network reorganization during recovery from partial spinal cord injury. 第 6 回日本安全性薬理研究会学術年会（東京都文京区）
5. 伊佐正（2015 年 2 月 27 日） Large-scaled network reorganization during recovery from partial spinal cord injury. 第 4 回玉川大学脳科学研究所リトリート（神奈川県箱根町）
6. 澤田真寛，加藤健治，尾上浩隆，伊佐正，西村幸男（2015 年 3 月 4 日）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. 生理研・新潟大脳研合同シンポジム（新潟県新潟市）
7. Go Y, He L, Oishi T, Shigenobu S, Kakita A, Nawa H, Khaitovich P（2015 年 3 月 4 日）Spatiotemporal gene expression trajectory in the human and non-human ape brains. 生理研・新潟大脳研合同シンポジム（新潟県新潟市）
8. 郷康広（2015 年 3 月 11 日）ヒトを理解するための霊長類モデルの可能性ーゲノム・トランスクリプトームからのアプローチ. 日本顕微鏡学会分子・細胞動態イメージング研究部会 CREST 生命動態領域共催ワークショップ（東京都文京区）
9. 西村幸男（2015 年 3 月 13 日）脊髄損傷からの運動機能回復を支える側坐核の役割. 平成 26 年度　京都大学霊長類研究所共同利用研究会「霊長類脳科学の新しい展開とゲノム科学との融合」（愛知県犬山市）
10. Nakao Y, Sasada S, Kato K, Murayama T, Kadowaki S, Yoshida S, Iizuka M, Komiyama T, Ugawa Y, Nishimura Y（2015 年 3 月 14 日）Restoring volitional walking via neural interface in patients with severe spinal cord injury. CBMI2015（東京都千代田区）
11. 郷康広（2015 年 3 月 14 日）霊長類における精神・神経疾患関連遺伝子解析と認知ゲノミクスの展望. 平成 26 年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会「霊長類脳科学の新しい展開とゲノム科学との融合」（愛知県犬山市）
12. Nishimura Y（2015 年 3 月 14 日）Rewiring the Damaged-Pathway through BCI Restores Volitional Control of a Paretic Limb. CBMI2015（東京都千代田区）
13. Yoshida M（2015 年 3 月 17 日）Saliency-guided eye movements in blindsight monkeys. 8th annual meeting Primate Neurobiology（Gottingen, Germany）
14. Suzuki M, Sawada M, Isa T, Nishimura Y（2015 年 3 月 23 日）Meso-limbic outflow toward descending motor pathways in monkeys. 第 92 回日本生理学会大会（兵庫県神戸市）
15. 西村幸男（2015 年 3 月 24 日）機能回復に必要な中脳辺縁系. 第 92 回日本生理学会大会（兵庫県神戸市）
16. 西村幸男（2015 年 3 月 25 日）損傷した神経経路を神経インターフェイスで再結合させる. STROKE2015（広島県広島市）
17. 西村幸男（2015 年 3 月 26 日）Brain Computer Interface による人工神経接続. STROKE2015（広島県広島市）
18. 伊佐正（2015 年 3 月 28 日）視線計測による認知機能の解析. 第 10 回日本統合失調症学会（東京都千代田区）
19. 西村幸男（2015 年 4 月 25 日）脊髄損傷患者に対する革新的な随意運動機能再建法の提案. 第 38 回福島脊椎脊髄疾患研究会（福島県福島市）
20. 西村幸男（2015 年 5 月 7 日）Neural interface による損傷神経の人工神経接続. 第５４回日本生体医工学会大会（愛知県名古屋市）
21. Yoshida M, Miura K, Hashimoto R, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Ohi K, Fukunaga M, Takeda M, Isa T（2015 年 5 月 17 日）Saliency-guided eye movement during free-viewing in schizophrenic patients. 学会名 Vision Sciences Society　15th Annual Meeting（Florida, USA）
22. 西村幸男（2015 年 5 月 20 日）心と身体を繋ぐ神経基盤. 第 147 回スポーツサイエンス研究会（埼玉県

所沢市）

23. 郷康広（2015 年 5 月 22 日）ゲノムを通して我が身を知る〜ヒトとサルの間にあるもの．東北大学脳神経科学コアセミナー（宮城県仙台市）
24. Veale R, Isa T, Yoshida M（2015 年 5 月 25 日）Applying Diffrential Evolution MCMC to Parameterize Large-scale Spiking Neural Simulations．IEEE CEC2015（宮城県仙台市）
25. 伊佐正（2015 年 5 月 29 日）障害脳が示す新しい機能について．第 9 回進行期パーキンソン病研究会（愛知県名古屋市）
26. 西村幸男（2015 年 5 月 30 日）神経活動依存的刺激を活用した脊髄損傷治療．第５２回日本リハビリテーション医学会学術集会（新潟県新潟市）
27. 當山峰道，里宇明元，伊佐正（2015 年 5 月 30 日）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．第５２回日本リハビリテーション医学会学術集会（新潟県新潟市）
28. 伊佐正（2015 年 6 月 6 日）脊髄損傷後回復過程での大規模神経回路再編機構．第 50 回日本理学療法学術大会（東京都千代田区）
29. 西村幸男（2015 年 6 月 6 日）脊髄への磁気刺激による革新的ニューロリハビリテーション法の提案．第 30 回日本生体磁気学会大会（北海道旭川市）
30. Suzuki M（2015 年 6 月 7 日）Neural substrate for motivational control of descending motor pathways．第 50 回日本理学療法学術大会（東京都千代田区）
31. Nishimura Y（2015 年 6 月 22 日）Rewiring the damaged neural pathways via a computer interface．OCNC2015（沖縄県那覇市）
32. 郷康広，Qian Li，Liu He，大石高生，鵜殿俊史，重信秀治，柿田明美，那波宏之，Philipp Khaitovich（2015 年 7 月 1 日）ヒトと類人猿における時空間比較トランスクリプトーム解析．NGS 現場の会第 4 回研究会（茨城県つくば市）
33. 西村幸男（2015 年 7 月 18 日）中脳辺縁系による運動制御機構．第 30 回日本大脳基底核研究会（愛知県犬山市）
34. 郷康広，Qian Li，Liu He，大石高生，鵜殿俊史，重信秀治，柿田明美，那波宏之，Philipp Khaitovich（2015 年 7 月 19 日）ヒトと類人猿における時空間比較トランスクリプトーム解析．第 31 回日本霊長類学会学術大会（京都府京都市）
35. Veale R, Isa T, Yoshida M（2015 年 7 月 21 日）Spatiotemporal dynamics in spiking simulations of superior colliculus fit via MCMC suggest disinhibition responsible for superlinear summation. CNS2015（Prague, Czech）
36. Veale R,　Isa T, Yoshida M（2015 年 7 月 26 日）What is the colliculus computing? Saliency computation via large scale spiking simulations on the superior colliculus.. Gordon Research Conference（Boston, USA）
37. 加藤利佳子，池田琢朗，林拓也，尾上嘉代，河原正幸，高浦加奈，吉田正俊，塚田秀夫，尾上浩隆，伊佐正（2015 年 7 月 28 日）「盲視」サルにおける視覚ー運動変換の皮質神経機構．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
38. 笠井昌俊，伊佐正（2015 年 7 月 28 日）上丘浅層細胞集団活動イメージングによる側方抑制メカニズムの解明．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
39. 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（2015 年 7 月 28 日）人工神経接続による重度脊髄損傷患者の歩行機能再建．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
40. 鈴木迪諒，澤田真寛，伊佐正，西村幸男（2015 年 7 月 28 日）サル中脳辺縁系と前頭葉皮質との機能的神経結合．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
41. Isa T, Veale R,　Yoshida M（2015 年 7 月 28 日）Dynamics of lateral interactions in spiking neural circuit simulations of the superficial superior colliculus．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
42. 高桑徳宏，加藤利佳子，Redgrave Peter，伊佐正（2015 年 7 月 29 日）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報酬予測の関わる活動．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
43. 伊佐かおる，Sooksawate T，小林憲太，伊佐正（2015 年 7 月 30 日）マウス上丘出力細胞の経路選択的な光遺伝学的な活性化により誘発される行動の解析．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
44. 西原陽子，梅田達也，伊佐正，西村幸男（2015 年 7 月 30 日）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．第 38 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）

45. 笠井昌俊，伊佐正（2015 年 8 月 19 日）マウス上丘浅層における側方抑制の細胞集団の活動に基づいた空間的解析．視覚科学フォーラム　第１９回研究会（福島県福島市）
46. 郷康広，Li Q，He L，大石高生，鵜殿俊史，重信秀治，柿田明美，那波宏之，Khaitovich P（2015 年 8 月 20 日）ヒトと類人猿における時空間比較トランスクリプトーム解析．第 17 回日本進化学会大会（東京都文京区）
47. 西村幸男（2015 年 8 月 29 日）心と体の神経基盤．2015 運動生理学セミナー（静岡県熱海市）
48. 伊佐正（2015 年 9 月 1 日）視覚的注意の可視化．第 5 回人機官能コンソーシアム（静岡県静岡市）
49. 伊佐正（2015 年 9 月 14 日）無意識の視覚系の実体を求めて．応用脳科学アカデミー（東京都千代田区）
50. Yoshida M（2015 年 9 月 15 日）Vision and eye movements in blindsight．The 31st International Pupil Colloquium（Oxford, UK）
51. 伊佐正（2015 年 9 月 18 日）脊髄損傷後の機能回復過程における大規模回路再編．第 8 回神経機能回復セミナー（秋田県角館町）
52. 西村幸男（2015 年 9 月 18 日）筋活動は誰が制御しているのか？皮質 vs 体性感覚．筋電図の会（和歌山県和歌山市）
53. 笠井昌俊，伊佐正（2015 年 9 月 19 日）マウス上丘浅層における側方抑制の空間的パタンの解析．学第５回　名古屋大学・生理学研究所合同シンポジウム（愛知県岡崎市）
54. 郷康広，辰本将司，福多賢太郎，野口英樹，早川卓志，友永雅己，平井啓久，松沢哲郎，阿形清和，藤山秋佐夫（2015 年 9 月 24 日）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および構造変化の同定．日本遺伝学会第 87 回大会（宮城県仙台市）
55. 辰本将司，郷康広，Li Q，He L，大石高生，鵜殿俊史，重信秀治，柿田明美，那波宏之，Khaitovich P（2015 年 9 月 25 日）ヒトと類人猿における時空間比較トランスクリプトーム解析．日本遺伝学会第 87 回大会（宮城県仙台市）
56. Veale R, Isa T, Yoshida M.（2015 年 10 月 10 日）Technical Implementation of a Visual Attention Neuro-Prosthesis. IEEE SMC2015（香港）
57. Nishimura Y, Nakao Y, Sasada S, Kato K, Murayama T, Kadowaki S, Yoshida S, Iizuka M, Komiyama T（2015 年 10 月 15 日）Restring walking ability in individuals in severe spinal cord injury via a closed-loop spinal stimulation. Cell Symposia:Engineering the Brain-Technologies for Neurobiological Applications（Chicago, USA）
58. Isa K, Sooksawate T, Kobayashi K, Isa T（2015 年 10 月 15 日）Selective optogenetic control of tectal output pathways:Induction of orienting vs fear responses．Cell Symposia:Engineering the Brain-Technologies for Neurobiological Applications（Chicago, USA）
59. Isa T, Kinoshita M, Kato R, Kobayashi K, Isa K, Onoe H（2015 年 10 月 15 日）Dissecting the circuit for blindsight in macaque monkeys．Cell Symposia:Engineering the Brain-Technologies for Neurobiological Applications（Chicago, USA）
60. 小川正晃（2015 年 10 月 16 日）意思決定における眼窩前頭皮質の役割～げっ歯類を用いた基礎研究からわかること～．第 22 回日本行動医学会学術総会（宮城県仙台市）
61. 小川正晃（2015 年 10 月 17 日）不確実な報酬に惹きつけられる神経機構の解明．アステラス病態代謝研究会　第 46 回研究報告会（東京都千代田区）
62. Nakao Y, Sasada S, Kato K, Murayama T, Kadowaki S, Yoshida S, Iizuka M, Komiyama T, Ugawa Y, Nishimura Y（2015 年 10 月 17 日）Restoring walking ability in individuals with severe spinal cord injury using a closed-llop spinal magnetic stimulation. SfN2015（Chicago, USA）
63. Isa K, Sooksawate T, Kobayashi K, Kobayashi K, Isa T（2015 年 10 月 18 日）Pathway-selective optogenetic activation of output neurons in mouse superior colliculus. SfN2015（Chicago, USA）
64. Suzuki M, Isa T, Nishimura Y（2015 年 10 月 19 日）Deep brain stimulation of the mesolimbic system induces cortical responses in limbic and sensorimotor areas in monkeys. SfN2015（Chicago, USA）
65. Veale R, Isa T, Yoshida M（2015 年 10 月 20 日）Parameter estimation of large-scale spiking simulations of superficial superior colliculus．SfN2015（Chicago, USA）

66. Kasai M，Isa T（2015 年 11 月 5 日）Spatial population dynamics of lateral interaction in supreficial superior colliculus．5th NIPS-CIN Joint Symposium（愛知県岡崎市）
67. Takakuwa N，Kato R, Redgrave P, Isa T（2015 年 11 月 5 日）Visual pathways for dopamine response to reward predictors in blindsight monkeys．5th NIPS-CIN Joint Symposium（愛知県岡崎市）
68. 伊佐正（2015 年 11 月 7 日）運動野から脊髄運動ニューロンへの直接経路と間接経路が手の巧緻運動制御において果たす 役割について．第 45 回日本臨床神経生理学会学術大会（大阪府大阪市）
69. 西村幸男（2015 年 11 月 14 日）人工神経接続による機能再建．第 2 回脳神経外科 BMI 懇話会（東京都文京区）
70. 西村幸男（2015 年 11 月 17 日）人工神経接続による機能再建．第９６回ロボット工学セミナー（愛知県名古屋市）
71. Go Y, Qian L, Tatsumoto S, Khaitovich P（2015 年 11 月 19 日）Spatiotemporal gene expression trajectory in the human and non-human ape brains．Cold Spring Harbor Symposium. Behavior & Neurogenetics of Nonhuman Primates.（New York, USA）
72. Matrov D（2015 年 11 月 20 日）Moderate Exploratory Phenotype in Rats Is Associated with Resilience to The Chronic Social Defeat．4th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology（Taipei, Taiwan）
73. 郷康広（2015 年 11 月 24 日）ゲノムを通して我が身を知る～ヒトとサルの間にあるもの. 第 64 回インシリコ・メガバンク研究会（宮城県・仙台市）
74. Nishimura Y（2015 年 12 月 2 日）Rewiring the damaged pathways via a neural interface．16th International Symposium on Neural Regeneration（California, USA）
75. Yoshida M（2015 年 12 月 12 日）Awareness and saliency in blindsight. International Symposium on Consciousness and Intention in Ecnomics and Philosophy（Kyoto, Kyoto）
76. Chao Z（2015 年 12 月 22 日）Dynamic reoraganization of functional brain networks during recovery from spinal cord injury．NBNI2015（Busan, Korea）

《生体恒常機能発達機構研究部門》

1. Toda T, Wake H, Nabekura J(2015.1.22) Role of excitatory GABA in axonal extension following axotomy. The 12th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences and Smooth Muscle Science (Yongin, Korea)
2. 鍋倉淳一(2015.2.22) 生体内シナプス長期再編におけるグリアーシナプス機能連関. CREST「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域 H26 年度領域会議 (東京)
3. Miyamoto A (2015.2.13) Microglia induced excitatory synapse formation in immature barrel cortex. 第 7 回 NAGOYA グローバルリトリート (愛知県東浦町)
4. 和氣弘明(2015.3.14) 活動依存性の髄鞘化とその破綻による運動学習障害. 神経発生討論会 (福岡)
5. Miyamoto A, Wake H, Murakoshi H, Eto K, Nabekura J (2015.3.22) ミクログリアのシナプスに対する作用：発達期におけるミクログリアのシナプス形成への関与. 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 (神戸市中央区)
6. Miyamoto A, Wake H, Murakoshi H, Eto K, Nabekura J (2015.3.21) ミクログリアのシナプスに対する作用：発達期におけるミクログリアのシナプス形成への関与. (神戸市)
7. 鍋倉淳一(2015.4.16) マウス大脳皮質の神経回路再編成とグリア. 都医学研セミナー (東京)
8. 和氣弘明(2015.5.20) 生体イメージングで明らかにされたグリア細胞機能. GE ヘルスケアセミナー (大阪)
9. 鍋倉淳一(2015.5.22) 発達・障害による大脳皮質シナプス再編：シナプス-グリア連関. 第 56 回日本神経学会学術大会 (新潟市)
10. 鍋倉淳一(2015.5.30) 神経回路の発達再編. 第 57 回日本小児神経学会学術大会 (大阪)
11. 和氣弘明(2015.6.12) 身体疾患で惹起される免疫変容が起こす神経回路恒常性の破綻と精神症状の解明. さきがけ第５回領域会議プログラム (沼津市)
12. 鍋倉淳一(2015.6.15) 神経回路の再編：2 光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング. マルチモーダルバ

イオイメージセンサ研究会 (岡崎)

13. Nabekura J (2015.6.22) Astrocyte-induced synapse remodeling in chronic pain. 10th International Conference for Neurons and Diseases (西安, 中国)
14. Miyamoto A, Wake H, Murakoshi H, Eto K, Nabekura J(2015.7.14) Microglia contribute to dendritic spine formation in postnatal mice somatosensory cortex. XII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease (Bilbao, Spain)
15. Wake H (2015.7.15) Impaired motor learning as the result of myelin disruption. XII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease (Bilbao, Spain)
16. 和氣弘明(2015.7.24) ２光子顕微鏡を用いた生体脳イメージングについて. 第 185 委員会 2015 年度第 1 回研究 (東京)
17. Toda T, Wake H, Nabekura J(2015.7.28) Role of down regulation of KCC2 and microglia activation in behavioral recovery after sciatic nerve injury. The 38th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (神戸)
18. Miyamoto A, Wake H, Murakoshi H, Eto K,Nabekura J (2015.7.28) Microglia contribute to functional synapse formation via the filopodia formation in postnatal mice somatosensory cortex. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸市)
19. 和氣弘明(2015.8.31) 中枢神経免疫細胞と学習障害. 新学術領域「マイクロ精神病態」班会議 (山梨県北杜市)
20. 江藤　圭, 石川達也, 石橋　仁, 鍋倉淳一(2015.9.19) 大脳皮質半球間抑制の慢性疼痛における役割. 第 5 回　名古屋大学・生理学研究所合同シンポジウム (岡崎)
21. Nabekura J (2015.9.29) Dynamics of neuron-glia interaction in vivo. Institute of Experimental Medicine 125th anniversary (Saint-Petersburg, Russia)
22. Wake H (2015.9.11) The role of microglia in the adult CNS is systemic inflammation. 神経化学会 (大宮)
23. Nabekura J (2015.10.15) Remodeling of Cortical Neuronal Circuits - Neuron-glia Interaction in vivo. Annual meeting for Korean Anatomist (Seoul, Korea)
24. 和氣弘明(2015.10.19) ミクログリアと神経回路活動. 糖鎖コンソーシアム (名古屋)
25. Eto K, Ishibashi H, Nabekura J (2015.11.5) Imbalance between excitation and inhibition in the primary somatosensory cortex accelerates chronic pain. 5th NIPS-CIN Joing Symposium (岡崎)
26. Miyamoto A (2015.11.5) Microglia contribute to dendritic spine formation in postnatal mice somatosensory cortex. 5th NIPS-CIN Joint Symposium (岡崎)
27. 和氣弘明(2015.11.6) 脳活動を見て，操作する. 豊秋奨学会記念講演 (名古屋)
28. 穐吉亮平, 和氣弘明, 鍋倉淳一(2015.11.14) 大脳皮質における，ミクログリアによるシナプス活動の修飾. 第 62 回中部日本生理学会 (富山)
29. 鍋倉淳一(2015.11.17) 生理学の講義. 九州大学　講義 (福岡)
30. 鍋倉淳一(2015.11.19) 慢性疼痛発症に係わる大脳皮質神経回路再編におけるグリアーシナプス機能連関. CREST「脳神経回路」研究領域/神経回路制御関連研究チーム合同ワークショップ「神経回路制御による行動変容と臨床応用への展開」 (東京)
31. Toda T, Wake H, Nabekura J(2015.11.22) Role of KCC2 down-regulation on motor functional recovery after sciatic nerve injury. The 8th Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies (FAOPS) (Bangkok, Thailand)
32. Eto K, Ishibashi H, Nabekura J (2015.11.24) Disruption of balance between excitation and inhibition in the primary somatosensory cortex contributes to chronic pain. FAOPS 2015 (Bangkok, Thai)
33. 和氣弘明(2015.12.5) The role of microglia in the adult CNS of systemic inflammation. 第 20 回グリア研究会 (名古屋)
34. 和氣弘明(2015.12.7) Spatial-temporal regulation of neural activity by glial cells. Circuit Construction in the Mammalian Brain (三島)
35. 和氣弘明(2015.12.19) 身体疾患で惹起される免疫変容が起こす神経回路恒常性の破綻と精神症状の解明. さきがけ第 6 回領域会議プログラム (神戸)

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1. Minokoshi Y (2015.1.29-30) Regulatory role of hypothalamic AMPK in food selection behavior. Current Trends in Biomedical Science (Seoul, South Korea)
2. 唐麗君，箕越靖彦（2015.2.13-14）褐色及び白色脂肪組織 TNF-αmRNA 発現に及ぼす交感神経の調節作用．第 29 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会（京都）
3. 岡本士毅，箕越靖彦（2015.2.13-14）視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構. 第 29 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会（京都）
4. 岡本士毅，佐藤達也，箕越靖彦（2015.3.4-5）視床下部における食物選択行動の調節機構．第 4 回生理研－新潟脳研合同シンポジウム（新潟）
5. 箕越靖彦（2015.3.7）視床下部 AMPK によるエネルギー感受機構と食物選択行動．Area Diabetes Forum DM Specialists in 中国・四国（岡山）
6. 箕越靖彦（2015.3.17）肥満とやせの不思議を探る～体の恒常性を司る脳のはたらき～．岡崎商工会議所食品・サービス部会 3 月例会（岡崎）
7. Miki T，Lee E, Minokoshi Y（2015.3.21-23）Metabolite sensing and regulation of glucose metabolism in liver. The 92nd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（神戸）
8. Yokota S, Okamoto S, Minokoshi Y（2015.3.21-23）Role of IL-6 in metabolic abnormalities of streptozotocin-induced diabetes．The 92nd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（神戸）
9. Coutinho E，Ishikawa A, Yoshimura Y, Minokoshi Y（2015.3.21-23）Regulatory role of VMH-specific Ad4BP neurons in glucose metabolism．The 92nd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（神戸）
10. Hirai Y, Shinozaki K, Yamamura T, Yamamoto M, Okamoto S, Minokoshi Y, Matsumura K（2015.3.21-23）Role of the prostaglandin system in fever following intracranial hemorrhage in mice．The 92nd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（神戸）
11. Sato T, Okamoto S, Minokoshi Y（2015.3.21-23）Regulatory role of AMPK in hypothalamic CRH neurons in social stress-induced alteration of feeding behavior. The 92nd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（神戸）
12. 箕越靖彦（2015.4.17）AMPK とメトホルミン.「AMPK とメトホルミン」に関する意見聴取（東京）
13. 箕越靖彦（2015.4.23-25）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 88 回日本内分泌学会学術総会（東京）
14. 箕越靖彦（2015.5.21-24）視床下部 AMPK による食物選択行動の制御機構とその異常. 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会（下関）
15. 箕越靖彦（2015.6.2）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 33 回山梨神経科学研究会（甲府）
16. Okamoto S，Sato T, Minokoshi Y（2015.6.5-9）AMP-activated Protein Kinase in CRH Neurons in the PVH Controls Food Selection Behavior．American Diabetes Association's 75th Scientific Sessions（Boston, USA）
17. 箕越靖彦（2015.6.20-21）視床下部による骨格筋への代謝調節作用．Research PlaNet 2015（大阪）
18. 箕越靖彦（2015.7.9-11）視床下部による骨格筋への代謝調節作用. 第 33 回内分泌代謝学サマーセミナー（柳川）
19. 岡本士毅，箕越靖彦（2015.7.28）視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
20. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2015.8.22）社会的ストレスが引き起こす食餌選択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 20 回アディポサイエンス・シンポジウム（豊中）
21. 箕越靖彦（2015.9.5）メトホルミンの代謝調節作用：AMPK と AMPK 非依存性調節機構に関する最近の知見．Diabetes Expert Meeting（東京）
22. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2015.9.18-19）社会的ストレスが引き起こす食餌選択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 42 回日本神経内分泌学会　第 23 回日本行動神経内分泌研究会　合同学術集会（仙台）
23. 髙木一代，箕越靖彦（2015.9.19）食事誘導性熱産生に及ぼす脱共役タンパク質(uncoupling protein 1)と骨格筋 AMPK(AMP-activated protein kinase) の調節作用．第 5 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（岡崎）

24. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2015.10.2-3）社会的ストレスが引き起こす食餌選択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 36 回日本肥満学会（名古屋）
25. 箕越靖彦（2015.10.2-3）視床下部におけるエネルギー代謝調節機構．第 36 回日本肥満学会（名古屋）
26. Okamoto S，Sato T，Minokoshi Y（2015.10-2-3）AMP-activated protein kinase in CRH neurons in the PVH controls food selection behavior．The 46th NIPS International Symposium（名古屋）
27. 横田繁史，岡本士毅，箕越靖彦（2015.10.2-3）ストレプトゾトシン（STZ）糖尿病による骨格筋および白色脂肪組織の委縮を引き起こすメカニズム．第 36 回日本肥満学会（名古屋）
28. 髙木一代，箕越靖彦（2015.10.2-3）食餌誘導性熱産生に及ぼす UCP1 と骨格筋 AMPK の調節作用．第 36 回日本肥満学会（名古屋）
29. 箕越靖彦（2015.10.9）炭水化物食と脂肪食の選択行動に関わるニューロンの発見とその制御機構に関する研究．総研大研究プロジェクト第 10 回企画会議（岡崎）
30. Minokoshi Y，Sato T，Okamoto S（2015.10.25-29）AMP-activated protein kinase in CRH neurons in the PVH controls food selection behavior．Keystone Symposia. Diabetes: New insights into molecular mechanisms and therapeutic strategies（京都）
31. 箕越靖彦（2015.12.19）視床下部によるエネルギー代謝調節機構．The 9th Diabetes Masters Conference （東京）

《個別研究（村上グループ）》

1. Masataka Murakami, Fei Wei, Takanori Narita, Miwako Fukushima, Sadamitsu Hashimoto, Masaki Sato, Yoshiyuki Shibukawa.（2015.2.16-17）Microcirculation and fluid secretion by Danshen stimulation in the perfused submandibular gland．Gordon Research Conference on Salivary gland and Exocrine Biology（Glveston TX,USA）
2. Yoshiteru Seo, Eriko Seo, Masataka Murakami, Kazue Ohnishi, Tadashi Maruyama（2015.3.21）Wate flow in mantle cavity of bivalve observed by high-field MRI．第 92 回日本生理学会（神戸コンベンションセンター，神戸）
3. 村上政隆，魏飛，成田貴則，福島美和子，橋本貞充，澁川義幸，佐藤正基（2015.3.22）唾液腺傍細胞輸送の形態学的アプローチ．第 92 回日本生理学会（神戸コンベンションセンター，神戸）
4. Masataka Murakami, Fei Wei, Takanori Narita, Miwako Fukushima-Matsuki, Sadamitsu Hashimoto, Yoshiyuki Shibukawa, Masaki Sato（2015.11.24）Microcirculation and paracellular fluid secretion in the perfused submandibular gland.8th FAOPS 2015 (Bankok, Thailand）
5. 成田貴則，橋本貞充，渋川義幸，佐藤正樹，村上政隆（2015.12.5）灌流ラット顎下腺の共焦点レーザー顕微鏡による 3D 観察：蛍光ビーズによるポンプアーチファクトの除去．第 60 回日本唾液腺学会（文京学院，東京）

《個別研究（毛利グループ）》

1. 毛利達磨，高橋功，経塚啓一郎（2015.9.19）イトマキヒトデ卵母細胞の活性電流．日本動物学会第８６回大会（新潟）

《遺伝子改変動物作製室》

1. 田切美穂, 八代育子, 平林真澄, 保地眞一. (2015.3.29) ガラス化ウシ成熟卵母細胞の体外受精後に活性化補填することで胚盤胞発生率は改善できるか? 第 119 回日本畜産学会（宇都宮）
2. 後藤哲平, 原弘真, 保地眞一, 平林真澄. (2015.5.29) CRISPR/Cas9 法により作出した FoxN1 遺伝子ノックアウトラットの解析. 第 62 回日本実験動物学会（京都）
3. Hara H, Takizawa A, Goto T, Sanbo M, Kobayashi T, Nakauchi H, Hochi S, Hirabayashi M. (2015.6.20) Rat blastocysts resulting from somatic cell nuclear injection and time-lagged enucleation. 48th Annual Meeting - Society for the Study of Reproduction（Puerto Rico, U.S.A.）
4. 田島和弥, 平林真澄, 保地眞一. (2015.9.17) GV 期ウシ卵丘卵母細胞複合体の裸化処理が胚盤胞の体外作出に及ぼす影響. 第 108 回日本繁殖生物学会（宮崎）
5. 後藤哲平, 原弘真, 保地眞一, 平林真澄. (2015.9.17) 臓器再生に向けた CRISPR/Cas9 法による腎臓欠損ラットの作出. 第 108 回日本繁殖生物学会（宮崎）
6. 原弘真, 滝澤明子, 後藤哲平, 三宝誠, 小林俊寛, 中内啓光, 保地眞一, 平林真澄. (2015.9.19) ドナー核注入後に時間をおいて除核する方法で作製したラットクローン胚盤胞. 第 108 回日本繁殖生物学会（宮崎）

《行動様式解析室》

1. 上野浩司, 岡本基, 高雄啓三, 宮川剛 (2015.7.28) FcγIIB 欠損マウスは多動, 不安様行動の減少を示す. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
2. 高雄 啓三 (2015.7.28) 遺伝子改変マウスの表現型解析を起点とした精神疾患研究. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
3. 上田（石原）奈津実, 増田博紀, 真野善有, 澤田明宏, 矢野夢生, 高雄啓三, 宮川剛, 重本隆一, 深澤有吾, 木下専 (2015.7.29) 空間認知機能障害を呈するセプチン欠損マウスの解析. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
4. 田中輝幸, 奥田耕助, 小林静香, 深谷昌弘, 高雄啓三, 渡邉紀, 村上拓冬, 萩原舞, 阪上洋行, 水口雅, 宮川剛, 真鍋俊也 (2015.7.29) West 症候群・Rett 症候群の原因遺伝子 CDKL5 は, NMDA 受容体機能を制御し, 記憶・学習, 情動, 易痙攣性を調節する. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
5. 酒井かおり, 昌子浩孝, 河野孝夫, 宮川剛, 服部光治 (2015.7.29) 行動におけるリーリンC 末端領域の重要性. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
6. 小清水久嗣, 萩原英雄, 大平耕司, 高雄啓三, 宮川剛 (2015.7.30) マウス海馬歯状回における「過成熟」現象. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
7. 大平耕司, 竹内理香, 三輪美樹, 中村克樹, 宮川剛 (2015.7.30) 成体マーモセットにおいて, 抗うつ薬は海馬脱成熟と大脳皮質神経新生を生じさせる. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
8. 萩原英雄, 宮川剛 (2015.7.30) 双極性気分障害モデルマウスの海馬歯状回におけるサーカディアン遺伝子の発現の概日パターン変化. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
9. 服部聡子, 萩原英雄, 昌子浩孝, 高宮義博, Huang FL, Huang KP, 宮川剛 (2015.7.30) 統合失調症関連遺伝子 Neurogranin 欠損マウスは海馬歯状回の成熟度異常と精神疾患様行動異常を示す. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
10. 中尾章人, 昌子浩孝, 森泰生, 宮川剛 (2015.7.30) 新規カルシウムチャネル結合分子 BARP は精神疾患様の行動異常に関与する. 第 38 回日本神経科学大会 (神戸)
11. 田中輝幸, 奥田耕助, 小林静香, 村上拓冬, 深谷昌弘, 高雄啓三, 渡邉紀, 萩原舞, 阪上洋行, 水口雅, 宮川剛, 真鍋俊也 (2015.9.25) West 症候群・Rett 症候群の原因遺伝子 CDKL5 は, NMDA 受容体機能を制御し, 記憶・学習, 情動, 易痙攣性を調節する. 第 45 回日本神経精神薬理学会・第 37 回日本生物学的精神医学会 (東京)
12. Yamaguchi Y, Kashioka H, Miyakawa T, Takao K, Kanzaki R, Ikeno H, Furuichi T, Okamura-Oho Y, Satoh S,

Iijima T, Kakei S, Wagatsuma H, Hayashi Y, Nomura T, Isono Y, Okumura Y, Suenaga S, Ishii I, Honda A, Usui S (2015.10.17) Data, tools and models of neuroscience on J-Node neuroinformatics platforms. 45th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago, USA)

13. Nakao A, Miki T, Shoji H, Mori Y, Miyakawa T (2015. 10.17) Comprehensive behavioral analysis of voltage-gated calcium channel beta-anchoring and -regulatory protein (BARP) knockout mice. 45th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago, USA)
14. Sakai K, Shoji H, Kohno T, Miyakawa T, Hattori M (2015.10.20) The significance of highly basic C-terminal region of Reelin for behavior. 45th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago, USA)
15. Takao K, Shoji H, Hattori S, Miyakawa T (2015.10.20) Effect of time-of-day on mouse behavior measured in a comprehensive behavioral test battery. 45th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago, USA)
16. Koshimizu H, Hagihara H, Ohira K, Takao K, Miyakawa T (2015.10.20) Transcriptomic 'hyper-maturity' of the hippocampus in mice. 45th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago, USA)
17. Tanaka T, Okuda K, Kobayashi S, Murakami T, Fukaya M, Takao K, Watanabe A, Hagiwara M, Mizuguchi M, Sakagami H, Miyakawa T, Manabe T (2015.10.21) Functional analyses of the CDKL5, a causative gene for severe neurodevelopmental disorders accompanied by intractable epilepsies. 45th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago, USA)
18. Hattori S, Hagihara H, Shoji H, Takamiya Y, Huang FL, Huang KP, Miyakawa T (2015.10.21) Neurogranin-deficient mice show behavioral abnormalitiesrelevant to schizophrenia. 45th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago, USA)
19. Takao K, Shoji H, Hattori S, Miyakawa T (2015.11.26-27) The effect of the time of day on mice behaviors measured in a comprehensive behavioral test battery. INCF Japan International Workshop: Advances in Neuroinformatics (東京)
20. 大橋りえ，高雄啓三，宮川剛，椎名伸之 (2015.12.1) RNG105 ヘテロ欠損マウスの網羅的行動解析―社会的相互作用・新奇対象への反応の低下. BMB2015 (第38回日本分子生物学会年会，第88回日本生化学大会合同大会) (神戸)
21. 中尾章人，昌子浩孝，森泰生，宮川剛 (2015.12.1) BARP ノックアウトマウスの網羅的行動解析. BMB2015 (第38回日本分子生物学会年会，第88回日本生化学大会合同大会) (神戸)
22. 萩原英雄，服部聡子，高宮義博，Huang FL, Huang KP, 宮川剛 (2015.12.3) 統合失調症関連遺伝子 Neurogranin 欠損マウスは精神疾患様行動異常と脳細胞の擬似的未成熟化を示す. BMB2015 (第38回日本分子生物学会年会，第88回日本生化学大会合同大会) (神戸)

《形態情報解析室》

1. Kazuyoshi Murata（2015.1.16）Visualizing the Infection Process of T7-like Cyanophage in the Marine Cyanobacterium Prochlorococcus by Cryo-Electron Tomography. IGER International Symposium on Frontiers in Biological Research withAdvanced Electron Microscope Technologies（Nagoya）
2. Satomi Saito, Eiichi Hondo, Naoyuki Miyazaki, Kazuyoshi Murata, Yasushige Ohmori（2015.2.12）M-like cells in the intestinal villi of chickens. The 5th Congress of Asian AVA（Bali, Indonesia）
3. 坂口美亜子，宮崎直幸，藤岡壽，金子修，村田和義（2015.2.28）SBF-SEM によるマラリア感染赤血球の三次元構造解析. 日本顕微鏡学会第 39 回関東支部講演会（東京）
4. 坂口美亜子，宮崎直幸，藤岡壽，金子修，村田和義（2015.3.22）SBF-SEM による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. 第 84 回寄生虫学会大会（東京）
5. 齋藤理美，本道栄一，宮崎直幸，村田和義，大森保成（2015.3.28）ニワトリ空腸絨毛における M 細胞様上皮細胞. 第 86 回東海実験動物研究会（岐阜）
6. 宮崎直幸，村田和義（2015.3.21）Serial block-face SEM

による三次元細胞微細形態観察の原理と応用例．第92 回日本生理学会大会（神戸）

7. 村田和義, 村田武士, 上野博史, 飯野亮太（2015.4.20）腸内連鎖球菌 V-ATPase のクライオ位相差電子顕微鏡単粒子構造解析．分子研研究会「膜タンパク質内部のプロトン透過を考える」（岡崎）
8. Kazuyoshi Murata（2015.5.9）Structural Analysis of A Virus Infection using Single Particle Cryo-electron Tomography . OIST Mini Symposium “Current Developments in Three-Dimensional Biological Electron Microscopy”（Okinawa）
9. 山口正視，山田博之，樋口公孝，山本悠太，荒井重勇，村田和義，森裕子，古河弘光（2015.5.13）深海のらせん菌のストラクトーム解析と超高圧電子顕微鏡による観察（京都）
10. 大和愛実，厚沢季美江，村田和義，金子康子（2015.5.13）乾燥によるシアノバクテリアの細胞内構造変化．日本顕微鏡学会第 71 回学術講演会（京都）
11. 大嶋篤典，松澤朋寛，村田和義，谷一寿，藤吉好則（2014.5.13）電子線結晶構造解析によるイネキシンギャップ結合チャネルの初期三次元再構成．日本顕微鏡学会第 71 回記念学術講演会（京都）
12. 永谷幸則, 村田和義, 木森義隆, 永山國昭（2015.5.13）ゼルニケ位相差電子顕微鏡法のコントラスト生成一般理論と位相分布回復．日本顕微鏡学会第 71 回記念学術講演会（京都）
13. 中野賢太郎，岡田仁，宮崎直幸，村田和義，高木智子，佐藤眞美子，谷澤英樹，野間健一，大隅 正子（2015.5.13）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 71 回記念学術講演会（京都）
14. 山根正夢，宮崎直幸，村田和義，横山直明，五十嵐郁男（2015.5.13）連続 SEM 断面観察法による馬ピロプラズマ原虫の赤血球内３次元形態解析．日本顕微鏡学会第 71 回記念学術講演会（京都）
15. 村田和義，宮崎直幸，三木元博，戸高玲子，片山和彦 (2015.5.13) マウスノロウイルスのクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析．日本顕微鏡学会第 71 回記念学術講演会（京都）
16. Naoyuki Miyazaki, Jumpei Uchiyama, Shigenobu Matsuzaki, Kazuyoshi Murata (2015.5.13) Cryo-EM study of the bacteriophage S6 of Staphylococcus aureus. 日本顕微鏡学会第 71 回記念学術講演会（京都）
17. Kazuyoshi Murata（2015.8.8）Zernike Phase Contrast Electron Microscopy: Observation of the Image Formation and Improvement of the Quality using Direct Detector. Microscopy & Microanalysis 2015（Portland, USA）
18. 村田和義（2015.9.1）電子直接検出カメラを組み合わせたゼルニケ位相差電子顕微鏡法. 第 31 回分析電子顕微鏡討論会（幕張）
19. Kazuyoshi Murata,Takeshi Murata, Hiroshi Ueno, Ryota Iino（2015.9.13）Single particle phase-contrast cryo-EM 3D reconstruction of Enterococcus hirae V-ATPas. 第 53 回日本生物物理学会年会（金沢）
20. Naoyuki Miyazaki1, Takefumi Negishi2, Naoto Ueno2, Kazuyoshi Murata1 （ 2015.9.14 ） A novel plasma membrane structure to determine the orientation of the centrosome during cell division revealed by serial block-face SEM. 第 53 回日本生物物理学会年会（金沢）
21. Naoyuki Miyazaki1,2, Akifumi Higashiura1, Kazuyoshi Murata2, Atsushi Nakagawa1, Kenji Iwasaki (2015.9.15) Mechanisms for egress of Rice dwarf virus from insect vector cells revealed by whole cell cryo-electron tomography. 第 53 回日本生物物理学会年会（金沢）
22. 村田和義，宮崎直幸，David Taylor，Grant Housman (2015.9.24) クライオ電子顕微鏡単粒子解析による 8.5Å 分解能ヒトサポウイルスキャプシド構造とホモロジーモデリング．日本遺伝学会第 87 回大会（仙台）
23. 村田和義 (2014.10.19) 電子顕微鏡による細胞から分子までの構造解析．第 13 回日本糖鎖科学コンソーシアム(JCGG)シンポジウム（名古屋）
24. 村田和義，國安明彦（2015.11.18）天然膜中におけるイオンチャネルの構造動態解析．生理研研究会「ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス」（岡崎）
25. Kazuyoshi Murata, Naoyuki Miyazaki, Satoshi Komoto, Koki Taniguchi, Kazuyoshi Katayama（2015.11.22）Dynamical ordering of virus particle for creation of integrated functions. The 4th International Symposium "Dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions"（Fukuoka）
26. Kazuyoshi Murata, Takeshi Murata, Hiroshi Ueno, Ryota Iino（2015.11.28）Single particle 3D reconstruction of Eh V-ATPase by Zernike phase contrast cryo-electron microscopy equipped with a direct detector. The 2nd

East-Asia Microscopy Conference（Himeji）

27. 宮崎直幸, 大村敏博, 村田和義, 岩崎憲治 (2015.11.20) クライオ電子顕微鏡によるウイルスの構造解析. 微生物の超微形態解析研究部会　2015 年研究会（東京）

28. 宮崎直幸，東浦彰史，村田和義，中川敦史，岩崎憲治 (2015.12.2) クライオ電子線トモグラフィー法によるイネ萎縮ウイルスの細胞内ナノ三次元構造解析. BMB2015（Kobe）

《多光子顕微鏡室》

1. 柴田明裕，村越秀治 （2015.7.30）Development of a photo-activatable CaMKII and its application to the study of synaptic plasticity. 第 38 回日本神経科学大会（神戸）
2. 村越秀治（2015.9.13）Optogenetic manipulation and imaging of CaMKII-Rho GTPase signaling pathway during synaptic plasticity. 第 58 回日本神経化学会大会（埼玉）
3. 柴田明裕，村越秀治（2015.9.14）Optogenetic manipulation of photo-activatable CaMKII in individual dendritic spines of neuron. 第 52 回日本生物物理学会年会（金沢）
4. 柴田明裕，村越秀治（2015.12.9）Optogenetic manipulation of photo-activatable CaMKII to the study of synaptic plasticity.　岡崎統合バイオサイエンスセンターリトリート（愛知）
5. 柴田明裕, 村越秀治（2016.2.25）新規光応答性 CaMKII の開発とシナプス可塑性研究への応用. 自然科学研究機構プロジェクト　合同シンポジウム（愛知）
6. 村越秀治（2016.3.20）細胞内生化学反応イメージングと光操作で探るシナプス可塑性機構. 第 88 回日本薬理学会（愛知）

《ウイルスベクター開発室》

1. Kenta Kobayashi, Hiromi Sano, Shigeki Kato, Kozo Kaibuchi, Kazuto Kobayashi (2015.10.18) Survival of corticostriatal neurons by Rho GTPase signaling pathway. Neuroscience 2015 (Chicago).

《生体制御シグナル研究部門》

1. 佐藤幸治, 石井智浩, 三浦重徳, 竹内昌治, 中田隆夫（2015.9.25）マウス嗅神経細胞における光活性型カルシウムチャネルの発現. 日本味と匂学会第 49 回大会（岐阜県岐阜市じゅうろくプラザ）
2. 佐藤幸治（2015.10.16）におい受容体による気体状分子の検出ーその仕組みと応用. 酵素工学研究会第 74 回講演会（東京都文京区東京大学山上会館）
3. 石井智浩，佐藤幸治，角元利行，三浦重徳，東原和成，竹内昌治，中田隆夫（2015.12.2）細胞内カルシウムシグナルを光で操作する遺伝学ツールの開発. 第 38 回日本分子生物学会年会／第 88 回日本生化学会大会　合同大会（兵庫県神戸市神戸ポートアイランド）
4. 三浦重徳，佐藤幸治，根岸みどり，手島哲彦，竹内昌治（2015.12.3）流体シェアストレスは TRPV6 の活性化を介して微絨毛形成を誘導する. 第 38 回日本分子生物学会年会／第 88 回日本生化学会大会　合同大会（兵庫県神戸市神戸ポートアイランド）

《神経分化研究部門》

1. S. Higashijima, "Neuronal circuits that control rhythmic pectoral fin movements in larval zebrafish" Workshop on Zebrafish Systems Biology at Janelia Research Campus, Ashburn, USA. 22-24 April 22-24, 2015
2. S. Higashijima, "Neuronal circuits that control rhythmic pectoral fin movements in larval zebrafish" The 38th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Kobe, Japan. July 28-31, 2015

《動物実験センター》

1. 浦野　徹（2015.7）動物実験に関わる各種規制の最新情報と今後の課題。日本大学工学部動物実験に関する特別講演（郡山）
2. Urano,T., Saegusa,J.（2015.8）Relationship and exchanges in the future between JALAS and KALAS, Korean Association for Laboratory Animal Science 2015 International Symposium（Korea）
3. 浦野　徹（2015.9）実験動物概論。平成 27 年度（第 20 回）九州地区実験動物技術研修会（基礎コース）（熊本）
4. 王　振吉, 神谷絵美, 本多千佳, 伊藤昭光, 廣江　猛, 窪田美津子, 浦野　徹（2015.10）実験動物施設の霊長類における下痢原性大腸菌の疫学調査研究。第 49 回実験動物技術者協会総会（静岡）

【一般共同研究報告】

一般共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. 生物多様性に基づくイオンチャネル・受容体の機能のメカニズムと生理的役割の解析（岡戸晴生ほか）..... 148
2. 陸上進出に伴う環境変化と動物のもつ体性感覚受容の仕組み（齊藤　修ほか）..... 148
3. 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）..... 149
4. 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）. 150
5. 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）..... 150
6. シナプス前終末の分化誘導機構の解明（吉田知之ほか）..... 151
7. 光沢質感認知の神経ネットワーク基盤の研究（一戸紀孝ほか）..... 151
8. 視線制御に関与するニューロン・神経回路特性（齋藤康彦ほか）..... 152
9. 自由行動下動物の脳機能計測に向けた埋植型デバイスによるイメージングシステムの開発（須永圭紀ほか）.... 153
10. 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）..... 153
11. fMRI 信号解明のためのマウス脳多領域からの電気生理計測法の確立（高田則雄ほか）..... 154
12. 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）..... 155
13. 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）..... 155
14. 神経発振現象の運動統御上の意義の探索（美馬達哉ほか）..... 156
15. 神経麻痺性角膜症に対する TRP チャネルを標的とした治療法の開発（岡田由香ほか）..... 156
16. 異なる種類の皮質線条体細胞の生理特性と機能的役割：形態・生理実験データに基づくモデリング（森田賢治）... 157
17. 前頭皮質第 6 層細胞のシナプス結合の形態解析（苅部冬紀ほか）..... 157
18. 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）..... 158
19. 室傍核オキシトシンニューロンの栄養素・神経性調節機構（矢田俊彦ほか）..... 158
20. 真核生物における RNA 分解制御機構の解明（細田　直）..... 159
21. 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）..... 159
22. PKD2L1 カチオンチャネルの生理機能解析（清水貴浩ほか）..... 160
23. 霊長類味覚に対する TRP チャネルの役割（鈴木−橋戸南美ほか）..... 160
24. 脳の TRPV1 チャネルによる体温調節機構の解明（吉田亜矢加ほか）..... 161
25. 温度感受性 TRP チャネルの活性化機構の解析と機能的役割（太田利男ほか）..... 162
26. ジストニア・偏頭痛病態モデルマウス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）..... 162
27. 成体新生ニューロンによる海馬神経ネットワークの制御機序（神野尚三）..... 163
28. 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）..... 163
29. マカクサルを用いた直接給電機能的電気刺激の前臨床研究（松木英敏ほか）..... 164
30. 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）..... 165
31. アセチルコリン作動性入力によるサル運動制御，動機付けの階層，動的制御機構の解析（小林　康ほか）..... 165
32. 人工ナノ・リポソーム創製とその構造評価（石黒　孝ほか）..... 166
33. 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）..... 167
34. マウスノロウイルスの高分解能構造解析（片山和彦ほか）..... 167
35. 低温位相差顕微鏡を用いた PBCV-1 ファイバー状構造体の構造解析とその同定（宮崎直幸ほか）..... 168
36. 低温位相差電子顕微鏡による黄色ブドウ球菌ファージの三次元構造解析とその感染機構の解析（内山淳平ほか）.. 169
37. Revealing the architecture and dynamics of RNA polymerase I complex by Zernike phase plate cryo-EM（ZEM）（Yi-min Wu ほか）..... 169
38. グリシン作動性シナプス可塑性の動作原理と生理学的意義（平田普三ほか）..... 170
39. 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）. 171
40. 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）..... 171
41. 脳境界のグリア性境界膜の形成と崩壊（寺島俊雄ほか）..... 172

1. 生物多様性に基づくイオンチャネル・受容体の機能のメカニズムと生理的役割の解析

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）
小野富三人（大阪医科大学医学部生理学教室）

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 ciGluA とラット GluA の性質を比較したデータの解析をすすめた。ホヤでは Q/R タイプがチャンネルとしてほとんど機能しないことから，哺乳類の Q/R タイプは Ca^{2+}が透過しないカチオンチャネルとして興奮性シナプスで重要な機能を果たしているという，Q/R タイプの進化的な重要性を見出した。

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違いの分子機構を解明するため。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）の変異分子などの解析から判明していた膜貫通領域 S3 の細胞側半分の領域 S3a のヒスチジン H164 を様々なアミノ酸に置換して HEK293T 細胞に発現させ，活性化の速度を比較した。マウスのアミノ酸をウニ型にした H164S では活性化速度が最も速く，T，D，V，R の順で効果が薄れた（R と V はほぼ同等であった）。このことから，マウス Hv1 での遅い活性化には負電荷が存在しないことによる機構と，側鎖が大きいことによる機構の，２つの可能性が考えられた。

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，シナプス後電流と局所カルシウム濃度の同時記録に取り組んだ。スライス中の扁桃体中心核ニューロンから外側腕傍核（LPB，主に樹状突起シャフト）または外側基底核（BLA，主にスパイン）刺激誘発シナプス後電流を記録した。BLA 入力は高頻度にスパイン限局カルシウム濃度上昇を誘発し，しばしばスパイン外にも拡散した。一方，LPB 入力は，スパインとシャフトの両方にカルシウム濃度の上昇を起こし両者は相互作用を示した。今後，この相互作用に関与する受容体の特性を調べ，シナプスの細胞内局在との連関を検討する予定である。

小野クループはニコチン性アセチルコリン受容体のサブユニット構成が速筋と遅筋とで異なるという知見にもとづき，それぞれのサブユニット構成に相当する mRNA の組み合わせをアフリカツメガエルの未受精卵に注入し，発現する電流を比較した。また速筋型のみに影響を及ぼすデルタサブユニットの突然変異体に相当する mRNA を導入した際の電流の変化について，in vivo のシナプス電流とアフリカツメガエルの未受精卵での電流を比較した。

2. 陸上進出に伴う環境変化と動物のもつ体性感覚受容の仕組み

齊藤　修，織田麻衣，安田隆之介，齊藤　寛（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）

体性感覚の主要なセンサーは，哺乳類を中心に研究が進められ，TRPV1 や TRPA1 などといった TRP チャネルがセンサーの実体であることが分かってきた。おそらく，これらの外界刺激を受容する感覚センサーは，脊椎動物の水中から陸上への進出に伴い，劇的な生存環境の変化に対応して大きく機能変化を獲得したと考えられる。しかし，その詳細は明らかにされていない。本研究では，種々の魚類や両生類などの TRPV1 及び TRPA1 を中心に同定・クローニングして，陸生化に伴う機能変化を解明する。

本年度は，真骨魚類メダカの TRPA1 と TRPV1 の cDNA を単離した。メダカは既に全ゲノムが解明され，一種の TRPA1 と二種の TRPV1 が予想されていた。我々は，予想配列をもとにそれぞれの全長 cDNA を単離し，配列を決定した。メダカ TRPA1cDNA は，1,119 残基から成るアミノ酸配列をコードしており，ヒト（50%），マウス（48%），ゼブラフィッシュ（60%，61%），トラフグ

（76%）に高い相同性を示した。更に侵害性化学物質に対する応答性を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結果, メダカ TRPA1 は, AITC, carvacrol, caffeine への応答が検出され, また methyl anthranilate (MA) への高い感受性が見出された。鳥類忌避剤として知られる MA に対して，爬虫類・両生類の TRPA1 は応答性が極めて低いことが報告されおり, 魚類のメダカの TRPA1 の高い MA 感受性は非常に興味深い。この MA 感受性が実際のメダカの生体応答に関わっているかどうか，現在個体レベルの応答解析を行っている。また, メダカ TRPA1 の温度刺激に対する応答性をマウス TRPA1 と比較しながら，二本刺し膜電位固定法で解析した。結果，マウスは報告通り低温応答が検出され，高温応答が検出されなかったが，メダカ TRPA1 については逆に高温応答のみを示す事が判明した。また，この高温応答は閾値が不明確で徐々に活性化される性質であり，低温・高温どちらにも反応するゼブラフィッシュの TRPA1b の示す高温応答特性と類似していた。

また，メダカ TRPV1 については，２分子種の cDNA をクローニングし，配列決定を行った。すると，一方は 706 アミノ酸残基, 他方は 779 アミノ酸残基から成ることがわかり, 便宜的に短いものを a, 長いものを b とした。また，これらの分子種を他生物の TRPV1 と配列比較したところ，フグとメダカのみに TRPV1 が２分子種存在し，分子種同士が互いに近い関係にあることが判明した。おそらく分子種間での機能的違いがあることが予想され, 発現部位と機能比較の解析を進めていく予定である。

3. 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，杉尾翔太（群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野）
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。今回，柴崎・杉尾・加納・池中は，マウス網膜由来の培養ミュラーグリア細胞を標本に持ち，TRPV4 活性化に伴う ATP 放出動態を調べた。その結果，脳由来アストロサイトで約 10%程度のアストロサイトのみが ATP を放出するのとは全く異なり，ミュラーグリアでは TRPV4 活性化に伴い全ての細胞が激しい ATP 放出を引き起こすことを明らかにした。我々は，海馬スライス標本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，この手法を応用して次年度は網膜スライス標本を用いて解析を行う。

4. 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）
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 26 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 α 1,3 フコース転移酵素遺伝子 Fut10 に注目した。Fut10 遺伝子が発生・発達期のマウス脳において神経幹/前駆細胞が集積している脳室周囲に強く発現すること，未分化な神経幹/前駆細胞が発現する LewisX は主に Fut10 が生合成することを報告した。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。そこで, 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たことから，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が, 現在までに同定には至っていない。平成 28 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。

5. 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，後藤仁志（京都府立医科大学大学院医学研究科）
竹林浩秀（新潟大学大学院医歯学総合研究科）

視神経のオリゴデンドロサイト（OL）は，前脳基底部から視神経に入り網膜側まで移動すると考えられているが，マウスの視神経ではその起源や移動は実験形態学的には明らかにされていない。本研究では，オリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）を Olig2-CreER マウスを用いて標識し，細胞系譜追跡実験により視神経 OL の起源と移動を調べることを目的とした。まず前脳基底部での Olig2 陽性細胞の出現様式を調べた。Olig2 陽性前駆細胞は, 胎生 12 日目（E12）までに第三脳室吻側部（AEP/POA）および視床下部後部の脳室層に出現するが，将来の視交叉となる領域の脳室層にはまだ出現していない。視神経には E15 から出現した。次に Olig2-CreER; Rosa-EGFP レポーターマウスを用いてその妊娠マウスの様々な時期にタモキシフェン（TM）を投与し，E17 で視神経を調べた。E12 以降に投与した例では視神経に GFP 陽性細胞が出現し，OPC マーカーである PDGF 受容体 α（PGDFRα）陽性を示した。一方，E11 に TM を投与したものでは，視神経には GFP 陽性細胞は出現しなかった。次いで，このようなマウスを出生させ生後 30 日目（P30）と P180 で視神経を調べた。両方のステージで，視神経に GFP 陽性

細胞と突起とが見られた。P30 では GFP 陽性細胞の 80%が，P180 ではほぼ 100%が，成熟 OL マーカーAPC 陽性を示しオリゴデンドロサイトであることが分かった。また，P30 では少数の GFP 陽性 PGDFRα 陽性細胞が見られたが，P180 では PGDFRα 陽性細胞の GFP 陽性細胞はほとんど見られなかった。また，GFP 陽性の突起はすべて軸索の走行に沿って配列していた。それらの一部はミエリンタンパクである PLP に陽性を示した。一方で，いずれのステージにおいても，アストロサイトマーカー（GFAP）陽性を示す GFP 陽性細胞や突起は全く見られなかった。OPC の起源となる領域を調べるため，E12 に TM を投与して E13, E14, E15 で調べた。E13 と E14 では第三脳室前方部の脳室層とその周囲の領域で PGDFRα に陽性を示す GFP 陽性細胞がみられたが，視床下部後部では GFP 単独陽性細胞が多かった。E15 では視交叉上の脳室層から視交叉に入りつつあると思われる二重陽性細胞が見られた。以上の結果から，(1)視神経の OPC は E12 までに前脳基底部（恐らく AEP/POA）に出現する，(2)E15 より視交叉領域から視神経に入り網膜側まで拡がる，(3)早期に生まれた視神経の OPC は P30～P180 の間で枯渇し，後期に生まれた OPC と置き換わる，ということが明らかにされた。

6. シナプス前終末の分化誘導機構の解明

吉田知之，井上　蘭（富山大学大学院医学薬学研究部（医学））
畦地健司（富山大学医学部）
深田優子，深田正紀

神経細胞間シナプスは極めて複雑な細胞間接着構造であり，シナプス形成に伴い，その前終末及び後終末にそれぞれ神経伝達物質の放出と受容に特化した細胞内構造が構築される。とりわけシナプス前終末にはアクティブゾーン，シナプス小胞クラスター，ミトコンドリアクラスターなど階層的な構造変化が整然と誘導されるが，これらの構造変化を調節する分子機構は不明である。本研究ではシナプス形成の引き金となるシナプス接着分子の活性化によって惹起されるシナプス前終末構築シグナルを解明することを目的とした。

私共はシナプス誘導に関わる細胞接着分子を吸着させたビーズと培養神経細胞を共培養することによって人工的にシナプスを誘導させる実験系を確立している。この人工的シナプス誘導時にビーズとの間に形成されるシナプス接着分子複合体を細胞膜透過型の架橋試薬によって架橋した後，洗浄，単離した。得られた複合体に含まれるタンパク質を生理学研究所，生体膜研究部門（深田博士）との共同研究にて，網羅的に質量分析法にて同定した。同定された分子群には既知のシナプス前部タンパク質に加えて，新規のタンパク質が多数含まれていた。現在，これらの新規分子群がシナプス前終末の分化誘導に関わっているか否かをビーズと神経細胞の共培養実験系を用いてシナプス前終末分子のイメージングとノックダウンによって検証しており，新たなシナプス前終末の分化誘導機構を提案していく予定である。

7. 光沢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（STS）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ている。一戸研では，多種類な質感（ガラス，石，木など）で，３種類の形態を作成し，マーモセット４頭で，やはり STS 周囲から，質感に主効果があり，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。さらに詳細な解析を加えると，これらの領域内には，刺激の内部で光の分布をシャッフルさせると，反応が低下する領域が必ず見出された。しかし，一頭のマーモセットでは，その周囲にシャッフルによって，かえって反応の強くなる領域が存在する動物も見出されており，STS 周囲での情報変換の複雑さが推定された。また，これらの質感に主効果のある細胞の中には，同時に刺激形態への主効果が認められる MUA も存在し, 質感と形態の両情報の収斂が, この領域で起こっていることが推定された。この STS の正常刺激で光沢に反応し，シャッフルにより反応が減弱する領域に，CTB-Alexa 555 を注入すると，STS 周囲の近傍の MTc, TEO 等に，生体内で標識が認められたので，MTc から，STS 周囲の記録で用いた，正常刺激とシャッフル刺激を見せたところ，この領域は光沢の質感をもつガラス，メタルに強く反応し，さらには，シャッフルしても，その反応特異性, 反応の強度も低下しないことが, 認められた。

この反応特異性を刺激の特徴量との regression 解析を行ったところ，この結合された STS 周囲と MTc において，ヒトの光沢感に関与する skewness に，両者ともに反応の相関が認められ，MTc を介して skewness の情報が STS の光沢領域にもたらせられる可能性を示した。TEO の刺激反応性は弱く，どのような情報がもたらされるか不明であった。この ventral visual pathway のうち TEO, TE の光刺激反応性の弱さは，麻酔が原因であることが考えられたので, これからは覚醒マーモセットの固視をトレーニングし，同様な刺激および小松研で用いられている光沢刺激を用いた実験を進めて行きたいと考えている。

8. 視線制御に関与するニューロン・神経回路特性

齋藤康彦（奈良県立医科大学）
吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

脳幹の内側前庭神経核（MVN）や舌下神経前位核（PHN）は視線制御に関与することが知られている。MVN や PHN からの指令は外転神経核や動眼神経核を介して外眼筋へ伝えられている。MVN からの同側性投射は抑制性ニューロンが，対側性投射は興奮性ニューロンが担っており，一方，PHN では同側性投射は興奮性ニューロンが，対側性投射は抑制性ニューロンが担っていると考えられている。しかし，この知見は限られた解剖学的研究や電気生理学的研究に基づくもので，MVN や PHN から外眼筋への投射経路を直接調べた研究はない。そこで，本研究ではシナプスを一つだけ乗り越えて逆行性に運ばれる改変型狂犬病ウイルス（Rabies ウイルス）を用いて，蛍光タンパクを発現する Rabies ウイルスを外眼筋に投射している外転神経核ニューロンの神経終末に感染させることで，外転神経核ニューロンを介して MVN や PHN ニューロンを蛍光標識させ，MVN や PHN から外眼筋への投射経路を明らかにすることを目的とする。なお，抑制性ニューロンの同定のために VGAT-Venus ラットを用いることから，赤色の蛍光タンパク（mCherry または tdTomato）を発現する Rabies ウイルスを作製し，Venus と赤色蛍光タンパクとの 2 重標識の有無を検討する計画である。

本年度は，研究遂行のための準備と Rabies ウイルスを外眼筋へ的確に投与する手技の確立を目指した。Rabies ウイルスを用いた実験は吉村研の研究室で行うことから，そこで必要とされる消耗品等を揃えるとともに実験実施のための研究室の整備を行った。また, 手技の確立のために，蛍光トレーサー（dextran-conjugated FITC）を外眼筋へ注入することで, 外転神経核で逆行標識されるニューロンが観察されるのかを検討した。しかし，Wild-type ラットでは外眼筋，特に外転筋，における神経終末の位置について不明確だったので，まだ手技の確立には至っていない。そこで，現在，コリン作動性ニューロンが蛍光タンパクを発現する遺伝子改変ラット（ChAT-tdTomato ラット）を用いてコリン作動性である外転神経核ニューロンの神経終末を蛍光観察し, その部位へ蛍光トレーサーを投与することで外転神経核において逆行標識されたニューロンが観察されるのかを検討しているところである。

9. 自由行動下動物の脳機能計測に向けた埋植型デバイスによるイメージングシステムの開発

須永圭紀，桂木優治，笹川清隆，太田　淳
（奈良先端科学技術大学院大学）

本研究では，視覚情報処理研究部門吉村グループと共同で，我々が開発したマウス脳内埋植型イメージングデバイスを用いて，自由行動下におけるマウスの脳機能計測を行い，従来技術では困難であった行動や成長に伴う脳機能計測及び解析を行うことを目的としている。また，オプトジェネティクス用デバイスの開発も行い，イメージングデバイス技術と組み合わせることで，より高度な脳機能計測の実現を目指している。本研究ではこれまでに目標の実現に向け，主にデバイス開発と動物実験の２つの課題へと取り組んでいる。

まず第１に，微弱な緑色蛍光反応を観察するのに適した埋植型イメージングデバイスの開発に取り組んだ。フラビン蛋白蛍光のような微弱な蛍光反応を観察するためには，励起光源である LED の光を選択的に排除し，蛍光反応のみを高精度に観察できるようにすることが重要となる。そこで，我々がこれまでに開発を進めてきた埋植型イメージングデバイスの蛍光光学系を改善し，励起光除去性能の向上を実現じた埋植型イメージングデバイスを開発した。

第２に，新たに開発した埋植型イメージングデバイスを実際に神経活動計測に伴うフラビン蛋白蛍光反応の観察実験に適用した。本研究の最終目標は自由行動中のマウスに対する脳神経活動計測を実現することである。その前段階として，本デバイスを用いてフラビン蛋白蛍光イメージングが可能であることを実証する実験をおこなった。開発した新規デバイスを麻酔下のマウス脳表視覚野に固定し，視覚刺激に伴うフラビン蛋白の蛍光強度変化反応の観察実験を行った。マウス前方に設置したモニターから出力される視覚刺激前後の蛍光強度を測定したところ，視覚刺激に伴うフラビン蛋白の蛍光強度変化の観察に成功した。この結果から，埋植型イメージングデバイスを用いた神経活動に伴うフラビン蛋白蛍光イメージングが可能であることが実証できた。本研究内容は *Japanese Journal of Applied Physics* に採択された。

現在は自由行動中マウスの脳神経活動の実現に向けた実験系の構築を進めつつ，視覚野の脳表部だけでなく脳の断面方向のフラビンイメージングの実現を目指し，デバイスの開発に取り組んでいる。また，フラビンイメージングにて立ち上げた実験系を基盤とし，G-CaMP を用いた Ca^{2+}イメージング実験適用を目指し，実験系を構築中である。

10. 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）

運動の準備や実行の過程において中心的な役割を果たす前頭葉運動野は大脳基底核や小脳とネットワークを形成している。こうしたやり取りが運動発現において重要であることが示唆されるが，依然としてその実態は明らかではない。そこで，小脳と運動野のネットワークに注目し，小脳が運動野に与えるインパクトの実態を解明することを目指して本研究を実施した。

まず，ニホンザルにおいて小脳核を電気生理学的に同定し，刺激電極を留置した。続いて，このニホンザルが到達運動課題を遂行中に，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行った。さらに，課題の試行間に小脳核を電気刺激し，これに対する局所場電位とスパイクの応答を運動野から記録した。その結果，以下の知見が得られた。

１）小脳核の刺激に応じて局所場電位の陰性応答と陽性応答が記録された。小脳の刺激に応答するスパイク活

動は陰性波と陽性波の両方から記録された。小脳からの視床を介した運動野への入力は浅層に到達し，そこでは陰性波応答が記録されることが示されている。従って，我々の結果は，小脳からの入力を受ける細胞が浅層と深層の両方に存在することを示唆する。

２）興奮性応答と抑制性応答を示すスパイク活動が記録された。中には，抑制性応答が興奮性応答に先行するものもあった。この結果は，小脳は興奮性ネットワークに加えて抑制性ネットワークを駆使することにより，運動野のスパイク活動をダイナミックに増減させることを示唆する。

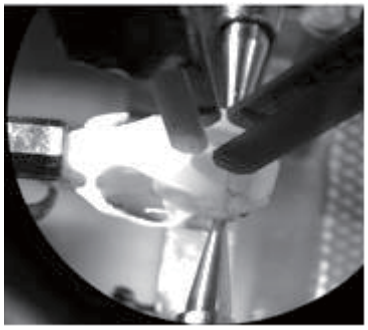
３）小脳から入力を受ける運動野細胞は到達運動の実行時に活動を変化させること，さらに，その活動の変化は複雑な活動の増減を示した。この結果と２）の結果を合わせると，小脳は運動実行時に運動野の複雑な活動パターンの生成において重要な役割を果たすこと，さらに，こうしたメカニズムが滑らかな動作発現にとって重要であることが示唆された。

以上の結果はこれまで未知であった小脳と運動野の機能連関の実態を明らかにするものであり，さらに進んだ研究を実施するための重要な基盤になると考える。

11. fMRI 信号解明のためのマウス脳多領域からの電気生理計測法の確立

高田則雄（慶応義塾大学医学部）
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与する。海馬の出力を担う CA1 神経細胞は軸索線維を 50 以上の脳部位へ投射する（Cenquizca & Swanson, Brain Res Rev. 2007）。では CA1 神経細胞の活動はそれら 50 の脳部位を同様に活性化するのだろうか，それとも特定の脳部位だけが海馬出力に大きな応答を示すのだろうか？この問いに答えるため, 我々は光感受性陽イオンチャネル蛋白質（ChR2）を海馬神経細胞に発現させた遺伝子改変マウス（Tg マウス）を作出し（Tanaka et al., Cell Rep 2012），光遺伝学的 fMRI（opto-fMRI）を行った（Takata et al., PLoS One 2015）。その結果，海馬 CA1 神経細胞を光活性化した時に fMRI 信号応答を示す脳部位は数カ所に限局されていること，しかも海馬 CA1 神経細胞からの直接投射を受けていなくても大きな fMRI 応答を示す脳部位が存在することを見つけた。ただし fMRI 信号は神経細胞の活動を直接反映するのではなく，血中の酸素濃度や血流動態に依存する。そこで我々は opto-fMRI 計測で特定した上記の脳部位群においてどのような神経細胞活動応答が生じたのか電気生理学的計測による直接検証を試みた。しかしマウスの脳はわずか 0.4 cm^3 程度と小さいために（Ma et al., Neuroscience 2005），多点計測に多用されているシリコンプローブを多数刺入することは困難である。そこでまず我々は株式会社・成茂科学器械研究所の協力を得て，頭蓋固定下のマウスの脳へ急性計測用のシリコンプローブを 4 本刺入可能な保持器具の開発に成功した。下図はその保持器を用いて，脳定位固定器に保持したマウスの頭蓋骨へ 4 本のシリコンプローブを接近させた様子を示す。以上によって，マウス脳の多領域からの電気生理計測法を確立できた。



12. 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）

視床下核刺激療法は，パーキンソン病の運動症状を著しく改善させる一方，認知や感情に対する影響が臨床上問題となることがある。霊長類の解剖学的研究により，視床下核は一次運動や補足運動野から入力を受ける外側領域，背外側前頭前皮質から入力を受ける内側領域，そして腹内側前頭前皮質から入力を受ける内側先端領域に分けられることが示されている。本研究は，神経性理学的にそれらの領域の視床下核ニューロンの大脳皮質刺激に対する応答を調べ，機能的特徴を明らかにすることを目的とした。

ニホンザルの一次運動野，補足運動野，前辺縁皮質に刺激電極を埋め，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った。自発発射，各皮質刺激に対する応答，および視床下核内の分布を調べた。

視床下核ニューロンは一次運動野，補足運動野，前辺縁皮質のそれぞれの刺激に応答するもの，いずれの刺激にも応答しないものの４群に分けられた。各群間の検討では，自発発射パターンや平均発射頻度に有意差は認めなかった。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が観察され，潜時および持続時間は，一次運動野，補足運動野，前辺縁皮質の順に長くなる傾向がみられた。一次運動野刺激に応答するニューロンは視床下核の外側領域，補足運動野刺激に応答するものは中間領域，前辺縁皮質刺激に応答するものは最内側領域に存在していた。

早期興奮は皮質からの直接入力と考えられ，前辺縁皮質から視床下核最内側領域に直接投射していることが示された。前辺縁皮質刺激による視床下核ニューロン応答の潜時および持続時間が一次運動野や補足運動野刺激の場合より長いことは，神経基盤として辺縁系の処理は運動系よりも時間がかかることが示唆された。

13. 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，ホサイン イブラヒム，森　由紀子（新潟大学）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

Dystonia musculorum (*dt*) マウスは，*Dystonin* (*Dst*) 遺伝子の変異により，感覚神経変性，および，四肢や体幹の異常な捻転運動などのジストニア様症状を示す。*dt* マウスの表現型の原因となる *Dst* アイソフォームは末梢神経系および中枢神経系に広く発現している。*dt* マウスの末梢神経系における感覚神経変性は出生後に急速に進行するが，ジストニア様症状に関する中枢神経系の異常についてはほとんどわかっていない。

我々は *Dst* 変異マウスにおけるジストニア様症状発現に関わる脳領域を明らかにするため，解剖生理学的な解析を行った。我々が作製した *Dst* 遺伝子トラップマウス（Dst^{Gt} マウス）は，*dt* マウスと同様の運動障害，感覚神経変性を示した。最初に，Dst^{Gt} マウス上肢骨格筋の筋電図を測定し，拮抗筋の同時収縮が高頻度で生じており，ジストニアの特徴を示していることを明らかにした。次に Dst^{Gt} マウスの脳内における組織学的な異常を調べるため，*dt* マウスの感覚神経節細胞や脊髄の一部の神経細胞に異常蓄積することが知られているニューロフィラメントの異常蓄積の有無を免疫組織化学的に調べた。その結果，主として脳幹の網様体や前庭神経外側核などの運動性神経核や三叉神経感覚核の細胞体で，異常なニューロフィラメントの免疫陽性反応が検出された。異常なニューロフィラメントの免疫陽性反応を示す前庭神経外側核や脳幹網様体は四肢の筋群の活動や姿勢調節に関わることから，これらの運動性領域におけるニューロンの機能異常が運動障害を引き起こしている可能性が考えられた。

14. 神経発振現象の運動統御上の意義の探索

美馬達哉（立命館大学）
松橋眞生（京都大学）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

正常動物の大脳基底核，とくに淡蒼球外節，淡蒼球内節，視床下核のニューロンはランダムに発火しており，周期性の活動を示さない。一方，パーキンソン病モデルサル，ジストニアモデルマウス，パーキンソン病患者，ジストニア患者などにおいては，これらの神経活動が発振していたり，互いに同期していたりする。さらにドーパミンなどの薬物治療や，脳深部刺激療法（DBS）などによって症状が軽減すると，このような発振現象が減弱する。これらのことから，独立したランダムな神経活動は，正常な大脳基底核機能にとって必須であり，それらが障害を受けると運動異常が生じると考えられる。疾患モデル動物から得られた神経活動データを解析することにより，このような発振現象が運動異常症の病態生理に果たす役割について検討を加えた。また，ヒト患者に経頭蓋磁気刺激（TMS）ないし経頭蓋直流刺激（tDCS）などの介入操作を行うことにより，症状が改善する可能性についても検討した。

15. 神経麻痺性角膜症に対する TRP チャネルを標的とした治療法の開発

岡田由香，雑賀司珠也，白井久美（和歌山県立医科大学 医学部 眼科）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

神経麻痺性角膜症は，三叉神経第一枝領域が障害され角膜知覚が低下し，角膜障害と角膜創傷治癒遅延が惹起される疾患である。難治性であり研究的治療方法が提唱されるものの，一般には対症療法のみで，根治的な治療法がない。本研究計画では病態解明と新規治療戦略の確立の目的で，三叉神経節や角膜に分布する感覚神経終末（一部，角膜上皮にも）に存在し，知覚に関与する各種 Transient receptor potential (TRP) チャネルシグナルの神経麻痺性角膜症の病態への関与を想定した研究計画を立案した。TRP チャネル欠失マウスでの上皮治癒遅延を基礎データとして，マウスで三叉神経破壊による神経麻痺性角膜症モデルの確立と同モデルでの TRP チャネル刺激，または神経への遺伝子導入の治療効果を検討した。

マウス三叉神経を障害し神経麻痺性角膜症の動物モデルを作製した。方法としては，定位脳手術装置を使用し，頭蓋外から 20G のジアテルミー電極を挿入し，右側の三叉神経第 1 枝を 3 分間凝固し，マウス三叉神経障害モデルを作製した。三叉神経凝固の程度による角膜障害の程度や知覚障害，三叉神経の障害程度を検討した。角膜知覚については経時的にエアージェット刺激で瞬目反応の低下を，障害を起こしていない正常の左側と比較検討した。障害３ヶ月後，TRPA1, TRPV4 の AAV ウイルスベクターを，それぞれ定位脳手術で，頭蓋外から三叉神経第１枝（障害作製と同部位）に微量注入装置を用いて注入した。コントロールとしては，プラスミドの入っていない AAV ウイルスベクターを同様の方法で投与した。AAV ウイルスベクター注入 4 週間後に直径 2 mm の上皮欠損を作成し，遺伝子導入された TRP チャネルを角膜で強制発現したものとコントロール群で，上皮欠損修復時の角膜混濁の状態や上皮欠損の治癒速度などを比較検討した。その結果，コントロール群に比べ，TRPV4 または TRPA1 ベクターを注入したものは角膜上皮欠損の修復が促進された。またこの時，TRPV4 ベクター注入で，角膜での NGF が増加していることを確認した。

16. 異なる種類の皮質線条体細胞の生理特性と機能的役割：形態・生理実験データに基づくモデリング

森田賢治（東京大学大学院教育学研究科）

大脳皮質前頭葉の主に五層に存在する異なる種類の線条体投射性錐体細胞（Crossed-CorticoStriatal (CCS)細胞および CorticoPontine (CPn)細胞）の生理学・形態学的特徴に基づいてそれらの細胞の活動を介して価値・報酬の強化学習がいかに神経回路で実装されているかの可能性を提示した仮説（Cortico-Striatal Temporal-Difference (CS-TD)仮説，Morita et al., 2012, Trends Neurosci）によって，これまでに報告されてきた実験結果，特に，大脳基底核の直接路あるいは間接路が選択的に阻害された場合に現れる行動の障がいがどのように説明されうるかについて, 数理モデルを用いたシミュレーション･解析を行って検討を進めた。大脳基底核の直接路・間接路がいかに価値学習に関わっているかについては，これまで，それらの経路が，正の結果（報酬）からの学習，および負の結果（罰）からの学習にそれぞれ強く関わっているという仮説（Go/No-Go 学習仮説）が提出され，広く認知されている。この Go/No-Go 学習仮説と CS-TD 仮説とは，想定する直接路・間接路の動作・機能，さらにドーパミン依存的神経可塑性などについて大きく異なる。そこで，Go/No-Go 学習仮説を支持するものだと主張されてきた実験結果が，CS-TD 仮説によっても説明可能であるかどうかについて，大脳皮質-基底核の神経回路モデルのシミュレーションを行って検討を進め，少なくとも検討を行った範囲・条件において肯定的と考え得る結果を得た。また，CS-TD 仮説によって，将来的に実験的に検証しうるものとして，どのようなことが予測できるかについても検討を進めた。そして，直接路・間接路の阻害が，意思決定（行動選択）における探索の度合に依存して，将来の価値・報酬の時間割引のされ方に複雑な影響を与え得ることを見出した。さらに，それが依存症といかに関わりうるかについて考察した。

17. 前頭皮質第 6 層細胞のシナプス結合の形態解析

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）

前年度までの研究の結果，大脳皮質 6 層および 5-6 層間の興奮性結合について，電気生理学的の性質を明らかにした。現在，6 層視床投射細胞がシナプス結合を行う相手として興奮性錐体細胞を好むか，抑制性介在細胞を好むかについて，相反する結果が報告されており，統一した見解は得られていない。そこで，本年度は，シナプスの微細形態を調べることを目的として，出力先を同定した 6 層錐体細胞の軸索終末の電子顕微鏡による形態学的解析を目標とした。

6 層錐体細胞の内，視床投射細胞と対側皮質投射細胞を逆行性トレーサーで標識し, スライス標本を作製しホールセル記録を行い，バイオサイチンを注入し，2.5 %のグルタルアルデヒドを含む固定液で，電子顕微鏡標本用に固定した。Biocytin を ABC/ニッケル DAB により可視化し, PC ソフトを用いて樹状突起と軸索を三次元的に再構成した後，超薄切片を作成した。それらの軸索終末がシナプスを作るシナプス後構造が，他の興奮性錐体細胞であるか，抑制性介在細胞であるかを同定するために Post-embedding 染色法により抗 GABA 抗体を金コロイドで標識した。現在，予備的観察を行っている。

18. 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）

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，遠近感の認知に重要な機能ユニット「眼優位カラム」が存在する。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「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)という具合に, 2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解明されているが，前者の初期形成プロセスは新概念であり，ほとんど分かっていなかった。

そこで本研究では，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した。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。この方法を用いて P1・P3・P5・P7・P10・P16・P28・生体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た。その結果，年齢とともに眼優位カラムサイズが大きくなり，第一次視覚野上の眼優位カラム数は年齢によってさほど変わらないことが分かった。現在は，以上の結果を論文として報告するために，統計学的な解析を行っている。

19. 室傍核オキシトシンニューロンの栄養素・神経性調節機構

矢田俊彦，須山成朝，岩﨑有作，Putra Santoso（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）

エネルギー摂取・消費に従って増減する栄養素，ホルモン/神経ペプチドは視床下部の空腹/満腹中枢に局在するニューロンの活動を調節し，摂食行動を決定する。このニューロン活動調節は，膜電位の調節，活動電位発火の調節機序が明らかにされている。これに加えて，視床下部の摂食代謝調節の一次中枢として知られる弓状核ニューロンではシナプス伝達の調節，すなわちシナプス可塑性が重要な役割を担う事が明らかにされつつある。

視床下部室傍核に局在するオキシトシン（Oxt）発現ニューロンは，leptin, Nesfatin-1, α-MSH, AgRP, NPY 等の摂食調節ホルモン/神経ペプチドによる摂食情報を統合し，摂食抑制に働く。しかしシナプス可塑性による調節については未解明である。

本研究は自由摂食/２４時間絶食を負荷したラットの室傍核Oxt ニューロンの興奮性シナプス伝達の変化とそれに伴い発現が変化する分子の同定を行った。

Oxt ニューロンの興奮性後シナプス電流（EPSC）の振幅と頻度はともに２４時間絶食負荷群において有意な減弱を示した。加えて，AMPA 型グルタミン酸受容体阻害剤存在下での，NMDA 型受容体由来 EPSC も絶食負荷に

より減弱する事を見出した。同一シナプスに対する［AMPA受容体由来 EPSC］/［NMDA 受容体由来 EPSC］比は絶食により増加したことから，絶食による Oxt ニューロンに対する興奮性シナプス伝達変化は NMDA 受容体を介したシナプス可塑性機序を示すことが示唆された。

２次元電気泳動による網羅的タンパク質発現解析及び免疫組織化学的解析の結果，絶食負荷群の Oxt ニューロンにおいてDYNLL2タンパク質の発現減少が観察された。DYNLL2 は NMDA 受容体のシナプス後部への輸送を担うことが報告されている。従って絶食による Oxt ニューロンの興奮性入力の減少は，DYNLL2 発現減少による NMDA受容体のシナプス後部への輸送低下を介する可能性が示唆された。

20. 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）

mRNA 分解機構は遺伝子発現制御の一翼を担うことが明らかになってきた。mRNA の 3’末端に転写と共役して付加されるポリ A 鎖は，mRNA 分解の律速段階となるため, mRNA 分解調節において重要な役割を果たす。近年，体細胞においてポリ A 鎖は短縮のみならず伸長によっても mRNA 動態を制御しうることが見出された。この細胞質ポリ A 鎖伸長は，当初は動物の初期胚発生段階に限られた現象と位置づけられていたものの，全ての体細胞が保有する機構であり，細胞環境に応じて起動する普遍的現象であると想定されている。本研究では，細胞質ポリ A 鎖伸長をおこす分子機構について解析を進めた。

細胞質におけるポリ A 鎖伸長においては，非正準ポリ A ポリメラーゼ PAPD が機能する。PAPD には 7 種類のホモログ（PAPD1～7）が存在する。これらの細胞内局在について免疫染色法により検討したところ，PAPD3，6 については主として細胞質に局在すること，PAPD4，7 については主にとして核，部分的に細胞質に局在することが明らかとなった。さらに，MS2 融合 PAPD 発現ベクターを作製し，mRNA の 3’非翻訳領域 MS2 結合 RNA 配列に PAPD を繋留したときのポリ A 鎖長について解析した。PAPD3～7 の繋留によってポリ A 鎖伸長が観察されたことから，これら PAPD によるポリ A 鎖伸長は，3’非翻訳領域を介してターゲット mRNA 選択的におこることが示唆された。

PAPD 自体は mRNA に直接結合しないことから, PAPD をポリ A 鎖近傍にリクルートする介在因子が想定された。そこでPAPDの相互作用因子を免疫沈降法により単離し，質量分析装置により同定した。hnRNPK, hnRNPU, Y ボックス蛋白質などの RNA 結合蛋白質，DHX9 などの RNA ヘリカーゼが同定された。これら因子について MS2 融合発現ベクターを作製し，mRNA の 3’非翻訳領域に繋留させたところ, PAPD と同様にポリ A 鎖伸長が観察された。

以上の結果から，PAPD は mRNA の 3’非翻訳領域に結合する RNA 結合蛋白質を介してターゲット mRNA 特異的にポリ A 鎖を伸長させることが示唆された。ターゲット mRNA の詳細，およびポリ A 鎖伸長がおこる細胞環境の解明が今後の課題である。

21. 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（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，内因・外来因子（酸・機械・温度・消化液刺激など）に対する痛覚過敏，上皮の透過性亢進，消化管運動障害が中心病態

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 が放出され，神経終末を活性化しえ，また，十二指腸液に含まれるトリプシンの食道への逆流曝露や，食道に浸潤した肥満細胞から放出されるトリプターゼなどの PAR-2 刺激により TRPV4 の感受性が亢進し ATP 放出が促進されうること，胃上皮に発現する TRPV4 が ATP 放出を介して, 胃運動障害に関連しうること, 小腸上皮では, TRPV4 活性化により，上皮の透過性が亢進し，NSAIDs 小腸障害の一因になりえることを報告してきた。

本研究では，マウス食道上皮細胞において，PAR-2 活性化から TRPV4 感受性亢進までの分子機構（PKC を介したセリン残基リン酸化）を明らかにした（Dig Dis Sci. 2015;60:3570-8）。また，胃上皮は TRPV4 を介して伸展刺激を受容，ATP を放出し，胃運動障害にも関連しうることを明らかにした（World J Gastroenterol 2016 in press）。なお，機能性ディスペプシア症状を有する *H.pylori* 感染者では除菌により症状改善がある（全患者の約 10%）ことが知られており，申請者らは *H.pylori* 感染者では，胃上皮での TRPV4 はメチル化異常によって遺伝子発現が低下しており，除菌者は遺伝子発現が回復していることを報告してきたが, 今回, ヒト正常胃上皮細胞株を *H.pylori* 感染させると, 実際, TRPV4 のメチル化異常が誘発され, 遺伝子・タンパク発現が抑制されることが確認でき, 2016 年米国消化器病学会で発表した。

22. 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）

Polycystic kidney disease 2-like 1 (PKD2L1) は，細胞外環境の多様な刺激に対して応答する Transient receptor potential (TRP) カチオンチャネルファミリーに属しており，これまでに我々は，過剰発現系を用いた *in vitro* 実験により PKD2L1 が特徴的な電位依存性を示す Ca^{2+} 透過型非選択性カチオンチャネルであることを明らかにしている。PKD2L1 が味覚受容を担う味細胞に発現していることから，PKD2L1 チャネルの苦味物質（キニーネおよびカフェイン）に対する感受性を検討したところ，興味深いことに，PKD2L1 チャネルは苦味物質の除去後に一過性の活性化を示すことが明らかとなった。それ故，PKD2L1 チャネルが苦味受容に寄与する可能性を考え，本一般共同研究では，PKD2L1 欠損マウスを用いることで，PKD2L1 チャネルの苦味応答への寄与を明らかにすることを目的とした。

昨年度に行った 24 時間の飲水量を観測する二瓶選択嗜好実験では，PKD2L1 チャネルの発現が苦味物質の忌避反応に影響を与えなかったことから，本年度は苦味物質を飲ませた後に 15 分間の飲水量を観測する短時間二瓶選択嗜好実験を行った。その結果，野生型 PKD2L1 マウスと PKD2L1 欠損マウスにおいて苦味物質の忌避性が有意に異なることを見出した。この結果から，PKD2L1 チャネルが苦味刺激除去後の苦味応答に寄与する可能性が示された。本一般共同研究により，PKD2L1 チャネルを介する苦味受容機構が，苦味の持続性に関与していることが示唆された。

23. 霊長類味覚に対する TRP チャネルの役割

鈴木-橋戸南美，西栄美子，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 TRPA1 チャネルの役割を検討する。平成 27 年度は以下の実験と考察を実施した。

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（N. Suzuki-Hashido, T. Hayakawa, A. Matsui, Y. Go, Y. Ishimaru, T. Misaka, K. Abe, H. Hirai, Y. Satta, and *H. Imai. (2015) Rapid expansion of phenylthiocarbamide non-tasters among Japanese macaques. PLoS ONE 10, e0132016.）。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，TRPA1 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 TRPA1 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 26 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 を用いた機能解析の結果，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。これらの結果を基に 2015 年 9 月に再度打合せを行い，今後の方針について検討した。

24. 脳の TRPV1 チャネルによる体温調節機構の解明

吉田亜矢加，古部瑛莉子，萬成哲也，宮田清司（京都工芸繊維大学大学院・応用生物学系）
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。我々は，過去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 glial fibrillary acidic protein (GFAP)陽性細胞に特異的に存在し，血液由来の TRPV1 agonist により脳室周囲器官の GFAP 陽性細胞と神経細胞が活性化することを報告した(Glia 2013)。本年度は，脳の TRPV1 が炎症時における体温調節機構にどのように関与しているのか明らかにすることを目的とした。

野生型マウスの脳室内へ TRPV1 agonist である Resiniferatoxin (RTX)を投与すると，濃度依存的に一過性の体温低下を引き起こしたが，TRPV1 KO マウスでは体温低下は誘導されなかった。グラム陰性菌の構成成分である発熱物質 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発熱温度が上昇するだけでなく，発熱時間も持続的になった。

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 GFAP 陽性細胞の STAT3 を活性化した。興味深いことに，RTX の脳室内投与により STAT3 が活性化された脳部位は，LPS の末梢ならびに脳内投与によるものと極めて酷似していた。一方，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生じていた。

これらの結果より，TRPV1 は，炎症時における脳内の体温調節や免疫系活性化に極めて重要なメディエーターであることを明らかにした。尚，本共同利用研究は，2016 年 5 月 18 日に Scientific Reports（電子版）に掲載された。

25. 温度感受性 TRP チャネルの活性化機構の解析と機能的役割

太田利男，畠山由香里，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）

環境温度や刺激性化学物質を感知する Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)チャネルは主に知覚神経に発現しており痛覚受容に重要な役割を演じている。我々はこれまで，本共同研究を通して TRPA1 チャネルに対する種々の物質によるチャネル調節機構を明らかにしてきている。その中で火山性有毒ガスである硫化水素が TRPA1 チャネル刺激作用を有することを見出した。ポリスルファイドは硫化水素の酸化により生体内で生成されるサルフェン硫黄のひとつであり，近年，海馬の長期増強へなど多様な生理作用が見出され，その機能的意義が注目されている。そこで，本研究ではポリスルファイドによる TRPA1 活性化作用とその作用メカニズムについて検討した。

分離マウス知覚神経細胞，TRPA1 を恒常的に発現しているラット膵臓癌細胞株 RIN-14B 及び TRPA1 遺伝子を導入した HEK293 細胞及び動物個体を用いてポリスルファイドの作用を検討した。ポリスルファイドは知覚神経において，濃度依存性に細胞内 Ca 濃度を増加させ，その力価は硫化水素の 10 分の 1 以下であった。ポリスルファイドによる Ca 増加反応は TRPA1 アゴニストに対して感受性を示した知覚神経でのみ生じ，またその反応は選択的 TRPA1 阻害薬により抑制された。TRPA1 欠損マウス由来知覚神経ではポリスルファイドによる反応は消失していた。マウス TRPA1 発現 HEK293 細胞ではポリスルファイドにより TRPA1 チャネル活性による Ca 増加反応に加えて，電流反応が生じた。ポリスルファイドは RIN-14B も同程度の力価により活性化させた。硫化水素に対して感受性を示さない変異型 TRPA1 チャネルではポリスルファイドに対する反応性も消失していた。マウス足底内へのポリスルファイド適用により疼痛行動と浮腫が生じ，これらの反応は TRPA1 欠損マウスでは有意に減弱していた。

以上の成績より，ポリスルファイドはマウス知覚神経細胞において TRPA1 チャネルを活性化し，その結果，発痛作用を示すことが明らかになった。また，ポリスルファイドは TRPA1 に対し硫化水素より高い力価を示したことから本チャネルに対する内因性リガンドとして作用している可能性が示唆された。

26. ジストニア・偏頭痛病態モデルマウス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 基盤神経科学研究領域 神経シグナル研究部門）

ナトリウムポンプは細胞膜内外の Na^+ と K^+ の濃度勾配の形成に関る能動輸送酵素である。本酵素はαとβの 2 つのサブユニットから構成され，マウス脳ではα1-α3 の 3 種類のサブタイプが発現している。最近，ヒトのナトリウムポンプα3 サブユニット遺伝子突然変異が急速発症型ジストニアパーキンソニズム，小児交互性片麻痺の，α2 サブユニット遺伝子突然変異が家族性片頭痛の原因であると報告された。本研究は，α3 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス（*Atp1a3*$^{+/-}$）とα2 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス（*Atp1a2*$^{+/-}$）を電気生理学的・生化学的手法を用いて解析することにより，これら神経疾患の病態・発症機序を解き明かすとともに，新規治療薬の開発につなげることを目的とした。

Atp1a3$^{+/-}$の解析結果：興奮性神経伝達物質グルタミン酸（Glu）のシナプス外漏出は小脳長期抑圧（LTD）の確立に必須のプロセスとして知られ，Glu 回収機構が LTD の形成に重要な影響を及ぼす。Glu 輸送体 EAAT4 は，ナトリウムポンプにより形成された Na^+/K^+ 濃度勾配を駆動力とし，プルキンエ細胞における Glu 回収の中心的役割を担っている。これまでに，*Atp1a3*$^{+/-}$では平行線維 - プ

ルキンエ細胞間シナプスにおいてLTDが惹起されないことを見出している。今年度，ケージ化 Glu（RuBi-Glu）を小脳スライスに適用し，*Atp1a3*$^{+/-}$のプルキンエ細胞においてEAAT電流が有意に減弱していることを発見した。また，小脳 P2 膜画分を調製し，EAAT4 と α3 サブユニットの共役を野生型と *Atp1a3*$^{+/-}$の間で比較する免疫沈降実験を試みた。しかし，現時点では共局在を考察するに足る十分な証拠を得るに到っていない。抗体の自家作製の必要性を含め，実験条件の検討を進めている。

Atp1a2$^{+/-}$の解析結果：我々は以前，*Atp1a2*$^{+/-}$は情動不安行動が顕著に増強するとともに扁桃体や梨状野において神経細胞の過興奮が起きていることを報告した。この過興奮の分子細胞基盤を明らかにするため，扁桃体スライス標本を用いてシナプス伝達特性を観察した。しかし，*Atp1a2*$^{+/-}$と同腹野生型の間で EPSC や IPSC のペアパルス比に有意差は認められなかった。今後は，その他の脳領域や異なる発生段階にも検討対象を広げ，変異の有無を精査していく予定である。

27. 成体新生ニューロンによる海馬神経ネットワークの制御機序

神野尚三（九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野）

1) マウス海馬歯状回に GFP 発現レトロウィルス（包括脳の支援により作製）を圧注入し，成体新生ニューロンの特異的な標識に取り組んだ。これまでのところ，標識効率が低く，成体新生ニューロン以外にもグリア細胞が大量に標識されるなど，いくつかの問題を抱えている。このため，新たなウィルスの導入を含めて，対応を検討中である。
2) 成体新生ニューロンへの入出力を同定し，光遺伝学によって神経回路の活動性を操作する目的で，ChR2 と GFP を組み込んだ AAV を Penn Vector Core から購入し，嗅内野や内側中隔，扁桃体への圧注入を行った。これまでに, 神経回路特異的な良好な標識に成功しており，現在は in vivo で神経回路活動性を光制御するシステムのセットアップを続けている。
3) 所内対応者の古江准教授の協力を受け，ChR2 と GFP を AAV で神経回路特異的に導入したマウスから海馬を含む切片を作成し，in vitro で成体新生ニューロンから傍細胞記録を行う新たなシステムのセットアップに取り組んだ。まだ予備実験の段階であるが，データの取得が可能になっている。
4) 成体海馬神経新生の制御機序を明らかにするため, フィトエストロゲンの一種であるダイゼインを初老期メスマウスに投与し，免疫蛍光多重染色とオプティカルダイセクター法による定量解析と，三次元再構築による形態解析を行った。多能性を有する神経幹細胞や前期一過性増幅幹細胞など，神経新生の初期段階に関わる細胞の空間分布密度はダイゼイン投与によって変化しなかった。一方で，後期一過性増幅幹細胞や神経前駆細胞，幼若顆粒細胞の空間分布密度はダイゼイン投与によって増加していた。また，新生顆粒細胞の樹状突起は，ダイゼイン投与によって分岐数が増加し，全長が伸びていた。興味深いことに，ダイゼインによる成体海馬神経新生の促進作用は，情動に関わる腹側海馬よりも，認知に関わる背側海馬の方が有意に大きいことが示された。これらの結果は，フィトエストロゲンの一種であるダイゼインが，成体海馬神経新生現象に対して，時期・部位特異的に作用することを世界で初めて示したものであり，国際誌に論文投稿中である。

28. 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部）

玉巻伸章と熊本大学の教室員は，これまでの研究から「成体大脳新皮質の軟膜・くも膜には，神経細胞を生み出す神経幹細胞が温存されている」という考えに到達していました。しかし，更に明快な証拠を得るために，生

理学研究所の先生方と，本共同研究を，昨年来，実施させて頂いて居りました。

マウス大脳新皮質の脳室帯から産生された神経前駆細胞は，盛んに大脳新皮質の基底膜まで移動します。しかし，胎児期の基底膜には，多くの穴が有るので，一部の神経前駆細胞は，基底膜を貫いて，軟膜とくも膜の間，「くも膜下腔」に至り，定着します。しかしその後は，脳が成長する間にも，くも膜下腔の神経前駆細胞は，成長も分裂もせず，神経細胞に発現すべきマーカー分子も検出されなくなりました。その形態も扁平で，最早，神経細胞と判断することもできなくなりました。しかし，私共は，神経前駆細胞は，他の神経細胞から供給される細胞増殖因子が途絶えたが為に，冬眠状態にあると考えました。それ故，成体マウスの扁桃体と大脳新皮質に電極を挿入して，一日一回 2 週間程度刺激を繰り返しますと（Kindling），大脳新皮質の軟膜，くも膜に，多くの神経細胞マーカーを含んだ細胞が再度検出されるようになりました（Ninomiya et al., 2013）。それは，電気刺激で神経細胞が興奮したがため，神経細胞が細胞増殖因子をより多く分泌されたのであろう考えました。そして，軟膜の外表面に細胞増殖因子が到達したことにより，再び，様々な神経細胞マーカー分子を発現した神経前駆細胞が観察されるようになったのだと考えました。この様な神経前駆細胞の反応は，特に，導出静脈の周囲で顕著でした。それ故３D 電顕にて，基底膜が途切れた領域の存在を確認しようとしてきました。その結果，未だ明確な確認には至っていませんが，基底膜は，導出静脈に付着するように周りを取り囲みますが，その膜の厚みは，明らかに基底膜と血管外膜を足した厚みより薄いことが，コネクトームの観察法を採用することにより，確認することができました。

29. マカクサルを用いた直接給電機能的電気刺激の前臨床研究

松木英敏（東北大学・医工学研究科），倉田絵莉（東北大学・工学研究科）
佐藤文博（東北学院大学・工学部），藤林里瑛，宮原　敏（東北大学・医工学研究科）
井出桃愛，篠原翔伍（東北大学・工学部）
鈴木迪諒，セントクレア・グリフィン，西村幸男（生理学研究所・認知行動発達機構）

脳卒中や脊髄損傷後に失われる運動機能を再建することを目的とした電気刺激療法として機能的電気刺激（FES）が臨床応用されているが，埋め込まれる刺激電極を体外の刺激装置に接続する必要があり，刺激精度の問題や感染症の心配がある。そこで我々は刺激電極を完全に埋め込む直接給電法を提案している。直接給電法では体外から近傍電磁界を用いて体内に埋め込んだ小型刺激素子へ非接触で給電・通信を行う。先行研究において本システムの構築が行われたが，生体に対する機能性の評価については未検討であった。そこで本研究では，サルの上肢の筋そして大脳皮質に現システムを適用し，機能性評価および実使用に向けた課題の発見と改良を行った。本検討は機能性評価の初期段階であるため，体内素子は埋め込まず，体内に慢性的に埋め込まれた電極から体外に延ばされたコネクタに体内用制御回路の出力端子を接続して経皮的に刺激実験を行った。

まず，本システムをサルの上肢の筋に適用し，動作再建が可能かを確認する実験を行った。実験の結果，単独の筋を刺激する 1 ch 刺激，複数の筋に対して選択的・同時的に制御し刺激を行う 2 ch 刺激ともに，刺激の制御および動作再建に成功し，手指の屈伸などの動作を再建できた。しかし，いくつかの生体抵抗の大きな筋では，本システムの刺激出力が十分でなく必要な刺激電流が出力できないため，動作が再建できないことが分かった。そこで，より大きな刺激電圧を出力できるよう本装置を改良し，再度刺激実験を行った。その結果，生体抵抗の大小に関係なく十分に運動機能再建が可能なシステムの実現に成功した。さらに，体内コイルを生体内に埋め込んだ状態で同様に刺激実験を行い，生体内のコイルへの非接触給電・通信により筋刺激・運動機能再建が可能であることを示した。

また，大脳皮質刺激についても体内デバイスを埋め込まない状態での刺激実験を行った。こちらは筋と比較して生体抵抗が小さかったため刺激出力の不足などはなく，

上肢や顔などの動作が誘発できることを確認した。

以上の検討により，ヒトに近い解剖学的・生理学的な特徴をもつマカクサルでの直接給電法による機能的電気刺激に成功したことで，直接給電法による生体刺激システムが筋刺激・大脳皮質刺激による運動機能再建に有効であることを示すことができた。今後は，刺激素子埋め込み状態で刺激実験を行うことで実用化に大きく近づくと考えられる。

30. 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）

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。本年度は本技術を脊髄損傷患者への適用し，下肢歩行運動の誘発・制御が可能であるか検証した。

胸髄レベルで脊髄を完全損傷（ASIA:A）している患者に対し，第一背側骨間筋―腰髄部間の人工神経接続を半仰臥位で行ったところ，患者の麻痺した下肢に歩行運動が出現した。この歩行運動は患者自身でその運動の開始・停止及び歩幅を随意制御することが可能であった。我々は，この人工神経接続により誘発・制御される下肢歩行運動が，リハビリテーション効果を促進するか否かを検討するために，その繰り返しにより生じる下肢歩行運動サイズの日内変動及び，日間変動を測定した。人工神経接続による歩行運動を 1 日内で複数回繰り返した場合, 1 回目より 2 回目，3 回目と回数を増やすごととにその誘発される運動のサイズが増大した。さらに人工神経接続による歩行を 1 週間毎に 1 回程度数か月に渡り繰り返したところ，その歩行サイズは回を重ねる毎に増大する傾向を示した。これらの結果は人工神経接続が脊髄の一部を迂回して脊髄損傷患者の下肢歩行運動を誘発・随意制御可能であること，人工神経接続により誘発される歩行運動は練習効果を持ち, その歩行運動が繰り返しのトレーニングによって改善することを示している。

31. アセチルコリン作動性入力によるサル運動制御, 動機付けの階層, 動的制御機構の解析

小林　康，岡田研一（大阪大学大学院生命機能研究科）
中村加枝（関西医科大学医学部）

齧歯類などを用いた研究で前脳や脳幹由来のアセチルコリン入力が大脳皮質を含めたネットワークの様々な周波数のニューロンの集団活動を誘発し, 覚醒, 動機付け, 運動制御に重要な働きをする事が示唆されているが，その集団活動のダイナミクス，薬物効果による行動変化と脳活動の関係などが理解されていない。本研究ではサルが前肢到達運動を遂行中に，埋め込み電極より，大脳皮質（感覚野・運動野）の多数の記録部位から同時に神経活動を記録し，さらにアセチルコリン抑制剤，アセチルコリン系と密に結合するモノアミン系の薬物注入実験を行いることで，覚醒，動機付け，運動制御に関わるアセチルコリン入力による大脳の行動制御機構を明らかにすることを目的とした。本研究ではサルを用いて，動物が前肢到達運動を遂行中に埋め込み電極より局所フィールド電位を記録し，大脳皮質活動動態を解析し，アセチルコリン抑制剤（スコポラミン）・モノアミン系抑制剤（レ

セルピン・L-DOPA）を投与し，大脳皮質-中脳ドパミン系・脳幹アセチルコリン系に対する薬理効果を行動学的・神経生理学的に解析した。

結果１）スコポラミン注入実験：アセチルコリン抑制剤のスコポラミンはサルの課題に対する動機付けの低下，皮質脳波の高周波ガンマ成分の低下を引き起こした。薬剤効果は 1 日で消失した。

結果２）レセルピン-LDOPA 注入実験：レセルピンは，モノアミントランスポーターを阻害して，脳内のドーパミンを枯渇させ，パーキンソン様の症状を誘発することが古くから知られているが，最近レセルピンがパーキンソン病モデルを作成する薬剤として再び注目されている。レセルピンは，動機付けの低下・筋固縮・振戦を誘発した。またその効果は5日程度持続することが確認された。振戦は MPTP 等のパーキンソン病モデルではみられない症状である。レセルピン投与後，運動領野・感覚領野の ECoG 記録を行うと，前肢到達運動遂行時の運動準備中に広範囲領域の大脳皮質活動において α-β レンジ（8-20 Hz）でパワースペクトルの増加が確認できた。また，レセルピン投与後，L-dopa 投与は上記レセルピン症状を改善させ，皮質脳波を通常状態に復帰させた。

32. 人工ナノ・リポソーム創製とその構造評価

石黒　孝（東京理科大学 基礎工学部 材料工学科）
阿井晴佳（東京理科大学大学院・基礎工学研究科・材料工学専攻）

本研究では，真空中・電子線照射下でより強靭なナノスケールのリポソームカプセルを合成し，内部に物質を導入した状態で，その現場を電顕観察することを目的とした。

「水を含む生体材料の電顕観察は困難である！」という常識を覆すものである。本研究では水溶液を内包したリポソームカプセルに生起する物質反応を真空中に持ち来し，その場電顕観察について検討を行った。

はじめにリン脂質－水系におけるコレステロール添加量に対する相転移の安定性について，透過赤外分光法により評価し，相転移消失のコレステロール添加量を見積もった。これをもとにバンガム法によりリポソームを合成し，クライオ電子顕微鏡によりリン脂質二重層膜構造を有するナノサイズのリポソームが合成できていることを確認した。さらに動的光散乱法によりリポソームのコレステロール添加量による分粒径布の変化を評価した。

続いて高感度質量分析器を装着した通常電子顕微鏡に純水および生理的食塩水を内包したリポソームを挿入し，常温で200keV 電子線照射により放出された水を検出し，真空中でもリポソームは確かに水を内包したまま存在できることを確認した。

さらに，照射継続において溶液の揺らぎによるコントラストの変化，食塩単結晶の析出，そして析出した食塩の周囲への昇華・再析出の一連の過程を CCD カメラおよびフィルムにより in-situ 電顕観察を実現した。

以上の結果は 2015 MRS Fall Meeting & Exhibit, 2015 年 11 月 29 日～12 月 4 日. Boston, MA USA に発表し，下記の論文にまとめた。

In-situ TEM observation of rock salt crystal precipitation in liposome, Haruka Ai, Naoto Moriya, Takuji Ube, Takashi Harumoto, Yoshihiro Arai, Kazuyoshi Murata and Takashi Ishiguro, MRS Advances, DOI: 10.1557/adv.2016.277

33. 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 抗酸菌部主任研究員）

【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】今年度新たに *M. intermedium* (ATCC 51848), *M .intracellulare* (ATCC 13950), *M. smegmatis* (ATCC 19420), *M. xenopi* (ATCC 19250) を JEM-2200FS Cryo-TEM で観察し，単個菌の基礎形態を取得した。

今回計測した４種の菌体直径平均±SD は 0.620 ± 0.159 μmで，*M. xenopi* の平均直径が 0.424 ± 0.038 μm で他の３種より短い傾向がみられた。一方，４種の平均菌体長は 2.183 ± 0.861 μm であった。種ごとの平均菌体長は *M. xenopi* が最も短く 1.673 ± 0.512 μm であり，*M. smegmatis*が最も長く 3.445 ± 1.404 μm で，その差は約２倍であった。

これまでに基礎的形態計測を行った 18 種全体での平均直径は 0.596 ± 0.099 μm，平均菌体長は 2.246 ± 0.702 μm で今回計測した４種は既に計測した種と比較して菌体直径，菌体長ともに長い傾向がみられた。

固形培地上に観察されるコード形成そのものは走査型電顕での観察が有用であるが，一般的な走査型電顕用試料調製には脱水，乾燥過程があり菌体の収縮が起こる可能性が高い。したがって，Cryo-TEM による計測がコードを形成する単個菌ごとのより生菌に近い基礎形態情報を取得する上で有用であると考えられる。

34. マウスノロウイルスの高分解能構造解析

片山和彦，戸高玲子（国立感染症研究所ウイルス第二部）
村田和義（生理学研究所）

ノロウイルスやロタウイルスに代表されるウイルス感染による下痢症は，世界中で毎年数百万人規模の感染者を出し，大きな社会問題となっている。特にノロウイルスは，未解決なウイルス学的問題が多く残っている。それは，ノロウイルスの感染，病原性発現機構を研究するためのモデル動物，効率良くウイルスを増殖させる培養細胞がほとんど無いことに起因する。本研究では，唯一培養細胞で安定して増殖させることが可能なマウスノロウイルス（MNV）を用いて，その高分解能三次元構造をクライオ電顕により解析する。また，バキュロウイルス発現システムを用いてウイルス様中空粒子(Virus Like Particle: VLP)を作製して，構造解析を行い，感染性粒子と比較検討することにより，ノロウイルスの粒子構造（エクステリア，インテリア）を明らかにする。

MNV を株化培養細胞 RAW264.7（以下 RAW）に感染させ，培養上清に放出されてくる感染性 MNV 粒子を精製した。一方，MNV ゲノムの Virus capsid protein をコードする領域をバキュロウイルスベクターに組み込み，昆虫細胞で発現させ MNV-VLP を得た。精製した MNV, MNV-VLP を生理学研究所に運び，クライオ電顕によって詳細に解析を行った。MNV は, 7.9 Å, MNV-VLP は7.2 Å の分解能の三次元構造を得た。これらの構造を比較検討したところ，MNV-VLP は MNV に比べて若干薄いキャプシド層を示した。また，ホモロジーモデリングによりキャプシドタンパク質の P（突起部分）ドメインと S（殻）ドメインの分子モデルを作製した。

一方，我々は，同時に MNV レセプターの研究を進展させており，RAW 細胞の CD300lf, CD300ld 分子が MNV 粒子を細胞内に取り込むレセプターとして機能することを発見した。この結果から CD300lf, CD300ld 分子のシグナルペプチド N 末端側 34 アミノ酸が MNV との結合に重要である事を示した。CD300lf 分子の分子構造は X 線構造解析によって解かれていたため，これを使用して MNV 感染性粒子の P ドメイン分子モデルとコンピューター内で分子ドッキングシミュレーションを実施した。このシミュレーションの結果，CD300lf のN末端から 3 番目のベータシート構造が，MNV のＰドメインと結合しており，その結合部分は MNV の 2 回転軸の内側に位置することが予想された。

我々は，MNV の感染を中和可能なモノクローナル抗体の作出に成功した。この抗体は，効率良く MNV のレセプター結合部位をブロックしている可能性がある。現在，我々は，このモノクローナル抗体を MNV 感染性粒子と反応させ，クライオ電顕によって抗体の結合部位を可視化することを試みている。

35. 低温位相差顕微鏡を用いた PBCV-1 ファイバー状構造体の構造解析とその同定

宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）
東浦彰史（大阪大学蛋白質研究所）

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 400 kbp ものゲノムを有する直径約 2000 Å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有している。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。

これまでの観察より低温位相差電子顕微鏡で 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ている。PBCV-1 と同様に NCLDV に分類される mimivirus の表面に存在するファイバー状構造体はプロテアーゼ，グリコシダーゼ処理により除去されていることが報告されているが，同様の手法では PBCV-1 のファイバー状構造体は除去されなかったことから，新規のファイバー状構造体であると考えている。

低温位相差電子顕微鏡により撮影したファイバー状構造体のイメージを手がかりに同定実験を進めているが，現状ではその同定に至っていない。

36. 低温位相差電子顕微鏡による黄色ブドウ球菌ファージの三次元構造解析とその感染機構の解析

内山淳平（麻布大学 獣医学部 微生物学第一研究室）
宮崎直幸（大阪大学 蛋白質研究所 分子創製学研究室）
松崎茂展（高知大学 教育研究部 医療学系基礎医学部門）
村田和義（生理学研究所 脳機能計測・支援センター 形態情報解析室）

１．はじめに

近年，薬剤耐性を獲得した黄色ブドウ球菌（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌；MRSA）は，ヒト・産業動物に難治性感染症を引き起こし，甚大な健康・経済被害を生じている。この深刻な状況に対応すべく，化学療法の代替療法の可能性の一つとして細菌ウイルス（ファージ）の溶菌活性を利用した感染症治療法，いわゆるファージ療法がある。

ファージ S6，S13’は，黄色ブドウ球菌を効率良く除菌可能な治療用候補ファージである。低分子化合物の化学構造と同様に治療用ファージの詳細な構造情報は重要であるが，これまでにこれらの有用な治療用候補ファージの三次元構造情報はない。それゆえ，本研究では，MRSA 感染症に対するファージ療法の研究開発を目的とし，治療用候補ファージ S6，S13’の低温位相差電子顕微鏡による三次元構造解析を行った。

２．方法と材料

ファージを宿主菌存在下で大量増殖後，CsCl 密度勾配超遠心法によりファージの精製を行った。氷包埋法により作製した試料を，低温位相差電子顕微鏡を使用し観察した。得られたデータを単粒子構造解析法，電子線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

はじめに，ファージ S6 の構造観察を行った。頭部直径は～120 nm であり，T=25 の対称性を持つことが判明した。この構造は，エルシニア菌ファージ φR1-37，緑膿菌ファージ φKZ 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，尾部先端に 70 nm 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。

つぎに，ファージ S13’の構造観察を行った。頭部直径は～45nm であった。現在，頭部構造，尾部構造ともに解析を進めている最中であるが，頭部の構造は，8.5 Å 分解能で決定することに成功し，T=4 の対称性を持つことが判明した。

今後，ファージ尾部の構造解析，頭部・尾部を含めたファージ全体構造の三次元構造の構築，低温位相差電子顕微鏡を使用したファージの感染機構の解明を目的とし，ファージ S6，S13’の詳細な構造解析を進めていく予定である。

37. Revealing the architecture and dynamics of RNA polymerase I complex by Zernike phase plate cryo-EM(ZEM)

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)

RNA polymerase I (pol I), a 14 subunit protein complex, is an essential enzyme that synthesizes ribosomal RNA in eukaryotic cells. Although crystal structure of pol I has been available recently, the structure(s) of pol I in solution

is still unclear and this information is important to understand the transcription initiation of pol I. To this end, we used Zernike phase contrast cryo-electron microcopy (cryo-ZEM) to image pol I, followed by 3D classification by the RELION algorithm. Here, by comparing the previously obtained cryo-ZEM pol II structures, we clearly identify the location of the TFIIF-like subunit on pol I, and observed that pol I can adopt multiple conformations as pol II does.

Saccharomyces cerevisiae RNA polymerase I is a 14-subnit enzyme complex. Compared to RNA polymerase II, it has two additional subunits that are counterparts of Tfg1 and Tfg2 subunits as transcription initiation factors of RNA polymerase. Besides, pol I works as a fast action enzyme compared to pol II. Although the X-ray crystal structure of pol I is recently available, it does not tell why pol I could be a more efficient enzyme.

Previously, we have used cryo-ZEM to facilitate a structural study of pol II by enhancing the contrast with a phase plate. However, we found that the resolution of the reconstructed structure was limited around 18 Å. To resolve this issue, we processed the pol II cryo-ZEM images by a recently released maximum-likelihood algorithm implemented in RELION (Scheres, 2012), which allows classified the structure via variance of conformation. Surprisingly, we were able to divide the cryo-ZEM data of pol II into various conformations, which is the first evidence that suggest pol II can adopt multiple conformations in solution. Meanwhile, we parallelly set out to investigate the structure(s) of pol I in solution to understand whether the enzymatic efficiency of pol I is correlated with the conformations it can take. Remarkably, pol I can indeed adopt multiple conformations as pol II does, but the angles of the DNA binding channel are more restricted than those of pol II, suggesting it may be able to travel faster along DNA.

Reference

1. Fernández-Tornero, C. *et al*. Crystal structure of the 14-subunit RNA polymerase I. *Nature* **502,** 644-649 (2013).
2. Scheres S.H. RELION: implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination. *J Struct Biol.* **180,** 519-530 (2012).

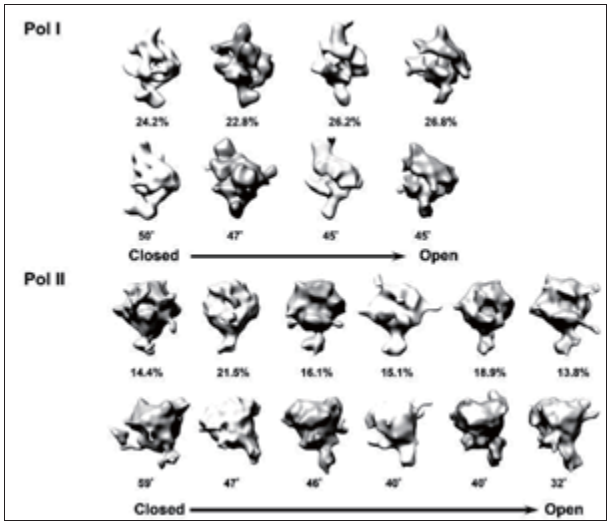


Fig. 1. Comparison of cryo-ZEM structures of pol I vs pol II. Cryo-ZEM images were processed by 3D classification in RELION to reveal the variance of confirmation of pol I and pol II. The angles between the body of the clamp and the jaw-lobe were also measured.

38. グリシン作動性シナプス可塑性の動作原理と生理学的意義

平田普三（青山学院大学理工学部）
東島眞一

神経細胞間の情報伝達の場である化学シナプスは興奮性シナプスと抑制性シナプスに二分される。興奮性シナプスではポストシナプスの膜電位が上昇するが，抑制性シナプスでは低下するので，興奮性シナプスと抑制性シナプスではシナプス後領域の応答性は真逆であると言える。シナプス伝達を繰り返すうちにシナプス伝達効率が変化する現象はシナプス可塑性とよばれ，海馬の興奮性グルタミン酸作動性シナプスで精力的に研究されており，学習や記憶の神経基盤として広く知られている。シナプス可塑性は抑制性シナプスでも起こるが，GABA 作動性シナプスでその動作原理が解明されつつあるものの，グリシン作動性シナプスにおいては，どのようなメカニズ

ムで可塑性が誘導されるのか，グリシン作動性シナプスの可塑性を使って生物が何を行っているのかには不明の点が多い。研究代表者はゼブラフィッシュの逃避行動の研究から，ゼブラフィッシュ稚魚のマウスナー神経細胞においてグリシン受容体動態に可塑性があることを見出した。本共同研究で研究代表者は，GAL4-UAS 系を用いてマウスナー細胞での遺伝子発現を操作し，マウスナー細胞におけるカルシウム濃度変化やカルシウムの必要性を検討し，グリシン受容体動態の制御に CaMKII が関わることを見出した。今後，CaMKII の細胞内局在やその基質の同定を進めるとともに，グリシン作動性シナプスの可塑性に興奮性入力が必要なのかも明らかにしていきたい。また，活動電位の生成に必要な電位依存性ナトリウムチャネルの神経細胞内の局在制御に関わる分子として，小胞体に存在するユキチンリガーゼ RNF121 を同定し，RNF121 が電位依存性ナトリウムチャネルの品質管理を通して，電位依存性ナトリウムチャネルの軸索起始部への輸送，ひいては動物の逃避行動に必須であることを明らかにした。

39. 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

昨年度に引き続き，胸びれのリズム運動を司る脊髄内神経回路の解析を重点に研究を行った。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，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。

昨年度までの研究により，仮想遊泳中に，外転筋運動ニューロンと内転筋運動ニューロンは交互に発火して，リズムを形成することを確認した。また，それらの運動ニューロンに，リズミックに興奮性入力と抑制性入力を交互に入っていることが明らかとなっている。

運動ニューロンに，興奮性および抑制性の入力を送っている介在ニューロンを同定する目的で，脊髄のさまざまなクラスの介在ニューロンで，蛍光タンパク質発現する系統の作製を体系的に行った。これらのラインを用いて電気生理学的解析を行った結果, 転写因子 chx10, gata3, en1, dbx1, evx2, dmrt3 を発現する介在ニューロンが, 胸びれリズム運動中に活動することが明らかになった。

現在，これらのニューロンの発火パターンを詳しく調べている。また，これらのニューロンを人為的に発火させ，外転筋運動ニューロンと内転筋運動ニューロンから電気生理学記録を取ることで，介在ニューロンと，胸びれ運動ニューロンとのシナプス結合の様式を調べている。

40. 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 [1]，佐藤慶太郎 [2]，瀬尾芳輝 [2]，橋本貞充 [3]，石川　透 [4]
福島美和子 [5]，成田貴則 [1]，松浦幸子 [6]，村上政隆 [7]
([1] 日本大学・生物資源科学部・獣医生化学研究室，[2] 獨協医科大学・生理学講座，
[3] 東京歯科大学・生物学講座，[4] 帯広畜産大学・基礎獣医学研究部門，
[5] 昭和大学・歯学部・口腔病態診断科学講座，[6] 白寿医療学院，
[7] 自然科学研究機構・生理学研究所)

MARCKS (alanine-rich C kinase substrate) はプロテインキナーゼ C（PKC）の細胞内基質である。MARCKS 細胞膜に局在しているが，リン酸化されると細胞質に移行し細胞機能に関わると考えられている。唾液腺を含む外分

泌腺における MARCKS の機能について検討した。外分泌腺の 1 つであるラット膵腺房細胞においてコレシストキニン（CCK）刺激が MARCKS のリン酸化を惹起することが抗 MARCKS リン酸化抗体によるイムノブロット法により認められた。MARCKS の局在を検討すると，細胞膜から細胞質への移行が免疫組織化学的に認められた。PKC は大きく 3 グループに分けられるが，ラット膵腺房細胞にその中の novel PKC グループの 1 つである PKC-δ 発現が認められていることから，PKC-δ との関連を検討した。PKC-δ が活性化されるとリン酸化により細胞膜から細胞質への移行が起こる。CCK は PKC-δ の細胞膜から細胞質への移行を惹起したため活性化が認められた。PKC-δ 阻害薬である Rottlerin は CCK 誘導性の MARCKS リン酸化を阻害した。以上のことから，CCK が PKC-δ を介した MARCKS の調節に関与することが示唆された。次に，脂質ラフトが情報伝達に関与していることが報告されていることから, MARCKS の局在と脂質ラフトの関連を検討した。Triton X-100 に不溶性画分をショ糖密度勾配法により分画し，糖脂質である GM1a をマーカーとして局在を検討したところ，非刺激時では GM1a と共局在が認められたが, CCK 刺激後では GM1a とは異なる画分に移動が認められたことから刺激により脂質ラフトからの移動が考えられた。MARCKS のアミノ末端配列を有するペプチド(MANS)は MARCKS の機能を阻害する。CCK による分泌機能を，アミラーゼ分泌を指標に検討を行ったところ，MANS による分泌阻害が認められた。我々は以前にラット耳下腺腺房細胞における β 受容体刺激においても PKC-δ / MARCKS 活性化の関与を報告しており，様々な分泌刺激において活性化が考えられる。水分泌における MARCKS の関与について検討中である。

41. 脳境界のグリア性境界膜の形成と崩壊

寺島俊雄（神戸大学大学院医学研究科神経発生学分野）
古瀬幹夫（生理学研究所脳形態解析研究部門）

脳の表面を覆う表層グリア性境界膜は，髄液脳関門として脳を外部環境から遮断する。このバリヤ構造が破綻すると，福山型筋ジストロフィーのようにニューロンがクモ膜下腔に遊出する。一方，正常マウスの海馬裂では一度形成されたグリア性境界膜が崩壊する。本研究の目的は，正常マウスおよびリーラー，ヨタリ，ラガードマウスの大脳皮質表層と海馬裂を中心にしてグリア性境界膜の形成と維持，そしてその崩壊のメカニズムを形態学的手法により研究することである。

リーリンを欠損する SRK ラットとリーラーでは海馬裂を貫通する嗅内野海馬線維（貫通線維）が走行異常を呈する（Woodhams and Terashima, 1999; Muraoka et al., 2007）。しかしリーリンの下流で機能する Dab1 を欠損するヨタリの海馬貫通線維や海馬裂の構造については研究が無い。そこで成体ヨタリの嗅内野に BDA を注入し，貫通線維を順行性に標識したところ, 標識線維はリーラー, SRK ラットと同様に海馬裂の最深部を迂回し, 海馬 CA1, CA2 の網状分子層および歯状回の網状分子層に投射することが判明した。しかし，その標的部位における層状の終末は認められない。次に P0 から P6 までのヨタリマウスのホルマリン固定脳に DiI の微小結晶を置き貫通線維を標識した。その結果 DiI 標識貫通線維が海馬裂を貫通できないことが明らかになった。

ヨタリの海馬裂のアストログリアを GFAP 抗体を用いて調べたところ，ヨタリでは SRK ラット，リーラーと同様にアストログリアの増殖があることが判明した。

以上のことをふまえ正常，リーラー，ヨタリの成体大脳皮質の境界と海馬裂の微細構造を調べる目的で，大脳皮質と海馬の電顕包埋を行った。加えて今回，ラガードマウスの小脳，嗅球，大脳皮質，三叉神経節の電顕包埋を行った。ラガードは自然発症の常染色体劣性ミュータントマウスで Kif14 の異常による細胞分裂の障害により，ニューロンやグリア細胞（オリゴデンドログリアやアストログリア）の異常があり，リーラーやヨタリ同様に脳境界の異常が期待される（Fujikura et al., 2014; Yunus et al., 2015）。現在，準超薄切片の作成を行うなど共同実験の進行中である。

【計画共同研究報告】

計画共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. 哺乳類カリウムチャネルにおける構造揺らぎと機能制御の連関（古谷祐詞ほか）…… 177
2. ALS の新規病態基盤としての脊髄運動ニューロン上位神経核の機能変調（大篭友博）…… 177
3. 光刺激法を用いた大脳基底核神経回路機能の解析（籾山俊彦ほか）…… 178
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）… 178
5. ドーパミン受容体遺伝子操作マウスを用いた運動制御機構の解析（笹岡俊邦ほか）…… 179
6. 大脳基底核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理学的解析（和中明生ほか）…… 180
7. SBF-SEM を用いた髄鞘の軸索機能調節機序の解析（林　明子ほか）…… 180
8. 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）…… 181
9. 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（深澤有吾ほか）…… 182
10. 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）…… 182
11. 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）…… 183
12. 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）…… 184
13. SBF-SEM を利用した消化管 GLP-1 分泌細胞の絶食に伴う微細構造変化の解析（渡邉敬文ほか）…… 184
14. 連続ブロック表面 SEM によるカエル舌の茸状乳頭上皮に分布する神経の三次元構造解析（田所　治ほか）…… 185
15. 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）…… 186
16. ウイルスベクターを用いた麻痺肢集中使用法の作用機序の検討（飛田秀樹ほか）…… 186
17. 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）…… 187
18. 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）…… 188
19. 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（松下健一郎ほか）…… 188
20. 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）…… 189
21. 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）…… 190
22. 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）…… 190
23. 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）…… 191
24. 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
25. 神経成長の制御マウス群の高次脳機能調節機構の解明（五十嵐道弘ほか）…… 192
26. 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）…… 193
27. 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（田中康太ほか）…… 194
28. 電位センサーを持った機能未知タンパク質の記憶・学習に与える影響の解析（岡村康司ほか）…… 194
29. 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
30. FcγRIIB 欠損マウスの記憶・学習と社会的行動異常の解析（上野浩司ほか）…… 196
31. 中枢神経系における小胞体品質管理の役割の解明（西頭英起ほか）…… 196
32. 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）…… 197
33. 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
34. 膜流動性と細胞信号伝達に関する研究（高木昌宏ほか）…… 198
35. 精神および物理的要因のストレスによる疼痛（奥田裕子ほか）…… 198
36. 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）…… 199
37. 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）…… 200

38. 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
39. 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
40. 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
41. 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
42. 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）…… 203
43. 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
44. 酵母接合子の減数分裂から胞子形成に至る過程のオルガネラ動態の超微細構造の解析（中野賢太郎ほか）…… 204
45. SBF-SEM 3 次元立体再構築法を用いた細胞接着関連分子による神経シナプス形成機構の形態構造レベルでの解析（溝口　明ほか）…… 205
46. 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）…… 206
47. 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）…… 207
48. 原生生物ハリタヨウチュウを用いた新規微小管調節機構の解明（安藤元紀ほか）…… 208
49. 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）…… 208
50. SBF-SEM を用いた小型甲殻類の比較形態学（A. Richard Palmer ほか）…… 209
51. 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）…… 210
52. 鳴禽類ソングバードを用いた時空間制御を与える遺伝子発現系の開発と行動実験への応用（和多和宏）…… 210
53. 光遺伝学を用いた霊長類の視覚運動制御回路の機能操作（木下正治ほか）…… 211
54. 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）…… 211
55. 内側運動制御系に対する内因性カンナビノイドシグナルによる制御システムの解明（田中智子ほか）…… 212
56. ウイルス遺伝子工学による腹外側線条体神経回路の解明と操作（田中謙二）…… 212
57. アデノ随伴ウィルス（AAV）を用いた神経系の発生および恒常性維持に関わる分子機構の解析（堀江正男ほか）…… 213
58. 前シナプス分子基盤によるリボンシナプスの形成及びその機能解析（萩原　明ほか）…… 214
59. 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）…… 214
60. ウイルスベクターを用いた視床下部神経への遺伝子導入と機能操作（山中章弘ほか）…… 215
61. 実験用ラットにおけるアデノ随伴ウイルス AAV ベクターを利用した in vivo ゲノム編集基盤技術の開発（真下知士ほか）…… 215
62. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究（藤山文乃）…… 216
63. シナプス終末の R 型電位依存性カルシウムチャネルと内側手綱核—脚間核—腹側海馬回路の生理的役割（重本隆一）…… 216
64. 胎生期の脳形成過程におけるミクログリアの動態と機能の解明（宮田卓樹ほか）…… 217
65. 高脂肪食摂取下における腸管粘膜防御機能と吸収機構に関するメカニズムの解明（志茂　聡ほか）…… 218
66. 性周期制御における GABA 興奮性作用の役割（渡部美穂ほか）…… 218
67. 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）…… 219
68. 細胞分裂過程を 1 細胞丸ごとレベルで 3 次元構造解析するための技術開発（岩根敦子ほか）…… 220
69. 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）…… 221
70. 血管壁内の細胞外マトリックスの 3 次元超微細構造計測（杉田修啓ほか）…… 221
71. ヒドロゲル微粒子をコアに用いたシード乳化重合による新規異形複合微粒子の創製および構造評価（鈴木大介）…… 222
72. 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）…… 223
73. プロテアソーム形成に関わる集合シャペロンタンパク質複合体の電子顕微鏡解析（佐藤匡史ほか）…… 224

1. 哺乳類カリウムチャネルにおける構造揺らぎと機能制御の連関

古谷祐詞，塚本寿夫（分子科学研究所）
久保義弘（生理学研究所）

細胞膜そのものはほとんどイオンを透過しないが，細胞膜において種々のイオンチャネルが特定のイオン種を選択的に透過することによって，細胞内外にイオン濃度勾配が形成され，膜電位が生じる。膜電位およびその変化は，神経発火など様々な生理機能において重要な役割を果たしている。

カリウムチャネルの多くは，非常に高いカリウム選択性を示すが，哺乳類細胞の静止膜電位の形成に関わる two-pore 型カリウムチャネル TWIK-1 は，チャネル周辺の環境によってイオン選択性が「緩まる」ことが，種々の電気生理学解析から明らかにされている。本研究では，TWIK-1 との各種イオンとの相互作用様式を，赤外分光法などを用いて解析し，カリウムチャネルのイオン透過を制御するメカニズムを明らかにすると共に，そのメカニズムにチャネルタンパク質の「揺らぎ」がどのように関わるのかを明らかにすることを目的とする。

これまでの TWIK-1 チャネルの機能制御メカニズムの解析は，TWIK-1 を強制発現させた培養細胞や卵母細胞を用いて行われてきた。そこでまず，TWIK-1 の特異なイオン選択性がチャネルタンパク質自身によって生み出されているのかを調べた。そのために，哺乳培養細胞に大量発現させた TWIK-1 を精製した。そして精製タンパク質を脂質小胞（リポソーム）に再構成し，小胞内のイオン濃度変化を感知する蛍光インジケータを用いて，TWIK-1 のイオン透過性を調べた。

その結果，TWIK-1 はタンパク質自体が，低いイオン選択性を示す特性を持つことがわかった。また TWIK-1 のイオン透過性を「普通の」カリウムチャネルと同様にする変異を導入すると，その変異タンパク質は高いカリウム選択性を示すこともわかった。この解析を進める過程で，TWIK-1 がイオンチャネル機能を発現する上では，再構成に用いる脂質の組成が重要であることが明らかになった。

TWIK-1 を，チャネル機能を発揮できる脂質組成の脂質膜に再構成した試料を用いて赤外分光解析を行い，イオン種を変えた際に，イオンとチャネルタンパク質との相互作用の変化（揺らぎ）を反映した赤外吸収バンドを同定することに成功した。

今後は，これまでに得られた結果をもとに，TWIK-1 の電気生理学解析や各種分光解析を進めて，このチャネルの機能制御メカニズムの理解を深める予定である。

2. ALS の新規病態基盤としての脊髄運動ニューロン上位神経核の機能変調

大篭友博（九州大学大学院 医学研究院 神経解剖学分野）

これまで，ALS における脊髄運動ニューロンの細胞死はアストロサイトの GLT-1 発現低下によるグルタミン酸過剰が原因であると考えられてきた。ところが最近申請者は，GLT-1 の発現低下以前に運動ニューロン細胞体における vGLUT2 陽性シナプスが顕著に増大することを見出した。本研究では，改変型狂犬病ウイルスベクターを用いて，脊髄運動ニューロンに入力する上位神経核を網羅的に標識し，その中から vGLUT2 発現増強を惹き起こす神経回路を同定することを目標とした。

本年度は転写因子 pSTAT3 が ALS の病態形成過程でどのような発現プロファイルを示すか調べた。その結果，軸索輸送傷害を受けた運動ニューロンではグリア細胞よりも早い時期に pSTAT3 が発現誘導されていることを明らかにした（Ohgomori et al.,投稿中）。さらに pSTAT3 陽性細胞の細胞体には vGLUT2 陽性のプレシナプスが多く入力していることを定量的に明らかにした（投稿準備中）。

一方，vGLUT2 が誘導される上位ニューロンの同定を目的として改変型狂犬病ウイルスの開発と感染予備実験を行った。まず，薬液投与法の予備的検討として Evans

blue 溶液およびコレラトキシン B 溶液を前脛骨筋へ投与した。1 週間継続飼育を行った後，脊髄切片を作製し蛍光顕微鏡で観察を行ったところ両者の色素に由来する蛍光が運動ニューロンで観察された。このことから投与方法については問題ないと考えられた。次いで，RFP 遺伝子と Rabies G 遺伝子を有し，筋肉に対して高い感染性を示す 6 型 AAV を野生型成体マウス前脛骨筋に対して感染させた。2 週間飼育後に同部位に対して改変型狂犬病ウイルスを感染させた。さらに 3 日間の飼育を行った後，4％パラホルムアルデヒド＋0.05%グルタルアルデヒド溶液を用いて固定し，脊髄を摘出後クライオスタットを用いて切片を作製し，蛍光顕微鏡を用いて GFP 陽性細胞を観察した。しかしながら，GFP 陽性細胞および RFP 陽性細胞はいずれも観察できなかった。

そこで，得られたウイルスの感染能力を調べるために中枢神経局所投与実験を行った。アデノ随伴ウイルス溶液と改変型狂犬病ウイルス溶液をマウス下丘に対して圧注入し 2 週間の飼育を行った。前述と同じ方法で組織切片を調整後，蛍光顕微鏡で観察した結果，GFP 陽性細胞は多数確認されたが RFP/GFP 二重陽性細胞は観察されなかった。これは近年 Science 誌で報告された二重感染細胞の細胞死によるものである可能性が高い。今後は AAV と RABV の投与時期，投与量などを微調整する予定である。

3. 光刺激法を用いた大脳基底核神経回路機能の解析

籾山俊彦，鈴木江津子，西條琢真（東京慈恵会医科大学・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，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病症候群や舞踏運動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，線条体におけ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必要がある。本研究では，光感受性チャネルである channelrhodopsin 2 (ChR2) を GABA 性ニューロンに発現しているマウス線条体スライスを用いて，光刺激法を導入して線条体内各種ニューロン間シナプスペアーを同定することを試みて，電気生理学的解析を行なった。

B6-tetO-ChR2/ETTC KI マウス(RIKEN BRC RBRC05843）と，PDE10A2-tTA マウス（RIKEN BRC RBRC02317）を掛け合わせることによって，線条体の medium spiny neuron のみに ChR2 を発現するマウスを作製して実験に用いた。

ハロタン深麻酔の状態でマウスを断頭し，線条体を含む厚さ 300－400 ミクロンのスライスを作成し，正立顕微鏡下に線条体ニューロンを同定した。線条体のアセチルコリン性介在ニューロンからホールセル記録を行ない，光刺激によって，GABA 性抑制性シナプス電流 (IPSCs) を誘発することができた。そして IPSCs は，ムスカリン性受容体アゴニストによって抑制された。

線条体のアセチルコリン性介在ニューロンは，線条体内の medium spiny neuron から機能的シナプス入力を受け，その GABA 性抑制性シナプス伝達は，ムスカリン性受容体を介して制御されていることが示唆される。

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 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。

セピアプテリン還元酵素（SPR）は，BH4 生合成の第３段階に働く酵素である。*Spr* を欠損するマウス（*Spr*-KO マウス）は，脳内 BH4 量が野生型の約 4 分の１に低下しており部分的 BH4 欠乏状態にある。このマウスの脳内ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンは野生型の10%以下に低下しており，運動量が少なく加齢とともに前肢の震えが現れる。このマウスにおける運動障害の発症機構や，ジストニア・パーキンソニズムとの相違を明らかにする目的で，前肢二頭筋と三頭筋の筋電図，および，淡蒼球内節・外節の細胞外活動の記録を実施して，測定結果の解析を行った。

大脳皮質運動野の電気刺激により淡蒼球内節で現れる三相性の電位変化（興奮−抑制−遅い興奮）のうち，抑制が野生型に比べて *Spr*-KO マウスで弱くなっていることを見出した。また，淡蒼球内節や外節におけるニューロンの自発発火のパターンについても検討し，野生型と比べて異常な神経活動が *Spr*-KO マウスで増加していることが解った。

5. ドーパミン受容体遺伝子操作マウスを用いた運動制御機構の解析

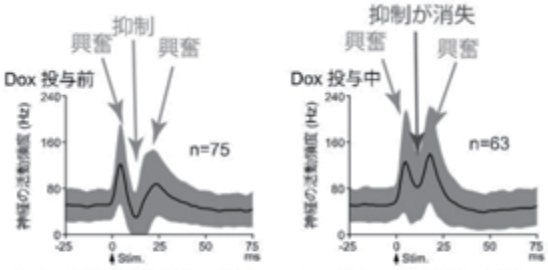
笹岡俊邦（新潟大学脳研究所 動物資源開発研究分野）
佐藤朝子（北里大学医学部）
知見聡美、南部　篤（生体システム研究部門）

目的

運動を制御する大脳基底核回路であるＤ１ドーパミン受容体（D1R）を介する直接路およびＤ２ドーパミン受容体（D2R）を介する間接路の機能を個別に理解する。D1R 又は D2R 単独欠損マウスでは，発達段階の影響を受ける為，テトラサイクリン発現制御法を用いて成熟期に欠損させる遺伝子操作マウスを開発し，運動制御における直接路・間接路の役割を解明し，パーキンソン病（PD）の運動障害の理解を深め，治療方法の開発に発展させる。

方法

私たちが開発した D1R ノックダウンマウス（D1R KD マウス）が，ドキシサイクリン（Dox）投与により D1R 発現を抑制，または D1R 発現を回復すると，それぞれ運動量低下と運動量過剰を示すことに焦点をあて， in vivo における大脳基底核神経細胞の電気生理学的性質の解析方法により，直接路ニューロンの投射先である脚内核（EPN）と，間接路ニューロンの投射先である淡蒼球外節（GPe）の活動を記録した。また，自発運動量・摂食・飲水行動の解析，ドーパミン受容体の生化学的・組織的解析を行った。



脚内核の大脳皮質刺激への応答は、Dox投与前は興奮−抑制−興奮の3相性の活動を示し（図左）、Dox投与中(D1R発現なし)は、抑制が消失（図右）。

結果

D1R 発現を Dox 投与で抑制できるマウス（D1R KD マウス）を開発し，成体期に D1R 発現を抑制すると，自発運動量が低下し，大脳基底核の出力部の EPN の抑制信号が消失したが，自発発火頻度と様式は不変であることを発見した。このことから，D1R を介する情報伝達は，大脳基底核の「直接路」を通る信号の伝達と，運動の発現に不可欠であることが明らかとなった。

考察

本研究による結果は，従来の PD の症状を説明する主

な説とは異なるもので，大脳基底核の「直接路」を通る信号の動的な伝達の減少がより本質的な変化であることを示している。

結論

D1R を介する情報伝達は，直接路の情報伝達と運動の発現に不可欠と考えられ，このことは，PD における「無動」の症状発現の理解と PD の効果的治療法開発への発展が期待される。

論文発表

Chiken S, *et al*. Dopamine D1 receptor-mediated transmission maintains information flow through the cortico-striato-entopeduncular direct pathway to release movements. ***Cereb Cortex*** 25, 4885-97, 2015

6. 大脳基底核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理学的解析

和中明生，辰巳晃子（公立大学法人 奈良県立医科大学 解剖学第二講座）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム）

我々は成熟脳内で転写因子 Olig2 を発現する細胞を解析する過程で，Olig2 陽性アストロサイト（以下 Olig2 アストロサイト）が大脳基底核回路に属する特定の神経核に集積していることを発見した。特に淡蒼球外節，視床下核，黒質網様部において Olig2 アストロサイトが密に存在することから運動の制御に Olig2 アストロサイトが関わっていることが考えられたので，マウスに運動負荷（3 週間の輪回し運動）を与えたところ運動をしていないコントロールに比してアストロサイトの形態，特に突起の複雑性が増すことを見出した。

アストロサイトの微細突起はシナプス部を被覆し，神経伝達に積極的に関わっていることが近年示唆されているので, Olig2 アストロサイトが大脳基底核回路の神経活動を制御している可能性が考えられた。

そこで次にこの Olig2 アストロサイトを人為的に活性化或いは抑制することで大脳基底核回路の神経活動を調節することが可能か否かを検討する目的で, Olig2・CreER マウスの淡蒼球外節或いは黒質網様部にアデノ随伴ウイルスベクターにチャネロドプシン或いはアーキロドプシンを組み込んだものを微量注入した。光摂動法により細胞の活動を変化させるためには上記の光感受性蛋白の発現量が一定量以上であることが必要条件となるが，我々の予備検討では共発現する EGFP 蛋白の蛍光強度から考えて光感受性蛋白が充分な発現をしていない可能性が考えられた。そこで Olig2・CreER マウスではなく, GFAP/Cre マウスに上記のウイルスベクターを注入したところ，強い EGFP 蛋白の蛍光が観察された。なぜ Olig2 プロモーターによる組換え誘導が充分に達成できないかという問題については原因が不明であるが, GFAP/Cre マウスでもアストロサイトを標的とすることは可能であるので，引き続きこの系において光感受性蛋白を淡蒼球外節及び黒質網様部に発現させ，同部位におけるアストロサイトの人為的な活動変化とそれに引き続く神経活動の変化の有無を測定する予定である。また 6 OHDA を用いた片側パーキンソン病モデルを GFAP/Cre マウスにおいて作成し，光摂動法を用いてパーキンソン病の主病態である大脳基底核間接路の過剰活動を制御する実験も行う予定である。

7. SBF-SEM 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）

有髄神経の軸索は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，前述のような髄鞘異常を示す動物として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 P15-28）。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，プルキンエ細胞の軸索腫脹部分を画像としてとらえることができた。腫脹した軸索の内部構造について画像解析中である。また，坐骨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ところ，髄鞘の最外層にオルガネラを含んだ膨化した領域が見られた。立体に構築した画像の解析を行っているが，画像解析の効率化及び，撮像データの追加が必要と考えられた。今後，抽出行程など解析を進めデータを増やすことで，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。

8. 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。我々はこれまでに培養細胞を用いて，ミトコンドリアの外膜に局在するユビキチンリガーゼ 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。さらに，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。SBF-SEM を用いて得られた連続画像を３次元再構築し，ミトコンドリアの形態や MAM の増減を比較した結果，MITOL を欠損した神経細胞体において，ミトコンドリアの体積，複雑性の減少が認められた。加えて，MAM の減少が示唆された。しかしながら，これまでの解析はミトコンドリア数を揃えて解析した結果であり，細胞当たりでミトコンドリア数や MAM の数が減少したかは明らかとされていない。本研究では同一体積におけるミトコンドリアの数や体積および MAM の数や面積に着目し，さらなる解析を進めた。

まず，細胞内の同一体積を解析するために海馬神経細胞の細胞体から伸長する近位樹状突起の同一体積における解析を野生型と MITOL を欠損した海馬神経細胞で行った。MITOL を欠損した細胞では，同一体積においてもミトコンドリアの体積の減少，複雑性の減少，MAM の減少が認められた。さらに，同一体積当たりのミトコンドリアと MAM の占める体積の割合の減少が認められた。上記より，同一体積においても MAM が減少したことが明らかとなった。つまり，ひとつひとつのミトコンドリアにおける MAM の減少だけでなく，細胞自体の MAM の減少が明らかとなった。さらに，MITOL 欠損神経細胞では異常な形態をとるミトコンドリア数の増加が確認され，MAM がミトコンドリアの形態維持に重要な役割を担うことが示唆された。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。

9. 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，謝　敏かく（福井大学医学部）

本研究課題では，これまでの利用の中で培った生理研 3View-SEM による 3 次元微細構造観察のノウハウを活かして，「マウス海馬内神経回路におけるシナプス構造の多様性」，「心筋細胞の小胞体分布」，「大脳皮質発生過程における神経幹細胞の新規細胞突起構造」，「ニワトリ層状核細胞の樹状突起上シナプス分布」，「層構造特異的な大脳皮質内アストロサイト形態」の解析など，脳の組織構築過程や成熟した脳の 3 次元的な組織構造を明らかにすることを目的とした。また，「免疫標識された組織試料の 3 次元観察への応用」や「名古屋大学に設置され，生理研 SEM と同様組織構造の 3 次元観察が可能な FIB-SEM 機 Scios との観察特性の違い」も明らかにすることを目指した。

「マウス海馬内神経回路におけるシナプス構造の多様性」の解析では，シナプス前構造脳体積とシナプス小胞の数は多くのシナプス結合種で正の相関を示すが，その相関の傾き（密度）は，シナプス結合種に固有の値を持つことを示唆する結果を得た。また同様に，シナプス前構造（体積やシナプス小胞数）とシナプス後の様々な構造情報（スパインの体積等）との間に相関が見られる組み合わせが有り，やはりシナプス結合の種類により特徴的な関係があることを示唆する結果が得られている。現在，論文投稿に向けて観察結果の数を増やしている。その他の課題は，国内の研究者による依頼に応じて試料作製と画像取得を行った課題であり，各試料を調整して SEM 観察を行った後，共同研究者らに提供した。現在，解析が行われている。

「免疫標識された組織試料の 3 次元観察への応用」の実験では，免疫金標識された組織試料を通常の TEM 観察用に処理したものについて観察を行ったが，TEM 観察用の試料処理では細胞膜のコントラストがつかず，像の解釈が困難であることを確認した。今後はプロトコールの改善を行って，免疫標識の微細局在を簡便に 3 次元解析できる実験系を確立したい。「FIB-SEM 機 Scios との観察特性の違い」の検討では，生理研 SEM はミトコンドリアなどの比較的大きなオルガネラの構造と分布を広い領域で観察することに適しており，名古屋大 Scios は，高分解能で狭い範囲を観察することに適していることが分かった。今後，目的に応じた機器の使い分けが必要であると考えられた。

10. 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（自然科学研究機構生理学研究所分子神経生理研究部門）
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る。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，核表面の不整や陥入などがより明瞭であった。また，sphericity（真球度）は有意に低く，陥入による表面積の増加が高いirregularityを示したと考える。さらに，外部との交通を伴う封入体(Com+)と比較し，外部との交通を伴わない封入体(Com-)は大型で，すべて球形に近い形態であった。また，封入体内にdense coreをもった顆粒をもつものが散見されたが，何れもCom(-)のみでみられた。

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Com(-)となり，Com(+)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さらに検討し，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。

11. 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，Nguyen Huy Bang，Thai Truc Quynh
（山梨大学大学院総合研究部 解剖学講座分子組織学教室）

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。昨年度までの結果をふまえて，さらに多くの軸索とミトコンドリアを解析し，得られた結果の検証を行った。

3ヵ月齢のマウス視神経においては有髄軸索では野生型とPLP-tgにほとんど有意な変化を認めなかったが，脱髄軸索では密度（No./axon volume）と総体積の増加が認められた。5ヵ月齢ではほとんど全ての軸索が脱髄しており，これらの軸索では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著名な体積増加が認められた。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ず，マトリックスの拡大も見られなかったことから，ミトコンドリアの体積増加は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。

また網膜の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。したがって視神経における脱髄軸索のミトコンドリア形態の変化は，局所的なメカニズムに由来する可能性が示唆された。

またこうした神経組織の解析と関連し，組織からのデータ取得のスループットを高め，チャージングの防止による画質の改善を目指して，試料作製の工程の検討と導電性樹脂の開発を進めた。その結果，ウラン染色や樹脂の浸透等に係る一部の工程を短縮もしくは省略することで大きく試料作製時間を削減し，必要な人的・物的なリソースの節約を可能にするプロトコールを開発した。またKetjen blackと呼ばれる試薬を試料包埋に使用される樹脂に添加することで，樹脂の硬さを大きく変化させることなく，樹脂の抵抗を大きく減弱させ，画像のチャージを低減させて，得られるデータの解像度を向上させることに成功した。

これらの結果の一部は論文として発表し，また複数の学会においてもポスターと口頭による発表を行った。

12. 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[1]，大野伸彦[1,2]，志茂　聡[3]
（[1]山梨大学大学院 総合研究部医学域 解剖学講座分子組織学教室，
[2]自然科学研究機構 生理学研究所 多次元共同脳科学推進センター 脳科学新領域開拓研究室，
[3]健康科学大学 健康科学部 作業療法学科）

高脂肪食負荷マウス腎臓組織を用いて，２型糖尿病性早期腎障害における近位尿細管上皮細胞に対する SGLT 阻害剤（フロリジン）の薬理作用を検討した。4 週齢雄マウスに 20 週齢まで通常食もしくは高脂肪食を与え, 体重と血糖値を測定した。一部のマウスでは，固定 1 日前よりフロリジン（PLZ），コントロールに DMSO を投与した。灌流固定後，通常の 1%オスミウム固定もしくは OTO 法とウラン・鉛のブロック染色を行い，樹脂包埋した。腎臓皮質外側の糸球体を含む領域をトルイジンブルー染色（TB）の厚切り切片で観察し，６００倍率での視野で形態的異常が見られた近位尿細管数を測定した。次に，SBF-SEM による解析を行い，近位曲尿細管の連続断面画像を取得した。その結果，20 週齢では通常食群（STD）に比較して高脂肪食群（HFD）で平均体重増加と平均血糖値上昇がみられ, PLZ 投与後は HFD でのみ有意な血糖値降下を認めた。TB 切片において，STD に比べ，HFD の DMSO 投与群（HFD-DMSO）では形態異常を示す近位尿細管の数が増加し, HFD-PLZ では減少した。SBF-SEM での電子顕微鏡立体再構築像では, STD-DMSO にくらべ，HFD-DMSO の S1，S2 および S3 の領域にかけて，ミトコンドリアの断片化がみられた。HFD-PLZ では, HFD-DMSO に比べミトコンドリアの体積は増加した。S2 領域では，HFD-DMSO では巨大なオートファゴソーム（At）の出現が見られたが，HFD-PLZ では減少した。また多方面からの解析において，At の主成分分析を SBF-SEM 取得後のブロックの超薄切片による STEM-EDX 解析と HFD-DMSO 投与群での凍結切片による顕微ラマン分光解析を用いて行った。その結果，STEM-EDX 元素分析定性マッピングにより，At にリンの強い集積が見られた。顕微ラマン分光解析により，糸球体および近位尿細管 S2 領域と S3 領域のラマンスペクトラムを取得し，S2 領域と S3 領域のスペクトラムのサブトラクト解析を行った。そのラマンスペクトラムは既知のスフィンゴミエリンのラマンスペクトラムと類似しており[1]，精製スフィンゴミエリンのラマンスペクトラムともほぼ同一のピークを有していた。以上から，２型糖尿病マウスモデルで近位尿細管細胞に認められる At はスフィンゴミエリンを中心とするリン脂質の集積であり，こうした脂質代謝異常が PLZ 投与により改善される事も分かった。これらの結果より，２型糖尿病性早期腎障害における近位尿細管上皮細胞に対し，SGLT 阻害剤（フロリジン）は保護的に作用すると考えられた。

[1]Ando J et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 112(15): 4558-63. 2015

13. SBF-SEM を利用した消化管 GLP-1 分泌細胞の絶食に伴う微細構造変化の解析

渡邉敬文（信州大学農学部動物生体機構学研究室）
亀谷清和（信州大学ヒト環境科学研究支援センター機器分析部門）
大野伸彦（山梨大学大学院総合研究部医学域基礎医学系解剖分子組織学教室）

グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）は摂食抑制作用のある内分泌ホルモンであり，食餌刺激で消化管の GLP-1 分泌細胞（L 細胞）から分泌される。当研究室の先行研究により，絶食によって GLP-1 含有顆粒が小さくなること，また，空胞状の構造物が多数現れることが確認されている。膵臓の B 細胞の分泌されないホルモン含有顆粒はオートファジー機構によって分解されることが報告されている。そこで，絶食という分泌刺激のない状態で分泌されない GLP-1 含有顆粒は同様の機構で分解されて顆粒が小さくなるのではないかと考えた。本研究ではニワ

トリを 24 時間絶食させ, L 細胞の絶食に伴うオートファジー機構の解明を目的とした。

供試鶏に白色レグホン種の初生雛（雄）12 羽を用いた。6 日目に 6 羽を 24 時間絶食させ，残りを対照群とした。7 日間飼育後，回腸遠位部を摘出し 0.01%グルタールアルデヒドを含むブアン液で固定した。8 および 40 μm 厚の凍結切片を作製し金コロイド銀増感法による免疫染色により GLP-1 を可視化した。8 μm 厚凍結切片は定法に従いエポン樹脂に包埋し透過型電子顕微鏡で観察した。40 μm 厚凍結切片は en-block 染色を施した後にエポン樹脂に包埋し, SBF-SEM で 50 nm 間隔の連続撮影像を取得し, 画像解析ソフト（Fiji）を用いて GLP-1 含有顆粒の 3D 再構築を行った。

絶食群で GLP-1 含有顆粒の短径，長径と面積は有意な減少を示した。GLP-1 含有顆粒の体積に有意な差は示されなかったが，絶食群の方が顆粒の体積にばらつきが認められた。絶食群では複数の顆粒が集合しているような像が認められた。

膵臓の B 細胞では, 分泌されないホルモン含有顆粒は, オートファジー機構によって分解される過程で空胞状のリソソームが顆粒をいくつも取り込み顆粒の集合体を作ることが報告されている。本研究では，GLP-1 含有顆粒の面積の計測から絶食の影響により顆粒が小さくなることが示されたが，顆粒の集合体も認められたため，これはリソソームによる分解の結果であると推察された。以上より，ニワトリの分泌されない GLP-1 含有顆粒はオートファジー機構により分解される可能性が示唆された。今後は，リソソームの断定とオートファジー機構の詳細を明らかにしていく必要がある。

14. 連続ブロック表面 SEM によるカエル舌の茸状乳頭上皮に分布する神経の三次元構造解析

田所　治（松本歯科大学口腔解剖学第一講座）
大野伸彦，齊藤　成，Huy Bang Nguyen（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（松本歯科大学生物学講座）

カエルの舌の茸状乳頭上皮は, 円盤形を呈して口腔に広く露出しており，上皮中のいくつかの細胞が神経と接触していることから，味覚との関連が推察されている。味覚円盤上皮，あるいは味覚器ともよばれ，味の受容伝達機構の解明を目的とする生理研究の実験対象として予てより利用されている。しかし，味を受容する細胞の形態と構造は明らかにされていなかったため,カエルの円盤上皮における味細胞の同定を免疫組織化学的に試みた。面白いことに，味細胞の候補として推察されている細胞には反応がみられず，乳頭上皮中の神経線維に反応がみられた。さらに,円盤上皮の自由表面近くでは紡錘形を，円盤上皮周囲の繊毛上皮の自由表面近くでは球形を呈して終わっており，円盤上皮に分布する神経が一般体性感覚だけでなく，味の受容と伝達にも関与する可能性を示唆された[1]。H27 年度に,円盤状上皮を明瞭に観察するために導電性エポン樹脂を用いて，チャージ UP 防止とコントラストを上げるための試料作製の工夫を行い，円盤上皮の表層に終わる神経の三次元微細構造の観察を可能にした。取得した連続断面画像を解析した結果，紡錘形神経終末は円盤上皮の表層に配列する粘液細胞と粘液細胞のあいだに入り込んで紡錘形を呈して終わっており，免疫組織化学の結果と一致した。この紡錘形神経終末は，比較的明るい細胞質の内部に大小の小胞と少数のミトコンドリアを含んでいた。基底側から自由表面に向かって伸びる細長い細胞質突起は，神経終末と接し，シナプス結合でみられる Varicosity に類似する肥厚した構造が見られた為，３次元再構築を行い確認した。SBF-SEM を用いることで,円盤上皮の表層では，Ⅱ型細胞から自由表面に向かって伸びる細胞質突起と神経終末の接触が示唆されていた存在を初めて明らかにした。

H28 年度の継続課題では，円盤上皮細胞型の核周部にある細胞膜下層と①軸索に対向の有無,②Ⅱ型細胞に対する神経の遠心的制御の有無，の２点を焦点にすえ，茸状乳頭上皮に分布する神経シナプス回路を明らかにして行く予定である。

[1]Tadokoro et al., Anat Rec 2016. In press.

15. 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（産業技術総合研究所）
山森哲雄，渡我部昭哉，定金　理（理化学研究所・脳科学総合研究センター）
大石高生（京都大学霊長類研究所）
尾上浩隆，林　拓也（理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター）
小島俊男（豊橋技術科学大学）

脳損傷後の運動機能回復は社会からの要請が高く，その脳内メカニズムを理解できれば新しい機能回復技術の開発につながる。また，そのメカニズムを理解することは脳が持つ柔軟性を理解することに繋がり，基礎研究としても重要である。これまでのマカクサルを用いた研究の結果，大脳皮質第一次運動野を損傷した後の把握動作を用いた訓練が，手の巧緻動作を含めた運動機能の回復を促進することを明らかにした。さらに手の運動機能回復にともない，“運動前野腹側部”と呼ばれる脳領域において，活動の変化が生じていることが明らかになった (Murata et al., 2015)。すなわち回復の背景として，損傷を受けなかった運動前野腹側部が変化することによる“機能代償”があると考えられる。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，赤核や小脳核など，皮質下の運動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は，新に確立された経路を選択的に不活性化したときの行動変化を検証する必要がある。そのため，第一次運動野損傷後，運動訓練を行い巧緻動作の回復が見られたマカクサルに対して，運動皮質と運動出力核に逆行性レンチウイ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。ただし，大脳皮質へのウィルスベクター導入手法を確立し，導入効率を検証するために，まず第一次運動野を損傷していない健常マカクサルに対する導入を試みた。中心溝前壁と後壁を含む領域の頭骨を除去した後に電極を刺入し，皮質内微小刺激により第一次運動野に存在する運動機能地図の同定を行い，さらに神経活動記録により第一次体性感覚野の体部位局在の同定を行った。体性感覚野から運動野への皮質間経路に対する導入効率を検証するため，第一次体性感覚野の一つである Brodmann Area 2 の手領域にアデノ随伴ウィルスベクターの導入を行うとともに，第一次運動野の中心溝前壁に位置する手運動領域に逆行性レンチウィルスベクターの導入を行った。これまでの実験から，硬膜と脳実質の癒着など，導入時に生じる問題点のいくつかが明らかになった。

16. ウイルスベクターを用いた麻痺肢集中使用法の作用機序の検討

飛田秀樹，上田佳朋，石田章真，三角吉代（名古屋市立大学大学院医学研究科）
伊佐　正，小林憲太（生理学研究所）

脳血管障害（脳梗塞，脳出血）後には高率に上下肢に運動・感覚麻痺が生じる。それに対し，麻痺肢の集中的なリハビリテーションを行うことで，中枢神経系の再編を促進し，運動機能回復を増進できる可能性が示唆されている。しかし，その作用機序および機能回復との因果関係には未だ不明な点が多い。我々は内包出血モデルラットを用いた検討により，麻痺肢への集中的なリハビリテーション（強制使用）を行うことで，1) 運動機能の回復，2) 出血と同側の皮質運動野における前肢領域マップの拡大，3) 出血側運動野から同側赤核への線維連絡の増加，4) ウイルスベクター二重感染報による選択的経路遮断法（Kinoshita et al., Nature, 2012）により，同皮質赤核路が回復した運動機能において因果関係を有する事，等を見出してきた。今年度はこれを受け，論文投稿およびその後の対応，更なる研究の発展のための予備実験を行った。

まず，データをまとめて国際専門誌である Journal of Neuroscience 誌へと投稿を行った。これに際し，レビュアーから修正点を指摘され，追加の実験・解析を行った。具体的には出血による傷害の大きさを定量化するために，実験群ラットの脳サンプルに対し luxol fast blue 染色を実施し，傷害面積を計測した。また，運動皮質から赤核路への投射の増加に関し，小細胞性赤核および大細胞性赤核のいずれに当社しているかを確認するため，追加サンプルを反応させ観察を行った。

これらの追加解析及び論文の修正を繰り返した結果，2016 年 1 月 13 日付での Journal of Neuroscience 誌への掲載が決定した。それに並行しプレスリリースを行ったところ，朝日・読売等の全国紙を含む全国 48 紙において本成果の紹介が行われ，大きな反響を得た。

こういった一連の成果とは別に，同モデルを用いた更なる検討も並行して実施した。これまでに，皮質赤核路がリハビリテーションによって回復した運動機能において因果関係を有することは証明したが，リハビリテーションによる機能の再獲得期において同経路がどのように関与しているかは不明である。この疑問に対し，予備的なトライアルを数度実施し，課題の検討を行った。現在，更なる検討の実施を進めている。

本研究では，リハビリテーションの作用機序の解明において，注目すべき成果を世界に発信することが出来た。また，今後更なる続報を発すべく更なる検討を行っている。これらの取り組みは脳血管傷害後のリハビリテーション法の発展において重要な知見になるものと考える。

17. 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（自然科学研究機構・生理学研究所・生体恒常機能発達機構研究部門）

周産期・成長期の良好な母子関係は正常な脳発達に需要である。この時期における身体的・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も知られている。このため，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，体性感覚野のスパイン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の神経活動が亢進しており，グルタミン酸の過剰放出が起こっていることも示した（Toya et al., Eur. J. Neurosci., 2014）。

近年，マイクログリアが脳の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）。

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した。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，第 6 回入澤宏・彩記念ＪＰＳ優秀論文賞を受賞した。

本現象の背景にあるメカニズムを解明するため，さまざまな実験を計画したが，再現性の高いデータを得ることができなかった。そのため，本研究課題は平成 27 年度を持って一時終了とした。今後，技術的な発展を目指し，新規計画へ引き継ぐ予定である。

18. 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）

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，抑制性介在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ており，嗅球では抑制性ニューロンが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，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，嗅覚入力による嗅球ニューロンのターンオーバーの時空間的制御を報告した（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，ニューロンの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 in vivo で解析することを目的とした。

抑制性介在ニューロンの一種である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流を同時に観察する生体イメージング法を確立した。さらに，ニューロンのターンオーバーと血流の関係を解析した結果，新生ニューロンの定着は，血流の多い血管の近傍で生じることが明らかになった。現在は，本イメージング法と嗅細胞のカルシウムイメージング法を組み合わせることで，嗅覚入力依存的な嗅球糸球体活性化及び血流増加の検出法を確立中である。

ミクログリアは脳内の免疫細胞であり，生理的条件下では死細胞を貪食することで周囲の微小環境の恒常性維持に関与する。嗅覚刺激及び嗅覚遮断を施したマウス嗅球の組織学的解析により，嗅球ミクログリアによる死細胞の貪食が嗅覚入力の影響を受けることを明らかにした。

以上の結果は，血流やミクログリアが嗅球ニューロンのターンオーバーを調節する可能性を示唆している。

19. 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

松下健一郎，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）
中畑義久，和氣弘明，鍋倉淳一（生理学研究所 基盤神経科学研究領域 生体恒常性発達研究部門）

神経回路の形成は，脳の発達段階における重要なプロセスである。神経細胞で多く発現するクラスター型プロトカドヘリン（以下，cPcdh）は，マウスで 58 種類のアイソフォームを持つ細胞接着分子であり，ホモフィリックな接着活性による特異的な相互作用が知られており，神経回路形成において重要な役割を果たしていると考えられている。しかし，実際に神経細胞において cPcdh がどのような挙動を示し，神経回路形成に関与しているのかは明らかになっていない。そこで本研究では，マウスの神経細胞に cPcdh の発現ベクターを遺伝子導入し，経時的イメージングによって cPcdh 分子及び神経細胞の動態を解析した。

実験には，58 種類の cPcdh をすべてノックアウト（以下，全欠損）した C57/B6J ミュータントマウスとコントロールマウスを用いて行った。胎生 16 日目の胎児から海馬神経細胞を分散処理した後，エレクトロポレーション法によって cPcdh の 1 アイソフォームである Pcdh-γA3 を発現するベクター（C 末端に tdTomato を蛍光標識）と eGFP の発現ベクターを導入した。この処理を全欠損および Wild-Type マウスの神経細胞に対して行い，播種直前の状態で生理学研究所に輸送し，培養および観察を行なった。観察は培養後 7 日，14 日，21 日にそれぞれ行な

い, cPcdh 分子の動態を tdTomato, 神経細胞の動態を GFP の蛍光によって検出し，1 つの視野について 2 分毎に画像を取得して経時的なイメージング解析を行なった。

実験の結果として，コントロールである野生型の神経細胞では，培養後 7 日目のサンプルにおいて，神経細胞の突起の伸縮が視野内の各所で観察されたが，ある視野では軸索とフィロポディアが接触する瞬間が記録され，その後，その接触点に Pcdh-γA3 分子が輸送され，一定時間，接触点に留まり，その後接触点で神経突起同士が接着されるという結果が得られた。このことから Pcdh- γA3 分子は細胞の接点に輸送され，シナプス形成の初期における神経細胞の接着に関与することが示唆された。培養後 14 日目でも突起の伸縮は頻繁に見られ，培養後 21 日目では伸縮が終わり，ほとんど動きが見られなかった。一方，cPcdh 全欠損の神経細胞では，培養後 7 日目は野生型と同様に突起が良く動いていたが，突起同士の接触は観察出来ず, また 14 日目ですでに突起の伸縮が終了していた。今後の解析では全欠損神経細胞の 7〜14 日間におけるより詳細な観察を試みる。

20. 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（自然科学研究機構生理学研究所）

ガラニン様ペプチド（GALP）は，60 アミノ酸残基からなり，種差を越えて高いホモロジーを有することが特徴である。免疫化学組織的手法により GALP はレプチンの作用を受けるとともに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が明らかになっている。さらに我々は，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た。我々は GALP の脳室内単回投与実験から，交感神経系の活性化を介した肝臓での脂肪酸 β 酸化および，白色脂肪組織での脂肪分解が亢進することを見出している。しかし，脳内での交感神経系活性化の作用機序は解明されていない。そこで本研究では GALP と同じく視床下部に局在し，交感神経を活性化しさらに摂食抑制作用を有する αMSH に着目して実験を行った。実験方法としては，αMSH の受容体である MC4R のアンタゴニストを前投与した後に GALP を脳室内投与し，脂質代謝関連遺伝子発現を測定した。その結果，MC4R アンタゴニストを前投与によって GALP による脂肪酸 β 酸化関連遺伝子や熱産生に関与する遺伝子発現の増加は抑制された。この結果から，GALP の交感神経系活性化の機序の一つとして αMSH を介した経路の存在が明らかとなった。さらに，我々は GALP の抗肥満作用の機序を解明するために，肥満マウスに対する GALP の作用に注目し検討した。実験動物は，雄性 C57BL/6J マウスに高脂肪食（45 en % fat）を給餌させることで食事誘発性肥満（DIO）マウスを作成した後，GALP または vehicle の点鼻投与を 2 週間行った。DIO マウスへの GALP 点鼻投与によって, 体重が有意に減少した。また，血糖値も GALP 群で減少傾向がみられた。血中の中性脂肪，総コレステロール値および遊離脂肪酸値には大きな差は認められなかったが，肝臓脂質値は GALP 投与群で減少する傾向がみられた。また，肝臓組織標本の観察から，vehicle 群で見られた脂肪滴が GALP 投与によって減少したことが確認できた。肝臓での脂質代謝に関連する遺伝子発現を測定したところ，脂肪酸合成に関与する FAS および SCD1 遺伝子発現は群間で変化がなかったものの，脂肪酸 β 酸化に関与する CPT1，MCAD 遺伝子発現は GALP 群で有意に増加した。以上の結果から DIO マウスにおいても GALP の抗肥満作用の機序のひとつに肝臓での脂肪酸 β 酸化を亢進作用が関わっていることが示唆された。

21. 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・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も概日時計によって制御されている。最近では，これらの基本的生理機能だけでなく，様々な高次脳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高次脳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。

我々はこれまでに，マウスの長期記憶効率や不安様行動に日周変動がみられる事をみいだしている。また，時計分子の前脳特異的なノックアウトマウスでは，不安様行動や長期記憶効率の概日変動が失われていた。この時，不安様行動は不安が高い時刻の値で一定になっていた。我々は，概日時計からの発現調節を受ける分子 SCOP が概日時計と高次脳機能を繋ぐ鍵分子になりうると考え，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。SCOP 欠損マウスでは野生型で見られていた日周変動は見られなくなった。それだけでなく，不安様行動は時計分子ノックアウトマウスの時とは逆に不安が低い時刻の値で一定になっていた。この原因は，時計遺伝子欠損マウスでの SCOP の量に関係していることが判明し，SCOP 量依存的に不安様行動の程度が変化する事がわかった。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。

SCOP が記憶効率にも不安様行動にも関わるという事は，SCOP は他の様々な脳機能と概日時計機構とを繋ぐ鍵分子である可能性がある。SCOP 欠損マウスの繁殖が進み，行動実験ができる匹数に達したため，これらの可能性を検証するため，現在 SCOP 欠損マウスを用いて更に多様な行動解析を進行中である。

22. *PAPS 輸送体*ヘテロ欠損個体の行動様式の解析

西原祥子（創価大学・理工学部）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

硫酸化は翻訳後修飾の一種である。タンパク質のチロシン残基や糖鎖が硫酸化修飾され，広汎な組織に認められる。特に，硫酸化された糖鎖であるヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸は，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，糖鎖やタンパク質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から，*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。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たところ，幾つかの行動異常が認められた。さらに，見出された異常の原因と予測される脳部位において，各種構成細胞の検討を行った。*PAPST1* の発現は低下し，それに伴って硫酸化も低下していた。現在，詳細な硫酸化糖鎖の発現の検討，及び，各種シグナルの検討を行っている。これらの結果を統合して，硫酸化と行動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).

23. 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，AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）が仲介する。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。昨年度に続き，学習・記憶，協調運動/平衡感覚，恐怖条件付け，社会的行動，薬物反応等に関して，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，これまでに有意差の見られた各種課題に関する再現実験を進める予定である。

24. 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。

今後の展望

これまでに 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報告した。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，特に新規環境下での活動量が低下する傾向を認めた。現在，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。一方，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，並びに行動解析を計画している。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。

25. 神経成長の制御マウス群の高次脳機能調節機構の解明

五十嵐道弘 [1,2]，河嵜麻実 [1,2]，本多敦子 [1,2]，武内恒成 [1,3]
（[1] 新潟大学・医歯学系・神経生化学，[2] 同・超域学術院，[3] 愛知医科大学・医・生物学）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

（目的） 神経成長は細胞外の要因（外因）および細胞内の制御因子（内因）によって調節され，軸索再生の鍵となっている。すでに行動解析を進めたコンドロイチン硫酸(CS)合成酵素 KO は，代表的な外因である CS 量を調節するが，申請者が新たに作成した GAP-43 のリン酸化不活性化マウスは，内因として典型的な GAP-43 の機能を調節する。CS 合成調節マウスおよび GAP-43 リン酸化不活性化マウスの行動解析から，神経成長・再生のコントロールが，脳の高次機能・可塑性に関連することを証明することとした。

（結果） 27 年度はまず CSGalNAcT1KO (T1KO), CSGalNAcT2KO (T2KO)のうち，T1KO の眼優位可塑性について，解析を進めた。この眼優位可塑性は T1KO について臨界期の開始が生じないこと，またこれに GABA 入力を追加しておくことで活性化できることを明らかにした(Hou et al.; 論文投稿中）。このマウスについて，多動現象が行動との関連について存在する点は既に検討していたが，コンドロイチン硫酸の結合タンパク質 neurocan

の遺伝子異常がヒトで注意欠陥・多動性障害（ADHD）の原因の 1 つとして挙がっており，この行動特性と ADHD との関連を指摘された（第５回 ADHD 国際会議（グラスゴー；2015 年 5 月 28-31 日にて発表）ため，ヒト ADHD のモデルとしての薬理学的特性があるかどうかを検討した。まだ十分な結果は得られていないので，実験を継続することとした。このマウスでの脳層構造形成の異常が初期に認められるが，これについては神経細胞死が一定頻度で生じている可能性が得られた。なお同マウスの免疫発生異常では有意差は得られなかった（新潟大・片貝教授らとの共同研究）。

一方，T2KO については胚操作により大量に作成する予定であったが, 時間的な制限から 27 年度は胚を多数作成する段階で終了し，28 年度の継続課題で個体作成と解析を進めることに計画を変更した。

GAP-43 (S96A)ノックインマウスについては, 培養神経細胞で成長円錐機能の低下, 軸索成長の遅延が認められ, その異常は軸索の分岐頻度の増加に起因することが分かった。このマウスでは神経再生も遅延することが見いだされた（Kawasaki et al.; 論文投稿中）。GAP-43 は成熟脳ではシナプス前終末に存在することから，このマウスでも可塑性の異常が推測される。27 年度に胚操作を準備したが, これに関しても個体解析を 28 年度の継続課題で解明予定である。

（研究業績）

1. Izumikawa T, Sato B, Mikami T, Tamura J, Igarashi M, Kitagawa H (2015) GlcUAβ1-3Galβ1-3Galβ1-4Xyl (2-O-phosphate) is the preferred substrate for chondroitin N-acetylgalactosaminyltransferase-1. J Biol Chem 290, 5438-48.
2. Horii-Hayashi N, Sasagawa T, Hashimoto T, Kaneko T, Takeuchi K, Nishi M (2015) A newly identified mouse hypothalamic area having bidirectional neural connections with the lateral septum: the perifornical area of the anterior hypothalamus rich in chondroitin sulfate proteoglycans. Eur J Neurosci 42, 2322-34.
3. Takeuchi K, Kawano H, Igarashi M (2015) Mice lacking in an enzyme involved in chondroitin sulfate synthesis shows better recovery from spinal cord. J Neurochem 134: S80-S80. (Invited speaker; 25th International Society for Neurochemistry, Biennial Metting, Cairns, Autralia; August 26th) (*invited speaker*)
4. Igarashi M, Yoshioka N, Takeuchi K, Takao K, Miyakawa T (2015) Hyper-locomotor activity in mice lacking in an enzyme synthesizing chondroitin sulfate as an animal model of ADHD. 5th International Congress of ADHD, May 28th-31st, Glasgow, U.K (Scotland).

26. 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，RNG105 が自閉症スペクトラム障害 (ASD) のリスク遺伝子の候補となる可能性が示唆されたが，両者の因果関係は明らかにされていなかった。

そこで本研究では，RNG105 ヘテロ欠損が行動に与える影響を明らかにすることを目的とし，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った。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，前年度に実施済みのテストと併せて計 22 種類の行動テストを行った。

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は認められなかった。一方，mutant 群ではホームケージ内での活動期における社会的相互作用が低下した。また, 社会性新奇探索性テストにおいて, control 群は既知マウスよりも新奇マウスにより興味を示

したのに対し，mutant 群は両者に同程度のアプローチを示した。この傾向は対象が物体や空間の場合も同様であり，新奇物体と既知物体，新奇環境と馴化した環境，いずれおいても mutant 群では反応に差が認められなかった。また，通常の学習課題において，mutant 群は control 群同様の成績を示したのに対し，バーンズ迷路において正解を 180 度反転させた逆転学習の際に，正解に到達するまでの時間が増加した。

以上から，RNG105 ヘテロマウスは社会性，新奇対象への反応，状況変化への対応の低下を示すことが明らかとなった。これらは ASD 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 ASD 様行動の原因となる可能性が示唆された。これらの成果は論文として発表した (*Sci. Rep.*, 6, 20775)。今後は，RNG105 欠損が上述の表現型を示すに至る分子メカニズムの解明を目指し，mRNA 輸送と局所的翻訳制御に着目して細胞生物学的解析を試みる。

27. 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

田中康太，東阪和馬，吉岡靖雄，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。申請者らはこれまでに，授乳期に母乳を介してナノマテリアル・サブ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。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，本共同利用研究の成果については，既に，論文に纏め，投稿しており，現在リバイス中である。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。本年度は，ナノ粒子の中でも最も多くの用途で利用されているサブナノ銀粒子を対象に，マウスに経鼻曝露した場合に，脳，特に嗅球に移行するという知見に基づいて，成体時のマウスにおける嗅覚機能への影響について解析した。その結果，嗅覚機能が対照群に比べて敏感になっていることが示され，これらの結果は，サブナノ銀粒子が投与時期あるいは投与経路などに応じて脳機能に影響をおよぼすことを示唆するものである。今後は，嗅覚機能以外の各種脳機能に対するナノマテリアル・サブナノマテリアル曝露の影響について検討する予定である。

28. 電位センサーを持った機能未知タンパク質の記憶・学習に与える影響の解析

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)は電位センサードメインのみからなり，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いるが，その詳細な機能は殆ど明らかでない。近年我々の研究室における研究から，VSOP1 はミクログリアの活性酸素産生に寄与し，

またその作用が個体の加齢依存的に変化しうることが示唆された。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いる。したがって VSOP1 がこれらの疾患に寄与している可能性も考えられ，またその作用は個体の加齢依存的なものである可能性も考えられる。そこで本研究では VSOP1 の機能と精神疾患の関連性について，個体の加齢状態にも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。

その結果，若齢マウスの状態ではノックアウトマウス・野生型間で有意差の見られなかった行動実験項目について，一部では約 70 週齢の個体において有意差が認められるものが存在した。

以上の結果より，VSOP1 の神経回路機能に与える作用には個体の加齢依存性が存在する可能性が示唆され，今後はこのようなメカニズムについて，活性酸素産生以外の要因にも着目しながら研究を進めていきたいと考えている。

29. 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，細胞内局在などが変化することが報告されている。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。

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特異的にタンパクの増加が認められており，そのことから慢性疼痛の際に生じる脊髄後角での可塑的変化に関与することが示唆される。

しかしながら，本分子の機能は in vitro および in vivo の両方で明らかにされていないことから，ノックアウトマウスを作製し，網羅的行動バッテリーテストを実施することで，分子機能を明らかにすることを目指してきた。

昨年度までの成果で，恐怖記憶を評価する解析において，Pattern separation が生じ海馬歯状回で Adult neurogenesis が生じていることが考えられた。そのことから，本分子の発現およびより詳細な局在を明らかにするために，特異的な抗体の作製を行なった。我々は脊髄後角より本分子を同定したが，脳においても脊髄と同等のレベルで発現していることがわかった。これまでの実績ではシナプス伝達の重要な役者であるグルタミン酸受容体やそのアダプタータンパク質など殆どの分子は脊髄にくらべ，脳での発現が有意に多い。興味深い事に本分子は脳での発現が脊髄とほぼ同程度であった。また，タンパク量としても比較的多く存在することも示された。

網羅的行動解析では NPRP-C KO マウスで熱感受性の増大といった表現型を示していることから，今後は神経障害性疼痛モデルにおいて示される表現型，そして当該分子の局在を詳細に調べることで，広く神経伝達にどのように関与する分子であるのかを明らかにする予定である。

30. FcγRIIB 欠損マウスの記憶・学習と社会的行動異常の解析

上野浩司（川崎医療短期大学・臨床検査科）
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）

免疫グロブリン IgG の Fc 部分と結合する受容体である Fcγ 受容体には 4 つのサブタイプ（FcγRI, RIIB, RIII, RIV）があるとマウスでは報告されている。興奮性の受容体である FcγRI, RIII, RIV はミクログリアをはじめ好中球や肥満細胞上に発現し，IgG と結合すると細胞が活性化され，サイトカインの分泌や貪食を引き起こす。反対に，抑制性の機能を持つ Fc 受容体である FcγRIIB は IgG と結合すると細胞の活性化を抑制する機能を持つ。近年の研究で，発達期の脳においてニューロンの樹状突起上のシナプス剪定にミクログリアが関わっていることが分かっている。しかし，シナプス剪定における Fc 受容体の役割については未だ調べられていない。そこで我々は，FcγRIIB 遺伝子が欠損するとシナプス剪定に異常が生じ，そのマウスは発達障害様の行動異常を示すのではないかと考え，行動バッテリー解析を行った。

その結果，FcγRIIB 欠損マウスは社会的相互作用の低下，毛づくろい行動の増加，行動柔軟性の低下などの自閉症様の行動を示した。また，FcγRIIB 欠損マウスの中枢神経系においてミクログリアの形態的な異常は見られなかったが，前頭前野，体性感覚野では野生型マウスと比較してミクログリア数の増加が確認された。これらの結果は，自閉症の特徴を指示するものであり，脳における FcγRIIB の欠損がミクログリアの機能異常を来し，自閉症様行動異常を引き起こしていることを示唆している。

今後はこの実験結果を踏まえ，FcγRIIB 欠損マウスの幼少期に行動実験を行う。また，FcγRIIB 欠損マウスのミクログリアにおけるシナプス剪定に異常があることを形態学的に明らかにする予定である。

31. 中枢神経系における小胞体品質管理の役割の解明

西頭英起（宮崎大学医学部機能生化学）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

本研究では，中枢神経系における小胞体品質管理の生理的役割を明らかにすることを目的とした。これまでに我々は，筋萎縮性側索硬化症（ALS）の病態分子メカニズムとして，小胞体からの不良タンパク質分解に関与する小胞体膜タンパク質 Derlin-1 が変異型 SOD 1 に特異的に結合することで惹起される小胞体ストレスの関与を明らかにしてきた。そこで，Derlin-1 を中枢神経特異的に欠損させた Derlin-1 コンディショナルノックアウト（cKO）マウスを作製し，詳細に解析することで小胞体品質管理機構の生理的な役割とともに，ALS の病態分子メカニズムの詳細解明に繋げることを目指した。

Derlin-1 cKO マウスは「9 週齢頃まで野生型と顕著な差がない」「少なくとも 60 週齢まで生存可能」「雄雌とも交配可能で，雌は通常数の出産をするが育児放棄する（仔の理由によらない）」「成熟以降は体の大きさが野生型より小さい」「テイルサスペンジョンテストで，雄雌とも後肢の踏ん張り形態が野生型と異なる」等の表現型が観察されていた。そこで，さらに詳細に小胞体品質管理機構の破綻と行動異常との関連を調べるため，Derlin-1 cKO マウスを用いて網羅的行動テストバッテリーを行った。

その結果，Derlin-1 cKO マウスでは幾つかの行動異常が観察された。なかでも運動機能を評価できる Rotarod テストや Beam テストの結果より，本マウスでは運動機能が有意に低下していることを示唆する結果が得られた。一方で，多くの精神疾患との関連が知られる不安様行動を調べる Light/dark transition テストや Elevated plus maze テスト，Open field テストなどでは顕著な差は観察されなかった。

今後は，これらの行動異常が小胞体品質の破綻に依存しているかを調べ，中枢神経系での小胞体品質管理機構の役割をより詳細に明らかにしていきたい。

32. 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，松金良祐，重松智博，永井直杜（九州大学大学院薬学研究院）

末梢循環障害や慢性心不全は予後不良の病態であり，その画期的な予防・治療法の開発が求められている。本研究では，筋細胞（心筋・平滑筋・骨格筋）の増殖・分化を制御する膜タンパク質（TRPC3/6 チャネル）に着目し，これを標的とした新たな創薬基盤技術または診断評価技術を構築することを目的とした。心循環シグナル研究部門（西田教授）との共同研究により，TRPC3/6 チャネルを安定発現させた HeLa 細胞株を用いて，東大創薬機構がもつ既存薬ライブラリー（2,200 種類）の中から TRPC3/6 チャネルを特異的に抑制・または活性化する化合物を 7 種類同定した。平滑筋細胞の筋分化を指標とする 2 次スクリーニングを実施した結果，このうち 2 種類の化合物だけが筋分化促進作用を持つことがわかった。7 種類の化合物をそれぞれ浸透圧ポンプに含めて腹腔内投与したマウスの大腿動脈を結紮し，下肢虚血後の末梢循環障害を改善させるかどうか個体レベルで検証した。

平滑筋細胞の筋分化促進作用を示した 2 種類の化合物は 100 μg/kg/day という低用量で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。2 種類の化合物（T36IA, T36IB）のうち，T36IA は TRPC3/6 チャネル活性阻害と同じ濃度領域において，Ca^{2+}イノノフォア処置によって誘発される store-operated Ca^{2+} (SOC) entry も抑制することがわかった。一方，T36IB では SOC 抑制作用がほとんど観察されなかった。これら 2 つの化合物を下肢虚血 1 週間後から浸透圧ポンプで腹腔内から持続的に投与したところ，T36IA では末梢循環障害の改善効果が得られず，T36IB でのみ有意な改善効果が得られた。以上の結果から，個体レベルにおける TRPC3/6 チャネル阻害による下肢虚血後の末梢循環改善には血管平滑筋細胞の TRPC6 チャネルの抑制が重要である一方で，SOC チャネル活性の抑制が末梢血流回復に対して負に働く可能性が示された。さらに，T36IB にビオチン化標識を付加した化合物を複数作成し，T36IB が確かに TRPC3/6 チャネルを標的とするかどうかプルダウンアッセイを行った結果，確かに T36IB が TRPC3/6 タンパク質と複合体を形成することが明らかとなった。本研究により，TRPC3/6 チャネルがマウスレベルでの末梢循環障害に対する新たな治療標的となることが明らかとなった。

33. 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（自然科学研究機構生理学研究所）

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 27 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，昨年度よりサンプルサイズを増やして測定し，比較した。その結果，低温種である *A. allogus* の活性化温度閾値は 33.6，高温種である *A. homolechis, A. sagrei* は 36.4, 36.1℃で有意な違いが観察された。活性化温度閾値の違いは，行動的に高温忌避行動を開始する温度と関連していた。

34．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（自然科学研究機構生理学研究所）

【緒言】

細胞膜の構造で，飽和リン脂質とコレステロールを豊富に含む「脂質ラフト」が注目されている。このラフトには細胞膜受容体が多く存在し，細胞内信号伝達に重要な役割を担っていると考えられている。T 細胞においては有糸分裂を促す ConA によって，ラフトの細胞内部への集積が観察された。ラフト集積とアクチンや微小管との関連も示唆され，ラフトの安定性とアクチンの安定性には温度依存性も見られた（昨年度報告）。細胞膜上には温度を感知する TRP チャネルが存在することが知られている。Capsaicin は TRP チャネルである TRPV1 を活性化し，温感を引き起こす。そこで本研究では，T 細胞を例に, 温度や Capsaicin が成熟化シグナルにどのような影響を与えるかを調べた。

【方法】

T 細胞株 Jurkat を，10%FBS を含む RPMI1640 培地を用いて，37℃，5%CO_2 の条件下で培養した。成熟シグナルとしてレクチンタンパク質 ConcanavalinA（ConA），温感剤として Capsaicin を用いた。ラフト標識には Cholera Toxin Subunit B，微小管標識には Oregon Green 488，アクチン染色には Rhodamine Phalloidin を用い, 温度調節の下, 共焦点レーザー走査顕微鏡にて観察した。

【結果・考察】

ラフトの安定性は低温で高く，また，アクチンの安定性（重合度）は高温で高かった。アクチンは，27℃以上ではラフト集積に関与し，23℃では関与しなかった。つまりラフト集積には，二つのメカニズムを考えられる。一つは低温でのラフト安定性に依存したメカニズム，二つ目はアクチン安定性に依存したメカニズムである。Capsaicin を添加した場合，ConA の添加なしでも 30℃以上の温度でアクチンに依存したラフトの集積が認められた。これは Capsaicin がアクチンの重合を促進し，ラフトの集積を引き起こしたと考えられた。さらに，ConA と Capsaicin を同時に添加すると，23℃でもラフト集積にアクチンが関与することが示唆された。

以上より，Capsaicin による温感には，膜の流動性と，それに伴うアクチンの重合状態が関与している可能性が示唆された。

現在は, 冷感剤メントールを対象に, 同様の実験を行っている。

35．精神および物理的要因のストレスによる疼痛

奥田裕子 [1]，野口篤子 [2]，小林　果 [3]，原田浩二 [3]，塩井大智 [3]，加畑理咲子 [3]，近藤大喜 [2]
土門友紀 [4]，窪田一史 [4]，北野　裕 [4]，人見敏明 [5]，高山靖規 [6]，富永真琴 [6]，大野耕策 [7]
斉藤義朗 [8]，浅野　健 [9]，Shohab Youssefian[10]，高橋　勉 [2]，小泉昭夫 [3]
([1] 福岡大学医学部薬理学講座，[2] 秋田大学大学院医学研究科小児科学講座，
[3] 京都大学大学院医学研究科環境衛生学分野，[4] 第一三共株式会社，
[5] 聖マリアンナ医科大学 予防医学講座，[6] 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門，
[7] 山陰労災病院，[8] 鳥取大学医学部 脳神経小児科講座，[9] 日本医科大学千葉北総病院 小児科，
[10] 京都大学大学院医学研究科分子バイオサイエンス分野)

１．背景

我々の共同研究グループは，2012 年から 1) 乳幼児期に痛み発作がおこる（急に泣く・不機嫌になる，言葉が話せるようになると「痛い」と訴える），2) 手足の関節に発作的な痛みが繰り返し起こる，3) 青年期に軽快する，4) 寒冷や悪天候で痛みが誘発・悪化する，5）親族にも

同じ症状を認める，という特徴的な形質が共通してみられる遺伝性疼痛家系に注目して来た。本研究では，家系を用いた原因遺伝子の探索，動物モデルの作成，動物行動実験，電気生理学的検討を行った。

２．対象家系と遺伝解析

日本人家系を対象とし，全国で過去の論文の検索および秋田県内での開業医を通じた問い合わせを行った。その結果 6 家系，77 名の有症者，67 名の症状なし，合計 144 名の参加を得た。遺伝子の同定は，3 家系の連鎖解析と exome を行った。その結果，3p22 に Lod Score 4.32 の連鎖を認め，この領域に一致し SCN11A の R222S/H の変異を認めた。

３．ゲノム編集による動物モデル作成と形質

ヒトに相同な変異（R222S）をゲノム編集でマウスに導入し，疼痛行動解析を行った。その結果，機械刺激，温刺激，冷刺激に対して正常マウスより過敏であることが判明した。

４．電気生理学的検討

R222S/H の電気生理学的特性を知る目的で，ND7/23 マウス・ラットのハイブリドーマ細胞にヒト型 R222S, R222H, 対照として野生型(WT) SCN11 ヒト遺伝子を導入した。Voltage clamp を行ったが，Activation の電位依存性は認められなかった。また，ゲノム編集を行ったマウスから Dorsal Route Ganglion 細胞 (DRG)を単離し，Current clamp を行ったところ WT に比し Input impedance が有意に大きく，発火頻度は有意に高いことが判明した。以上から，R222S では，同一刺激レベルでも DRG は過剰な反応をすることが明らかになった。

５．考察

本研究により，特徴的な乳幼児期の痛み発作の有する家系において SCN11A　R222S/H が原因であると結論された。現在まで，6 家系で認められる共通した症状を有する病態が疾患として確立されておらず，「小児四肢疼痛発作症」と命名した。今後さらに臨床研究により潜在患者の発掘により頻度・予後・治療開発を行う予定である。

36. 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，Kim Minji，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）

高いエネルギー消費能を有する褐色脂肪組織の機能調節機構の解明は，肥満および肥満に伴う代謝異常症の改善に繋がる可能性があり，重要である。褐色脂肪細胞に特徴的な高い熱産生能は，ミトコンドリア内膜上に特異的に存在するプロトンチャネルである脱共役タンパク質１（UCP1）の機能に依存する。様々な TRP チャネルの活性化には，脂肪組織における UCP1 発現を増加させるものが存在し，肥満症に対する新たな予防・治療の標的として，TRP チャネルの機能が注目されている。本研究は，TRP チャネル活性化と褐色脂肪細胞機能の関連性について明らかにすることを目的として行った。

昨年度までの共同研究において，魚油の摂取が TRPV1 の機能を介して，交感神経の活性化を惹起し，脂肪細胞の UCP1 発現を亢進させることを明らかにした。そこで，今年度は魚油中の機能性脂肪酸であるエイコサペンタエン酸（EPA）に着目し，魚油中の UCP1 発現亢進因子として機能しうるかどうか検討を行った。

EPA エチルエステル（EPA-Et）の経口投与が脂肪組織中の UCP1 発現に与える影響について検討したところ，EPA-Et 投与後数時間で肩甲骨間褐色脂肪組織および鼠蹊部白色脂肪組織中の UCP1 発現量の増加が認められた。EPA-Et 投与後 4 時間の酸素消費量を測定したところ，有意な増加が認められ，EPA-Et 投与は UCP1 発現亢進を介したエネルギー消費の亢進を惹起することが示唆された。EPA-Et 投与による UCP1 の発現亢進は TRPV1 欠損マウスでは観察されず，TRPV1 機能を介したものであることが明らかとなった。また，β-アドレナリン受容体アンタゴニスト存在下においても EPA-Et 投与による UCP1 の発現亢進作用が消失したことから，EPA-Et 摂取は魚油摂取と同様に交感神経活動亢進作用を介して，UCP1 発現量を増加させるものと推察された。以上の結果より，EPA は魚油の UCP1 発現亢進作用の少なくとも一部を担っているものと考えられた。

現在，EPA-Et 投与による UCP1 発現亢進機構について

更に詳細な検討を行うとともに，これまでの共同研究において見出した TRPV1 活性化作用を有する乳酸菌によってリノール酸から代謝生成される脂肪酸，KetoA (10-keto-12c-18:1)の TRPV1 活性化を介した生理機能についても検討を行っている。

37. 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 imaging，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。

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。その TRP チャネル発現 HEK 細胞株にて高 CO_2 負荷による Ca 応答が検出された。今後，延髄における TRP チャネルの分布を観察する予定である。

38. 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－ラット間での小脳形態の差異をモデル解析系し，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，②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。以前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。

②マウス-ラットキメラ動物の作製と解析：これまでに全身における寄与率を指標としてラット ES/iPS 細胞株を選別した。本年度は，これらラット ES/iPS 細胞株を用いてキメラ動物を作製し，脳内各細胞種への分化能を調べた。用いたラット ES/iPS 細胞株には緑色蛍光マーカー（CAG プロモーター及び緑色蛍光タンパク質 GFP 遺伝子）を導入している。そこで，作製したキメラ動物より脳切片を作製し，GFP 蛍光を指標にラット ES/iPS 細胞由来の細胞種を調べた。その結果，キメラ率は個体毎に異

なっていたものの，GFP 蛍光の強い細胞は大部分が血管やアストロサイトであった。一方，ごく一部の神経細胞が GFP 蛍光を発していたが，その蛍光は弱かった。以上より，①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，②神経細胞への分化効率の良い ES/iPS 細胞株，の必要性が判明した。また，ラット ES/iPS 細胞由来細胞における CAG プロモーター活性は細胞種ごとに異なる可能性が示唆された。

39. 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，多数のホルモンを合成する主要な内分泌組織であるが，それらのホルモンを合成する細胞は時空間的に発現する多数の転写因子や増殖因子の働きによって，幹・前駆細胞の増殖と分化が進行する事で出現する。本研究課題は，それらの幹・前駆細胞が，どの様に変化し，どの様な細胞になるのかを突き止め，下垂体の形成機構を明らかにする事を目的としている。

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と，生後になって実質層に点在する様に形成され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のために，幹・前駆細胞に特徴的な因子として知られている PROP1，PRRX1，PRRX2，S100β を指標とした細胞系譜を解析するために，組換え体ラットを用いた実験を計画した。

本年度は，昨年度に得られた *S100β*-CreER を持つオスラットの系統維持と繁殖を行うとともに，CreER 依存的な Venus 発現細胞の観察を行った。その発現は弱いながらも一部で確認できたが，目的の cell fate tracing の可否の判断をすべく観察実験を継続している。また，*PRRX1*-CreER についても，作製実験を 4 度繰り返してようやく 1 匹の組換え体ラットが得られた。これを元に cell fate tracing に供する系統作製を行いつつ，並行して発現細胞の観察実験を進めた。その結果，発現が確認されたが，使用した CAG プロモーター活性の細胞・組織特異性の点で検討すべきこと問題が生じている。

次年度は，①昨年に死産が多く，作製ができなかった組換え体ラットについて，引き続き明治大学で作製した BAC クローンを用いて，動物作製実験を継続する。②昨年度に作製した，*S100β*-CreER と *PRRX1*-CreER の 2 種のラットについて，系統的に繁殖を行い，cell fate tracing 解析へと進め，当初の目標に迫りたい。

40. 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，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，松田二子（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製し，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。

ラット *Kiss1* 遺伝子座に Cre リコンビナーゼとエストロジェン受容体の融合蛋白質を導入した *Kiss1*-CreERT2 ラット 2 系統の表現型を Cre リコンビナーゼ誘導性に緑色蛍光蛋白 Venus を発現する遺伝子改変ラットを用いて検討したが，*Kiss1*-CreERT2 ラットの Cre リコンビナーゼ発現レベルが低く，タモキシフェン投与後においても，キスペプチンニューロンに Venus の発現は見られなかった。現在，新たに複数系統の *Kiss1*-CreERT2 ラットをえるため実験を継続している。

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 Cre リコンビナーゼの導入を試みた。その結果，Cre リコンビナーゼ配列の導入に成功したものの，組換え細胞を選抜するためのネオマイシン耐性遺伝子配列の挿入がうまく行かず，現在，TALEN による Cre リコンビナーゼの導入に再挑戦している。

41. 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。また，リークによる *Bre1a* 発現がみられた点が問題であった。そこで本年度は，① *Bre1a* の過剰発現/機能喪失 ES 細胞を新たに樹立し，*Bre1a* の機能解析，② *Bre1a* コンディッショナルノックアウトマウスを作製，③ 神経幹細胞特異的な *Bre1a* 過剰発現トランスジェニックマウスを作製，の３つの研究計画を進めた。①については，すでに ES 細胞を樹立して機能解析を行っている。②は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。今後，組換えのおきた ES 細胞からキメラマウスを作製する予定である。③に関して，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）の作製を行い，その１ラインについて解析中である。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ているので，今後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。

42. 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，平林敬浩，平山晃斉（大阪大学大学院生命機能研究科）
平林真澄，三宝　誠（生理学研究所）

多様化膜分子群であるクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）は分子種特異的な接着活性を有することや個々の神経細胞で差次的発現をすることなどから，神経回路形成における細胞選別に機能していることが示唆されている。これまでに Pcdhγ 遺伝子欠損マウスを作製，解析したところ生後まもなく呼吸不全により死亡した。そこで本研究では CRSPR/Cas9 系を用い，Pcdhγ 遺伝子のうち，どの遺伝子が個体の生死に関与しているかを明らかにすることを計画し，実験を行った。

マウスでは 22 種類の Pcdhγ 遺伝子が存在し，遺伝子ごとに異なる多様化した可変領域エクソンと 3 つの共通領域エクソンがスプライシングして発現している。その内，３つの γC3, γC4, γC5 の可変領域エクソンが生後のマウス死亡の原因となっていることがあきらかとなっている。その内，γC3, γC4 が胎生期の脳神経系で高い発現をしていることから，これらの可変領域エクソンを標的とした sgRNA (Single guide RNA)を in vitro で合成し，Cas9 nuclease mRNA と共に野生型マウス受精卵にインジェクションして，γC3, γC4 の遺伝子欠損マウスの作製を行った。その結果，γC3, γC4 それぞれに塩基欠失が起こったマウス，γC3,と γC4 両方に塩基欠失が起こったマウスを得ることに成功した。その結果，γC4 欠損マウスにおいて生後におけるマウス死亡が認められ，γC4 が生後のマウスの生存に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

さらに，この γC4 可変領域エクソンに塩基欠失が入った Pcdhγ 遺伝子クラスターの第一定常領域エクソンに，復帰突然変異を入れることを CRSPR/Cas9 系を用いて行っている。

43. 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）

馬ピロプラズマ症を引き起こす *Babesia caballi* と *Theileria equi* はマダニによって馬に媒介され，その赤血球に寄生・増殖することにより，発熱，貧血，赤色素尿，黄疸などの臨床症状を示す。*T. equi* 感染赤血球では太い１本の管状構造および *B. caballi* 感染赤血球では細い多数の管状構造が形成される。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を解明するため，*B. caballi* と *T. equi* の高い赤血球寄生率を得るための培養条件の検討および得られた高い寄生率のサンプルを用いて電子顕微鏡による観察を行った。

最初に，原虫の高い赤血球寄生率を得るために，培養プレートのサイズ，培養プレートのウエルに加える赤血球と培養液の量，培養液の交換頻度をそれぞれ，標準の 24-well プレートから 6-well プレート，100 µl/1ml/well から 100 µl/2ml /well，24 時間から 12 時間に変更した。その結果，10%以下の赤血球寄生率が，これらの培養条件の改良により，*B. caballi* では 30-40%，*T. equi* では 20-30%となり，従来より数倍高い赤血球寄生率のサンプルが得られた（図 1-1）。

また，寄生率約 30%の *T. equi* 感染赤血球を 2.5%グルタールアルデヒド, 2%パラフォルムアルデヒドにより固定し, 透過型電子顕微鏡による観察を行った。その結果，太い１本の管状構造は，最初に赤血球膜が陥入し，その後徐々に虫体に引きずられて虫体内部に侵入して行くと推定される像が観察された（図 1-2）。しかしながら，*B. caballi* の増殖過程に伴う細い管状構造の形成過程は

明らかではなかった。

そこで，*B. caballi* をパーコール比重転身法を用いて遊離虫体を分離し（図 2-1），後赤血球に添加し，経時的に細い管状構造の形成を検討することを計画した。しかし，分離されたメロゾイトは赤血球と共に培養後，赤血球への侵入と増殖が認められたが，パラジテテミアの上昇に２～３日を要した（図 2-2）。これは，分離時のメロゾイトの生存率が低いためと推定された。

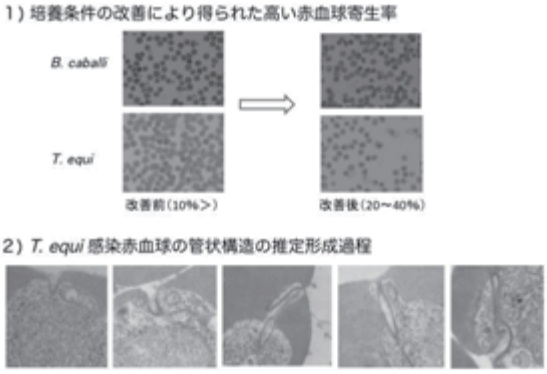


図１。高い赤血球寄生率 サンプルを用いた電顕観察

以上本研究により，*T,equi* に認められる管状構造の形成過程を示唆するデータが得られた。しかし，*B. caballi* の管状構造の形成過程の解明には，生存率の高い遊離虫体（フリーメロゾイト）の分離法の改良等により，今後管状構造の起源や機能について更に検討することが必要である。

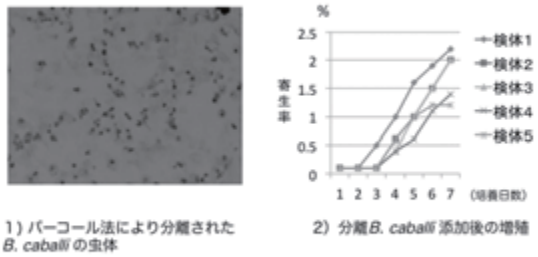


図２。遊離虫体分離の赤血球への侵入・増殖

44．酵母接合子の減数分裂から胞子形成に至る過程のオルガネラ動態の超微細構造の解析

中野賢太郎（筑波大学生命環境系）
大隅正子（認定 NPO 法人綜合画像研究支援，日本女子大学）
中村太郎（大阪市立大学理学研究科生物地球系）
高木智子（日本女子大学理学部，日本女子大学電子顕微鏡施設）
岡田　仁（認定 NPO 法人綜合画像研究支援）

真菌は胞子をつくり，環境ストレスに耐え，その分布を拡張する。この過程は学術的に興味深く，さらに植物防疫や真菌症の治療の観点から理解が求められる。本研究では，遺伝子機能がよく解析された分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* の胞子形成時の細胞内微細構造を 4D 計測した。分裂酵母は窒素源枯渇に伴い接合し，減数分裂を経て４つの胞子核が１つずつ胞子膜に取り囲まれる。最近，我々が発見した *npg1* 欠損株は，胞子膜の形成に支障が生じ，核を適切に包み込めない場合が多い。さらに，正常に形成されたようにみえる *npg1* 欠損株の胞子でも，発芽率は著しく低い。そのため，この欠損株は，胞子内にミトコンドリア等を取込む効率が低い可能性が疑われた。

そこで，胞子形成を誘導した野生型と *npg1* 欠損株について，グルタルアルデヒド／過マンガン酸カリウムによる化学固定で観察用試料を作成した。試料は，生理研の SBF-SEM（主に ΣIGMA/VP）を利用し，基本的に加速電圧 1.1 kV で，Z 軸方向に 70 nm の間隔で画像取得した。円筒型の分裂酵母が接合した「へ」の字型の接合子は，試料ブロック中でランダムな方向を向いていた。その中から，接合子全体の断層像が明瞭に揃っていたものを選び出した。今回は，胞子形成が完了した細胞について，TrakEM2 ソフトウエアを用いて，胞子体，細胞核，ミトコンドリアを抽出し，それぞれの容積を計測した（下表）。その結果，*npg1* 欠損株では野生型と比べ，有意に胞子あたりのミトコンドリアの数や体積が小さいことが示され

た。一方，胞子における核の割合は，*npg1* 欠損株で大きいことが分かった。*npg1* 欠損株では，胞子膜が核を含んだ細胞質を効率よく包み込めないことを反映した結果かもしれない。なお，ミトコンドリアが胞子内に積極的に取込まれるかについては，母細胞体に取り残されたミトコンドリアと，胞子内に取込まれたものの数を比較することで検討可能であろう。

なお本実験では，計測に耐えうる試料数が多くなかったのが反省点である。これについては，加圧凍結固定した試料を作製することで改善できると思われる。加圧凍結により細胞の方向性を揃え，ブロック包埋した試料について，細胞の短軸方向に断層像を得ることで，効率よく接合子全体の画像取得が可能になると期待される。

菌株	解析した胞子数（胞子嚢数）	胞子１つあたりのミトコンドリア数	胞子のミトコンドリアと細胞質の体積比(%)	胞子の核と細胞質の体積比(%)
野生型	12 (3)	18.2 ± 4.8	8.4 ± 2.5	10.8 ± 1.3
Δnpg1	10 (5)	10.0 ± 3.9	6.3 ± 1.2	20.1 ± 4.1

45. SBF-SEM 3 次元立体再構築法を用いた細胞接着関連分子による神経シナプス形成機構の形態構造レベルでの解析

溝口　明，藤原武志，王　淑杰，垣内愛加
（三重大学大学院医学系研究科神経再生医学・細胞情報学講座）
崔　煌植（三重大学医学部）

概要

海馬 CA3 野で苔状線維終末と錐体細胞の樹状突起が形成する巨大シナプスのプンクタアドヘレンシアジャンクション（PAJ）は，上皮細胞の AJ と同様に，ネクチン，アファディン，カドヘリンが濃縮している。アファディンを欠損したマウスの海馬では PAJ を構成分子，シナプス終末で機能分子，シナプス後肥厚部(postsynaptic density: PSD)を構成分子の集積が低下していた。さらに，走査型電子顕微鏡像の立体再構築による PAJ の形成が著しく低下し，シナプスの形成も不全であった。アファディンはシナプスの形成と機能を制御する重要な分子であることがわかった。

背景

シナプスの形成や機能の分子機構の解明は，脳の高次機能を理解し，精神・神経疾患の病態を解明する上で重要である。海馬 CA3 野で苔状線維終末と錐体細胞の樹状突起が形成するシナプスの PAJ は上皮細胞の AJ に構造と機能が類似しており，前シナプス側にネクチン-１が，両側にアファディンが局在している。ネクチン-１のノックアウトマウスでは，この PAJ でのアファディンやカドヘリンの集積が減少し，この装置が正常に形成されない。また，ネクチン-1 は Zlotogora-Ogur 症候群の原因遺伝子である。このように，ネクチンとアファディンがシナプスの形成と機能制御に関与していると考えられ，シナプス形成に果たすこれらの分子の機能と作用機構を解明する。

内容

大脳皮質と海馬のアファディンを特異的に欠損させたマウスの海馬 CA3 野の苔状線維シナプスでは，PAJ の構成分子の集積はほぼ消失し，シナプス前終末のアクティブゾーン（active zone: AZ）と PSD の構成分子の集積が低下していた。この表現型を走査電子顕微鏡で得られる連続断面画像の三次元再構築法（Serial block-face scanning electron microscopy）によってアファディンを欠損させた苔状線維シナプスでは（図１），シナプス前部（赤）によるシナプス後部の包み込みが低下し，PAJ（黄）の数が減少し，PSD（緑）は断片化して小型化していた。また，AZ の前シナプス膜（図２A，緑）から 50 nm 内に存在する放出可能プールのシナプス小胞（synaptic vesicle: SV, 黄色）の数も約半分に減少していた（図２B）。これらの所見のまとめを図２C にシェーマで示す。

（現在，Journal of Comparative Neurology に revision 中）

図１　アファディン欠損苔状線維シナプスの電子顕微鏡像の３次元立体再構築

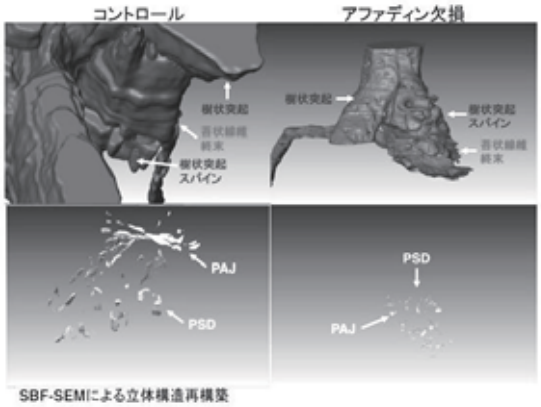
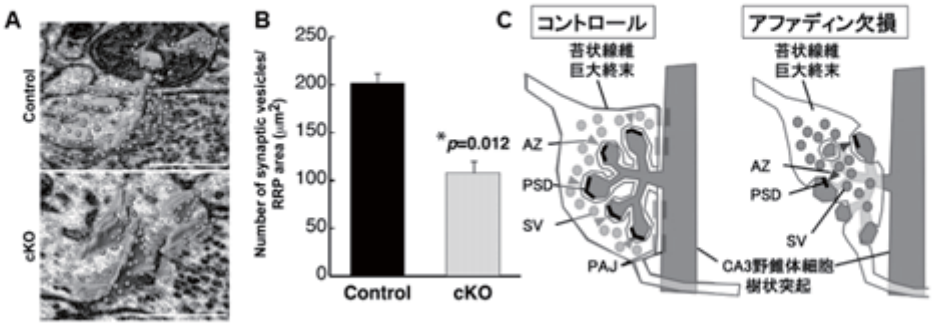


図２　A-B：アファディン欠損苔状線維シナプスにおける放出可能プールのシナプス小胞の減少（SBF-SEMによる解析）C：アファディン欠損海馬苔状線維の巨大シナプスの形態異常



46. 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，坂本浩隆（岡山大学 大学院自然科学研究科・理学部附属臨海実験所）

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，透過型電子顕微鏡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た(Satoh *et al*., *Neuroscience Letters*, 2015; Satoh *et al*., *Data in Brief*, 2015)。

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，二次元的であり，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。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。

今年度は主に連続ブロック表面走査型電子顕微鏡で観察した痒み特異的伝達分子 GRP を標識した試料の三次元再構築を実施した。GRP で標識される神経終末はいくつもの膨らみが連続する数珠状構造を示し，膨らみの部分に GRP 免疫陽性およびミトコンドリアの集積がみられた。また，痒み伝達神経終末に対するポストシナプスの構成要素の解析を行い，樹状突起・細胞体・有芯性小胞を含む神経終末・グリア細胞などの多数の構成要素によるシナプスの被覆がみられた。従来の電子顕微鏡法による脊髄後角神経ネットワーク解析から得られる情報は二次元的であったため，今回の三次元構造解析の結果から，多数の構成要素によるシナプス構造が見出された。このうち，想定していたよりもグリア細胞による痒み伝達シナプスの被覆の割合が多かったため，このグリア細胞の由来を同定するために，アストロサイト・ミクログリアのマーカーを用いて，新たな構造解析を実施している。本研究の解析の問題点は，三次元電子顕微鏡観察後の画像のセグメンテーションであり，数百から数千枚単位のセグメンテーションをマニュアルで行うため，予想を大きく上回る解析時間が必要となっていることである。

これらの成果の一部は，The 8th World Congress on Itch, 第 121 回日本解剖学会学術集会, 第 42 回日本神経内分泌学会・第 23 回日本行動神経内分泌学会合同学術集会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。

47. 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（生理学研究所）

［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。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。それをもとに，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錐状感覚子（これまで鐘状感覚子と呼んでいたが錐状感覚子に呼称変更）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，新たに発見された瘤状構造体に注目して詳細な形状と分布を PC 解析する。

［結果］これまで内部微細構造の全体像が不明であった錐状感覚子内部の構造を連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて調べ，得られた連続画像をもとに錐状感覚子内の受容神経群の 3D モデルを完成した。立体構築した受容神経の感覚突起上には 1〜7 個の瘤が見られ，全瘤数の約 7 割が瘤の部分で 1〜11 個の周辺感覚突起を接着し, 約 1000 か所で受容神経どうしが相互連絡している可能性が示唆された。予備的に，ワーカーの触角に昆虫ギャップ結合の構成タンパク質（イネキシン）が発現しているかどうかをウェスタンブロットと免疫組織化学染色法で調べたところ，触角組織内に発現が見られた。また，匂い分子を取り込む嗅孔が多数みられる感覚子先端部分には意外なことに，感覚突起が達していないことが明らかとなった。

［考察と展開］当該感覚子内の 100 個以上の嗅神経に由来する感覚突起は途中分岐せず，間歇的に瘤状のサブセルラー構造を作って束となり，感覚子先端手前まで伸びて

いた。感覚突起の膜どうしが近接している近接部位で電気的なカップリングが起きていることが実証されれば，当該感覚子の仲間識別センサとしての機能性を効果的に説明できるので，現在，数理モデルを作って神経束の並列等価回路の方程式を解くとともに，イネキシン抗体を使った電気カップリングの検証実験を準備している。抗体を使った受容体分子の局在証明を行うことも可能なので，これに用いるいくつかの注目すべき受容体分子の抗体も作製し今後の展開に備えている。

48. 原生生物ハリタヨウチュウを用いた新規微小管調節機構の解明

安藤元紀（岡山大学大学院教育学研究科）
井上理佐（岡山大学大学院環境生命科学研究科）
村田和義，ソンチホン（生理学研究所）

原生生物ハリタイヨウチュウは細胞骨格としての微小管束を内包する軸足とよばれる仮足を有し，その軸足長を変化させることで細胞運動を行っている。機械刺激により急速な軸足収縮・再伸長を示し，それらの速度は一般的な微小管の脱重合・重合のしくみでは説明ができないほど急速であり，未知の微小管調節機構を有することが示唆されている。これまでに超微形態学的解析がなされてきたが，ハリタイヨウチュウは浮遊系の単細胞で，そのサイズは 20 μm 程度のため，通常の透過型電子顕微鏡では，1 つの細胞に着目して微細構造の全貌を観察することは困難であった。そこで本研究では，クライオ電子顕微鏡を用いてハリタイヨウチュウの微小管動態の三次元再構築による軸足収縮・再伸長機構の解明を目的とした。

ハリタイヨウチュウは凍結時の物理刺激によって軸足収縮が誘発される。軸足長を保持した状態で観察を行うために，試料作製方法を検討した。化学固定液の攪拌による刺激を回避する新しい細胞固定技術を適用することで軸足長を保持したまま凍結することが可能となった。またカルシウムチャネルのブロッカーであるルテニウムレッドを予め培養液に投与することで，軸足長保持した状態の生細胞を凍結することが可能となった。新規固定法を適用したサンプルでは，軸糸微小管が明瞭に保存されていたが，脱重合が進行したと思われる微小管構造が不明瞭な領域も観察された。ルテニウムレッドを加えた未固定サンプルでは，明瞭に保存された軸糸微小管が観察できた。また，どちらのサンプルにおいても，微小管束上に節構造が存在することが明らとなった。

以上の結果から，軸足収縮過程において軸糸微小管が脱重合していることが示唆された。さらに，その微小管束の長軸方向に周期的な新規構造が確認された。ただし，今回の解析では，軸足横断面がつぶれている領域が観察されたことから，試料作製の段階でさらに工夫を加える必要がある。

今後は，軸足全長に亘る立体構造を把握するため，クライオ電子顕微鏡法による解析を行うと同時に，超高圧電子顕微鏡を併用する。また，軸足を構成する微小管の本数およびその収縮様式がハリタイヨウチュウのそれとは異なる別種のタイヨウチュウについても解析を進めていく。

49. 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。

本研究では昨年度に引き続き，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てデータを追加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ところ，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と老廃物の放出により体積が減少する様子を確認した。以上の内容は，論文として報告した（Sakaguchi et al., J Struct Biol. 193: 162-171）。また，ヒトに自然感染するサルマラリア原虫 *P. knowlesi* について感染赤血球の微細構造解析及び定量解析を行うために *P. falciparum* と同様に試料作製し，SBF-SEM を用いて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像を撮影した後，セグメンテーションを開始した。

50. 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。

2015 年 1 月～3 月に生理研電子顕微鏡室を訪問し SBF-SEM を用いてキスイタナイス（甲殻類：タナイス目）における出糸腺構造についての連続断層データを取得した。このデータを，同年 8 月～2016 年 3 月にかけてドイツ・ロストック大学動物学博物館を訪問した際，当施設における三次元解析ソフト Imaris を用いて解析した。その結果，キスイタナイス胴体部に存在する二種類の出糸腺，そしてそこから派生する２本の出糸ダクトがそれぞれ並走しながら胸脚内を先端まで走行しそれらが先端突起末端において集合，体外へと接続する構造を全て三次元サーフェイスモデルとして視覚化することに成功した。これと共に，胸脚内の筋肉／神経系についても同様に三次元的に視覚化し，出糸腺をもつ脚を持たない脚について機能形態学的な違いを評価した。当初これらのデータは letter 形式の短報として発表する予定であったが，Palmer 教授からの示唆を受け Frontiers in Zoology 内の method セクションにフルペーパーとして投稿することとした。10 月～12 月にかけて執筆し，1 月に投稿，3 月に受理，出版された（*Tomonari Kaji, Keiichi Kakui, Naoyuki Miyazaki, Kazuyoshi Murata, Richard A Palmer (2016) Mesoscale morphology at nanoscale resolution: Serial block-face scanning electron microscopy reveals fine 3D detail of a novel silk spinneret system in a tube-building tanaid crustacean. Frontiers in Zoology 13:14 DOI: 10.1186/s12983-016-0146-0.*）。

また，カナダ国内学会である Canadian Society of Zoologists において本研究成果についてのポスター発表を行い，多くの研究者に SBF-SEM の可能性を啓蒙することに成功した。幾人か，自身の研究に当手法を取り入れることを検討し始めており，これが新たな共同研究へと繋がることを期待している。

今年度 4 月，共同研究者の角井敬知氏によりカリアプセウデス科タナイス類が宮崎県にて採集され，飼育が開始された。この分類群は非常にユニークかつ多様な出糸腺構造をもつことが示唆されており，角井氏により継代飼育法が確立されると採集時期に左右されることなく SBF-SEM 解析が可能となることが期待されている。

51．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（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 がその重要な制御因子である。本研究では，多光子励起法を用いた可視化解析により，H25 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同定し，HDAC6 の活性制御への関与を示唆する結果が得られた。H26 年度では，MIP-T3 と HDAC6 との作用分子機構を解析し，細胞における 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 と α-Tubulin との結合は HDAC6 の阻害剤 TSA 処理または α-Tubulin の 40 番リジン残基（K40）がアセチル化できない変異体 K40R により有意に抑制されたことから， K40 のアセチル化は HDAC6 と α-Tubulin との結合に重要である。また，MIP-T3 の共発現により，HDAC6 と α-Tubulin との結合は抑制され, TSA 処理または K40R 変異による HDAC6 と α-Tubulin との結合抑制を有意にレスキュしたことから, アセチル化 K40 が MIP-T3 による HDAC6 と α-Tubulin との結合への影響に極めて重要な役割を果たすことを判明した。更に，HDAC6 の過剰発現により有意に抑制された MIP-T3 と α-Tubulin との結合は，TSA 処理によりレスキュされたことから，MIP-T3 と α-Tubulin との結合は HDAC6 による K40 の脱アセチル化によって制御していることを示し，MIP-T3 と HDAC6 のいずれもアセチル化 K40 を介して微小管と結合することを明らかとなった。

一方，MIP-T3 と HDAC6 との結合は時間的・空間的に定量解析を行ったところ，高度アセチル化 Tubulin で形成される中心体（centrosome，or MTOC）において両者が強く結合していることが認められ，MIP-T3 と HDAC6 の相互作用は微小管形成のダイナミクスや細胞分裂への影響が示唆された。今後，引き続き，その詳細を解析する予定で，微小管のダイナミクス調節と HDAC6 によるアセチル化制御における MIP-T3 の分子機能を明らかにしていく。

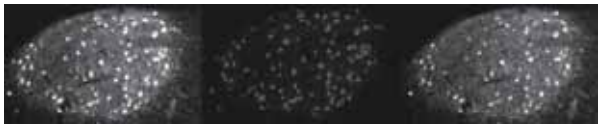
52．鳴禽類ソングバードを用いた時空間制御を与える遺伝子発現系の開発と行動実験への応用

和多和宏（北海道大学 大学院理学研究院 生物科学部門）

本研究は，時期特異的・細胞タイプ特異的なウイルス発現系の確立を通して，音声発声学習の学習臨界期制御機構，特にエピジェネティクス動態に着目した研究を進めていくことを目的としている。このために，鳴禽類ソングバード脳内の歌神経核内の神経細胞に適用可能なウイルスを用い，それを基盤技術として，音声発声学習およびその学習臨界期制御メカニズムの神経分子基盤を明らかにしていくことを目指している。

鳴禽類ソングバードは，発声学習とその発声生成のために機能特化した神経回路ソングシステムを脳内にもっている。このソングシステムは, 大きく２つの回路によって形成される。発声運動回路と大脳-基底核-視床ループ回路である。両方の回路が，複数の歌神経核によって構成されていることに着目し，H27 年度では，ソングバード脳内の歌神経核間で安定して逆行性感染能をもつアデノ随伴ウイルスのセロタイプの同定を目指した。これまでにウイルスベクター開発室の小林憲太准教授との計画共同研究により, AAV1, 2, 5, 6, 8, 9, DJ-CAGGS-GFP の供与をいただいた。その結果，AAV5, 9 の２つのセロタイプがソングバード歌神経核間で逆行性感染をすることが分かった。これをもとに，大脳基底核の歌神経核 Area X から逆行性感染によって，運動前野に相当する歌神経核

HVCの投射神経細胞特異的にCreリコンビナーゼを発現誘導することが可能になった（**添付写真**）。現在，flexシステムをもつ AAV との２重感染によって，歌神経核 HVC の投射神経細胞特異的な遺伝子発現改変を目指している。また，挿入サイズに比較的制約がある AAV 発現系で，我々が研究を進めているエピジェネティクス制御関連遺伝子群が実際に脳内に発現誘導が可能か否かを検証する実験も本計画共同研究によって進行中である。



53. 光遺伝学を用いた霊長類の視覚運動制御回路の機能操作

木下正治（弘前大学 医学研究科）
伊佐　正（生理学研究所 発達生理学研究系）
小林憲太（生理学研究所 ウイルスベクター開発室）

中脳上丘の浅層のニューロンは視覚刺激に対して応答を示すことが知られている。上丘浅層へ視覚情報を伝達する経路として，網膜神経節細胞から上丘へ直接の神経投射経路と，大脳皮質一次視覚野（V1）から上丘への経路があることが知られている。上丘浅層の視覚性応答は視線を対象に向けるといった，視覚－運動情報変換に関与している可能性が示唆されている。しかしこの視覚性応答が網膜からの直接入力あるいは V1 を経由した入力のどちらに依存しているかについては明らかにされていない。

本研究においては，実験動物にヒトに近い視覚情報処理を行っていると考えられている健常なマカクザルを用い，行動課題遂行中のサルに対して光遺伝学的な手法を用いて V1 から上丘浅層への神経伝達を選択的にミリ秒オーダーの精度で遮断することで，上丘ニューロンに対するこの神経経路の機能を明らかにすることを目的としている。

初年度となる H27 年度には，マカクザルに対する行動課題の訓練，手術などを行い，さらに神経伝達遮断に用いるオプシン遺伝子とウイルスベクターの選定を行い，生理学研究所ウイルスベクター開発室において抑制性オプシン遺伝子を搭載した AAV ベクターを作成した。またウイルスベクター注入方法の検討と改善も行い，H28 年度も引き続き実験を行う計画である。

54. 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 27 年度では，AAV1 を用いて運動ニューロンに TVA と RVG を発現させ, さらに RVG 欠損狂犬病ウイルスを感染させる実験を行った。まず，21 日齢のラットの三頭筋に TVA と RVG を発現する AAV1 を注入し，その 4 週間後に脊髄に EGFP を発現する RVG 欠損狂犬病ウイルスを注入した。1 週間後に，観察したところ，運動ニューロン以外にも EGFP を発現する脊髄神経細胞が検出された。注入部位と対側の脊髄の神経細胞も EGFP を発現し，premotor neuron と考えられる。更に，大脳皮質から胸髄レベルまで網羅的に観察を行ったところ，延髄網様体，頚髄から胸髄にかけての脊髄，後根神経節で premotor neuron が検出された一方，脊髄に軸索を投射する大脳皮質や赤核では，premotor neuron が検出されなかった。このことから，ラットにおいて，三頭筋の運動ニューロンに monosynaptic な入力は延髄・脊髄・後根神経節の神経細胞からによるものであることがわかった。

55. 内側運動制御系に対する内因性カンナビノイドシグナルによる制御システムの解明

田中智子，菅谷佑樹（東京大学大学院医学系研究科神経生理学分野）

内因性カンナビノイド，2-アラキドノイルグリセロール (2-AG) は，シナプス後部から前終末に向けて逆行性にシグナルを伝達しており，シナプス可塑性，学習や記憶に関わることが知られている(Kano et al., 2009)。2-AG の産生酵素の一つであるジアシルグリセロールリパーゼ (DGL)α やカンナビノイド受容体の一つである CB_1 受容体は広範囲の脳に分布することが明らかとされており，内因性カンナビノイドシグナルは学習や不安を調節するシグナルとしても重要な役割を担っていると考えられている(Haller et al.,2004; Varvel et al., 2002, 2005)。一方，学習や記憶，不安に関わる領域として海馬が存在するが，海馬内神経回路における DGLα や CB_1 受容体の機能は局在領域によって異なると考えられる。海馬の各領域の内因性カンナビノイドシグナルが回路内の興奮抑制バランスをどのように調節し，行動の発現にどのように影響しているのかを理解することは非常に重要である。そこで，我々は海馬内神経回路内因性カンナビノイドシグナルが関わる行動の脳内神経基盤の解明を目指し，まずは，海馬内神経回路の出力部でもある CA1 領域の DGLα に着目し，検討を実施した。Cre/loxP システムを用いた遺伝子組換え実験系を用いて DGLα-flox マウスの海馬 CA 領域に CaMKII をプロモーターとした Cre ならびに GFP 遺伝子を発現させるためのアデノ随伴ウイルスベクターを注入し，海馬 CA 領域における興奮性ニューロンに局在する DGLα のみを選択的に欠損させたところ，空間認知の障害と不安感受性の向上が認められた。海馬 CA1 領域では，錐体細胞に入力する抑制性シナプス前終末に主に CB_1 受容体が発現しているが，嗅内皮質からの興奮性神経，CA3 からの興奮性神経にも CB_1 受容体が存在する。これらの内因性カンナビノイドシグナルを区別するため，抑制性神経上に発現する CB_1 受容体のみを欠損させるため，CB_1-flox マウスの海馬 CA 領域に本共同利用研究により作成した Dlx5 をプロモーターとした Cre ならびに GFP 遺伝子を発現させるためのアデノ随伴ウイルスベクターを局所注入し，海馬 CA 領域の抑制性ニューロンに局在する CB_1 受容体のみを選択的に欠損させたマウスを用いて同様の実験を実施している。

56. ウイルス遺伝子工学による腹外側線条体神経回路の解明と操作

田中謙二（慶應義塾大学 医学部 精神神経科学教室）

我々はこれまでに腹外側線条体に分布するドパミン受容体 2 型陽性 medium spiny neuron（D2-MSN）が意欲の調節に関与していることを見いだしている。本共同研究では，腹外側線条体 D2-MSN の出力先と入力元を遺伝子

改変マウスとアデノ随伴ウイルス（AAV）を用いて明らかにし，また，D2-MSN そのもの，もしくは出力先を遺伝子工学を用いて操作することで，腹外側線条体 D2-MSN の意欲に対する役割を回路レベルで明らかにすることを目的と定めた。

まず，①D2-MSN の出力先の同定のために，A2A-Cre マウスの腹外側線条体に AAV_{DJ} CAG-DIO-GFP を注入し，免疫染色法を用いて D2-MSN を可視化した。この結果，腹外側線条体 D2-MSN は腹側淡蒼球の外側部に密な投射を送ることが明らかになった。

次に，②D2-tTA マウスの腹外側線条体に AAV_{DJ} tetO-D2/Venus を注入し，腹外側線条体の D2-MSN にのみ D2 受容体が過剰発現するマウスを作成し，行動変化の観察を予定していた。これまでに腹外側線条体の D2-MSN に特異的に D2 受容体を過剰発現させる手技の動作確認を終えている。

③A2A-Cre マウスの線条体に AAV_{DJ} CAG-DIO-ArchT/EGFP を注入し，腹外側線条体を行動実験中に光照射して行動の変化を観察した。光照射によって，意欲的行動が減少した。

D2-MSN の入力元の同定研究は，当時想定していた方法よりも有効な技術が開発されたので，計画を中断し，研究の見直しを図っている。

上記の通り，おおむね順調に予定していた実験を遂行することができた。特に，③で，腹外側線条体 D2-MSN の意欲における役割を明らかにすることができ，得られた成果をまとめて論文投稿するまでに至っている。

57．アデノ随伴ウィルス（AAV）を用いた神経系の発生および恒常性維持に関わる分子機構の解析

堀江正男，矢野真人，備前典久，染谷拓郎，竹林浩秀（新潟大学）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

アデノ随伴ウィルス（AAV）は高タイターの遺伝子組換えウイルスを調整できる，ウイルス粒子が安定などの利点から，生体脳内で外来遺伝子を発現させる実験に多用されている。我々は，神経系の発生および恒常性維持に関わる分子機構を明らかにするために，AAV を用いて以下の２つの実験を行った。

１つ目の実験として，Cre 組換え酵素発現するウイルス（AAV Cre）と緑色蛍光タンパク（GFP）を発現するウイルス（AAV GFP）を作成して，成体のマウスの中枢神経系にこれらの AAV ウイルスを注入する事により，*Dystonin (Dst)* 遺伝子の部位特異的ノックアウトマウス（*Dst* cKO マウス）の作製を行った。その結果，*Dst* 変異マウスの運動症状の一部である姿勢異常を *Dst* cKO マウスにおいて再現することに成功した。今後は，ウイルスを注入する場所，時期を検討していくことにより，Dystonin タンパク発現が必要な発達時期，脳領域について明らかにしていく。

２つ目の実験として，マウス胎児脳におけるエレクトロポレーション法による強制発現実験によってオリゴデンドロサイトの分化を促進することが示唆されている因子（OIF）の AAV による強制発現実験を行った。OIF と GFP を発現する AAV（AAV OIF-IRES-GFP）とコントロール AAV（AAV IRES-GFP）を作成し，それぞれの AAV を成体マウス脳内に注入し，強制発現実験を行った。OIF の発現によって，オリゴデンドロサイトのマーカーであるミエリン関連遺伝子の発現上昇が認められた。現在，OIF によるオリゴデンドロサイト分化促進のメカニズムについて検討中である。

58. 前シナプス分子基盤によるリボンシナプスの形成及びその機能解析

萩原　明，大塚稔久（山梨大学大学院総合研究部・医学域）
小林憲太（生理学研究所・ウイルスベクター開発室）

神経回路網における情報伝達の基本ユニットであるシナプスでは，前シナプスから放出された伝達物質が後シナプスの受容体に結合することで情報が伝達され，この受容体の種類や数によって伝達の強弱が制御されることが知られている。一方，前シナプスからの伝達物質の放出も，その頻度や量が伝達の調節に重要な役割を担っていると考えられているが，その機構はいまだ不明な点が多く残されている。本研究では，開口放出部（アクティブゾーン，AZ）に局在するたんぱく質群（CAZ たんぱく質）の一つである CAST/ELKS ファミリーに着目し，Cre-loxP システムによって ELKS を欠損させることで，シナプスの構造基盤や放出の制御に対する機構解明を目指すものである。

光を感知する網膜では目に入力した光刺激が視細胞によって感受され，神経情報へと変換される。その情報は双極・水平細胞での修飾を経て神経節細胞によって脳の視覚中枢へと伝達される。この視細胞から双極・水平細胞へのシナプスにおいて，発生時期から ELKS を欠損させても，シナプスや網膜の構造及び情報伝達機構への影響は小さいことが分かった。さらに我々は，網膜の層構造やシナプスが形成されたのち ELKS が欠損した場合の影響を調べるため，アデノ随伴ウィルスによる視細胞特異的な Cre 発現系の構築を行った。まず，AAV DJ-CAGGS-, AAV1-CAGGS-, AAV5-CAGGS-Cre の 3 種類のウィルスベクターを網膜の Subretinal 領域に注入し，発現分布を比較したところ，AAV/DJ 型は神経節細胞層（GCL）及び双極細胞が多く分布する内顆粒層（INL）に強く発現が見られた。同様に AAV1 型も AAV DJ 型に比べ頻度は低いものの GCL, INL に高確率で発現していた。一方，AAV5 は AAV1 や AAV DJ 型に比べ発現効率は低かったが，視細胞特異的な発現分布を見せることが分かった。今後，AAV5-CAGGS-Cre によって時期特異的に，視細胞で ELKS を欠損させ，シナプスや網膜構造に与える影響を解析していく。

59. 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）

脱水時や塩欠乏時にはレニン・アンジオテンシン系が賦活されることが知られている。一方，アンジオテンシン II（Ang II）を脳室内に投与すると，水分と塩分，いずれの摂取量も増加することが知られている。こうしたことから，脱水時や塩欠乏時の飲水や塩分摂取行動に脳における Ang II シグナルが関与していると考えられる。しかし，そのメカニズムは全くわかっていない。本研究は，逆行性ウィルスベクターを用いて，水分・塩分摂取行動制御に関わる神経回路を解明することを目的として実施した。

Ang II 受容体は，脳弓下器官や終板脈管器官を含む，脳室周囲器官に多く発現している。脳弓下器官や終板脈管器官には，ナトリウム（Na^+）レベルセンサーである Na_x チャンネルが発現しており，特に脳弓下器官には，体液 Na^+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。前年度，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）に投射して塩欲求を制御していることが明らかになった。本年度，脳弓下器官の AT1a 発現ニューロンのうち，別の神経核（以下，論文未発表のため神経核 Y と記載）に投射するニューロンについて調べた。

まず，光によって活性化されて神経活動を抑制する機能を持つ 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 Y に局所注入した。その後，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 Y に投射する SFO ニューロンだけを光操作することが可能である。マウスを脱水状態にし，その後の水分摂取量を光刺激の有無で比較したところ，光刺激によって飲水量が抑制されていた。逆に光刺激により神経を活性化させる機能を持つ ChR2 を用いて同じニューロンを活性化したところ, 飲水行動が誘発された。以上より，脳弓下器官のニューロンのうち，神経核 Y に投射する AT1a 発現ニューロンが飲水行動の制御に関与していることが明らかになった。

60. ウイルスベクターを用いた視床下部神経への遺伝子導入と機能操作

山中章弘，田口　徹，山下貴之，犬束　歩，山下　哲（名古屋大学・環境医学研究所）
乾　あずさ，CHOWDHURY Srikanta（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。そこで，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 リコンビナーゼもしくはフリッパーゼ(Flp)を発現させ，神経細胞が存在する領域に Cre もしくは Flp 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(AAV)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する。密な投射先である青斑核に投射するオレキシン神経細胞のみに遺伝子発現させることを試みた。Cre 依存的に緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現させる AAV 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。オレキシン神経細胞のうち，青斑核に投射する神経細胞だけに GFP を発現させることに成功した。今後はさらに感染効率をあげるなどの取り組みを行う。

61. 実験用ラットにおけるアデノ随伴ウイルス AAV ベクターを利用した in vivo ゲノム編集基盤技術の開発

真下知士（大阪大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）
小林憲太（生理学研究所脳機能計測・支援センター　ウイルスベクター開発室）
小川正晃（生理学研究所発達生理学研究系　認知行動発達機構研究部門）

近年, CRISPR/Cas システムを利用した遺伝子改変技術の開発が急速に進められている。本研究では，Cas9 および gRNA を発現する AAV ベクターを用いて，成獣ラットの脳神経細胞におけるゲノム編集を試みた。

我々がこれまでに開発した新規ノックイン技術 2H2OP 法は，CRISPR/Cas システムを‘はさみ’として，一本鎖 DNA（ssODN）を‘のり’として使用することで，ドナーベクターを効率的にノックインすることができる。この 2H2OP 法により，ラット Rosa26 遺伝子座に CAG-GFP プラスミドをノックインした GFP ノックインラット：

F344-Rosa26$^{em(CAG-GFP)Kyo}$を作製した。このGFPノックインラットは，緑色蛍光タンパク質GFPを全身で発現している。さらに，F344-Rosa26$^{em(CAG-GFP)Kyo}$ラットは，ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」に寄託されており，国内外の研究者が利用可能である。

生理学研究所脳機能計測・支援センター，ウイルスベクター開発室の小林憲太先生との共同研究により，Cas9タンパク質およびgRNAを発現するAAVベクターを作製した。gRNAは，GFP配列を標的としており，GFPに二本鎖切断を導入することで，GFP発現をノックアウトするようにデザインされている。

生理学研究所発達生理学研究系 認知行動発達機構研究部門の小川正晃先生との共同研究により，作製したCas9とgRNAを発現するAAVベクターをGFPノックインラットの脳内に導入した。

GFPノックインラットの脳内でのGFP発現を精査したところ，ニューロンでのGFP発現がもともと弱いことが判明した。そのため，AAVベクターから発現するCas9とgRNAがGFPの発現を抑制しているかどうかの解析ができなかった。

残念ながら，本研究によりin vivoゲノム編集技術の開発にまでに至らなかった。ラットRosa26遺伝子座における遺伝子発現は，マウスと異なりニューロンでの発現が抑制されている可能性が示唆された。今後は，ラットニューロンに特異的に，あるいは強くレポーター遺伝子を発現しているラットを利用することで，in vivoゲノム編集技術の開発を継続していく。in vivoゲノム編集技術を開発することができれば，脳神経だけでなく，それ以外の細胞や組織，あるいはマウス，サルなど他生物種においても，重要なツールになる。

62. 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）

『淡蒼球外節− 黒質緻密部経路を同定する』

A: 形態学的同定（光顕および電顕）

パルブアルブミンCre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，淡蒼球外節のパルブアルブミンニューロンが黒質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。アポジションがシナプスであるか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，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。大脳基底核の新しい経路の発見につながる。

B: 電気生理学的同定（in vivo およびスライス標本）

淡蒼球外節と黒質との線維連絡を保ったスライス標本とin vivoの両方でパルブアルブミンCre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，光刺激によりパルブアルブミン陽性ニューロンの神経活動を変化させた時の黒質ニューロンの反応を解析する。さらに反応したニューロンの生化学的特性を免疫組織科学で検証し，シナプスの相手が黒質網様部のGABAニューロンか，黒質緻密部のドパミンニューロンかを解析する。

63. シナプス終末のR型電位依存性カルシウムチャネルと内側手綱核—脚間核—腹側海馬回路の生理的役割

重本隆一（IST Austria）

我々は，内側手綱核に強く発現するR型カルシウムチャネルが脚間核に投射する神経終末に集積している事を報告し（Parajuli et al., 2012），興奮性伝達が主にR型チャネルを介したグルタミン酸放出による事，Cav2.3サ

ブユニットをCre-dependentにrescueできるノックアウトマウスでは情動関連行動異常がある事を見出した。本研究の目的は，ウィルスベクターによって optogenetics のツールを内側手綱核―脚間核投射路および情動に関連が深い腹側海馬への脚間核からの投射路に発現させ，R 型チャネルとこれらの回路の情動における役割を解明することである。まずは，R 型カルシウムチャネルを発現する神経終末を同定するために，神経終末素早く輸送される VAMP2-venus を発現する AAV ウィルスを作製していただき，これをマウス脳に発現することによって VAMP2-venus を凍結割断レプリカ法によって神経終末の細胞膜で検出することができることを確認した。これにより標識された神経終末とシナプスを形成する PSD におけるグルタミン酸受容体の定量を行うことが可能となった。次に逆行性に GFP を発現するレンチウィルスを作製していただき，これを脚間核中心部に注入したところ，内側手綱核に標識された神経細胞が検出でき，腹側に高密度の集積があったが背側にも神経細胞が認められた。これらの細胞に Cav2.3 サブユニットが強く発現していると考えられる。さらに ChR2 を発現する AAV ウィルスを作製していただき，これを腹側海馬に注入したのち，光刺激を行ったところ，背側海馬の歯状回顆粒細胞に多くの c-fos 陽性細胞を認めることができた。この結果は，Fear conditioning によって，増加する背側海馬顆粒細胞の c-fos 陽性細胞が，内側手綱核―脚間核―腹側海馬回路によって調節されている可能性を示唆している。今後は，Cav2.3 FAST ノックアウトマウスを用いて内側手綱核―脚間核投射路に Cav2.3 をレスキューし，これらの投射路のグルタミン酸受容体の変化や Cav2.3 の生理的役割を調べる。

64. 胎生期の脳形成過程におけるミクログリアの動態と機能の解明

宮田卓樹，服部祐季（名古屋大学大学院医学系研究科細胞生物学分野）

本研究では，胎生期の脳形成過程におけるミクログリアの動態および神経系細胞との相互作用の意義について，血管との関連性を明らかにしたうえで，新しい理解を得ることを目指している。これまで当方では，ミクログリアを可視化する CX3CR1-EGFP トランスジェニックマウス（Jackson 社より購入）を用いて，取り出した脳原基をスライスし，共焦点レーザー顕微鏡によるライブ観察を進めてきたが，組織の断裂や血管の破綻による影響が否めなかった。そこで，より生体内の状況を模した観察を遂行する為，二光子レーザー顕微鏡を用い，母体につながった状態で胎仔脳内 *in vivo* ライブ観察を行おうと考えるに至り，二光子レーザー顕微鏡による成体および新生仔マウス脳内のライブ観察に精通している生体恒常性発達研究部門との共同研究を申請した。

昨年度春には，共同研究先にて，成体および新生仔マウス脳内ライブ観察手法を学ばせていただいた。その後，胎仔脳内ライブ観察を達成すべく，母体の管理（加温器具による体温維持，吸入麻酔の条件），子宮および羊膜内の胎仔固定方法を整備するための条件検討を行った。7 月には，CX3CR1-EGFP Tg マウスを共同研究先へ導入し，このマウスを用いてのミクログリアライブ観察を行わせていただいた。

当方が日常的に利用している，名古屋大学医学部付属共通機器利用室の二光子顕微鏡には，単一のレーザーしか搭載されていないため，緑と赤の二色同時観察が困難という問題があった。そこで，共同研究先にて，ミクログリア（緑）と血管（赤）の二色同時ライブ観察を試させていただいた。

昨年の 1 年間で研究は大きく進展し，当方が目指す胎児脳内 *in vivo* ライブ観察系の基盤が立ち上がった。次年度も共同研究を提携し，観察手法のさらなる改善，および，遺伝子導入により可視化した神経系前駆細胞とミクログリアとの二色ライブ観察を行うことで両者の相互作用をモニターするなど，さらなる発展を目指して研究を展開していくつもりである。

65. 高脂肪食摂取下における腸管粘膜防御機能と吸収機構に関するメカニズムの解明

志茂　聡[1]，齊藤　成[2]，大野伸彦[2,3]
（[1]健康科学大学 健康科学部作業療法学科，
[2]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，
[3]自然科学研究機構 生理学研究所 多次元共同脳科学推進センター脳科学新領域開拓研究室）

腸管では筋間神経叢などの神経ネットワークが発達しており，システム化された蠕動運動や腸管粘膜バリアの恒常性維持などが統合的に働いている。しかし，糖尿病では全身の代謝に影響を与えるため，手足の痺れや感覚鈍麻などの神経障害とともに，腸管では下痢や便秘などの重篤な合併症を引き起こすことが知られているが，その原因は不明な点が多い。本研究の目的は，ミクロトーム組み込み式走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて，高脂肪食摂取が腸管粘膜防御機能にどのような影響を与えているか明らかにすることである。さらに，糖吸収阻害薬による腸管への影響を明らかにし，肥満や糖尿病の予防やメカニズムの解明することである。実験には 4 週から高脂肪食の給与を開始し, 20 週間飼育期間された糖尿病モデルマウスを用いた。一部は SGLT 阻害剤のフロリジンを還流固定 1 日前および当日に投与した。対照群として通常食で飼育されたマウスを使用し，同週齢の群でデータ比較した。試料作製は麻酔下で還流固定を行い OTO 法とウラン・鉛によるブロック染色を行った腸管組織を樹脂包埋し, SBF-SEM により試料の連続断層像を取得した。形態学的解析は，TrackEM によるセグメンテーションをおこない，アウエルバッハ神経叢内における軸索内の Varicosity およびシナプス集積の計測および解析をおこなった。その結果，20 週齢では通常食（STD-Non）群に比較して高脂肪食（HFD-Non）群で平均体重増加（$p<0.001$）と平均血糖値上昇がみられ，フロリジン投与後は高脂肪食群でのみ血糖値降下を認めた（$p<0.05$）。形態学的解析では，STD-Non 群において筋間神経叢内の軸索での Varicosity に多数のシナプス集積を認めた。一方，HFD-Non 群では軸索の Varicosity を多く認めたが，シナプス集積はほとんどみられなかった（$p<0.01$）。腸管平滑筋神経叢において高血糖状態が Varicosity のシナプス動態の異常を惹起すること，さらに SGLT 阻害剤が腸管平滑筋神経叢に保護的に作用する可能性が示唆された。現在, SBF-SEM により取得した腸管試料の連続断層像を用いて，代謝環境の変化にともなうミトコンドリアの微細構造変化を解析中である。今後，様々な代謝環境下における腸管での SGLT の役割を明らかにしていく予定である。

66. 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（生理学研究所基盤神経科学研究領域生体恒常性発達研究部門）

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。成熟動物においても GABA が興奮性に作用するという GnRH ニューロンに特有な性質に注目し，特定の時期に GnRH ニューロンのみで GABA 入力を抑制性に維持する分子である K^+-Cl^- 共役担体（KCC2）を発現誘導させることにより，GnRH ニューロンへの GABA 入力を興奮性から抑制性に変化させることができる独自に作成した遺伝子改変マウス（GnRH-tTA::KCC2-tetO マウス）を用いて，生殖機能制御における興奮性 GABA 入力の役割を検討した。このマウスではドキシサイクリン（DOX）投与中止 3 日後から GnRH ニューロンで KCC2 蛋白が発現誘導され，5 日後には十分な量の KCC2 蛋白が発現誘導されること, 発現誘導された KCC2 蛋白は Cl^- をくみ出す機能を持つことが確認できた。DOX 投与を中止し，GnRH ニューロンへの GABA 入力を興奮性から抑制性に変化させると，発情期が長く続き性周期が乱れ，発情前期の翌日でも排卵がみられず，妊娠が認められなかった。排卵を引き起こす LH 分泌量がやや低下していたが有意差は認められず，定常時の LH 分泌量は検出限界以下であった。卵巣には成熟卵胞が認められず，小さな卵胞が多数観察された。出生後すぐに DOX 投与を中

止し思春期開始への影響を調べたところ，膣開口日が早まることが観察された。雄の GnRH-tTA::KCC2-tetO マウスの繁殖行動には影響がみられなかった。さらに，GnRH ニューロンへの GABA 入力を抑制性に変化させた時に認められた生殖機能の変化を引き起こす要因となる 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 ニューロンからルーズパッチ法により自発発火の記録を行った。低濃度の $GABA_A$ 受容体のアゴニスト muscimol により自発発火の増加がみられたが，GABA 入力を抑制性に変化させると muscimol により自発発火が抑制された。以上の結果より，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，細胞外の GABA の興奮性入力により引き起こされる GnRH ニューロンの自発活動の増加が雌の生殖機能の維持に重要な役割を持つことが示唆された。

67. 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），村田武士（千葉大学・理学研究科）
上野博史，皆川慶嘉（東京大学・工学系研究科），村田和義（生理学研究所）

V-ATPase は主として真核生物の細胞内胞膜（Vacuole）に存在する ATP 駆動型プロトンポンプとして知られている。ATP の加水分解エネルギーを用いて小胞内を酸性化することにより，タンパク質の分解などの作用を担っている。本タンパク質複合体は ATP 加水分解活性をもつ可溶性の膜外領域（V_1）とプロトンを輸送する膜貫通領域（V_o）からなり（図 A），その構造が ATP 合成酵素である F_0F_1 と似ていることから，これと共通の起源をもつ回転型酵素であると考えられてきた。V-ATPase は，このように生体内において重要な機能を果たしているだけでなく，物理化学的にも興味深い膜タンパク質であるが，主に酸性小胞に存在することや 10 種類，20 分子を超える複雑なサブユニット構造を持つ超分子複合体であることから，その全体構造の研究はあまり進んでいない。そこで，我々は近年発展の目覚ましいクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析法により，V-ATPase の構造解析を試みた。

我々のグループが構築したリコンビナント遺伝子発現系を利用し，*Enterococcus hirae* V-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（図 B）。単粒子解析により 2 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（図 C）。この構造に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。今後は，粒子数の増加によりさらなる分解能の向上を図り，可溶性 V_1 部と膜貫通性 V_o 部間の力学エネルギー伝達における，セントラルストークおよびペリフェラルストークの捻じれの発生の有無を明らかにしたい。

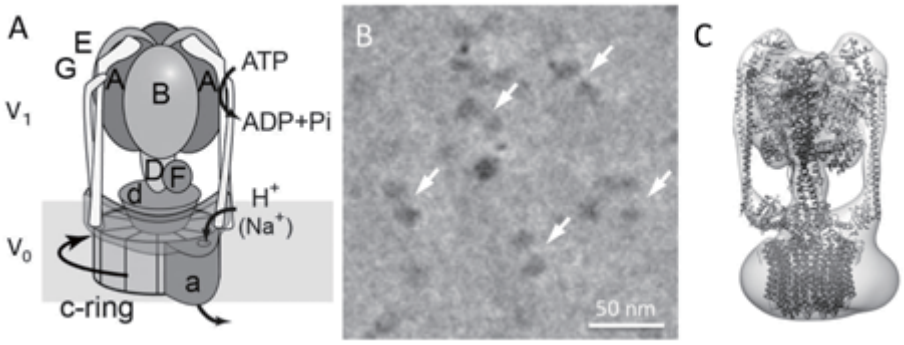


図　A）*Eh* V-ATPase の模式図．B）位相差クライオ電顕像．粒子像を矢印で示す．
C）23Å 分解能立体再構成像とフィッティング分子モデル

68. 細胞分裂過程を１細胞丸ごとレベルで３次元構造解析するための技術開発

岩根敦子（国立研究開発法人理化学研究所 生命システム研究センター）
大野伸彦（山梨大学 大学院総合研究部医学域基礎医学系 解剖分子組織学教室）

細胞や組織内の重要なイベントを可視化するために、近年、様々な顕微鏡が開発されている。その中で電子顕微鏡観察は標的分子並びに細胞小器官だけでは無く、それを取り囲む環境を含めた超微細構造を可視化出来る利点がある。空間分解能が理論的には試料の厚さに影響を与えない生理学研究所に有る MERLIN 3View 装着のスキャン電子顕微鏡（SBF-SEM）と三次元再構築法を用いて最小限度の細胞小器官を有するシゾンを生命の基本である細胞分裂過程のモデル生物として選び、細胞丸ごとレベルで超微細構造解析を行っている。今年度は、今まで、FIB-SEM や超高圧トモグラフィーの技術を用いたオルガネラの超微細構造観察から得られたモデルと照らし合わせ、それぞれの顕微鏡の特性を活かした結果の比較検討を行った。

FIB-SEM 計測（Quanta, FEI 社）では一回の計測（約１６時間）で xy は最大 100 平方ミクロンメートル，厚み 10 マイクロメートル程度で, その中に含まれる完全体のシゾンを含むはデータとしては平均的１０個程度であったが，ZEISS MERLIN 3view 顕微鏡を用いることで一回の計測(約１０時間)で数倍から１０倍程度の情報が得られ，結果として解析が急がれる細胞分裂過程主要なオルガネラの形と相互作用のための３D モデル作成の高速化が期待できた。ただ，得られる連続２次元 SEM 像は表面のチャージアップやダイアモンドナイフによる切削間隔（25 nm-50 nm）のことから FIB-SEM 計測に比べ，色素体内のチラコイド膜やグリコーゲンなどの小粒子の極微細情報の欠落は否めない。現在，３D モデル作製のための解析を行っている最中である。一方，SEM 像のチャージアップの低下ならびに生物試料の２D レベルでの観察は既に，大阪大学内での汎用性のある３D リアル SEM（VE9800, Keyence 社）を用いた導電性樹脂の開発によりある程度期待できる結果が得られていたものの，今年度の生理研での共同研究でこの導電性樹脂がチャージアップの軽減と共にダイアモンドナイフの連続切削間隔をさらに小さく，そして安定行うことを可能にさせる結果が得られたことは今後，MERLIN 3view 顕微鏡を用いる３D 構造解析・モデル化への研究開発において影響を与える大きな成果の一つであると考える。

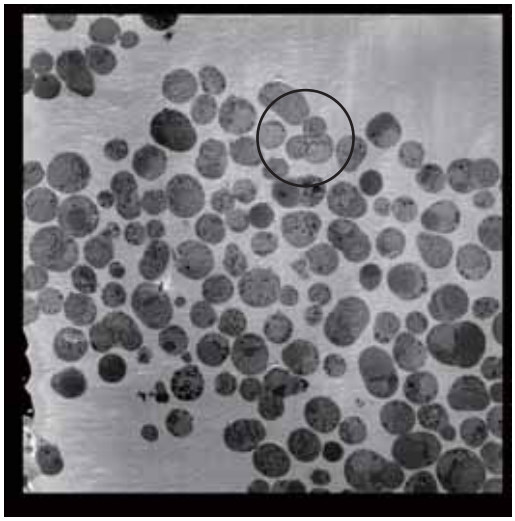


図１：連続切削した一枚の XY スライス像（30 nm/間隔）
x:13.23umx y:13.23um (3072x3072 pixel)

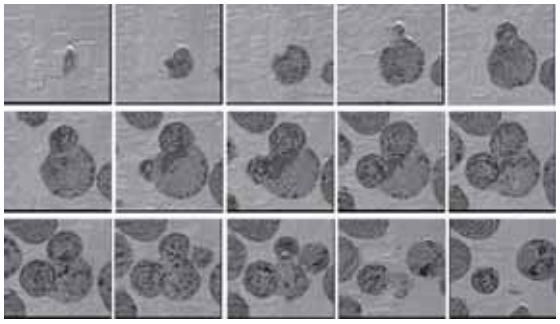


図２：連続スライス像(150 nm 間隔，５枚間隔)
図１の丸で囲んだ細胞の情報から 3D 再構築後，得られた XY 連続スライス像（bar, 2 μm）

図 3:3D-モデル
色素体，ミトコンドリア，ペルオキシソーム，細胞核の立体構造を再構築した。

69. 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，光合成反応の初期過程である水の分解反応を担っており，その重要性から結晶構造解析が進められている。しかし，光合成の最初期過程である『集光アンテナ（LHCII）で受容した光を反応中心へ受け渡す』ためのエネルギー経路や構造は未解明な部分が多い。本研究では，クライオ電子顕微鏡観察および単粒子解析により，緑藻クラミドモナスの PSII-LHCII 超分子複合体（反応中心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，前年度に引き続き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を行った。異なる観察用サンプルの準備（光照射あるいは暗黒下で培養した：図１）に関しては得津が行い，観察グリッド作成に関しては村田准教授とともに Plunge-freezing 法を用いて瞬間凍結した。観察条件は，前年度確立した条件を用いた。また，ロンドン大学の両博士は，2016 年 2 月 23 日－3 月 3 日および 2016 年 1 月 19 日－3 月 3 日にかけて来日し，村田准教授とともに観察を行った。また，サンプルの簡易評価手法としてネガティブ染色法による単粒子解析も行い，およそ 55,000 粒子の構造クラス分け（図２）に成功し，現在それらの結果をもとにサンプルの取得条件の改良を進めている。また，前年度取得したクライオ電顕画像中に含まれるタンパク質粒子群の単粒子解析の結果，おおよそ 30Å程度での解像度におけるタンパク質立体構造が明らかになったため，現在論文投稿準備中である。

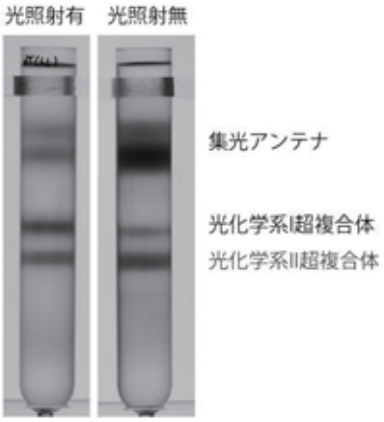


図１　緑藻からの PSII-LHCII 超複合体の精製画分

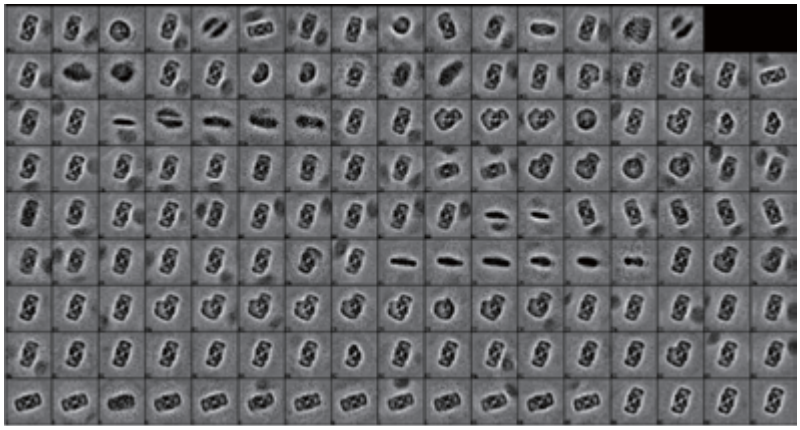


図２　PSII-LHCII 超分子複合体のクライオ電子顕微鏡像による２次元クラス分け平均像

70. 血管壁内の細胞外マトリックスの３次元超微細構造計測

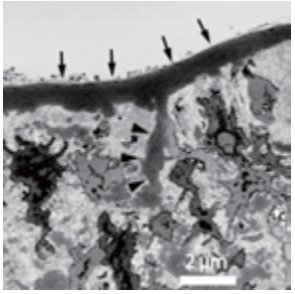
杉田修啓，松本健郎（名古屋工業大学）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

細胞周囲の細胞外マトリックスは，細胞機能に大きく影響すると考えられており，細胞外マトリックスの組織内構造を知ることは重要と言える。大動脈のような心臓に近い大血管組織では，エラスチンを多く含む弾性線維が細胞外マトリックスとして多く存在する。この弾性線維は，教科書的にはバームクーヘンの茶色の部分のように，主に同心円状で半径方向に繰り返した板状構造をしており，弾性板と呼ばれる。また，この弾性板以外にも

弾性板層間に走る細い弾性線維の存在も明らかになってきた。我々もこれまでに 2 光子励起顕微鏡により胸大動脈内の弾性板層間の細い弾性線維を観察してきた。しかし，光学顕微鏡の解像度では細い弾性線維の詳細な形状観察は困難である。そこで，ナノメートルオーダーで組織内の 3 次元構造観察が可能な Serial Block Face-Scanning Electron Microscope（SBF-SEM）により，大動脈内弾性線維の詳細構造の解明を目指した研究を進めた。

実験対象として，日本白色家兎をネンブタール大量投与により安楽死させ，開胸し，胸大動脈を剥離した。なお，動物実験実施については本学の動物実験委員会より許可を得た。屠殺直後に，頸動脈にカニュレーションして 2 %パラホルムアルデヒドと 2.5 %グルタルアルデヒドを含む固定液を導入し，生理圧（100 mmHg）での灌流加圧固定を in situ で行った。さらに, 胸大動脈を摘出後，同固定液で 2 次固定した。 SBF-SEM 観察のため，この試料を後固定液，酢酸ウラン溶液，アスパラギン酸鉛水溶液，エタノール上昇系などの液に順次浸漬し，最後にレジンに包埋した。その後，ガラスナイフとダイヤモンドナイフを用いて試料の表面出しを行い, SBF-SEM にて血管内膜側を中心に観察した。

このようにして得られた血管円周方向に垂直な断面の SBF-SEM 像の例を図に示す。弾性板層が明瞭に観察されており（図中の矢印）, 弾性線維の染色条件は妥当であった。また，弾性板層間に走る弾性線維構造（図中の矢頭）も観察された。しかし，2 光子励起顕微鏡では観察された弾性線維の構造が SBF-SEM 像の中でまだ認識されていない等，現状では各像における対応がとれないところがあった。今後も，2 光子顕微鏡で観察された細い弾性線維の構造を SBF-SEM 像で詳細に観察し，構造を解明して行きたいと考えている。



71. ヒドロゲル微粒子をコアに用いたシード乳化重合による新規異形複合微粒子の創製および構造評価

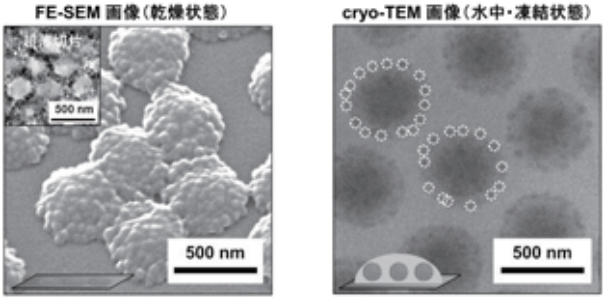
鈴木大介（信州大学・学術研究院繊維学系・化学材料学科・准教授）

シード乳化重合は，既存の粒子に対して，油溶性モノマー，水溶性開始剤，乳化剤を加え，水溶媒を用いて乳化重合を行う手法である。我々はヒドロゲル微粒子をシードに用いたシード乳化重合により，固体複合ヒドロゲル微粒子の創製を行ってきた。近年では，カルボキシ基を有する methacrylic acid を共重合した温度・pH マルチ応答性の poly(*N*-isopropylacrylamide), pNIPAm ゲル微粒子をシードに選択することで，単分散であり，大きさが 100 nm 程度のポリスチレンナノ粒子をヒドロゲル微粒子表面に局在させる事に成功している。これら複合体は薬剤などの運搬体や，分子分離担体，バイオミメティクス材料としての応用が期待されているが，従来の電子顕微鏡法では，複合ゲル微粒子の乾燥時の構造評価しか出来ず，表面のナノ粒子が水中でどのような間隔を空け存在しているか等の構造の評価は困難であった。

そこで，この複合ゲル微粒子が機能を発現する水中における複合体構造を明かにするため, cryo-TEM を用いた氷中の複合体構造の観察を，生理学研究所村田和義准教授と共同し行った。観察の結果，表面に複合したポリスチレンナノ粒子は互いに間隔をあけて存在しており，これは乾燥状態の観察画像とは明らかに異なる (図 e-280e01)。観察画像より，ポリスチレンナノドメイン間距離を計測すると，ポリスチレンナノ粒子は水中において，ナノスケールの間隔を開け，複合化していた。このことから，このポリスチレンナノ粒子の間から水が出入りすることで，複合ゲル微粒子もシードと同様に刺激応答性を示すことが明らかとなり，これは，刺激に応答して開閉するスイッチング機能を有する分子運搬体としての利用を支持する結果と考える。本共同研究成果は Langmuir 誌に掲載された (Chiaki, K.; Takumi, W.; Kazuyoshi, M.; Takuma, K. and Daisuke, S. ***Langmuir***, *32*, p1429 (**2016**).)。

さらに, pH に応答する膨潤度が異なるヒドロゲル微粒子をシードに用い作製した複合体は，そのシード粒子の膨潤度の増大に伴い，表面のナノドメイン間隔もより広がる事が明らかとなった。これらの結果から，ヒドロゲル微粒子の膨潤度と，ナノドメイン間距離との関係も明らかになった。この成果も現在 Langmuir 誌に投稿中である。

以上の結果から，今回 cryo-TEM で膨潤状態の複合体構造を観察することで，これまで明らかでなかった，表面のポリスチレンナノ粒子間の水中での空間的分布が明らかになった。これは，水中で機能を発する生体との親和性のあるヒドロゲル微粒子の評価法の１つとして重要である。



72. 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，Finlay Stewart（総合研究大学院大学・先導科学研究科）
宮崎直幸（現・大阪大学・蛋白質研究所）
村田和義（生理学研究所・形態情報解析室）
蟻川謙太郎（総合研究大学院大学・先導科学研究科）

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進めている。我々は期間内に以下の結果を得た。

（1）3 種のカートリッジの三次元再構築　アゲハの個眼には３つのタイプがある。前年度, ひとつのタイプのカートリッジを三次元再構築し，視葉板単極細胞４種を同定したが, 9 つの視細胞については, 半自動化セグメンテーションによって概形をとらえたままであった。今年度は全タイプの全視細胞と全ての視葉板単極細胞の三次元再構築を完成させた（図 1）。

（2）視細胞のカートリッジ外への投射先の同定　３種の個眼タイプのうち，２つのタイプの紫外線受容細胞のカートリッジ外への行き先を調べた。その結果，自己と異なる個眼タイプに分枝を延ばし，しかも個眼タイプ間で特異的なつながりがみられた。

（3）第 9 視細胞の軸索長の再検討　従来，ゴルジ染色法によって，9 つの視細胞のうちの第 9 視細胞（R9）の軸索は視覚第二次中枢まで投射する長いものとされていた。しかし，アゲハの SBF-SEM の結果，R9 は視葉板で終わる短い軸索となっており，ゴルジ染色による結果と矛盾する。そこで, ゴルジ法で調べられていた種の近縁種（モンキアゲハ, モンシロチョウ）の R9 に注目して SBF-SEM により三次元再構築を行った。その結果，これらの種でも，R9 の軸索は視葉板で終わっていた。R9 の軸索は非常に細いので，今回の結果が人工産物である可能性も完全には否定できないが，昆虫の系統関係を考えると，R9 は実はもともと短い軸索である可能性がでてきた。

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, Stewart, 鳥羽, 宮崎, 村田, 蟻川. 日本動物学会, 2015 年 9 月, 新潟
2. 松下, Stewart, 鳥羽, 宮崎, 村田, 蟻川. SSSEM 研究部会＆生理研研究会「電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス」 2015 年 11 月, 岡崎
3. 松下, Stewart, Perry, 木下, 蟻川. 日本比較生理生化学会，2015 年 12 月, 広島

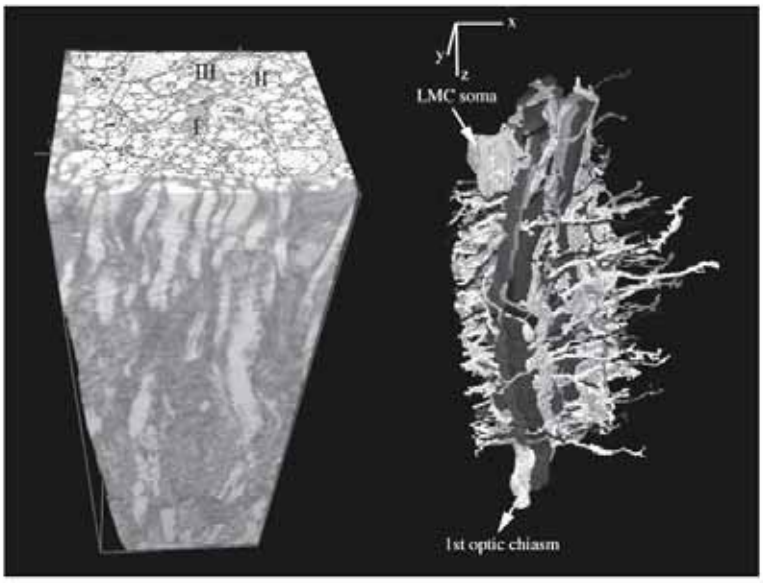


図1．**アゲハ視葉板の３つのカートリッジの三次元再構築**　SBF-SEMによって、約20本の視葉板カートリッジを含むブロック（左：50x50x100μm）から３種類のカートリッジ（I, II, III）について三次元再構築を行った。１つのカートリッジには、９つの視細胞と４つの視葉板単極細胞（LMC）が含まれており、合計38個の細胞（IIIのカートリッジには視細胞は８個のみ）の立体像を得ることができた。視葉板を出た一部の軸索は、さらに第一視交叉を経て視覚第二次中枢に投射する。

73．プロテアソーム形成に関わる集合シャペロンタンパク質複合体の電子顕微鏡解析

佐藤匡史（名古屋市立大学 大学院薬学研究科）
Arunima Sikdar（総合研究大学院大学 物理科学研究科）
Song Chihong，村田和義（生理学研究所 脳機能計測・支援センター）
矢木真穂（分子科学研究所 生命・錯体分子科学研究領域）
加藤晃一（岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命動秩序形成研究領域）

プロテアソームは, 巨大なタンパク質分解装置であり，生命現象の様々な局面で重要な役割を演じている。本分子装置は，約 80 個のサブユニットから構成され，その複合体の形成過程には集合シャペロンと呼ばれるタンパク質がいくつも関わっている。一方, 古細菌のプロテアソームのサブユニット構成は単純で，それぞれのサブユニットが自発的に集合することが知られている。最近，集合シャペロン PAC1-PAC2 の古細菌ホモログが見出された。しかしながら，自発的にプロテアソームが形成される古細菌において，集合シャペロン様のタンパク質が存在する必然性は必ずしも明らかではない。

我々は，古細菌のプロテアソーム集合シャペロンホモログ PbaA はホモ 5 量体をとることを結晶構造解析等の解析から明らかにしてきた（Sikdar *et al.* (2014) *BBRC*）。一方，20S プロテアソームは 7 量体のリング構造をとるため, PbaA との複合体ではシンメトリーミスマッチが生じており，その結晶化は困難であることが考えられる。そこで本研究では，電子顕微鏡を用いた PbaA の分子複合体の立体構造解析を試みた。

PbaA は PF0014 と呼ばれるパートナータンパク質との相互作用を通じて機能を発揮していることが推察されていたが，その詳細は不明であった。そこで我々は，まず PbaA とそのパートナータンパク質からなる分子複合体の超分子質量分析を用いたキャラクタライズを行った。

その結果，PbaA は PF0014 と 10:10 のヘテロ 20 量体を形成することを見出した。こうした解析を通じて，本分子複合体の均一性を確認し，電子顕微鏡解析のサンプルとして供した。

PbaA-PF0014 複合体を酢酸ウランで染色し EM グリッド上に固定化し，負染色による電子顕微鏡解析を行った。合計で 2,942 個の粒子を選び，PbaA の結晶構造を初期モデルとして投影像を三次元再構成し，4 種類のクラスに分類した。解析の結果，分解能は 8 Å で，本複合体は内部に空洞を有する特徴的なカゴ状の構造をとっていることを明らかにした。こうした構造を有する集合シャペロンはこれまでに知られておらず，本複合体が如何なる機能を有しているのかに興味が持たれる。本研究の成果は，プロテアソームシステムにおける集合シャペロンの分子進化的関係について，洞察を深める糸口を与えるものと考える。

【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. 超高圧電子顕微鏡観察法によるタンパク質巨大分子複合体の形成機構の解明（増村威宏ほか） …… 230
2. 細胞内共生細菌の特異なチューブ様微細構造の解析（中鉢　淳ほか） …… 231
3. 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（日高　聡ほか） …… 232
4. 超高圧電子顕微鏡を用いた細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析（唐原一郎ほか） …… 232
5. 組織化学的手法を応用した細胞小器官の三次元構造観察（臼田信光ほか） …… 233
6. 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） …… 234
7. 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） …… 235
8. 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（峰雪芳宣ほか） …… 236
9. 遠心性入力による嗅球神経回路調節の形態学的解析（樋田一徳ほか） …… 236

1. 超高圧電子顕微鏡観察法によるタンパク質巨大分子複合体の形成機構の解明

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）
宮崎直之，村田和義（生理学研究所）

【目的】

イネ種子登熟過程において，胚乳組織では小胞体内に貯蔵タンパク質の一種であるプロラミンが蓄積し，プロテインボディタイプ I (PB-I)を形成する。これまでの免疫蛍光顕微鏡や TEM を用いた形態観察で，PB-I は複数種のプロラミンが層状に蓄積した球状顆粒であることが明らかとなっている。また，PB-I はラット，ヒトの消化管で難消化性であり，消化されずに糞便中に PB-I が排出される事が明らかとなっている。

我々は, PB-I の層状構造と難消化性という特徴を活かし，ワクチンタンパク質を胃液の分解作用から保護し小腸まで送達するための経口ワクチン用キャリアーとして利用するための研究を進めている。PB-I をキャリアーとして利用する上で, PB-I の立体構造の知見を得ることは重要であると考えた。そこで，PB-I の層状構造形成機構に関する新しい知見を得ることを目的として 3 次元的な構造情報の解析を試みた。

【方法】

これまでのプロトコールを改変し調製した日本晴種子の包埋ブロックを用いて SBF-SEM による連続ブロック面画像を取得した。その画像を元に，立体構築ソフト 3Dmod を用いて目視で確認できる PB-I の外周輪郭をマニュアルで描写し，胚乳組織における PB-I の立体像を抽出した。また，PB-I の内側にある電子密度の異なる層の輪郭を描写し，層状構造を観察した。

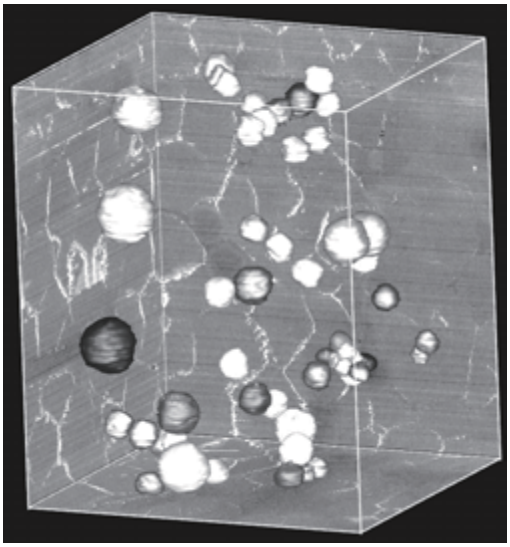
【結果】

SBF-SEM 画像を元に縦 9.90 μm×横 8.85 μm×高さ 23.6 μm の空間中における PB-I の抽出を行った。PB-I 外周の輪郭を描写し抽出した場合では，大型の PB-I と小型の PB-I が共存していることを立体的に捉えることができた（図 1）。また，細胞内における PB-I の位置関係も観察することが可能となった（図 1）。

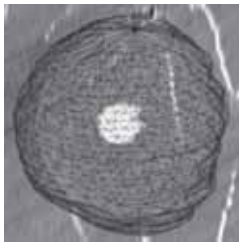
更に，PB-I 内部の電子密度の異なる層の輪郭を抽出した場合には，層状構造を立体的に捉えることが可能となった（図 2）。

サンプル調製プロトコールを改変したが，イネ種子はチャージアップが起こりやすいため SBF-SEM 画像取得の際に微妙な歪みやズレが生じ，3 次元構築する対象物にズレや歪みが生じやすい。

今後は，超高圧 TEM の手法を組み合わせることで，植物胚乳組織内における高解像度の立体情報を得ることを試みる。



（図 1）胚乳組織内 PB-I の立体像



（図 2）PB-I 内部の層状構造

２．細胞内共生細菌の特異なチューブ様微細構造の解析

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）
洲崎敏伸（神戸大学大学院理学研究科）

さきごろ提案代表者らは，昆虫細胞内より，世界で初めて「オルガネラ様防衛共生体」を発見し，*Candidatus* Profftella armature（*Betaproteobacteria*,，以下 *Profftella*）と命名した。本研究は，*Profftella* の細胞内に見出されたチューブ様微細構造体の３次元立体構造を，超高圧電子顕微鏡を用いた電子線トモグラフィー法により高分解能で解析し，構造体と *Profftella* の特異な生態学的機能との関連を探ることを目的とした。

ゲッキツ上で飼育した半翅目昆虫ミカンキジラミ（*Diaphorina citri*; キジラミ上科, キジラミ科）を解剖し，*Profftella* を収納する共生器官「バクテリオーム（bacteriome: 菌細胞塊）」より取り出した試料を常法に沿って固定・脱水・樹脂包埋し，一般的な TEM 電顕観察を行ったところ, *Profftella* 細胞内にチューブ状と推察される構造体が見出されたが，そもそも原核細胞内において同様の構造は知られておらず, *Profftella* の特異な生態学的機能との関連が示唆されたた。そのため，SBF-SEM を用いてこの構造を解析したところ，*Profftella* 細胞自体が予想以上に細長く, それに沿って走る当該構造体も，長いものでは 10 μm 以上に及ぶ，枝分かれをしていないチューブ状形態を取ることが判明した。しかし，分解能の制約から，その構造の詳細は不明であった。そこで次に，厚切り樹脂切片（500 nm）を作製し, 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チューブ状構造の微細形態を解析した（図１）。

その結果，チューブ構造の壁は太さが約 100 nm の直径を有する数本のプロトフィラメントから構成されており，プロトフィラメントは全体的にゆるい左巻きらせんを描くようにねじれて配行していることがわかった。

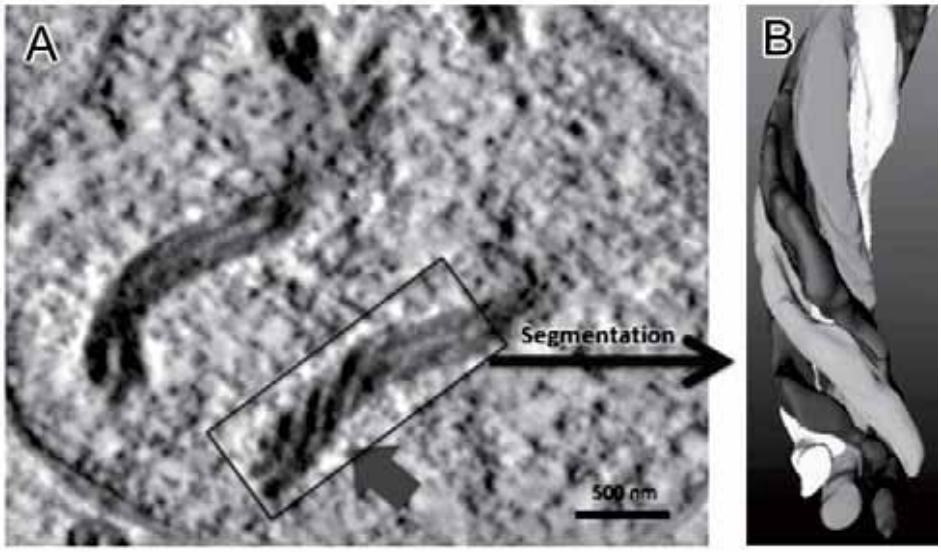


図 1. *Profftella* の細胞内に見出されたチューブ様微細構造体の電子線トモグラム（A）と、黒枠で囲った部分から作成した３次元モデル。

３．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）

神経系で電気シナプスの機能に着目し，網膜神経節細胞間の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。電気生理学実験の時 Neurobiotin を注入して発色したり，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，ギャップ結合による接触形態や電気シナプスの制御様式を解析できる。

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，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た。同型の細胞が樹状突起の先端近くで接触し，そこでギャップ結合の存在の有無を調べた。電極内に高濃度の 5mM 環状 AMP(cAMP)を充填し，dual whole-cell patch clamp 法で調べた結果，コントロールに比べ，電気シナプスの細胞間コンダクタンスは遮断され，抑制されることが明らかになった。さらに，網膜神経節細胞間のギャップ結合における cAMP の遮断効果は，ギャップ結合蛋白 connexin36 の細胞内ドメインに対する抗体を同時に電極内に充填した時には消失することが分かった。

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 1 μm 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網膜神経節細胞間では樹状突起の先端近くで接触し，そこには形態学的にギャップ結合の形成が同定された。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近くにあるギャップ結合に局在し，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同定された。

今後，電気生理学的 cAMP の遮断作用と，ギャップ結合蛋白の細胞内ドメインに対する抗体による消失効果について，超高圧電子顕微鏡を用いた微細形態構造の変化を解析し，生理機能と形態構造との関係を調べたい。

４．超高圧電子顕微鏡を用いた細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析

唐原一郎，玉置大介（富山大学大学院理工学研究部）
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。細胞骨格については，加圧凍結・凍結置換により調製したタマネギ表皮細胞を用い，植物の細胞分裂に関わる分裂準備帯で，微小管と細胞膜との架橋構造の微細構造を検出することを目指した。具体的な方法としては，細胞膜に垂直な 0.5 μm 切片において，倍率は 1 万倍とし，今回は回転軸を分裂準備帯微小管の向きに沿わせた軸とそれに垂直な軸とを組み合わせた 2 軸でのトモグラフィーも試みた。しかし 1 軸のみと比べても得られる情報量には余り差が無かったので，効率を考え今後は 1 軸のみで行うことにした（Takeuchi et al. 2016）。一方で，シロイヌナズナ種子の胚の X 線 CT による器官・組織など細胞集団レベルでのオルガネラ動態解析の可能性を探っている。ただ現時点では，X 線 CT 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，X 線 CT

と微細構造をつなぐ目的で超高圧電子顕微鏡を用いた電子線トモグラフィーに着目した。一部を切り取ったシロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.の Col-0 株の乾燥種子をグルタールアルデヒドで 12 時間 4℃で前固定の後，en bloc 染色として，二重オスミウムによる Ellisman らのプロトコルを一部修正して試料を調製・包埋した。1 μm の厚さの切片を切り，post staining を行い，今回は大きな金粒子（250 nm）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，加速電圧 1,000 kV での超高圧電子顕微鏡（H-1250m，日立）観察に供した。皮層および内皮細胞に着目し，撮影倍率は 1500 倍で-56º から 56º まで 2º ステップで回転させて傾斜画像を撮影し，傾斜画像からの立体再構成を行った。

その結果，電子密度の高いグロボイドが比較的良く残っていたため，プロテインボディの識別が容易となった。また X 線 CT により，乾燥種子内で成熟種子が乾燥する過程で細胞が縮んだために生じたと推測される細胞壁のゆがみが見られていたが，このことを微細構造レベルで確認できた。

（参考文献：Takeuchi, M., Karahara, I., Kajimura, N., Takaoka, A., Murata, K., Misaki, K., Yonemura, S., Staehelin, L. A., and Mineyuki, Y. (2016) Single microfilaments mediate the early steps of microtubule bundling during preprophase band formation in onion cotyledon epidermal cells. *Mol Biol Cell* 27: 1809-1820.）

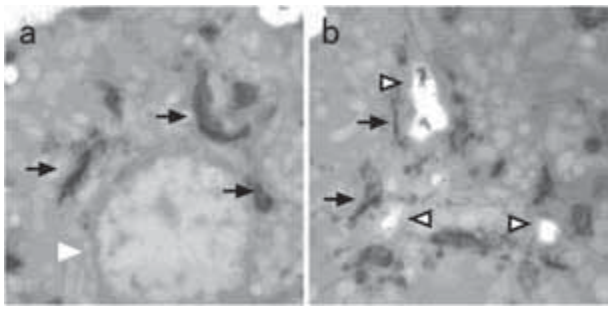
５．組織化学的手法を応用した細胞小器官の三次元構造観察

臼田信光，森山陽介，須崎大地（藤田保健衛生大学部・医学部）
野田　亨（藍野大学医療保健学部・理学療法学科）
橋本真佳（名古屋工業大学・院・工学研究科）

細胞小器官の立体構造について，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡観察は，すべての細胞内構造に応用でき，さらに組織化学的手法と併用すると組織特異的な観察ができるというメリットがあるが，三次元再構築には多大な経験と労力が必要である。本研究においては，組織化学的手法を用いた特異的な観察に利点を見出し，超高圧電子顕微鏡観察法で立体観察を行って，タンパク質の糖鎖修飾などを担う重要な細胞小器官である Golgi 装置の構造観察を行った。

Golgi 装置は，複数の偏平な袋状の膜構造が一定の間隔で層をなした構造として知られている。核の周辺で極性をもって位置し，その分布については主に核の近傍に複数のゴルジ装置が存在するとされている。今回は，組織間，細胞間の Golgi 装置の構造の差異について検討を加える手始めとして，ラット肝臓組織と，ラット好塩基球性白血病由来の培養細胞である RBL を用い，古典的還元オスミウム法である Zinc-Iodide Osmium (ZIO)法による偶発的な Golgi 装置の染色法と，全ての Golgi 装置が染色されることが期待できる組織化学的標識を用いて複数の Golgi 装置間の位置関係について超高圧電子顕微鏡による観察を試みた。

ラット肝臓の Golgi 装置については固定した組織小片を ZIO 法で染色した。RBL についてはカバーグラス上に培養し，抗 TGN38 抗体を酵素抗体法により染色しオスミウム処理した。それらを樹脂包埋し，1 ないし 2 μm の切片を作製し超高圧電子顕微鏡によるステレオペアでの立体観察を行った。



これらを観察すると，肝臓においては核（図 a：矢頭）周辺に複数の Golgi 装置（図 a：矢印）が観察されるほか，毛細胆管（図 B：矢頭）周辺にも局在することが示された。これらの個別の Golgi 装置同士が連続しているかについても着目しているが，今回の観察では確認できなかった。RBL の Golgi 装置については，2 μm の切片を作成しているため 1 つの細胞を厚み方向に 3 切片で観察で

きるが，組織化学による染色のコントラスト不足のため，明瞭な結論は得られなかった。

今後は超高圧電子顕微鏡と連続ブロック表面-走査型電子顕微鏡観察の両方にに適した組織化学的手法を開発・改良し，組織間，細胞間の細胞小器官の立体構造とその差異について検討を加えたいと考えている。

6．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，高浪景子，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（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，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***）。さらに我々は，GRP ニューロンから球海綿体脊髄核や仙髄副交感神経核への投射について，超高圧電子顕微鏡を用いたコンピュータトモグラフィー・三次元立体再構築法により超微形態学的に明らかにしてきた。（Sakamoto *et al*., ***Endocrinology,*** 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***）。また，我々は，ラット脊髄後根神経節において，少数の小型細胞の細胞体が GRP 免疫陽性を示し, 脊髄後角表層においても，GRP 免疫陽性線維が分布すること，さらに，この GRP 免疫陽性線維は, 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***）。一方，我々は，超高圧電子顕微鏡に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を応用することで，シナプス構造，ミトコンドリアや細胞膜といった細胞内構造を明瞭に観察することに成功した。今回，この手法を用いた超高圧電子顕微鏡コンピュータトモグラフィー法により，痒み感覚を司る神経ネットワークの解析を試みた。

その結果，ラット頸髄後角表層の，GRP 免疫陽性ニューロン軸索終末において，シナプス構造とそれを介して接続する樹状突起が観察された（図）。この結果，脊髄後角に投射する GRP ニューロンが, シナプスを介して痒み感覚の伝達を行っていることが示唆された。これらの成果は，平成 27 年度 SSSEM 研究部会＆生理研研究会合同ワークショップ「電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス」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，論文として学術誌上にて発表した（Satoh and Takanami *et al*., 2015, ***Neuroscience Letters***, Satoh and Takanami *et al*., 2015, ***Data in Brief***）。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。

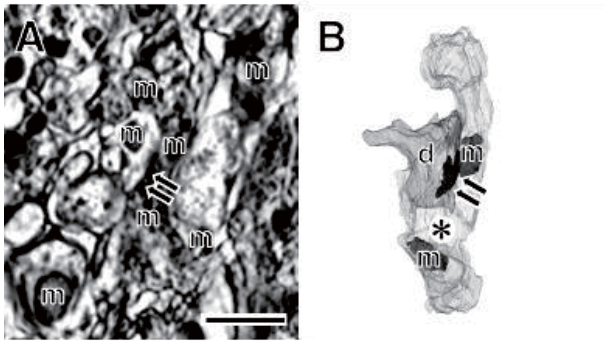


図: ラットの頚髄後角表層の超高圧電子顕微鏡観察像。連続表面走査型電子顕微鏡で用いられる特殊な重金属染色法を行った厚さ 1 μm 切片での結果，シナプス構造（二重矢印）や細胞膜，ミトコンドリア（m）といった細胞構造が明瞭に観察された（A）。コンピュータトモグラフィー法による三次元再構築を行った結果，GRP 免疫陽性ニューロン（＊），ミトコンドリア（m），シナプス構造（二重矢印），およびシナプス構造により接続する樹状突起（d）が可視化された（B）。（スケールバー ＝1 μm）.

7．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，ソン チホン，松元里樹（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）

渦鞭毛虫類の染色体は常に凝集しており，ユニークな形態を示すことが知られている，このような染色体構造の立体構造はこれまで十分には調べられたことがなかった。今回，超高圧電子顕微鏡を用いて三次元構造解析を行い，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* と，比較として一般的な渦鞭毛虫の代表種である *Heterocapsa circularisquama* 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染色体の構造を解析した。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* の染色体の内部構造ついて調べた [1)]。

Fig. 1 に示すように，*O. marina* の染色体の内部構造は比較的無構造に見えた。比較として用いた *H. circularisquama* では，これまでに知られているように，染色体内の染色糸が一定の周期でアーチ状構造の繰り返し構造を取り，その結果いわゆるコレステリック液晶構造を形成していた。一方，今回初めて観察を行った *Oxyrrhis marina* では，そのような周期的構造はまったく観察されなかった。渦鞭毛虫では，真核生物に比較的普遍的に存在することが知られているヒストンが核内には存在していない。その代わりに他の塩基性タンパク質が DNA と結合しているが，その種類は渦鞭毛虫の種類によって異なっていると考えられている。今回認められた染色体の構造的相違も，核内塩基性タンパク質の違いに起因している可能性が示された。

1) Song, C., Fukuda, Y. and Suzaki, T. (2015) 3-dimentional analysis of dinoflagellate nucleus by electron microscopy. VII European Congress of Protistology, Seville, Spain, 5-10 Sept., 2015.

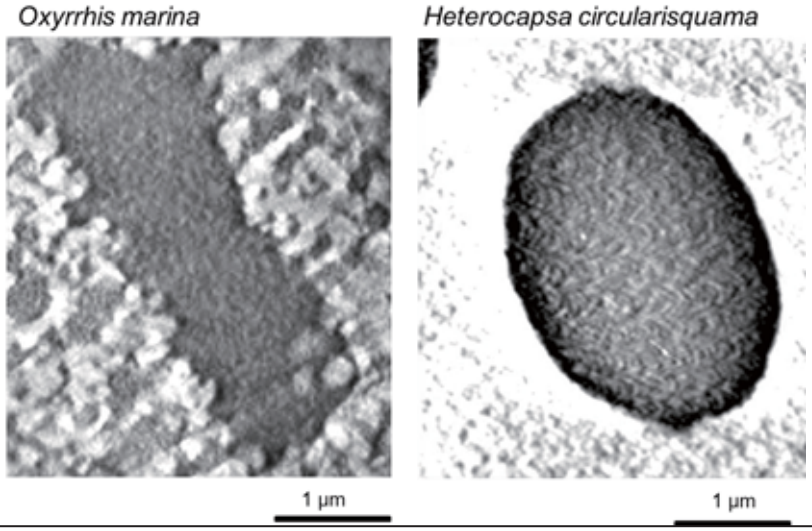


Fig. 1. The chromosome of *O. marina* (left) does not show a cholesteric liquid crystal structure, while that of *Heterocapsa circularisquama* (right) shows a typical cholesteric liquid crystal structure.

８．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

峰雪芳宣，中井朋則（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）
ソン チホン，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きた。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 列に並んでおり，この CSC から排出されたセルロースはリボンを形成すると考えられているが，1 列に並んだ CSC で合成されたセルロースがどのようにしてリボンを形成するのか，不明な点が多い。そこで，氷包埋試料による電子線トモグラムを解析することで, リボンの形状を3Dで明らかにすることを試みた。

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

昨年度，菌体から排出されるセルロース繊維が，菌体から離れるに従って段階的に太くなっていることを示唆する像を得たので, 今回, 位相差観察により得た像を使って, 菌体から離れた場所にある典型的なセルロース繊維のトモグラムを作製した（倍率 25,000 倍，0.39 nm/pixel，-58° ～ +60° の範囲で 2° ごとに修得した連続傾斜画像から作成，図 A）。図 A でセルロース繊維が上から下にかけて観察できる。また, 左上から交差するようにもう 1 本のセルロース繊維束が観察できる。この繊維束の横断面では, 複数個の繊維の集まりが縦に並んでセルロースリボンが出来ているように見えたが, 位相差電顕を使用しても個々の単位を明確に区別することは出来なかった（図 B）。

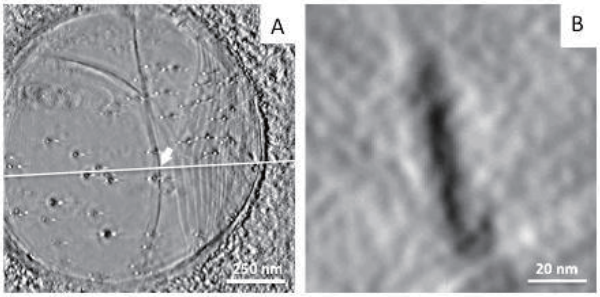


図　酢酸菌セルロースのトモグラム。(A) 全体像。(B) (A)の矢印の箇所の横断面像。

９．遠心性入力による嗅球神経回路調節の形態学的解析

樋田一徳，清蔭恵美，浜本真一
（川崎医科大学解剖学）

嗅覚の一次中枢嗅球の神経回路の調節に関わる他の脳領域からの遠心性入力の機構は不明な点が多い。我々は最近，これら遠心性入力の線維上に形成するシナプスには特徴的な膨らみ構造（varicosity）があることがわかった（Suzuki et al, 2015）。これはレーザー顕微鏡では正確に解析できない微細構造である。本実験は超高圧電顕の高解像力（厚く，微細に）で，遠心性線維の詳細な解析を目的としたものである。

C57BL6 系及び TH-GFP, Serotonin-Cre, ChAT-Cre, トランスジェニックマウス嗅球を用い，起始核である縫線核，ブローカ対角帯水平脚にシンドビスウイルス及びアデノウイルスを全身麻酔下に脳定位手術によって注入し，免疫染色などによりセロトニン（5-HT），アセチルコリン（ACh），ノルアドレナリン（NA）ニューロンの単一細胞標識を行った。更に各種抗体，各種細胞マーカーを用いた多重免疫染色を行ない, metal-DAB 法で置換標識，エポン包埋後 3 ～ 5 μm 厚に再薄切，超高圧電顕で微細立体解析を行った。今年度は ACh ニューロンを中心に解析を進めた。

ACh ニューロンは嗅球糸球体層に顕著に線維が分布

している。単一細胞標識では，深部から嗅球に入り，表層に向かって上行し，糸球体内で分岐し，更に糸球体内外で複数に分枝している。これが複数集合し，複雑な網目構造を呈している（レーザー顕微鏡及び Neurolucida）。

透過型電顕によりシナプスを形成していることがわかった varicosity を含む線維を超高圧電顕で観察した。糸球体内の ACh ニューロンは varicosity 部分が短径 0.86±0.032 μm, varicosity を形成しない線維部分が 0.27±0.019 μm であった。これは 5-HT ニューロンより小さい。また線維 10 μm あたりの varicosity 分布は 2.27±0.35 個で，5-HT ニューロン（約 0.8 個）より高密度である。

以上のように，他の脳領域からの異なる遠心性入力は，分布領域，線維密度が異なり，シナプス形成について多様性のあることがわかった。（Hamamoto M. et al, 2016 投稿中）

現在，更に NA ニューロンも解析を進めており，異種の遠心性入力要素の構造的特徴と多様性，そしてその存在意義について解明したいと考えている。

【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. マカクザルの脳構造撮影(鯉田孝和ほか) 242
2. 温熱感覚に関わるヒト脳の時空間的神経ネットワークの解明(中田大貴) 242
3. 運動イメージの形成に関わる神経機構の解明(和坂俊昭) 243
4. 音象徴性に基づく主観的印象と共感覚の脳内表現に関する研究(坂本真樹ほか) 243
5. 運動同期による二者一体化の神経機構(三浦哲都ほか) 244
6. 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) 244
7. 社会的接触による感情的サポートの神経基盤の解明(荻野祐一ほか) 245
8. 社会的疲労の神経基盤研究(渡辺恭良ほか) 246
9. 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) 246
10. 触覚による素材感の生成に関わる神経基盤の解明(大岡昌博ほか) 247
11. 語用論的解釈の神経基盤―発話における意図的不調和の処理過程に着目して(松井智子ほか) 248
12. 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
13. 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) . 250
14. コミュニケーションにおける日本人英語学習者の統語的プライミング効果(原田康也ほか) 250
15. 顔色処理の脳内メカニズムの解明(南　哲人ほか) 251
16. 温熱的快適感の脳内形成機序の探索(永島　計ほか) 251
17. オキシトシンによる食欲調節(矢田俊彦ほか) 252
18. スポーツと脳構造(荒牧　勇ほか) 253
19. 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) ... 254
20. 極薄フレキシブル電極を用いたサルの脳の電気活動と MRI の同時計測（関野正樹ほか） 254
21. 変化関連脳活動を指標にしたプレパルス抑制－精神疾患研究に向けたパラダイムの確立(元村英史ほか) ... 255
22. 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) 256
23. 脳波・脳磁場計測による語彙処理過程における形態素の役割の検討(井田佳祐ほか) 256
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) 257
25. 社会的意思決定に関わるメカニズムの解明(田中沙織) 257

１．マカクザルの脳構造撮影

鯉田孝和（豊橋技術科学大学 エレクトロニクス先端融合研究所）
小松英彦（生理学研究所 感覚認知情報研究部門）

提案代表者は，視覚認知に関わる神経基盤を理解するために，覚醒下マカクザルから脳神経細胞の活動を記録する実験を行っている。微小電極を脳部位に刺入し，単一神経細胞の活動として記録するためには，目的の部位に正しく電極を導く必要がある。サルの脳構造には個体差があるため，あらかじめ個体ごとに脳の三次元構造をMRI により取得し部位を特定することが望ましい。提案代表者の研究機関ではマカクザルを用いた慢性電気生理実験が可能であるが，MRI が配備されていない。そこでサル MRI が撮影可能な生理研イメージング機器を利用することとした。

生理学研究所のイメージング機器（MRI, Allegra）を用いて，2016 年 3 月 24 日に 6 時間の機器専有で，マカクザル二頭の脳構造画像を取得した。サルはナショナルバイオリソースから提供を受けたもので，豊橋技科大において飼育馴化されている。ヘッドホルダー取り付けなどの外科処置は行われていない。これらサル二頭を輸送用ケージ（豊橋市保健所許可取得済み）に入れ，生理学研究所まで業者（日本 SLC）による搬送を行った。到着後，外部利用者用の処置室にて麻酔等の前処理を行った。動物は，ケタミン（10 mg/kg）及びペントバルビタール（20 mg/kg）により麻酔非動化し，MRI 室に運搬した。一頭あたり約４０分かけて脳構造画像の撮影を行った。撮影後サルを処置室に戻し，二頭目の撮影へと移った。この間に不幸にも一頭目が麻酔回復時のトラブルにより死亡した。

撮影結果は良好であり，ターゲットとなる神経核，大脳皮質領域，脳溝が十分に目視可能であった。撮影データは解析により耳道および眼窩下部を基準とした座標系に変換され，断面画像一覧ならびに，頭蓋等を除去した 3D 画像として利用することができた。今後，目的の記録部位を特定し，頭蓋骨など外部から参照可能な座標系と対応づけることで，記録用チャンバーの取り付け，ならびに電極刺入時の参照地図とする。

以上の解析は所内の郷田直一助教が開発したソフトを利用することで極めて迅速に行うことが可能であった。機器による測定だけでなく，サルの MRI 撮影に特化した器具の供給，実験作業，解析の協力が揃ってこそ効果的な共同利用となると実感された。

２．温熱感覚に関わるヒト脳の時空間的神経ネットワークの解明

中田大貴（奈良女子大学 研究院生活環境科学系）

Medoc 社製の PATHWAY という温冷刺激装置を用い，温熱による痛覚刺激に関する脳反応を計測した。実験は被験者 13 名（男性 11 名，女性 2 名）を対象として，脳波誘発電位を記録した。右頬部（顔），右前腕部（手），右前脛骨筋部（足）に対し，10 秒に 1 回の頻度で刺激を呈示し，それぞれ計 30 回与えた。刺激温度は 51℃で一定とした。脳波は Fz, Cz, Pz, C3, C4 の 5 部位から記録した。解析対象は刺激後約 350-550 ミリ秒で記録される N2 成分のピーク潜時とピーク振幅，約 500-700 ミリ秒で記録される P2 成分のピーク潜時とピーク振幅，ならびに N2 成分と P2 成分の差分を表す N2-P2 成分の振幅とした。それぞれの指標に関し，部位（顔・手・足）・電極に関する二要因の分散分析を行った。また，刺激に対する慣れ（Habituation）の効果を検討するため，前半 15 回，後半 15 回を別々に再加算平均し，顔，手，足それぞれに特異的な慣れの効果を検討した。慣れ（前半・後半）・部位・電極に関する三要因の分散分析を行った。実験の結果，P2 成分の振幅，N2-P2 成分の振幅において，部位に関する有意な主効果が認められた。つまり，刺激温度はどの部位に対しても一定にしていたにも関わらず，顔に与えた際に最も大きな脳活動が認められた。また N2 成分の潜時，P2 成分の潜時にも，部位に関する有意な主効果が

認められた。これは足刺激の際に潜時が最も長く，顔刺激の際には最も短かったため，刺激された身体部位と関連していると考えられる。さらに，N2-P2 成分の振幅に関して，手および足刺激の際に，慣れの有意な主効果が認められた。顔刺激の際には，慣れの効果は認められなかった。このことは，手および足刺激の際には，後半に振幅が低下するが，顔刺激の際には振幅が低下しないことを意味した。また，N2 成分の潜時，P2 成分の潜時に関し，顔刺激の時のみ，慣れの効果が見られ，後半の方が潜時は有意に遅くなっていた。

以上の結果をまとめると，温熱による痛覚刺激を顔に呈示すると，同じ温度刺激であったとしても，手・足よりも脳反応が大きい。さらに，手・足刺激とは異なる慣れの効果が顔刺激の際に見られるようである。次年度は，このような慣れの効果が温熱による痛覚刺激特異的な反応なのか，いわゆる触覚刺激に対しても見られるのか，検討を続けていく予定である。

３．運動イメージの形成に関わる神経機構の解明

和坂俊昭（名古屋工業大学）

我々は心の中で運動を思い浮かべ（運動イメージ），遂行することが出来る。この時，実際の運動の遂行と同様の脳活動を示すことが報告されている。そのため運動イメージを用いたトレーニングは，実際に運動を行うことの出来ない運動疾患を有する患者や，激しい運動を行うことが困難な高齢者や子供に対して有用であることが示唆されている。しかし，運動イメージは曖昧なものであるため，明瞭なイメージを想起することは困難である。

運動イメージには，三人称視点で運動している視覚情報を想起する「視覚イメージ」と一人称視点で運動している筋肉の感覚を想起する「運動イメージ」がある。運動イメージ時には，運動に関連する感覚情報が存在しないため，運動に関連する感覚情報を内的に想起する必要がある。そこで本研究では，運動イメージに際して視覚情報や筋感覚に関わる体性感覚情報を補助的に提示してやることで，運動イメージに関する脳活動を増強するとともに，明瞭な運動イメージを想起できるのかを検討する。運動イメージに関わる神経機構を解明することで，運動イメージに関連する脳活動を定量化するとともに，運動イメージを明瞭に想起する方法の確立を目指すものである。

イメージする運動課題は手掌上に 2 個の球を保持し，手指を用いて時計回りに回転するものである。最初に，実際の運動課題時の体性感覚領域の活動を計測し，運動イメージ時との脳活動と比較することで，運動イメージの特徴を明らかにする実験を行った。実際に運動を行った時には，体性感覚誘発脳磁場の最初の皮質応答である M20 は減少したが，この成分の後に出現する成分（約 40 msec）は，有意な増大を示した。この結果は，非常に興味深いものであり，運動時に体性感覚情報を与えてやると，一次体性感覚野の活動が増強する可能性を示している。現在はこの結果が，運動イメージ時に同様の現象がみられるのか，運動イメージの促進に対してどのような働きを持つのかを解明するための実験を進めている。

４．音象徴性に基づく主観的印象と共感覚の脳内表現に関する研究

坂本真樹，梶本裕之，土斐崎龍一（電気通信大学）

音象徴の神経基盤については，これまでいくつかの研究が行われているが，その神経基盤に関しては明らかではない。本研究計画は，申請者が開発したオノマトペ生成器を活用して，柔らかさ-硬さの音象徴性に関する神経基盤について明らかにしようとするものである。柔らかさ-硬さのオノマトペは，触覚に依存しない脳部位（言語野や意味的ネットワーク）と触覚に依存する部位で構成されると考えられる。この感覚依存性の有無を検証する

には，解剖学的に体性感覚野を同定するだけでなく，触覚課題を実施したほうが，より正確に同定できる。そこで，梶本准教授が共同利用実験者に参画し，共同で触覚刺激と触覚刺激装置の製作を行った。実際に生理研の MRI scanner (Siemens Verio)を使用し，実験セットアップを確立した。本題である音象徴性の実験に関しては，柔らかさに関連する新奇オノマトペと慣用オノマトペおよび擬似単語をそれぞれ 24 語作成し，想起される柔らかさ強度の違いを，心理物理学実験により確認した。これらの刺激を用いて実験呈示プログラムを作成しており，次年度に予備実験と本実験を行う予定である。

５．運動同期による二者一体化の神経機構

三浦哲都（早稲田大学スポーツ科学学術院）
岡﨑俊太郎（早稲田大学人間科学学術院）
山本裕二（名古屋大学総合保健体育科学センター）
定藤規弘（生理学研究所）

人間は他者と共有された現実を経験することに対して根源的な欲求を持ち，運動同期はその手段の一つである（Echterhoff, 2009）。このことは人間が太古より，集団で音楽を奏で，共に踊ることで他者との絆を深めてきた歴史的な事実（Mithen, 2005）からもその妥当性が支持される。近年社会心理学の研究から，他者との運動同期による社会性の向上や，相手の心理変化（印象が良くなるなど）が多数報告されており，運動同期そのものが心理変化を起こすことが明らかになってきた。しかし社会心理学の研究では，運動同期が二者の境界を曖昧にすることで，二者の絆が深まるという直観的な説明に留まっており，その神経機構は検証されていない。本研究は運動同期により創発する二者の絆の神経機構を明らかにする。

運動同期による二者の脳活動の変化を dual fMRI で計測する前に，運動同期によって心理的，行動学的変数がどのように変化するのかをまず押さえる必要がある。Okazaki ら(2015)は，二者が静的立位姿勢で見つめあうと姿勢動揺が同期することを報告した。そこで，本研究では二者の姿勢同期が，リズミカルな運動を同期させる前後でどのように変化するのかを調べた。データは三浦が 2014 年にモンペリエ第一大学で計測したデータを用いた。この実験では，大学生 30 名が 2 人 1 組で向かいあって立ち，リズミカルに膝の屈伸運動を行った。その前後での，自他認知に関する心理指標，向かいあった状態での静的立位の姿勢動揺を計測した。その結果，自他の認知と関わる心理指標（自分と相手をそれぞれ１つの円と見なし，その２つの円が重なる面積が異なる 7 段階の選択肢）が変化し，自分と運動を同期した相手を，より重なり部分の大きい２つの円として捉えるようになった。また二者の姿勢動揺(左右方向の COP)の相互相関が，リズム運動同期後に有意に増加することが明らかになった。さらに，二者の姿勢動揺の因果性(Akaike causality)を定量化すると，リズム運動同期後には，両者が相手から受ける影響度が有意に増加することが明らかになった。これらの結果は他者との運動同期が，自他の認知を変え，その後の身体運動の同期率を増加させることを示唆する。以上の結果を踏まえて，今後 dual fMRI での実験系を構築する。

６．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）

共感性の中でも相手の表情に対する感情的共感性は，個人の性格傾向と関連が高い。従来の研究では，主に感情を表出した静止画像を用いた実験が行われてきた。本研究では悲しみと喜びの表情を示す動画を用いることで，

現実社会に近い条件で脳機能を計測した[1]。被験者を悲しみと喜びの 2 群に分け，動画を見た後に同じ人物の中性顔と新奇な人物の中性顔を提示した。感情を表出していた顔と，そうでない顔に対する脳の反応を比較した。

悲しみ群では海馬，上側頭回，紡錘状回など，喜び群では前部帯状回が強く賦活された。両群で共通して賦活した領域は，右前頭前野であった。悲しみ群における脳賦活は，喜び群よりも広範囲であった。悲しみに強く反応する領域は，顔関連領域に分布していた。従って少なくとも日本人では，悲しみに対する脳の反応性に特徴があることが示された。

国際比較研究では米国人，米国在住日本人，日本在住日本人の 3 群で脳活動を比較した[2]。反応抑制にかかわる下前頭回領域の活動は，日本在住日本人において米国人と米国在住日本人より有意に強かった。この結果は反応抑制の脳機能は，遺伝的要素より環境的要素と関連性が高いことを示している。また行動的一貫性を測る質問紙得点と，反応抑制にかかわる前部帯状回の活動に有意な正の相関があった。

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研究論文が出版された[3]。

1) Harada T, Hayashi A, Sadato N, Iidaka T, Neural correlates of emotional contagion induced by happy and sad expressions. Journal of Psychophysiology, doi: 10.1027/0269-8803/a000160
2) Pornpattananangkul N, Hariri AR, Harada T, Mano Y, Komeda H, Parrish TB, Sadato N, Iidaka T, Chiao JY, Cultural influences on neural basis of inhibitory control. Neuroimage (in press)
3) Iidaka T, Harada T. Cultural values modulate emotional processing in human amygdala, In: The Oxford Handbook of Cultural Neuroscience, Eds, Chiao JY et al., pp 107-120, Oxford University Press, New York, NY, 2015

7．社会的接触による感情的サポートの神経基盤の解明

荻野祐一（群馬大学大学院医学系研究科）
川道拓東（群馬大学医学部）

今年度は，感情的サポートを受ける状況を実験室環境で構築するための実験的検討を実施した。感情的サポートを受ける際には，対象者が陰性感情となっていることが一般的である。そのため，陰性感情を実験室環境で惹起させるための実験課題(他者からの否定的・肯定的な評価を受ける課題)を開発し，その際の脳活動を fMRI により計測するとともに，感情状態の主観的評価を実施した。実験においては，生理学研究所の Siemens 社製 3 T MRI を用いて，28 名の健常者(男性: 15 名／女性: 13 名／平均年齢 [±SEM]：20.6±0.4 歳)に二日間に渡る実験を課した。初日にビデオカメラの前で自己紹介を実施した後に，二日目(一週間後)に当該ビデオを見た他者から評価を受けた結果を提示すると教示した上で否定的・肯定的な評価を受けた時の脳活動を計測した。なお，評価は全てダミーのもので事前に規定した順番で提示を実施し，被験者ごとにカウンターバランスした。解析の結果，他者から否定的評価を受けることで陰性感情が惹起されることを，主観的評価(7 件法。1 がとても陰性，7 がとても陽性)により確認した(否定的評価: 2.9±0.1／肯定的評価: 6.0±0.1)。さらには，体動が大きかった二人の実験参加者のデータを除いて fMRI データを解析することで，否定的評価を受ける時には肯定的評価を受ける時と比較して身体・精神面での痛みの感情面での処理を行う前部帯状回(12, 16, 64)，左前部島(-46, 20, 8)の活動を見出されることを確認した(N=26)。これより，陰性感情を実験的に惹起する課題開発を完了した。今後は本手法を発展させ，社会的接触による感情的サポートの神経基盤の解明に向けた実験的検討を加速する。

８．社会的疲労の神経基盤研究

渡辺恭良，佐々木章宏，水野　敬，渡辺恭介
（国立研究開発法人 理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター）
定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所）

本研究では他者との社会的な関わりが精神的疲労に及ぼす影響を明らかにするため健常被験者を対象に実施した。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，精神的ストレスの蓄積によっても生じる。長時間の認知課題などの疲労負荷で惹起される急性の精神的疲労によって副交感神経活動が低下し交感神経活動が亢進することが知られており，疲労と自律神経系の密接な関連が示唆されている。また他者から評価を受けるなどの社会的ストレスが主観的な不安感を増大させるのみならず心拍数を上昇させるなど，社会的ストレスと自律神経活動の関連もまた知られている。これらのことから他者との関わりによる社会的ストレスの蓄積が疲労として表現されると考え，他者からの視線を受けながら課題を遂行している際の疲労感の変化について検討した。

18 名の健常被験者は見知らぬ他者に観察されている実験環境下で，作業記憶課題である 2 バック課題を疲労誘発課題として 30 分間連続して行った。疲労誘発課題の前後には modified advances trail making test (mATMT), visual analog scale (VAS) による疲労評価を行った。

VAS 評定の結果から被験者の主観的疲労感の有意な増大を認め, 疲労誘発課題の妥当性が認められた。さらに，被験者の主観的ストレスの評定値が，観察者がある際には疲労誘発課題後に有意に増大するが，観察者が不在の際には疲労誘発課題後の有意な増大は認められなかった。このことから他者の存在が精神的ストレスを増大させることが示された。今後，疲労誘発課題と同時計測を行った脈波データを解析することにより，他者からの視線が自律神経機能へ及ぼす影響を明らかにするとともに，社会的ストレスと疲労に関連する神経基盤の同定を目的とした機能的 MRI 研究へと展開する。

９．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，野崎　恵（電気通信大学 情報理工学研究科）
神谷之康（京都大学情報学研究科）
高橋陽香，青木直哉，角谷基文，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（fMRI）計測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 27 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。昨年度までに行った示指先端部への触覚線分運動刺激の場合には，触覚刺激が表現されているはずの体性感覚野の fMRI 信号から触覚刺激の種類が予測できない場合があったので，安定した触覚刺激の予測成績を実現するために実験刺激を改良し，示指，中指，薬指の三指先端部の同時刺激ができるようにした。またマルチバンド撮像法を導入することにより，広範囲の脳部位の高速計測を可能にし，実験時間の短縮化を目指した。得ら

れた実験データは，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した。

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，新規実験によってもおおむね観察された。また，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あることも確認された。平成 27 年度中には計 10 名の被験者の実験を完了することができた。当該結果の公刊を目指し，追加データの取得ならびに解析を継続する予定である。

10. 触覚による素材感の生成に関わる神経基盤の解明

大岡昌博（名古屋大学）
宮岡　徹（静岡理工科大学）
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。申請者はこれまで VHI を用いて，ヒトが行っている粗さや柔らかさなどの素材感を触覚により捉える仕組みの解明に取り組んできた。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，触覚による素材感の生成に関与する神経基盤を解明し,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。

【VHI の発生メカニズム】昨年度までに収集した 18 歳以上の 30 名の実験参加者のデータをさらに詳細に解析した。本解析には SPM8 を使用し，Dartel 法により解剖的標準化を行い，単一ボクセル解析を個人レベルと集団レベルで実施した。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。

【位相差の呈示が可能な VHI ディスプレイの設計製作】fMRI に適用可能なように, ポリカーボネイト, テフロン, 炭素繊維など非磁性体を材料として，2 本の平行な棒を独立に動かせるようにした装置の設計製作を行った。棒の運動の位相差 φ を種々変更することによって, 錯触の強度が変化することを心理物理実験により調査した。その結果，錯触の強度は位相差が 0° から増加するに従って単調に減少し, 約 90°でも完全に消失することはなかった。

【今後の研究】これまで VHI の発生メカニズムを調べる上で, 棒間距離によって錯触の強度変化を変更してきた。今年度の研究により，棒間距離以外のパラメータとして位相差が適用可能であることがわかった。今後，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より詳細に調べることが求められる。今後，棒間距離をパラメータとして行った実験結果と比較検討することにより，一次体性感覚野と小脳のネットワークが，触覚による素材感の生成にどのように関与するのかについて検証する。

11. 語用論的解釈の神経基盤—発話における意図的不調和の処理過程に着目して

松井智子（東京学芸大学国際教育センター）
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）

皮肉や隠喩といった非字義的な表現は，その意味的情報と現実との間にズレがあることが特徴である。また意味的情報と発話に伴う韻律の感情価が矛盾することもある。これらの発話を構成する情報間のズレや矛盾は，実は語用論的解釈に必要な意図的な不調和である。発話を構成する情報間の不調和処理の理論的モデルはいくつか出されているものの，その神経基盤は未だ明らかにされていない。本研究は発話を構成する情報間の不調和の処理には，脳内の感情処理および認知処理のネットワーク間の協働が重要な役割を果たすと仮定し，非字義的な表現の語用論的解釈の神経基盤を検証することを目的とする。具体的には，(A)「皮肉における発話内容とプロソディの不調和処理の神経基盤を探る」と (B)「面白さを誘発する隠喩的表現における不調和処理の神経基盤を探る」の２つを進めている。

まず，(A)に関して，文脈や発話内容と韻律とがどのように統合されるのかに関するモデルを考案した。韻律のない発話内容はありうるが(図１の下側)，発話内容のない韻律はありえない。そのため，韻律は発話内容に付属して発話内容を変調し，韻律がない場合と比べて文脈との不調和が増加したり減少したりすると予想した(図１の上側)。Frühholz 他(2013)によれば，聴覚野に届いた音声情報は，上側頭回を経て下前頭回に至る腹側経路と，弓状束を経て下前頭回に至る背側経路の二系統あることが示唆されている。また，Uchiyama 他(2006)によれば，文脈と発話の意味は，左下前頭回(47 野)において統合されている可能性が示唆されている。そのため，韻律による発話内容の変調や，その結果としての不調和の増加や減少の感知は，左下前頭回(47 野)が関与すると考えた。前課題のデータを再分析したところ，統合の効果は左下前頭回(IFG; 47 野; 図２の黄色)，韻律の効果は両側島皮質(Insula)と右下前頭回(図２の水色)に認められた。この結果を論文誌に報告した(Matsui 他, 2016)。

なお，(B)に関しては，隠喩的表現の面白さの感知に関するモデルの考案を進めていく予定である。

引用文献

Frühholz, S., & Grandjean, D. (2013). Processing of emotional vocalizations in bilateral inferior frontal cortex. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **37**(10), 2847-2855.

Matsui, T., Nakamura, T., Utsumi, A., Sasaki, A. T., Koike, T., Yoshida, Y., Harada, T., Tanabe, H. C., & Sadato, N. (2016). The role of prosody and context in sarcasm comprehension: Behavioral and fMRI evidence. *Neuropsychologia*, **87**, 74-84.

Uchiyama, H., Seki, A., Kageyama, H., Saito, D. N., Koeda, T., Ohno, K., & Sadato, N. (2006). Neural substrates of sarcasm: a functional magnetic-resonance imaging study. *Brain Research*, **1124**(1), 100-110.

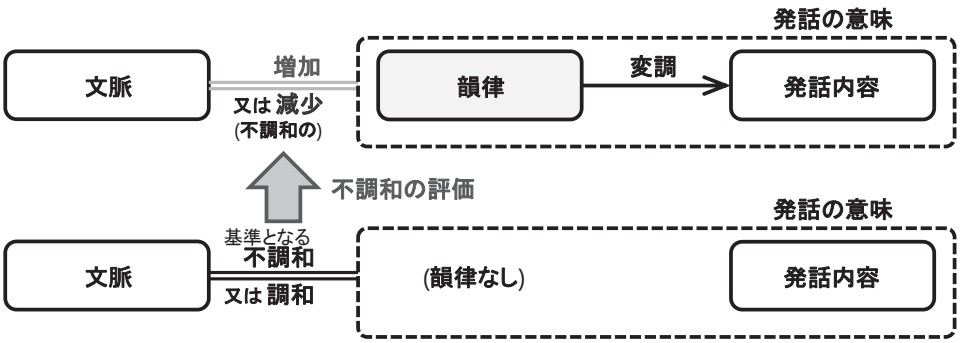


図１：韻律の皮肉理解処理への統合に関するモデル

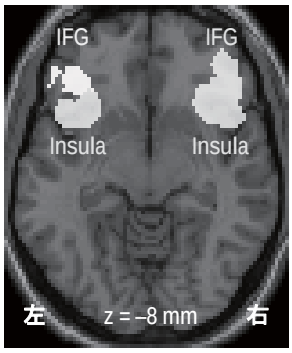


図２：対応する神経基盤

12. 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（東京女子大学現代教養学部心理学専攻）
髙木幸子（常磐大学人間科学部コミュニケーション学科）
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している。

1) 平成 26 年度までの研究概要

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。

分析の結果，行動データからは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，この文化差が脳のどの領域の活動差に基づいて生じるのかを明らかにするため，イメージングデータの解析をすすめてきた。

2) 平成 27 年度の研究成果

平成 27 年度は主にイメージングデータの解析をすすめた。本実験で使用した刺激は顔と声の組み合わせであったことから，第一に左右の視覚野 (BA17, BA18) と聴覚野 (BA21, BA22) を関心領域とした ROI 解析を実施した。解析の結果，顔と声の情動価が不一致な刺激を呈示した場合，文化によらず声に注意を向ける課題では視覚野の活動に(Figure 1)，顔に注意を向ける課題では聴覚野の活動に(Figure 2)抑制がかかることが明らかになった。第二に，関心領域を顔処理もしくは声処理に特異的な部位に絞り込んで ROI 解析を実施した。解析の結果，顔処理特異領域の活動に文化差はみられないものの，声処理特異領域の活動は，顔に注意を向ける課題の場合，日本人と比較してオランダ人においてより抑制がかかるという文化差がみられる傾向が示された。

今後は，日蘭の文化差を導く活動を生みだす領域についてより詳細な知見を得るために引き続きイメージングデータ解析をおこなう予定である。

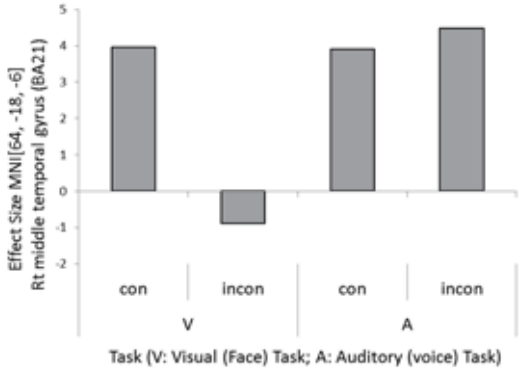


Figure 1. 顔注意課題時の聴覚野の活動

Figure 1には、日本人実験参加者とオランダ人実験参加者をプールして示した。聴覚野である右BA21に位置する[64, -8, -6]での活動は、顔に注意して情動を判断する際，顔と声の情動価が異なる刺激が呈示された場合には文化によらず抑制されることが示された。この傾向は左BA21(たとえば、[-64, -16, 2])でも同様であった。

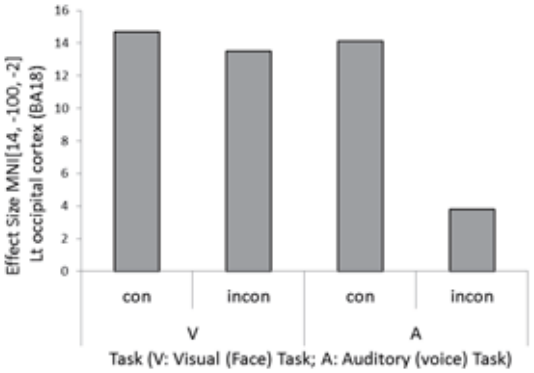


Figure 2. 声注意課題時の聴覚野の活動

Figure 2には、日本人実験参加者とオランダ人実験参加者をプールして示した。視覚野である右BA18に位置する[14, -100, -2]での活動は、声に注意して情動を判断する際，顔と声の情動価が異なる刺激が呈示された場合には文化によらず抑制されることが示された。この傾向は左BA18(たとえば、[-8, -98, -8])でも同様であった。

13. 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。その結果、小脳と前帯状回に実時間特異的な脳賦活を認めた。現在これらを含む複数の領域からなるネットワークの動的変化について解析中である。さらにこの系に学習課題を組み入れるべく、適切な学習課題の選定と予備実験を遂行中である。

14. コミュニケーションにおける日本人英語学習者の統語的プライミング効果

原田康也（早稲田大学）
森下美和（神戸学院大学）
定藤規弘（生理学研究所）

本研究では，効果的な言語コミュニケーション成立において重要な疑問文の産出に焦点をあて，疑問文をプライムとし，応答文を挟んで次の疑問文における統語的プライミングについて調査を行うことをめざした。

人が言語産出する際，直前に処理した文と同じ統語パターンを用いる傾向を「統語的プライミング」と呼ぶ。提案代表者たちは，これを英語学習に利用することを目的として，心理言語学的手法に基づく行動実験を継続してきた。日本人英語学習者にも英語母語話者と同様にプライミング効果が認められ，その傾向は習熟度によって異なり，中位の学習者において最も顕著であり，下位の学習者で最も低いことが示された。fMRI を使用して，文の産出に伴う統語処理に際して生じている脳内活動を明らかにすることによって，行動実験だけでは分からない統語処理の詳細を明らにし，習熟度別の言語学習や指導に関する指針が得られることを期待して実験に取り組もうとしたが，いくつかの事情から当初の予定通りに研究を進めることができなかった。

第一に，提案代表者の所属する大学の研究倫理委員会に提出すべき書類には，実験課題で用いる提示文や被験者への説明と同意書なども含まれ，事前に実験の詳細を細部まで確定する必要があり，実験のデザインと内容の詳細を検討し見直している間は実験を開始することができなかった。

第二に，実験課題の詳細を明確にしようとしたところで，対話から統語的プライミングを抽出することは行動実験としても容易でなく，生体機能イメージング実験としての実行可能性から実験のデザインを見直すこととした。本研究課題を提案するに至った最も重要な課題である日本人英語学習者にとっての疑問文再生・産出の困難に焦点をあてることとした。2013 年度・2014 年度に行った行動実験のデータを再分析して実験課題に使用する例

文等の洗い出しを行うこととしたために，かなりの期間を費やすこととなった。

第三に，実験の遂行にあたって協力を得る予定であった博士課程の学生が 4 月に助手として職を得たため，実験協力者の確保を見直す必要が生じた。

このような事情が重なり，また，提案代表者・共同利用実験者・所内対応者 3 名が集まって打ち合わせを行う機会が限られたため，最終的な打ち合わせを 2016 年 1 月に生理研で行ったが，2015 年度においては実質的な実験の遂行ができないままとなった。

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。

それに対して，Young ら(2013)は，表情認知への背景色の効果を示唆している。しかし，ヒトは顔色に対して特別な感度を持っており(Tan and Stephen, 2013)，背景色のような単純な色と比べて顔色は高感度で知覚されたと考えられる。そこで，表情知覚における顔色と背景色の効果に関して，表情モーフィング画像を用いた心理物理実験により検討した。その結果，顔色と背景色の両方が表情の知覚に影響を与えたが，背景色に比べ顔色の効果がより大きいことを示した。これらの結果は，霊長類の色覚は感情などの社会的シグナルを読み取るために同種の肌色を識別するために最適化されたという Changizi ら (2006)の説をサポートするものであり，社会的シグナルとしての顔色の重要性を示唆する。

16. 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）

1. はじめに　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，昨年度から本年度にかけてのわれわれの実験結果では，全身を冷却あるいは加温した際の，左前腕の局所温度刺激時の温度感覚は，①全身の温度条件の影響をうけないこと，②快･不快感は全身の温度条件によって変化することを明らかにした。しかし，fMRI による評価では，すべての温度刺激（全身，局所）に対して共通した責任領域が認められるとともに（図 1），温度感覚の違いや温熱的快･不快感の機序を説明する脳の責任領域の違いは認めなかった。この結果は温度感覚，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。そこで，以下の作業仮説のもとに実験をおこなった。①４種類の局所温度刺激を手掌におこなうと（通常の表面皮膚温より高い２種類の温度＋低い２種類の温度），温度に相関した評定が得られる，②温度の種類，あるいは温度感覚にかかわらず，共通して活動する脳領域が同定される。

2.　方法　男女７名を対象に，左手母指球表面にペルチエ素子を用いて４種類の表面温度刺激（22°C，26°C，36°C，40°C）を組み合わせた実験を行った。毎回の刺激後，画面上の Visual analogue scale (VAS)を用いて温度感覚を申告させた。この間に脳の BOLD 信号を測定した。

3.　結果・考察　実際の刺激温度と温度評定の間には正の相関が認められた（高い温度感覚を高い評定値に設定している）。

例えば 22°C の温度刺激時は両側の島皮質に強い BOLD 信号が見られた。この変化は従来の報告によく合致している。しかしながら，図２に示すように温度に関係なく，温度刺激時に見られる BOLD 信号を解析すると，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。以上の実験により，fMRI を用いた解析では従来報告されている温度に関係するとされる脳部位は，質的な要素（温度刺激の強さや，温冷の差）を反映しておらず，意識にのぼる温度刺激時には共通して活動する部位であると考えられる。今後，実験を重ね①温度の強さを評価する機序，②意識に上らない場合の温度受容のメカニズム (habituation など)を明らかにしたい。

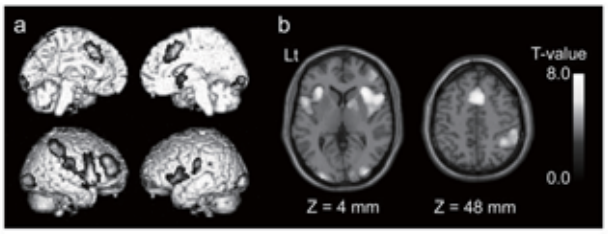


図１．全ての温度条件で共通して活動の見られた領域

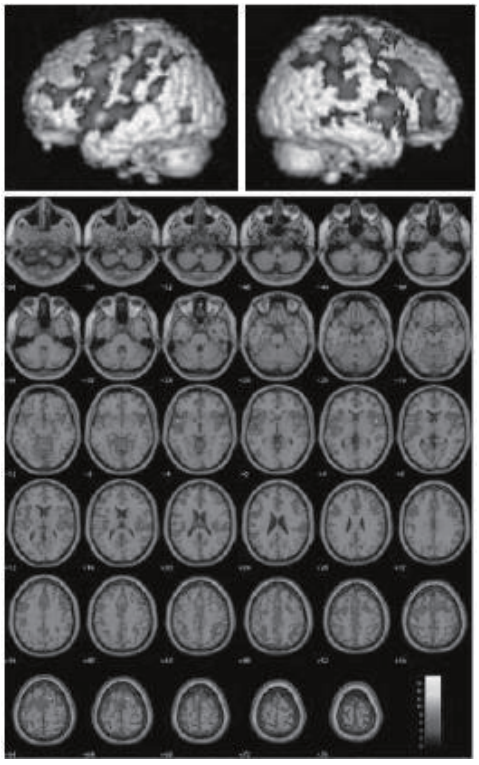


図２　全ての局所温度刺激時に見られた BOLD 信号

17．オキシトシンによる食欲調節

矢田俊彦，中田正範（自治医科大学医学部統合生理学部門）
小坂浩隆（福井大学こどものこころの未来発達研究センター）
岡崎俊太郎（生理学研究所大脳皮質機能研究計心理生理学研究部門）

食行動には，生命活動維持を目的としたホメオスターシス系摂食行動と，食の嗜好性と快感に依存した報酬系摂食行動の二つがある。関連する神経核も異なり，ホメオスターシス系摂食は視床下部により，報酬系摂食は腹側被蓋野および側坐核も関与する。これまでの我々の研究では，視床下部室傍核のオキシトシンニューロンが，摂食調節に重要であり，オキシトシンの摂食抑制による抗肥満作用に関してげっ歯類を用いた研究で成果を挙げてきた。近年，オキシトシン点鼻投与が自閉症を含む精神疾患に有効であることが明らかになりつつある。そこ

で，ホメオスターシス性摂食の中心的ニューロンであるオキシトシンニューロンが，報酬系摂食の調節にも重要である可能性があり，自然科学研究機構生理学研究所MRI 装置を用いて，オキシトシン・プラセボを用いたcross-over design，二重盲検法による fMRI 実験を健常・正常体重の成人男性の被験者に行った。

食欲の行動指標を用いた予備実験により，満腹時に食欲を起こす物をデザート，空腹時に食欲を起こす物を主食に分類し，それぞれを報酬系とホメオスターシス系の食欲の誘発食として規定した。装置は 3T MRI (Verio, SIEMES)を使用した。ボランティアで募集した試験者は，前日夕食時以降絶食の条件で，デザート/主食の写真/を見せて，それに対する脳の応答を，fMRI を用いて計測した。その後，オキシトシンまたはプラセボを点鼻投与し，再度デザート/主食の写真/絵を見せて，それに対する脳の応答を，fMRI を用いて計測した。本研究は二重盲検法による投与を行ったため，投与情報の開示後に解析する予定である。

本研究で，オキシトシンによる報酬系摂食抑制の脳内メカニズムを明らかにし，肥満治療の原理を明らかにする。

18. スポーツと脳構造

荒牧　勇（中京大学スポーツ科学部）
新海陽平（中京大学大学院体育学研究科）

スポーツの試合で実力が発揮できないことに苦しむ人は多い。試合で実力を発揮できるかできないかを決定する神経基盤はあるだろうか？ 近年，脳構造が性格や能力を反映することが明らかになりつつある。我々は，試合での実力発揮能力が高い競技者は，痛みや不安，恐れといった不快感情や，それに付随する身体反応を引き起こす，情動系を司る脳部位に特徴的な構造がみられるという仮説を持っている。そこで本研究は，アーチェリー競技者の試合での実力発揮能力と脳の灰白質容積の関係を調べた。

大学アーチェリーの選手 22 名に対して，72 射（720 点満点）のスコアについて，練習での最高スコアと試合での最高スコアを調査し，試合での点数の低下の割合を

試合でのスコア低下率 =（練習での最高スコア）-（試合での最高スコア）/（練習での最高スコア）として定義した。３テスラ MRI を用いて T1 強調画像を計測し，SPM12 を用いて灰白質の分割化，標準化，平滑化をおこなった。被験者 22 名の平滑化された灰白質画像について，試合でのスコア低下率と相関する脳部位を解析した。

試合でのスコア低下率と正の相関を示す部位は，島皮質であった。すなわち，島皮質の灰白質量が多いほど，試合でスコアが低下するということである。島皮質の機能が，嫌悪刺激の内受容や，身体感覚の知覚，恐怖反応，それに伴う自律神経反応を表出させることに関連することを考えると，本研究の結果は，島皮質の灰白質量が多いと試合でのプレッシャーによる影響を受けやすいことを示しているのかもしれない。

一方で，試合でのスコア低下率と負の相関を示す脳部位は運動前野であった。運動前野は運動制御に重要な脳部位であるため，この部位が発達していることで，プレッシャーにあまり影響を受けずに運動制御が行えるのかもしれない。

19. 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（東京大学大学院教育学研究科）
笹井俊太朗（ウィスコンシン大学マディソン校精神科）

脳は機能的に異なる領域群で構成される。例えば視覚情報と聴覚情報は異なる脳領域で生成される。一方我々の認知行動はこれらの異なる脳領域に担われる機能が１つに統合されたものとして成立している。本研究の目的は，この脳領域間の機能統合に寄与する神経機序を，脳全体の機能ネットワークと，脳活動の持つ多様な周波数成分との関係性に注目して解明することであった。

脳は自発的に活動しており，機能の関連する領域間ではこの自発活動が相関する。この相関は機能的結合と呼ばれる。脳領域を頂点に，機能的結合を辺に見立てることにより脳全体のネットワークを構築すれば，その上で起こる情報流に対し各頂点がどの程度寄与するのかをネットワーク構造から解析できる。特にネットワーク上における情報流をランダムウォークであると仮定した上で各頂点のネットワーク上の情報流に対する影響力を定量する尺度を固有値中心性（以下，EC）と呼び，Precuneus cortex 等の特定の脳領域で特に高くなることが知られている。

神経活動は多様な周波数成分を含み，異なる成分で構築されたネットワークは異なる構造をもつ。また，異なる課題の間でネットワーク構造が変化することが知られている。しかし，どの周波数成分のネットワークが課題間の構造の分化に特に寄与しているのかについては不明であった。この問題を解明するために，本研究では，安静時及び４種類の異なる課題を遂行している際に取得された multiband fMRI データから周波数依存的なネットワーク構造を構築し，課題間のネットワーク構造の多様性と周波数成分との関係性を検討した。まず，安静時と比較して課題遂行時に相関強度が上昇した機能的結合を同定したところ，0.02-0.04 Hz および 0.07-0.09 Hz にて他の領域よりも多くの機能的結合で上昇がみられることがわかった。次に，４種類の課題間におけるネットワークの構造の多様性を，頂点の EC の課題間多様性として定義したところ，0.02-0.04 Hz におけるネットワークで計算された EC の多様性だけが，ネットワークの辺が偶然に置き換わったと仮定して計算された多様性よりも有意に高いことが判明した。これは，この帯域で起こるネットワーク構造の変化が，脳全体の情報流を４つの課題間で分化させることに積極的に貢献していることを示している。現在，上記の結果をまとめた論文の投稿を準備している。

20. 極薄フレキシブル電極を用いたサルの脳の電気活動と MRI の同時計測

関野正樹，李　成薫，大橋開智，金　東珉，染谷隆夫
（東京大学大学院工学系研究科）

染谷隆夫（東京大学大学院工学系研究科）教授が率いる科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業(ERATO) 染谷生体調和エレクトロニクスプロジェクトにおいて，関野正樹（東京大学大学院工学系研究科）准教授はプロジェクトリーダーとして，極薄フレキシブル電極を開発してきた。これまでに関野ラボではマウスを用いて，極薄フレキシブル電極を脳表面に設置し，電極を通して運動野または体性感覚野の微小電気刺激を行い，それによる神経応答を MRI を用いて BOLD 活動として検出することに成功していた。

一方で吉田正俊（生理研・認知行動発達）助教は半側空間無視の動物モデルの確立を目指して，ニホンザルの右上側頭回に損傷を作成した。到達運動及び眼球運動を用いた行動評価から半側空間無視症状がこの動物で起こっていることを明らかにした。また，イソフルレン麻酔下で MRI を用いて安静時脳活動を BOLD 活動として

記録を行うことで，損傷の前後に脳内ネットワークの機能的結合に変化があることを明らかにした。

そこでこの二つのグループでの共同研究を促進するために，生体機能イメージング共同利用を活用して実験を行った。吉田グループで作成したニホンザル半側空間無視モデル動物 1 頭で，損傷とは反対側の前頭眼野(FEF)に関のグループがニホンザル用に作成した極薄フレキシブル電極を設置した。イソフルレン麻酔下でこの電極を通して微小電気刺激を行った。刺激条件としては 30sec 連発刺激と 30 sec 休止期間とからなるセットを 10 回繰り返した。記録された BOLD 信号で連発刺激期間と休止期間との差を定量化した。その結果，電極の直下の FEF および反対側の FEF において連発刺激による応答の効果とみられるデータを得ることができた。また，この preliminary な結果の再現性を確認するためには，電極をあらかじめ埋め込んでおくなどの技術的改良がさらに必要になることも明らかになった。

21. 変化関連脳活動を指標にしたプレパルス抑制ー精神疾患研究に向けたパラダイムの確立

元村英史（三重大学医学部附属病院精神科神経科）
乾　幸二（感覚運動調節研究部門）

ヒトの脳内の感覚情報処理過程における知覚段階は時間分解能に優れた脳波や脳磁図でしか捉えることができない。変化関連脳活動は，連続する音の突然の音特性変化（test 刺激）から約 50-250 ms 遅れて誘発される中後期活動で，我々はこの指標をもとに精神疾患の病態解明を試みている。健常者を対象としてクロニンジャーの気質・性格モデルを用い，変化関連脳活動が損害回避と正の相関および自己指向性と負の相関があることを明らかにした（Tanahashi et al., 2016）。

この脳活動は test 刺激の直前に微弱な音刺激変化（prepulse）を加えることによって減弱する。これは感覚情報に対する入力制御を直接的に脳活動の挙動として捉えるものであり，脳内の抑制系のひとつを示唆するものと考えられる。今回，全頭型脳磁図計（Vectroview, ELEKTA Neuromag）を用い，健常者を対象として精神疾患への臨床応用に適した prepulse パラダイムの確立を目指した。

100-Hz クリックの連続音を途中で音圧を変化（test 刺激）させることで誘発される脳活動を記録し，prepulse によるこの脳活動の抑制率を測定した。100-Hz のクリック音を用いることで，prepulse の挿入タイミングを精密に調整することが可能となる。変化関連脳活動の抑制が最大となる prepulse-test 刺激間隔は各被験者で異なった。そこで，test 刺激の音圧変化の 30, 40, 50 ms 前の 3 連続クリック音を prepulse として用いたところ，各単一クリック音を prepulse として用いた場合よりも抑制は強くみられた。短時間で計測可能な 3 連続 click 音から構成される prepulse パラダイムは臨床応用に適していると考える。すでに誘発電位計においても容易に測定できることも確認した。今後，変化検出能と抑制系を同時に評価できるこの prepulse パラダイムを用い，臨床研究を展開する予定である。

Tanahashi M, Motomura E, Inui K. et al. Auditory chang-related cerebral responses and personality traits. Neurosci. Res. 2016; 103: 34-39.

22. 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，耳鳴りや難聴等を有する患者では，周囲に雑音がある環境下では特に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に焦点を当て研究しようと考えた。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。このような特性を持つ耳鳴り患者はかなり限られているが，近隣病院の協力を得ながら被験者を募集し平成 27 年度までに実験に参加して頂ける耳鳴り患者 7 人を計測・解析することができた。

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することで，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有意に顕著となっていた。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。現在実験結果を論文としてまとめて欧文誌に投稿中である。

23. 脳波・脳磁場計測による語彙処理過程における形態素の役割の検討

井田佳祐（早稲田大学大学院文学研究科）
日野泰志（早稲田大学文学学術院）
木田哲夫（生理学研究所統合生理研究部門）

複数の形態素から成る複合語を読む際，その初期段階において個々の形態素への分解と語全体レベルの表象への再統合がなされることが多くの先行研究において示唆されている。こうした形態素レベルの処理を反映する効果として形態素プライミング効果が知られている。この効果は語彙判断課題における“語”反応が，複合語ターゲットを構成する形態素をプライムとして閾下提示した場合に促進される効果である。この効果は英語のみならず中国語や漢字語を使った行動実験においても報告されている。

近年，語を読む際の初期段階の処理を検討する研究として，時間分解能に優れた脳波測定を用いた研究が増加しつつある。英語を使用した先行研究では，ターゲットに含まれる形態素をプライムとして閾下提示した場合，無関連語をプライムとして提示した場合に比べ，ターゲット語の提示後 250 ミリ秒前後の脳波が，より陽性方向へシフトするという結果が報告されている（N250 効果）。この効果は反応時間における形態素プライミング効

果と同様，形態素レベルの処理を反映するものと思われる。本研究では，漢字熟語を読む際にも，N250 効果を観察できるのかどうかについて検討した。

実験では，画面上に提示される文字列に対する語彙判断課題中の脳波測定を行った。ターゲットとなる漢字熟語（e.g., 丸太）に対して形態素プライム（e.g., 丸）と無関連プライム（e.g., 悪）とを用意した。各試行はフォワードマスク（##########）を 500 ミリ秒，プライムを 50 ミリ秒，バックワードマスク（＆＆）を 16 ミリ秒提示した後に，漢字二字からなるターゲットを提示した。実験参加者には画面上に提示される漢字文字列が実在する漢字二字熟語であるかどうかを迅速かつ正確に判断し，“語”ボタンと“非語”ボタンとを押し分けるよう教示した。脳波測定には 128ch 脳波計を使用し，ターゲット提示の 100 ミリ秒前から 1000 ミリ秒後までの脳波を測定し，プライム条件ごとに加算平均した。

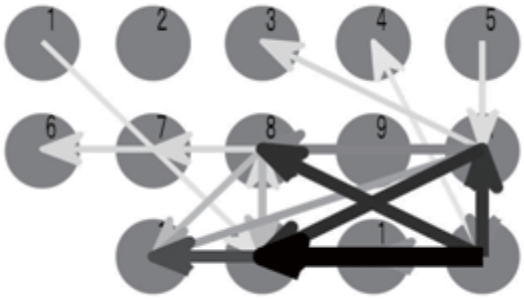
現時点で 10 名分の反応時間データおよび脳波データを収集した。反応時間の分析では，有意な形態素プライミング効果が観察され，脳波データでも，有意な N250 効果が観察された。これらの結果は，漢字語を読む際にも形態素レベルの処理が介在することを示唆する。今後，漢字語のデータ収集を継続するとともに，仮名語を使用した実験も行い，漢字表記・仮名表記による複合語に対するデータを英語の複合語に対するデータと比較する予定である。

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脳情報処理分野）

本研究課題は，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ものである。具体的には，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している。生理学研究所では ECoG 計測用のシート電極を埋める正確な位置を知るためにサルの脳の MRI 構造画像撮影を行う目的で共同利用実験を行っている。

平成 27 年度は細川が生理学研究所を訪問し，ECoG 電極の埋め込み手術や記録方法について，西村幸男先生から有益な情報を教えていただいた。また，ECoG データの解析方法について，Zenas Chao 研究員から指導をしていただいた。前頭葉から頭頂葉にかけて脳に埋め込まれている 14 個の電極点から記録した ECoG データを使って Granger 因果解析した結果，TMS 刺激後，感覚野から前頭葉に向かって情報の流れがあることが分かった（図参照）。



25. 社会的意思決定に関わるメカニズムの解明

田中沙織（㈱国際電気通信基礎技術研究所・脳情報通信総合研究所）

われわれが意思決定を行う際に頼りにする価値や効用は，報酬の大きさや確率，時間遅れなどに影響を受けることが分かっている。近年はそれに加え，他者から得る「社会的効用」の存在が提唱されている。

社会効用は，自分だけでなく相手の所得も考慮した効用を意味し，自分と相手の所得のバランスを決めるパラメータ（社会効用パラメータ）が正の場合は相手の所得増加が効用の増加につながり，負の場合は減少につながる。我々は，前年度までに社会効用を測定する行動および fMRI 実験（被験者は自分と他人の写真と収入の組み合わせに対して，右の状況と左の状況のどちらが良いかをボタン押しで選択する）を実施し，今年度は前年度までに確認された性別による異質性に着目し，追加実験を行った。

社会効用パラメータに関する経済学の先行研究（Yamada and Soto, 2013）で見られた「相手の性別」に対する異質性を脳活動で調べるために, 行動データから, 男女の同性・異性への社会効用パラメータを推定し，相手別の活動と，相手別で推定した社会効用パラメータとの関係を見た。

その結果，parietal cortex (BA40), prefrontal area (BA8), 線条体での脳活動と相手の収入との相関値において，（自分の性別）x（相手の性別）の有意な交互作用が見られた。さらに parietal cortex では，男性は脳活動と相手の収入との相関値が相手が女性の場合に相手が男性の場合よりも有意に大きく，また女性では相手が男性の場合に相手が女性の場合よりも有意に大きくなった。これは先行研究（Yamada and Soto, 2013）で見られた社会効用パラメータにおける,「男性では同性に対して負の, 異性に対しては正の社会効用パラメータが見られ，一方女性では異性に対して負の社会効用パラメータが見られた」という異質性に対応していると考えられる。このことから, parietal cortex における相手の金額に対する脳の反応（金額と脳活動の相関値）の違いが，社会効用パラメータにおける異質性を生み出している可能性を示唆している。

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔 目　　次 〕

１．生体シグナルダイナミクス
（代表者：尾藤晴彦　2015 年 9 月 3 日－9 月 4 日）…… 262
２．生体界面研究会
（代表者：日比野　浩　2015 年 7 月 16 日－7 月 17 日）…… 269
３．膜システムの機能的・構造的統合
（代表者：老木成稔　2015 年 9 月 1 日－9 月 2 日）…… 281
４．シナプスの構造構築と機能発現の分子基盤
（代表者：植村　健　2015 年 6 月 18 日－6 月 19 日）…… 288
５．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　2015 年 6 月 11 日－6 月 12 日）…… 296
６．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　2015 年 12 月 2 日－12 月 3 日）…… 306
７．行動システム脳科学の新展開
（代表者：星　英司　2015 年 12 月 4 日－12 月 5 日）…… 313
８．大脳皮質の機能原理を探る
（代表者：宋　文杰　2015 年 12 月 3 日－12 月 4 日）…… 322
９．コミュニケーションを可能にする神経機構の解明
（代表者：高橋英彦　2015 年 11 月 12 日－11 月 13 日）…… 326
10．認知神経科学の先端　宣言的記憶の脳内メカニズム
（代表者：小村　豊　2015 年 11 月 13 日－11 月 14 日）…… 330
11．異なる動物種間での記憶回路制御機構の統合的理解による記憶回路原理の解明　（比較記憶研究会）
（代表者：齊藤　実　2015 年 10 月 8 日－10 月 9 日）…… 336
12．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：古屋敷智之　2015 年 10 月 7 日－10 月 8 日）…… 342
13．生体ホメオスタシスの gateway としての上皮膜輸送マイクロホメオスタシス機構
（代表者：杉田　誠　2015 年 9 月 15 日－9 月 16 日）…… 349
14．心臓・血管系の包括的な機能統合研究
（代表者：松岡　達　2015 年 10 月 29 日－10 月 30 日）…… 358
15．最先端生理学と和漢医薬学との融合
（代表者：門脇　真　2016 年 1 月 14 日－1 月 15 日）…… 372
16．温熱生理研究会
（代表者：芝﨑　学　2015 年 8 月 27 日－8 月 28 日）…… 378
17．痛みの理解を目指した先端的アプローチ
（代表者：津田　誠　2015 年 12 月 17 日－12 月 18 日）…… 388
18．生物学的階層構造をまたぐセルセンサー情報伝達に関する戦略的研究開発
（代表者：高橋信之　2015 年 9 月 14 日－9 月 15 日）…… 409
19．電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス ～ 電子顕微鏡による生物構造情報の抽出 ～
（代表者：大野伸彦　2015 年 11 月 18 日－11 月 19 日）…… 414

1．生体シグナルダイナミクス

2015 年 9 月 3 日－9 月 4 日

代表・世話人：尾藤晴彦（東京大学 大学院医学系研究科 神経生化学分野）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所 神経機能素子研究部門）

（1）末梢神経線維のネスチン陽性細胞は傷害修復過程で神経・グリア細胞に分化する

○三井純雪[1]，河原克雅[2]，Robert M Hoffman[3]，天羽康之[1]

（[1]北里大学医学部皮膚科, [2]北里大学医学部生理学, [3]Anti Cancer Inc. California, USA）

（2）破骨細胞膜における酸感受性プロトンリーク機構の定量的検討

○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）

（3）アクチン線維のメカノセンシング機構：1 分子イメージングによる解析

○早川公英[1]，曽我部正博[1]，辰巳仁史[2]

（[1]名大院・メカノバイオロジー, [2]金工大・応用バイオ）

（4）アクトミオシン束における張力依存的な ERK の活性化

○平田宏聡[1,2]，曽我部正博[2]

（[1]R-Pharm Japan, [2]名大院・医・メカノバイオロジーラボ）

（5）蛍光性センサーを用いたイノシトール四リン酸（IP4）の生理学的意義の探索

○坂口怜子，森井　孝，森　泰生（京大院・工・分子生物化学分野）

（6）複数の光遺伝学操作と組み合わせたイメージングと薬剤スクリーニングの可能性を広げる化学発光性膜電位指示薬の開発

○稲垣成矩[1,2]，松田知己[1]，新井由之[1]，白　貴蓉[1]，神野有香[3]，筒井秀和[3]，岡村康司[3]，永井健治[1,2]

（[1]阪大・産研，[2]阪大・工，[3]阪大・医）

（7）光駆動型イオン透過性ロドプシンの構造活性相関

神取秀樹（名古屋工大・オプトバイオテクノロジー研究センター）

（8）K^+ チャネル機能評価システムとオーファン輸送体

○稲野辺厚，倉智嘉久（大阪大院・医・分子細胞薬理学）

（9）膵 β 細胞に発現するグルコース感知受容体

○小島　至，ヨハン・メディナ，中川祐子，濱野邦久，長澤雅裕

（群馬大学生体調節研究所）

（10）シナプス小胞放出部位を決定する超分子集合体の可視化と再構成

○坂本寛和，廣瀬謙造（東大院・医・神経生物学）

（11）小脳プルキンエ細胞における小胞体内腔 Ca^{2+} 充填機構の可視化解析

○大久保洋平[1]，鈴木純二[1]，金丸和典[1]，中村直俊[2]，柴田達夫[2]，飯野正光[1]

（[1]東大院・医・細胞分子薬理学, [2]理研生命システム・フィジカルバイオロジー）

（12）Cerebellar stripes refine goal-directed behavior

○Shinichiro Tsutsumi[1], Maya Yamazaki[2], Taisuke Miyazaki[3], Masahiko Watanabe[3], Kenji Sakimura[2], Yoshikazu Isomura[4], Masanori Matsuzaki[5], Masanobu Kano[1], and Kazuo Kitamura[1]

（[1]Dept Neurophys. Grad. Sch. Med., Univ. of Tokyo, [2]Dept of Cell. Neurobiol., Brain Res. Inst. Niigata Univ., [3]Dept Anat. Grad. Sch. Med. Hokkaido Univ., [4]Brain Sci. Inst. Tamagawa Univ., [5]Division of Brain Circuit, NIBB）

【参加者名】

小島　至（群馬大学），長澤雅裕（群馬大学），中川祐子（群馬大学），ヨハン メディナ（群馬大学），濱野邦久（群馬大学），平田宏聡（名古屋大学），早川公英（名古屋大学），久野みゆき（大阪市立大学），李　光帥（大阪市立大学），河原克雅（北里大学），三井純雪（北里大学），稲野辺厚（大阪大学），倉智嘉久（大阪大学），永井健治（大阪大学），揚妻正和（大阪大学），稲垣茂矩（大阪大学），飯野正光（東京大学），大久保洋平（東京大学），関谷　敬（東京大学），三上義礼（東京大学），鈴木純二（東京大学），廣瀬謙造（東京大学），坂本寛和（東京大学），菅谷佑樹（東京大学），堤　新一郎（東京大学），竹内敦也（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），安好悠太（京都大学），尾藤晴彦（東京大学），藤井　哉（東京大学），堀金慎一郎（東京大学），神取秀樹（名古屋工業大学），角田　聡（名古屋工業大学），泉　裕士（生理学研究所），内田邦敏（生理学研究所），鈴木喜郎（生理学研究所），菅原太一（生理学研究所），堀内　浩（生理学研究所），伊藤智哉（生理学研究所），古瀬幹夫（生理学研究所），富田拓郎（生理学研究所），東島眞一（生理学研究所），塚本寿夫（分子科学研究所），佐竹伸一郎（生理学研究所），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），陳以珊（生理学研究所），粂　慎一郎（生理学研究所），Rizki Tsari Andriani（生理学研究所）

【概要】

近年の細胞生物学と光工学の発展により，細胞レベルの生命現象ダイナミクス，すなわちタンパク質・膜動態やタンパク質相互作用・タンパク質寿命，遺伝子発現などの様々な動的細胞内事象を，分子―細胞―細胞ネットワークの多重な階層にて，高い時間・空間分解能で生きた個体の中で捉え，さらには操作する可視化・操作技術が確立されつつある。そこで本研究会では，細胞局所ドメイン，単一細胞，活動集団，全個体などにおける多元シグナルの同時多次元計測技術による計測に実績のあるエキスパートを一同に集め，新たな活性信号計測法や細胞活動操作法の基盤技術の現状について討論し，今後のブレークスルーの戦略を考案することを意図した。具体的には，１）細胞生物学の普遍的テーマである，細胞膜から細胞骨格，および核へのシグナリングの包括的理解，２）これらを制御する重要メッセンジャーである ERK, IP4 の細胞内動態平衡や膜電位維持・変化に関する革新的プロービング，３）小胞分泌に至る過程を制御する膜タンパク複合体ダイナミクスの動的計測，４）マウス個体制御を規定するカルシウムダイナミクスのイメージング，５）光遺伝学の要であるロドプシン系タンパクの構造活性相関，に関するセッションを企画し，各々のテーマに関する最先端の成果を発表していただき，全員で討議した。超高解像度顕微鏡を筆頭に，多数の新規イメージング手法が近年考案されており，全個体イメージング法など，ビッグデータを前提としたイメージング法も実用化され始めているが，生体シグナルダイナミクスの計測と操作の実現には，ハードウェア（＝光学顕微鏡）の改良と，ソフトウェア（＝細胞内外の生体シグナルダイナミクス可視化・操作するプローブ開発）が，バランスよく調和が取れていないと新たな発見が伴わないことが 2 日間の討論より明らかになった。

（1）末梢神経線維のネスチン陽性細胞は傷害修復過程で神経・グリア細胞に分化する

○三井純雪[1]，河原克雅[2]，Robert M. Hoffman[3]，天羽康之[1]
（[1]北里大学医学部皮膚科学教室, [2]北里大学医学部生理学教室, [3]Anti Cancer Inc. California, USA）

ネスチン（神経系幹細胞マーカー）-GFP マウスを用い，末梢神経シュワン細胞周囲に存在するネスチン陽性（N+）細胞が，傷害修復過程で神経細胞・グリア細胞に分化することを明らかにする。N+細胞は，毛包のみならず末梢神経線維周囲にも存在し, β3-tubulin 陰性, p75NTR 陽性であった。毛包および末梢神経（三叉神経，坐骨神

経）をスポンジゲル上で三次元培養すると，N+細胞はβ3-tubulin 陽性になり（3 日後），神経切断面にむけて突起を伸長しながら増殖した。また，神経切断面には GFAP 陽性，N+グリア細胞も増殖したが，グリア細胞の分化に伴いネスチン発現は消失した。次に，ネスチン-GFP マウスの三叉神経を外科的に切断，1 週間後，β3-tubulin 陽性の N+細胞が神経障害部位と障害神経遠位部に増殖していた（*in vivo*）。同様に，坐骨神経を切断・縫合し運動機能の回復した 5 週間後において，坐骨神経の神経損傷修復部位に N+細胞が増加していた。このように，末梢神経周囲に存在する N+細胞が，*in vitro* のみならず *in vivo* 実験において，神経損傷後の修復過程で神経・グリア細胞に分化することが明らかにされた。N+細胞は，末梢神経障害機能の回復に寄与していることが示唆された。

（2）破骨細胞膜における酸感受性プロトンリーク機構の定量的検討

○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教室）

骨吸収（溶解）は，酸による無機骨基質（hydroxyapatite）の溶解と lysosome 由来蛋白分解酵素による有機骨基質（コラーゲンなど）の分解の過程である。骨吸収を担う破骨細胞では，細胞膜に proton pump （V-ATPase）が高密度で発現しており，細胞外腔（骨吸収窩）を酸性化する。作り出された酸性環境それ自体は“physiological”な状態である。これまで，骨吸収窩の酸性環境の制御は V-ATPase 活性の増減を調節する機構を中心に論じられてきた。私達は，細胞外 pH が約 5.5 以下に下がると膜を介する H^+の濃度勾配に従って，内向き H^+ 電流が起こることを見出した。この H^+リークは V-ATPase ブロッカー（Bafilomycin A_1, N, N’ -dicyclohexyl-carbodiimide）存在下でも観察されたため，V-ATPase とは独立に働く起電性 H^+ influx 機構が存在する事が示唆された。機能的に求められる“細胞外の酸性化”に一見逆行するような H^+ リーク機構の特性が明らかになった。

（3）アクチン線維のメカノセンシング機構： 1 分子イメージングによる解析

○早川公英[1]，曽我部正博[1]，辰巳仁史[2]
（[1]名古屋大学大学院医学系研究科・メカノバイオロジーラボ，
[2]金沢工業大学・バイオ化学部・応用バイオ学科）

細胞や細胞内構造物の形態と機能は周囲の機械的環境や機械刺激で大きく左右され，そこにはアクチン細胞骨格が深く関わっている。例えば，ストレスファイバー（SF）の形態は SF に生じる張力（SF の収縮力と基質の硬さに左右される）や細胞への力学的負荷によって大きく変化する。これらの刺激は SF の張力と動態の変化を導く（SF は，張力減少で崩壊し，張力増大で発達する）。我々は，張力減少による SF 崩壊がアクチン線維切断タンパク質コフィリンによることを見いだし，その仕組みを詳細に解析した。精製アクチンからなる単一アクチン線維を光ピンセットで牽引し，コフィリンのアクチン切断活性に対する張力の効果を調べた。その結果，牽引で張力が増加したアクチン線維ではコフィリンによる切断が抑制されることが分かった。一分子イメージングによる解析から，アクチン線維の張力はコフィリンのアクチン線維への結合を抑制することが判明した。このことは，アクチン線維が張力に応じてコフィリンの結合を調節して自らの動態を制御する“負の張力センサー付きアクチュエーター”として働くことを意味し，この仕組みは，SF が軟らかい基質（SF に生じる張力が小さい）では発達せず，逆に硬い基質や伸展刺激で発達することをよく説明した。

（4）アクトミオシン束における張力依存的な ERK の活性化

○平田宏聡[1,2]，曽我部正博[2]
（[1]R-Pharm Japan，[2]名古屋大学大学院医学系研究科・メカノバイオロジーラボ）

MAP キナーゼである ERK は広範な細胞機能の制御に関わっている。ERK の活性化は典型的には受容体型チロシンキナーゼへのリガンドの結合により惹起されるが，細胞内外の力学環境も ERK 活性化に多大な影響をおよぼす。硬い細胞外基質や細胞への伸展刺激，ミオシン II による収縮力の発生は，いずれも ERK を活性化する。これらの条件はいずれもアクチン骨格の張力を増大させるので，ERK の活性化にはアクチン骨格の張力が深く関与する可能性がある。本研究では，アクチン骨格の中でも大きな張力が生じているストレス線維（接着斑どうしを繋ぐアクトミオシンの収縮性束）に着目し，そこでの張力と ERK 活性化との関係を調べた。マイクロピラーを多数並べた基質の上に細胞を培養し，各ピラーのたわみ量から個々のストレス線維に生じている引張力を測定した。ERK は引張力に依存せずストレス線維に局在していたが，引張力の大きいストレス線維ほど活性型 ERK の量が大きかった。張力の効果を更に検証するため，ミオシン II による収縮力発生を阻害した上で，細胞外基質を伸展することでストレス線維に外から引張力を与えた。ミオシン II の阻害はストレス線維上の活性型 ERK の量を大幅に減少させたが，基質の伸展によってそれは増加し，その増加量はストレス線維に生じる引張力の大きさに依存していた。これらの結果から，アクチン骨格の張力が ERK 活性化を引き起こすことが明らかとなった。

（5）蛍光性センサーを用いたイノシトール四リン酸（IP_4）の生理学的意義の同定

○坂口怜子，森井　孝，森　泰生（京都大学大学院 工学研究科 合成・生物化学専攻）

生物は外界からの刺激に応じ，細胞内で様々なシグナル分子を生成し，これらを伝達することで様々な細胞応答を制御している。シグナル分子の中でも，イノシトール三リン酸（IP_3）は，細胞内の Ca^{2+}濃度制御分子としてよく研究されてきた。しかし，IP_3 の直接代謝産物であるイノシトール四リン酸（IP_4）については，細胞内 Ca^{2+} 濃度制御や，免疫細胞の発達への関与が報告されているが，細胞内における検出手段が限られているため，その詳しい機能は明らかにされていない。そこで当研究室では，生きた細胞内における IP_3 ならびに IP_4 濃度挙動を検出するため，標的分子と特異的に結合する天然のタンパク質である Pleckstrin Homology (PH)ドメインを土台とした蛍光性センサーを設計した。これらを用いて，単一細胞内における IP_3，IP_4 の産出および代謝をリアルタイムに観察する事に成功した。これらのセンサーを用いて細胞内 IP_4 産出酵素の新規阻害剤の効果を評価し，この阻害剤を用いて，IP_4 産出が抑制された場合の細胞外からの Ca^{2+}流入挙動の変化を評価した。さらに，IP_4 センサーと同時に Ca^{2+}センサーもしくは IP_3 センサーを単一細胞内に導入し，両者を異なる波長で検出した。このことによって，両者の産出の連動を観測した結果を得た。

（6）複数の光遺伝学操作と組み合わせたイメージングと薬剤スクリーニングの可能性を広げる化学発光性膜電位指示薬の開発

○稲垣成矩[1,2]，松田知己[1]，新井由之[1]，白　貴蓉[1]，神野有香[3]，筒井秀和[3]，岡村康司[3]，永井健治[1,2]
（[1] 大阪大学産業科学研究所，[2] 大阪大学大学院工学研究科，[3] 大阪大学大学院医学研究科）

化学発光イメージングは外部からの励起光照射を必要としないため，光遺伝学ツールとの自由な組み合わせや長時間イメージングが可能である。近年我々は化学発光タンパク質を利用した化学発光性膜電位指示薬である，LOTUS-V (*L*uminescent *O*ptical *T*ool for *U*niversal *S*ensing of *V*oltage)を世界で初めて開発する事に成功した。このLOTUS-V を用いる事で，蛍光性膜電位指示薬では不可能であった，チャネルロドプシン２(ChR2)とハロロドプシン(eNpHR3.0)によって引き起こされる膜電位変化を同時に可視化する事に成功した。また種々の薬剤を iPS 細胞由来心筋細胞に投与し，活動電位の挙動の変化を長時間にわたり可視化する事にも成功した。これらの事からLOTUS-V を用いる事で，光遺伝学ツールと組み合わせた膜電位イメージングや，膜電位変化を指標としたドラッグスクリーニングが今後一層広まっていく事が期待された。

（7）光駆動型イオン透過性ロドプシンの構造活性相関

神取秀樹（名古屋工業大学・オプトバイオテクノロジー研究センター）

古くから光合成系が電子を一方向に運ぶことはよく知られていたが，1971 年，電子より 1830 倍重いプロトンをポンプする膜タンパク質が発見され，バクテリオロドプシン（BR）と命名された。1977 年には内向き Cl^-ポンプであるハロロドプシン（HR）が発見された。HR は一価の陰イオンポンプとして Br^-や I^-も能動輸送できる。BR や HR の巧みなメカニズムから，チャネルとして機能するロドプシンはありえないだろうと思われていたが，2002 年にチャネルロドプシン（ChR）が発見された。光遺伝学において ChR は Na^+チャネルとして使われているが，実際には H^+を百万倍効率よく透過した。陽イオンの受動輸送は ChR が行うが，H^+以外の能動輸送は不可能というのがロドプシン分野の常識であった。レチナールが正電荷を持つため H^+や Cl^-と違って Na^+などはレチナール近傍に結合できず，結合できなければポンプできないと考えられていた。しかしながら 2013 年に光駆動 Na^+ポンプ（NaR）の存在を明らかにした。このロドプシンは Li^+や Na^+をポンプする一方，K^+以上のサイズの陽イオン中では H^+ポンプとしてはたらく。さらに我々は今年，東大・濡木研が解いた結晶構造をもとに NaR の能動輸送モデルを提案するとともに，自然界に存在しない K^+ポンプを創製し，報告した。

（8）K^+チャネル機能評価システムとオーファン輸送体

○稲野辺厚，倉智嘉久（大阪大学大学院医学研究科分子細胞薬理学教室）

イオンチャネルは druggable な分子標的である。これまでイオンチャネル作用薬は電気生理学的手法によって探索されるのが一般的であった。近年マルチチャネルの全自動パッチクランプシステム等のスループット性の高い技術の開発によって，作用薬探索における技術的なボトルネックは解消された。しかしながら，高額のランニングコストが存在するため，鋭敏でかつ，スループット性の高い薬物－イオンチャネル相互作用検出テクノロジーは，多様な解析システムを確保する上で重要であると考えられた。細胞の生育には様々なイオンが必要であるよ

うに，酵母の生育にも K^+が必要であった。そのため，K^+輸送体を欠損した酵母は低 K^+培地下では生育できなかった。しかし，K^+輸送体を異所性に発現した本酵母は，輸送体活性に依存して低 K^+培地下で生育できるようになった。つまり，K^+輸送体の活性とその程度が酵母の増殖を指標に評価可能となった。この K^+輸送体機能評価システムを用いた内向き整流性 K^+チャネル Kir3.2 阻害薬の探索し，阻害薬のチャネルに対する作用効果，そしてオーファン輸送体の機能を評価した。

（9）膵β細胞に発現するグルコース感知受容体

○小島　至，ヨハン・メディナ，中川祐子，濱野邦久，長澤雅裕（群馬大学生体調節研究所）

我々は最近，膵β細胞の細胞膜上にグルコースを感知する受容体が発現していることを見出した。この受容体は甘味受容体のサブユニット T1R3 を主要な構成成分とする分子で，T1R3 ホモダイマー（T1R3/T1R3）あるいは T1R3 と他の GPCR のヘテロダイマー（T1R3/X）と考えられる。T1R3 の薬理学的抑制，T1R3 遺伝子の欠失によりグルコース感知受容体を抑制すると，グルコース誘発性インスリン分泌は約 40%抑制された。グルコースによるインスリン分泌は二相性であるが，受容体抑制により第一相と第二相がともに抑制された。したがってグルコース感知受容体はグルコース作用の全般に関与していると考えられた。実際，非代謝性グルコースアナログによりこの受容体を活性化すると，細胞内の代謝経路が活性化され，基質が供給されないにもかかわらず細胞内の ATP 濃度が増加した。つまり従来考えられていたように，グルコースは単に細胞内に取り込まれて受動的に代謝されるだけではなかった。グルコースはまずリガンドとして細胞表面の受容体を活性化して代謝経路を賦活し，さらに細胞内に取り込まれ，基質として予め賦活化された経路を経て代謝され，ATP 産生が増加すると考えられた。グルコース感知受容体は，生理的に最も重要な糖であるグルコースを主なリガンドとする受容体で，その分子実体について今後明らかになると考えられた。

（10）シナプス小胞放出部位を決定する超分子集合体の可視化と再構成

○坂本寛和，廣瀬謙造（東京大学大学院医学系研究科神経生物学分野）

今回我々は，グルタミン酸イメージング，超解像イメージング及び再構成実験を組み合わせることで，シナプス分子 Munc13-1 を中心とした超分子集合体がシナプス小胞開口放出の放出部位を決定している事を明らかにした。超解像顕微鏡を用いて海馬培養神経細胞のシナプス分子の局在を三次元的に可視化したところ，Munc13-1 は約 50 ナノメートルの超分子集合体として存在し，Syntaxin1 等の開口放出に必須な分子群とナノメートルスケールで共局在していることが分かった。興味深いことに，シナプスあたりの Munc13-1 超分子集合体の個数はグルタミン酸イメージングで定量した機能的な放出部位の個数と一致した。これらの結果は開口放出が Munc13-1 とその関連分子が超分子的に集合している場所で起こる事を示していた。さらに，シナプスで観察されたような超分子集合体を非神経細胞で再構成することができた。再構成には Munc13-1 の自己組織化能が必要であり，その誘導には臨界濃度が存在した。この結果は，シナプス分子の自己組織化現象（及び相転移現象）がシナプス機能の根底にあることを示唆していた。よって今回の研究結果は，分子と細胞内小器官の中間のサイズにあたるナノサイズ超分子構造をシナプスの機能的側面と結びつけた重要な成果であると考えられた。

（11）小脳プルキンエ細胞における小胞体内腔 Ca^{2+}充填機構の可視化解析

○大久保洋平 [1]，鈴木純二 [1]，金丸和典 [1]，中村直俊 [2]，柴田達夫 [2]，飯野正光 [1]
（[1] 東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理学分野，
[2] 理化学研究所生命システム研究センターフィジカルバイオロジー研究チーム）

我々は小胞体内腔用 Ca^{2+}プローブ G-CEPIA1*er* を新規に開発し，小胞体内腔 Ca^{2+}の時空間動態の可視化を初めて成功させた。本研究ではこの G-CEPIA1*er* を，小胞体が非常に発達している小脳プルキンエ細胞に適用し，実際のシナプス入力に伴う小胞体内腔 Ca^{2+}充填機構を解析した。平行線維刺激により，代謝型グルタミン酸受容体依存的に小胞体内腔 Ca^{2+}濃度が局所的に減少し，その後比較的時間をかけて回復した。この再充填過程を数理シミュレーションと実験で検証したところ，sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase (SERCA) による再取り込みではなく，小胞体内腔での Ca^{2+}の側方拡散が大きな寄与を持つことが明らかとなった。またスパイン内の小胞体内腔 Ca^{2+}濃度も樹状突起と同速度で回復した。以上のことから，小胞体は細胞全域に Ca^{2+}を輸送するネットワークとして機能することが明らかとなった。また登上線維刺激により Ca^{2+}スパイクを生理的頻度で惹起したところ，SERCA 依存的に小胞体内腔 Ca^{2+}濃度が徐々に上昇し，この過充填状態は刺激終了後も暫く維持された。よって小胞体は神経活動履歴の記憶装置として機能し得ることが強く示唆された。

（12）小脳帯域は目的あり行動の制御に寄与する

○堤　新一郎 [1]，山崎真弥 [2]，宮崎太輔 [3]，渡辺雅彦 [3]，崎村建司 [2]，
礒村宜和 [4]，松崎政紀 [5]，狩野方伸 [1]，喜多村和郎 [1]
（[1] 東京大学大学院医学系研究科申請生理学分野，[2] 新潟大学脳研究所細胞神経生物学分野，
[3] 北海道大学大学院医学研究科解剖発生学分野，[4] 玉川大学脳研究所，
[5] 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 光脳回路研究部門）

小脳皮質傍矢状断面に沿った帯状構造をした aldolase C/zebrin II 発現は登上線維の投射パターンと一致している。このため，aldolase C/zebrin II 発現領域はプルキンエ細胞の同期的スパイク活動によって定義される機能帯域/微小帯域パターンに対応していると考えられる。しかし，これら二つの領域の間の精度の高い位置関係は明らかになっていなかった。この関係について細胞レベルでの理解を得るため，aldolase C コンパートメントの in vivo 可視化が可能となる Aldoc-tdTomato マウスを用い，2 光子励起カルシウムイメージングを行った。その結果，aldolase C 帯域の境界と単一細胞レベルで厳密に一致している，登上線維応答の同期性の高いプルキンエ細胞活動の存在を見出した。また感覚刺激応答性の微小帯域の境界は，aldolase C 発現の境界とよく一致していた。このことは aldolase C コンパートメントが生理学的な機能構造を表していることと合致している。そこで聴覚リック/ノーリック学習課題における 2 光子励起カルシウムイメージングをおこなったところ，aldolase C 陽性プルキンエ細胞の同期的スパイク活動は，学習過程におけるヒット時に亢進した。これらの結果は，同期活動の微小帯域における空間特性が運動行動の熟練に重要であることを示唆した。

2．生体界面研究会

2015 年 7 月 16 日－7 月 17 日

代表・世話人：日比野　浩（新潟大 大学院医歯学総合研究科）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所 神経機能素子研究部門）

（1）生細胞のシアル酸を標的としたレクチン付蛍光ナノプローブの創製

○高井まどか[1]，久代京一郎[1]，本田文江[2]

（[1]東京大学大学院・工学系研究科，[2]法政大学大学院・生命機能学）

（2）胃細胞の分泌膜界面の構成と機能

○酒井秀紀，藤井拓人，清水貴浩

（富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学）

（3）がん免疫とフコシル化

○三善英知，鎌田佳宏

（大阪大学大学院・医学系研究科・機能診断科学講座・分子生化学）

（4）薬物トランスポーターが関与する医薬品体内動態のモデリング＆シミュレーション

○楠原洋之，前田和哉（東京大学大学院・薬学系研究科・分子薬物動態学）

（5）走査型イオンコンダクタンス顕微鏡を用いた細胞表面の連続測定

○高橋康史[1,2,3]，井田大貴[1]，周　縁殊[2]，珠玖　仁[1]，酒井秀紀[4]，末永智一[1,2]

（[1]東北大学大学院・環境科学研究科，[2]東北大学・原子分子材料科学高等研究機構，

[3]JST さきがけ，[4]富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学）

（6）ダイヤモンド電極の機能化による生体関連物質の測定

○栄長泰明[1,2]（[1]慶應義塾大学・理工学部・化学科，[2]JST-ACCEL）

（7）ダイヤモンド電極の機能化と電気化学分析への応用

○近藤剛史，相川達男，湯浅　真（東京理科大学・理工学部・工業化学科）

（8）界面イオン動態による内耳電気現象の成立と制御

○日比野　浩[1]，任　書晃[1]，吉田崇正[2]

（[1]新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学分野，

[2]九州大学大学院・医学部・耳鼻咽喉科）

（9）心筋 Kv7.1 チャネル分子複合体による多彩な細胞シグナル応答

○黒川洵子，児玉昌美，永森收志，金井好克，古川哲史

（東京医科歯科大学・難治疾患研究所・先端分子医学研究部門・生体情報薬理学分野）

（10）TJ クローディンによる上皮細胞シートバリア構築と生体システム

○月田早智子（大阪大学大学院・生命機能研究科・医学系研究科・分子生体情報学）

（11）界面振動分光法によるバイオ界面の構造・機能評価

○野口秀典[1,2]，魚崎浩平[1,2]

（[1] 国立研究開発法人物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点（WPI-MANA）

[2]国立研究開発法人物質・材料研究機構 ナノ材料環境科学研究拠点（GREEN））

（12）膜貫通ペプチドのリン脂質フリップフロップ誘起メカニズム

○中野　実[1]，中尾裕之[2]，林　千尋[1]，池田恵介[1]

（[1]富山大学大学院・医学薬学研究部・生体界面化学，

[2]京都大学大学院・薬学研究科・製剤機能解析学）

（13）脂質膜界面に関する理論的研究

川口一朋，齋藤大明，○長尾秀実（金沢大学・理工研究域・数物科学系・バイオ科学）

（14）細胞膜と人工細胞膜のイメージングのためのマイクロ技術

○鈴木宏明（中央大学・理工学部・精密機械工学科）

（15）ハイブリッド顕微鏡の開発〜物理ストレスと生理活性評価を中心に〜

○梅田倫弘[1]，李　永波[1]，本田諭志[1]，川島実紗[1]，
松倉由幸[1]，長崎秀昭[1]，太田善浩[2]
（[1]東京農工大学・工学部・機械システム工学科，
[2]東京農工大学・工学部・生命工学科）

（16）生体界面構成因子の定量的解析に向けた膜タンパク質定量プロテオミクス

○永森收志，金井好克（大阪大学大学院・医学系研究科・生体システム薬理）

（17）生体界面と人工核酸の相互作用 － 細胞膜透過性向上を指向したアルギニン残基導入とその効果 －

菅井祥加[1]，上松亮平[1]，中瀬生彦[2]，坂本清志[1]，荒木保幸[1]，
高井まどか[3]，石橋　哲[4]，横田隆徳[4]，○和田健彦[1]
（[1]東北大学・多元物質科学研究所・生命機能制御物質化学研究分野，
[2]大阪府立大学・21 世紀科学研究機構，[3]東京大学大学院・工学系研究科，[4]東京医科歯科大学）

（18）分子の脂質二重層膜透過の経路依存性について

伊藤太一，山崎隼也，安藤嘉倫，篠田　渉，○岡崎　進
（名古屋大学大学院・工学研究科・化学・生物工学）

【参加者名】

栄長泰明（慶應義塾大学），浅井　開（慶應義塾大学），三善英知（大阪大学），鎌田佳宏（大阪大学），黒川洵子（東京医科歯科大学），児玉昌美（東京医科歯科大学），月田早智子（大阪大学），高井まどか（東京大学），日比野浩（新潟大学），任　書晃（新潟大学），緒方元気（新潟大学），樋口大河（新潟大学），吉田崇正（新潟大学），崔　森悦（新潟大学），近藤剛史（東京理科大学），相川達男（東京理科大学），珠玖　仁（東北大学），高橋康史（東北大学），魚崎浩平（国立研究開発法人物質・材料研究機構），野口秀典（国立研究開発法人物質・材料研究機構），酒井秀紀（富山大学），清水貴浩（富山大学），藤井拓人（富山大学），鈴木宏明（中央大学），楠原洋之（東京大学），和田健彦（東北大学），金井好克（大阪大学），永森收志（大阪大学），赤羽悟美（東邦大学），中野　実（富山大学），梅田倫弘（東京農工大学），長崎秀昭（東京農工大学），岡崎　進（名古屋大学），長尾秀実（金沢大学），和田久司（科学技術振興機構），餅田浩基（(株)鈴与総合研），久保義弘生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），陳　以珊（生理学研究所），粂　慎一郎（生理学研究所），Rizki Tsari Andriani（生理学研究所）

【概要】

従来の医・生物学は，細胞内や形質膜，そしてバルク細胞外液で生ずる事象を主な対象としてきた。結果として示された多様な生命現象やその成立機構は，種々の病因の解明にも貢献した。しかし，成因不明の生体機能や難病は未だ多く，かつてない概念に基づく研究が必要である。ごく最近，これまで注目されてこなかった細胞外液と形質膜との間の境界相である“界面”の物質環境の破綻が，直接の病因となる例が見出されてきた。そこで本研究会では，異分野間の共同研究を介して，この『生体界面』の生理的意義と病態を解明し，次世代の医療に資する生体機能学および病態生理学を樹立することを目的としている。界面現象の制御因子は，イオン，水，種々の生体活性物質，糖鎖，膜タンパク質，膜脂質などが想定される。まずは，これらを観測する新たなツールとして，糖鎖のシアル酸を標的とした蛍光プローブの作製が高井から報告され，それを用いて胃細胞の界面に分布す

るプロトンポンプ糖鎖を同定した研究が酒井から紹介された。高橋・珠玖は，電気化学的手法を駆使して，酒井の提供した胃粘液細胞の界面を可視化すると共に，この相のアルコール刺激による破綻を追尾した。長尾は，計算科学的手法により，イオン組成に依存した界面水や膜の構造の変化を予測した。日比野は，内耳の界面のイオン動態の異常が難聴に直結する事実を示した。以上より，徐々に分野間の協働が推進され，界面研究が進んでいると評価された。その他にも，界面の物質動態や構造の理解に活用可能な技術や生体題材が数多く説明された。月田教授による特別講演では，タイトジャンクションの構造と生理機能・病態についての最先端研究が紹介され，界面研究との接点が明らかとなった。研究会の最後には，参加者全員で界面研究の方向性が討議され，生体界面が主役を演じると予想される生理現象を絞り，多角的に解析すべきとの結論に至った。

（1）生細胞のシアル酸を標的としたレクチン付蛍光ナノプローブの創製

○高井まどか[1]，久代京一郎[1]，本田文江[2]
（[1]東京大学大学院・工学系研究科，[2]法政大学大学院・生命機能学）

細胞膜上の糖タンパクは，重要な生命現象と関連しており，特に，細胞膜上に存在するシアル酸の発現は，ウイルス感染などの発病機序と関連していることが知られている。そこで我々は，細胞膜のシアル酸の発現量を得意的に検出する新たなバイオセンシングナノ粒子の開発を目指した。本研究においては，蛍光分子であるローダミンB，生体成分の付着を抑制する2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン（MPC），ナノ粒子を形成するための疎水性成分である n-ブチルメタクリレート，その他，生体分子のアミノ基と反応する活性エステル基をもつユニットを含むランダムコポリマー，PMBNR を合成し，ポリ乳酸とでナノ粒子を作製した。ナノ粒子の表面にストレプトアビジンを結合させ，ビオチン化 Sambucus nigra barks(SNA,α-2,6-シアル酸特異的)を反応させた。その後超遠心分離によりナノ粒子(35nm)を回収して，これをプローブとして用いた。

ヒト乳癌細胞(MCF-7)を用いて SNA 結合蛍光プローブのシアル酸特異性について評価をした。MCF-7 と，シアルダーゼでシアル酸を切った MCF-7 に蛍光プローブを37℃の条件で 30 分接触させ，DPBS にて洗浄，その後の細胞を共焦点顕微鏡で観察した結果を図 1 に示す。シアルダーゼで処理した細胞へは蛍光プローブは取り込まれなかったことから，MCF-7 に発現しているシアル酸を得意的に認識できるナノ粒子が創製できた。

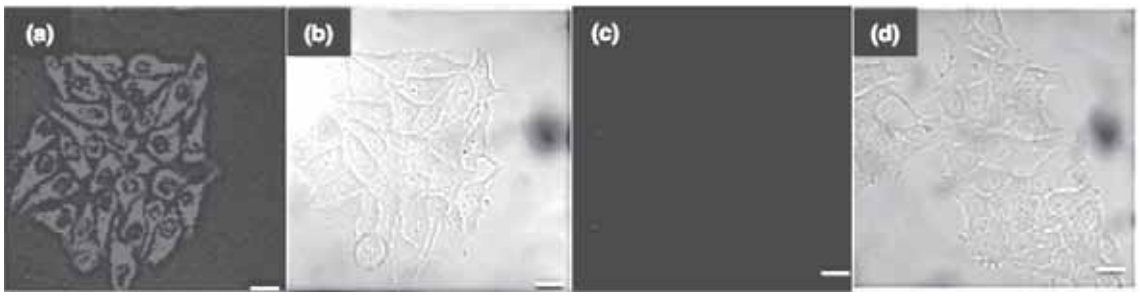


Fig. 1 (a, c) Florescence and (b, d) bright field images of MCF-7 reacted with lectin-conjugated polymeric nanoparticles. (c, d) Cells were treated with sialidase for 16 h boefore the uptake of the nanoparticles. scale bar = 20 μm.

（2）胃細胞の分泌膜界面の構成と機能

○酒井秀紀，藤井拓人，清水貴浩（富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学）

胃壁細胞の分泌膜には胃酸分泌を担う胃プロトンポンプ（H,K-ATPase; HK）が存在する。HK はα鎖（HK-α）およびβ鎖（HK-β）から成り，α鎖は触媒サブユニットとして機能する。β 鎖は糖タンパク質であり，α 鎖の膜へのトラフィッキングおよび安定性に関与している。東京大学・高井まどか教授との共同研究で，HK-α および HK-β を安定発現させた LLC-PK1 細胞におけるシアル酸の検出を lectin-tagged fluorescent polymeric nanoparticles（Cho, Takai et al., Biomacromolecules, 2014）を用いた顕微蛍光測定により行ったところ，HK-αβ 発現細胞では，未発現細胞に比べて蛍光強度が顕著に強かった。HK-αβ 発現細胞をシアル酸切断酵素（neuraminidase）で処理すると，蛍光強度は未発現細胞と同程度にまで減少した。HK-αβ 発現細胞から調製した膜画分における胃プロトンポンプ活性は, neuraminidase 処理により有意に減少した。これらの効果は, HK-αβ 発現細胞を pH5 の溶液で処理することによっても得られた。以上の結果から，胃プロトンポンプ β 鎖の糖鎖におけるシアル酸の切断は，α 鎖のポンプ機能を負に調節する可能性が示唆された。

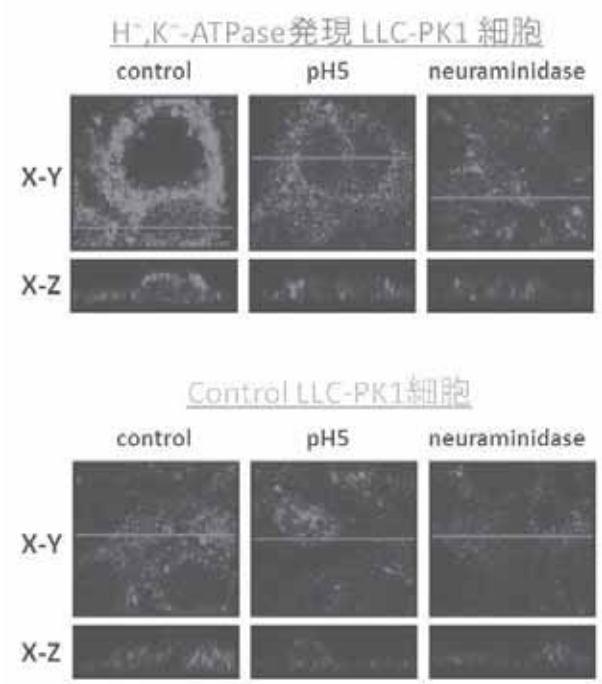
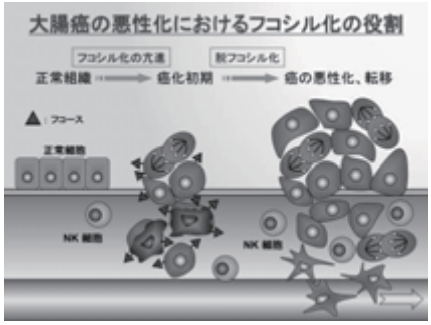


図 1. Lectin-tagged fluorescent polymeric nanoparticles を用いたシアル酸染色

（3）がん免疫とフコシル化

○三善英知，鎌田佳宏（大阪大学大学院・医学系研究科・機能診断科学講座・分子生化学）

フコシル化は，いくつかの糖鎖修飾の中で，最もがんや炎症と関係が深い。大腸がん細胞 HCT116 では，GDP-フコースを合成する酵素の 1 つ GMDS に変異があり, フコースを完全に欠損する。野生型 GMDS を遺伝子導入するとで，HCT116 細胞のフコシル化は完全に回復する。この 2 種類の細胞を比較すると，*in vitro* での細胞増殖能には変化を認めなかったが，免疫不全マウスに移植するとフコース欠損細胞では，より大きな腫瘍形成能を認めた。その原因として，フコース欠損細胞では NK 細胞に抵抗性を示し，TRAIL のシグナルが阻害されることを明らかとした(ref. 1)。HCT116 細胞では，TRAIL 刺激に伴う complex II の形成能に異常があることから，フコースの有無によるタンパ分子複合体相互作用の存在する可能性が示唆された(ref. 2)。さらにヒトがん細胞や大腸がん組織において GMDS の変異の有無を検討したところ, 約 10%の症例で変異を認めた(ref. 3)。GMDS を介したフコシル化欠損は，新しい大腸がんの腫瘍免疫回避機構と言える。



参考文献
1．*Gastroenterology* 137(1), 188-198, 2009
2．*J. Biol. Chem*. 286(50), 43123-43133, 2011
3．*PLOS ONE* 8(7), e70298, 2013

（4）薬物トランスポーターが関与する医薬品体内動態のモデリング＆シミュレーション

○楠原洋之，前田和哉（東京大学大学院・薬学系研究科・分子薬物動態学）

薬物トランスポーターは，薬物の消化管吸収や組織分布，尿や胆汁中への排出等を通じて，体内動態特性の決定要因の一つとなる。生理学薬物速度論モデルにおいて，個々のトランスポーターによる輸送活性を統合することで，ヒト個体レベルでの薬物動態をシミュレーションすることができる。本モデルを利用することで，薬物間相互作用による個体間変動も容易に解析することができる。また，循環血中の薬物の滞留性のほか，血液脳関門透過性や受容体との相互作用を考慮することで，PET で測定された脳内での薬物の受容体占有率も説明可能な状況となった。近年，複雑なモデルにおいて，現象論を説明するための妥当なパラメータ推定法として，cluster Newton 法を新たに導入した。本法では，予め設定したパラメータの範囲から多数の初期値を自動設定し，繰り返し最適化することで，複数のモデルパラメータの解を得ることができる。また，多数の初期値で繰り返しパラメータ推定を行うことで，モデルの中で決定論的に作用するパラメータを抽出することも可能である。本法をトランスポーターや代謝酵素を介した複雑な薬物間相互作用の解析に適用することで，*in vivo* での阻害定数を決定することができた。その結果，*In vitro* の値と一致する事例もあるが，大きく乖離する事例も認められ，そのメカニズムを理解するためにはさらなる研究が必要である。

（5）走査型イオンコンダクタンス顕微鏡を用いた細胞表面の連続測定

○高橋康史[1,2,3]，井田大貴[1]，周　縁殊[2]，珠玖　仁[1]，酒井秀紀[4]，末永智一[1,2]
（[1]東北大学大学院・環境科学研究科，[2]東北大学・原子分子材料科学高等研究機構，
[3]JST さきがけ，[4]富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学）

走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）は，ナノピペットをプローブとして用いる。その特徴は，イオン電流をフィードバックシグナルに利用した非接触かつナノスケールでの形状測定である（図１）。これまでの水平方向の分解能は，3-6 nm ほどの報告があり（*Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45 (14), 2212-2216.），走査方式の改良により，アスペクト比の高い神経細胞などの全体をイメージング可能となった（*Nat. Methods* 2009, 6 (4), 279-281.）。また，パッチクランプ（*Nat. Cell Biol.* 2000, 2 (9), 616-619.），共焦点顕微鏡（*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002, 99 (25), 16018-16023.）とのハイブリットシステムや，高速システム（*Nano Lett.* 2014, 14 (3), 1202-1207.）が開発されている。

本発表では，富山大学の酒井 秀紀先生と共同で進めている胃の表面粘膜細胞（GSM06）に形成された粘膜層の SICM による形状イメージングを行った。エタノールにより，粘液層に傷害をあたえ，その変化を SICM により捉えることで，粘膜層の損傷の様子を可視化した。

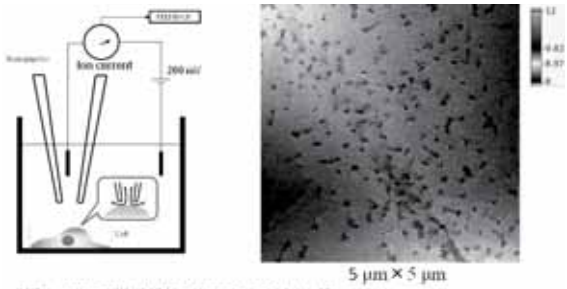


図1　SICMの概要図とGSM06のSICMイメージ
SICMでは、ナノピペット先端部を移動するイオンを律速とするイオン電流をフィードバックシグナルとして、試料の表面形状を非接触で計測できる
微絨毛のように形成された粘膜層が可視化された

（6）ダイヤモンド電極の機能化による生体関連物質の測定

○栄長泰明 [1,2]（[1] 慶應義塾大学・理工学部・化学科，[2]JST-ACCEL）

ホウ素を高濃度にドープした導電性ダイヤモンド薄膜（ダイヤモンド電極）は，優れた電気化学特性をもち，この数年来,ユニークな電極材料として期待されている。近年，有機電解合成用の電極として，あるいは，CO_2 還元による有用物質創製用の電極としての新規な用途も見出されているが，特に，電位窓が広い，残余電流が小さい特性や，すぐれた耐久性を利用した電気化学センサーへの応用にも注目が集まっている。我々はこれまで，ダイヤモンド電極を用いて，主に生体関連物質・環境汚染物質等の微量分析にむけて，その基礎的な評価を行ってきた。重金属など環境汚染物質の分析に関しては，その実用化が進んでいる一方で，特にダイヤモンドマイクロ電極を用いた生体内での局所の物質計測に関心が高まっている。

これまで我々は，脳内ドーパミン，腫瘍マーカーとなるグルタチオン，胃の中の pH などの生体内測定に成功している。さらに最近，より安定的かつ量産できる電極作製法の改良を行ったとともに，糖鎖模倣ペプチド固定化ダイヤモンド電極を用いてインフルエンザウイルスを高感度に検出することにも成功した。

（7）ダイヤモンド電極の機能化と電気化学分析への応用

○近藤剛史，相川達男，湯浅　真（東京理科大学・理工学部・工業化学科）

低コストで使い捨て可能なダイヤモンド電極の作製を目的として，ダイヤモンド印刷電極を開発した。特に，インク組成による電気化学特性の制御に着目し，使い捨て可能かつ高感度な電極の作製を検討した。

ボロンドープダイヤモンドパウダー（BDDP）とバインダー（ポリエステル樹脂，PES）を溶剤に加えて混合し, BDDP インクを調製した。スクリーン印刷法により，ポリイミドフィルム基板上にリード，レジスト，BDDP インク等を順次印刷し，BDDP 印刷電極を得た。

Fig. 1a–1c に，多結晶 BDD 電極，BDDP 印刷電極（PES/BDDP=0.3, 1.0）におけるアスコルビン酸（AA）のサイクリックボルタモグラム（CV）を示す。多結晶 BDD 電極と BDDP 印刷電極（PES/BDDP=0.3）では同程度のピーク電流が得られたが，印刷電極のほうがバックグラウンド電流が小さく，シグナル/バックグラウンド（S/B）比に優れていることがわかった（Fig. 1d）。また，BDDP 印刷電極（PES/BDDP=1.0）では，微小電極に特徴的な CV 挙動となり，最も S/B 比が大きいことがわかった。以上の結果より，BDDP 印刷電極は従来のダイヤモンド電極よりも高感度かつ安価で使い捨て可能な電極として利用できることが示唆された。

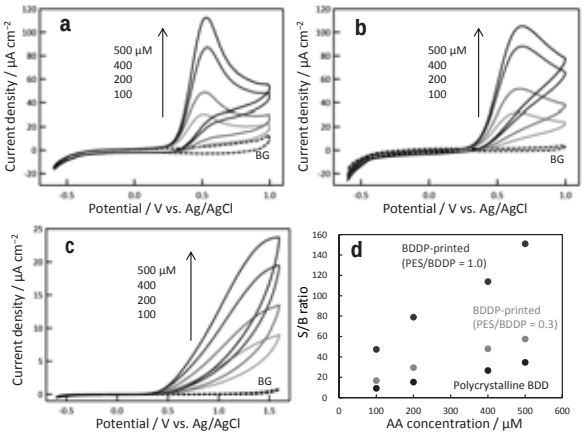


Fig. 1 (a) 多結晶 BDD 電極、(b) BDDP 印刷電極（PES/BDDP = 0.3）および(c) BDDP 印刷電極（PES/BDDP = 1.0）における 0.1 M Na_2SO_4 中の AA の CV. (d) 各電極における AA 検出の S/B 比の比較.

（8）界面イオン動態による内耳電気現象の成立と制御

○日比野　浩[1]，任　書晃[1]，吉田崇正[2]
（[1]新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学分野，
[2]九州大学大学院・医学部・耳鼻咽喉科）

音の受容器官である内耳蝸牛は，内・外リンパ液で満たされている。そのうち，内リンパ液は，150 mM の高 K^+濃度と+80 mM の高電位を常に示す特殊な細胞外液である（図）。内リンパ液の高電位は，感覚細胞の高感受性に大きく寄与している。この電位の低下で難聴が生ずる。内リンパ液の電気化学環境は，蝸牛の「血管条」と呼ばれる組織のイオン動態に立脚する。血管条は，2 層の上皮シートにより構成される。これらの形質膜に挟まれた細胞外区分は，15 nm と狭く，通常のバルク外液とは異なる生体界面である（図）。この微小空間に面する K^+チャネルや K^+トランスポーターの機能共役により，通常，空間内の K^+濃度は低く維持される（図）。特殊な微小電極を用いた実験や計算科学的手法により，この低 K^+が外層の K^+チャネルに作用することで，内リンパ液の高電位が保たれることが明らかとなった。虚血や耳毒性薬物負荷により上記の K^+輸送装置が障害されると，生体界面の K^+濃度が 5 倍も上昇し，内リンパ液の高電位が喪失した（図）（*PNAS* 2008; *PNAS* 2012; *Pflügers Arch* 2015）。従来の医・生物学では，細胞外液のイオン濃度を全て常に一定と見なし，疾患との相関を解釈してきた。しかし，以上の結果は，内耳の生体界面では一般的なバルク外液では検知されないイオン濃度変化が出現し，それが病因となる新概念を示唆する。

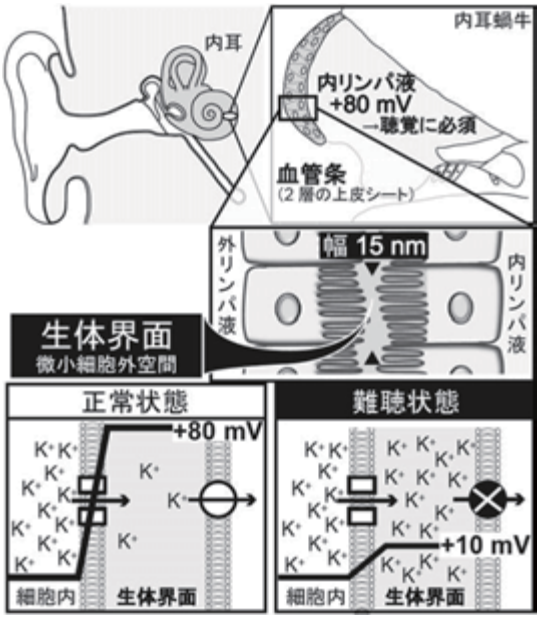


図 内耳蝸牛の生体界面の K^+濃度動態

（9）心筋 Kv7.1 チャネル分子複合体による多彩な細胞シグナル応答

○黒川洵子，児玉昌美，永森收志，金井好克，古川哲史
（東京医科歯科大学・難治疾患研究所・先端分子医学研究部門・生体情報薬理学分野）

家族性 QT 延長症候群の原因となる KCNQ1 遺伝子でコードされている心筋 Kv7.1 タンパクは，心室筋活動電位の再分極相に寄与する遅延整流性 (I_{Ks}) チャネルの α サブユニットとして機能している。心筋 I_{Ks} チャネルは，交感神経系刺激による β アドレナリン性受容体活性化をはじめとした様々な細胞内シグナルに応答し，チャネル活性が大きく変化する事を特徴とする。これまで，我々は，QT 延長症候群の発症リスクと β アドレナリン性刺激による調節機構の関連および QT 延長症候群の発症率の性差と性ホルモンによる調節機構の関連について，Kv7.1 タンパクに結合した分子との複合体が重要であることを示してきた。そこで，今回は，Kv7.1 タンパクの心筋での役割をより包括的に理解するために，結合分子を網羅的に調べ新規の分子メカニズムの探索を行った。方法としては，α-MHC プロモーターにより心筋特異的に Kv7.1 タンパクを発現させたトランスジェニックマウス

を用いて，*in vivo* および *in vitro* 機能解析および免疫沈降物からの質量解析を行うことにより，native の条件で解析するシグナル分子を絞った。細胞外部位を持つ膜タンパクだけでなく細胞外マトリックスの分子も同定されたことから，細胞外からのシグナル応答の分子機構につながる可能性が示された。

～特別講演～

（10）TJ クローディンによる上皮細胞シートバリア構築と生体システム

○月田早智子（大阪大学大学院・生命機能研究科・医学系研究科・分子生体情報学）

上皮細胞は互いにその側面で細胞間接着することにより細胞シートを構築して，大小の生体内コンパートメントをくまなく覆う。上皮細胞シート形成を基盤として，タイトジャンクション (TJ) が確立したとき，上皮細胞間バリアーが確立し，コンパートメント界面が成立して，その内外の「微小環境」が形成され，生体システムが構築される。同時に上皮細胞シートの細胞骨格や膜タンパク質の分布，イオンや物質の偏在は，生体機能の時空間的推移のなかで巧妙に制御され上皮極性を構築し，微小環境の動的平衡状態の維持に寄与する。

近年，TJ の接着分子クローディンの独特の構造も明らかになり，TJ の機能制御について詳細な検討が進展すると思われる。さらに私共では，TJ により規定されるアピカル骨格構造を見いだしており，広く上皮バリア制御の観点から検討を進めている。微小環境の異常は，がん，炎症，自己免疫疾患，代謝異常など多種の病態の原因になることが知られており，多くの研究が行われている。TJ 発の「微小環境」，「生体機能」という階層的関係を踏まえて，新規生体制御基盤としての TJ および，TJ アピカル骨格複合体の役割を解明し，生体界面としての生体バリアの新しい操作法の開拓を目指す。

（11）界面振動分光法によるバイオ界面の構造・機能評価

○野口秀典 [1,2]，魚崎浩平 [1,2]
（[1] 国立研究開発法人物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点（WPI-MANA），
[2] 国立研究開発法人物質・材料研究機構 ナノ材料環境科学研究拠点（GREEN））

生体内のタンパク質をはじめ，ソフトマターの構造・機能発現において周囲の水が大きな役割を果たしている事は良く知られており，界面の水の構造を明らかにすることの重要性は十分認識されている。従って，水環境下でソフトマター自身の構造・機能を直接的に決定・議論することが重要となる。本研究は界面選択的な振動分光法を適用し，ソフトマター自身と界面の水の構造を明らかにし，分子間相互作用（水素結合等）に関する情報を得ることを目指している。ここでは，全反射赤外吸収分光法（ATR-IR 法）をペプチド固相合成過程のその場追跡に適用した結果について報告する。

ペプチド固相合成法は表面をアミノ基で修飾したポリスチレンビーズなどを固相として用い，脱水反応によって段階的にアミノ酸鎖を伸長する手法であるが，これまで固相合成過程におけるペプチドの構造を直接評価した例はなく，表面においてペプチドがどのように伸張しているかは未だ不明瞭である。固相合成過程におけるペプチドの構造評価法の確立は合成の収率改善，および困難とされるペプチドの合成にも繋がると考えられ重要である。本研究はペプチド固相合成法により金基板上でポリプロリンを段階的に合成し，各段階のポリプロリンの構造を ATR-IR 法により評価した。

（12）膜貫通ペプチドのリン脂質フリップフロップ誘起メカニズム

○中野　実[1]，中尾裕之[2]，林　千尋[1]，池田恵介[1]
（[1]富山大学大学院・医学薬学研究部・生体界面化学，[2]京都大学大学院・薬学研究科・製剤機能解析学）

小胞体は脂質の生合成機関であり，細胞質側で合成された脂質は，速やかに内腔側に移行して二重層の両側の脂質数のバランスを保っている。この速やかなエネルギー非依存的フリップフロップ(FF)には膜タンパク質の関与が強く示唆されているが，そのメカニズム，分子実体は不明である。我々は，これが種々の膜タンパク質の膜貫通部位によって達成されているという作業仮説（図１）のもと，モデル膜と膜貫通ペプチドを用い，ペプチド配列依存的な FF 誘起能を計測して，物理化学的な脂質ーヘリックス間相互作用を介した FF 機構を解明するとともに，小胞体膜タンパク質の一次配列情報からフリッパーゼ候補を探索・抽出することを目指している。

リン脂質ベシクルに，23 残基（うち中央 17 残基が膜貫通配列）からなる 3 種類の膜貫通ペプチド(TMP23L, -K, -E)を導入し，リン脂質の FF を中性子散乱により調査した。完全に疎水性の膜貫通配列をもつペプチド(TMP23L)は FF を起こさなかったが，膜貫通領域の中央に 1 残基だけ親水性アミノ酸（Lys または Glu）を入れたペプチド(TMP23K, TMP23E)は FF を誘起した。

そこで，ペプチドの中央残基を他の様々なアミノ酸に置換し，FF 誘起能を蛍光脂質を用いて調査した。その結果 FF 誘起能は，中央の置換残基の親水性度に相関すること，膜貫通配列の長さに依存し，至適長があることが判明した。

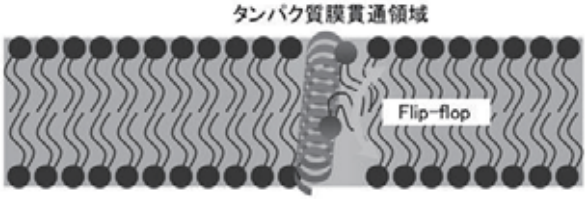


図１　膜タンパク質の膜貫通領域による フリップフロップの誘起

（13）脂質膜界面に関する理論的研究

川口一朋，齋藤大明，○長尾秀実（金沢大学・理工研究域・数物科学系・バイオ科学）

ガングリオシドはスフィンゴ脂質の頭部に複数の糖とシアル酸（ノイラミン酸）が結合したものである。神経細胞膜中に豊富に存在し，神経組織の維持，修復に関連していることがわかっている。また，リンパ液が不足した細胞の生存や聴覚機能の維持にも重要であることが示唆されている。アルツハイマー病の原因となるアミロイドβの会合を促進するということが実験から示唆されていたが，分子動力学シミュレーションにより，GM1 がアミロイドβの構造を変化させ，会合状態を安定化させるということが示されている。しかし，ガングリオシドが脂質二重膜界面に与える影響の詳細は明らかになっていない。

本研究では，ガングリオシドが脂質二重膜の界面付近における水分子やイオンの振る舞いに与える影響を明らかにする。POPC 純粋膜および POPC とガングリオシドの混合膜を作成し，全原子分子動力学シミュレーションを用いて POPC 二重膜界面付近における水分子およびイオンの分布を調べ，ガングリオシドが与える影響を解析した。解析の結果，GM1 より GD1 の方が，界面付近のイオン濃度が増えることが分かった。また，界面では水分子密度がバルク水分子密度より大きくなることも分かった。バルク状態に比べ脂質膜界面での水分子やイオンの構造や動態特性が異なると示唆された。

（14）細胞膜と人工細胞膜のイメージングのためのマイクロ技術

○鈴木宏明（中央大学・理工学部・精密機械工学科）

形質膜や小器官の膜は，それらの内部構成要素と外部環境の界面を隔て，物質や信号の授受を司る。主に脂質二重膜と膜タンパク質から構成される形質膜の機能計測には，電気生理学的方法および光学イメージングによる方法がある。また，細胞の形質膜そのものを対象とする研究に加え，構成成分や環境を厳密に定義する目的で，人工脂質二重膜を用いた再構成系を用いた研究も行われている。

これらの実験を微小化・並列化により高効率化するために，マイクロ・ナノ加工技術の利用が有効である。鈴木らは，2003 年よりマイクロチップ上への人工脂質膜の高効率再構成法に関する研究を行い，電気生理実験が可能であることを示した[1,2]。最近では，トランスポーターによる物質輸送計測[3,4]，および細胞垂直断面の高解像度イメージングに関する研究を行った。

1. H. Suzuki et al., *Biosens. Bioeng.*, 22, 1111, 2007.
2. H. Suzuki and S. Takeuchi, *Anal. Bioanal. Chem.*, 391, 2625, 2008.
3. M. Tsugane et al., *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2015 (online).
4. Y. Okada et al., *Proc. MEMS 2015*, 439, 2015.

（15）ハイブリッド顕微鏡の開発～物理ストレスと生理活性評価を中心に～

○梅田倫弘[1]，李　永波[1]，本田諭志[1]，川島実紗[1]，松倉由幸[1]，長崎秀昭[1]，太田善浩[2]
（[1] 東京農工大学・工学部・機械システム工学科，[2] 東京農工大学・工学部・生命工学科）

我々は，生体組織へ外力を印加しながらその活性を蛍光色素によって評価するハイブリッド顕微鏡を開発した。先端を円錐台状に加工した光ファイバーをカンチレバー状に成形させて，生体試料に接触させ，そのカンチレバーの変位を計測することで試料への印加力を設定する。それと同時に，蛍光色素励起レーザーと共焦点顕微鏡を組み合わせた光学系を配置して，外力に対する生体組織の応答を光学的に評価した。

１）ミトコンドリアへの物理ストレスに対する応答

ミトコンドリアは，生体エネルギーの元であるＡＴＰ合成を担う重要な小器官である。特に，心筋細胞や血管内皮細胞などは拍動などの周期的物理ストレスに晒されており，ミトコンドリアにもその影響が考えられる。そこで，ハイブリッド顕微鏡により 100nN 以下の応力を加えながら膜電位感受性蛍光色素による膜電位を計測した結果，50nN 以下の外力によって活性化することを明らかにした。

２）大腸菌の破壊強度の計測

汚泥処理の一つに活性汚泥法があるが，余剰汚泥の処理に毎年 2 兆円の経費を要するため，汚泥の減容化が課題となっている。その対策としてイジェクターによる大腸菌類の破砕が注目されているが，大腸菌単体の物理特性は全く明らかになっていない。そこで，ハイブリッド顕微鏡により大腸菌の硬さ指標であるヤング率を計測し，生細胞で 585±387kPa，死細胞では 96.6±28.0kPa となり，細胞死によって細胞壁の強度が低下することを明らかにした。

（16）生体界面構成因子の定量的解析に向けた膜タンパク質定量プロテオミクス

○永森收志，金井好克（大阪大学大学院・医学系研究科・生体システム薬理）

生体界面を理解するためには，その構成因子を定量的に解析することが必要である。生体界面を形成している生体膜には多くの膜タンパク質が局在し，それらの膜タンパク質は構成因子として主要な役割を果たしている。膜タンパク質の中でも多数回の膜貫通部位を持つ膜タンパク質は，トランスポーター，イオンチャネル，受容体等の生体にとって非常に重要なものを含むが，その疎水性の高さや一般に存在量が少ないことから生化学・生物物理学的な扱いが難しく，これらの膜タンパク質を対象とした定量解析は容易では無かった。多数回膜貫通膜タンパク質の定量比較の従来技術としては，抗体を用いたウエスタンブロットが一般的であるが，その適用は対象とした一種類のタンパク質のみに限られ，また抗体が取得できているものに限られる。我々は，生化学的手法により調整した試料に対して質量分析を行い，多数回膜貫通部位を持つ膜タンパク質の網羅的定量解析を可能とする技術を開発した。この技術により，実施者の意図によるバイアスや抗体の有無などの制約から逃れて，膜タンパク質発現の全体像を把握することが可能になった。異なる細胞間や組織間における膜タンパク質発現量の違い，さらには食物や薬物の投与や任意の遺伝子操作によるタンパク質発現量への影響が，網羅的かつ定量的に比較解析できるようになった。生体界面の真の理解に必須な基盤技術として，活用可能である。

（17）生体界面と人工核酸の相互作用　－細胞膜透過性向上を指向したアルギニン残基導入とその効果－

菅井祥加[1]，上松亮平[1]，中瀬生彦[2]，坂本清志[1]，荒木保幸[1]，
高井まどか[3]，石橋　哲[4]，横田隆徳[4]，○和田健彦[1]
（[1]東北大学・多元物質科学研究所・生命機能制御物質化学研究分野，
[2]大阪府立大学・21 世紀科学研究機構，[3]東京大学大学院・工学系研究科，[4]東京医科歯科大学）

多くの薬物の実用化にとって高効率な細胞内移行性，特にエンドソームからの効率的脱出能の付与は，最も重要な課題の一つである。我々が開発に取り組んでいるハイポキシア細胞特異的核酸医薬ペプチドリボ核酸（PRNA）の場合も，高い細胞導入能を付与出来れば，より実用的な核酸医薬としての展開が可能になることが期待される。このような背景を踏まえ，高い細胞取込み特性および生体適合性を有するアルギニン (Arg) に着目し，PRNA-Arg モジュールの合成とその特性について，細胞導入効率や細胞毒性などを中心に核酸医薬としての基礎的機能評価を検討した。

高細胞導入効率を有する核酸医薬としての要素技術の確立を目的とし，PRNA ユニット数を 12 に固定し，導入する Arg 残基数を 12，8，4 と変化させた 3 種類の PRNA-Arg モジュール 1，2，3 を合成した。1〜3 を FAM で蛍光標識し，HeLa 細胞ならびに CHO 細胞への取込みを，共焦点レーザー顕微鏡による細胞内局在観察および FACS による定量解析によって評価した。

PRNA-Arg2 は，R8 よりも約 3 倍の高い細胞取込み能を示し，エンドソームからも非常に効果的脱出することも明らかとなった。詳細な検討の結果，細胞表面糖鎖，特に硫酸化多糖などと Arg 側鎖のグアニジウム基間での静電相互作用・水素結合等が，細胞取込に大きく影響していることが示唆された。

（18）分子の脂質二重層膜透過の経路依存性について

伊藤太一，山崎隼也，安藤嘉倫，篠田　渉，○岡崎　進
（名古屋大学大学院・工学研究科・化学・生物工学）

拡散により分子が生体膜を透過する際，分子の運動は周囲の脂質膜との相互作用に大きく影響される。分子から見て，流動相にある脂質膜の構造は長時間平均をとると平均化されるが，瞬間構造は不均一なものであり，相互作用は分子周囲の膜構造に大きく依存する。この構造変化が分子の透過速度と比べて充分に速い場合には，分子はどこから透過しても均一な透過速度を持つが，遅い場合には個別の場の中を移動することとなる。実際に脂質分子の膜面方向の並進運動は極めて遅く，分子の透過速度は個々の分子がたまたま選んだ経路に依存して大きく異なるものと予想される。

本研究では，上述の観点から透過の速度論の見通しを得るため，DPPC 二重層膜を横切る水分子の透過に対し，熱力学的積分法に基づいた分子動力学計算により，任意に選んだ透過経路に沿って自由エネルギープロフィールを計算した。求めた 20 本のプロフィールは経路により大きく異なり，障壁の高さは 20 kJ/mol から 40 kJ/mol まで広く分布した。このことは，透過速度は自由エネルギー障壁高さの平均値から議論するのではなく，各経路の障壁の高さに従った透過速度の平均として議論しなければならないことを意味している。なお，経路ごとのプロフィールの統計的健全性は，overlap distribution 法ならびに粒子挿入法から求めた全空間の平均値としてのプロフィールとの比較から確認した。

３．膜システムの機能的・構造的統合

2015 年 9 月 1 日－9 月 2 日

代表・世話人：老木成稔（福井大学 医学部 分子生理学）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所 神経機能素子研究部門）

（１）内向き整流性カリウムチャネルのポアの開口には細胞外カリウムイオンの存在を必要としない

○柳（石原）圭子，井形幸代，伊藤政之，鷹野 誠

（久留米大学医学部 生理学講座 統合自律機能部門）

（２）電位依存性カリウムチャネル複合体の発現量依存的なストイキオメトリー変化

○中條浩一[1,2]，北沢和寛[2]，久保義弘[2]

（[1]大阪医科大学 生理学，[2]生理学研究所 神経機能素子）

（３）カルシウムイオン透過性を持つ電位センサードメインの機能解析

○有馬大貴[1]，筒井秀和[1,2]，岡村康司[1,3]

（[1]大阪大学大学院 医学系研究科 統合生理学教室，

[2]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，

[3]大阪大学大学院 生命機能研究科）

（４）先進的光学顕微鏡による１分子構造機能解明

○三上　渚，西坂崇之（学習院大学大学院 自然科学研究科）

（５）X 線結晶構造解析により明らかになった黄色ブドウ球菌の膜孔形成毒素蛋白質の膜孔形成機構

○田中良和（北海道大学大学院 先端生命科学研究院）

（６）GIRK チャネルとムスカニリック受容体 M2 の複合体形成

○立山充博[1,2]，久保義弘[1,2]（[1]生理学研究所 神経機能素子，[2]総合研究大学院大学 生理科学）

（７）全反射蛍光顕微鏡による代謝型グルタミン酸受容体の 1 分子動態解析

○柳川正隆[1]，廣島通夫[1,2]，山下高廣[3]，七田芳則[3]，佐甲靖志[1]

（[1]理化学研究所，[2]理化学研究所 QBiC，

[3]京都大学大学院 理学研究科 生物物理）

（８）分子動力学シミュレーションで明らかになった脂質膜環境に影響される
細菌機械受容チャネル MscL の開口挙動

○勝田紘基[1]，澤田康之[2]，曽我部正博[3]

（[1]名古屋大学医学部，[2]名古屋大学大学院 医学系研究科 細胞生物物理学，

[3]名古屋大学大学院 医学系研究科メカノバイオロジーラボ）

（９）高速原子間力顕微鏡を用いた膜蛋白への抗体結合・解離動態の直接観察

○相馬義郎，山下隼人（慶應義塾大学医学部 薬理学教室）

（10）非環状骨格を介した光応答性分子の導入による高機能核酸材料の開発

○神谷由紀子，浅沼浩之

（名古屋大学大学院 工学研究科，名古屋大学 エコトピア科学研究所）

（11）人工タンパク質針の作成と生体膜上の挙動

○上野隆史（東京工業大学 生命理工学部）

（12）イオンチャネルのイオン透過機構

○老木成稔，炭竃享司，岩本真幸（福井大学 医学部 分子生理学）

【参加者名】

佐甲靖志（国立研究開発法人理化学研究所），柳川正隆（国立研究開発法人理化学研究所），中條浩一（大阪医科大学），柳（石原）圭子（久留米大学），老木成稔（福井大学），角野　歩（福井大学），炭竈享司（福井大学），澤田康之（名古屋大学），勝田紘基（名古屋大学），相馬義郎（慶應義塾大学），岡村康司（大阪大学），藤原祐一郎（大阪大学），川鍋　陽（大阪大学），有馬大貴（大阪大学），三上　渚（学習院大学），神谷由紀子（名古屋大学），上野隆史（東京工業大学），田中良和（北海道大学），斉藤真司（分子科学研究所），内田邦敏（生理学研究所），佐藤幸治（統合バイオ），古谷祐詞（分子科学研究所），塚本寿夫（分子科学研究所），森俊文（分子科学研究所），横井紀彦（生理学研究所），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），陳　以珊（生理学研究所），粂　慎一郎（生理学研究所），Rizki Tsari Andriani（生理学研究所）

【概要】

本年度から開始した研究会「膜システムの機能的・構造的統合」では生理学のみならず生物物理学からも若い人材を招き，活発な討論を繰り広げることができた。研究対象はイオンチャネルの分子構造レベルの研究から受容体・細胞膜・細胞レベル，さらには生物材料をもとにした合成系の研究まで広くカバーした。また測定法としても結晶構造解析・一分子測定・分光学・シミュレーションなど多彩な結果が発表され，他に例のない研究会になった。これをもとに生理学の本道である生体機能のダイナミクスという共通項を基盤として深い議論が交わされた。本研究の意図は既存の研究領域のすきまから新たな研究領域を生み出すことを目指したものである。もうひとつの目的は分子・膜・細胞というさまざまな研究対象に異なる領域で使われている測定法・研究法を適用できる領域を見出すことである。ここで集まったメンバーが他の機会に集まることはまれであると思われるが，それだけに非常に緊張感をもった，相互に実り多い議論が交わされた。今後このメンバーの中から共同研究が育っていくことが期待される。発表・討論時間を十分にとったことで異なるバックグラウンドの研究者がお互いに理解しあうことができた。討論も十分かみ合ったものであり，討論の時間が不足したと感じるほど，熱心な議論が繰り広げられた。来年に向けてこの議論の輪を広げられるような新しいメンバー，特に若い研究者の参加を要請したい。

（1）内向き整流性カリウムチャネルのポアの開口には細胞外カリウムイオンの存在を必要としない

○柳（石原）圭子，井形幸代，伊藤政之，鷹野　誠
（久留米大学医学部 生理学講座 統合自律機能部門）

心筋の内向き整流性 K^+電流（I_{K1}）は，K^+を含まない細胞外液中では完全に抑制され，外向き電流が全く流れないことが古くから知られていたが（K^+-free 抑制），そのメカニズムは明らかにされていなかった。私たちは，I_{K1} チャネルに極めて近い性質を示す Kir2 サブファミリーの内向き整流性 K^+チャネルを用いて，内向き整流性のメカニズムである細胞内ポリアミン分子によるチャネルの電位依存性ブロックを研究してきたが，今回 K^+-free 抑制のメカニズムにポリアミン・ブロックが関わっていることを見出した。I_{K1} や Kir2 の単一チャネルコンダクタンスは細胞外 K^+濃度の平方根にほぼ比例することは知られているが，私たちが得た知見は Kir2 チャネルの開口に細胞外の K^+を必要するわけでは無いことを示した。一方で Kir2 チャネルのポリアミン・ブロックには細胞内の K^+が連動して働くことが示唆されており，ブロックに伴うポア内部の K^+減少が抑制に関与する可能性は否定できないと考えられた。

（2）電位依存性カリウムチャネル複合体の発現量依存的なストイキオメトリー変化

○中條浩一[1,2]，北沢和寛[2]，久保義弘[2]
（[1]大阪医科大学 生理学，[2]生理学研究所 神経機能素子）

神経細胞や心筋細胞等の興奮性制御に重要な役割を果たしている電位依存性カリウムチャネルは，主要サブユニット自身が四量体から構成される膜蛋白質複合体であるが，修飾サブユニットの結合によりさらに大きな膜蛋白質複合体を構成する。今回電位依存性カリウムチャネル Kv4 について，2 種類の異なる修飾サブユニット KChIP4 と DPP10 とのストイキオメトリーを，それぞれ決定することを試みた。電気生理学的解析により，KChIP4，DPP10 いずれの場合においても，修飾サブユニット由来の機能変化が発現量依存的に徐々に変化し，ストイキオメトリーが発現量依存的に変化する可能性を示唆していた。次に 1 分子蛍光イメージングにより複合体中の分子数をそれぞれ数えたところ，KChIP4 については発現量依存的に最大 4 分子結合すること，そして特定のストイキオメトリーに偏らないことがわかったが，一方 DPP10 は同じく最大 4 分子結合するものの，DPP10 が 2 分子結合する 4:2 のストイキオメトリーに偏ることがわかった。これは DPP10 の細胞外領域が二量体構造をとることに由来すると考えられた。いずれのケースにおいても，複合体の分子構成はそれぞれの分子の発現量に依存して変化しうることを示しており，生体中での細胞の膜興奮性を柔軟に制御している可能性を示唆している。

（3）カルシウムイオン透過性を持つ電位センサードメインの機能解析

○有馬大貴[1]，筒井秀和[1,2]，岡村康司[1,3]
（[1]大阪大学大学院 医学系研究科 統合生理学教室，
[2]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，
[3]大阪大学大学院 生命機能研究科）

電位依存性イオンチャネルは，膜電位変化を感知するための電位センサードメインおよびポアを形成するためのポアドメインをもつサブユニット，あるいはドメインが四量体となることで 1 つのイオン透過路を形成している。精巣特異的カチオンチャネル (CatSper チャネル) もそのひとつであり, 4 つの α サブユニット (CatSper1, 2, 3，4) がヘテロ四量体となってポアを形成していると考えられている。先行研究により精子細胞内へのカルシウムイオン流入に必須であることは知られているが，これまで発現系での機能発現に成功した例がなく，CatSper チャネルが本当にカルシウムイオン透過性を持つかどうかは明らかとされていない。本研究では，カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) の CatSper チャネル (Ci-CatSper) について機能解析を行った。その結果，Ci-CatSper3 の電位センサードメイン (CiCS3 VSD) がカルシウムイオン透過能を持つことが明らかとなった。カルシウム感受性蛍光色素である Fluo 3 を用いた解析から，CiCS3 VSD を発現させた卵母細胞や HEK293T 細胞において，過分極時にカルシウムイオンが細胞外から流入することが分かった。また，精製した CiCS3 VSD を用いたリポソーム再構成系における解析においても，カルシウムイオンの透過が観察された。以上の結果より，CiCS3 VSD そのものがカルシウムイオン透過性のあるイオンチャネルとして機能することが示唆された。

（4）先進的光学顕微鏡による１分子構造機能解明

○三上　渚，西坂崇之（学習院大学大学院 自然科学研究科）

我々の研究グループでは，単一蛍光プローブからの信号を独自の光学顕微鏡で画像化することにより，酵素反応の素過程，およびそれに伴う分子内の局所的な構造変化を定量的にとらえる研究手法を発展させてきた。本演題では，プローブの「強度」と「角度」に加え，「rotational mobility（回転ゆらぎ）」の検出を可能にする新しい方法論を紹介する。これまでに以下の３つの課題について取り組んでおり，前段階的な結果ではあるものの，１分子を対象にした結果が得られ始めている。（１）回転分子モーター F_1-ATPase の触媒サブユニットの構造変化；（２）F_1-ATPase の化学反応の可視化；（３）カリウムチャネル KcsA の１分子観察。特に（２）については，触媒部位に結合している蛍光性 ATP の周辺の環境が，回転ゆらぎの変化として初めて検出された。この変化は回転軸から類推した化学状態に厳密にカップルしており，１分子レベルの回転ゆらぎが反応の素過程を記述する新しい指標となりうる可能性を示している。

（5）X 線結晶構造解析により明らかになった黄色ブドウ球菌の膜孔形成毒素蛋白質の膜孔形成機構

○田中良和（北海道大学大学院 先端生命科学研究院）

病原性微生物は，細胞膜に孔を形成する毒素蛋白質（膜孔形成毒素）を分泌し，ホストの細胞に傷害を与える。膜孔形成毒素は，可溶性の単量体として分泌されるが，ターゲット細胞上でプレポアと呼ばれる円状の会合体を形成した後，膜貫通ドメインを細胞膜中に挿入して膜孔を形成する。膜孔の形成により，細胞の内容物は細胞外に漏出するため，細胞は死に至る。本研究では，院内感染の原因菌として知られる黄色ブドウ球菌が産生する膜孔形成毒素の動的な分子機構をＸ線結晶構造解析により明らかにした。

我々はまず，結晶化剤として広く使用される 2-メチル-2,4-ペンタンジオール（MPD）を添加すると，黄色ブドウ球菌の膜孔形成毒素が膜孔へと自発的に会合するという特性を見いだした。この分子特性を利用し，膜孔およびプレポアの結晶構造を決定した。膜孔の構造からは，単量体では折り畳まれていたステム領域が大きく飛び出して，膜貫通領域の β-バレルを形成することがわかった。プレポアの構造は膜孔と類似していたが，膜貫通領域だけがディスオーダーしていた。これは，プレポアへと会合していく段階で，膜貫通領域以外の部分が構築されることを意味する。これらの一連の膜孔形成過程の結晶構造から，可溶性の単量体として分泌された蛋白質が膜孔へと大きく構造変化する分子機構を解明することができた。

（6）GIRK チャネルとムスカニリック受容体 M2 の複合体形成

○立山充博 [1,2]，久保義弘 [1,2]
（[1] 生理学研究所 神経機能素子，[2] 総合研究大学院大学 生理科学）

G タンパク質依存性内向き整流性カリウムチャネル（GIRK）は，主に，百日咳毒素感受性 Gi/o タンパク質から遊離した Gβγ との結合により活性されると考えられている。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（M_1R）とチャネルを 34 アミノ酸残基のリンカーで結合すると，百日咳毒耐性 Gq タンパク質を介して GIRK が活性化されることを見出した。この作用は，linker のサイズが 100 になっ

ても維持されていたが，250 以上では消失した。一方，Gi/o 共役型ムスカリン受容体である M_2R では，linker のサイズが 516 でもチャネル活性化作用が維持されていた。さらに，受容体とチャネルに付加した蛍光蛋白間での蛍光共鳴エネルギー転移（FRET）効率の計測から，M_1R では linker サイズの増加により FRET 効率が減少するのに対し，M_2R では linker サイズによらず一定の FRET 効率を示すことが明らかとなった。以上により，Gi/o 共役型 M_2R は GIRK チャネルと複合体を形成し効果的なチャネル活性化作用を示すものと考えられた。

（7）全反射蛍光顕微鏡による代謝型グルタミン酸受容体の 1 分子動態解析

○柳川正隆 [1]，廣島通夫 [1,2]，山下高廣 [3]，七田芳則 [3]，佐甲靖志 [1]
（[1] 理化学研究所，[2] 理化学研究所 QBiC，[3] 京都大学大学院 理学研究科 生物物理）

近年，GPCR が二量体・多量体を形成することで互いの機能を調節する事例が数多く報告され，創薬のターゲットとしても注目されている。しかしながら，生化学的な手法では空間的な情報が平均化されてしまうため，二量体と高次多量体を区別して議論することは難しい。本研究では，生細胞膜中における GPCR の高次多量体化の実態を明らかにすることを目的として，代謝型グルタミン酸受容体(mGluR)をモデルとした 1 分子蛍光イメージングを行った。HEK293 細胞膜中において蛍光標識した mGluR3 を全反射蛍光顕微鏡により観察した結果，高次多量体がある程度の割合で存在することが明らかになった。また，mGluR3 の拡散状態を隠れマルコフモデルを用いてクラスタリングした結果，高次多量体は最も遅い拡散状態に多く存在することが判明した。さらに，インバースアゴニスト・アゴニスト存在下の比較から，mGluR3 の活性化に伴い，高次多量体を含む遅い拡散状態の割合が増えることが示された。つづいて，mGluR3 の活性化依存的な動態変化がクラスリンとの相互作用によるものである可能性を 2 色同時 1 分子イメージングにより検証した。その結果，mGluR3 が活性化した後，生細胞膜中で高次多量体を形成し，クラスリン被覆ピットに集積，複数の受容体が一度に内在化されるという様態が明らかになった。

（8）分子動力学シミュレーションで明らかになった脂質膜環境に影響される細菌機械受容チャネル MscL の開口挙動

○勝田紘基 [1]，澤田康之 [2]，曽我部正博 [3]
（[1] 名古屋大学医学部，[2] 名古屋大学大学院 医学系研究科 細胞生物物理学
[3] 名古屋大学大学院 医学系研究科メカノバイオロジーラボ）

細菌由来の機械受容チャネルである MscL は細胞膜の張力で直接活性化（開口）する。その開口過程の大筋は分かっているが，脂質膜を介した張力感知機構の理解は充分ではない。本研究では脂質膜の厚さによる MscL の開口閾値の違いに注目して，脂質膜との相互作用の詳細解析を試みた。MscL は 2 回膜貫通ヘリックスからなるサブユニットが環状に集合したホモ 5 量体で，内側の TM1 ヘリックスがポアを裏打ちし，外側の TM2 ヘリックスが脂質膜と相互作用している。TM2 には F78 を中心とする膜張力センサーが存在し，これを介した力が MscL を開口に導く。先行研究により，脂質膜が薄いほど開口閾値が低いことが知られているが，その詳細は明らかではない。本研究では，4 種類の異なる厚さの脂質膜に埋め込んだ MscL に膜張力を負荷して全原子分子動力学シミュレーションを行い，脂質膜が薄いほど早く開口するという先行実験と一致する結果が得られた。MscL と相互作用しうるごく近傍の脂質動態を解析したところ，薄い脂質膜ほどより薄くなり，かつ MscL の F78 との相互

作用が安定に維持される傾向が認められた。以上の結果から, 薄い脂質膜は“hydrophobic mismatch”効果で MscL の開口方向への構造変化を促進するとともに，膜張力をより安定に MscL の張力センサー（F78）に伝えることで, 開口閾値を減少させることが示唆された。

（9）高速原子間力顕微鏡を用いた膜蛋白への抗体結合・解離動態の直接観察

○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 は消化管上皮細胞に発現して，水の輸送経路を形成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・解離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ついての最新の知見を紹介する。

（10）非環状骨格を介した光応答性分子の導入による高機能核酸材料の開発

○神谷由紀子，浅沼浩之
（名古屋大学大学院 工学研究科，名古屋大学 エコトピア科学研究所）

DNA は生命情報を伝える重要な生体高分子であるとともに自己組織化する化学的性質をもっていることから, バイオマテリアル，ナノマテリアルなどの様々な分野での応用が期待されている。DNA への化学修飾は天然の DNA のみでは実現不可能な新たな機能を付与する上で有効な手段である。私たちのグループでは非環状骨格 D-threoninol を介して機能性分子を化学的に導入する独自の手法を確立しており，核酸の機能の向上・拡張に取り組んでいる。その一つとして，光応答性分子であるアゾベンゼンを DNA に導入することにより，光刺激感知システムの開発に成功している。これは，光刺激によるアゾベンゼンのトランス体およびシス体の異性化に基づき，DNA の二重鎖の形成と解離，あるいは DNA 二重鎖の局所構造を変化させることにより，核酸機能の制御を狙ったものである。この光応答性デバイスを用いた応用として，本発表では光刺激による遺伝子発現制御システム，光応答性 DNA 構造体による刺激応答型薬物放出システムについて紹介する。

（11）人工タンパク質針の作成と生体膜上の挙動

○上野隆史（東京工業大学 生命理工学部）

生体超分子の部品として利用されているタンパク質構造とその動的機能の関係を理解し，新たな分子材料へとつなげる研究は，バイオマテリアル創生の観点から近年急速に展開されている。我々は新たな分子材料としてバクテリオファージ T4 に着目した研究をすすめている。T4 ファージは高効率な DNA 輸送を達成するために，タンパク質からなる「針」を用いて大腸菌の外膜に DNA を通す孔を作ることが知られている。この分子針となる gene product 5 は，三重鎖 β ヘリックスと呼ばれる特徴的なタンパク質モチーフによって構成されている。近年，他のファージや細菌の分泌系も，標的細胞を突き刺すために同様の三重鎖モチーフを利用していることが明らかになってきた。我々は，分子針に共通する三重鎖 β ヘリックス構造に細胞膜貫通の動的機能のメカニズムが隠されていると考え，三重鎖 β ヘリックスからなる人工分子針を合成し，細胞膜貫通反応の解析，さらには，人工分子針を用いた細胞内分子輸送システムの構築をおこなってきた。発表では最近見出した貫通メカニズムの詳細について議論したい。

（12）イオンチャネルのイオン透過機構

○老木成稔，炭竃享司，岩本真幸（福井大学 医学部 分子生理学）

チャネルのイオン透過機構を明らかにすることはチャネル研究の最重要課題の一つである。イオン透過機構の研究はカリウムチャネルのアイソトープ流束を測定した Hodgkin と Keynes の実験（1955）で複イオン特性を証明したことに始まる。彼らは，複イオンポアの速いイオン透過を説明するために knock-on 機構を提案した。時は過ぎ 2001 年に MacKinnon らは KcsA カリウムチャネルの選択性フィルタには４つのイオン結合部位があることを示した。さらに，イオン透過過程において，４つの部位は K^+と水が交互に占有し（K^+-water- K^+-water あるいは water-K^+-water-K^+），これらの占有状態が交互に繰り返されるというモデルを発表した。これはカリウムチャネルの複イオン特性と knock-on 機構を説明する卓抜なモデルである。私達はこのような様式の透過が起こることを KcsA カリウムチャネルの流動電位測定により証明し，しかし低濃度 K^+の時は異なる透過様式を取ることを示した。結晶構造が得られて以来イオン透過は分子動力学シミュレーションの対象となり，多くの結果が報告されてきた。私達は分子動力学によって得られる K^+の軌跡をもとにした新しい解析法を開発した。これにより透過するイオンが示す複雑な相互作用を明らかにすることができ，これをもとにイオン透過機構に対する新しい透過様式を発見した。

４．シナプスの構造構築と機能発現の分子基盤

2015 年 6 月 18 日－6 月 19 日

代表・世話人：植村　健（信州大学 学術研究院医学系 分子細胞生理学教室）

所内対応者：深田正紀（生理学研究所 生体膜研究部門）

（１）Ca^{2+}シグナリングと脳高次機能制御

尾藤晴彦（東京大学大学院医学系研究科 神経生化学分野）

（２）電位依存性 Ca^{2+}チャネルの脳高次機能における役割の解明

中尾章人（藤田保健衛生大学 総合医科学研究所 システム医科学研究部門）

（３）網膜におけるアクティブゾーン構成タンパク質 CAST/ELKS のシナプス形態及び機能に対する作用機序

萩原　明（山梨大学 医学部 生化学講座第一教室）

（４）スプライスインサートによるシナプスオーガナイザーの選択的相互作用調節の構造基盤

深井周也（東京大学放射光連携研究機構 生命科学部門）

（５）新規 C1q ファミリー分子を介する小脳シナプス回路形成・機能制御機構

掛川　渉，柚﨑通介（慶應義塾大学医学部 生理学 I 教室）

（６）逆行性シグナルによる発達期シナプス刈り込みの制御

上阪直史（東京大学大学院医学系研究科 神経生理学教室）

（７）ショウジョウバエのシナプス間隙に局在するマトリックスタンパク質 Hig と Hasp が示すコンパートメント形成と機能

中山　実，浜　千尋（京都産業大学 総合生命科学部）

（８）側坐核中型有棘細胞スパインに対するドーパミン報酬作用

柳下　祥（東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 構造生理学部門）

（９）アルツハイマー脳における老人斑形成とシナプス活動

橋本唯史，若林朋子，岩坪　威（東京大学大学院医学系研究科 神経病理学分野）

（10）各種精神疾患と AUTS2 遺伝子，そしてヒトの進化

星野幹雄（国立精神神経医療研究センター 神経研究所）

【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），植村　健（信州大学），掛川　渉（慶應義塾大学），奥野浩行（京都大学），大塚稔久（山梨大学），上田（石原）奈津実（名古屋大学），萩原　明（山梨大学），山田哲也（名古屋大学），木下専（名古屋大学），柳下　祥（東京大学），松尾直毅（大阪大学大学院），星野幹雄（国立精神神経医療研究センター），深井周也（東京大学），中山　実（京都産業大学），伊藤大生（名古屋大学），中尾章人（藤田保健衛生大学），尾藤晴彦（東京大学），鈴木悠大（名古屋大学），歌代奈和（東京大学），山口一真（京都大学），平野　満（京都大学大学院），森　泰生（京都大学），安好悠太（京都大学），高　至輝（東京大学），橋本唯史（東京大学），上阪直史（東京大学），岸　将史（生理学研究所），吉田知之（富山大学），Zhang Jianling（東京大学），服部光治（名古屋市立大学），榎本和生（東京大学大学院），永岡唯宏（生理学研究所），林　崇（国立精神神経センター），杉村岳俊（生理学研究所），宮下俊雄（生理学研究所），築地仁美（名古屋市立大学），中畑義久（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），木村梨絵（生理学研究所），西尾奈々（生理学研究所），小川正晃（生理学研究所），橘高裕貴（生理学研究所），當山峰道（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），足澤悦子（生理学研究所），蜷川　暁（統合バイオ），菊池原沙織（生理学研究所），若林正浩（生理学研究所）

【概要】

シナプスは脳高次機能の根幹を支える重要な構造である。シナプスの構造構築と機能発現の分子基盤の理解は高次の精神・神経活動を司る脳の神経ネットワーク構築やその作動原理の理解のみならず，精神・神経疾患の病態を解明し克服する上で極めて重要な課題である。正常なシナプスの構築と機能は高次脳機能の背景にある要素的な過程であるが，脳高次機能の仕組みの理解にはシナプスレベルでの理解だけでは不十分であり，分子レベルから細胞，シナプス，回路，個体レベルまで様々な階層の研究を統合的に理解する必要がある。そこで，分野を横断的に捉えることのできる場を設け議論することで独創的発想，ブレークスルーが生まれると考えられる。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第一線で活躍する幅広い分野の研究者を招聘し，最新の研究成果について発表して頂くとともに，活発な議論と情報交換を行い，今後のシナプス研究および関連分野の新展開を模索したい。

（1）Ca^{2+}シグナリングと脳高次機能制御

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。

我々の研究グループは，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から，記憶の長期化において，神経細胞におけるシナプスから核へのシグナリングが果たす役割の重要性を明らかにしてきた。CREB シグナリングは，脳の広範な領域で様々な機構により活性化し，それぞれの部位における「記憶痕跡」の樹立に寄与すると考えられている。しかし記憶に関与する神経核のそれぞれで，選択的にCREBを活性化するメカニズムについては，これまで明らかにされていない。我々はCREB補助因子CRTC1に着目し，その局在制御のメカニズム解明を通じて，扁桃体で重要な役割を果たす CRTC1 特異的恐怖記憶形成機構を解明した。

一方，CREB 標的となる神経特異的最初期遺伝子 *Arc* のプロモータ解析から，シナプスでのカルシウム流入から核での転写活性化に至る機構を解明し，さらにゲノム上で神経活動の強力なセンサーとして働くシナプス活動応答性エレメントSAREを新たに単離した。これらの知見をベースに，Arc 産物のシナプス機能の同定や，生理的刺激に応答したSARE活性を指標に，神経活動の亢進した神経回路を可視化・同定する proof-of-concept 実験に成功している。

本セミナーではこれら成果に加え，これらの基盤をなす新たなイメージングツールについても紹介させていただきたい。

（2）電位依存性 Ca^{2+}チャネルの脳高次機能における役割の解明

中尾章人（藤田保健衛生大学 総合医科学研究所 システム医科学研究部門）

神経系において，Ca^{2+}は神経伝達物質の放出，シナプス可塑性及び遺伝子発現を含む様々な生理応答に必要不可欠であり，その形質膜越えのCa^{2+}流入の一端を担う電位依存性Ca^{2+}チャネルの機能異常は様々な疾患を引き起こす。それにも関わらず，電位依存性Ca^{2+}チャネルの脳高次機能における役割は依然として不明な点が多い。

Cav2.1 をコードする *CACNA1A* 遺伝子の変異は，しばしば認知機能障害を伴う欠神てんかんを引き起こすことが報告されている。そのメカニズムを明らかにするため，欠神てんかんのモデルマウスである Cav2.1 点変異マウス *tottering* (*tg*)の海馬における神経ネットワーク活動を時空間的に解析した。我々は，*tg* マウスの神経細胞間における同期活動が増強していることを明らかにし，さらにこの原因として細胞内 Cl^-ホメオスタシスおよび $GABA_A$ 受容体サブユニット発現の未成熟化に起因する $GABA_A$ 応答の抑制性の減弱を同定した。これらの結果は，欠神てんかんの併存症としての認知機能障害の理解の一助として新しい機構を提供すると同時に，細胞の成熟度変化の調節という新しい Ca^{2+}チャネルの働きを示している。

近年，大規模な Genome Wide Association Study によって，電位依存性 Ca^{2+}チャネルのサブユニットが精神疾患と関連するということが明らかにされつつある。本研究では，電位依存性 Ca^{2+}チャネルの β サブユニットに結合する新規タンパク質 β-anchoring and -regulatory protein (BARP)をノックアウトしたマウスの網羅的行動解析を行い，精神疾患のモデルマウスが示す行動表現型とは対照的な行動表現型を有することを示した。これらのことから，BARP ノックアウトマウスは精神疾患のメカニズムを研究する上で有用なツールになると考えられる。

（3）網膜におけるアクティブゾーン構成タンパク質 CAST/ELKS の シナプス形態及び機能に対する作用機序

萩原　明（山梨大学 医学部 生化学講座第一教室）

A photoreceptor cell is a specialized neuron which converts light into signals in the retina. The two types of photoreceptors, rods and cones, form synapsese at a narrow band known as the outer plexiform layer (OPL), with two types of neurons, bipolar and horizontal cells. These synapses were found ectopically localized into the outer nuclear layer (ONL) in some mutant mice such as presynaptic active zone related proteins, Bassoon and CAST. And retinal neurodegenerative disease and/or loss of visual function had been suggested the association with this ectopic synapses.

Here we explored the effect on the deletion of ELKS, a family member of CAST, and the deletion of both CAST and ELKS on the localization and structure of ribbon synapse and the visual processing in retina. The ELKS gene was inactivated with Cre recombinase under the control of the Crx promoter, which is an otx-like homeobox gene expressed abundantly in the retina. The ELKS conditional knock out (KO) mouse showed normal development and less effect on the mislocalization of synapses. However, CAST and ELKS double KO (dKO) showed serious body weight reduction, and the gain of eye movement with the optokinetic response was significantly decreased. However, the gain was detectable indicating that the dKO was not the complete blindness. Furthermore, morphological analysis indicated the drastic increase of ectopic synapse into the ONL in dKO. From these results, we speculate that CAST and ELKS contribute to the maturation of retinal ribbon synapse structurally and functionally.

（4）スプライスインサートによるシナプスオーガナイザーの選択的相互作用調節の構造基盤

深井周也（東京大学放射光連携研究機構生命科学部門）

シナプス前終末や後終末の構造を分化誘導する細胞接着因子はシナプスオーガナイザーと呼ばれる。特定の組合せのシナプスオーガナイザーがそれぞれの細胞外領域を介してトランスシナプティックに選択的な相互作用をすることにより，シナプス前終末や後終末の分化誘導が開始する。シナプスオーガナイザーの選択的な相互作用

は，シナプス標的の選択に重要であると考えられ，その調節機能の破綻は自閉症や知的障害などの神経発達障害の発病と密接に関係することが示唆されている。私たちの共同研究者である富山大学の吉田らは，軸索末端に発現する PTPδ と樹状突起に発現する IL1RAPL1/IL-1RAcP が選択的に相互作用し，両方向性に興奮性シナプス前終末と後終末を誘導するシナプスオーガナイザーとして機能することを見出した（Yoshida *et al.*, *J. Neurosci.*, 2011; Yoshida *et al.*, *J. Neurosci.*, 2012）。この選択的相互作用は，PTPδ の細胞外領域の２カ所にスプライシングで挿入される短いペプチド（ミニエクソンペプチド）により調節されることから，ミニエクソンペプチドがシナプス標的認識の暗号として機能すると考えられた。そのメカニズムの詳細を明らかにすることを目的として，私たちは，PTPδ-IL1RAPL1 および PTPδ-IL-1RAcP 複合体の立体構造を X 線結晶構造解析により決定した。

PTPδ は，N 末端側に３つのイムノグロブリン様（Ig）ドメインを持つ。２番目の Ig ドメイン（Ig2）内と，Ig2 と Ig3 とをつなぐリンカー部とに挿入されるミニエクソンペプチド（それぞれ meA，meB と呼ぶ）により IL1RAPL1 や IL-1RAcP との相互作用が調節される。meB は４残基のペプチド一種類であるのに対して，meA は３残基，６残基，９残基（３残基＋６残基）の三種類のペプチドから選択され，組合せに応じて８種類のスプライスバリアントが発現する。これらのスプライスバリアントを発現した HEK293T 細胞表面への IL-1RAcP や IL1RAPL1 の結合から，IL-1RAcP との相互作用が meB に，また，IL-1RAPL1 との相互作用が meA に，それぞれ強く依存することが示唆されていた。私たちは，表面プラズモン共鳴分光法による相互作用解析を行い，PTPδ スプライスバリアントの IL-1RAcP および IL1RAPL1 に対する親和性を定量した。その結果，（１）IL1RAPL1 との結合は IL-1RAcP との結合よりも強いこと，（２）IL1RAPL1 との結合は meA に強く依存するが，meB も結合に重要であること，（３）IL-1RAcP との結合は meB により調節されるが，親和性の違いは３－５倍程度であること，が明らかとなった。この結果と合致して，PTPδ-IL1RAPL1 複合体では，meA が相互作用面を形成していたのに対して，PTPδ-IL-1RAcP 複合体では，meA との相互作用面はほとんど形成されていなかった。一方，meB は，両複合体において分子間相互作用には直接関与しておらず，PTPδ の Ig2 と Ig3 の相対配置を調節するリンカーとして機能することで，Ig2 と Ig3 が同時に IL1RAPL1 や IL-1RAcP の Ig1 と結合することを可能にしていた。PTPδ の Ig3 と IL-1RAcP の Ig1 との相互作用は，IL1RAPL1 の Ig1 との相互作用よりも密であり，IL-1RAcP との結合が meB の影響をより強く受けることや PTPδ の Ig3 が IL-1RAcP との結合に必須であることと合致していた。

私たちは，別のシナプスオーガナイザー複合体である PTPδ-Slitrk2 複合体の立体構造も決定している。最近，海外のグループから報告された PTPδ-Slitrk1 複合体（Um *et al.*, *Nat. Commun.*, 2014）や PTPσ-TrkC 複合体（Coles *et al.*, *Nat. Commun.*, 2014）と合わせて，スプライスインサートによるシナプスオーガナイザーの選択的相互作用調節のメカニズムについて，タンパク質の立体構造に基づいて考察したい。

（5）新規 C1q ファミリー分子を介する小脳シナプス回路形成・機能制御機構

掛川　渉，柚﨑通介（慶應義塾大学医学部 生理学 I 教室）

近年，自然免疫系をささえる補体 C1q やその機能ドメインを有する C1q ファミリー分子が脳内に豊富に存在し，中枢シナプスの形態や機能を制御することがわかってきた。補体 C1q は正常発達や加齢，そして病的過程でのシナプス「除去」にかかわることが報告されている (Stephan et al., *Annu Rev Neurosci*, '12)。また演者らは，運動記憶・学習を担う小脳において，C1q ファミリーに属する Cbln1 が顆粒細胞軸索 (平行線維; parallel fiber, PF) 終末より分泌され，プルキンエ細胞とのシナプス (PF シナプス) 形成を促進し，シナプス可塑性を調節することを明らかにした (*Nat Neurosci*, '05; *Science*, '10)。Cbln1 は，シナプス後部に発現するデルタ２型グルタミン酸受容体 (GluD2) およびシナプス前部に発現する接着分子ニューレキシンと３者複合体を構築することでシナプス形成を誘導することから，これまでに報告のないまったく新しいタイプの分泌性シナプス形成因子 (シナプスオーガナ

イザー) として，現在注目されている

プルキンエ細胞は，PF に加えて，延髄下オリーブ核から投射する登上線維 (climbing fiber, CF) により強い興奮性入力を受ける (CF シナプス)。CF は，運動学習時のエラー信号を，教師信号としてプルキンエ細胞に送ることで，小脳依存性運動記憶・学習の獲得に寄与するものと考えられている (Ito, *Physical Rev*, '01)。興味深いことに，演者らは最近，Cbln1 と同じ C1q ファミリーに属する C1q 様分子 1 (C1q-like protein 1; C1ql1) が，延髄下オリーブ核細胞で産生され, CF シナプスに局在することを見出した (Iijima et al., *Eur J Neurosci*, '10)。これらの所見は，補体 C1q や C1q ファミリー分子である Cbln1 の機能と同様，CF シナプスに発現する C1ql1 が，CF シナプスの形態および機能を制御し，運動記憶・学習を調節している可能性を強く示唆する。そこで本講演では，*C1ql1* 遺伝子を欠く C1ql1 ノックアウトマウスの解析により得られた最近の知見をもとに，小脳シナプス回路形成・機能における C1q ファミリー分子の生理的役割についてお話ししたい。

（6）逆行性シグナルによる発達期シナプス刈り込みの制御

上阪直史（東京大学大学院医学系研究科 神経生理学教室）

生後間もない時期の動物の脳では，過剰にシナプスが形成されており，その密度は成熟動物よりも高いが，この時期のシナプスは機能的に未成熟の状態にある。成長につれて，必要なシナプスは強められて成熟し，不必要なシナプスは弱められて除去されることにより，成熟動物で見られる機能的神経回路が完成する。この過程は「シナプス刈り込み」と呼ばれ，生後発達期の神経系で普遍的におこる現象であり，経験や環境に依存して脳機能が発現・変化することの神経回路レベルでの基盤のひとつと考えられている。これまで，シナプス刈り込みにはシナプス後部の神経細胞の活動やシグナル伝達分子が重要であることがわかっている。最終的にはそれらのシグナルがシナプス前部に伝わり, 必要なシナプスは強化され，不要なシナプスは消失するため，シナプス刈り込みの重要な因子として，シナプス後部神経細胞からシナプス前部へと伝えられる逆行性シグナル分子が想定されてきた。その分子実体は長年不明であったが，最近の私たちの研究によって，その一端が明らかになってきた。

シナプス刈り込みを制御する逆行性シグナルを同定するために，シナプス刈り込みのメカニズム解明に有用なモデル系である小脳の登上線維－プルキンエ細胞シナプスに着目した。私たちは，様々な操作が容易な培養標本とレンチウィルスを用いた遺伝子発現ノックダウン法を開発し, 候補分子のスクリーニングを行った。その結果，セマフォリンファミリーの２つの分子，Sema3A と Sema7A が逆行性シグナル分子として候補にあがった。そこで，生後発達期のマウス小脳で Sema3A と Sema7A の発現をノックダウンすることでさらに解析を進めた。その結果，シナプス後部の細胞であるプルキンエ細胞から分泌された Sema3A が登上線維に直接シグナルを伝えて登上線維シナプスを強化・維持し，一方プルキンエ細胞に存在する Sema7A が登上線維に直接シグナルを伝えて弱い登上線維シナプスを除去することが明らかとなった。私たちはさらにスクリーニングを続けており，最近の結果も含めて逆行性シグナルによるシナプス刈り込みの制御メカニズムについて紹介したい。

（7）ショウジョウバエのシナプス間隙に局在するマトリックスタンパク質 Hig と Hasp が示すコンパートメント形成と機能

中山　実，浜　千尋（京都産業大学 総合生命科学部）

近年，シナプス間隙局在タンパク質によるシナプス前部・後部膜タンパク質のシナプス局在制御に関する報告が複数なされている。私達の研究室でも，ショウジョウバエ中枢コリン作動性シナプスの間隙に局在する Hikaru genki (Hig)が，アセチルコリン受容体（AchR）サブユニット Dα6 と Dα7 のシナプス局在を制御することを報告してきた。現在，その Hig の知見を基に，シナプス間隙のマトリックスを構成する新たなタンパク質の同定，シナプス間隙内におけるマトリックスタンパク質の分布と機能，およびマトリックス全体の形成機構について研究を進めている。

最近になって私達は，Hig と同一のシナプス間隙に局在する新規タンパク質を同定し，これを Hasp (Hig-anchoring scaffold protein)と命名した。*hasp* 突然変異体では，*hig* 突然変異体と同様に AchR サブユニット Dα6 と Dα7 のシナプス局在量が減少する一方で，Hig のシナプス局在が完全に消失していた。*hasp* 変異は Hig の発現量や軸索輸送には影響を与えず，発生過程において Hasp は Hig に先立ってシナプスに局在した。これまでの解析により，Hig は発生過程で細胞外へ分泌後，脳内に拡散してコリン作動性シナプスに特異的に局在化することが示されている。そのため，Hig をコリン作動性シナプスに繋ぎ止める因子の存在が示唆されていたが，まさに Hasp がその役割を担っていると考えられた。実際，免疫共沈降により Hasp は Hig と同一の複合体に含まれることがわかった。そこで脳内におけるこれらの局在を調べたところ，驚いたことに多くのシナプスにおいて Hig と Hasp は互いに近接しているものの，異なる領域に存在していた。このように，シナプス間隙は異なる分子群が均一に存在するのではなく，少なくとも２種類のコンパートメントで構成されていることが明らかとなった。今後，シナプス間隙に存在する新たなタンパク質をさらに探索し，それらの分布と役割を明らかにしていく計画である。そのことにより，構造と形成機構に関するシナプスの新しいイメージが得られることを期待している。

（8）側坐核中型有棘細胞スパインに対するドーパミン報酬作用

柳下　祥（東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 構造生理学部門）

ドーパミン神経の一過性発火は報酬予測誤差信号を脳内で表現し，個体行動を変化させる教師信号として働くと考えられている。このような学習にはシナプス可塑性基盤があると考えられ，強化学習理論に基づけば報酬予測誤差信号であるドーパミンは一定の時間枠(eligibility trace)内でのみ可塑性を修飾することが予測される。そこで我々は２光子刺激によるグルタミン酸シグナルと光遺伝学によるドーパミンシグナルの制御をそれぞれ独立して行うことでドーパミン神経一過性発火はシナプス可塑性を修飾する時間枠を持つのかという問題に取り組んだ。その結果，ドーパミン一過性発火は側坐核の D1 受容体発現中型有棘細胞の樹状突起スパイン頭部増大を鋭い時間枠の中でのみ増強させることを発見した。さらにその時間枠形成には細い樹状突起における cAMP の産生・分解の制御が関与していることがわかった。このことから単一スパインは強化学習の基盤となりうる特性を有していることが明らかになった。そこで実際にこのようなシナプス特性が学習行動の基盤となっているのかをパブロフ条件づけ課題を用いて調査中である。さらには報酬による学習の獲得と反転という環境に柔軟に適応するためのシナプス基盤の調査も進めており，依存症や強迫性障害といった報酬学習が病態の本質に関わる精神疾患の理解や治療への貢献を目指している。

（9）アルツハイマー脳における老人斑形成とシナプス活動

橋本唯史，若林朋子，岩坪　威（東京大学大学院医学系研究科 神経病理学分野）

アルツハイマー病 (AD)の大脳皮質や海馬では，神経細胞死に加えて, 多数の老人斑が観察される。老人斑は，アミロイドβペプチド（Aβ）を主成分とするアミロイド線維が細胞外腔に蓄積し，形成される病理学的構造物である。凝集・不溶化したアミロイドが直接の毒性を有するかについては未だ議論があるものの，これまでの遺伝学的，生化学的知見から，Aβを AD 発症の原因分子と考える「アミロイド仮説」が広く支持されている。AD の発症機序の解明と，それに基づく治療法の開発には，老人斑形成機構の解明が重要である。

Aβが前駆体の APP からプロテアーゼによる切断を介して産生される過程については多くの研究がなされてきたが，神経細胞のどこからどのような機序で細胞外に放出されるかには不明の点が多かった。薬理学的，電気生理学的な急性実験により, Aβはシナプス前末端から神経活動依存的に分泌されることが示されていたが，神経活動が斑形成などの Aβ 蓄積過程に与える影響は不明であった。そこで，我々は光遺伝学を用いた慢性刺激系の樹立を試みた。1 回の光刺激で 30 分以上持続的に神経細胞を脱分極する stabilized step function opsin を APP トランスジェニック (tg)マウス脳の嗅内皮質に導入後，5 ヶ月にわたり慢性的に光刺激を加え，投射先の海馬歯状回における Aβ 蓄積を評価したところ，刺激側では，対側に比して Aβ蓄積面積が約 2.5 倍に上昇していた。この結果は, 慢性的な神経活動の亢進が, Aβの放出のみならず, アミロイド蓄積病理にも影響を与えることを示唆する (1)。

老人斑には Aβ 以外にも多数のアミロイド結合タンパク質が蓄積し, その形成に影響を与えている。我々は AD 脳アミロイド成分の蛋白生化学的解析から CLAC (collagenous Alzheimer amyloid plaque component)を見出した (2)。CLAC は前駆体蛋白質 CLAC-P/collagen type XXV の細胞外部分が分泌され Aβと結合し蓄積したものである。CLAC が Aβ蓄積に及ぼす影響を *in vivo* で明らかにするため, CLAC-P と APP の２重 tg マウスを作出した。２重 tg マウス脳では，APP tg マウスに比べ，境界が不明瞭でアミロイド線維密度の低い「びまん性アミロイド斑」が減少し，境界が明瞭な中~小型のコンパクトなアミロイド斑の増加が観察され，CLAC が老人斑の成熟化ないし remodeling に重要な役割を果たすことが示唆された。CLAC-P の正常機能を解明するため KO マウスを作出したところ，KO マウスは出生直後に呼吸不全により致死となり，その原因として発生期に脊髄運動ニューロン軸索が骨格筋に投射した後，標的筋肉内への進入・分枝が起こらず退縮することを見出した (3)。CLAC-P は神経筋支配の発生に新規かつ重要な役割を果たす分子と考えられる。

(1) Yamamoto K, Tanei Z, Hashimoto T, et al., ***Cell Rep*** (in press)
(2) Hashimoto T, Wakabayashi T, Watanabe A, et al., ***EMBO J*** (2002)
(3) Tanaka T, Wakabayashi T, Oizumi H, et al., ***J Neurosci*** (2014)

（10）各種精神疾患と *AUTS2* 遺伝子，そしてヒトの進化

星野幹雄（国立精神神経医療研究センター 神経研究所）

ヒト *AUTS2* 遺伝子（*Autism Susceptibility Candidate 2*）は，自閉症スペクトラム障害，知的障害，ADHD，統合失調症，薬物依存など様々な精神疾患患者でゲノム変異が見つかりました。そのため，近年では多くの研究者が注目する遺伝子となっていましたが，その生理的働きについてはほとんど明らかになっておらず，それ故にこの遺伝子の異常によって引き起こされる精神疾患の病理についても全く不明でした。ただ，先行研究では，この遺伝子のコードする AUTS2 蛋白質が脳内の幅広い領域に分布し，神経細胞の細胞核の中に存在する，と報告され

ていました。

我々は，そのような先入観を排除し，厳密な細胞分画実験と免疫染色実験により，この蛋白質が神経細胞の核だけでなく，細胞質領域，特に神経突起部分にも多く存在することを見いだしました。また，AUTS2 蛋白質が神経細胞の細胞質において，いくつかのグアニンヌクレオチド交換因子（GEF）と相互作用することにより，低分子量 G 蛋白質 Rac1 を活性化ラメシラメリポディアを誘導する一方で，低分子量 G 蛋白質 Cdc42 を不活性化しフィロポディア形成を妨げるということもわかりました。また，マウス個体でのこの遺伝子のノックダウン，ノックアウトの表現型から，AUTS2 が神経細胞移動や神経突起伸長・分岐に必要とされることがわかりました。さらにこの分子のシナプス形成への関与も見いだしつつあります。

一般的に，精神疾患の背景には，多かれ少なかれ脳神経系の発生異常があるであろうと考えられています。我々は，このような AUTS2 の機能が障害されることで脳神経ネットワーク構築が阻害され，その結果として各種の精神疾患が惹起されるのではないか，と考えています。実際に，この遺伝子のノックアウトマウスの行動解析では，ヒト患者の症状を部分的に説明できるような表現型が認められました。

実は，我々の論文が発表されるのと同日に，この AUTS2 の細胞核における機能についての論文がネイチャー(Nature 516, 349-354, 2014)に掲載されました。我々が見つけた細胞質における分子機能と，細胞核における機能の，両者がともに精神疾患の病理と関連があるのか，あるいはより片方が重要なのかは，我々を含む今後の研究によって明らかにされるでしょう。

また，ネアンデルタール人ゲノムとの比較において，*AUTS2* 遺伝子がヒト（ホモサピエンス）に分岐してから加速的に変化したことがわかっており，この遺伝子とヒト進化との関連が示唆されています。ネアンデルタール人がどのくらい社交的であったかはわかりませんが，*AUTS2* はヒトが社会的に生きるための脳機能に関与しているのかもしれません。今後は，ヒトの進化という側面からも研究を進めて行きたいと思っています。

５．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

2015 年 6 月 11 日－6 月 12 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）色字共感覚：特徴の結び付け過程と個人差の検討

浅野倫子（立教大学現代心理学部）

（２）自然画像自由観察課題中のサル眼球運動の特徴と視覚関連領野神経活動

田村　弘（大阪大学大学院生命機能研究科）

（３）脳波の 30-Hz 帯域位相同期と注意制御

武田裕司（産業技術総合研究所自動車ヒューマンファクター研究センター）

（４）魅力認知の顕在・潜在意識過程と注意への影響

川畑秀明（慶応義塾大学文学部）

（５）瞬きから探る脳内情報処理機構

中野珠実（大阪大学大学院生命機能研究科）

（６）知覚の内省とその神経機序

小村　豊（産業技術総合研究所人間情報研究部門）

（７）畳み込みニューラルネットを利用した TE 野における神経情報の復号化と
ブレイン・マシン・インタフェースへの応用

林　隆介（産業技術総合研究所人間情報研究部門）

（８）２光子カルシウムイメージングによる神経活動の大規模計測と，細胞集団による視覚情報表現

大木研一（九州大学大学院医学研究院）

（９）一次視覚野ニューロンの受容野周囲抑制現象から考える視知覚形成の神経機構

七五三木　聡（大阪大学大学院医学系研究科）

（10）視覚初期過程の時間応答における加齢の影響

篠森敬三（高知工科大学情報学群）

（11）拡散強調 MRI を用いた視覚情報伝達経路の解明

竹村浩昌（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター）

（12）視覚システムにおける神経振動同期ダイナミクスの機能的役割の操作的研究

北城圭一（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（13）素材識別に関わる質感属性とその特性

中内茂樹（豊橋技術科学大学大学院工学研究科）

（14）Choice probability は何故生じるのか：spike count variance を用いた解析

宇賀貴紀（順天堂大学医学部生理学第一講座）

【参加者名】

浅野倫子（立教大学），川畑秀明（慶応義塾大学），北城圭一（理化学研究所），篠森敬三（高知工科大学），武田裕司（産業技術総合研究所），中内茂樹（豊橋技術科学大学），田村　弘（大阪大学），七五三木　聡（大阪大学），宇賀貴紀（順天堂大学），小村　豊（産業技術総合研究所），林　隆介（産業技術総合研究所），竹村浩昌（情報通信研究機構），中野珠実（大阪大学），大木研一（九州大学），村上郁也（東京大学），藤田一郎（大阪大学），松本長太（近畿大学），若山曉美（近畿大学），関　ゆかり（近畿大学），小出真子（奈良先

端科学技術大学院大学），塩入　諭（東北大学），佐藤宏道（大阪大学），北岡明佳（立命館大学），森本拓馬（東京工業大学），齊藤亮太（東京工業大学），本吉　勇（東京大学），鯉田孝和（豊橋技術科学大学），久保孝富（奈良先端科学技術大学院大学），一戸紀孝（国立精神・神経医療研究センター），宮川尚久（国立精神・神経医療研究センター），伊藤　南（東京医科歯科大学），若井宏平（㈱クリイノ創研），堺　浩之（豊田中央研究所），西田知史（情報通信研究機構），金子寛彦（東京工業大学），宮西雄太（東京工業大学），前田悠貴（東京工業大学），百瀬敦美（東京工業大学），染谷純輝（東京工業大学），森平　良（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），金　成慧（東京工業大学），田村秀希（豊橋技術科学大学），小原慶太郎（理化学研究所），野本洋一（㈱エクォス・リサーチ），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），細谷晴夫（国際電気通信基礎技術研究所），寺尾将彦（東京大学），野口泰基（神戸大学），岩崎美帆（神戸大学），夏　一（神戸大学），大瀧　翔（トヨタ自動車㈱），船山竜士（トヨタ自動車㈱），山根ゆか子（大阪大学），山口真美（中央大学），金沢　創（日本女子大学），楊　嘉楽（中央大学），佐藤夏月（中央大学），田中礼紀（中央大学），福島邦彦（ファジィシステム研究所），栗木一郎（東北大学），西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），幡地祐哉（京都大学），蘆田　宏（京都大学），圓山由子（京都産業大学），三宅佑果（早稲田大学），鶴原亜紀（航空医学実験隊），二瓶裕司（豊橋技術科学大学），岡部昌子（（元）大同大学工学部建築学科），丹野　修（花王株式会社），天野　薫（NICT），大橋一徳（理研），南　哲人（豊橋技術科学大学），佐藤多加之（理研 BSI），吹野美和（パナソニック），神谷聖耶（東京工業大学），田中翔太（東京工業大学），堀田一馬（東京工業大学），田島大輔（東京工業大学），山崎大暉（京都大学），KWON SEON GMIN（東京工業大学），谷藤　学（理研），山岡真悟（東京工業大学），伊藤嘉房（愛知医大），中尾啓輔（花王㈱），宗宮　保，宗宮和子，前川　亮（NICT），松崎みどり（専修大学大学院），鈴木一隆（浜松ホトニクス㈱），佐藤智治（豊橋技術科学大学），新海崇紘（豊橋技術科学大学），赤松和昌（電気通信大学），國府　文（京都大学），宮脇陽一（電気通信大学），葭田貴子（東京工業大学），木村匠吾（東京工業大学），岡村宏樹（トヨタ自動車㈱），小林秀行（東京工業大学），小濱　剛（近畿大学），山下和香代（鹿児島大学），内山祐司（㈱豊田中央研究所），髙橋伸子（愛知淑徳大学），Hover（東京工業大学），西山雄気（マツダ㈱），行松慎二（中京大学）

以下，生理学研究所

小林　恵，唐木智充，石川理子，大関一央，宮下俊雄，岡本秀彦，木村梨絵，西尾奈々，徳岡広太，中川　慧，青木直哉，小川正晃，山本真理子，吉村由美子，森島美絵子，小松英彦，郷田直一，横井　功，眞田尚久，西尾亜希子

【概要】

平成 27 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 27 年 6 月 11，12 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 7 件，心理物理学 5 件，計算論的神経科学 2 件の合計 14 件の講演があり，参加者は 127 名であった。初日は，まず浅野氏が共感覚者の知覚特性の理論と検証データを紹介した。次に田村氏が物体刺激への IT 野細胞の短潜時応答への眼球運動の影響を論じた。武田氏は各種の注意課題遂行中に脳波高 β 帯域の位相同期が高まることを示した。川畑氏は顔画像の魅力度評定の無意識性を連続フラッシュ抑制にて扱った。中野氏は瞬目行動が社会的相互作用に由来することを示した。小村氏はサルの確信度メタ認知の際に活動する視床枕核領域を紹介した。林氏はニューラルネットを用いた物体認識計算と対応した仕組みを IT 野にて見出す試みを報告した。大木氏はマウス一次視覚野から数百個の神経細胞の同時記録を行っての画像デコーディングを示した。二日目は，七五三木氏がネコ一次視覚野の周辺抑制の影響を，応答の時間成分毎に整理した。篠森氏は高齢者の時間インパルス応答を実測し，S 錐体成分の緩慢性を示した。竹村氏は MRI にて背側経路と腹側経路との間のヒト連合線維を同定した。北城氏は脳内の振動過程のリセット，引き込みなどの外的操作で視覚機能に効果が及ぶ事例を紹介した。中内氏は光沢感など素材質感の認知に関しての心理データを時分割多変量解析して示した。宇賀氏は動物の choice probability が視覚処理のボトムアップ過程由来であることを fano factor 値の解析で示した。特に今年は個々の話

題提供の中であってさえ生理学，心理物理学，高度な数学的手法を同時に使用した先端的研究の成果が多く紹介され，非常に有意義な研究会であった。

（1）色字共感覚：特徴の結び付け過程と個人差の検討

浅野倫子 [1]，永井淳一 [2]，横澤一彦 [3]
（[1] 立教大学現代心理学部，[2] 聖心女子大学文学部，[3] 東京大学文学部人文社会系研究科）

共感覚とは，ある刺激が入力されたときに，一般的に喚起される感覚に加えて他の感覚も同時に喚起される現象であり，共感覚者と呼ばれるごく一部の人に生じる。中でも文字に特定の色を感じるという現象を色字共感覚という（例：「せ」という文字を見ると水色を感じる）。共感覚は知覚・認知の個人差や，脳内で複数の情報処理がどのように関わり合うかという統合的認知について知る上で示唆に富み，そのメカニズムを解明すべく急激に研究が進展している。講演者らはこれまでに日本語に対する色字共感覚を研究してきた(Asano & Yokosawa, 2011, 2012)。

様々な先行研究で，文字の音韻，形態，親密度，文字系列内での順序など，様々な情報が，文字に感じる色（共感覚色）に影響しうることが明らかにされてきた。しかし，それらの要因が互いにどのような関係にあり，どうやって最終的に共感覚色が 1 色に絞られるのかは謎であった。この謎を解くために，幼少期に文字を習得する過程を考慮に入れた新しい仮説を提案し，日本人色字共感覚者を対象に，ひらがなと英大文字の共感覚色に対する様々な要因の影響度を調べる実験を行い，その仮説が妥当であることを示した(Asano & Yokosawa, 2013)。この仮説の特徴は，その文字を他から弁別する際に有効な特徴情報が共感覚色の決定に強く影響を及ぼす可能性を指摘している点にある。このことは，文字認知のように人間に普遍的に備わる認知機能と共感覚の関係を考える上で興味深い。

また研究を進める上で，共感覚は実は「ごく一部の人」のみに限定的に存在する訳ではなく，非共感覚者の中にも共感覚的傾向の強い人から弱い人までが連続的に分布していることが明らかになってきた(Nagai, Yokosawa, & Asano, in press)。このような，人間全般における共感覚的な処理の存在と個人差についても触れたい。

（2）自然画像自由観察課題中のサル眼球運動の特徴と視覚関連領野神経活動

田村　弘（大阪大学大学院生命機能研究科）

我々は 1 秒間に数回眼を動かしながら周囲の環境を認識する。本研究ではこのような能動的条件での，サル視覚皮質神経活動の特徴を明らかにすることを目指した。サル（Macaca fuscata）には，ディスプレー上の画像を自由に観察する課題を行わせた。眼球運動はサーチコイル法を用いて計測した。局所電場電位（LFP）と単一神経細胞活動を，第一次視覚野（V1 野）と視覚的物体認識の中枢である下側頭葉皮質（IT 野）より，マルチプローブ電極（U-probe/V-probe，Plexon 社）を用いて同時に計測した。神経活動の物体像選択性を調べるために，自然背景または一様な背景（35×26°）に 5 つの物体像（2°）をランダムな位置に埋め込んだ刺激画像を用いた。サルは埋め込んだ物体像に対するサッケードと注視を繰り返しながら刺激画像を観察した。本講演では主に IT 野から計測した単一神経細胞活動について紹介する。IT 野細胞の活動電位発火頻度は物体像の注視に伴って増加した。この発火頻度増加は暗条件下では観察されなかったことから，網膜由来の視覚応答であると考えられる。この応答には潜時の短い（50 ms）応答と長い（90 ms）応答が存在した。短潜時応答はサッケード方向に依存したが，物体像の種類には依存しなかった。一方，長潜時応答は物体像の種類に依存したが，サッケード方向には依存しな

かった。この結果より，長潜時応答は受動的条件（注視課題，均一な背景，突然の呈示）で観察されてきた IT 野視覚応答と同様の応答であるが，短潜時応答は能動的条件に特有の眼球運動の影響を強く受ける応答であると考えられる。

（3）脳波の 30-Hz 帯域位相同期と注意制御

武田裕司（産業技術総合研究所 自動車ヒューマンファクター研究センター）

複雑な視覚環境において適切な情報や行の選択を行うには，知識に基づいた注意のトップダウン制御が重要である。本発表では，脳領域間の情報伝達(機能的結合)状態を反映するとされる脳波のチャンネル間位相同期値(phase-locking value, PLV)に着目し，視覚認知課題におけるトップダウン制御と 30-Hz 帯域 PLV との関係について紹介する。

まず，トップダウン制御が関与している複数の視覚認知課題において，課題遂行中の PLV を評価した。その結果，1) 結合探索課題と特徴探索課題の比較，2) 標的と特徴を共有している妨害刺激に対する注意の捕捉効果，3) 標的の事前知識による特徴探索の促進効果のいずれにおいても，トップダウン制御が強く働いていると想定される条件において, 30-Hz 帯域 PLV の増大が示された。

次に，課題成績の個人差と PLV との関係を検討した。その結果，1) ストップシグナル(SS)課題において SS 反応時間が短い参加者群, 2) 空間的ネガティブプライミング課題において抑制効果が大きい参加者群において，30-Hz 帯域 PLV が高いことが示された。短い SS 反応時間や大きい抑制効果はトップダウン制御が強く働いていることを示しており，PLV は個人のトップダウン制御能力も反映していると考えられる。また，課題成績の試行間変動と PLV の関係について, 注意の瞬き課題を用いて検討した。その結果，第 2 標的を見落とした試行(トップダウン制御が強く働いていた試行)において 30-Hz 帯域 PLV が高いことが示された。

以上の実験的研究で得られたトップダウン制御と 30-Hz 帯域 PLV との関係についてその生起因を検討するため，neural mass モデルによるシミュレーションを行った。その結果，細胞群間の情報伝達が双方向的に行われている場合に，30-Hz 帯域 PLV が増強する可能性が示された。このことは，トップダウン制御の事態において再帰的な情報伝達が行われているという見方と一致しており, 実験的研究で観察された PLV の増強は再帰的情報伝達状態を反映していたと推察される。

（4）魅力認知の顕在・潜在意識過程と注意への影響

川畑秀明（慶應義塾大学）

社会的コミュニケーションにおいて，人は顔から多様な情報を知覚する。とりわけ，顔魅力は生物学的・社会的に重要なシグナルとなるため，人の社会的行動や印象形成に多大な影響を与えている。特に，顔の外見的魅力の認知はその人物の内面的性格の評価にも影響するなど対人関係の基礎となっている。人は瞬時に顔魅力を判断でき，顔魅力の評価が求められていない場面であっても魅力を評価するなど，急速かつ自動的な認知処理がこれまで多くの研究によって報告されてきている。また近年，表情や信頼性印象など顔情報に基づいた知覚判断は，顔の意識的知覚が生じない場合でも評価可能であることや，顔知覚に特定的な障害を示す先天性相貌失認患者でも健常者と類似した傾向を示すことなどが報告されており，顔魅力認知が顔情報処理過程と比較的独立した処理過程に寄与していることが示唆している。しかし，顔魅力評価と顔の意識的知覚経験の関係については十分に明らかになっているわけではない。

本発表では, 顔魅力認知の自動性と無自覚性に着目し，

魅力認知の顕在的過程と潜在的過程および注意に対する影響について現在行っている具体的な実験データに基づいて報告する。特に，単眼に提示した視覚刺激の意識的知覚を一時的に抑制する連続フラッシュ抑制により，顔魅力評価は無自覚的情報処理レベルで生じ，顔の意識的知覚経験は必ずしも必要とならない可能性について検討した実験から，顔魅力によって抑制持続時間が変動したことや，顔魅力は顔の意識的知覚経験が生じる前であっても評価されうることについて報告する。また，高速逐次刺激提示を用いて，顔魅力が自動的に注意を引き付け，その後の注意過程に影響を与えることについても報告する。さらに，これら効果が，主観的に魅力を感じる恋人顔に対しても生じることが示されており，情動過程との関連からも考察を加えてみたい。

（5）瞬きから探る脳内情報処理機構

中野珠実（大阪大学大学院生命機能研究科）

人間はおよそ 3 秒に１回の割合で自発的に瞬きをしている。しかし，眼球湿潤のためには２０秒に１回で十分であることから，我々人間が頻回に瞬きをする理由は未だに明らかではない。講演者らは，映像や会話の切れ目で，人々の瞬きが同期して生じることを発見した。さらに，瞬きに伴う脳活動の変化を機能的磁気共鳴画像法により調べた結果，視覚的注意の神経ネットワークの活動が低下する一方，デフォルト・モード・ネットワークや海馬の活動が一過性に上昇を示した。また，自発性瞬目率の個人差は，ニコチン受容体の遺伝子変異と有意な相関があることを発見した。これらの結果から，自発的な瞬きは，コリンードパミン神経伝達系を介して，拮抗する神経ネットワークの状態を一過性に変動させることで，注意を内的に解除し，情報の分節化をしていることが示唆される。

（6）知覚の内省とその神経機序

小村　豊（産業技術総合研究所 人間情報研究部門）

我々が，外界を知覚するとき，その内容を理解しているという確からしさが伴っている。心理学において，主観的な確からしさは，内省的なモニタリングの産物と考えられてきたが，それが，知覚において，どのようなプロセスを経て生まれてくるのか，神経メカニズムについては，不明であった。

私たちは，wagering 課題という，判断に対する自信の程度を推定する手法を，サルに適用して，視床枕において，視知覚の確信度が計算されていることを見出した。視床枕は，進化の過程で，めざましく発達し，霊長類の視床において，最大容積を占める領域である。その視床枕の神経活動は，サルの wagering 行動ごとに，視覚刺激の曖昧さに対するチューニングカーブをプロットすると，特徴的なパターンを示した。

また，ヒトの心理物理実験を行い，視覚判断に対する自信の程度を，明示的に報告してもらったところ，その確信度パターンも，視床枕の応答パターンと同様であることがわかった。以上の結果は，霊長類の視知覚において，共通の内省的なメカニズムが働いていることを示唆している。

（7）畳み込みニューラルネットを利用した TE 野における神経情報の復号化とブレイン・マシン・インタフェースへの応用

林　隆介（産業技術総合研究所 人間情報研究部門 システム脳科学研究グループ）

視覚情報は，大脳皮質の各視覚領野において，局所並列的な演算処理が階層的に繰り返されることにより，物体認識可能な表現形式に符号化されると考えられる。コンピュータ・ビジョン研究では，このような脳の情報処理様式を模倣して，多段の階層をもつ畳み込みニューラルネット(Convolutional Neural Net, CNN)を用意し，大規模な画像データを使って，フィルタのパラメータやニューロン間の結合を学習させることにより，従来手法よりも格段に高い精度で物体認識が実現するなど，大きな成功を収めている（Krizhevsky et al., 2012）。CNN で行われる情報処理を手がかりに，中～高次視覚野における情報符号化メカニズムを解明するとともに，脳情報の復号化とブレイン・マシン・インタフェース(Brain machine interface, BMI)技術への応用が期待されている。

本研究では，マカクザルの下側頭葉 TE 野の前部，中央部，後部にマイクロ電極アレイを３つ（電極総数２２４本）埋め込み，１２０種類の物体画像 に対する神経活動を同時記録した。そして，記録した神経細胞群の活動パターンと CNN 各層の視覚情報表現間のリッジ回帰結果を比較することで，TE 野における情報表現が，CNN 高次層の情報表現と良く対応していることを示す。そして，神経活動データから提示画像の CNN 高次層の表現を推定し，類似画像をデータベースから検索することにより，今見ている画像の物体カテゴリ情報を極めて正確に推定できることを紹介する。 また，提示画像に含まれる物体カテゴリだけでなく，コンテキストまでも復号化する手法として注目されるのが，画像認識を行う CNN と，文章生成を行うニューラルネットを統合したアプローチである。画像と文章が指し示す概念を共通空間内で表現するよう学習することにより，画像を入力したとき，コンテキストに相当する極めて正確な説明文が自動生成可能となる(Kiros et al., 2014; Vinyals, et al., 2014; Karpatyhy et al, 2014)。言語を操作できるのはヒトだけであっても，テキストデータとして記述される外界の存在物や事象間の関係は，類似した身体構造と感覚器を持つ生物種間で共通の関係性を保持していると考えられる。同モデルを利用した BMI 研究に関する取り組みを紹介し，テキストの概念操作による視覚神経生理研究の可能性について議論する。

（8）２光子カルシウムイメージングによる神経活動の大規模計測と，細胞集団による視覚情報表現

大木研一，吉田盛史（九州大学大学院医学研究院）

感覚情報が神経細胞の集団の活動にどのように表現されているかは，神経科学の主要な問題の一つである。神経細胞の集団活動に表現されている情報を定量化するために，２光子カルシウムイメージングを用いて，マウスの一次視覚野(V1)の約 200-900 個の神経細胞の活動を計測し，そこから動物が見た視覚刺激を再構成することを試みた。視覚刺激には 200 種類の自然界の画像（白黒）を用いた。各画素値の再構成は，神経細胞の集団の活動の重み付け和として求めた。訓練画像に対する反応を用いて，再構成の誤差が最小になるように重みの値を決定し，それを用いて新規画像に対する反応から，画像の再構成を行った。

単一の試行の数百個の細胞の活動から，画像のおおよその形が再構成された。復元された画像の空間的な分解能は数度程度で，マウスの V1 の神経細胞の受容野の大きさに近かった。

もとの画像と復元された画像の相関係数(R)は，単一試行からは R=0.34（0.18-0.47）, 16 試行の平均からは R=0.55（0.39-0.64）であった。細胞間の活動の相関(r)が，画像の再構成にどのような影響を与えるかを調べるために，各細胞において活動の値を試行間でシャッフルし，細胞間の活動の相関を無くしてから，画像を再構成すると，

復元の成績の向上が見られた（相関係数 R にして 18%の増大）。このことは，細胞間の活動の相関が，画像の復元の成績を，少なくとも線形の再構成においては低下させていることを示唆している。さらに，再構成に用いた細胞の数が復元の成績に及ぼす影響を調べたところ，細胞 70 個くらいまで急激に上昇し，そのあとは徐々に上昇した。相関の影響を取り除くと，どの細胞数でも復元の成績が向上したが，細胞数が多いほうが大きい向上が見られた。この復元の成績(R)と，細胞間の活動の相関 (r)，および再構成に用いた細胞の数(N)の関係を調べたところ，ある近似式で非常に正確に fitting できることを見出した。特定の状況において，この式の理論的導出を試みたところ，実験結果の fitting に用いた式と同じ式が得られた。その式を調べたところ，受容野の大きさや分布，画像の空間周波数などが，R の上限を決めていて，それをさらに細胞間の活動相関(r)が低下させていること，しかしながら，r による成績低下は，単一パラメータ（方位，方向など）の再構成のときに予想される成績低下よりも小さく限定的であることがわかった。

（9）一次視覚野ニューロンの受容野周囲抑制現象から考える視知覚形成の神経機構

七五三木　聡（大阪大学大学院医学系研究科）

初期視覚系ニューロンには，受容野刺激によって誘発された反応が，受容野の周囲に呈示された刺激によって減弱する現象が知られており，受容野周囲抑制と呼ばれている。この刺激文脈依存的な反応修飾の神経機構については，複数のモデルが提案されており，その一致をみていない。例えば，一次視覚野（V1）ニューロンの場合，①皮質下の外側膝状体で生じた受容野周囲抑制により V1 への興奮性入力が減弱するとする皮質下モデルや，②V1 内の広域に伸びる水平軸索を介して受容野周囲からの影響が及ぶとする水平結合モデル，③V1 ニューロンよりも大きな受容野を持つ V2 や V5 などの高次視覚野ニューロンから V1 へのフィードバック投射が V1 ニューロンの反応調節に関わるとするフィードバックモデルなどが知られている。そこで，ネコの V1 から単一神経細胞記録を行い，サイン波状に輝度変化するグレーティングをドリフトさせない静的刺激として呈示し，V1 ニューロンの受容野周囲抑制の時空間特性を刺激サイズとの関係で検討した。その結果，上記のメカニズムは排他的なものではなく，それら複数のメカニズムの特徴を反映する抑制が，一つの V1 ニューロンの反応の時系列変化に現れていること，特に，受容野近傍からの抑制は皮質下モデルで，それよりも広域を含んだ抑制はフィードバックモデルで説明できることがわかった。

そこで，上記の受容野周囲抑制現象の時空間特性が知覚現象にどのように反映されるのかを明らかにするために，ネコの電気生理実験で用いたものと同様の視覚刺激を使ったヒトの心理物理実験を行った。視覚刺激として，円形グレーティング刺激（ターゲット）とその周辺のアニュラスグレーティング刺激（マスク）を，それぞれ 50 ミリ秒間呈示し，ターゲットとマスクの刺激間隔を変化させた時のターゲットの見えの変化を検討した。その結果，V1 ニューロンの受容野周囲抑制の時空間特性と対応するターゲット知覚の妨害現象が観察されたので，これらの結果から考えられる知覚形成の神経機構モデルを発表する。

（10）視覚初期過程の時間応答における加齢の影響

篠森敬三（高知工科大学情報学群）

視覚刺激を知覚閾値付近の刺激強度で呈示し，その刺激の知覚閾値変動から求めた視覚系の時間的な応答関数は，視覚初期過程の時間応答とみなすことが出来ると考えている。２刺激光法という，複数（基本２つ）の短時

間刺激（impulse）を用いて呈示間隔を変数とする閾値測定では，刺激知覚（detection）を判断基準とするため，刺激反応に対するより高次の視覚情報処理過程やさらには認知過程の処理を伴わず，さらにボタン押しなどの反応行動の影響（遅延）も除去できる。さらに刺激閾値付近では，複数の短時間刺激に対する応答の線形性が良好に保たれること等を仮定すると，時間応答としてのインパルス応答関数を導出することが可能となる。

本発表では刺激の短時間呈示(impulse)に対する応答関数としてのインパルス応答関数を様々な刺激条件で測定，導出し，特に若年者と高齢者との比較から，時間応答への加齢の影響について焦点をあてる。輝度変化の増分（ON）と減分（OFF）に対するインパルス応答関数は，振幅変調と応答速度において対称性があることを示した。振幅が年齢と共に常に低下する一方で，応答速度は基本的に生涯安定している。その一方，S-錐体刺激量変化のみの色変化信号に対する応答では，青（S-錐体 ON）と黄色（S-錐体 OFF）インパルス刺激の間で，非対称性が見られた。黄色刺激応答は，青刺激応答と比較して年齢と共により弱くなり，また時間的により緩慢となる。つまり黄色がかったフラッシュは，高齢の人々には特に検出しにくいことになる。さらに，赤（L 錐体 ON）と緑（L-錐体 OFF）インパルス刺激を用いた測定結果もふまえると，この差は S 錐体固有の加齢の影響ではなく，運動知覚等に重要な輝度チャンネル（より詳細には Magno-cellular pathway）と，単に色知覚に用いられる反対色チャンネル（Parvo-cellular pathway）における，解剖学的あるいは生理学的な加齢の影響に対する視覚系での補償効果の差に由来すると考えられ，初期人間視覚システムにおける時間情報処理における合理性が見いだされる。

（11）拡散強調 MRI を用いた視覚情報伝達経路の解明

竹村浩昌

（情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター(CiNet)，日本学術振興会 特別研究員(SPD)）

ヒトおよび霊長類の視覚系においては，運動や奥行きなどの空間情報処理に関わる背側経路と色や形態情報の処理に関わる腹側経路が存在するとされてきた。一方で，背側経路と腹側経路の相互作用の存在を示した研究も多く見られる。本研究では，拡散強調 MRI およびトラクトグラフィー法を用いて，背側経路と腹側経路の間の情報伝達に関わる白質線維束を同定することを目的とした。まず，同一実験参加者を対象として fMRI による視野地図の計測および拡散強調 MRI の計測を行なった。拡散強調 MRI データに対してトラクトグラフィー解析を行い，背側視覚野と腹側視覚野をむすぶ白質線維束を同定した。この線維束の解剖学的位置は死後脳研究で同定された Vertical Occipital Fasciculus (VOF)と呼ばれる線維束と一致していた。次に，fMRI によって同定された視覚領域と VOF の終端位置の比較を行なった。結果，VOF が空間情報処理に関わる V3A/B 野や色情報処理に関わる hV4 野などの領域の近傍に終端を持つことが明らかになり，背側経路と腹側経路が VOF を通じて情報伝達を行なっている可能性が示唆された。最後に，サル脳の拡散強調 MRI データを解析することで，サル脳に相同の経路が見られるかを検証した。結果，背側視覚野と腹側視覚野を結ぶ線維束(macaque VOF; mVOF)を同定した。この線維束の解剖学的位置は Wernicke (1881)による死後脳研究と一致していた。一方で，mVOF は Inferior Longitudinal Fasciculus(ILF)と重複した位置を走行しており，ヒト VOF に見られる ILF との独立性が見られなかった。このことは，VOF が進化過程を経ることでヒト脳においてより発達し，他の主要な線維束からより独立した経路となった可能性を示唆する。

（12）視覚システムにおける神経振動同期ダイナミクスの機能的役割の操作的研究

北城圭一（理化学研究所脳科学総合研究センター）

知覚，認知，運動等の脳機能に関連して，神経活動の位相同期，位相振幅カップリング等のさまざまな神経振動同期ダイナミクスの役割を示唆する興味深い神経相関研究が数多く報告されている。しかしヒトの脳機能に関して相関ではなく，因果的な機能解明をするためには神経振動同期ダイナミクスの操作が不可欠であるがこれまでほとんどなされてこなかった。これに関して近年，経頭蓋磁気刺激(TMS)と脳波(EEG)を組み合わせてヒトの刺激計測が可能になった。そこで我々は神経振動同期ダイナミクスへの干渉，制御方法に TMS-EEG を用いる試みを行っている。具体的には TMS は局所の EEG の振動位相をリセットしたり特定周波数で引き込んだりできる。また大域的な EEG 位相同期ネットワークや領野間の情報流も変調できる証拠を紹介する。さらに仮現運動知覚の個人差や視覚的注意に関する振動ネットワークの安定性等の視覚機能に関する TMS-EEG 研究の結果を示す。以上により脳の神経ダイナミクス, 大域的ネットワークの機能の操作解明手法としての TMS-EEG の有効性を示す。

（13）素材識別に関わる質感属性とその特性

中内茂樹（豊橋技術科学大学大学院工学研究科）

周りを見渡してみると，驚くほど様々な材質に囲まれて私達が生活していることに気づく。また, こうした様々な素材を見るだけで，それらの光沢感や手触り，ときにはその重さや硬さ，冷たささえ推量することもできる。我々はこのような素材識別の仕組み，特にそのダイナミクスについて，質感認知との関係に着目して調査した。

まず，金属，布，木材，石材，皮革，ガラス，プラスチックの 7 種の材質の質感サンプル（計 262 個）を対象とし，それらの写真画像を用いて，基本的な質感属性値（光沢感，透明感，ざらざら感，冷暖感など 9 項目）を 7 段階評定によって求めた。質感属性値は素材毎にクラスタ（カテゴリ）を形成する傾向を示したが，素材の画像特徴量（輝度，色の 1 ～ 4 次統計量，sub-band 毎の振幅など 24 項目）そのものにはそうした傾向は見られなかった。ただし，質感属性値を最も表現するように求めた画像特徴量の一次結合である正準変数においては，材質毎のカテゴリ的な特徴が再現されていた。

次に，素材識別の時間特性と質感属性との関係を心理物理実験により調べた。モニタに 2 種類の物体写真が呈示され，被験者はそれらが同じ素材カテゴリに属するかを判断するよう教示された。また，そのときの応答時間を計測した。素材識別のパフォーマンスと質感属性の関係を詳しく調べるため，呈示された 2 種類の物体に関する質感属性値の差分値を説明変数として，応答速度（応答時間の逆数）を目的変数として重回帰分析を行った。その結果，素早く素材の違いを識別できる場合（応答時間がおよそ 800 ms 以下）については，光沢感や模様感など視覚情報に依存する質感属性が，素材識別に時間がかかる場合（応答時間がおよそ 800 ms 以上） については, 重さ感や冷暖感など触覚情報に依存する質感属性が, それぞれ素材識別の応答速度と強く関連していることが分かった。この結果は，質感認知における多層的な処理過程を示唆しており，これまで質感属性としてひとくくりにされていた光沢感や手触り感，硬さ感などは，それぞれ別の階層における質感表現を反映している可能性がある。

謝辞 : 本研究は JSPS 科研費「質感脳情報学」(22135005) の助成を受けて実施された。

（14）Choice probability は何故生じるのか：spike count variance を用いた解析

宇賀貴紀（順天堂大学医学部生理学第一講座）

知覚と神経活動の関係を議論する際，単一神経活動が判断とどの程度相関するのか（Choice probability: CP）を考慮することは非常に重要である。知覚と感覚領野の神経活動には弱い相関が見られることが多くの研究から知られており，その結果，知覚は弱く同期している比較的少数の感覚ニューロンの出力を貯蓄した結果生じると考えられてきた。

これまで，CP が生じるのは，神経活動の避けられない揺らぎの結果，知覚の揺らぎが生じるためと解釈されていた。しかし近年，CP が生じるのは，注意などのトップダウン効果の影響によるとの考え方も出てきている。もし，トップダウン効果によりニューロンの発火頻度が変化し，同時に判断もバイアスされるのであるとしたら，確かに知覚と神経活動は相関する。ただしこの場合，トップダウン効果によりニューロンの発火頻度が変化するため，CP が高い場合には，発火の揺らぎが増えることが予想される。しかし，揺らぎの度合いはニューロン毎に大きく異なるため，これまでにこの予想を検証するのは困難であった。

本研究では，運動方向弁別，奥行き弁別の 2 つの知覚判断課題における CP を同一ニューロンで計測した結果を用い，CP の変化に伴い，神経活動の揺らぎがどのように変わるのかを検証した。CP が課題によって異なることは既に報告した（Sasaki & Uka, 2009）。神経活動の揺らぎを Fano factor（発火頻度の分散/平均）で定量化した結果，視覚刺激の提示に対する反応の Fano factor は CP に依存しなかった。一方，反応を答えでソートした場合，Fano factor は CP の上昇とともに減少した。

以上の結果は, CP の生成にトップダウン効果の影響があったとしても，それは少なくとも発火頻度の変化を介したものではないことを示唆する。従来どおり，CP は神経活動の揺らぎが知覚に影響を与えるために生じると考えるほうが尤もらしい。

６．シナプス・神経ネットワークの機能ダイナミクス

2015 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）脳内空間表現を実空間に合わせるキャリブレーション・コード : 時間の前後関係は空間の前後関係を表現する
平本正輝（スクリプス研究所）

（２）LTD は小脳運動学習に関与しないのか？
山口和彦（理化学研究所）

（３）De novo Kv2.1 mutants causing infantile epilepsy inhibit repetitive neuronal firing
秋田天平（浜松医科大学）

（４）大脳皮質 FS バスケット細胞による５層錐体細胞への抑制性神経支配様式
窪田芳之（生理学研究所）

（５）中核神経系の維持改編に関わる分子機構
宮田麻理子（東京女子医科大学）

（６）シナプス前終末内神経伝達物質除去がシナプス素量サイズに及ぼす影響
高見千尋（同志社大学）

（７）小胞体局在型新規オプトジェネティクスツールの開発
五十嵐敬幸（東北大学）

（８）海馬シナプス前部におけるエキソサイトーシスとエンドサイトーシスの可視化
船橋潤一郎（京都大学）

（９）新奇経験における海馬－嗅内皮質の領域間情報伝達
北西卓磨（大阪大学）

（10）海馬苔状線維における軸索スパイクの活動依存的制御
神谷温之（北海道大学）

（11）プレシナプス・キナーゼ SAD-B によるシナプス小胞ダイナミクスと可塑性制御の分子基盤
大塚稔久（山梨大学）

（12）Ca^{2+}シグナリングと脳高次機能制御
尾藤晴彦（東京大学）

【参加者名】

神谷温之（北海道大学），五十嵐敬幸（東北大学），小泉　協（東北大学），八尾　寛（東北大学），大塚稔久（山梨大学），長濱健一郎（東京大学），尾藤晴彦（東京大学），渡邉貴樹（東京大学），宮田麻理子（東京女子医科大学），林　康紀（理化学研究所），山口和彦（理化学研究所），森　琢磨（信州大学），片上茂樹（岐阜大学），秋田天平（浜松医科大学），福田敦夫（浜松医科大学），SINHA ADYA SARAN（浜松医科大学），久場博司（名古屋大学），大槻　元（京都大学），平野丈夫（京都大学），舩橋潤一郎（京都大学），山本亘彦（大阪大学），北西卓磨（大阪大学），御園生裕明（同志社大学），川口真也（同志社大学），坂場武史（同志社大学），高見千尋（同志社大学），堀　哲也（同志社大学），緑川光春（同志社大学），山下愛美（同志社大学），小池千恵子（立命館大学），奥田英人（福岡大学），Carta Mario（ボルドー），福島一幸（エーザイ㈱），平本正輝（スクリプス研究所），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），田中亮太（海老名総合病院），窪田芳之（生理学

研究所），佐竹伸一郎（生理学研究所），鍋倉淳一（生理学研究所），畠中由美子（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），山浦　洋（生理学研究所），西尾奈々（生理学研究所），足澤悦子（生理学研究所），小松由紀夫（生理学研究所），杉村岳俊（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），唐木智充（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所）

【概要】

本研究会は，シナプス・神経回路レベルでの研究者の緊密な交流とコミニュティーの継承を目的とし，三年間にわたり継続して開催されてきた。今年度の研究会では，52 名の参加者が集い，12 演題の口演発表と 9 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，シンポジウム「分子と回路をつなぐ神経ネットワーク研究の新展開」を開催し，参加者の多くが引き続き参加し交流を深めた。シンポジウムの4名の招待講演者には海外から参加者1名を含み，神経軸索の機能制御や軸索分岐の制御機構などに関する最新の成果に関する講演がすべて英語で行われ，活発な議論が繰り広げられた。昨年に引き続き行われたポスター発表は，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，同じ会場で行われた懇親会でもフランクな雰囲気での議論が遅くまで続いた。研究の最前線にいる若手研究者とシニアな研究者の発表を織り交ぜた二日間の多彩なプログラムに，最後まで活発な議論が繰り広げられた。本研究会の目指す，最先端の超領域的な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ュティーの継承に向けた，「シナプス研究会」以来の有意義な研究交流の機会となった。

（1）脳内空間表現を実空間に合わせるキャリブレーション・コード：時間の前後関係は空間の前後関係を表現する

平本正輝（スクリプス研究所）

眼や耳の位置は，個人間だけでなく左右間でもばらついているが，脳は高い精度で空間認識を行う事ができる。この例は，脳内空間表現が実空間に一致する様にキャリブレーションされている事を示している。特に人工感覚器を生体に装着した場合，各々の神経は本来各々が担当していた情報とは異なる入力を受ける事になり，再キャリブレーションが必要になる。

視神経群がマップへ投射する角度・順番は空間認識に影響を与える。しかし，どの様な指標を利用してこれらを調整するのか，またその指標はどの様な神経活動パターンにより伝達されるのかなど，具体的な原則は分かっていない。

神経回路は，自然界からの入力を効率的に処理できる様最適化されている事が知られており，神経回路の基本法則は自然界の原則を反映している。今回，自然界のユニークな特徴を反映した回路形成の法則が存在するか調べた。前から後ろに流れる Optic Flow は，空間の前後関係を知る上で有力な情報源となるため，映像の流れる向きのマップの軸形成へ及ぼす効果に注目した。実験には，可塑性の基本法則を明らかにしてきた実績がある Xenopus 幼生を用いた。

今回，視神経間の発火の順番が，それらが見ている視野の前後関係として解釈され，それに基づき視野マップに接続される事が分かった。この事は視覚マップのキャリブレーションにおいて，時間の前後関係は空間の前後関係を表現する事を示している。

（2）LTD は小脳運動学習に関与しないのか？

山口和彦（理化学研究所）

小脳運動学習において平行線維(PF)-プルキンエ細胞(PC)間のシナプス伝達効率が長期にわたり抑圧される現象（LTD）が運動学習のメカニズムである，と提案されていた（Ito，2002）。しかし最近，GluA2 の C 末端の変異体をノックインしたマウスにおいて，“LTD は生じないが運動学習は正常である” ことが報告され，“LTD は小脳運動学習に本質的ではない” と主張された。しかしこの論文では極めて限定された LTD の誘導法しか用いられておらず, 他のプロトコールでも LTD が全く誘導されないか，確認されていなかった。そこで我々は 2 種類の GluA2-C 末変異体ノックインマウス（K882A，Δ7）の提供をうけ，様々な LTD 誘導プロトコルを用いて，これらのノックイン動物で LTD が誘導されるか否かについて調べた。行動実験の時期に対応した生後 3-6 か月のマウスを用い, 小脳片葉より急性スライスを作製し, ホールセルパッチクランプ法により，LTD が誘導されるか否かを検討した。その結果，GluA2-CT の変異体ノックインマウスにおいてもいくつかの LTD 誘導プロトコルによって LTD が誘導できることが示され, 運動学習と LTD の齟齬は存在しないことが示された。今回の結果は従来の分子モデルでは説明できず，モデルを変更する必要がある。さらに小脳の他のシナプス可塑性と LTD の補完的な生理学的意義について考察した。

（3）De novo Kv2.1 mutants causing infantile epilepsy inhibit repetitive neuronal firing

秋田天平（浜松医科大学）
才津浩智，松本直通（横浜市立大学大学院）
福田敦夫（浜松医科大学）

電位依存性 K^+チャネル（K v）の様々な点突然変異が，乳幼児期発症のてんかん発作を伴う精神運動発達遅滞に関わることが知られているが，その発症機序には不明点が多い。最近我々は乳幼児期発症のてんかん患者 437 人の全エクソーム解析により，大脳皮質と海馬の錐体神経細胞での主な遅延整流性 Kv である Kv2.1 をコードする KCNB1 の，2 つの新生（de novo）ミスセンス変異を 2 人の患児で同定した。いずれの患児も先ず乳児期より運動発達遅滞が認められ，生後 1－1.5 年で脳波上びまん性の高振幅不規則多棘徐波結合を呈する全般てんかん発作を発症し，現在も重度の知的障害を有する。1 つの変異は S4 電位センサー領域内の正電荷を持つアルギニン残基の 1 つ（p.R306C）に生じたもので，センサー感受性及び協同性が強く障害され，もう 1 つの変異は S6 ポア領域内のチャネルゲート蝶番部に相当するグリシン残基（p.G401R）に生じたもので，正常型 Kv2 に対する優性阻害作用を持つことが判明し，いずれも種を超えて保存性の高い残基であった。それぞれの変異 Kv2.1 を錐体神経細胞に発現させると，どちらの場合も神経連続発火が強く阻害され, その効果は特に R306C 変異体で強かった。以上のことは，錐体神経の不十分な発火活動により神経回路網の発達と安定性の双方が阻害され，疾患発症に至ることを示唆する。

（4）大脳皮質 FS バスケット細胞による５層錐体細胞への抑制性神経支配様式

窪田芳之（生理学研究所）

ラットの大脳皮質前頭野の錐体細胞上に分布する抑制性シナプスに着目し，生理学的，形態学的，およびシミュレーション解析を行った結果，２つの抑制原理を見いだした。まず，非錐体細胞の抑制性神経終末のジャンクションの面積とターゲットの大きさは奇麗に相関していた。ターゲットが小さい場合には小さい抑制シナプス電流を，大きい場合は大きい抑制シナプス電流を入れる事で均等な抑制効果を得るのであろうと考えられる。また，FS バスケット細胞の抑制は３つの様式（細胞体の抑制，樹状突起の抑制，棘突起の抑制）を持ち，それぞれ異なった役割を持つ事がわかった。細胞体への抑制シナプスは最もコンダクタンスが大きく，細胞の興奮を抑えるのに十分な抑制効果をもつと考えられる。一方，樹状突起への抑制シナプスのコンダクタンスは小さく，そのシナプスが位置している樹状突起の枝のみに抑制効果を持つと考えられる。棘突起への抑制はとても小さく棘突起頭部のみに抑制効果を認めた。その棘突起に入力する視床からの興奮性シナプス入力のみを効果的にブロックすると考えられる。FS バスケット細胞は，この３つの抑制様式を使い，ターゲットの錐体細胞の活動を効率よく抑制し，大脳皮質の活動を上手に制御していると考えられる。

（5）中核神経系の維持改編に関わる分子機構

宮田麻理子（東京女子医科大学）

視覚視床である外側膝状体には網膜膝状体シナプス（RG シナプス）が上行性線維として入力する。RG シナプスの発達は生後発達期において 3 つの過程を経る。すなわち１）両眼から投射の分離（第一期）２）RG シナプス強化と不必要なシナプスの除去（第 2 期）そして３）視覚依存的にそれが維持される過程（第 3 期）である。第 3 期で視覚経験を遮断すると，第 2 期で強化されたシナプスが維持されず，既存のシナプスは弱化し新たな RG シナプスが侵入するリモデリングが起きる。我々は，視床に極めて豊富に発現する代謝型グルタミン酸受容体 1 型（mGluR1）が RG シナプスの維持機構に必要であることを明らかにした。mGluR1KO マウスは第 2 期までは正常に経過するが，明室飼育をしているにも関わらず第 3 期の維持機構が障害された。KO を第 3 期に暗室飼育を行ってもそれ以上に新たな異所性 RG シナプスが増えないため，mGluR1 カスケードが視覚経験依存的な維持機構と共通のシグナル経路を有すると考えられた。また，mGluR1KO の LGN に mGluR1 を強制発現させると，維持機構は回復した。我々の結果は，発達過程で精練された神経回路が感覚経験によってどのように維持されるかという問いに対し，新たな分子機構の知見を提供したものと考える。

（6）シナプス前終末内神経伝達物質除去がシナプス素量サイズに及ぼす影響

高見千尋（同志社大学脳科学研究科）
堀　哲也（同志社大学生命医科学部）
高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学）

シナプス前終末細胞質中の神経伝達物質を除去すると，誘発性 EPSC（eEPSC）の減少が観測される（Ishikawa Neuron,2002）。これはシナプス小胞に充填される神経伝達物質量が減少することで素量サイズ q が減少する事が

主たる要素であると予測される。しかし，自発性微小 EPSC（mEPSC）振幅の減少の程度は誘発性 EPSC の減少に比べて弱く，EPSC 現象の原因については今だ不明な点がある。この問題を解決するため，我々は EPSC の誘発回数を最小限に抑え，シナプス前終末からの神経伝達物質除去が素量サイズに及ぼす影響を検討した。我々の実験結果は Ishikawa らの結果と同様であり，eEPSC が大きく減少しているにも関わらず平均 mEPSC 振幅の減少の程度は小さかったが，これは mEPSC 振幅が背景雑音の分布に入り込むことが原因であると確認された。このため，我々は平均分散分析を用いて素量サイズを求める試みを行った。200 Hz　10 回の入力繊維刺激を 100 ms おきに行う事で，シナプスが高頻度に発火する最中の素量サイズを平均分散分析で計測した。シナプス前終末内神経伝達物質除去操作により，平均分散分析で求めた素量サイズは mEPSC 振幅と異なり，eEPSC 振幅と伴に減少する事が観察された。一方で，高頻度刺激開始直後の素量サイズと刺激開始後 30 秒経過した時点での素量サイズには有意差は無かった。シナプス小胞にいったん充填された神経伝達物質は，細胞質中の神経伝達物質除去操作により漏洩し，素量サイズが減少することで eEPSC が減少すると考えられる。

（7）小胞体局在型新規オプトジェネティクスツールの開発

五十嵐敬幸（東北大学）

筋細胞の収縮能獲得において最小構成単位とされるサルコメア構造は，シナプス入力等の外的刺激に伴って形成される。しかし，サルコメア形成を制御する分子機構は十分に理解されていない。今回我々は，細胞活動に伴い細胞内濃度が変化し，細胞内シグナリング関連因子として機能するカルシウムイオン(Ca^{2+})がサルコメア形成を促進するという仮定の下に，選択的かつ高い時空間分解能での細胞内 Ca^{2+} リリース操作を可能とするオプトジェネティクスツールの開発を行った。

本研究会にて紹介した，光感受性カチオンチャネルであるチャネルロドプシン(ChR)に ER-retention シグナルを付加した ChR_{ER} は，複数の細胞株において細胞種の違いによる分布の差異はなく，ER マーカーとの共局在を示した。Ca^{2+}イメージングでは，青色光刺激と同期した応答が細胞外溶液を Ca^{2+}フリーの条件にしても消失しなかった。以上より，ChR_{ERS} は小胞体に限局して発現し，光刺激に同期した Ca^{2+}リリースを誘起していることが示唆された。この ChR_{ER} は，詳細な筋細胞分化メカニズムの解明や神経細胞における神経伝達物質放出の操作などへの利用が展望される。

（8）海馬シナプス前部におけるエキソサイトーシスとエンドサイトーシスの可視化

船橋潤一郎，田中洋光，平野丈夫（京都大学）

シナプス前部における Ca^{2+} 依存性エキソサイトーシスとエンドサイトーシスを制御する分子機構については不明な点が多い。そこで私たちは，生細胞蛍光イメージングにより個々のエキソサイトーシスとエンドサイトーシスを観察することを目指し，細胞間接着分子によるガラス面直上へのシナプス前部形成の誘導と全反射蛍光顕微鏡観察を組み合わせた新規実験手法を開発した。

まず，上述の手法を用いてエキソサイトーシスを観察しようと試みた。エキソサイトーシスの可視化には中性 pH でのみ緑色蛍光を発する分子である SypHy を用い，アクティブゾーンの標識にはシナプス前部の足場タンパク質である CAST と赤色蛍光タンパク質を融合した分子を用いた。培養神経細胞の CAST 陽性のアクティブゾーンの近傍において，1 回の電場刺激を加えた時の SypHy の蛍光を記録したところ，刺激と同期して輝度が上昇し，これを 1 つのシナプス小胞のエキソサイトーシスに対応する現象と判断した。

次に，アクティブゾーン周辺でのエンドサイトーシス

を記録するために，エンドサイトーシス関連分子である Dynamin の動態を観察した。CAST 陽性のアクティブゾーン周辺において，蛍光標識した Dynamin の輝度を記録したところ，1 秒程度で輝度が増減し，これをエンドサイトーシスに関連する現象と推定した。

（9）新奇経験における海馬－嗅内皮質の領域間情報伝達

北西卓磨（大阪大学）

新しい場所を訪れたとき，しばらく歩きまわれば，私たちはすぐに通路や部屋の位置関係を覚えられる。すばやく空間を認識して記憶するときに，脳のなかではどのような情報処理が行われるだろうか？海馬には場所細胞が数多く存在する。場所細胞とは，動物が環境のなかで特定の場所を通りぬけるときにのみ活動する細胞であり，空間情報の処理に重要だと考えられている。私たちは，シナプス可塑性が海馬 CA1 野の場所細胞の活動を制御する様態を調べた。まず，マルチユニット記録法とウイルスベクターによる局所的な遺伝子改変法とを組み合わせて，神経活動を支える細胞メカニズムを調べる新たな手法を開発した。そしてこの方法を用いて，AMPA 受容体サブユニット GluR1 に依存したシナプス可塑性が，①新奇環境における場所細胞のすばやい形成と，②上流の CA3 野から流入する脳波（遅いガンマ波）に応答した適切な発火タイミングの形成との，両方に必要であることを見出した (Kitanishi et al., Neuron, 2015)。こうした結果から，GluR1 依存性シナプス可塑性は，新奇環境における CA1 野の発火パターンのすばやい形成を促進し，CA3→CA1→嗅内皮質という投射経路の情報伝達を選択的に増強する役割を持つと考えられる。

（10）海馬苔状線維における軸索スパイクの活動依存的制御

神谷温之，大浦峻介（北海道大学）

軸索終末での活動電位は，シナプス伝達効率に直接的に影響を与える主要なプロセスであるが，その詳細な制御機構については不明な点が多い。本研究では，ルースパッチクランプ法およびホールセルクランプ法により海馬苔状線維の大型の軸索終末部から全か無かの法則に従う活動電位（軸索スパイク）を直接記録し，その活動依存的制御の可能性を検討した。二発刺激を苔状線維に与えると，50 ミリ秒の刺激間隔では二発目の振幅が軽度に減少した。刺激間隔がこれより短い場合には二発目の振幅は刺激抑圧はより強く認められ，200 ミリ秒より刺激間隔が長い場合はほとんど生じなかった。想定される機序として，一発目の活動電位中に生じた電位依存性ナトリウムチャンネルの不活化が持続し，二発目の刺激に応じて活性化しうる電位依存性ナトリウムチャンネルの割合が相対的に減少し，活動電位振幅が減少する可能性があげられる。しかしながら，これまでの研究から，苔状線維の軸索終末の電位依存性ナトリウムチャンネルは細胞体のものに比べて速やかに不活性化から回復し，10 ミリ秒以内にほぼ回復が完了することが知られている。海馬苔状線維における軸索スパイク振幅の二発刺激抑圧には，電位依存性ナトリウムチャンネルの不活化の持続とは異なるメカニズムが関与すると考えられた。

（11）SAD-B kinase regulates presynaptic vesicular dynamics at hippocampal Schaffer collateral synapses and affects contextual fear memory

大塚稔久（山梨大学）

SAD-A/B kinases control various steps in neuronal development and differentiation, such as axon specifications and maturation in central and peripheral nervous systems. At mature presynaptic terminals, SAD-B is associated with synaptic vesicles and the active zone cytomatrix; however, how SAD-B regulates neurotransmission and synaptic plasticity in vivo remains unclear. Here, we used SAD-B knockout (KO) mice to study the function of this presynaptic kinase in the brain. We found that the paired-pulse ratio was significantly enhanced at Shaffer collateral synapses in the hippocampal CA1 region in SAD-B KO mice compared with that in wild-type littermates. We also found that the frequency of the miniature excitatory postsynaptic current was decreased in SAD-B KO mice. Moreover, synaptic depression following prolonged low-frequency synaptic stimulation was significantly enhanced in SAD-B KO mice. These results suggest that SAD-B kinase regulates vesicular release probability at presynaptic terminals and is involved in vesicular trafficking and/or regulation of the readily releasable pool size. Finally, we found that hippocampus-dependent contextual fear learning was significantly impaired in SAD-B KO mice. These observations suggest that SAD-B kinase plays pivotal roles in controlling vesicular release properties and regulating hippocampal function in the mature brain. In this talk, I would like to discuss potential roles of SAD kinases in the regulation of presynaptic structure and function.

References:
Watabe. M et al. 2015. J. Neurochem. In press.
Inoue et al., 2006. Neuron

（12）Ca^{2+}シグナリングと脳高次機能制御

尾藤晴彦（東京大学）

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。

我々の研究グループは，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から，記憶の長期化において，神経細胞におけるシナプスから核へのシグナリングが果たす役割の重要性を明らかにしてきた。CREB シグナリングは，脳の広範な領域で様々な機構により活性化し，それぞれの部位における「記憶痕跡」の樹立に寄与すると考えられている。しかし記憶に関与する神経核のそれぞれで，選択的に CREB を活性化するメカニズムについては，これまで明らかにされていない。我々は CREB 補助因子 CRTC1 に着目し，その局在制御のメカニズム解明を通じて，扁桃体で重要な役割を果たす CRTC1 特異的恐怖記憶形成機構を解明した。

一方，CREB 標的となる神経特異的最初期遺伝子 Arc のプロモータ解析から，シナプスでのカルシウム流入から核での転写活性化に至る機構を解明し，さらにゲノム上で神経活動の強力なセンサーとして働くシナプス活動応答性エレメント SARE を新たに単離した。これらの知見をベースに，Arc 産物のシナプス機能の同定や，生理的刺激に応答した SARE 活性を指標に，神経活動の亢進した神経回路を可視化・同定する proof-of-concept 実験に成功している。

本セミナーではこれら成果に加え，これらの基盤をなす新たなイメージングツールについても紹介させていただきたい。

7．行動システム脳科学の新展開

2015 年 12 月 4 日－12 月 5 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）Survive as a scientist.

伊佐　正（生理学研究所）

（2）大脳皮質パルブアルブミン細胞の歴史と謎

川口泰雄（生理学研究所）

（3）脳研究および大学における生理学の動向

蔵田　潔（弘前大学）

（4）線条体アセチルコリン神経伝達による行動柔軟性のコントロール

小林和人（福島県立医科大学）

（5）小脳の区画構造と機能局在の神経回路基盤

杉原　泉（東京医科歯科大学）

（6）ニューオリンズのカフェにて

関　和彦（国立精神・神経医療研究センター）

（7）神経回路研究の変遷と今後の霊長類研究

高田昌彦（京都大学 霊長類研究所）

（8）眼球運動と高次機能

田中真樹（北海道大学）

（9）脳活動の非侵襲的操作と大規模計測を組み合わせた行動システム脳科学の新たな展開

筒井健一郎（東北大学）

(10) 物質と脳

中村加枝（関西医科大学）

(11) システム神経科学がめざすもの

南部　篤（生理学研究所）

(12) いちめんなのはな

藤山文乃（同志社大学）

【参加者名】

田中真樹，亀田将史，鈴木智貴（北海道大学），蔵田　潔（弘前大学），筒井健一郎（東北大学），小林和人，西澤佳代（福島県立医科大学），松本正幸（筑波大学星），星英司，石田裕昭，中山義久，横山　修，佐野暢哉（東京都医学総合研究所），杉原　泉，高橋真有，安藤貴弘（東京医科歯科大学），関　和彦，梅田達也（国立精神･神経医療研究センター），中村加枝（関西医科大学），高田昌彦，井上謙一，上園志織，中川　浩，高田裕生，柘植仁美，上野貴文，田辺創思，小山奏子，大石高生（京都大学 霊長類研究所），伊佐　正，孫　在隣（京都大学），藤山文乃，苅部冬紀，呉　胤美，中野泰岳，奈良妃依里，水谷和子（同志社大学），小池千恵子（立命館大学）

川口泰雄，窪田芳之，岡本秀彦，山肩葉子，加藤利佳子，石野誠也，笠井昌俊，高桑徳宏，徳岡広太，辻本憲吾，山本勇祐，畠中由美子，唐木智充，當山峰道，井上健一，St.Clair Griffin，木村梨絵，佐竹伸一郎，木田哲夫，犬塚小百合，北　啓子，渡辺晴子，南部　篤，畑中伸彦，知見聡美，佐野裕美，近藤秀樹，金子将也，長谷川　拓，Darbin Olivier，Dwi Wahyu Indriani，若林正浩，Woranan Wongmassang（生理学研究所）　71 名（講演者含む）

【概要】

昨年度の本研究会は，今年度と同じ課題名で，システム脳科学の最前線について取り上げた。しかし，研究の背景にある研究者の研究人生・哲学は，研究成果と並んでサイエンスの重要な柱であり，研究手法や考え方にも密接に関連している。しかし，これらを纏まった形で発表したり，議論したりする機会は少ない。今回は通常の研究会と趣向を変え，中堅からエスタブリッシュした演者の方々に研究人生・哲学についてお話し頂きながら全体で議論することにより，The Joys of Science の再発見を目指した。

（1）Survive as a scientist

伊佐　正（生理学研究所）

何か大きな展望があって研究の道に入ったわけではなかった。医学生の頃，体育会のボート部をやめて，暇を持て余していた頃，たまたま講義で聞いて面白そうだった先生の研究室を訪ねて，東京都老人研の研究室で麻酔下のラットを使った電気生理実験をさせていただいた。それが面白くて足繁く通い，卒業１年前に，学生時代で一番面白かったことは何だったかと振り返った時に，この実験が面白かったと思った。大学院進学を決めたのは，そこまでは末梢を刺激して末梢から反射活動を記録する実験だけだったので，もう少し先（中枢神経系の中身）を知りたかっただけだった。将来を決めることを先延ばしにし（結婚はしていたけれど），芽が出なかったら大学院だけ終えてまた臨床に行こうなどと考えていた。勉強不足もあって，大脳の連合野や高次脳機能なんていう難しそうなことは敬遠していた。それがその後，もう少し先が知りたいと思って背伸びを続けているうちに，あっという間に３０年が過ぎ，今や，時には意識や注意，モチベーションや学習などと口走っている私がいる。勿論紆余曲折はあって，大学院から助手時代にかけて所属していた伝統ある研究室は姿を消し，イオンチャネルの分子生理学をやっていたこともある（今ならそれも自分にとっての重要な栄養源だったと自信をもって言えるけれど）。運良く２０年前に生理研のポジションをいただけたことで今日の私があり，そうでなかったら今頃本当にどうなっていたかわからないと正直に思う。

ただ，何も考えていなかったわけではなくて，大学院の最初の師である島津浩先生の「流行は追うな，流行を作れ」という言葉は愚直に守ってきた。とにかく他人と同じことをするのが嫌で，他人とは少し違う考え方をし，他人がやっていないことで重要そうなことは何か？ということばかりを考えるようにした。その結果が，サルで脊髄損傷の研究をし，かつ脊髄だけではなく大脳皮質や辺縁系に着目する。視覚系も，一次視覚野ではなくて上丘。そして上丘が頑張る盲視の研究。健常な脳ではなく障害を受けた脳の大規模回路の可塑性を調べるという研究。最初のうちは世の中の流れと自分の間に強い違和感があったが，最近はその違和感が薄れ，自分と世の中の羅針盤の針の向きが少し揃ってきたかなと思う。

（2）大脳皮質パルブアルブミン細胞の歴史と謎

川口泰雄（生理学研究所）

Ramon y Cajal や Lorente de No が，大脳皮質の形態的に多様なニューロンタイプを記述して以来，それら多くの機能的役割については不明のままでした。1970 年代後半から視覚野では，ハーバード大学などのグループが，視覚刺激応答性を調べた皮質細胞を細胞内染色し，その軸索・樹状突起を立体構築した上で，そのシナプス標的を電子顕微鏡で調べる試みを始めました。これは，現在のコネクトミクスに通じる研究ですが，当時の大規模データ処理には限界があり，次第に行われなくなりました。

1986 年にカルシウム結合蛋白質の一つであるパルブアルブミンが，新皮質の GABA 作動性細胞に発現することが，Marco Celio によって報告されました。非常に面白い所見ですが，新皮質の回路・機能を調べている研究者は，当時は殆ど興味を持たなかったようです。今から思うと，この発見が皮質回路研究の大きな転機の一つなのかもしれません。

その後，皮質パルブアルブミン細胞の形態的・電気生理学的特徴が明らかにされ，この抑制性細胞が，臨界期の決定や，成熟動物の可塑性を制御している可能性が，Takao Hensch らにより示されました。パルブアルブミンという特定の分子を発現していることで，最近では細胞種特異的な操作が遺伝子操作により可能になり，その結果，皮質細胞間の発火同期性に関与すると考えられるガンマ振動の生成に本質的であることも次第に明らかになりつつあります。さらに，この細胞またはパルブアルブミン発現の異常が統合失調症や自閉症と深くむすびついている事も示されています。

私は新皮質の回路構造規則性を見つけることが，この分野に大きく貢献するのではないかと考えて，皮質回路構造を，形態的手法を主体に解析してきました。上のような重要な機能をするパルブアルブミン細胞にはどのような結合規則性があるのでしょうか。これらの細胞は一見ランダムな回路結合を作っているように見えますが，最近，私たちは少しだけ法則性を見つけたので，それを紹介したいです。

（3）脳研究および大学における生理学の動向

蔵田　潔（弘前大学）

システム脳科学の今後を語るにあたり，本研究会の目的とするところとは方向性がやや異なることは承知しているが，この機会に大学における生理学教室の動向と特に若手の今後のキャリアパスを含めて言及したい。

Evarts によって 1960 年代初頭に開発された行動下における生体脳からのニューロン活動記録法を用いた数多くの研究によって，脳のほぼ全領域の機能の多くが明らかにされてきた。当初は１本での電極によって記録されてきた個々のニューロン活動の行動との関連性は，最近ではイメージングや 108 本もの電極によって多数の大脳皮質領域からのニューロン活動同時記録，さらに光遺伝学的手法の導入によって領域間の情報連絡が解明されつつある。

しかしながら，これらの方法をもってしても脳という超複雑システムの全貌を明らかにするには十分とはいえない。これを解明するためには全く新しい脳機能計測法の開発が必須であろう。一例として，最新の素粒子理論を背景にするなどした脳内微細局所のイオン流計測や，近年大いに話題になっている腸内細菌の発生する物質と脳をはじめとする全身臓器との相互関連性を細胞レベルでリアルタイムイメージングするなど，日本の有する技術による世界に先駆けたイノヴェーションが必要と思われる。

一方で，特にシステム脳科学を研究する場は，生理研や理研などの研究所を除けば，大学の医学部にほぼ限定されているといえよう。その中でも，これまで生理学教室の果たしてきた役割は極めて大きいといえるが，特に地方大学においては生理学教室の存続そのものが脅かされていると言っても過言ではない。国立大学では法人化前にあっては教室と人員の配置が定まっていたが，法人化後にはそのような枠が撤廃された一方，定員削減が進み，基礎のみならず臨床の教室でも人員不足に悩まされている。そのため，従来２つあった生理学教室が１つに統合されてきたのみならず，教員の定員獲得を念頭に，学生への生理学講義は内科など臨床科が行えばよいとする臨床科からの意見も根強い。

今後，ますますこのような方向性は強まると思われる。それに対抗する方策は，生理学を志す者がどのようなアイデンティティーを示せるかにかかっている。アイデンティティーとは研究実績のみならず，人体の生理学における幅広い視野から，如何に医学に貢献できるかを示すかにかかっているといえよう。

（4）線条体アセチルコリン神経伝達による行動柔軟性のコントロール

小林和人（福島県立医科大学）

環境変化に対応して行動を柔軟に切り替える機能は，前頭前野皮質と線条体を連関する神経回路が重要な役割を持つ。行動柔軟性の障害は，統合失調症や注意欠陥/多動性障害などの精神神経疾患の病態と関係する。線条体に局在するコリン作動性介在ニューロンは，報酬予測，注意，認知に関係した刺激に応答し，行動を切り替える際，線条体のアセチルコリン放出が増加することが知られている。これまで行動薬理学的な手法を用いて，行動柔軟性のひとつの課題である逆転学習について解析されたが，アセチルコリン受容体に対する薬物の量依存性や特異性の問題からコリン作動性細胞の機能については十分検討が進んでいない。

われわれは，細胞標的法を用いて遺伝子改変ラットにおける線条体コリン作動性介在ニューロンの選択的除去を行うとともに，ムスカリニック受容体サブタイプに対する遺伝子ノックダウンを行うことによって，行動柔軟性の制御に線条体アセチルコリン伝達が担う役割について解析した。コリン作動性ニューロンにおいて組換え体イムノトキシンの受容体を発現する遺伝子改変ラットを利用して，コリン作動性ニューロンを標的化した。コリン作動性ニューロンを欠損するラットは，空間認識に基づく逆転学習課題のテストにおいて，コントロールラットと同様に初期の学習を正常に獲得したが，逆転学習フェーズにおいてコントロールよりもより迅速に行動を切り替えることが判明した。逆転学習の初期に認められる固執性の誤反応には影響せず，学習の中期に認められる退行性の誤反応が減少することが特徴的であった。このラットは，消去学習も亢進していることが明らかとなり，少なくとも消去学習の亢進が逆転学習の増強に結びついている可能性がある。次に，行動柔軟性を媒介する線条体に存在するムスカリン性アセチルコリン受容体を同定するために，ポストシナプスに局在することの知られている M1 と M4 受容体について，それぞれの遺伝子ノックダウンにより逆転学習に与える影響を解析した。M1 と M4 受容体 mRNA の発現を選択的に抑制する single hairpin RNA (shRNA) をコードするレンチウイルスベクターをラットの線条体に注入し，空間認識に基づく逆転学習のテストを行った。M4 shRNA ベクターを注入した場合にのみ，コントロールに比較して，有意に逆転学習のパフォーマンスが向上し，コリン細胞を欠損するラットの行動と非常に類似したパターンを示した．これらの結果から，線条体アセチルコリン伝達による行動柔軟性は，主に M4 受容体によって媒介されていることが示唆された。

以上の研究から，DMS コリン作動性介在ニューロンは，行動の切り替えに抑制的な役割を持ち，この作用はムスカリン性 M4 受容体によって主要に媒介されていることが明らかとなった。行動柔軟性は，前頭前野皮質と線条体を結ぶ神経回路が重要であり，線条体のアセチルコリン伝達はこの回路における情報処理に働きかけることによって，環境要因の変化に対する行動の切り替えを調節しているものと推測される。

（5）小脳の区画構造と機能局在の神経回路基盤

杉原　泉（東京医科歯科大学）

小脳は横に伸びる多数の襞構造によって前から後へ第 I〜X の 10 小葉に区分される。それに対して，外見上からは認めにくい区画構造として，分子発現パタンによって区分される縞模様状も小脳皮質には存在する。例えば，アルドラーゼ C という酵素分子を発現する，あるいは発現しないプルキンエ細胞は左右それぞれ 20 本ほどの縦縞状の区画内に別々に分布している。小葉構造と分子発現縦縞構造という縦横に交差する構造で小脳皮質は多くの区画に区分される。

小脳入力線維（主として登上線維と苔状線維）と出力線維（プルキンエ細胞と小脳核ニューロン）の投射様式は小脳の区画構造に密接に関係し，その関係によって小

脳に機能局在が形成されると考えられる。われわれは，主として齧歯類を用いて，入出力投射軸索の投射パタンを単一軸索のレベルで解析することで，小脳の区画構造と小脳機能局在との関連を考察してきた。

登上線維軸索とプルキンエ細胞の投射パタンは，小脳縦縞構造に正確に従っているが，小葉間での登上線維軸索の枝分かれ投射とプルキンエ細胞の収束性投射のパタンは，小葉間での機能的類似性をも反映している。齧歯類の第 I 脚と呼ばれる半球部の小葉は，ほとんどがアルドラーゼ C 陽性の縦縞によって占められる特異な小葉である。登上線維軸索とプルキンエ細胞の投射パタンから，齧歯類の第 I 脚は，ヒトで巨大化して非運動機能に関連しているとされる第 I 脚・第 II 脚の両小葉と相同であると考えられた。齧歯類において小脳非運動機能の解析が可能になると期待される。

われわれは，種類の豊富な苔状線維軸索，そして小脳核ニューロン軸索にも焦点をあてて解析を継続している。脊髄に由来する苔状線維軸索は，従来背側脊髄小脳路と腹側脊髄小脳路に分類されるが，さらに細かく，起始細胞の種類ごとに特有の投射パタンが見られた。仙髄灰白質にある Stilling 核は尾の深部感覚に応答するが，ここからの苔状線維投射は，第 VIII 小葉正中部縦縞に集中していた。第 VIII 小葉正中部縦縞領域には，尾の深部感覚応答が存在し，その微少破壊は，ロタロッドテストの点数を有意に低下させた。この部分が尾の感覚情報を利用して協調運動制御に関与する領域であることが示唆された。

発表の中では，企画の趣旨をふまえて，これまでの研究の上での苦労と工夫，個人的感想，そして，指導者と共同研究者への感謝も交えてお話したいと思う。

（6）ニューオリンズのカフェにて

関　和彦（国立精神・神経医療研究センター）

誰でもそうだと思うが，自分が行った実験や書いた論文のそれぞれには多少なりともこだわりがある。このような，研究に対するこだわりは研究者自身から創発される内発的で一貫した現象のように見える。しかし，私自身について考えてみると，そうとは言いがたい。その時々における，自分を取り巻く空気，時代（年齢），ヒト，場所などに影響を受けてその時々のこだわりが形成されていたように思う。したがって，環境が変わればこだわりも変わり，一貫性に乏しい。時には真逆のこだわりを持っていたことに驚くこともある。ただ，研究者としての私自身の building block な何かと聞かれれば，このような時には相反するこだわりの数々とそれらの相互作用の結果，という答えになろう。

今回の講演では，数少ない著作や研究成果のいくつかと，それにまつわるこだわり，そしてそのこだわりが形成された背景，影響を受けた事象について紹介したい。そして，それらが現在の自分や自分の研究にとって，どのような意味を持っているのかにつき，レトロスペクティブな考察を試みる。このような試みに何らかの生産性があるのか（ないのか）は聴衆の判断に委ねたい。

（7）神経回路研究の変遷と今後の霊長類研究

高田昌彦（京都大学 霊長類研究所）

私が神経解剖学の大学院に入学し，神経回路研究をスタートした 1982 年当時は，1960 年代からおこなわれてきた鍍銀変性法やオートラジオグラフィー法から，より感度が高く解析が容易である HRP（horseradish peroxidase）法が登場，普及し始めた頃であった。免疫組織化学やハイブリダイゼーションなど，伝達物質や機能分子に関わる研究が我が国ではまだほとんど一般的ではなかった。私たちの研究室では，HRP に小麦胚芽凝集素である WGA（wheat-germ agglutinin）を conjugate した WGA-HRP を独自に作製し，強力な順行性トレーサーとして利用し

ていた。1984 年末にカナダ・トロント大学に留学したが，留学先の研究室は蛍光色素のメッカであった。蛍光色素といっても現在のように「多重蛍光染色のための tool」として使用していたわけではなく，蛍光色素そのものを逆行性トレーサーして，特に軸索側枝を介して複数の脳領域に投射する単一ニューロンの同定に利用していた。True Blue，Fast Blue，Diamidino Yellow，Rhodamine など標識部位や励起波長の異なるさまざまな色素が用いられていたが, 特に Fluoro-Gold は溶液になるため注入や標識が安定するだけでなく，電荷を持つので電気泳動で微量注入できるという利点がある。Fluoro-Gold を使用した最初の論文は，実は私の論文であった。さらに，PHA-L，BDA，choleratoxin などの順行性・逆行性トレーサーが登場し，私自身も用途に合わせて使い分けていた。また，実験動物については，大学院時代はネコを，海外（カナダ，アメリカ）ではラットやマウスを，そして日本に帰国後，生理研での南部先生，稲瀬先生，故徳野先生との共同研究においてサルを用いることになる。特にサルでは，電気生理学的に同定した複数の大脳皮質運動関連領野に WGA-HRP と BDA を注入し，大脳基底核（線条体および視床下核）における順行性ラベルの分布パターンを詳細に解析することにより，皮質線条体投射における運動情報処理様式を明らかにした。その後，東京都神経研に異動した後に霊長類専用の感染実験施設を立ち上げた。それには２つの理由がある。ひとつは，従来の単シナプス性トレーサーではなくシナプスを超えて多シナプス性の神経回路をラベルできる狂犬病ウイルスを使用するためである。狂犬病ウイルスを用いて大脳皮質－大脳基底核・小脳ループをはじめ，大脳皮質を巡るさまざまな神経回路の構築を解析しており，最近は異なる蛍光色素を発現する狂犬病ウイルスベクターの開発にも成功した。もうひとつは，げっ歯類と同様に，霊長類，特に大型のマカクザルで遺伝子改変モデルを作出するためである。神経研の岡戸先生，福島医大の小林先生，日本医大の島田先生などに相談し，ウイルスベクターの脳内注入による外来遺伝子の導入技術を確立することができたが，ここでもキーワードは「神経回路」で，特定の神経路に選択的に遺伝子操作をおこなうことに成功し，高次脳機能の解明や精神・神経疾患モデルの開発を目指した研究を日々進めている。本セミナーでは，以上のような神経回路研究の変遷についてお話しするとともに，今後の霊長類研究の展望についても言及したい。

（8）眼球運動と高次機能

田中真樹（北海道大学）

覚醒動物を用いたシステム神経生理学研究の大きな魅力は，ニューロンレベルの脳情報を目の当たりにできることにある。行動課題を工夫することで，サルが今まさに動き始めようとしていること，何かに注意を向けていること，内的にリズムを刻んでいることなど，ニューロン活動を通じて時にオンラインで知ることができる。そこに確かに情報があることを肌で感じ，その操作によってサルの意思を変化させることができれば，自分自身もまったく同じ原理で制御されているに違いないと確信することができる。こうした魅力にとりつかれて研究を始めて 20 年余りが過ぎ, 後進にその魅力を伝える責任を多少なりとも意識するようになってきた。

これまで眼球運動を指標として，前頭葉皮質から始めて視床，基底核，小脳の信号を探ってきた。今回はそのいくつかを紹介し, 皮質-皮質下ループによる時間知覚や注意，行動選択といった高次機能の制御機構について考える。また今後，覚醒サルを用いた研究にどのような可能性がありうるのか議論したい。

（9）脳活動の非侵襲的操作と大規模計測を組み合わせた行動システム脳科学の新たな展開

筒井健一郎（東北大学）

行動システム脳科学の趨勢は，分子生物学を応用した光遺伝学や化学遺伝学の導入により，従来の神経活動の計測を主とした相関的研究から，特定の神経細胞群や神経回路を操作する因果的研究に，大きくシフトしつつある。そのような背景のもと，われわれは最近，脳活動の非侵襲的操作法としての経頭蓋磁気刺激（transcranial magnetic stimulation; TMS）のポテンシャルに注目し，さらに PET/fMRI や ECoG などの大規模脳計測と組み合わせることによって，行動システム脳科学の新たな展開を模索している。

高次脳機能の中枢たる前頭連合野は，注意・認知機能の上位中枢であるばかりでなく，これらの機能と情動・欲求との仲立ちを行うことによって，行動の統御を行っている。人生の大きな目標に向かって嫌なことを我慢して努力するなどということは，前頭連合野による高度な行動制御を必要とする。また，うつ病のために気分が塞ぐだけでなく，何事にも消極的な判断しかできなくなり，日常生活に支障をきたすようになるのは，前頭連合野の機能低下によるものであると考えられる。これまで，高次脳機能の研究では，もっぱら注意・認知機能の解明に重点が置かれてきたが，われわれは，情動・欲求の制御という観点から前頭連合野の機能を調べている。前頭連合野の特定部位の神経活動を，rTMS を用いて操作した結果，行動にどのようなバイアスがかかるのかを，自然観察や種々の行動プローブを使って調べている途上である。そのような局所的な脳活動の変化が，全脳のネットワークの活動バランスにどのような変化をもたらすのかを，PET/fMRI や ECoG の計測を通じて明らかにしていきたいと考えている。

これまでの成果としては，以下のようなものが得られている。rTMS のベンチマークテストとして，遅延反応課題を遂行中のサルの，前頭連合野，運動前野，下頭頂皮質をそれぞれ抑制する実験を行い，前頭連合野においては，先行の破壊実験を再現する結果が得られたのに加えて，運動前野，下頭頂皮質との機能の対比を，同一個体・同一課題で行うことができた。これは，動物実験のツールとしての TMS の高い有効性を示すものであるとともに，注意・作業記憶にかかわる大脳皮質ネットワーク機能のさらなる解明に道を開くものであった。今後は，同課題を用いて，TMS と PET/fMRI や ECoG の同時計測を行う予定である。また，内側前頭葉皮質に対して，数日間の抑制操作を行っただけで，１か月以上の長期間にわたってサルが抑うつ状態になることを発見した。今後の研究の展開によって，うつ病の機序の解明につながるのではないかと期待している。

（10）物質と脳

中村加枝（関西医科大学）

脳の研究と他の生物学―例えば癌の研究―との違いは，研究の目標が細胞組織などの物体ではなく，形として見ることができない精神や運動機能であるということだと思います。したがって，神経科学の研究の中でも最終出入力に近い部分―すなわち，精神や行動に直結する回路を調べるシステム神経科学は，脳の研究をユニークな存在としていると思います。システム神経科学の醍醐味は一見科学研究の対象に到底のりそうもない漠然とした心の働きを，数理モデルにさえできる形にしてしまう可能性があることだと思います。現在はげっ歯類の光技術などを駆使した研究に推され気味ですが，霊長類の神経生理実験はデータの正確さの点で他に勝っており，脳のシステム的理解に大きく寄与し続けています。

私は，小学生の時から脳に興味があって，大学でも神経生理の授業が楽しみでした。さらに，臨床で 6 年働き，貴重な体験をしました。集中治療室では，血中酸素濃度などデータ上変化が気づかれる前に患者さんの話しぶり，つまり認知機能に変化があることを何度も経験しました。

精神科では，抗うつ剤投与により一人の人が「別人」になる過程を何度も見ました。つまり，我々の一見漠然とした行動や考え方などが確かに（そして，しょせん）物質（血中のストレスホルモン？や神経伝達物質）によって制御されているのだということを実感しました。

そのようなわけで，現在私は，ラボのメンバーとともに，ストレス下での行動変化のメカニズムと，報酬や嫌悪情報処理に関与するセロトニン細胞が多くある背側縫線核における情報処理について明らかにしようとしています。まだ始まったばかりですが，その成果の一部を紹介したいと思います。

（11）システム神経科学がめざすもの

南部　篤（生理学研究所）

私が神経生理学の分野に足を踏み入れた３０年前は，麻酔下のネコから神経活動を記録する急性実験が主流である一方，覚醒下行動中のサルから神経活動を記録する慢性実験も行われていた。これらによって脳内の基本的な配線図や，脳の各領域がどのような情報を表現しているのかについて，多くのことがわかった。その後，スライス実験などによる局所神経回路の研究，分子生物学的方法, とくに遺伝子改変マウスによる実験などが隆盛し，脳の各領域の微細な情報処理機構，あるいはその物質的基盤について，多くの知見が蓄積されてきた。これからの神経科学の目指す方向のひとつは，詳細にわかった各領域の神経回路をもとに，脳全体として情報がどのように生成・伝達・処理され，例えば行動に結びつくのかという，情報の流れについての研究ではないかと思う。その戦略について考えてみたい。

１，最近発展してきた光遺伝学やウイルスベクターを用いた遺伝子導入などによるニューロン選択的，経路選択的な介入，例えば，あるニューロンや経路のみを活性化・不活性化したり，あるいは除去する方法が，強力な研究手段となるであろう。一方，電気刺激や（神経活動を記録しながらの）局所薬物注入による活性化・不活性化などの古典的方法も，場合によってはそれ以上に有効である。

２，記録するものとしては，S/N 比が大きい，解釈に仮定が少ないなどから，依然として活動電位（ユニット記録）が優位と思う。多点同時記録（マルチユニット），光計測（できれば活動電位，Na 濃度が計測できれば理想的）も有望である。一方，脳深部の LFP は由来が不明である。また，ニューロン活動記録は，活性化・不活性化実験を評価する上においても重要である。

３，記録しているニューロンが入力に近いのか出力に近いのか，投射ニューロンか介在ニューロンかで，解釈が変わってくるので，どのようなニューロンから記録しているのか同定することが重要である。そのために，電気刺激による順行性・逆行性応答などの古典的な方法に加え，光遺伝学的手法によるラベリングなど分子生物学的手法が有望である。

４，脳のシステムが破綻した状態，即ち疾患モデルから神経活動を記録し，その病態生理を探ることは，疾患の病態理解，治療法開発という医学的・社会的要請であると同時に，正常な機能を深く知る上においても重要なアプローチでもある。また，ヒト患者からの直接記録も貴重な機会である。

５，神経解剖学者，数理神経科学者との共同研究も得るところが多い。

６，実験動物としてマカクサルに加え，遺伝子改変モデルが使えるげっ歯類やマーモセットも積極的に使うべきである。

（12）いちめんなのはな

藤山文乃（同志社大学）

他の先生がたのお話はとても伺ってみたいけれど，私のは･･･ 誰が聞いてくださるのだろう？　いつもの研究会以上にその思いが強い今回。でもやはり他の先生がたのお話を伺えるこの会はとても楽しみです。

小岱山と有明海にかこまれた田舎町で育ちました。屈託の多い無口な子供だったのでただただ時がすぎていくのをじっと待っているような日々でした。お題にいただいた研究生活を支える人生と哲学。何が自分を支えているのかを考えてみると，情熱や信念というよりは，自分のなかに茫洋とした時間の記憶があって，いつでもその静けさのなかにもぐりこめる，研究を含め日々のあれこれは，それがあるからこそどうにか続いているのではないかという気がします。この人でなければ，というほどの才能もなく，自分がしたいことをさせていただいているに過ぎません。そのわがままを支えてくれる同僚を含め身近な人たちに「いつも苦労かけるねえ」と声にはださず思っています。

女性研究者として，とよく聞かれます。あるべき一つの姿などあるはずもなく，女性たちはそれでも手探りで自分なりのエールを贈りあっているのではないでしょうか。男性になってみたことがないのでそのつらさも喜びも想像するしかありませんが，男性であれ女性であれ若い人には，理不尽なことや失礼なことに出会ったとしても潰れないでほしいと思います。あらゆる可能性を不本意に手放すことはしないでほしい。ここは確かにお花畑ではないのでしょうが，獣道がつかないほどの沼地でもないはずです。これまで自分が多くの人たちに救われたことがあるように，いつか私もそんなふうにできるようにと思っています。

分かれ道や選択肢はあったようでなかったのかもしれません。後悔していることもあきらめたものももちろんたくさんあります。戻ってみたい瞬間はありますが，先がわからなかったからこそ乗り越えられたこともあっただろうと思うと，やり直す勇気はもてません。それでも今研究室にいて彼らや彼女たちと研究できる贅沢と責任に身の引き締まる思いです。　がんばります。

ところでこれは抄録なのでしょうか。Take-home Message が何もないので，好きな詩の一行をタイトルにしました。山村暮鳥の「風景　純銀もざいく」です。

８．大脳皮質の機能原理を探る

2015 年 12 月 3 日－12 月 4 日

代表・世話人：宋　文杰（熊本大学大学院生命科学研究部）
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）大脳皮質領域間をつなぐ長距離投射細胞の膜電位ダイナミクス
山下貴之（名古屋大学環境医学研究所）

（２）多点同時記録法を用いた海馬体の神経回路解析
水関健司（大阪市立大学大学院医学研究科）

（３）アナンダミドにより誘発される島皮質神経ネットワーク振動と味覚－摂食機能連関
姜　英男（大阪大学大学院歯学研究科）

（４）行動選択の背景に存在する背側線条体投射ニューロンの PKA,ERK 応答
船曳和雄（先端医療センター研究所）

（５）音声スキル獲得・制御の神経回路機構
渡邉　大（京都大学大学院医学研究科）

【参加者名】

宋　文杰（熊本大学医学部），船曳和雄（先端医療センター研究所），水関健司（大阪市立大学大学院医学研究科），姜　英男（大阪大学大学院歯学研究科），藤山文乃，苅部冬紀，中野泰岳（同志社大学脳科学研究科），渡邉　大，古田貴寛，日置寛之，中村公一，孫　在隣，柴田憲一，黄　晶媛（京都大学大学院医学研究科），坪泰宏（立命館大学情報理工学部），山下貴之（名古屋大学環境医学研究所），薗村貴弘（金沢医科大学医学部），礒村宜和（玉川大学脳科学研究所），小島久幸（東京医科歯科大学医歯学総合研究科），田中琢真（東京工業大学総合理工学研究科），山下晶子（日本大学医学部），林　康紀（理化学研究所脳科学総合研究センター），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），吉村由美子，石川理子，宮下俊雄，木村梨絵，西尾奈々，近藤将史，山田彬博，川口泰雄，窪田芳之，大塚　岳，森島美絵子，畠中由美子（生理学研究所）

【概要】

「大脳皮質の機能原理を探る」第 1 回は，12 月 3 日から 4 日にかけて行われました。初日にまず，名古屋大学の山下貴之先生が，第一次体性感覚野から二次体性感覚野と一次運動野へ投射する第 2/3 層の細胞は異なることを示し，ヒゲ刺激と水報酬の連合学習において，一次体性感覚野から運動野への経路に変化を認めないが，二次体性感覚野への経路に可塑的変化が起きることを示されました。続いて，大阪市立大学の水関健司先生がシータオシレーション中の CA1 細胞の活動タイミングは, 海馬内の局所回路で規定されることを示しました。また，海馬や内嗅領皮質活動の多くの特徴量の分布は対数正規分布に従うことを示し，脳における一般法則として提案されました。最後に，大阪大学の姜英男先生が，島皮質味覚野と自律神経領野の間に，神経オシレーションにより持続的な活動伝搬を起こすという新たな活動伝搬原理を示されました。二日には，まず，先端医療センターの船曳和雄先生が，D1-Cre または D2-Cre マウスと，lox-PKA-FRET または lox-ERK-FRET マウスとクロスさせ，メーティング行動中の線条体直接路細胞と間接路細胞における PKA 活性と ERK 活性の変化を独自に開発した顕微内視鏡によって見事に示し，今後の発展が大いに期待される発表となりました。最後に，京都大学の渡邉大先生が言語による文化継承の仕組みの理解との大局的な観点から鳴禽類のさえずり研究を位置づけ, HVC 野の活動がさえずりの文法を表現していることを示されました。

発表の途中から討論が活発に行われ，両日とも予定より 1 時間も時間を延長せざるを得ませんでした。特に若

手の研究者から多くの質問が出て，初めて参加した人から，質問しやすい感想が寄せられました。最後に，講演者の先生方と，研究会の世話をした生理研川口研究室の皆さまに感謝申し上げます。

（1）大脳皮質領域間をつなぐ長距離投射細胞の膜電位ダイナミクス

山下貴之（名古屋大学環境医学研究所）

大脳皮質領域間の情報伝達は，脳の知覚・認知機能の中核を担うと考えられているが，その基本原理は確立されていない。その一因として，異なる大脳皮質領域に情報を伝達する長距離投射細胞の生理学的特質が明らかでないことが挙げられる。そこで，私たちは，マウスの一次体性感覚野バレル領域第 2･3 層から一次運動野に投射する細胞（M1-p）と二次体性感覚野に投射する細胞(S2-p)に着目し，それら細胞群の覚醒行動中の膜電位活動を詳細に記録・解析してきた。これまでに，M1-p と S2-p は有意に異なる膜興奮特性を有する独立した細胞群であり，異なる性質のシナプス入力を受けるために時間経過の異なる感覚応答を示すことなどを明らかにしてきた（Yamashita et al., Neuron, 2013）。さらに，これら細胞群の感覚応答特性の学習による変容を検討するため，マウスにひげ刺激と水報酬を連合させる条件付け課題を学習させ，学習前後の M1-p および S2-p の膜電位を記録した。課題成功時の条件刺激応答は，M1-p においては，学習前後で，持続性から一過性へと変化したが，S2-p においては逆に一過性から持続性へと変化し，課題遂行行動中に脱分極と発火頻度上昇が発現した。また，S2-p においてのみ，学習後に，自発的なリッキング運動と相関する脱分極および発火が見られた。これらのことから，課題学習に伴い，運動表象が一次感覚野の特異的な投射細胞に現れ，課題遂行時の皮質領域間情報伝達を経路選択的に強化することが示唆された。

（2）多点同時記録法を用いた海馬体の神経回路解析

水関健司（大阪市立大学大学院医学研究科）

海馬体神経回路で情報がどのように処理・伝達されるかを調べるため，場所課題遂行中のラットの海馬と内嗅領皮質の様々な領域から１００個程度の神経細胞の発火と脳波を同時記録した。その結果，シータオシレーション中には，海馬体の各領域の正確な発火のタイミングは上流からの入力ではなく主に領域内の局所回路によって制御されており，各領域が情報処理の独立性を確保していることが示唆された。

海馬 CA1 錐体細胞は一般には均一な細胞集団とみなされている。しかし我々は，浅層と深層の錐体細胞は発火頻度・バースト・様々なオシレーションに対する相関が異なり，CA1 細胞層は機能的に異なる副層を形成していることを見出した。近年，浅層と深層の CA1 錐体細胞は PV 陽性細胞とのシナプス結合や CA2 錐体細胞から受ける入力の大きさが異なることが示されており，我々の結果と合わせて，海馬には複数の情報処理経路が存在する可能性を示唆している。

さらに海馬と内嗅領皮質の発火頻度・同期性・スパイク伝達効率などは対数正規分布に従い，脳状態や記憶課題の種類に関わらず高頻度で発火するごく一部の神経細胞が常に情報の大部分をコードしていることを見出した。近年，大脳皮質でも発火頻度・シナプス伝達効率は傾斜した分布を示すことが明らかになりつつあり，脳の様々なパラメーターの傾斜分布が情報処理の基盤となっている可能性を示唆している。

（3）アナンダミドにより誘発される島皮質神経ネットワーク振動と味覚－摂食機能連関

姜　英男（大阪大学大学院歯学研究科）

ラットの味覚認知は，異顆粒島皮質においてなされ，その尾側に隣接する顆粒島皮質は内臓（胃腸，呼吸器，心臓）の感覚運動を統合する自律神経領野である。我々はラットスライス標本を用いて，味覚野においても機能カラムが存在することを示し，また，TRPV1 受容体の活性化により，島皮質味覚野と内臓自律神経領野間にシータリズムの周期的同期化現象が見られ，それがカプサイシンを含むスパイシーな食品を摂取した時に生じる自律神経反応を担う可能性があることをこれまで報告した。カンナビノイド受容体(CB1)のアゴニストであるアナンダミド（AEA）は空腹時にその産生が促進され，その結果，摂食行動が促進される。一方，味覚野における旨みや甘味の認知は胃腸自律領野で生じる空腹感を増強することが知られている。そこで，我々は，AEA が味覚野にどのような影響を与え，また，胃腸自律領野にどのような影響を与えるかを膜電位測光法により調べた。その結果，AEA は味覚野において 5 Hz の周期的同期化活動を引き起こし，その個々の興奮波は胃腸自律領野に伝播することが明らかになった。味覚野と胃腸自律領野間の神経活動のこうした協調は，味覚認知によりもたらされる情動的な摂食行動を誘発する高次脳機構の一つであると考えられる。

（4）行動選択の背景に存在する背側線条体投射ニューロンの PKA,ERK 応答

船曳和雄（先端医療センター研究所）

我々は，大脳基底核など脳深部神経回路の in vivo imaging を実現するために顕微内視鏡システムを開発し，自由行動中のマウスから脳深部神経回路の細胞レベルの in vivo imaging 観察法を確立した。さらに，Cre-lox system を用いて，線条体の直接路及び間接路投射ニューロン（dMSN, iMSN）それぞれに PKA あるいは ERK の活性をモニターできる FRET バイオセンサー（Kamioka et al,2012）を発現させたマウスを作製し，これらマウスの背側線条体に上記顕微内視鏡を留置して様々な行動パラダイム（コカイン投与，電気ショック，オスマウスの mating 行動）での dMSN, iMSN の PKA,ERK 応答を観察した。結果，dMSN, iMSN におけるコカイン投与などの報酬入力，電気ショックなどの忌避入力に対する，逆方向の PKA,ERK 応答の in vivo での詳細な時間経過を明らかにし，さらにこれら dMSN,iMSN の PKA,ERK 応答はより自然な行動選択の場面（具体的にはオスの mating 行動)において日常的にダイナミックに起こっていることを明らかにした（Goto et al., PNAS, 2015)。

（5）音声スキル獲得・制御の神経回路機構

渡邉　大（京都大学大学院医学研究科）

スズメ亜目の鳥類（ソングバード）は，ヒトと同様に音声コミュニケーションの能力を模倣により学習し子孫へ継承する。これらの鳥類の音声制御系が哺乳類の大脳-基底核-視床ループと類似の構造を有することから，ソングバードを対象に研究することで，ヒトにも共通する社会的な学習による音声スキルの獲得・制御の神経回路基盤が明らかになると期待されている。ヒトと同様に複雑な配列規則（文法）に基づいて音声パターンを識別できるか行動学的に解析したところ，ジュウシマツにも従来ヒトのみに可能と考えられていた文脈自由文法に分類される配列規則により音声を識別する能力があることが明らかとなった。さらに脳が文法規則をどのように扱うか

明らかにするために，発声中のジュウシマツ個体から単一細胞の精度で神経活動計測を行ったところ，前運動皮質領域 HVC から基底核への投射神経細胞のバースト発火が文法情報をコードしていることを明らかにした。また発達期の音声学習には，聴覚情報のみならず社会的接触も重要な役割を果たす。社会的接触による学習促進機構を明らかにするために，ソングバードでの分子遺伝学的な実験手法を確立し，行動学的な解析を進めていることを報告した。

９．コミュニケーションを可能にする神経機構の解明

2015 年 11 月 12 日－11 月 13 日

代表・世話人：高橋英彦（京都大学大学院 医学研究科）

所内対応者：定藤規弘（大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門）

（１）コミュニケーションを促進する神経オシレーションの位相協調

水原啓暁（京都大学大学院情報学研究科）

（２）身体同調と潜在的なコミュニケーション

渡邊克巳（早稲田大学理工学術院基幹理工学部表現工学科）

（３）ハイパースキャンによる二人称視点脳機能イメージング研究：共同注意を始まりとして

田邊宏樹（名古屋大学環境学研究科心理学講座 ）

（４）他者とのインタラクションに関与する神経基盤の同定

阿部匡樹（北海道大学大学院教育学研究院）

（５）ニューラルダイナミクスと母子間コミュニケーションのモデル化

浅田　稔（大阪大学大学院工学研究科）

【参加者名】

浅田　稔（大阪大学大学院），阿部修士（京都大学こころの未来研究センター），阿部匡樹（北海道大学大学院），有本庸浩（大阪大学），飯高哲也（名古屋大学），井出野尚（慶應義塾大学），井手康行（TBS テレビ），糸魚川幸宏（ウィズダム・インク），梶村昇吾（京都大学），加藤正晴（同志社大学），菊水健史（麻布大学），北地雄（首都大学東京），北城圭一（理化学研究所），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），櫻井芳生（鹿児島大学），佐藤由紀（玉川大学），佐藤洋平（畿央大学大学院），宍戸恵美子（名古屋大学），芝井　厚（大阪大学），田浦秀幸（立命館大学），高橋英彦（京都大学大学院），田中友香理（京都大学），田中章浩（東京女子大学），田邊宏樹（名古屋大学大学院），玉利祐樹（東京大学医学部附属病院），富永仁志（京都大学），永澤美保（自治医科大学），中村太戯留（慶應義塾大学），花川　隆（国立精神・神経医療研究センター ），早瀬允人（京都大学），保屋野健悟（福井医療短期大学），前岡　浩（畿央大学），松田哲也（玉川大学脳科学研究所），水原啓暁（京都大学大学院），山田真希子（国立研究開発法人放射線医学総合研究所），吉岡　歩（名古屋大学），渡邊克巳（早稲田大学），青木直哉（生理学研究所），伊藤嘉邦（生理学研究所），岡崎俊太郎（生理学研究所），柿木隆介（生理学研究所），笠井千勢（生理学研究所），北田　亮（生理学研究所），小池耕彦（生理学研究所），小山総市朗（生理学研究所），定藤規弘（生理学研究所），菅原　翔（生理学研究所），角谷基文（生理学研究所），高橋陽香（生理学研究所），中川恵理（生理学研究所），西尾奈々（生理学研究所），濱野友希（生理学研究所），原田宗子（生理学研究所），福永雅喜（生理学研究所），山崎英明（生理学研究所），吉本隆明（生理学研究所）

【概要】

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。毎年多くの若手研究者からシニアの研究者までが参加しており，ヒトに限らず動物の社会的行動の神経科学的理解のための学際的融合分野の創成や若手研究者の育成・奨励という研究会の当初の目的は概ね達成できたと考えられる。昨年度までは岡崎カンファレンスセンターを利用し，100-200 名程度の規模の参加者であったが，実績のある研究者同士の間のディスカッションを図るため，これまでより小規模に，生理研内のセミナー室で開催した。それに伴いポスターセッションも行わなかった。結果として５６名の参加者があった。初日，最初の演題が京都大学水原先生からのコミュニケーションには階層的なリズムの同調が重要であり，その基盤に神経オシレーションの位相協調が関与し

ている可能性が提示された。二演題目は早稲田大学の渡邊先生より身体同調が潜在的なコミュニケーションにかかわっていることを，精緻なラボ内の実験に加え，あらたなセンシング技術を使ってフィールドで実証するという新たな方向性が示された。２日目の名古屋大学の田邊先生，北海道大学の阿部先生からは生理研の２台のＭＲＩをつなぐハイパースキャンを使った共同注視や共同行為に関する発表があった。以前ならオフラインでないと実施しにくい課題も様々な制約にもかかわらず，かなり実践されてきているという印象を持った。最後は大阪大学の浅田先生からニューラルダイナミクスと母子間コミュニケーションのモデル化というテーマで講演いただいた。母子間で母の表情が静止してしまう課題を用いて母子間の関係性についてネットワークの状態（安定，不安定）の視点から論じていただいた。小規模の会にしたことや，討論の時間を十分に設けたことで，指定討論者のみならずフロアも交え白熱した議論が展開された。

（1）コミュニケーションを促進する神経オシレーションの位相協調

水原啓暁（京都大学大学院情報学研究科）

単一脳内の皮質間のネットワークをダイナミックに切り替える神経基盤として，脳波などにみられる神経オシレーションの協調が着目され，多くの研究がなされてきている。我々は，この神経オシレーションの協調が脳内の皮質間のコミュニケーションのみならず，脳と脳の間のコミュニケーションにも統一的な神経基盤として考えている。

講演では，我々の実施した音声コミュニケーションにおける神経オシレーションの位相協調に関する研究結果を紹介することで，コミュニケーションを促進する神経基盤について考察する。

（2）身体同調と潜在的なコミュニケーション

渡邊克巳（早稲田大学理工学術院基幹理工学部表現工学科）

近年，社会的状況における身体同期・生理反応の同期の研究が活発になってきている。この背景には，社会的（と想定されている）現象を，その結果（例えば，当事者の主観的報告やその後の認知や行動の変化など）の平均値としてだけではなく，「イマココ」で起きている on-going の現象として捉えたいという研究者の気持ちが反映されている。加えて，主観性と客観性の枠を超えるための概念装置として，主に哲学などの分野で語られて来た「間主観性」を科学の俎上に載せる試みとして一面も持っていると言えるだろう。

同調現象や共感，社会性を研究するのが難しい（かつ楽しい）のは，他の心的過程と同様に，そのほとんどの過程が，いろいろな意味で無意識的に起きているからであろう。態度や高次機能による影響はあるものの，その過程を意図的に操作することは難しい。それにも関わらず，人間の社会性を媒介する情報は，個体間で創発され，私達の認知や行動，体験を変化させている。このような社会的シグナルは，どのようなものであれ個体の表層に「表現」され，伝わらなければならない。

この点を強調し，人間や情報システムの表層にありつつも気づかれていない情報を「潜在アンビエント・サーフェス情報」と定義し，その科学的解明と活用を目指したプロジェクトを昨年度から開始した。このプロジェクトでは，無自覚的な身体動作や自律神経応答などを，自由に活動する個体や集団を邪魔することなく計測・解読する技術を開発し，科学的知見の蓄積と理論化することを目指している。さらに，実社会における「同調・共感・社会性」をつなぐ試みとして，具体的な実証フィールド（スポーツ等）における人間と機械の創造的協働も目標としている。本講演では，このプロジェクトの概観も紹介したい。

（3）ハイパースキャンによる二人称視点脳機能イメージング研究：共同注意を始まりとして

田邊宏樹（名古屋大学環境学研究科心理学講座）

これまでの社会性に関する脳機能イメージング研究は，社会(認知)能力が個人の脳内でどのような神経基盤を持つか，あるいはどのような脳内表現になっているのかを調べる研究がほとんどであった。しかし現実のコミュニケーション場面でのやりとりはリアルタイム性を持ち，ダイナミックで相互作用的である。この点を重視する考え方は，近年社会認知神経科学を専門とする研究者の間でも少しずつ広がりを見せており，例えば Gallagher ら(2010)や Schilbach ら(2013)は二者間のリアルな社会的相互作用過程を重視し，二人称視点(second-person perspective)研究の必要性を説いている。

一方で，社会的相互作用を神経科学的実験の土台にのせる方法論の困難さも指摘されている(Di Paolo et al., 2012)。MRI 等の大型装置を用いて二人の人間の社会的相互作用中の脳活動を計測する実験セッティングを作成するには，多くの困難を伴う。そこで我々は，福井大学と共同で一番難易度が低い目線のやりとりと視線による共同注意の神経メカニズム研究をおこない，視線読み取りの際の神経基盤ならびに互いに見つめ合っている際に右下前頭回で脳活動の同調がみられることを示した。これを手がかりに，生理学研究所に目だけでなくお互いの顔をみながら音声でもコミュニケーションがとれる MRI ハイパースキャニングシステムを構築し，現在まで視線や言語を手がかりとした共同注意ならびに見つめ合いの神経メカニズム研究をおこなっている。今回の発表では，その一連の研究の概略と主な結果についてお話しする。

また MRI 撮像技術の進歩により，より短時間で全脳をスキャンできるようになったことから，従来は難しかった機能的 MRI 撮像中に会話が出来る実験系を構築できるなど社会相互作用研究の可能性が広がってきた。発表の最後に，このようなより自然なコミュニケーション中の脳機能イメージング研究の可能性について言及したい。

（4）他者とのインタラクションに関与する神経基盤の同定

阿部匡樹（北海道大学大学院教育学研究院）

他者とのインタラクションは，ヒトの社会生活の営みにおいて不可欠なものであり，特に身体を介して 1 つの目的を達成する共同行為（Joint Action）では重要な役割を果たす。このインタラクションに関与する神経基盤を明らかにすることは社会神経科学の大きな課題のひとつであり，これまでも複数の研究が共同行為時に賦活される脳領域を報告してきた。しかしながら，共同行為時のインタラクションのレベルに応じて修飾的に賦活される脳領域に関しては，未だ十分に理解されていない。先行研究では，実験者側で（理論的に）インタラクションのレベルが異なる実験条件を設定し，その条件間でどのように脳活動が修飾されるかを調べてきたが，被験者が実際に実験者の意図したレベルでインタラクションしているとは限らず，またその個人差も大きいと考えられる。この問題を解決するには，共同行為時に個々の被験者が実際どの程度パートナーとインタラクションしているのかを定量的・個別的に評価する方法の導入が必要となる。

この点を踏まえ，本研究では共同行為時のパートナーとのインタラクションのレベルを個別かつ定量的に評価し，そのレベルに関連して活動する脳領域を同定することを目的とした。実験では 19 組のペアに「二人の握力の平均値を標的力に一致させる」という共同力制御課題を課し，その握力変動に関して相互のノイズ寄与率（Noise contribution ratio: NCR）を算出することで，共同課題時のパートナーからの影響の程度を定量化した。また，共同課題時のペアの脳活動を 2 台の fMRI スキャナを用いて同時に計測し，共同課題時に賦活される脳領域と NCR との関連を調べた。

その結果，共同課題時に賦活されるいくつかの脳領域のうち，唯一右の側頭頭頂接合部（Temporo-parietal junction: TPJ）付近においてその賦活レベルとノイズ寄与率の間に正の相関が示された。このことは，パートナー

からの影響の度合を直接的に反映する神経基盤がこの領域に含まれていることを示唆している。先行研究において提言されている共同行為時の TPJ の機能も踏まえ，この結果の意味するところに関して議論を行いたい。

（5）ニューラルダイナミクスと母子間コミュニケーションのモデル化

浅田　稔（大阪大学大学院工学研究科）

脳神経系，筋骨格系を有し，環境と相互作用することで，多様な行動を生成するエージェントのシミュレーションにおいて，従来は，胎児の複雑な身体構造に対して，神経振動子が感覚運動系に直結しており，隠れ層が含まれていないケースが多かった。そのため，行動の複雑さに限界が見られた。そこで，隠れ層を付加し，行動の多様性を確認するとともに，そのネットワーク構造を解析し，解剖学的な物理ネットワークと異なる情報ネットワーク構造が観察された。情報ネットワーク構造は行動の様相（安定，不安定）に対応した二つの神経系ネットワークの構造が動的に遷移する様子が観察された（ニューラルダイナミクス）。「関係性」は母子間相互作用に代表される社会的相互作用のなかでキーとなる。これまでの知見を基に「関係性」を含む機能モジュールのネットワークを構築し，母子双方に埋め込み，相互作用させることで，「関係性」をはじめとする各種パラメータの変化と表出する行動を，Still face パラダイムを例にシミュレーションした。結果，still face の前は，「関係性」構築の過程を経て安定状態に入るが，still face では，「関係性」が急激に激減し，子の行動変化が観察される。still face の後は，元の「関係性」が即座に回復し良好な相互作用が継続する（母子間コミュニケーションのモデル化の一例）。上記の二つは，前提条件が全く異なるレベルでの研究であるが，安定，不安定の観点から，ある種の活動の共通点が見いだせないか議論したい。

10. 認知神経科学の先端　宣言的記憶の脳内メカニズム

2015 年 11 月 13 日－11 月 14 日

提案代表者：小村　豊（産業技術総合研究所脳神経情報研究部門）

実施担当者：納家勇治（北京大学心理学系生命科学センター）

所内対応者：伊佐　正（生理学研究所認知行動発達）

世話人：吉田正俊（生理学研究所認知行動発達）

（1）ヒトのエピソード記憶における報酬や罰の効果の基盤となる脳内機構

月浦　崇（京都大学大学院人間・環境学研究科）

（2）ヒトはなぜエピソード記憶を持っているのか？：エピソード記憶の機能とコントロール

川口　潤（名古屋大学大学院環境学研究科）

（3）海馬における自己と他者の場所表現

藤澤茂義（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（4）アルツハイマー様遺伝子改変マウスを用いたエピソード記憶課題に関する電気生理学的な考察と展望

山本　純（RIKEN-MIT 神経回路遺伝学研究センター）

（5）比較メタ認知研究―フサオマキザルとハトのメタ記憶

藤田和生（京都大学大学院文学研究科）

（6）宣言的記憶を担う霊長類内側側頭葉の神経細胞活動

納家勇治（北京大学心理学系生命科学センター）

（7）皮質求心性アセチルコリン投射がもたらす脳の記憶状態の遷移：数値的研究

金丸隆志（工学院大学先進工学部）

【参加者名】

金丸隆志（工学院大学先進工学部），川口　潤（名古屋大学大学院環境学研究科），月浦　崇（京都大学大学院人間・環境学研究科），納家勇治（北京大学心理学系生命科学センター），藤澤茂義（理化学研究所脳科学総合研究センター），藤田和生（京都大学大学院文学研究科），小村　豊（産業技術総合研究所脳神経情報研究部門），山本　純（RIKEN-MIT 神経回路遺伝学研究センター），樋口洋子（京都大学人間・環境学研究科），都築茉奈（京都大学大学院文学研究科），戸嶋真弓（総合研究大学院大学複合科学研究科），石川哲朗（東京工業大学大学院総合理工学研究科），佐野暢哉（東京都医学総合研究所），高木佐保（京都大学大学院），高橋裕美（同志社大学大学院脳科学研究科），朴　白順（京都大学大学院人間・環境学研究科），伊佐　正（生理学研究所認知行動発達），吉田正俊（生理学研究所認知行動発達），山本勇祐（生理学研究所認知行動発達），辻本憲吾（生理学研究所認知行動発達），Kichan Song（同志社大学大学院），禰占雅史（京都大学霊長類研究所高次脳機能分野），大津秀隆（社会福祉法人鼓ヶ浦整肢学園），北西卓磨（大阪大学），町野友理（同志社大学大学院脳科学研究科），松本　昇（筑波大学大学院），小俣　圭（浜松医科大学），福島康弘（川崎医療福祉大学），片上茂樹（岐阜大学），分部利紘（福岡女学院大学），水谷晃大（愛知学院大学心身科学部心理学科），河村章史（平成医療短期大学），杉山　崇（神奈川大学），中原　潔（高知工科大学），結城笙子（東京大学），田浦秀幸（立命館大学），石井徹（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター），小川正晃（生理学研究所認知行動発達），石野誠也（生理学研究所認知行動発達），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），三好清文（京都大学文学研究科），高橋　晋（同志社大学），加藤利佳子（生理学研究所認知行動発達），大澤正彦（慶應義塾大学），等　誠司（滋賀医大統合臓器生理），高桑徳宏（生理学研究所認知行動発達），小林正法（名古屋大学），中村志津香（広島大学），別役　透（京都大学）

【概要】

人間の心の仕組みを，脳を起点にして明らかにすることを目指す認知神経科学は，さまざまな discipline からなる学際的領域であり，また実験対象も人間からサル，ラット，マウス，無脊椎動物と多様なものが扱われている。このような学際的領域を発展させるためには 1)専門分野を超えた共同研究（情報交換）の促進と 2)研究者の層の厚みを増すこととが不可欠である。本研究会では，宣言的記憶をキーワードに 1)共通するテーマに関連する神経生理学，脳機能イメージング，計算論的神経科学，神経心理学といったさまざまな研究領域から，2)アクティブに研究成果を出している実際上の研究実施者を中心にして人選を行った。各発表では分野ごとのイントロダクションに重点を置き，議論の時間を多く取ることによって，特定のテーマについて様々な角度から議論を深めるワークショップの形態を取った。この結果，本研究会は講演者 7 人，参加者 49 人の参加のもとで盛況な会を開催することに成功した。このことによって，研究者間の意見交換のみならず，大学院生などの研究者の卵への教育的効果もあったのではないかと考える。

（1）ヒトのエピソード記憶における報酬や罰の効果の基盤となる脳内機構

月浦　崇（京都大学大学院人間・環境学研究科）

エピソード記憶とは，個人的に体験した出来事に関する記憶のことを指し，出来事の内容に加えて，その出来事を体験した際の時間（「いつ」体験したことか）や場所（「どこで」体験したことか）の文脈が付随した記憶と定義されている。エピソード記憶とそれに関連する脳内機構は，情動などの様々な他の心理過程からの影響を受けることが知られているが，近年の研究では，報酬や罰の効果によっても影響を受けることが報告されている。本講演では，金銭的あるいは社会的な報酬や罰によって影響を受けるエピソード記憶とそれに関連する脳内機構について，fMRI を用いた我々の研究を紹介する。

記憶の記銘時に，後の想起時の金銭的報酬の獲得や罰の回避を予測させるパラダイムを用いると，詳細な記憶の想起が促進され，その記憶の促進には，報酬や罰に共通に関与する線条体や腹側被蓋野・側坐核，罰に選択的に関与する島皮質と海馬との間の相互作用が関与することが示された（Shigemune et al., 2014）。また，社会的な文脈での報酬として，顔に由来する表情や顔の魅力を用い，顔の記憶がどのような影響を受けるのかを検証したところ，笑顔や顔の魅力によって顔に関連する記憶が促進され，その脳内機構として眼窩前頭皮質と海馬との間の相互作用が関与することが示された（Tsukiura and Cabeza, 2008; Tsukiura and Cabeza, 2011）。また，顔に由来する信頼感（Trustworthiness）の要因によっても顔の記憶は影響を受け，信頼感が低い顔（社会的罰）ほど顔の記憶が促進され，その脳内機構として島皮質と海馬との間の相互作用の重要性が示された（Tsukiura et al., 2013）。

これからの結果から，ヒトのエピソード記憶は金銭的あるいは社会的文脈での報酬や罰の効果によって促進的な影響を受け，その脳内機構として報酬や罰に関連する線条体，腹側被蓋野・側坐核，眼窩前頭皮質，島皮質などの領域と，記憶に重要な海馬との間の相互作用が関与することが示唆された。

【文献】

1. Shigemune Y., Tsukiura T., Kambara T., Kawashima R. Remembering with gains and losses: Effects of monetary rewards and punishments on successful encoding activation of source memories, Cerebral Cortex, 2014, 24, 1319-1331.
2. Tsukiura T., Shigemune Y., Nouchi R., Kambara T., Kawashima R. Insular and hippocampal contributions to remembering people with an impression of bad personality, Social Cognitive and Affective Neuroscience, 2013, 8, 515-522.
3. Tsukiura T., Cabeza R. Remembering beauty: Roles of orbitofrontal and hippocampal regions in successful memory encoding of attractive faces, Neuroimage, 2011, 54, 653-660.
4. Tsukiura T., Cabeza R. Orbitofrontal and hippocampal contributions to memory for face-name associations: The rewarding power of a smile, Neuropsychologia, 2008, 46, 2310-2319.

（2）ヒトはなぜエピソード記憶を持っているのか？：エピソード記憶の機能とコントロール

川口　潤（名古屋大学大学院環境学研究科）

エピソード記憶は単に時間情報と場所情報を含む過去の自分の体験の記憶ではなく，再体験的想起(mental time travel, autonoetic consciousness)を伴うことが大きな特徴である。これがヒト特殊かどうかについては，測定法も含めて論争があるが，少なくともヒトが有する代表的な記憶システムであるといえよう。

本発表では，このようなエピソード記憶の特徴について述べるとともに，なぜそのような記憶をヒトが有しているのか, エピソード記憶の機能は何かについて述べる。なかでも，強い再体験的想起をしている場合に感じられる感情である「なつかしさ（ノスタルジア）」を取り上げ, エピソード記憶想起との関連を論じながら, エピソード記憶がどのような機能を持っているのかを論じる。

また，エピソード記憶が「ゆがむ」ことはフォルスメモリ(false memory)としてよく知られているが，自動的にエピソード記憶がゆがむだけでなく，意図的にゆがめる（本発表では「忘却」）ことができるのか，できるとすれば背後にどのようなメカニズムが存在するのかを考察する。

これらの議論を元に，ヒトがエピソード記憶を持っていることの意味を考えてみたい。

（3）海馬における自己と他者の場所表現

藤澤茂義（理化学研究所脳科学総合研究センター）

海馬には，空間における自らの位置を表現することのできる場所細胞が存在する。この海馬場所細胞は，たとえランドマークなど外部からの情報が変化してもその活動パターンが保持されることがあることから，海馬は外部情報から絶対空間を内的に構成して認識地図を作成しているのではないかと考えられている。しかし，自分以外の他者や動物など，空間内で自由に移動している物体が，このように海馬で内的に構成された絶対空間地図上にどのように表現されるかは未だ明らかにされていない。今回，他者観察行動を行っているラットの海馬からニューロンの発火活動を大規模細胞外電気生理記録により観測することにより，他者の空間上の位置が海馬認識地図上でどのように表現されているかを明らかにする研究を行った。課題行動は，T 字迷路上において，先行者（他者）と観察者（自己）の二匹のラットによって行われる。各試行において，先行者が左右の選択を行った後に，観察者が自らの選択を行う。観察者が報酬をもらえる場所は，先行者の選択によって決定するため，観察者は先行者の行動を観察しておく必要がある。この実験により，海馬において，自己の位置を表現する標準的な場所細胞に加え，他者の位置を表現するニューロンが存在することを確認した。このことより，海馬は空間上の自己の場所情報だけではなく，他者の場所情報も保持しうることが示唆された。

（4）アルツハイマー様遺伝子改変マウスを用いたエピソード記憶課題に関する電気生理学的な考察と展望

山本　純（RIKEN-MIT 神経回路遺伝学研究センター）

脳神経科学は究極の複合領域といわれているが，本研究会では米国 MIT 利根川研究室で行われているシステム脳神経科学(Systems Neuroscience) の最新の研究成果を交えながらマウス等の小動物を用いたエピソード記憶を含む宣言的記憶の研究手法に関して論じたい。

私の研究ではアルツハイマー様の行動パターンを示す

遺伝子改変マウスを用いて，記憶の一種である作業記憶(working memory) 課題中の脳神経活動を記録・解析し，一時記憶をつかさどる海馬(hippocampus) とそれに接続する嗅内野(entorhinal cortex) 間に特殊な同期現象が重要で，あるということ，また光遺伝学(optogenetics) を用いてその同期現象が作業記憶課題を行うのに必要で，あるということを実験的に示した。さらに自己修正のようなメタコグニション的な概念を用いないと説明できないような現象も併せて報告した。その後の研究ではこのマウスモモデルにおいて海馬における神経活動の時間的構造に異常が見られ，空間的な記憶を想起する機能が正常なマウスに比べ著しく劣っていることも判明しつつある。

本研究会ではこれらの研究の裏側を支えている要素技術なども交えて最新の脳科学研究をご紹介できればと思う。

References:

Yamamoto J, Suh J, Takeuchi D, Tonegawa S., Successful execution of working memory linked to synchronized high-frequency gamma oscillations., Cell. 2014 May 8;157 (4): 845-57.

Suh J, Rivest AJ, Nakashiba T, Tominaga T, Tonegawa S., Entorhinal cortex layer III input to the hippocampus is crucial for temporal association memory., Science. 2011 Dec 9;334 (6061): 1415-20.

（5）比較メタ認知研究—フサオマキザルとハトのメタ記憶

藤田和生（京都大学大学院文学研究科）

私たちは，自身の持つ知識や記憶痕跡をモニターし，その明瞭さなどに応じて，巧みに行動を調整することができる。例えば，いましがた紹介された人の名前が思い出せないと，名刺を見たり，名前を避けて「先生は」といってみたりする。友人の電話番号が思い出せないときには，スマフォを開いて確認する。前者は作業記憶，後者は参照記憶に対するメタ認知を示す行動である。私たちはメタ認知を用いて，生じうる社会的・物理的リスクや，無駄な試行錯誤を回避して，巧みに適応的な行動を取る。

メタ認知はヒトの特権だろうか。メタ認知がヒト以外の動物にとっても有用なことは容易に想像できる。良い餌場を知っていれば，先んじてそこに行くのがよい戦略だが，知らなければ，仲間についていく方が得策であろう。メタ認知の適応的意義を考えれば，これがヒトのみに存在すると考えることの方に無理がある。

この約 20 年に，さまざまな非言語的メタ認知課題が開発され，マカクザルに関しては，その存在を示す強い証拠が得られているが，他の霊長類種や他の分類群では，十分な合意は得られていない。この講演では，講演者のラボでおこなわれたフサオマキザルとハトのメタ記憶に関する研究を紹介し，議論したい。

フサオマキザルは，高い社会性と知性を持つ新世界ザルである。このサルに遅延見本合わせをおこなわせ，遅延時間終了後，比較刺激提示の直前に，記憶課題を実行するか回避するかを選択させた。記憶課題に成功すれば必ず報酬が提示されるが，回避すると低確率でしか報酬が提示されない。遅延時間が長くなり，課題が困難になると，サルは高頻度に記憶課題を回避するようになった。また記憶課題を選択したときの正答率は，強制的に実行させたときよりも高くなった。つまり作業記憶に対するメタ記憶の利用が示された。

次に，刺激の形状と提示位置の複合刺激を見本として提示し，どちらか一方の刺激次元のテストが選べる選択肢を準備してテストしたところ，全般的に正答率の高い方の次元をより選択する傾向は見られたが，現在のところ，その次元を選択したときと強制したときの間で，正答率の差は見られていない。フサオマキザルは，記憶痕跡の強さはメタ認知可能であるが，内容の詳細まではメタ認知できないのかも知れない。

ハトについては長期記憶に対するメタ認知を，情報希求課題を用いて検討した。３項目の系列学習課題で，試行の開始キーの色によって，毎セッション新奇な３刺激が出現する条件と，常時同じ３刺激が出現する条件を設けた。次に系列学習時に次に選ぶべき項目を教えてくれるヒントあり選択肢と，ヒントなし選択肢を学習させた。その後，スタートキーの色と形によってヒントあり選択肢をあらかじめ選択する割合が変わるかどうかをテスト

したところ，新奇刺激が出現する条件ではヒントあり選択率が高くなった。つまりハトは，系列に関する自身の長期的知識をメタ認知し，それに応じてヒントを希求することがわかった。

これらの実験結果より，メタ認知機能が，多様な系統の動物種に存在している可能性が示唆された。これらを材料に，今後の比較メタ認知研究への展望を論じたい。

（6）宣言的記憶を担う霊長類内側側頭葉の神経細胞活動

納家勇治（北京大学心理学系生命科学センター）

広い意味での記憶は「経験にともなう影響の残存」と定義でき，脳内に備わる複数のシステムによりサポートされる。我々が日ごろの生活で意識する過去の思い出や知識などは，それらのシステムの中でも特に宣言的記憶（declarative memory）とよばれ，「思い出した内容を言葉に表すことができるタイプの記憶」である。この宣言的記憶に必須の脳領域として，内側側頭葉と呼ばれる海馬とその周辺皮質が知られている。しかしながら，内側側頭葉は宣言的記憶だけに機能する訳ではなく，逆にそれだけで宣言的記憶を担える訳でもない。例えば行動課題が要求する内容や，同じ課題であっても計測される反応の種類により，非宣言的記憶潜に分類される認知機能にも関与する。ただし一般的な記憶としての分類は異なっていても，内側側頭葉の神経細胞が表現する内容には共通点も見受けられる。本講演では，霊長類を被験者とする電気生理学実験から得られた結果を軸に，神経心理学やヒトでのイメージング，さらにげっ歯類での知見等について検討を行い，内側側頭葉とその関連領域が行う情報処理と宣言的記憶の関係について述べる。

参考文献

Suzuki W. A., and Naya Y., (2014) The perirhinal cortex. Annual review of neuroscience 37:39-53.

納家勇治 (2013)「カイロスとクロノス：脳の中の２つの記憶時間」心理学評論特集号，櫻井芳雄編 201-215 頁.

Naya Y. and Suzuki WA. (2011) Integrating what and when across the primate medial temporal lobe. Science 333: 773-776.

Suzuki W.A. and Naya Y. (2011) Two routes for remembering the past. Cell 147: 493-495

納家勇治 (2010) 「学習と記憶」イラストレクチャー認知神経科学，村上郁也編(オーム社出版), 143-160 頁.

Naya Y. and Suzuki W.A., (2010) Associative memory in the medial temporal lobe. In Primate Neuroethology, A. Ghazanfar and M. Platt ed. (New York: Oxford University Press), pp 337-358.

（7）皮質求心性アセチルコリン投射がもたらす脳の記憶状態の遷移：数値的研究

金丸隆志（工学院大学先進工学部）

皮質 II/III 層に対して皮質求心性アセチルコリンが一時的に投射されることにより，錐体細胞への抑制効果が前シナプス的に減衰 (脱抑制) することが知られている [1] 。このミクロな現象がシステムレベルでどのような現象を引き起こすかを数値的に明らかにしたい。

本研究では，このようなアセチルコリンによる前シナプス的な脱抑制が脳の記憶において，安定な想起状態（アトラクター状態）と記憶を経めぐる状態（準アトラクター状態）との間の状態遷移を引き起こす役割を担っているという理論的な可能性について議論する。

我々が用いるモデルは，位相ニューロンを用いたパルス結合タイプのネットワークモデルである。細胞の生理学的知見の詳細を取り込んだモデルではないが，統計物理的な手法を適用可能なため，細胞数が十分に大きなネットワークの挙動を統計的に解析可能であるというメリットがある。

このモデルに対し，アセチルコリンによる効果をシナプス強度の一時的な変化として取り込み，その効果を調べた。さらに，上位層からのトップダウンなシナプス入力の効果も調べ，比較を行った。その結果，アセチルコリンは複数の記憶を安定化させる効果があり，トップダウンなシナプス入力はある記憶を一時的に想起させる効果があることが分かった [2]。力学系理論の用語ではそれぞれ「分岐による力学状態の変化」，「位相空間上の状態のジャンプ」と解釈できる。

[1] H. Salgado, et al., J. Neurophysiol., 98 (2007) 952-965; I. Kruglikov and B. Rudy, Neuron, 58 (2008) 911-924.

[2] T. Kanamaru, H. Fujii, and K. Aihara, “Deformation of attractor landscape via cholinergic presynaptic modulations: A computational study with phase neuron model,” PLOS ONE, 8(1) (2013) e53854.

11. 異なる動物種間での記憶回路制御機構の統合的理解による記憶回路原理の解明（比較記憶研究会）

2015 年 10 月 8 日－10 月 9 日

代表・世話人：齊藤　実（東京都医学総合研究所・学習記憶プロジェクト）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

（1）霊長類大脳認知記憶システム
：大域神経回路，局所神経回路，両者の相互作用機構について（特別講演）
宮下保司（東京大学・医学部生理学教室）

（2）記憶システムの恒常性維持機構の解明
殿城亜矢子（千葉大学・大学院薬学研究院生化学研究室）

（3）行動タグの回路基盤としてのセルタグ機構
野本真順（富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）生化学講座）

（4）多点同時記録法を用いたラット海馬体の神経回路解析
水関健司（大阪市立大学・大学院医学研究科生理学第二教室）

（5）海馬時計機能による記憶想起制御
喜田　聡（東京農業大学・応用生物学部）

（6）個体の記憶が「異性の好み」を生み出す分子神経機構
竹内秀明（岡山大学・大学院自然科学研究科分子行動学研究室）

（7）複雑なニューラルネットワークを形成する分子メカニズム
八木　健（大阪大学・大学院生命機能研究科心生物学研究室）

（8）視床下部神経による睡眠覚醒調節と記憶の制御
山中章弘（名古屋大学・環境医学研究所神経系分野 2）

（9）成体脳に新生するニューロンの光制御により明らかにする，睡眠中の記憶形成機構
坂口昌徳（筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構）

【参加者名】

古屋敷智之（神戸大学 大学院医学研究科 薬理学分野），南　雅文（北海道大学 薬学研究院 薬理学研究室），坂口昌徳（筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 櫻井・坂口研究室），竹内秀明（岡山大学 大学院自然科学研究科 分子行動学研究室），山中章弘（名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 2），八木　健（大阪大学 生命機能研究科 心生物学研究室），殿城亜矢子（千葉大学 薬学研究院 生化学研究室），野本真順（富山大学大学院医学薬学研究部 生化学講座），齊藤　実（公益財団法人東京都医学総合研究所 学習記憶プロジェクト），宮下保司（東京大学 医学部 高次機能生理学），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），上野太郎（東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能　学習記憶プロジェクト），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），宮下知之（公益財団法人 東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能研究分野 学習・記憶プロジェクト），森　啓太（東京大学 理学部 飯野研究室），喜田　聡（東京農業大学 応用生物科学部），水関健司（大阪市立大学 大学院医学研究科 生理学第二教室），天野大樹（北海道大学 大学院薬学研究院 薬理学研究室），衣斐督和（京都府立医科大学大学院医学研究科 病態分子薬理学），上野耕平（東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能研究分野 学習記憶プロジェクト），鈴木惠雅（東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能研究分野 学習記憶プロジェクト），長野慎太郎（（公財）東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能研究分野 学習記憶プロジェクト），櫻井芳雄（同志社大学 脳科学研究科 神経回路情報伝達機構部門），大

塚稔久（山梨大学 医学部 生化学講座第１教室），疋田貴俊（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），木村梨絵（生理学研究所 生体情報研究系　視覚情報処理研究部門），粂　和彦（名古屋市立大学 大学院薬学研究科 神経薬理学），山田彬博（生理学研究所 神経シグナル部門），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），酒井一輝（東京大学 医学系研究科 神経生化学教室），礒村宜和（玉川大学 脳科学研究所），冨田　淳（名古屋市立大学大学院 薬学研究科 神経薬理学分野），川手豊子（健康科学大学 健康科学部 作業療法学科），大川宜昭（富山大学 大学院医学薬学研究部（医学）生化学講座），牧野佑亮（名古屋大学 理学部 脳回路構造学），青木一郎（名古屋大学大学院 理学研究科 森研究室），居原　秀（大阪府立大学 理学系研究科），國友博文（東京大学 大学院理学系研究科生物科学専攻 飯野研究室），石井　徹（京都大学 医学研究科 脳機能総合研究センター），鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），和氣弘明（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），稲田浩之（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），中畑義久（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），加藤大輔（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），堀内　浩（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機構研究部門），穐吉亮平（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），戸田拓弥（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），春若航一路（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）

【概要】

記憶は個体保存戦略の一つであり，精神活動や社会性の基盤ともなる脳の統合機能である。記憶機構の解明には遺伝子－神経・シナプス－回路－行動の各レベルの複合的な解析が必要であり，どの側面からアプローチするかにより，適した動物（線虫やショウジョウバエからマウス，霊長類）で研究が発展してきた。さらに近年の発生工学，光遺伝学的手法や各種イメージング，レコーディング技術の発達は，より複合的なレベルでの解析の可能性を広げた。しかし各動物種からの知見が蓄積する一方で，それら成果を横断的に俯瞰する機会は国内にとどまらず，国外においても依然として少ない。本研究会は各動物種で記憶研究を展開する研究者と記憶研究への応用が期待される操作・解析技術を開発する研究者が一堂に集うことを目的として開催された。今回は先ず特別講演として東大の宮下先生にこれまでの霊長類大脳認知記憶システム研究を総括して頂いた。続いてショウジョウバエ，マウス，ラット，メダカといったモデル動物の特長を生かし，加齢性記憶障害の分子・神経機構，行動タグの回路基板，海馬時計機能と記憶想起制御の関係，プロトカドヘリンに依る多様な神経回路の形成機構，多点同時記録法による神経回路解析の実際，光遺伝学を活用した睡眠覚醒調節と記憶制御，睡眠中の記憶形成機構，記憶に基づく個体認識機構に関して，それぞれユニークな研究成果の発表があった。本研究会により神経回路解析が進んでいるショウジョウバエから，高次の階層的な情報処理を行うマウス・ラット，霊長類を対象とした記憶研究の成果や，新たな回路操作技術，解析技術の開発現状が共有された。また分子生物学・分子遺伝学から心理学に至る記憶制御基盤の学際的議論を行い，記憶研究の共通理解・認識を深め，新たな記憶コンセプトや課題の創出につなげる機会を得た。

（1）霊長類大脳認知記憶システム：大域神経回路，局所神経回路，両者の相互作用機構について

宮下保司（東京大学大学院医学系研究科高次機能生理学／順天堂大学大学院医学研究科認知神経科学）

霊長類認知記憶システムは内側側頭葉をはじめとする広範な大脳領野のネットワークにより構成されている。このうち陳述記憶，特に意味記憶を支えるネットワークとして大脳側頭葉皮質および前頭葉・頭頂葉皮質の局所神経回路とそれらの相互作用を解析してきた。一方で，単一神経細胞活動レベルで同定された記憶ニューロン群（“対記銘

ニューロン pair-coding neuron”及び“対想起ニューロン pair-recall neuron”）活動を生み出す局所ネットワーク解明をめざし，他方では，記憶課題遂行を支える大域神経回路の構造とそのダイナミクスを解明すべく，多点微小電極記録法，MRI 画像法，optogenetics 等による集学的アプローチを進めてきた。局所神経回路に関しては，記憶課題遂行中のサルから複数ニューロン活動を同時記録し，スパイク時系列相互相関解析 Cross- correlation 法，及びより高い時間分解能を有する方法として開発してきた Non-parametric Granger Causality 法を適用した成果について報告したい。大域神経回路に関しては，磁気共鳴画像装置内で課題遂行中のサル大脳活動の fMRI 信号を記録して活動領域を同定し，それらの領域間の機能結合を抽出して（PPI 法と rs-FC 法）ネットワーク構造を明らかにした。更に最近，課題遂行の行動結果に対して，特定の大脳領域の機能障害がどのように影響を与えるかを，課題遂行中の大脳機能ネットワークをもとに予測する方法を開発した――即ち，当該機能ネットワークにおける各領野の betweenness centrality 値が，その領域が傷害された場合に引き起こされる行動障害の程度と相関することを見出したので，その意義についても報告したい。

更に，これら局所神経回路と大域神経回路のカップリング機構を明らかにする為に，サル大脳大域回路由来の信号が各大脳領域内の局所回路にどのようなインパクトを与えるかを解析した。線形多点電極（linear-array multi-contact microelectrode）を用いた皮質各層の局所電場電位（LFP）記録と共に，他領野での単一神経細胞スパイク活動との同時記録をおこなった。領野間において infragranular layer を標的とする情報の流れと，supragranular layer を標的とする流れの少なくとも 2 系統が存在すること，そして記憶想起時においてはそのうち前者のみが target 領野内での層間情報伝達に寄与していることが判明した。

（2）記憶システムの恒常性維持機構の解明

殿城亜矢子（千葉大学薬学研究院 生化学研究室）

加齢と共に学習や記憶機能が低下することは，高齢化社会において生活の質向上のために克服すべき課題のひとつである。近年，学習や記憶低下の原因の一つとして，糖尿病など生体内の代謝変化による脳機能への影響が着目されている。血糖調節ホルモンであるインスリンは，摂食・代謝調節をはじめとして，発生，成長，老化，さらには学習・記憶機能など様々な局面で重要な役割を果たしている。しかし，インスリンシグナル経路が学習や記憶の形成にどのように関わっているのか，さらには加齢に伴う記憶低下との関与については不明な点が多い。そこで我々は，インスリンシグナルが進化的に高く保存されていることに着目し，ショウジョウバエの嗅覚記憶をモデル系として用いて，加齢に伴い記憶が低下するメカニズムを解明することを目指している。これまでに，遺伝学的にインスリン産生を一過的に抑制した個体を作成して嗅覚記憶を測定したところ，学習機能は正常だが記憶を維持する能力が低下することが明らかとなった。一方で，インスリン産生を老齢個体で同様に抑制させても，記憶低下は亢進しなかった。これらの遺伝学的解析から，インスリンシグナルの一部が加齢により影響を受けることが，加齢に伴う記憶低下の原因の一つであることが示唆された。生体内の代謝機能が記憶システムの恒常性を制御する可能性について議論したい。

（3）行動タグの回路基盤としてのセルタグ機構

野本真順，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）

些細な出来事と鮮烈な出来事が短い間隔で生じた場合，本来忘却される些細な経験（短期記憶）が長期記憶へと変換されることが知られており，この現象は行動タグと呼ばれる。行動タグ成立時には，シナプスレベルではシ

ナプスタグ機構が利用されていると考えられるが，セルアンサンブルレベルでは，どのように各イベント情報が細胞に割り付けられているかは未知である。この疑問を解明するため，新奇物体認知記憶課題(NOR)を短期記憶として，箱記憶課題を鮮烈な出来事として設定し，これら２つの課題を組み合わせて新たな行動タグ実験系を確立し，行動タグ成立時の神経活動の動態を解析した。

神経活性化マーカーである最初期遺伝子 Arc の発現を指標に, NOR 短期記憶および箱記憶時に活動した細胞を調べたところ，箱に対する順化が行われ行動タグが成立しない条件に比べて，行動タグが成立する条件では，海馬 CA1 において各イベントに重複して活動する細胞の割合の上昇が観察された。続いて，tet-tag system を用いて，行動タグ形成後にトレーニングで使用された箱にマウスを再暴露した際に活性化した細胞を光依存的抑制型オプシン ArchT で標識し，翌日の NOR 想起時に光照射を行ったところ，光照射群は NOR 想起障害を示した。以上の結果は, 行動タグの成立には海馬 CA1 において各イベントをコードする細胞集団の重複が重要であるという，セルアンサンブルレベルでのタグ機構の存在を暗示している。

（4）多点同時記録法を用いたラット海馬体の神経回路解析

水関健司（大阪市立大学大学院医学研究科生理学第二教室）

海馬体の神経回路でどのように情報が処理・伝達されるのかはよく分かっていない。我々はシリコンプローブを用いて，場所課題中のラットの海馬と内嗅領皮質から１００個程度の神経細胞の発火と脳波を同時記録した。その結果シータオシレーション中には，海馬体の各領域の正確な発火のタイミングや情報のコードは上流からの入力ではなく主に領域内の局所的な細胞間相互作用によって制御されており，各領域が情報処理の独立性を確保していることが示唆された。

海馬 CA1 錐体細胞は一般には均一な細胞集団とみなされている。しかし我々は，浅層と深層の錐体細胞は発火頻度・バースト・様々なオシレーションに対する相関等が異なり，CA1 細胞層は機能的に異なる副層を形成していることを見出した。海馬にはパラレルに働く複数の情報処理経路がある可能性を示唆している。

さらに海馬と内嗅領皮質の神経の発火頻度・同期性・スパイク伝達効率などは対数正規分布に従い，脳状態や記憶課題の種類に関わらず高頻度で発火するごく一部の神経細胞が常に情報の大部分をコードしていることを見出した。このことは我々の脳に記憶が刻まれるモデルを考えるときに大きな制約となる。

（5）海馬時計機能による記憶想起制御

喜田　聡，長谷川俊輔（東京農業大学応用生物学部）

Ebbinghaus が，100 年以上前に唱えたように，記憶制御に対するサーカディアン制御機構の存在が示唆されている。しかし，記憶制御プロセスにサーカディアン制御機構が直接リンクするかといった根本的な疑問は未だ解明されておらず，記憶制御とサーカディアンリズムの接点は不明である。我々は，サーカディアンリズム産生に必須な時計遺伝子 BMAL1 に着目し，記憶制御に対する BMAL1 の役割の解明を続けてきた。実際には，テトラサイクリン依存性発現誘導システムを用いて前脳特異的にドミナントネガティブ型 BMAL1 変異体（dnBMAL1）を発現するマウスを作製し，前脳領域の時計機能の破壊が記憶制御プロセス群に与える影響を解析した。その結果，dnBMAL マウスでは，サーカディアンリズム産生の中枢である視交叉上核（SCN）の時計機能は正常であるものの，前脳領域の時計機能は破壊されていることが明らかとなった。重要な点として，複数の海馬依存的記憶

課題において，dnBMAL1 マウスはどの時間帯でも海馬依存的記憶を形成できるが，ZT10（明期開始 10 時間後）付近においてのみ，時間帯依存的に海馬依存的記憶の想起に障害を示すことが明らかにとなった。以上のように，前脳領域，特に海馬の時計機能が記憶想起制御に関わっていることが明らかとなり，想起効率がサーカディアン制御を受けていると結論した。

（6）個体の記憶が「異性の好み」を生み出す分子神経機構

竹内秀明（岡山大学・大学院自然科学研究科・分子行動学研究室）

社会的な記憶・経験によって「異性の好み」が後天的に形成される例は，ヒトだけでなく魚類や鳥類等，数多くの動物で報告されている。近年，私の研究グループは，メダカの「異性の好み」が個体記憶を介して形成されることを発見した。メスメダカはガラス越しに見ていたオスを記憶し，「見ていたオス」と「見知らぬオス」を識別して，前者を性的パートナーとして積極的に選択する。さらに，「異性の好み」の形成に中枢神経モジュレーターである GnRH3 ニューロンが中心的な役割を持つことを見出した。具体的には以下の 4 点を示した。(1) デフォルト状態の GnRH3 ニューロンの自発的発火頻度は低く（2-3Hz），この状態ではメスは全てのオスの求愛を拒絶する。(2) メスが特定のオスを長時間見ると GnRH3 ニューロンが活性化して，自発的発火頻度が高くなる（4-5Hz）。(3) 活性化状態になると，メスは「見知ったオス」を配偶相手として選択的に受け入れる。(4) GnRH3 ニューロンが合成・分泌する GnRH3 神経ペプチドは GnRH3 ニューロン自身の神経活動を促進する働きがあり，メスが性的パートナーを受け入れる意思決定のスイッチとして働く。このようにメダカを対象にすることで，異性を視覚的に記憶し，性的パートナーとして積極的に受け入れる神経機構を世界で初めて解明することができた。（Science, 343, 91-94, 2014）

（7）複雑なニューラルネットワークを形成する分子メカニズム

八木　健（大阪大学・生命機能研究科 心生物学研究室）

ヒトの脳には，約 1000 億個の神経細胞があり，複雑なニューラルネットワークをつくっている。この複雑なニューラルネットワークが，一生にわたる莫大な情報を処理し，認知，記憶，創造，感情，運動をもたらす。また，これらの情報が統合され，意識や心が生まれる。個々の神経細胞は個性ある神経活動をもち，セル・アセンブリ（集団的活動）により情報が処理され，記憶し，統合される。脳における内的な情報を表す神経細胞のセル・アセンブリを担保し，統合をもたらす複雑なニューラルネットワークはどの様に形成され機能しているのであろうか？この疑問に答える為には，まず，脳において複雑なニューラルネットワークが形成されるメカニズムを明らかにする必要がある。興味深いことに，脳神経系で発現する多様化膜分子群であるクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）は，個々の神経細胞において異なったランダムな組み合わせ発現をしており，発生プログラムでの神経細胞の個性化に関わることが明らかになってきた。また，個々の cPcdh タンパク質はヘテロ 4 量体を形成し，ホモフィリックな（同じ組み合わせ同士の）細胞接着活性をもつことが明らかとなっている。この cPcdh 遺伝子欠損したマウスの解析，ノックインマウスの解析により，個々の神経細胞がつくる複雑なニューラルネットワーク形成の分子メカニズムと，その意義が明らかになってきている。

（8）視床下部神経による睡眠覚醒調節と記憶の制御

山中章弘（名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 2）

睡眠覚醒と記憶との関係は古くから示唆されているが，メカニズムは未だに分かっていない。我々は，視床下部に存在するメラニン凝集ホルモン(MCH)産生神経の睡眠覚醒調節と記憶制御における役割について解析を行った。MCH は，魚類の下垂体から抽出されたペプチドホルモンである。哺乳類では，視床下部のみに MCH 産生神経が局在し，そこから脳のほとんどの領域に軸索を投射している。合成した MCH ペプチドを脳室内に投与すると，摂食行動を惹起することや MCH 遺伝子を欠損したマウスの体重が軽いなどから摂食行動促進因子として知られていた。しかし，近年の研究から睡眠覚醒調節との関係が明らかになりつつある。MCH 神経の活動は，覚醒時にはほとんど認められず，ノンレム睡眠時に開始され，レム睡眠時に最大になることが報告された。これらのことは MCH 神経が睡眠覚醒調節において重要な役割を担っていることを示唆している。そこで，MCH 神経に光遺伝学を適用し，光を用いて MCH 神経活動を操作した。MCH 神経特異的にチャネルロドプシン 2(ChR2)を発現する遺伝子改変マウスを作成し，その活動を光で活性化したところ，レム睡眠の時間が約 3 倍に増加することを見いだした。一方，MCH 神経を脱落させたマウスでは，ノンレム睡眠時間の短縮と，覚醒時間の増加が認められたもののレム睡眠時間に変化は認められなかった。これらのことは，MCH 神経活動はノンレム睡眠とレム睡眠の両方に関わっていることを示しているものの，レム睡眠については，必須では無いことを示している。そこで，MCH 神経が脱落したマウスを用いて新奇物体認知試験などの記憶を評価する実験をおこなったところ，これらの MCH 神経脱落マウスが非脱落マウスと比較して高い記憶を示すことが明らかになった。本研究会では，これらの実験結果を基に MCH 神経活動と記憶との関係について紹介する。

（9）成体脳に新生するニューロンの光制御により明らかにする，睡眠中の記憶形成機構

坂口昌徳（筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構）

成人後の脳内では，一部の例外を除きニューロンは再生しない。しかし，脳内海馬の歯状回では，例外的に成人後でも盛んなニューロンの新生が起こる。脳の再生医学における一つの鍵は，新生ニューロンがいかに既存の神経回路へ組み込まれ機能を獲得するかを知ることにある。我々は，成体海馬で新生するニューロンが，既存のニューロンとともに記憶回路の一部を形成することを証明した （論文 1）。記憶の形成には睡眠が重要とされているがその詳細は不明である。そこで覚醒・睡眠段階に分け，新生ニューロンの興奮を光遺伝学を用いて抑制したところ，新生ニューロンが睡眠中に興奮することが記憶の形成に必須の役割りを果たすことを見出した（未発表）。今回の発表では，最新のプログレスとメカニズムに関し議論を行う予定である。

12. 感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻

2015 年 10 月 7 日－10 月 8 日

代表・世話人：古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科 薬理学分野）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

（1）快・不快情報に基づく行動選択における大脳基底核神経回路機構

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）

（2）マウス社会隔離ストレスによる不安亢進と
シナプス前終末可塑性における Rho 制御アクチン重合因子 mDia の役割

出口雄一（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
長崎大学創薬研究教育センター）

（3）情動制御の方略が脳活動および行動に及ぼす影響

野村理朗（京都大学大学院教育学研究科 教育認知心理学講座）

（4）ドパミン神経伝達を介した報酬シグナルの多面的解析

永井　拓（名古屋大学大学院医学系研究科 医療薬学・附属病院薬剤部）

（5）扁桃体中心核分子マーカーを手掛かりとした情動局所回路の理解

竹本（木村）さやか（名古屋大学 環境医学研究所 神経系 I 分野）

（6）社会性に関与するセロトニンの脳内メカニズム
; 非ヒト霊長類を用いた PET による分子イメージング研究

尾上浩隆（理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター
生命機能動的イメージング部門 イメージング機能研究グループ）

（7）脳組織における体細胞変異とエピゲノム解析による精神疾患の病因・病態解析

岩本和也（東京大学大学院医学系研究科 分子精神医学講座）

（8）情動変動に寄与する活性酸素種（ROS）－ROS 産生酵素 NADPH オキシダーゼの役割－

衣斐督和（京都府立医科大学大学院医学研究科 病態分子薬理学）

（9）精神疾患と精神神経免疫相関～その細胞分子生物学的基盤～

富田博秋（東北大学 災害科学国際研究所 災害精神医学分野）

(10) マウス反復社会ストレスモデルにおける自然免疫関連分子の役割

北岡志保（神戸大学大学院医学研究科 薬理学分野）

(11) 侵害受容性扁桃体による情動記憶の制御

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・痛み脳科学センター）

【参加者名】

古屋敷智之（神戸大学 大学院医学研究科　薬理学分野），池田和隆（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），衣斐督和（京都府立医科大学大学院 医学研究科 病態分子薬理学），永井　拓（名古屋大学 大学院医学系研究科 医療薬学・附属病院薬剤部），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），北岡志保（神戸大学大学院 医学研究科 薬理学分野），野村理朗（京都大学　大学院教育学研究科 教育科学専攻），岩本和也（東京大学 大学院医学系研究科 分子精神医学講座），南　雅文（北海道大学 薬学研究院 薬理学研究室），岡本　仁（理研 脳科学総合研究センター 発生遺伝子制御），疋田貴俊（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），齊藤　実（公益財団法人東京都医学総合研究所 学習記憶プロジェクト），竹本さやか（名古屋大学 環境医学研究所 ストレス受容・応答研究部門 神経系分野 1），尾上浩隆（理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター 生命機能動的イメージング部門 イメージング機能研究グループ），出口雄一（長崎大学 創薬研究教育センター），上野太郎（東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能 学習記憶プロジェクト），谷口将之（京都大学 医学研究科 生体情報科学講座），篠原亮太（神戸大学大学院 医学研究科 薬理学分野），聶　翔（京都大学大学院 生命科学研究科 垣塚研究室），友廣彩夏（京都大学 医学研究科 生体情報科学講座），渡部文子（東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 神経科学研究部門），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），天野大樹（北海道大学大学院薬学研究院 薬学研究院 薬理学研究室），加藤総夫（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部），富田博秋（東北大学 災害科学国際研究所 災害精神医学分野），永安一樹（大阪大学大学院 薬学研究科 附属創薬センター iPS 脳神経毒性プロジェクト），笠井淳司（大阪大学 薬学研究科 神経薬理学分野），大塚稔久（山梨大学 医学部 生化学講座第 1 教室），上田修平（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），小澤貴明（国立研究開発法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 記憶神経回路研究チーム），喜田　聡（東京農業大学 応用生物科学部），山田彬博（生理学研究所 神経シグナル部門），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），宮田麻理子（東京女子医科大学 生理学 第一），青木一郎（名古屋大学大学院 理学研究科 森研究室），大澤匡弘（名古屋大学薬学部），丸岡純也（名古屋大学薬学部），山口　翔（名古屋大学薬学部），吉村由美子（生理学研究所視覚情報処理），郷　康広（生理学研究所 新分野創成センターブレインサイエンス分野），若林正浩（生理学研究所），西尾奈々（生理学研究所視覚情報処理），粂和彦（名古屋市立大学），大森翔太（名古屋大学神経薬理学生命薬科），小川正晃（生理学研究所認知行動発達），宮下俊雄（生理学研究所視覚情報処理），長内康幸（生理学研究所分子神経生理），木田哲夫（生理学研究所感覚運動調節），鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），和氣弘明（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），稲田浩之（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），中畑義久（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），加藤大輔（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），堀内　浩（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機構研究部門），穐吉亮平（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），戸田拓弥（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門），春若航一路（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）

【概要】

情動は快と不快に大別される感情の動きであり，内的や外的な環境に応じて惹起され，身体的，生理的な変化とともに，行動の動機づけや選択を促す。一方，過度の情動や情動の遷延化，環境からの解離といった情動の異常は，精神疾患の発症や増悪も促す。情動の生物学的基盤については，げっ歯類，魚類，非ヒト霊長類などをモデル動物として数多くの研究が行われ，情動を担う脳領域の同定と各脳領域の機能分化，情動の制御を担う神経細胞可塑性や神経伝達物質の作用が同定されてきた。近年，神経投射選択的な神経活動操作法，網羅的な分子解析技術，脳領域・細胞種特異的な分子機能操作法など様々な技術が開発され，情動研究は飛躍的に発展した。例えば，報酬行動，忌避行動，社会行動など情動行動の各様式に対応した神経回路が同定・分離され，情動を担う神経細胞制御の分子細胞生物学的実体が同定され，グリア細胞も巻き込んだ脳内炎症の重要性も示されつつある。また，非侵襲的な分子イメージング，死後脳を用いた全ゲノム・エピゲノム解析，脳イメージングに応用可能な心理学的操作法の開発も進み，げっ歯類や魚類などで得た知見を，非ヒト霊長類からヒトの健常者，さらに精神疾患患者へと外挿することが可能になってきた。これらの技術革新や新発見は多岐に亘ることから，現状では，異なる学会や異なるセッション・シンポジウムでの発表や討論に限られている。そこで本研究会では，これらの情動研究を一堂に集めて，密な情報交換と活発な討論を行った。その結果，情動の多次元的な理解を共有し，各

研究の問題点や今後の方向性を探るとともに，情動の包括的理解には技術，階層，動物種を超えた学際的連携が必要であることを互いに確認した。今後もこのような研究会を通じ，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かつ継続的な発展に資するものと考えられる。

（1）快・不快情報に基づく行動選択における大脳基底核神経回路機構

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）

大脳基底核は，快・不快情報に基づく行動選択に重要な脳部位であり，薬物依存症や統合失調症などの精神神経疾患病態に深く関与している。快・不快情報とその予測誤差が腹側被蓋野のドーパミン細胞の発火パターンを変え，側坐核にシグナルを伝えることが明らかになっている。それに対して，ドーパミンの受け手である側坐核神経回路ではどのような情報伝達を行い，快・不快情報に基づく行動選択へとつなげているのかは不明であった。私たちは側坐核の直接路と間接路に対する可逆的神経回路伝達阻止法を開発し，報酬・忌避行動や薬物依存症形成における大脳基底核神経回路制御機構を解析した。直接路あるいは間接路の中型有棘細胞にドキシサイクリン依存的に破傷風菌毒素を発現させることによって直接路遮断あるいは間接路遮断を行い，直接路は報酬行動と薬物依存形成に，間接路は忌避行動にそれぞれ重要であることを示した。さらに，可逆的神経伝達阻止法と薬理学的処置の組み合わせによって，薬物依存および報酬行動には直接路 D1 ドーパミン受容体の活性化が，忌避行動には間接路 D2 受容体の不活性化が，それぞれ必須であることを示した。これらの結果から，快・不快情報に基づく行動選択において，ドーパミンによる直接路と間接路のスイッチングが，大脳基底核神経回路制御機構として働いていることが示唆された。

（2）マウス社会隔離ストレスによる不安亢進とシナプス前終末可塑性における Rho 制御アクチン重合因子 mDia の役割

出口雄一（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
長崎大学創薬研究教育センター）

心理的なストレスは不安亢進や鬱状態など情動変化を促し，精神疾患のリスク因子となる。ストレスの動物モデルでは広い脳領域で神経細胞の形態変化が見られるが，その役割や分子機序については不明な点が多い。mDia は Rho のエフェクター分子の一つであり，アクチン線維の重合を促進する。我々は mDia のコンディショナル欠損マウスを作成し，側坐核神経細胞に発現する mDia が社会隔離ストレスによる不安亢進に必須であることを示した。初代培養神経細胞では，神経活動抑制によりシナプス前終末において mDia が集積し，mDia 依存的にアクチン線維が形成された。また神経活動抑制により mDia 依存的なシナプス前終末の形態変化とシナプス伝達の機能的変化が惹起された。社会隔離ストレスでは，側坐核から腹側被蓋野に投射したシナプス前終末の形態変化やシナプスの機能変化が引き起こされることを発見した。mDia のシナプス前終末での役割に合致し，社会隔離ストレスによるこれらの変化にも側坐核神経細胞に発現する mDia が必須であった。以上の結果は，社会隔離ストレスによる不安亢進やシナプス前終末の機能形態変化に側坐核神経細胞の mDia が必須であることを示し，これらの機能にシナプス前終末での mDia によるアクチン線維形成が関与することを示唆する。これらの最新の知見を紹介し，神経細胞の形態可塑性と情動変化との関連性について議論を深めたい。

（3）情動制御の方略が脳活動および行動に及ぼす影響

野村理朗（京都大学大学院教育学研究科 教育科学専攻）

情動は，個体の目標に従って，自覚・無自覚的に制御される。そうした機構を成す扁桃体は，前部帯状皮質や前頭前野との双方向の神経連絡のもとで，一見するとヒト固有の情動や認知，およびその調整過程にも影響を与えている。また，自覚的に環境を評価し，意味づける認知的再構成（cognitive appraisal）といった方略は，不快な情動をただ単に抑制することと比して，以降の不快情動の緩和へと結びつきやすいことが明らかとなっている。その一方で，適応的とされる制御方略はかならずしも“最適”ではなく，例えば，認知的再構成においては，その意味づけを誤ると，かえって不快情動が高まるといった限界を呈する。こうした問題点に対し，本研究室は，脳機能賦活法（fMRI や NIRS）により，情動制御にかかわる気質などの個人内要因，および社会経済的地位（social economic status）等とその基盤となる神経機構を明らかにするとともに，種々の制御方略（MBT 等）にかかわる検討を重ねてきた。そこで得られた知見とともに，今回は，危機の検出・回避にともなう防衛的反応が，不快情動を高めることのみならず，むしろ線条体等の脳内報酬系を賦活し，快刺激に対する感受性を高めることを示す知見も報告する。

（4）ドパミン神経伝達を介した報酬シグナルの多面的解析

永井　拓（名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部）

中脳腹側被蓋野から側坐核に投射する中脳辺縁系ドパミン作動性神経系は報酬回路を構成する重要な神経系の一つである。側坐核におけるドパミンの標的細胞は GABA 作動性の中型有棘細胞 (MSNs) であり，ドパミン D1 受容体を発現する D1R-MSNs とドパミン D2 受容体を発現する D2R-MSNs に大別される。MSNs の細胞内シグナル伝達に関して，ドパミン D1 受容体は adenylate cyclase を介して protein kinase A (PKA) を活性化し，興奮性を高めることにより大脳皮質や視床から側坐核へ投射するグルタミン酸作動性神経のシナプス入力に対する反応性を増加させる。逆にドパミン D2 受容体は PKA を抑制し，D2R-MSNs の興奮性を抑制する。薬理学的な研究によって PKA は MSNs の興奮性だけではなく，報酬関連行動に関与するシナプス可塑性を制御することが示唆されている。しかしながら，PKA が D1R-MSNs の興奮性に関与しているのかどうかを実際に示した報告はなされていない。また，D1R-MSNs における PKA の活性化が報酬関連行動をどのように制御しているのかについては不明な点が多い。本研究会では，我々の成果をもとに報酬シグナルの制御機構について議論した。

（5）扁桃体中心核分子マーカーを手掛かりとした情動局所回路の理解

竹本（木村）さやか（名古屋大学・環境医学研究所・神経系 I 分野）

カルシウム依存性タンパク質リン酸化酵素 CaMKIgamma/CLICK-III は，成体マウス脳内において，扁桃体中心核抑制性神経細胞に選択的に発現する分子マーカーである。これまで，神経細胞の形態制御に関わることが複数のグループにより報告され，我々は，培養神経細胞において BDNF 依存的な樹状突起伸展を制御することを報告した。一方で，扁桃体中心核における生理機能は長年不明である。独自に作出した本酵素のノックアウトマウスは，恐怖記憶や社会行動などの非常に限定された情動行動において顕著な異常を示し，本酵素発現

細胞によって構成される神経回路が，恐怖記憶行動や社会行動といった情動行動に関わる脳内情報処理を担う可能性が示唆される。また，本酵素は樹状突起スパインに発現が多く，特定抑制性神経細胞においてカルシウム依存的シナプス可塑性を担う主要分子である可能性が高いと考えられる。近年，CaMKIgamma に限らず，扁桃体中心核では多くの分子マーカーが同定され，情動制御における各神経細胞の機能を，発現分子マーカーにより分別できる可能性が示されており，局所回路の理解を推進するうえで，これらの分子マーカー知見を活用することが有用である。

（6）社会性に関与するセロトニンの脳内メカニズム；非ヒト霊長類を用いた PET による分子イメージング研究

尾上浩隆（理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター
生命機能動的イメージング部門 イメージング機能研究グループ）

セロトニンは，感情の調節や社会性の行動的特性の形成に重要で，うつ病など様々な精神疾患にも関与している。しかし，そのメカニズムについては，未知の部分が多く残されている。陽電子放射断層撮影（PET）技術は，ヒトや非ヒト霊長類において特定の神経伝達物質系が脳全体においてどのように社会的行動の基盤に関わっているかについての in vivo での解析が可能である。我々はこれまでに，マカクザルや社会行動性が高いマーモセットを無麻酔下で測定可能な PET イメージングシステムを確立して来た。脳内セロトニン系とマーモセットの社会性行動の個性との関係や，ケタミンの抗うつ作用とセロトニン受容体との関係性についての解析において，セロトニントランスポーター（SERT）に選択性が高い[11C] DASB やセロトニン 1B（5-HT1B）受容体に特異的な[11C] AZ 10419369 を使用した PET イメージングは大変有効であった。

（7）脳組織における体細胞変異とエピゲノム解析による精神疾患の病因・病態解析

岩本和也（東京大学大学院医学系研究科分子精神医学講座）

統合失調症や双極性障害の発症には遺伝因子の関与が明らかにされているものの，現在までに確実に発症に関与するような因子の同定には成功していない。これらの疾患の発症には遺伝と環境因子の複雑な相互作用が関与しているとされており，環境要因の影響を受けて修飾状態が変動する DNA メチル化やヒストン修飾状態などエピジェネティクス研究により，病因・病態の一端が明らかにされると期待される。特に脳神経系細胞ゲノムでは，DNA メチル化に加えてハイドロキシメチル化，フォルミル化など多様なシトシン修飾状態の存在が報告されていることや，非 CpG 部位のメチル化など，これまでの想定を超えた複雑なエピゲノム制御機構が存在することが示唆されている。また脳神経系ゲノムでは，染色体異数性やトランスポゾン挿入変異など，一定の頻度で様々な種類の体細胞変異が生じていることが報告されている。これらの現象が，神経機能に重要な遺伝子やゲノム領域に生じた場合，高次脳機能や情動，精神疾患の病因や病態と深く関係すると推測される。

我々はこれまで，精神疾患患者死後脳を用いた研究により，神経細胞種特異的なエピゲノム変異やトランスポゾン動態の変動を見出している。本会では我々の最近の知見を紹介すると共に今後の課題を議論したい。

（8）情動変動に寄与する活性酸素種（ROS）
− ROS 産生酵素 NADPH オキシダーゼの役割−

衣斐督和，劉　俊傑，矢部千尋
（京都府立医科大学大学院医学研究科，病態分子薬理学）

近年，精神疾患における活性酸素種（ROS）の関与が示唆されているが，その産生源および制御機構については未だ不明である。本研究において，代表的な ROS 産生源である NADPH オキシダーゼの触媒サブユニット NOX1 が精神疾患発症に寄与する可能性について，Nox1 遺伝子欠損マウス（NOX1-KO）を用いて検討した。

社会敗北ストレスを負荷した野生型マウス（WT）にみられる社会行動の減少は NOX1-KO では認められなかった。またコルチコステロン（CORT）長期投与による不安様行動の増加とスクロース嗜好性の減少は，NOX1-KO で認められなかった。CORT 投与により WT の prefrontal cortex（PFC）で ROS 産生が増加した一方，NOX1-KO では変化がみられなかった。タンパクの酸化還元状態（レドックス）を網羅的に解析したところ，CORT 投与した WT の PFC において，数種のタンパクのレドックス変動を見出した。さらにうつ様行動の制御に関わる BDNF の発現を検討したところ，CORT を投与した WT の PFC における BDNF mRNA の減少は NOX1-KO では認められなかった。

本研究より NOX1/NADPH オキシダーゼが不安様・うつ様行動の発現に寄与すること，その機序には本酵素を介する BDNF mRNA の減少が関わることが明らかとなった。

（9）精神疾患と精神神経免疫相関〜その細胞分子生物学的基盤〜

富田博秋
（東北大学 災害科学国際研究所 災害精神医学分野）

精神疾患病態に免疫系と中枢神経系・精神活動が相互に作用しあう精神神経免疫相関現象が関与していることが示唆されて久しい。この現象に関連する知見として，サイトカイン濃度や活性化ミクログリア数の変化等に関する個別の現象に関する情報が集積されてきてはいるが，細胞の分子病態レベルでのメカニズムの理解や脳内病態と末梢の免疫系とを統一的に検討する試みは少なかった。一方，近年の技術開発により，精神疾患罹患病態への関与が示唆される特定の分画の免疫細胞の網羅的分子遺伝学的解析を行うことで，疾患の動物モデルや臨床検体における特定の免疫細胞の機能特性や病態への関与を検討することが可能になっている。また，精神疾患のモデルマウスや精神科治療薬を投与したマウスの脳内変化と末梢の免疫系の変化を統合的に解析することによって精神神経免疫相関現象のメカニズムの解明が進むことが期待される。現在までに，気分障害，統合失調症や心的外傷後ストレス障害などの病態形成や治療奏功機序に関与するミクログリアや末梢の免疫系細胞の分子遺伝学的な変化に関する知見が少しずつ集積されてきている。今後，精神疾患病態に関与する精神神経免疫相関機構やミクログリア病態に関する理解が更に深まることで，精神疾患の病態形成メカニズムの解明や精神科診療に有用な技術開発が進むことが期待される。

（10）マウス反復社会ストレスモデルにおける自然免疫関連分子の役割

北岡志保（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野）

ストレスは精神疾患のリスク因子であり，反復ストレスは情動や認知機能を変化させる。我々はマウス反復社会挫折ストレスモデルを用い，反復ストレスにより誘導される情動変化における炎症関連分子の役割を検討してきた。炎症メディエーターである PGE2 の合成に重要なシクロオキシゲナーゼー１（COX-1）が反復ストレスによる情動変化に必須であることが明らかとなった。COX-1 は脳内ではミクログリア特異的に発現しており，ストレスによる情動変化へのミクログリアの関与が示唆された。

うつ病患者の末梢血での炎症関連分子の上昇や，統合失調症患者の前頭前皮質でのミクログリアの活性化が報告されており，脳内の免疫担当細胞であるミクログリアと精神疾患との関連は世界的に注目されている。近年，Toll 様受容体（TLR）は，組織損傷や細胞ストレスによって細胞から放出されるダメージ関連分子（DAMPs）によって活性化され，炎症を誘導することが報告されている。ミクログリアには TLR が高発現していることから，我々は，反復ストレスにより DAMPs が放出され，細胞膜に局在する TLR を介し，ミクログリアを活性化するとの仮説を立てている。

現在，反復ストレスによるミクログリアの活性化および情動変化に TLR が必須であることを示しつつある。本発表では，反復ストレスによるミクログリア活性化の役割および分子機序について最新の知見を紹介する。

（11）侵害受容性扁桃体による情動記憶の制御

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・痛み脳科学センター）

「痛み」は「負の情動」を誘発し，危険信号として我々の生存に重要な役割を担っている。しかしながら，痛みがなぜ無条件に負情動へと直結するのか，の詳細な神経回路機構はいまだよくわかっていない。そこで我々はこの痛み神経回路に着目した。特に，侵害受容刺激による痛み信号を無条件刺激として用いる，恐怖条件付け学習におけるその役割の解析を行った。

痛み信号は，橋の腕傍核を介して扁桃体の中心核へと直接入力することが知られる。今回我々は，腕傍核にチャネルロドプシンを発現させ，扁桃体中心核で神経終末（腕傍核―中心核の直接経路）を光刺激することにより，侵害受容刺激を与えることなく，人工的に情動学習を成立させることに成功した。音刺激と光刺激の対提示を与えられたマウス群は，GFP コントロール群，非対提示群に比べ，音刺激提示による恐怖記憶の想起が有意に高かった。一方，腕傍核を薬理学的に抑制したマウスでは，その後の恐怖記憶形成が有意に減弱していた。これらの結果は腕傍核から中心核への入力が恐怖記憶形成に必要かつ十分であることを示唆する。本研究会では，このような腕傍核からの直接経路が負情動記憶形成における警告信号として機能することの意義を考察し，合わせて，直接経路刺激によって誘発されるマウスの flight 行動の解析結果も議論したい。

13. 生体ホメオスタシスの gateway としての上皮膜輸送マイクロホメオスタシス機構

2015 年 9 月 15 日－9 月 16 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）日本人アルコール性慢性膵炎患者に関連する L1156F-CFTR の機能

近藤志保 [1]，藤木理代 [2]，洪　繁 [3]，山本明子 [4]，中莖みゆき [4]，伊藤康友 [5]
Nikolay Shcheynikov[6]，北川元二 [2]，成瀬　達 [7]，石黒　洋 [4]
（[1] 名古屋女子大学家政学部，[2] 名古屋学芸大学管理栄養学部，
[3] 慶応義塾大学医学部システム医学講座，[4] 名古屋大学総合保健体育科学センター，
[5] 名古屋大学大学院医学系研究科分析機器部門，
[6]Epithelial Signaling and Transport Section, National Institute of Dental and Craniofacial Research, Bethesda, USA，
[7] みよし市民病院）

（2）細胞内 pH と Cl^- を介した気道線毛運動活性化機構：Ambroxol の効果

細木誠之 [1,2,3]，池内優紀子 [1]，小木曾遥香 [1]，中張隆司 [1,2,3]，丸中良典 [1,2,3]
（[1] 京都府立医科大学細胞生理学，[2] 京都府立医科大学 バイオイオノミクス，
[3] 平安女学院 日本食育・健康研究所）

（3）低リン食マウスの高 Ca 血症が誘発するアルカリ尿と代謝性アシドーシスの分子機構

安岡有紀子，大嶋友美，河原克雅（北里大学医学部生理学）

（4）強心配糖体による癌細胞グルコース輸送体の局在変化と機能抑制

藤井拓人，井口真由美，清水貴浩，酒井秀紀（富山大学院 薬 薬物生理学）

（5）Mg イオントランスポーターCNNM/MagEx の分子機能とがん悪性化

三木裕明（大阪大学・微生物病研究所）

（6）網羅的定量プロテオミクスと機能解析によるがん細胞株アミノ酸トランスポーターのプロファイリング

永森收志，Pattama Wiriyasermkul，五十棲規義，Pornparn Kongpracha，金井好克
（大阪大学大学院医学系研究科 生体システム薬理学）

（7）細胞膜リン脂質スクランブリングの分子機構

鈴木　淳（大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫・生化学）

（8）温度感受性 TRP チャネルを介した口腔粘膜の創傷治癒制御

合島怜央奈 [1,2,3]，王　冰 [3]，高尾知佳 [3]，三原　弘 [4]，加塩麻紀子 [4]
大崎康吉 [3]，張　旌旗 [3]，木附智子 [3]，村田祐造 [1]，富永真琴 [4]，城戸瑞穂 [3]
（[1] 佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学分野，
[2] 佐賀大学 医学部 歯科口腔外科学講座，
[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] 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門）

（9）2 型糖尿病疾患感受性遺伝子 SLC30A8/ZnT8 を介した膵からの亜鉛分泌は膵-肝の臓器間ネットワークを形成する

田蒔基行 [1,2]，藤谷与士夫 [2]，綿田裕孝 [2]
（[1] 徳島大学糖尿病臨床・研究開発センター，[2] 順天堂大学大学院代謝内分泌学）

（10）味覚経路の可視化と機能解析により表出される生体ホメオスタシス機構

杉田　誠，山本州代，廣野　力，柴　芳樹（広島大学大学院医歯薬保健学研究院 口腔生理学）

（11）細胞内クロライドイオンによる細胞機能制御メカニズム

宮崎裕明[1]，田中幸恵[1,3]，植　貴俊[1,4]，塩崎　敦[3]，市川大輔[3]，大辻英吾[3]，中山祐治[4]，丸中良典[1,2]
（[1]京都府立医科大学大学院 細胞生理学，[2]京都府立医科大学大学院 バイオイオノミクス，
[3]京都府立医科大学大学院 消化器外科学，[4]京都薬科大学 生命薬科学系生化学分野）

（12）内皮細胞形質膜を介した血流センシング機構

山本希美子[1]，安藤譲二[2]
（[1]東京大学大学院医学系研究科システム生理学，[2]獨協医科大学医学部生体医工学研究室）

（13）高速原子間力顕微鏡を用いた水チャネル AQP4 への自己抗体の結合・解離動態の直接観察

相馬義郎，山下隼人（慶應義塾大学医学部 薬理学教室）

（14）クロージン 15 欠損マウスにおけるペプチド吸収機構

林　久由（静岡県立大学 食品栄養科学部 生理学研究室）

【参加者名】

鈴木　淳（大阪大学），三木裕明（大阪大学），山本希美子（東京大学），金井好克（大阪大学），石黒　洋（名古屋大学），丸中良典（京都府立医科大学），加塩麻紀子名（京都府立医科大学），近藤志保（名古屋大学），樽野陽幸（京都府立医科大学），中張隆司（京都府立医科大学），酒井秀紀（富山大学），奥井元貴（京都府立医科大学），孫　紅昕（京都府立医科大学），永森收志（大阪大学），林　久由（静岡県立大学），河原克雅（北里大学），大嶋友美（北里大学），細木誠之（京都府立医科大学），杉田　誠（広島大学），合島怜央奈（佐賀大学），池内優紀子（京都府立医科大学），宮崎裕明（京都府立医科大学），小木曽遥香（京都府立医科大学），藤井拓人（富山大学），田蒔基行（徳島大学），中島謙一（京都府立医科大学），桑原厚和（静岡県立大学），相馬義郎（慶應義塾大学），藤木理代（名古屋学芸大学），桑原裕子（愛知医科大学），田中早織（大阪薬科大学），鍋倉淳一（生理学研究所），古瀬幹夫（生理学研究所），鈴木喜郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター）泉　裕士（生理学研究所），菅原太一（生理学研究所），内田邦敏（生理学研究所），和氣弘明（生理学研究所），江藤　圭（生理学研究所），稲田浩之（生理学研究所），中畑義久（生理学研究所），宮本愛喜子（生理学研究所），加藤大輔（生理学研究所），堀内　浩（生理学研究所），中村佳代（生理学研究所），穐吉亮平（生理学研究所），戸田拓弥（生理学研究所），春若航一路（生理学研究所）

【概要】

上皮膜による物質輸送は，体液恒常性の維持，栄養素の吸収，不要物の排出，消化液の分泌等の役割を果たし，生体ホメオスタシスに必須の役割を果たす。上皮細胞による物質輸送はホルモン性・神経性に調節され，生体ホメオスタシスの効果器として機能する一方で，上皮細胞自身が細胞膜や細胞内外の微小環境の変化に対応し，微小環境のホメオスタシスを保持し，そのマイクロホメオスタシス機構が生体ホメオスタシスの保持に繋がることが考えられる。上皮細胞は細胞内外のイオン濃度，アミノ酸・糖の濃度，細胞膜リン脂質配置，活性酸素種濃度，酸化還元状態，エネルギー代謝状態の時々刻々の変化をモニターしながら，それらの変化に対応し，イオン・アミノ酸・糖・リン脂質を輸送する膜輸送タンパク質の活性や発現量を調節し，マイクロホメオスタシスを保持する。単一遺伝子の異常により，多遺伝子の機能異常の複合により，もしくは外的侵襲により，それらのマイクロホメオスタシス機能が破綻すると，細胞内微小環境の恒常性が乱れ，細胞癌化，細胞死誘導，炎症性変化等が誘発される。本研究では，生体ホメオスタシスの gateway としての上皮膜輸送マイクロホメオスタシスの時空間ダイナミクスの理解を深めこと，及びそれらの機能の破綻による病態発現機構を探究し，時空間ダイナミクスの異常を修復する新規ストラテジーを考案することを目指した。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，細胞癌化・細胞死誘導・創傷治癒・糖尿病発症等の機構を生化学的・分子生物学的・遺伝学的視点で研究する者の接点をもうけ，また 1 分子レベル・分子複合体レベル・細胞レベル・システムレベルのそれぞれで

研究する者の接点をもうけ，それらの融合により，上皮膜輸送マイクロホメオスタシス機構と分子間機能協関の統合的理解を深め，機能異常の発現機構や機能異常を修復する新しいストラテジーを考察した。

（1）日本人アルコール性慢性膵炎患者に関連する L1156F-CFTR の機能

近藤志保[1]，藤木理代[2]，洪　繁[3]，山本明子[4]，中莖みゆき[4]，伊藤康友[5]
Nikolay Shcheynikov[6]，北川元二[2]，成瀬　達[7]，石黒　洋[4]
（[1]名古屋女子大学家政学部，[2]名古屋学芸大学管理栄養学部，
[3]慶応義塾大学医学部システム医学講座，[4]名古屋大学総合保健体育科学センター，
[5]名古屋大学大学院医学系研究科分析機器部門，
[6]Epithelial Signaling and Transport Section, National Institute of Dental and Craniofacial Research, Bethesda, USA，
[7]みよし市民病院）

【緒言】日本人において嚢胞性線維症（CF）は稀であるが，慢性膵炎患者の約半数で汗中 Cl^-濃度が高く cystic fibrosis transmembrane conductance regulator（CFTR）の軽度機能低下が推定されている。本研究では，日本の慢性膵炎患者における *CFTR* 遺伝子の変異および多型を解析し，アルコール性慢性膵炎との関連が新たに判明した L1156F 多型の生理機能を解析した。

【方法】アルコール性慢性膵炎患者 70 名，特発性慢性膵炎患者 18 名および健常者 180 名を対象とした。*CFTR* 全エクソンとその上下流数 bp の塩基配列をシーケンス解析した。変異 *CFTR* を HEK293 細胞に導入，ウエスタンブロット解析により CFTR タンパク発現量を測定し，ホールセルパッチクランプ法を用いて Cl^-電流を測定した。アフリカツメガエル卵母細胞を用いて変異 CFTR の HCO_3^-輸送および Cl^-輸送を測定した。CFPAC-1 細胞を用いて CFTR 依存性 Cl^--HCO_3^-交換輸送活性を算出した。

【結論】日本人固有の *CFTR* 遺伝子多型である L1156F 多型は M470V 多型とリンクしており，共存することで CFTR タンパク発現量の低下，CFTR の HCO_3^-および Cl^-輸送機能の障害が見られた。これによる CFTR の軽度機能低下が，日本人におけるアルコール性慢性膵炎の発症リスクであることが示唆された。

（2）細胞内 pH と Cl^-を介した気道線毛運動活性化機構：Ambroxol の効果

細木誠之[1,2,3]，池内優紀子[1]，小木曾遥香[1]，中張隆司[1,2,3]，丸中良典[1,2,3]
（[1]京都府立医科大学細胞生理学，[2]京都府立医科大学 バイオイオノミクス，
[3]平安女学院 日本食育・健康研究所）

気道線毛運動は粘液線毛クリアランス維持に主たる役割を果たしている。Ambroxol（ABX）は去痰剤として広く使用され，気道線毛運動を活性化する事が報告されているが，活性化機構は不明である。本研究では，マウス細気管支線毛細胞での ABX の線毛運動活性化機構を検討した。

【方法】マウス肺からエラスターゼ処理により細気管支線毛細胞を単離，高速度カメラを用い線毛運動の周波数（CBF）と振幅（CBA）を測定した。

【結果】

1）pH_i 上昇を介した CBF・CBA の活性化：ABX(10 μM) は，NBC 活性化を介した HCO_3^- の細胞内への流入促進による pH_i 上昇を引き起こし，CBF・CBA を増加させた。

2）$[Cl^-]_i$ 減少を介した CBA の活性化：ABX(10 μM) は，nifedipine 感受性 Ca^{2+} channel 活性化を介した細胞内への Ca^{2+} 流入促進による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を引き起こし，その結果 Ca^{2+} 依存的に KCl effluxes をもたらし，細胞容積減少を惹起した。その結果，細胞容積減少に伴う $[Cl^-]_i$ 減少

が引き起こされ，この$[Cl^-]_i$減少が CBA を増加させた。
【結論】ABX は，pH_i 上昇と$[Cl^-]_i$ 減少を惹起することにより，CBF と CBA を増加させた。ABX が，細胞内イオン環境および上皮膜輸送を制御することにより，粘液線毛クリアランスに重要な役割を果たす気道上皮線毛運動および HCO_3^-・Cl^- 分泌をともに調節するという連結的制御を行なっている可能性を見出した。

（3）低リン食マウスの高 Ca 血症が誘発するアルカリ尿と代謝性アシドーシスの分子機構

安岡有紀子，大嶋友美，河原克雅（北里大学医学部生理学）

腎皮質集合管 B 間在細胞(IC-B: アルカリ分泌細胞)の側底膜 Ca 感知受容体（CaSR）の発現量は，酸（NH_4Cl）負荷（7 日）により低下，アルカリ（$NaHCO_3$）負荷（7 日）により増加した(Yasuoka Y, et al.2014)が，その本来的役割は不明である。我々は, 低リン食飼育マウスを使って，高 Ca 血症（血中リン濃度は正常域内）に起因する高 Cl^- 型代謝性アシドーシスの分子機序を調べた。
【方法】C57BL/6J マウス（雄，10 wk）を，(a)標準食, (b) 0.1%低リン食 (mLP), (c) 0.02%低リン食 (sLP)で飼育し，血漿・尿組成，集合管細胞の当該・関連遺伝子発現（定量型 ISH 法），蛋白発現（IHC 法）を解析した。
【結果】低リン食飼育マウスの血漿$[Ca^{2+}]$・尿中 Ca 排泄量は有意に増加した[血漿 7.4, 8.2*, 9.9** mg/dl; 尿 88, 115*, 2,279** μg/日 (対照，mLP, sLP の順；*p< 0.05, **p<0.005)（以下同様）]。血漿 pH は，7.37（対照）から 7.36 (n.s.) (mLP), 7.26** (sLP)に低下したが，尿 pH は予想に反しアルカリ化した（6.3, 6.9**, 7.4**）。集合管の膜機能タンパクの発現量は，Pendrin（IC-B 管腔膜 Cl^-/HCO_3^- 輸送体），AE4（IC-B 側底膜 Cl^-/HCO_3^- 輸送体）が増加し，IC-A（髄質外層集合管）の管腔膜 H^+ ATPase, 側底膜 AE1 発現量は減少した。
【結論】短期低リン食飼育マウスの高 Ca 血症が誘発する「アルカリ尿と高 Cl^- 型代謝性アシドーシス」は，腎集合管 IC-B 側底膜の CaSR を介する Pendrin の活性化による「酸塩基バランスを考慮しない尿中 HCO_3^- 分泌」に起因すると考えられた。

（4）強心配糖体による癌細胞グルコース輸送体の局在変化と機能抑制

藤井拓人，井口真由美，清水貴浩，酒井秀紀（富山大学院 薬 薬物生理学）

癌細胞の原形質膜には，一般的に，グルコーストランスポーター（GLUT）が，高いレベルで発現している。我々は，種々のヒト癌細胞株において，Na^+,K^+-ATPase 阻害剤である強心配糖体（digoxin，ouabain，oleandrin）が，GLUT1 の分布と機能に及ぼす効果を検討した。癌細胞を，Na^+,K^+-ATPase のイオン輸送能を阻害しない濃度（nM レベル）の各種強心配糖体で処理すると，いずれの場合も，原形質膜に優位であった GLUT1 の発現分布が，細胞質優位の分布に変化し，さらに，GLUT1 のトータル発現量が顕著に減少した。これにともない，癌細胞の$[^3H]$ 2-deoxy-D-glucose 取り込み能が顕著に減少した。CaMKII 阻害剤の KN-93 およびCa^{2+}キレート剤の BAPTA-AM は，強心配糖体が引き起こす効果を，有意に減弱させた。他方，イオン輸送機能を有しない Na^+,K^+-ATPase は，膜マイクロドメインに局在するものと考えられているが，methyl-β-cyclodextrin は予想に反して効果がなかった。 以上より, ヒト癌細胞において, nM レベルの強心配糖体は，膜マイクロドメイン以外の Na^+,K^+-ATPase に作用し，CaMKII の活性化を介して，原形質膜の GLUT1 発現量とグルコース取り込み量を減少させるものと考えられた。

（5）Mg イオントランスポーターCNNM/MagEx の分子機能とがん悪性化

三木裕明（大阪大学・微生物病研究所）

私たちは大腸がんの悪性化を引き起こす PRL の結合分子として，進化的に高度に保存された膜蛋白質 CNNM/MagEx（Magnesium-exporting protein）を見つけた。CNNM/MagEx 発現細胞での元素分析やライブイメージング解析などにより，CNNM/MagEx が Na^+流入に共役して Mg^{2+}を排出するトランスポーターであることを明らかにした。CNNM/MagEx4 は腸で強く発現しており，上皮細胞の細胞膜基側部に局在していた。*CNNM/MagEx4* 遺伝子を欠損させたマウスは，腸でのマグネシウム吸収が大きく妨げられ，低マグネシウム血症状態になっていた（PLoS Genet. 2013）。一方，PRL は CNNM/MagEx に結合することでMg^{2+}排出機能を阻害しており，このMg^{2+}排出阻害がん悪性化の原因となる可能性が示唆された。実際，腸で自然にポリープを形成する *Apc* ヘテロ欠損マウスと *CNNM/MagEx4* 欠損マウスを掛け合わせると，通常上皮内に留まっているポリープが悪性化して筋層に浸潤していた（J. Clin. Invest. 2014）。本研究会では，CNNM/MagEx の Mg^{2+}トランスポーターとしての分子機能や，その機能不全によるがん悪性化についての研究成果について説明する。

（6）網羅的定量プロテオミクスと機能解析によるがん細胞株アミノ酸トランスポーターのプロファイリング

永森收志，Pattama Wiriyasermkul，五十棲規義，Pornparn Kongpracha，金井好克
（大阪大学大学院医学系研究科 生体システム薬理学）

がん細胞では，高い増殖能や亢進した細胞内代謝を維持するため，糖やアミノ酸などの栄養トランスポーターの発現が高まっている。アミノ酸は，タンパク質合成の基質かつ生体反応を制御するシグナル因子として重要であり，その輸送系全体像の把握が求められていた。一方で，トランスポーターのタンパク質レベルでの網羅的かつ定量的な検出が容易でないことから，アミノ酸輸送系全体像の把握は困難であった。そこで，我々は膜タンパク質の網羅的定量プロテオミクス法を確立した。これを用いて，30 種以上のがん細胞株を解析し，アミノ酸トランスポーターの比較定量発現プロファイルを取得し，11 種のがん細胞株に関して，アミノ酸輸送能を測定し比較した。Leu を含む多くの必須アミノ酸の取り込みを担う LAT1 (SLC7A5)は，がん細胞特異的に高発現し，その発現はがんの悪性度と相関し，さらにその抑制は抗腫瘍効果を示すことが明らかになっている。LAT1 はほぼすべての細胞株で発現が見られ，加えて機能解析により，LAT1 はがん細胞における Leu 輸送の主要な経路であることが示された。また，多くのがん細胞株で発現が上昇する LAT1 以外のアミノ酸トランスポーターが，複数明らかになった。本研究により，がん細胞におけるアミノ酸輸送の全体像が網羅的に解明され，がんの代謝制御におけるアミノ酸トランスポーターの役割を解析するための基盤情報が得られた。

（7）細胞膜リン脂質スクランブリングの分子機構

鈴木　淳（大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫・生化学）

細胞膜を構成するリン脂質は非対称性を有しており，ホスファチジルセリンは細胞膜の内側にホスファチジルコリンは主に細胞膜の外側に位置している。しかしながらこの非対称性は生体内において様々な局面で崩壊し，

ホスファチジルセリンは細胞表面に露出する。この過程にはリン脂質を区別なく双方向に輸送する（スクランブルする）スクランブラーゼが関わると考えられていたが，その分子的実体は長らく不明であった。我々は最近，活性化した血小板においてカルシウム依存的に活性化しリン脂質をスクランブルさせるタンパク質として TMEM16F を，アポトーシス時にカスパーゼに切断されることで活性化しリン脂質をスクランブルさせるタンパク質として Xkr8 を同定した。TMEM16F は 10 個のファミリーメンバーより成る TMEM16 ファミリー，Xkr8 は 9 個のファミリーメンバーより成る Xkr ファミリーに属しており，そのファミリーメンバー（TMEM16 ファミリー: 16C, 16D, 16G, 16J; Xkr ファミリー : Xkr4, Xkr9）にもリン脂質のスクランブル活性があることが分かってきた。本研究会では，最新の知見について報告しリン脂質のスクランブリング機構について議論したい。

（8）温度感受性 TRP チャネルを介した口腔粘膜の創傷治癒制御

合島怜央奈 [1,2,3]，王　冰 [3]，高尾知佳 [3]，三原　弘 [4]，加塩麻紀子 [4]
大崎康吉 [3]，張　旌旗 [3]，木附智子 [3]，村田祐造 [1]，富永真琴 [4]，城戸瑞穂 [3]
（[1] 佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学分野，
[2] 佐賀大学 医学部 歯科口腔外科学講座，
[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] 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門）

消化管の入口である口腔は，多様な刺激に曝されており傷が生じやすい。一方で，口腔上皮は再生力が高く皮膚よりも速やかな創治癒を経る。温度センサーとして知られる transient receptor potential vanilloid 3 (TRPV3) チャネルは 33℃以上の温かい温度で活性化する非選択的な陽イオンチャネルで，皮膚の角化細胞に高発現することが知られている。本研究では口腔上皮に発現する TRPV3 チャネルが速やかな創治癒もたらすと仮定し検討を行った。

マウス口腔上皮には温度感受性 TRP チャネル群が発現し，TRPV3 mRNA は皮膚上皮よりも口腔上皮に多く発現していた。急性単離した口腔上皮細胞へ温度刺激を加えると TRPV3 を介した細胞内カルシウムの上昇および電流応答を認めた。マウス上顎第一臼歯の抜歯創傷モデルでは創部での TRPV3 の発現が増加していた。さらに TRPV3 遺伝子欠失マウス (TRPV3KO) の創治癒は野生型マウス (WT) と比較して遅延していた。TRPV3KO の口腔粘膜では WT と比較して上皮成長因子受容体のリン酸化が低下し，さらに細胞増殖マーカーの減少を認めた。また，培養口腔上皮細胞への TRPV3 活性化刺激により細胞数および細胞増殖マーカー陽性細胞数が増加した。

以上の結果より，口腔粘膜には口腔内の温かい温度を積極的に感知する機能的な TRPV3 チャネルが発現し，上皮細胞の増殖を促進することで速やかな粘膜創傷もたらすことが示唆された。

（9）2 型糖尿病疾患感受性遺伝子 SLC30A8/ZnT8 を介した膵からの亜鉛分泌は膵-肝の臓器間ネットワークを形成する

田蒔基行 [1,2]，藤谷与士夫 [2]，綿田裕孝 [2]
（[1] 徳島大学糖尿病臨床・研究開発センター，[2] 順天堂大学大学院代謝内分泌学）

【背景】*SLC30A8* の SNP(rs13266634)は全ゲノム関連解析(GWAS)にて報告された 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子である。*SLC30A8* がコードする亜鉛トランスポーター 8(ZnT8)は主に膵 β 細胞に発現し，インスリン顆粒内での

インスリンの結晶化に関与することは知られていたが，糖尿病発症を助長するメカニズムは不明であった。そこでわれわれは膵β細胞特異的 ZnT8 欠損マウス(KO)を作製し，ZnT8 の役割を検討した。

【結果】KO は糖負荷試験にて軽度の高血糖を呈し，末梢血中のインスリン濃度は低下していたが，おどろくべきことに単離膵島あるいは灌流試験においては KO のインスリン分泌は亢進していた。つまり KO では(1)膵β細胞からのインスリン分泌が亢進しているが，(2)肝にてクリアランスされてしまうことがわかった。そして膵から分泌された亜鉛が，肝でのクラスリン依存性のインスリン受容体取り込み抑制を介して，インスリンクリアランスの抑制を行っているという新たな知見を得た。さらにわれわれは，ヒトにおいても *SLC30A8 のリスクアリル保有者が実際に*インスリンクリアランス障害を引き起こしていることを確認した。

【結語】われわれは膵からの亜鉛分泌が門脈を介して肝でのインスリンクリアランスを制御する内因性のシグナルであることを初めて明らかにし，生体内において亜鉛が臓器間ネットワークに重要な役割を果たしていることを示した。

（10）味覚経路の可視化と機能解析により表出される生体ホメオスタシス機構

杉田　誠，山本州代，廣野　力，柴　芳樹（広島大学大学院医歯薬保健学研究院 口腔生理学）

苦味受容体 T2R を発現する苦味受容味細胞に経細胞性に移行する蛍光標識トレーサー (tWGA-DsRed)を発現させ，苦味受容味細胞から移行したトレーサーにより標識されるニューロンを検出し，苦味情報を伝導し処理するニューロンの脳内局在，ニューロン種およびシナプス伝達様式を解析した。苦味受容味細胞で発現した tWGA-DsRed を受け取るニューロンは延髄孤束核の後方部に集積した。苦味情報を受け取る延髄孤束核ニューロンは，少なくとも３種に分類され，tyrosine hydroxylase (TH) を発現するカテコールアミンニューロン， POMC ニューロン，および TH と POMC を発現しないニューロンが検出された。一方，延髄孤束核からの情報を受け取る結合腕傍核の tWGA-DsRed 標識ニューロンは後方 medial 側と前方 external-lateral 側に観察され，局在の異なる２種の tWGA-DsRed 標識ニューロンにおいては，カテコールアミンニューロンから放出されるノルアドレナリンと POMC ニューロンから放出される α-MSH に対する反応性が異なり，シナプス伝達や伝達修飾の機序に差異が観察された。味覚伝導路構成ニューロンは摂食行動の恒常性を維持するニューロンと一部分重複し，味覚システムと摂食行動の恒常性を維持するシステムの活性は相互に調節されることが示唆された。

（11）細胞内クロライドイオンによる細胞機能制御メカニズム

宮崎裕明[1]，田中幸恵[1,3]，植貴俊[1,4]，塩崎敦[3]，市川大輔[3]，大辻英吾[3]，中山祐治[4]，丸中良典[1,2]
（[1]京都府立医科大学大学院 細胞生理学，[2]京都府立医科大学大学院 バイオイオノミクス，
[3]京都府立医科大学大学院 消化器外科学，[4]京都薬科大学 生命薬科学系生化学分野）

一般に，Na^+, K^+や Ca^{2+}といった陽イオンの細胞内濃度変化は，神経興奮，神経伝達物質の放出，筋の興奮収縮など様々な細胞機能に重要な役割を果たしていることが知られている。一方，陰イオンの細胞内における生理的な役割については，ほとんど着目されていなかった。そこで我々は，細胞内に最も多く存在する陰イオンである Cl^- に着目し，細胞内 Cl^- が細胞機能に与える影響について検討を行ってきた。胃癌由来細胞株では細胞内 Cl^- の低下が G_1 期から S 期にかけての細胞周期進行を特異的に抑制することが明らかになった。また，細胞周期進行に伴った Na^+-K^+-$2Cl^-$ 共輸送体(NKCC)の発現・活性レベルが変化し，それに伴った細胞内 Cl^- 濃度の変化が認め

られた。即ち，Cl^- 輸送体の発現・活性が変化することで細胞内 Cl^- 濃度が変化し，細胞周期の進行・停止が制御されていると考えられる。さらに細胞内 Cl^- 濃度は，細胞増殖や細胞運動に関わるシグナル経路のキーエンザイムである cSrc や FAK の活性を変化させた。また，E-cadherin, EpCAM や Integrin といった細胞間や細胞と細胞外マトリクスとの結合に関与する接着因子の発現にも影響を与え，癌細胞の転移や浸潤に関しても関与している可能性が示唆された。以上のことから，細胞内 Cl^- は様々な細胞機能の重要な調節因子として機能していることが明らかになった。

（12）内皮細胞形質膜を介した血流センシング機構

山本希美子 [1]，安藤譲二 [2]
（[1] 東京大学大学院医学系研究科システム生理学，[2] 獨協医科大学医学部生体医工学研究室）

血管内面を一層に覆う内皮細胞には，血流に起因する shear stress や血圧に基づく stretch などの力学的刺激が作用し，血管の機能を調節している。我々は内皮細胞における血行力学因子の感知機構を明らかにすることを目的に，shear stress によりヒト肺動脈内皮細胞（HPAECs）の細胞膜ミクロドメインのカベオラから内因性 ATP が放出し，ATP 作動生の P2X4 を活性化させ，細胞内へ Ca^{2+} が流入する機構を見出した。また，shear stress により細胞膜の lipid order が減少し，流動性が増加した一方，stretch 刺激では lipid order が増大し, 流動性が減少した。この変化は人工脂質二分子膜でも同様であったことから，物理現象であることが示された。さらに，shear stress により血管内皮増殖因子受容体（VEGFR）が，stretch により血小板由来増殖因子受容体（PDGFR）がリン酸化するが，細胞にコレステロールを添加して shear stress による lipid order の変化を減少させると shear stress による VEGFR のリン酸化が有意に抑制され，膜コレステロールを除去する MβCD により stretch による lipid order の変化を減少させると，stretch による PDGFR のリン酸化が抑制された。これらの結果から形質膜自体がメカノセンサーとして働く可能性が考えられる。

（13）高速原子間力顕微鏡を用いた水チャネル AQP4 への自己抗体の結合・解離動態の直接観察

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，抗原－抗体反応の分子レベルの動態は未知であった。

水チャネル AQP4 は，消化管上皮細胞に発現して水の輸送経路を形成するとともに，中枢神経系のアストロサイトの血管側の end-foot に高密度に発現してクラスターを形成することにより，Blood-Brain-Barrier (BBB)の成立に寄与している。この AQP4 を自己抗原とする自己免疫疾患として，視神経脊髄炎 Neuromyelitis optica (NMO)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・解離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ついての最新の知見を紹介する。

（14）クロージン 15 欠損マウスにおけるペプチド吸収機構

林　久由（静岡県立大学 食品栄養科学部 生理学研究室）

ペプチドは，プロトンとの共輸送機構(pepT1)により小腸から吸収されている。この吸収機構の駆動力の維持には，Na^+/H^+ 交換輸送体(NHE3)が重要であると考えられている。このため小腸の Na^+ 代謝が変化したクロージン 15 欠損マウス(Cldn15$^{-/-}$)を用いて，野生型(WT)と比較し，小腸でのペプチド吸収機構の検討を行った。マウスに難水解性のペプチドである ^{3}H-Gly-Sar と非吸収性のマーカーとして ^{14}C-PEG4000 を添加した飼料を摂取させ腸管各部位での ^{3}H-Gly-Sar 吸収速度を測定した。WT では，Gly-Sar は上部空腸で高い吸収速度が観察されたが，Cldn15$^{-/-}$ではその吸収は抑制されていた。管腔側表面 pH は Cldn15$^{-/-}$ではアルカリ化が観察された。Ussing チャンバー法で Gly-Sar を粘膜側に添加した際の短絡電流(I_{sc})を測定した。WT では，濃度依存的に I_{sc} の上昇が観察され，この I_{sc} 上昇は NHE3 の特異的抑制剤 S3226 で抑制された。しかし，Cldn15$^{-/-}$では Gly-Sar 添加による I_{sc} 上昇は低下していた。リアルタイム RT-PCR 法で pepT1,NHE3 の発現量を調べると Cldn15$^{-/-}$では WT に比べ増加していた。以上より Cldn15$^{-/-}$では NHE3 の活性化機構が低下していることがペプチド吸収能低下の原因であることが示唆された。

14．心臓・血管系の包括的な機能統合研究

2015 年 10 月 29 日－10 月 30 日

代表・世話人：松岡　達（福井大学医学部 統合生理学）

所内対応者：西田基宏（生理学研究所 心循環シグナル研究部門）

（1）心臓生理学研究 50 年史と私の研究歴

○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）

（2）詳細な細胞モデルから構築する心臓モデル

○天野　晃（立命館大学生命科学部 生命情報学科）

（3）G 蛋白活性調節因子 AGS8 による VEGF 受容体の調節

○林　寿来，Abdullah Al Mamun，佐喜眞未帆，佐藤元彦

（愛知医科大学 生理学講座）

（4）p38MAPK 活性の定量的イメージングにより明らかになった新たな炎症シグナル伝達機構

○冨田太一郎，伊藤雅方，関　由成，杉本結衣，赤羽悟美

（東邦大学医学部 生理学講座 統合生理学分野）

（5）細胞内カルシウムセンサーによる心筋ストレス防御機構

○西谷（中村）友重[1]，中尾　周[1]，若林繁夫[2]

（[1]国立循環器病研究センター・分子生理部，[2]国立循環器病研究センター・心臓生理機能部）

（6）遺伝子改変マウスを用いた NCLX の心血管機能解析

○喜多紗斗美，田頭秀章，岩本隆宏（福岡大学医学部薬理学）

（7）ミトコンドリア品質管理に着目した Ca^{2+}拮抗薬の適応拡大

○島内　司[1,2]，石川達也[2,3]，冨田拓郎[1]，西村明幸[1]，西田基宏[1,2,4]

（[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育薬研究施設統括室，[3]味の素㈱）

（8）高脂肪食負荷がもたらす気道インスリン抵抗性による COPD 病態の悪化

○野原寛文[1,2]，首藤　剛[1]，亀井竣輔[1,2]，藤川春花[1,2]

中嶋竜之介[1]，丸田かすみ[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」）

（9）内皮バリアー障害の初期事象としてのミオシン 2 リン酸化の特異的役割

○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）

（10）マウス冠血管形成における性差について

児玉昌美，古川哲史，○黒川洵子（東京医科歯科大学難治疾患研究所）

（11）家族性心臓伝導障害に同定されたコネキシン遺伝子変異とその機能異常

○石川泰輔[1]，西井明子[2]，斎藤加代子[2]，三嶋博之[3]，大槻早紀[1]，稲田　慎[4]

ダニエル・ハーレル[1]，辻　幸臣[1]，中沢一雄[4]，吉浦孝一郎[3]，萩原誠久[2]，蒔田直昌[1]

（[1]長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子生理学，

[2]東京女子医科大学大学院医学研究科 循環器内科学，

[3]長崎大学原爆後障害医療研究所 人類遺伝学，

[4]国立循環器病研究センター 研究情報基盤管理室）

（12）心臓における新規 Apelin 受容体リガンド Apela の機能的意義の解析

佐藤輝紀[1,2]，佐藤チトセ[1]，渡邊博之[2]，門脇歩美[1]，山口智和[1]，
木村彰方[4]，深水昭吉[5]，伊藤　宏[2]，今井由美子[3]，○久場敬司[1]
（[1]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，[2]循環器内科学呼吸器内科学講座，
[3]情報制御学・実験治療学講座，[4]東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態分野，
[5]筑波大学大学院生命環境科学研究科）

（13）血管平滑筋の筋張力制御因子とジャンクトフィリン 2 の分子間相互作用の解明

○佐伯尚紀[1]，鈴木良明[1]，山村寿男[1]，竹島　浩[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]京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野）

（14）低酸素培養による脳血管内皮細胞の Ca^{2+}動態変化に対する Kir2.1 の寄与

○山村英斗[1]，鈴木良明[1]，山村寿男[1]，浅井清文[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分野，
[2]名古屋市立大学大学院医学研究科分子神経生物学分野）

（15）心筋細胞 HL-1 の周期的 Ca transient 発生における vitamin D receptor の関与

○村田拓也，竹内綾子，松岡　達（福井大学医学部形態機能医科学講座・統合生理学）

（16）TRIC-A 欠損によるイソプロテレノール誘発性心臓線維化

○山崎大樹[1,2]，張　願書[2]，駒崎伸二[3]，竹内綾子[4]，王　朝弘[2]，趙　成珠[2]
Ki Ho Park[5]，西　美幸[2]，松岡　達[4]，Jianjie Ma[5]，竹島　浩[2]
（[1]国立医薬品食品衛生研究所・薬理部，[2]京都大学大学院薬学研究科・生体分子認識学，
[3]埼玉医科大学・解剖学，[4]福井大学医学部・形態機能医科学，[5]Ohio State University）

（17）心筋細胞にみられる早期後脱分極の動的生成機序の解析

○津元国親[1]，倉田康孝[2]，倉智嘉久[1]
（大阪大学医学系研究科[1]，金沢医科大学医学部[2]）

（18）有機水銀による Drp1 ポリ硫黄枯渇を介した心臓リスク増加

○永井直杜[1,2]，外山喬士[2]，西村明幸[2]，浜瀬健司[1]，井手友美[3]，西田基宏[2,4,5]
（[1]九州大学薬学部創薬育薬産学官連携分野，
[2]自然科学研究機構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，
[3]九州大学医学研究院循環器内科学，[4]九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，
[5]JST さきがけ「疾患代謝」）

（19）心筋の低酸素ストレス適応における TRPC3 チャネルの役割

○松金良祐[1,2]，冨田拓郎[2]，浜瀬健司[1]，井手友美[3]，西田基宏[2,4,5]
（[1]九州大学薬学部創薬育薬産学官連携分野，
[2]自然科学研究機構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，
[3]九州大学医学研究院循環器内科学，[4]九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，
[5]JST さきがけ「疾患代謝」）

（20）P2Y6 受容体のリガンド非依存的活性化の分子機構

○重松智博[1,2]，西村明幸[2]，浜瀬健司[1]，井手友美[3]，西田基宏[2,4,5]
（[1]九州大学薬学部創薬育薬産学官連携分野，
[2]自然科学研究機構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，
[3]九州大学医学研究院循環器内科学，[4]九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，
[5]JST さきがけ「疾患代謝」）

（21）TRPC チャネルの細胞内輸送を制御する新規膜貫通タンパク質 OGU1 の機能解析

○伊藤智哉 [1,2]，高橋重成 [4]，加藤賢太 [4]，西田基宏 [1]，森　泰生 [4,5]，相澤康則 [2,3]
（[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] 東京工業大学大学院・生命理工学研究科・分子生命科学専攻，
[3] 東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター，
[4] 京都大学大学院工学研究科・合成・生物化学専攻，
[5] 京都大学・地球環境学堂・環境適応生体システム論）

（22）血清尿酸値上昇がもたらす COPD 肺病態の改善作用

藤川春花 [1,2]，○首藤　剛 [1]，亀井竣輔 [1,2]，野原寛文 [1,2]，中嶋竜之介 [1]
丸田かすみ [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」）

【参加者名】

氏原美玲（立命館大学），前田陽俊（立命館大学），山本菜月（立命館大学），天野　晃（立命館大学），山村寿男（名古屋市立大学），鈴木良明（名古屋市立大学），川崎桂輔（名古屋市立大学），佐伯尚紀（名古屋市立大学），野田さゆり（名古屋市立大学），山田　茜（名古屋市立大学），山越大槻（名古屋市立大学），山田啓史（名古屋市立大学），山村英斗（名古屋市立大学），古川奈美（名古屋市立大学），萩原由実子（名古屋市立大学），前田和輝（名古屋市立大学），神藤秀基（名古屋市立大学），喜多紗斗美（福岡大学），竹内綾子（福井大学），松岡　達（福井大学），村田拓也（福井大学），渡邊泰秀（浜松医科大学），山下寛奈（浜松医科大学），赤羽悟美（東邦大学），冨田太一郎（東邦大学），南沢享（東京慈恵会医科大学），草刈洋一郎（東京慈恵会医科大学），赤池　徹（東京慈恵会医科大学），黒川洵子（東京医科歯科大学難治疾患研究所），石川泰輔（長崎大学大学院），ダニエル・ハーレル（長崎大学大学院），津元国親（大阪大学），久場敬司（秋田大学），亀山正樹（鹿児島大学），西田基宏（自然科学研究機構生理学研究所），冨田拓朗（自然科学研究機構生理学研究所），西村明幸（自然科学研究機構生理学研究所），島内　司（自然科学研究機構生理学研究所），伊藤智哉（自然科学研究機構生理学研究所），重松智博（自然科学研究機構生理学研究所），永井直杜（自然科学研究機構生理学研究所），松金良祐（自然科学研究機構生理学研究所），久保義弘（自然科学研究機構生理学研究所），内藤邦敏（自然科学研究機構生理学研究所），中井淳一（埼玉大学），福原茂朋（国立循環器病研究センター研究所），西谷（中村）友重（国立循環器病研究センター），山崎大樹（国立医薬品食品衛生研究所），平野勝也（香川大学），首藤　剛（熊本大学），野原寛文（熊本大学），山村　彩（金城学院大学），石川義弘（横浜市立大学），佐藤元彦（愛知医科大学），林　寿来（愛知医科大学）

【概要】

様々なアプローチから心臓・血管系研究に携わる研究者が集まり，研究会「心臓・血管系の包括的な機能統合研究」を開催した。55 名が参加し，そのうち学部学生 7 名，大学院生 12 名，助教・研究員 13 名と，学生・若手研究者が多数参加した。Ca^{2+}チャネル研究の大家である亀山正樹教授と心・循環系の数理モデル研究の専門家である天野晃教授に特別講演を依頼した。亀山正樹教授からは，Ca^{2+}チャネルの分子制御機構に関するご自身の研究に加えて，日本における心臓・血管系研究の歴史を紹介して頂き，若手研究者・学生には特に感銘を受ける内容であった。天野晃教授は，心・循環系の数理モデル研究の現状と限界を分かりやすく解説していただき，機能統合を目指す生理学研究の今後の指針となる内容であった。一般講演では，G 蛋白活性調節因子 AGS8 による VEGF 受容体調節，p38MAPK 活性の定量的イメージング，細胞内カルシウムセンサーによる心筋ストレス防御機構，遺伝子改変マウスを用いた NCLX の心血管機能解析，ミトコンドリア品質管理に着目した Ca^{2+}拮抗薬の適応拡大，

気道インスリン抵抗性と COPD 病態, 内皮バリアー障害とミオシン 2 リン酸化, マウス冠血管形成における性差, 家族性心臓伝導障害に同定されたコネキシン遺伝子変異, 心臓における新規 Apelin 受容体リガンド Apela について発表があった。心臓・血管系に関する分子・細胞・個体レベルでの多岐にわたる最新研究が紹介され，活発な討論が行われ，今後の研究発展に繋がる有意義な会であった。また，新進気鋭の若手研究者や学生がベテラン研究者と活発に討論することができ，次世代への橋渡しとなる研究会であった。

（1）心臓生理学研究 50 年史と私の研究歴

○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）

過去 50 年の日本の心臓生理学研究について電気生理学を中心に review した。心臓生理学研究は，1960 年代に微小電極法が導入され，それ迄の心電計による細胞外電位記録から細胞内電位記録が可能となり，大きく発展した。その後，1980 年代にパッチクランプ法が開発され，単一チャネルレベルの解析が進んだ。さらに，80 年代後半から遺伝子工学的技術や aequorin などによる光学的測定技術，生化学的技法を用いた研究が盛んになり，Ca^{2+} など細胞内因子と膜電位との関わりの理解が進んだ。この間，筋収縮の Ca^{2+}による制御や心臓の力学的エネルギー学的性質の解析が進展したことにより，膜電位と併せた心臓の総合理解が進んだ。また，近年では in silico の研究も発展した。

私は, 1981 年, 生理学研究所の入澤研究室に採用され, 心筋の研究を開始した。最初は，心筋細胞間のギャップ結合の電気生理学的研究であった。次いで，心筋細胞の K^{+}チャネルや Ca^{2+}チャネルなどのパッチクランプ法による研究を行った。その後，1990 年に広島大学に，そして 1991 年に鹿児島大学に移り，現在に至っている。その間，主に Ca^{2+}チャネルの細胞内調節機構について研究してきた。主な知見は，心室筋の主な Ca^{2+}チャネルである Cav1.2 型チャネルの活性には，細胞内のカルモジュリンと ATP を必要とすることである。

（2）詳細な細胞モデルから構築する心臓モデル

○天野　晃（立命館大学生命科学部生命情報学科）

心臓に関連した細胞に関しては電気生理学的特性を表現する定量的なモデルは大きな発展を遂げており，細胞膜のイオン電流だけでなく，収縮要素のモデルや，興奮伝播に関与する機構のモデル，カルシウム動態の詳細なモデル等が提案されている。我々は，これらの細胞モデルを多数用いて，MRI データから取得した左心室形状モデル，大動脈から静脈に至る血管系のモデル，左心室壁の力学的特性モデルと心室筋細胞モデルを統合して，循環系モデルの構築を行ってきた。大規模な左心室形状モデルでは，最終的に，現在利用可能な心筋細胞の収縮力発生モデルでは，現実的な運動と循環パラメータを再現することは難しいことがわかった。そこで，左心室の血圧，体積と細胞の特性をつなぐモデルとして，リング状の形状モデル, あるいはさらに単純化した 10 細胞を線維方向に連結し興奮伝導を導入した単純化モデルを用いて, 血管系モデルと統合したものを構築した。単純化したモデルでは，数学的な解析が可能であり，このモデルで解析した結果からは，単一細胞の長さ張力特性と，心壁の受動弾性特性とのスケール比が重要であることがわかった。

（3）G 蛋白活性調節因子 AGS8 による VEGF 受容体の調節

○林　寿来，Abdullah Al Mamun，佐喜眞未帆，佐藤元彦（愛知医科大学 生理学講座）

三量体G蛋白情報伝達系は生体の重要なシグナル伝達経路であり，様々な生命現象に関与する。三量体G蛋白は受容体だけではなくG蛋白活性調節因子によっても活性調節を受ける。我々が注目する AGS8（activator of G-protein signaling　8, AGS8）はラット狭心症モデルから同定した分子で，低酸素誘導心筋アポトーシスに関与した。一方，AGS8 を同定した狭心症モデルは著明な側副血行路の発達があり，血管形成にも関与する可能性が考えられた。そこで本研究では，血管内皮細胞において血管形成を促す Vascular endothelial growth factor (VEGF)シグナルへの AGS8 関与を検討した。培養血管内皮細胞の AGS8 発現を siRNA を用いて knockdown したところ，VEGF が誘導する細胞増殖・細胞移動・管腔形成が顕著に減少した。また AGS8 siRNA は VEGF が惹起する VEGF2 型受容体(VEGFR2)および下流シグナル分子のリン酸化を著しく減弱した。AGS8-Gβγ の結合を阻害する合成ペプチドも同様の効果を示した。さらに AGS8-Gβγ は VEGFR2 と細胞内で複合体を形成することが明らかになった。AGS8 を knockdown すると細胞膜表面の VEGFR2 は減少し，細胞内プールすなわちゴルジ装置および初期エンドソームの VEGFR2 が増加した。細胞膜 VEGFR2 のエンドサイトーシスを抑制しても VEGFR2 の細胞局在に変化はなかった。以上の結果から AGS8 は細胞内で Gβγ および VEGFR2 と複合体をつくり, VEGFR2 の細胞膜への輸送に関与すると考えられた。G 蛋白活性調節因子 AGS8 による VEGF シグナル形成，血管新生の新たな制御機構が示唆された。

（4）p38MAPK 活性の定量的イメージングにより明らかになった新たな炎症シグナル伝達機構

○冨田太一郎，伊藤雅方，関　由成，杉本結衣，赤羽悟美
（東邦大学医学部 生理学講座 統合生理学分野）

本研究では，心・血管系の病態に深く係わる生体内の炎症シグナルの実態を解明することを目的として，代表的な炎症シグナル分子の一つである p38 の活性を生細胞で可視化する蛍光タンパク質性プローブの開発を行った。培養細胞において炎症性サイトカイン刺激により生じる p38 活性を可視化したところ，単一細胞レベルでは p38 活性が増減を繰り返すオシレーション（振動）を 10 時間以上にわたって呈していた。興味深いことに，この振動は細胞毎に異なる挙動を示し，従来生化学的な解析で示されてきた細胞集団の p38 活性化動態とは大きく異なっていた。この p38 活性の振動を特異的阻害剤で抑制すると, IL-6 や COX-2 などの炎症性遺伝子の発現が顕著に減少した。そこで，細胞への IL-1β 刺激を input，また p38 の活性化状態を output と仮定して，input-output の関係を定量的にイメージング解析した結果，p38 活性依存的に MAPK ホスファターゼ（MKP-1）の発現と消失とが繰り返し生じて p38 活性の振動を引き起こすという抑制フィードバック制御機構の存在が明らかになった。この input-output 関係について数理モデル解析を行ったところ, 細胞毎の挙動の違いは MKP-1 消失速度の違いが原因で生じることが示された。以上から，p38 振動による炎症遺伝子制御という新たなシグナル伝達機構が明らかになった。

（5）細胞内カルシウムセンサーによる心筋ストレス防御機構

○西谷（中村）友重[1]，中尾　周[1]，若林繁夫[2]
（[1]国立循環器病研究センター・分子生理部，[2]国立循環器病研究センター・心臓生理機能部）

心臓に発現しているが機能が不明であった Ca^{2+}センサーNCS-1 の遺伝子欠損（KO）マウスが生後間もなく 3 割が死亡することから，NCS-1 が心筋ストレス防御に寄与する可能性を検討した。まず，KO マウス心筋が虚血—再灌流障害や酸化・代謝ストレスに対し，野生型（WT）より脆弱であることを見出した。さらに，KO 心筋では細胞内 ATP レベルおよびミトコンドリア(Mt)機能が減少しており，H_2O_2 添加後で更なる低下が認められた。詳しい解析により，WT では H_2O_2 添加時，それを中和するように Mt 内膜を介してプロトンリークが起こるが，KO 心筋ではそれが減弱し，Mt 機能の低下が示された。実際，酸化ストレス障害で認められる Mt の膜電位の消失が KO 心筋で WT より速く認められた。Mt の機能と NCS-1 との関連を明らかにするため，Mt 内蛋白質の遺伝子発現制御因子である PGC1 の量および，その上流の Ca^{2+}依存性キナーゼ活性を比較すると，両方とも KO 群で低下していた。以上の結果より，NCS-1 の KO 心筋では Mt 蛋白質の発現が変化した結果として Mt による解毒機能や ATP 合成能が低下し，その結果ストレスに対し脆弱になることがわかった。

（6）遺伝子改変マウスを用いた NCLX の心血管機能解析

○喜多紗斗美，田頭秀章，岩本隆宏（福岡大学医学部薬理学）

ミトコンドリアは ATP を産生する重要な細胞内小器官であるとともに，Ca^{2+}貯蔵・制御器官としても機能し，ミトコンドリア内 Ca^{2+}シグナリングはアポトーシスの誘導や活性酸素種の生成を制御している。心臓の興奮収縮連関において，ミトコンドリアへの Ca^{2+}取込は Ca^{2+}ユニポータ（MCU）を介して行われ，心筋 Ca^{2+}トランジェントを終結させる役割を担うと考えられている。一方，Ca^{2+}放出はミトコンドリア内膜の Na^+/Ca^{2+}交換体（NCLX）が行っていると考えられているが，心機能維持における役割や病態への関与については不明である。私達は，NCLX 遺伝子ノックアウトマウス($NCLX^{-/-}$)を作製し，NCLX の心血管機能について解析を行った。$NCLX^{-/-}$ の体重，収縮期血圧および心拍数は，野生型マウスと差異がなく，心機能にも異常は認められなかった。両マウスの単離心筋細胞に高濃度カフェインを処置すると，細胞内 Ca^{2+}濃度上昇は $NCLX^{-/-}$ で低下していた。大動脈でも同様の結果が得られ，心筋や血管平滑筋において，NCLX が筋小胞体の Ca^{2+}充填に重要であることが示唆された。さらに，フェニレフリンによる血管収縮および血圧上昇が $NCLX^{-/-}$ において抑制されたことから，NCLX の発現・活性異常が高血圧や心不全などの病態に関与する可能性が考えられた。

（7）ミトコンドリア品質管理に着目した Ca^{2+}拮抗薬の適応拡大

○島内　司[1,2]，石川達也[2,3]，冨田拓郎[1]，西村明幸[1]，西田基宏[1,2,4]
（[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育薬研究施設統括室，[3]味の素㈱）

様々な環境ストレスにより誘発されるミトコンドリアの品質管理異常が多くの難治性疾患の原因となる可能性が示されている。我々は，心筋梗塞後のマウス心筋細胞の早期老化において，その前段階でミトコンドリアの過

剰分裂が誘導されることを新たに見出した。この過程において，低酸素がミトコンドリア過剰分裂の引き金となる可能性が示された。低酸素刺激は，ミトコンドリア分裂促進 GTP 結合タンパク質 dymanin-related protein 1 (Drp1)を強く活性化する一方で，融合促進タンパク質 OPA1 や Mfn の発現量には影響を与えなかった。低酸素／再酸素化刺激後の心筋細胞では細胞内 ATP 濃度が有意に増加しており, Drp1 阻害剤 Mdivi-1 はこの ATP 増加を抑制した。細胞内 ATP 増加を細胞老化の指標としてミトコンドリア品質管理能を維持する既承認薬のスクリーニングを行ったところ，ジヒドロピリジン系の Ca^{2+}拮抗薬シルニジピン（高血圧治療薬）がミトコンドリア過剰分裂を特異的に阻害することを見出した。シルニジピン投与は Drp1 活性を抑制し，心不全や I 型糖尿病を見事に抑制した。以上の結果は，シルニジピンがミトコンドリア過剰分裂に起因する様々な難治性疾患の治療に適応拡大できることを強く示唆している。

（8）高脂肪食負荷がもたらす気道インスリン抵抗性による COPD 病態の悪化

○野原寛文 [1,2]，首藤　剛 [1]，亀井竣輔 [1,2]，藤川春花 [1,2]
中嶋竜之介 [1]，丸田かすみ [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」）

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は，慢性気道炎症，過剰粘液による気道閉塞，肺気腫病態を引き起こし，最終的に呼吸困難に陥る難治性の呼吸器疾患である。近年，2 型糖尿病の併発が COPD 病態に影響を及ぼす可能性が指摘されているが，その因果関係を説明する基礎的知見は少ない。そこで本研究では, COPD・2 型糖尿病合併症モデルマウスを作製し，合併症が肺病態に与える影響を検討すると同時に，気道におけるインスリン抵抗性機構の解明を試みた。まず，COPD モデルマウス (βENaC-Tg マウス) に対し，長期間高脂肪食負荷を与え，安定的に高血糖病態を呈する 2 型糖尿病・COPD 合併症モデルマウスの作製に成功した。この時, 本合併症モデルマウスでは，呼吸機能の低下，平均肺胞径の増大が確認された。また，マウス肺組織においては，インスリンシグナルの低下による FOXO1 の増加とアポトーシスシグナルの活性化が確認され，さらに, 気道上皮細胞に対する飽和脂肪酸 (パルミチン酸) 処理は，肺修復因子 IGF-1 依存的な Akt の活性化を有意に抑制した。以上，本研究は, COPD モデルマウスに高脂肪食誘導性 2 型糖尿病を併発させる事で，呼吸機能と肺気腫病態がさらに悪化することを実験的に初めて明らかにした。また，その増悪機構に気道におけるインスリン抵抗性が関与していることを示唆した。

（9）内皮バリアー障害の初期事象としてのミオシン 2 リン酸化の特異的役割

○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）

目的：内皮バリアー機能障害には，ミオシン軽鎖（MLC）リン酸化が重要な役割を果たす。MLC が T18 および S18 で 1 リン酸化（pMLC）あるいは 2 リン酸化（ppMLC）されるとミオシン ATPase が活性化される。本研究では，トロンビンによる内皮バリアー障害における pMLC と ppMLC の機能的相違を検討した。

結果：pMLC と ppMLC を Phos-tag SDS-PAGE 法により定量解析した。トロンビンは，２峰性の pMLC の上昇と，１峰性の ppMLC の上昇を引き起こした。Rho キナーゼの阻害は, ppMLC とバリアー障害を抑制したが, pMLC には影響を与えなかった。トロンビン刺激初期（３分後），pMLC は各周辺の細胞質に，ppMLC は細胞辺縁部に局在

し，ppMLC と一致してアクチン線維束が形成された。pMLC が２峰目の上昇を示す時期（刺激２０分後）にストレスファイバー形成が観察された。細胞外カルシウムの除去あるいは培養早期の細胞など，細胞間接着を減弱させた細胞ではトロンビン刺激初期からストレスファイバー形成が観察された。T18，S19 の両者をアラニンに置換した MLC 変異体を発現させると，刺激３分目の細胞辺縁部のアクチン線維束形成と，バリアー障害が抑制された。

結論：細胞辺縁部の MLC２リン酸化依存性のアクチン線維束形成が，内皮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。

（10）マウス冠血管形成における性差について

児玉昌美，古川哲史，○黒川洵子（東京医科歯科大学難治疾患研究所）

心血管病には明らかな性差が認められる。微小血管狭心症は，女性患者の割合が男性に比べて有意に高いが，病態発症のメカニズムは未だ不明で，確立した治療法もない。冠血管については，エストロゲンの保護的作用が周知だが，微小血管狭心症には閉経後，加齢が進むにつれて悪化するという特徴があり，加齢変化における性差の関与も疑われる。従来の成体・加齢の動物・細胞レベルにおける性差研究では加齢因子と性差因子を切り分けることが困難と考え，発生と老化の両過程には一部共通する制御機構があることを利用して，冠血管の形成段階に遡り新規機構の探索を行った。

胎生冠血管の観察には，東京大栗原先生と熊本大西山先生が開発した方法を基にした定圧インク微小注入血管造影法を用いた。胎生 17.5 日の雌雄マウスの左冠動脈の血管径を起始部から，心尖に向かって複数個所で計測し，各計測点における血管径を散布図にプロットし，近似線を求めた。左冠動脈起始部～心尖までの距離（およそ心室長に相当）に性差はなかったが，雌雄ともに，この距離が長い群と短い群に分けられた。心室長が長い群でのみ，雌の血管径が雄より有意に細いという性差が認められた。血管弛緩薬（SNP）の投与により雄の血管径は影響を受けなかったが，雌では著明に弛緩し雄よりも太くなった。以上の結果から，胎生後期マウスの冠血管には，すでに器質的な性差と機能的な性差が存在することが示された。

（11）家族性心臓伝導障害に同定されたコネキシン遺伝子変異とその機能異常

○石川泰輔[1]，西井明子[2]，斎藤加代子[2]，三嶋博之[3]，大槻早紀[1]，稲田慎[4]
ダニエル・ハーレル[1]，辻　幸臣[1]，中沢一雄[4]，吉浦孝一郎[3]，萩原誠久[2]，蒔田直昌[1]
（[1]長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子生理学，[2]東京女子医科大学大学院医学研究科 循環器内科学，
[3]長崎大学原爆後障害医療研究所 人類遺伝学，[4]国立循環器病研究センター 研究情報基盤管理室）

心筋ギャップジャンクション(GJ)は主として 3 つのコネキシン(Cx) (Cx40, Cx43, Cx45)によって構成され，心臓の部位特異的な細胞間興奮伝導速度の調節を担う。我々は以前，突然死を伴う進行性心臓伝導障害家系にプルキンエ線維での発現が高いCx40の遺伝子変異Q58Lを同定した。培養細胞 N2A に発現させた Q58L-Cx40 は GJ の形成障害とコンダクタンスの低下をきたした。コンピュータシミュレーションでプルキンエネットワークを作成し GJ コンダクタンスを低下させたところ，リエントリが誘発され，心筋 GJ の遺伝子変異による細胞間伝導遅延が致死性心室性不整脈をきたすことが判明した。最近，家族性洞不全症候群の日本人家系とフランス人 de novo 症例において，洞房結節・房室結節に特異的に発現する Cx45 の遺伝子変異 R75H を同定した。遺伝性不整脈に Cx45 の変異が報告されたのは初めてである。N2A に発現させた R75H-Cx45 はほぼ正常の GJ を形成したが，

lucifer yellow の細胞間輸送がほぼ完全に障害され，洞機能不全は洞結節の細胞間伝導障害であることが明らかになった。以上の結果から，心筋 GJ の遺伝子変異は，部位特異的な Cx の発現パターンと異なる分子機序を経て，心室内伝導障害・徐脈など様々な臨床像を示すことが明らかになった。

（12）心臓における新規 Apelin 受容体リガンド Apela の機能的意義の解析

佐藤輝紀 [1,2]，佐藤チトセ [1]，渡邊博之 [2]，門脇歩美 [1]，山口智和 [1]
木村彰方 [4]，深水昭吉 [5]，伊藤　宏 [2]，今井由美子 [3]，○久場敬司 [1]
（[1] 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，[2] 循環器内科学呼吸器内科学講座，
[3] 情報制御学・実験治療学講座，[4] 東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態分野，
[5] 筑波大学大学院生命環境科学研究科）

Apelin-APJ システムは心臓において強力な陽性変力作用，心保護的作用に加えて血管新生の誘導など多彩な生理作用をもつ(Circ Res 2007)。また，Apelin は ACE2 の基質であることが知られてきたが，私達はこれまでに心機能調節において Apelin が ACE2 の陽性調節因子であることを報告してきた(JCI 2013)。最近，Apelin 以外の APJ リガンド Apela (Elabela / Toddler)が同定され，ゼブラフィッシュにおいて心臓の発生に重要な役割を担うことが示された。そこで私達は Apela の生理的な意義を解明すべく，マウスに Apela ペプチドを浸透圧ポンプで持続投与したところ，野生型マウスのベースラインにおいては心収縮能や心体重比に有意な変化を認めなかったが，横行大動脈縮窄術(TAC)による圧負荷モデルにおいては，術後 14 日の心機能代償期の時点で vehicle 群に比較して Apela 投与群では有意に心体重比の増加が抑制され，心エコーにおいても左室壁厚に有意差を認めた。これらの結果から，Apela が圧負荷による心肥大を抑制し，心保護的に作用することが示された。今後，Apela 遺伝子欠損マウスや培養細胞を用いて内因性 Apela の心臓における機能解析を進めていくことにより，新しい心機能調節のメカニズムが解明されることが期待される。

（13）血管平滑筋の筋張力制御因子とジャンクトフィリン 2 の分子間相互作用の解明

○佐伯尚紀 [1]，鈴木良明 [1]，山村寿男 [1]，竹島浩 [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] 京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野）

ジャンクトフィリン（JP）は，PM と ER/SR 膜間を架橋し，両膜の近接構造（結合膜構造）を形成する構造タンパク質である。心筋や骨格筋では，T 管に沿って局在することで膜間のイオンチャネル共役を効率化する Ca^{2+} マイクロドメインを形成し，興奮収縮連関を成立させることが知られている。本研究では，平滑筋 JP（JP2）の機能的な意義を解明し，血管平滑筋の機能調節における役割を明らかにすることを目的とした。まず，我々がこれまで平滑筋 Ca^{2+}マイクロドメインの中心として想定してきた，PM 上の脂質ラフトの一種・カベオラとの関係に着目した。BiFC 法や共免疫沈降法により，カベオラ必須構成因子であるカベオリン 1 と JP2 が直接的な分子間相互作用を持つことが明らかとなった。さらに，カベオラに局在し，血管平滑筋の筋張力制御を担う大コンダクタンス Ca^{2+}活性化 K^+（BK）チャネルとも同様に，直接的な分子間相互作用を有していることが明らかとなった。マウス腸間膜動脈平滑筋細胞において二重免疫染色により，これらの分子は JP2 と共局在していた。以上より，JP2 は血管平滑筋でカベオラと結合膜構造間の架橋を形成し Ca^{2+}マイクロドメインを構築することにより，血管

平滑筋の筋張力制御機構に深く関与している可能性が示された。これらの知見は，JP2・Ca^{2+}マイクロドメインが担う血圧調節機構についての理解を深めるといえる。

（14）低酸素培養による脳血管内皮細胞の Ca^{2+}動態変化に対する Kir2.1 の寄与

○山村英斗[1]，鈴木良明[1]，山村寿男[1]，浅井清文[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分野，
[2]名古屋市立大学大学院医学研究科分子神経生物学分野）

脳内の虚血状態により発症する低酸素脳症など様々な脳への障害を防ぐ機構として血液脳関門が存在するが，その中核を担う脳血管内皮細胞に対して低酸素が中・長期的にどのような影響を与えるかは未だ不明である。当研究室ではウシ脳血管内皮細胞株（t-BBEC117）において，Kir2.1 が細胞膜電位を調節し，細胞増殖・細胞死に関与する重要な因子であることを明らかにした。今回我々は，低酸素下において Kir2.1 が脳血管内皮細胞の Ca^{2+}動態及び細胞増殖・細胞死に及ぼす影響を解明することを目的とした。

t-BBEC117 を酸素濃度 4~5%で 72h 培養後に実験に供した。パッチクランプ法により，低酸素培養後の Kir2.1 の電流密度変化を比較した所，低酸素培養により有意に上昇した。また，Kir2.1 の mRNA,タンパク質発現変化を比較した所，タンパク発現が有意に上昇した。また，t-BBEC117 においてストア作動性 Ca^{2+}流入（SOCE）の低酸素培養による変化を検討したところ，SOCE が有意に上昇した。また，SOCE 上昇に Kir2.1 の発現上昇が有意に寄与していた。さらに MTT 法により，低酸素培養による t-BBEC117 の細胞増殖に Kir2.1 が寄与していることも明らかとなった。以上より，脳血管内皮細胞において低酸素条件下での Kir2.1 の機能発現上昇が，細胞増殖を促進される機構の存在が示唆された。

（15）心筋細胞 HL-1 の周期的 Ca transient 発生における vitamin D receptor の関与

○村田拓也，竹内綾子，松岡　達（福井大学医学部形態機能医科学講座・統合生理学）

活性型 vitamin D3 は，vitamin D receptor（VDR）を介して心血管系を含む広範囲の組織に作用する。心筋における VDR の役割を検証するために，マウス心筋細胞 HL-1 を用いて VDR siRNA によるノックダウン実験を行い，Ca transient，活動電位および遺伝子発現を調べた。Fluo-4 負荷により Ca transient を測定したところ，control 細胞は rhythmic, arrhythmic, sporadic/none の 3 群に分けられ，それぞれの発現比率は 80%，0%，20%であった。VDR ノックダウン細胞はそれぞれ 20%，13.3%，66.7%となり，周期性が低下した。VDR siRNA と同時に human VDR cDNA を発現させると 81.3%，12.5%，6.3%となり，周期性が回復した。Ca transient ならびに膜電位（whole cell patch）の同時測定を行ったところ，両者は同期していた。VDR ノックダウンによる遺伝子発現変動を DNA array 解析により調べた結果，cardiac myosin-binding protein C，PDZ and LIM domain protein 3，actinin2，Zac1 の発現が減少していた。従って，これらが VDR を介した心筋細胞の周期性の発現に関与することが示唆された。

（16）TRIC-A 欠損によるイソプロテレノール誘発性心臓線維化

○山崎大樹 [1,2]，張　願書 [2]，駒崎伸二 [3]，竹内綾子 [4]，王　朝弘 [2]
趙　成珠 [2]，Ki Ho Park[5]，西　美幸 [2]，松岡　達 [4]，Jianjie Ma[5]，竹島　浩 [2]
（[1] 国立医薬品食品衛生研究所・薬理部，[2] 京都大学大学院薬学研究科・生体分子認識学，
[3] 埼玉医科大学・解剖学，[4] 福井大学医学部・形態機能医科学，[5]Ohio State University）

TRIC-A 及び B は小胞体膜上に発現し Ca^{2+}放出と連動して機能するカウンターイオンチャネルである。TRIC-A は心臓や骨格筋等の興奮性組織に高発現し，TRIC-A を欠損したマウスは正常に生育・繁殖するが，骨格筋及び平滑筋における Ca^{2+}スパーク頻度の減少により，収縮異常や高血圧が観察される。本研究では TRIC-A 機能が不明である心筋に着目し，その機能解析を行った。

TRIC-A 欠損心筋細胞において Ca^{2+}スパーク頻度の顕著な減少を見出した。これはβ受容体アゴニストであるイソプロテレノール（Iso）投与により増悪した。また，TRIC-A 欠損心筋細胞において Ca^{2+}トランジェント振幅の増大も観察された。次に個体レベルでの Iso 負荷の影響を検討するため, Iso を浸透圧ポンプにより持続投与した。Iso 負荷 14 日後に心臓の組織学的観察を行ったところ，TRIC-A 欠損心臓で線維化が顕著に亢進していた。また, Iso 負荷 1 日及び 3 日において血中心筋トロポニン T 濃度の上昇及びエバンスブルー陽性細胞の増加が TRIC-A 欠損心臓において観察された。さらに，Iso 負荷 24 時間後の心臓においてミトコンドリア障害が観察されたことから, TRIC-A 欠損心筋細胞では Iso 負荷により小胞体 Ca^{2+}過負荷からミトコンドリア障害が生じ，心筋細胞死が亢進することで心臓線維化が生じるものと示唆された。

（17）心筋細胞にみられる早期後脱分極の動的生成機序の解析

○津元国親 [1]，倉田康孝 [2]，倉智嘉久 [1]（[1] 大阪大学医学系研究科，[2] 金沢医科大学医学部）

心筋細胞の活動電位第 2～3 相(早期後脱分極)または第 4 相(遅延後脱分極)において，一過性の脱分極を伴う異常興奮応答は，致死性不整脈誘発のトリガーになると考えられている。遅延後脱分極においては，Ca^{2+}の細胞内への異常蓄積による自発的な Ca^{2+}放出が主たる要因として認められているが，早期後脱分極に関しては，関与する因子は同定されているものの，如何なる動的機序によって発生するのかは未だ議論の残るところである。本研究では，力学系の分岐理論と呼ばれる数理的手法を用いて，心筋細胞に発生する早期後脱分極の生成機序を検討した。早期後脱分極は，再分極能の低下(例えば I_{Kr}, I_{Ks} の電流の強さ)に伴って発生すると考えられている。解析の結果，コントロール条件下で発生する正常な活動電位は，I_{Kr} 電流強度の減少と共に，活動電位持続時間長を延長した。しかしながら，早期後脱分極への連続的な変化は起こらずに不安定な応答と対消失することが分かった。一方, 正常な活動電位発生を維持できる I_{Kr} 電流強度の範囲内にあるにも関わらず，細胞内 Na^{+}濃度，筋小胞体内の Ca^{2+}濃度といった初期条件を変えることで，早期後脱分極を発生した。従来，活動電位持続時間長が異常に延長した結果として早期後脱分極が発生すると考えられているが，本解析の結果は，早期後脱分極と通常の活動電位とはその発生源が異なる可能性を示唆している。

（18）有機水銀による Drp1 ポリ硫黄枯渇を介した心臓リスク増加

○永井直杜[1,2]，外山喬士[2]，西村明幸[2]，浜瀬健司[1]，井手友美[3]，西田基宏[2,4,5]
（[1]九州大学薬学部創薬育薬産学官連携分野，
[2]自然科学研究機構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，
[3]九州大学医学研究院循環器内科学，[4]九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，
[5]JST さきがけ「疾患代謝」）

我々は，酸素由来の内因性親電子物質の生成に伴う特定のタンパク質システイン残基の機能修飾が心不全を増悪する可能性を示してきた。水俣病の原因であるメチル水銀（MeHg）は，心血管リスクを高める外因性親電子物質である。我々は，神経毒性を起こさない低濃度の MeHg 曝露が心不全を増悪させることをマウスで見出した。さらに，求核性の高い活性イオウ種が親電子シグナルの負の制御因子として働くことも明らかにしている。そこで本研究では，MeHg 心毒性リスクと活性イオウレベルとの関連について検証した。細胞毒性を誘発しない濃度(< 0.5 μM)の MeHg をラット新生児初代心筋細胞に曝露したところ，ミトコンドリア分裂促進 G タンパク質 dynamin-related protein 1 (Drp1)の活性化を介してミトコンドリア過剰分裂を誘発することがわかった。MeHg 曝露は，心筋細胞中の総ポリ硫黄量を変化させなかったものの，Drp1 のポリ硫黄レベルを特異的に減少した。NaHS 処置は MeHg による Drp1 ポリ硫黄枯渇を抑制し，これに相関して Drp1 活性化およびミトコンドリア過剰分裂も抑制した。MeHg を投与したマウスの心臓では Drp1 のポリ硫黄鎖が減少し，ミトコンドリア分裂が起きやすい状態になっていた。以上の結果は，Drp1 のポリ硫黄量が親電子修飾による心臓リスクを制御する可能性を強く示唆している。

（19）心筋の低酸素ストレス適応における TRPC3 チャネルの役割

○松金良祐[1,2]，冨田拓郎[2]，浜瀬健司[1]，井手友美[3]，西田基宏[2,4,5]
（[1]九州大学薬学部創薬育薬産学官連携分野，
[2]自然科学研究機構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，
[3]九州大学医学研究院循環器内科学，[4]九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，
[5]JST さきがけ「疾患代謝」）

近年の運動科学から，酸素分圧が筋肉の形態機能変化に大きく影響することが明らかにされてきている。赤筋タイプの心筋は，酸素濃度の変化に応じて筋肉量を増やすことはないものの，独自の機能応答様式を介して酸素環境変化に上手く適応している可能性が考えられる。本研究では，心筋細胞の低酸素応答・適応における TRPC3/TRPC6 チャネルの役割について検討した。ラット新生仔心筋細胞は自発運動能を保持させた状態で播種し，10%および 1%の酸素分圧下で 12 時間培養した。10%酸素分圧下で培養した心筋細胞では，病的心肥大マーカーである心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）や脳性利尿ペプチド（BNP）の顕著な低下を伴う細胞面積の増加（生理的肥大）が観察された。この心肥大応答は TRPC3 阻害剤 pyrazole-3 (Pyr3)処置により有意に抑制された。一方，1%酸素分圧下で培養した心筋細胞では，細胞面積や ANP 産生に全く変化がなかったものの，ミトコンドリアの過剰な分裂が観察された。Pyr3 処置は低酸素ストレス応答であるミトコンドリア分裂を抑制しなかったものの，ANP や BNP の増加を伴わない細胞面積の増加を引き起こした。以上の結果は，TRPC3 チャネルが強度の低酸素負荷に対するミトコンドリア応答には影響を及ぼさないものの，心筋適応（生理的心肥大）に対する負の制御因子として働く可能性を示している。

（20）P2Y6 受容体のリガンド非依存的活性化の分子機構

○重松智博 [1,2]，西村明幸 [2]，浜瀬健司 [1]，井手友美 [3]，西田基宏 [2,4,5]
（[1] 九州大学薬学部創薬育薬産学官連携分野，
[2] 自然科学研究機構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，
[3] 九州大学医学研究院循環器内科学，[4] 九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，
[5]JST さきがけ「疾患代謝」）

プリン作動性 P2Y6 受容体（P2Y6R）の薬理作用は主に細胞外ヌクレオチド（UDP）によって引き起こされると信じられている。しかし我々は，P2Y6R がリガンド非依存的に活性化することを新たに見出した。P2Y6R を過剰発現した HeLa 細胞をシリコン製のチャンバー上で培養すると，自発的な細胞内 Ca^{2+}濃度上昇（Ca^{2+}オシレーション）が観察された。この Ca^{2+}オシレーションは P2Y6R と三量体 Gq タンパク質との共役を阻害することで抑制されたものの，MRS2578 処置では抑制されなかった。一方，P2Y6R 発現依存的な Ca^{2+}オシレーションは，ガラスベースディッシュ上で培養した場合には観察されなかった。P2Y6R は細胞外ループに細胞外基質であるインテグリンと相互作用する部位（RGD 配列）を持っている。RGD を RGE に変異させた P2Y6R を過剰発現させたところ，Ca^{2+}オシレーションは全く観察されなかった。さらに，他の P2Y 受容体サブタイプや AT1R を過剰発現させても，自発的な Ca^{2+}オシレーション全く観察されなかった。以上の結果は，P2Y6R がリガンド非依存的に，細胞外基質タンパク質（特にインテグリン）との相互作用を介して活性化する可能性を示している。

（21）TRPC チャネルの細胞内輸送を制御する新規膜貫通タンパク質 OGU1 の機能解析

○伊藤智哉 [1,2]，高橋重成 [4]，加藤賢太 [4]，西田基宏 [1]，森　泰生 [4,5]，相澤康則 [2,3]
（[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] 東京工業大学大学院・生命理工学研究科・分子生命科学専攻，
[3] 東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター，[4] 京都大学大学院工学研究科・合成・生物化学専攻，
[5] 京都大学・地球環境学堂・環境適応生体システム論）

ヒトゲノムには約 2 万 5 千種のタンパク質遺伝子がコードされていると見積もられているが，2005 年から報告され始めたトランスクリプトーム解析によって，ヒトを含む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とが明らかになっている。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，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。さらに，共免疫沈降の実験過程から，OGU1 と TRPC チャネルは細胞内で相互作用していることが示唆されただけでなく，OGU1 タンパク質によって TRPC チャネルの翻訳後修飾が変化していることを突き止めた。詳細な解析から，興味深いことに OGU1 タンパク質は TRPC チャネルの細胞内輸送経路を変化させており，その制御によってイオン流入を制御していることを示唆することができた。

（22）血清尿酸値上昇がもたらす COPD 肺病態の改善作用

藤川春花[1,2]，○首藤　剛[1]，亀井竣輔[1,2]，野原寛文[1,2]，
中嶋竜之介[1]，丸田かすみ[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」）

尿酸は，ヒトにおけるプリン代謝の最終産物であり，ヒト血清中に比較的高濃度存在する内在性抗酸化物質の 1 つである。近年，酸化ストレスがその病態形成に重要とされる慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者を対象にしたコホート研究より，血清尿酸値が COPD のリスクまたは呼吸機能と負の相関があることが報告されたが，本報告を支持する実験的証拠は存在しない。そこで，本研究では，血清尿酸値が COPD 病態に与える影響を明らかにすることを究極の目的とし，本研究室で改変・確立した COPD 様症状を示す気道特異的上皮型ナトリウムチャネル (ENaC) 過剰発現マウス (ENaC-Tg マウス) における血清尿酸値の変動が，COPD 様肺病態にどのような影響を与えるかについて検討した。本研究では，マウス体内に発現し血清尿酸値を規定する尿酸代謝酵素ウリカーゼ (ヒトでは欠損) の阻害剤であるオキソン酸を ENaC-Tg マウスに投与した。その結果，ENaC-Tg マウスへのウリカーゼ阻害剤の投与は，ENaC-Tg 雌マウスの肺気腫症状の指標となる平均肺胞径 (MLI) を低下させる傾向にあった。また，ウリカーゼ阻害剤は，ENaC-Tg 雌マウスの呼吸機能 (0.1 秒率) の低下も改善する傾向にあった。以上，本研究は，内因性抗酸化物質である尿酸が，COPD の病態形成をモジュレートする重要な因子であることを示唆した。

15. 最先端生理学と和漢医薬学との融合

2016 年 1 月 14 日－1 月 15 日

代表・世話人：門脇　真（富山大学 和漢医薬学総合研究所）

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 細胞生理研究部門）

（1）BDNF 発現誘導機構と和漢薬を用いた認知症予防の試み

津田正明（富山大学長学術顧問）

（2）和漢診療の実際

渡り英俊（富山大学 医学部附属病院 和漢診療科）

（3）和漢薬の治療概念を基盤とした新たな生体生理機能探索への挑戦

東田道久（富山大学 和漢医薬学総合研究所 複合薬物薬理学分野）

（4）「私たち」の脳科学へ向けて　２個体同時計測 fMRI によるアプローチ

定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

（5）革新的医療技術創出拠点としての名古屋大学の取り組み

水野正明（名古屋大学 中部先端医療開発円環コンソーシアム）

（6）アカデミア研究成果の出口戦略：ベンチャーキャピタルの立場から

長谷川宏之（三菱ＵＦＪキャピタル 投資第二部 ライフサイエンス室長）

（7）脊髄損傷の治療を目指した和漢薬研究

東田千尋（富山大学 和漢医薬学総合研究所 神経機能学分野）

（8）脊髄損傷からの機能回復戦略

西村幸男（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門）

（9）大脳皮質局所神経回路の形成メカニズム

吉村由美子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門）

（10）漢方薬成分のインシリコ標的タンパク質探索による漢方薬の効能リポジショニング

門脇　真（富山大学 和漢医薬学総合研究所 消化管生理学分野）

【参加者名】

門脇　真，津田正明，東田道久，東田千尋，渡り英俊，小泉桂一, 歌　大介, 楊　志友, 田辺紀生, Donald Zinsou, 徐　久翔，呉　伊羲，谷江良崇，小林　諒，緒方華子，楊　熙蒙，石川　卓，小暮智里，水野祐介，岩白　円（富山大学），長谷川宏之（三菱 UFJ キャピタル），水野正明（名古屋大学附属病院），田中久貴（北樹会病院/星薬科大学）, Hong Luo（Global Science and Culture Publishing）, 高雄啓三（富山大学/生理学研究所），井本敬二，定藤規弘，吉村由美子，西村幸男，池中一裕，吉本隆明，本多結城子, 森　将浩, 伊藤嘉邦, 嶋田ゆう（生理学研究所），富永真琴，西田基宏，内田邦敏，高山靖規，藤山雄一，福田直美（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

和漢薬・漢方薬は，複数の薬理作用を有する多成分系の複合薬物であり，時に純薬に勝る明確な臨床効果が示されている。その薬効は，病名に対してなされるものではなく，ヒトの生理的状態に対処することで達成されることが歴史的・経験的に示されており，今日の漢方治療体系を形作っている。そこへ現代科学の視点からの科学的エビデンスを与え，またそれに基づく新規治療薬の開発へとつなげてゆくためには，基礎生理学分野と和漢薬医薬学分野との相互理解が意義深いと考え，本研究集会を実施した。研究集会は，両研究所所長による各々の研究所の紹介で幕を開け，その後富山大学学術顧問の津田正明による富山大学の認知症予防プロジェクトとそれへ

の和漢薬の寄与等に関する講演がなされた。次いで和漢薬の臨床的治療体系について臨床医である渡り英俊から解説がなされた。その治療体系に準拠する形で進められているうつ病に関する基礎研究に関しての報告が東田道久から紹介され，そこで用いられている MRI 画像解析に関する先進的なアプローチについて生理研の定藤規弘が報告を行なった。2 日目には脊髄損傷治療に関する和漢薬の効果に関して東田千尋が紹介し，生理学的視点からの脊髄損傷回復戦略に関する劇的な成功例を西村幸男が報告した。さらに神経回路形成機序に関する基礎的で先進的な研究成果を吉村由美子が報告した。最後に和漢研所長の門脇真が情報科学に基づく和漢薬の新たな作用検索の可能性に関する講演を行なった。会では加えて，アカデミア研究が実際の臨床現場での治療に生かされるまでの戦略について，名古屋大学ならびに中部地区での先端医療開発支援体制の実例を名古屋大学学長補佐の水野正明が報告し，ファンド支援について三菱 UFJ キャピタル理事の長谷川宏之が講演を行なった。会終了後には，生理研の講演者３名の研究室訪問も実施され，実質的で深い相互理解が図られた。

（1）BDNF 発現誘導機構と和漢薬を用いた認知症予防の試み

津田正明　（富山大学長学術顧問）

脳由来神経栄養因子(BDNF)は，長期記憶など神経可塑性に根幹的な役割を果たしている。認知症やうつ病では，脳内の BDNF 発現量が低下していること，抗うつ薬投与で発現量が回復することが報告されており，脳内における BDNF 発現量が機能発現の大きな要因となっていることが示唆されている。

発表者の研究グループでは，G-タンパク質共役型受容体(GPCR)を活性化すると，NMDA 受容体活性亢進を介してカルシニューリンへの伝達経路が選択的に活性化されて，効率のよい BDNF 遺伝子(*Bdnf*)発現誘導が起こることを認めた。この誘導系は，GPCR リガンドの種類によらずに引き起こされた。

同研究グループは，蛍ルシフェラーゼを *Bdnf* に組み込んだ Tg マウス（医学部森寿先生作製）を用いて，*Bdnf* 発現誘導剤の検索を目的とした多検体スクリーニング系を開発した。このスクリーニング系を用いて，約 120 種類の生薬エキス中，複数種に *Bdnf* 誘導活性を認めている。

一方，平成 26 年度 JST 申請事業「地域の自然環境と和漢医薬産業を基盤とした和漢健康づくりに関する調査」をもとに，地域が掲げる健康寿命延伸に対し，富山大学が行政や企業等と協力してどのような対策を施行できるか調査を行った。その結果，和漢薬による認知症予防が本大学の関われる大きな目標であることが示され，*Bdnf* 誘導性の生薬に注目して認知症予防を試みている。

（2）和漢診療の実際

渡り英俊（富山大学 医学部附属病院 和漢診療科）

和漢診療では四診と喜ばれる診察つまり，望診，聞診，問診，切診を行い患者の状態を漢方医学的に把握することから診断が開始される。望診は視覚によって，聞診は聴覚，嗅覚によって，問診は質問によって，切診は患者に触れることによってそれぞれ情報を集める。それを総合した結果として漢方学的な証を決定する。証とはどの方剤を用いるかという治療の答えであり，診断がそのまま治療へとつながる和漢診療の特長を表している。その証を決定する要素としては陰陽，虚実，六病位，気血水，五蔵などがあり四診の後にそれぞれの要素を決定し，証の診断に至る。

我々がこれらの診療の根拠としているものが，傷寒論，金匱要略などの中国における漢方医学の古典である。これらは西暦 200 年前後に記載されたとされ，当時の流行疾患に対する湯液治療に関して記された医学書である。これらはおそらく長年にわたる経験則に基づいて書かれ

ており，それが現代に受け継がれ続けてきたものである。EBM に基づく医療において，経験則に由来した治療はエビデンスレベルが低いとされる。しかし実臨床において，確かに効果を認める漢方治療には何かしらの科学的メカニズムがあり，これらを証明していくことも今後の和漢診療の課題であると考えている。

（3）和漢薬の治療概念を基盤とした新たな生体生理機能探索への挑戦

東田道久（富山大学 和漢医薬学総合研究所 複合薬物薬理学分野）

和漢薬の作用機序を解明する研究において，和漢薬独特の個性を生かした展開が，新たな生体生理機能の解明や，思いも寄らない機序を有した新規治療薬の開発につながる可能性がある。その研究の推進上，生理学的手法との連携は大きな成果をもたらすことが期待される。そのいくつかの例を実際的な研究成果を基に紹介した。

1) 生薬の有効性は成分を単離同定し証明することが一般的であるが，和漢薬理論「対薬」では，有効生薬に対して別の生薬を合わせることにより作用の方向性が規定される。その例として麻黄に，石膏を合わせた場合と桂皮を合わせた場合の cAMP 生成量の方向性の違いを示した。2) 和漢薬の中には抗うつ効果が期待される処方が多数存在し使い分けがなされているが，それが「五行論」に基づいて説明できるとする演者の仮説を提示した。さらに具体的に，「補中益気湯」の作用機序に関して，a) 感受性の違いによりヒト脳中での MRI シグナルが異なること，b) うつ病モデル動物でもその違いが再現できること，c) 補中益気湯を構成する生薬を別の処方との関連性から 5 種ずつの 2 群に分けて検討し，一方は脳を活性化し，一方は消化器系を活性化した後に神経系を介して脳に対し抑制性に作用する可能性のあること，d) 補中益気湯中のセロトニン受容体刺激成分を電気生理学的手法と HPLC 精製との組み合わせにより検索し，単離したことなどの成果を報告した。

（4）「私たち」の脳科学へ向けて　２個体同時計測 fMRI によるアプローチ

定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

ヒトの社会性発達機構の研究は，様々な社会的行動特性を抽出し，対応する神経基盤を機能的 MRI により描出することで展開してきたが，「双方向性」と「共有」を計測することは困難であった。注意共有は，対面 2 者において相手（相互注視）あるいは第三者物（共同注意）へ注意を向けることであり，対面コミュニケーションの基盤である。瞬きは，個人の注意状態に関係することが知られており，その同期は注意共有の指標となる。そのため共同注意課題遂行中に瞬きは同期するはずであり，対面で相互作用しつつある２者によって形成される神経記憶痕跡もこれに対応した同期として捕捉されうると予想された。健常被験者ペアに相互注視課題，引き続き共同注意課題，数日後に相互注視課題を遂行させ，その間２台の MRI を用いて対面 2 者の神経活動を同時に計測した。一回目の相互注視課題では，瞬きは同期しなかったが，その後の共同注意課題遂行中に，瞬きは同期した。数日後に再び相互注視課題を遂行すると，瞬き同期が見られ，右下前頭葉の神経活動が二者間で同期し，これらの同期強度は正相関した。右下前頭葉は，共同注意を開始する場合にも，相手の視線に反応する場合にも活動することから，右下前頭葉の神経同期は共同注意課題における Hebb 学習の結果と考えられた。2 個人同時計測 MRI により，個人間の関係性を脳科学的に扱う「私たち」の脳科学が大きく展開することが期待される。

（5）革新的医療技術創出拠点としての名古屋大学の取り組み

水野正明（名古屋大学 中部先端医療開発円環コンソーシアム）

近年，我が国の創薬はがん治療を中心に広く臨床で使われているバイオ医薬品分野において劣勢ではあるものの，世界が我が国に求める期待は大きい。これを受け，これまでシーズの発掘を主な役割としていたアカデミアが異分野との融合を通して，製薬会社と対等に創薬プロセスについて語り始めようとしている。今回の講演では，サイエンスに軸を置いたアカデミア創薬の有位性と，それを生かした体制作りの例としての名古屋大学病院での先端医療開発支援体制ならびに中部地区 12 大学･施設よりなる「中部先端医療開発円環コンソーシアム」について紹介した。また 2015 年 4 月に発足した日本医療研究開発機構 (AMED) についても触れた。現在でも日本は米国，スイスに次ぐ世界　第三位の新薬創出国であるが，今後も世界福祉におけるその期待に答えて行くためには，医療分野の基礎から臨床までの研究開発の推進とその成果の円滑な実用化に向けての我が国独自のアカデミア創薬基盤の形成が重要であり，今まさにそれが進められつつあるといえる。我が国が創薬分野において世界をリードする国であり続けることを期待したい。

（6）アカデミア研究成果の出口戦略：ベンチャーキャピタルの立場から

長谷川宏之　（三菱ＵＦＪキャピタル 投資第二部 ライフサイエンス室）

バイオベンチャーの盛り上がりムードは 1997 年から 2000 年代初頭から始まり 2004 年頃にピークを迎えた. バイオベンチャーは 2005 年頃からの株式市場での上場バイオベンチャーに対する評価見直し，ライブドア事件に端を発した新興株式市場への不信感による株価下落および世界金融危機により厳しい時代を経験した. その後，2012 年の山中伸弥博士によるノーベル賞受賞，アベノミクスによるライフサイエンス分野に対する各種施策等から，最近はその盛り上がりを戻しつつある.

製薬出身のベンチャーキャピタリストが大学発バイオベンチャーに対する投資検討する上で，どのような観点でその技術・事業を見ているのかについて紹介した。また，近年の製薬会社によるオープンイノベーション (OI : 社外共同研究) を取り入れた新薬開発研究についても触れ，三菱 UFJ キャピタルと第一三共が共同で有望な研究成果に対して全面的に支援する新しい OI 事業「OiDE ファンド」を紹介した。

ベンチャー起業に際しては，研究者独自の価値判断だけによらずに，「大学発新産業創出プログラム (START 事業)」や紹介した OI 活動への参画等により，早期から当該疾患や製薬企業のニーズおよび成功に必要なデーターの種類や質を把握することも，アカデミア研究の迅速かつ確実な実用化のために効率的な方法と考える。

（7）脊髄損傷の治療を目指した和漢薬研究

東田千尋（富山大学 和漢医薬学総合研究所 神経機能学分野）

神経疾患に対する新しい治療戦略の構築を目指し，和漢薬の薬効探索，および活性を有する薬物の作用メカニズムの解析を行ってきた。

インドのアーユルヴェーダ医学で使われている Ashwagandha に関して，軸索伸展活性を示す成分を同定し，その誘導体合成研究を進めた結果，新規化合物 denosomin 見出した。脊髄損傷マウスに損傷直後から 14 日間 denosomin を経口投与すると，後肢運動機能障害が

改善した。Denosomin 投与により損傷部にアストロサイトが増加すること，アストロサイトから vimentin が分泌されること，細胞外から作用する vimentin には軸索伸展作用があることを見出した。Vimentin を脊髄損傷マウスに脳室内投与すると運動機能障害が改善した。また vimentin が IGF1 受容体を直接刺激することで軸索伸展が促されることを初めて明らかにした。

さらに，CSPG 上でも軸索を伸展させる活性を有する生薬として苦参を明らかにし，その活性成分としての matrine を同定したほか，骨格筋萎縮を改善させる生薬も明らかにした。今後は，これらの薬物・作用機序を利用したマルチ戦略により，脊髄損傷の機能改善を図ることを目指している。

（8）脊髄損傷からの機能回復戦略

西村幸男（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門）

脊髄損傷や脳梗塞などの神経損傷による四肢麻痺患者の願いは，“失った機能を取り戻したい”，それに尽きる。すなわち，自分の意思で自分の身体を思い通りに動かし，自分が何をしたかを感じ取れるように戻りたいのである。神経損傷による運動・体性感覚機能の消失は，大脳皮質と脊髄間を結ぶ神経経路が切断されてしまうことに起因するが，損傷の上位及び下位に位置する神経構造はその機能を失っているわけではない。本講演では，神経損傷後に残存した神経構造同士を，損傷領域を跨いで人工的に神経接続する“人工神経接続”により，失った四肢の随意制御の機能再建に成功した例を紹介する。人工神経接続は随意制御可能な生体信号（脳活動や筋活動）を記録し，それをリアルタイムに電気刺激へ変換し，物理的に離れた神経構造を電気刺激する，すなわち神経活動依存的電気刺激である。このパラダイムを用いて，重度脊髄損傷患者の随意歩行の機能再建と機能再獲得の神経メカニズムについて議論する。

（9）大脳皮質局所神経回路の形成メカニズム

吉村由美子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門）

大脳皮質において胎生期に同じ神経前駆細胞から発生したニューロンは，生後に選択的に神経結合することが報告されている。我々は，iPS 細胞技術を利用したキメラマウス標本により発生期に同じ神経幹細胞から生まれた細胞を標識し，神経結合の細胞系譜依存性を解析した。大脳皮質バレル野 4 層において，細胞系譜が同じであるクローン細胞ペアは，非クローン細胞ペアに比べて，高い割合で双方向性結合を形成していることを見出した。クローン細胞間のシナプス形成機構を明らかにするために，胎生期の幹細胞で高い発現を示す DNA メチル化酵素 Dnmt3b に着目した。Dnmt3b ノックアウトマウスから樹立した iPS 細胞を用いてキメラマウスを作成し，Dnmt3b を欠損したクローン細胞間の神経結合を解析した結果，細胞系譜特異的な双方向性結合が消失していた。さらに，細胞接着因子であるクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）の多様な遺伝子発現パターンは Dnmt3b により調節されるため，cPcdh 全欠損マウスから作製した iPS 細胞を用いて同様の実験を行った結果，cPcdh 欠損クローン細胞ペアにおいても細胞系譜特異性がみられなかった。以上の結果は，同じ細胞系譜に由来するニューロン群が神経結合するパートナーを認識する機構に，Dnmt3b と cPcdh 分子が関与することを示唆する。

（10）漢方薬成分のインシリコ標的タンパク質探索による漢方薬の効能リポジショニング

門脇　真　（富山大学 和漢医薬学総合研究所 消化管生理学分野）

漢方薬治療は日本の独創的で有用な治療体系であり，西洋薬治療とは治療体系が全く異なるが，其々特徴や長所がある。日本では其々の長所を活かした融合型の世界で最も良質な医療が行われている。しかし，多成分薬剤である漢方薬は複雑系である故に，その薬理作用の全貌を解明する基盤技術は未だ開発されておらず，漢方薬治療は経験知に大きく依存し，漢方薬の作用機序に科学的エビデンスは未だ乏しい。

富山大学では漢方薬に関する基礎科学から臨床知見までの質が高く幅広い膨大なデータを和漢薬データベースとして長年に渡り蓄積している。そこで，この実験的及び臨床的経験科学データを基盤に，タンパク質科学情報（理論科学情報），医薬品・化合物ータンパク質相互作用情報，さらに漢方薬成分と標的タンパク質との結合シミュレーションによる予測システムを組み合わせ，e-サイエンスにより統合的に解析する。これにより，漢方薬の作用機序を解明するとともに，漢方薬の新たな適応可能疾患を予測し，医療現場でさらに漢方薬を有効利用する科学基盤の確立を目指している。

16. 温熱生理研究会

2015 年 8 月 27 日－8 月 28 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）高体温時における下肢陰圧負荷時の脳血流量反応

野間あゆみ，金丸櫻子，大城　岬，芝﨑　学（奈良女子大学生活環境学部）

（2）手足の浸水と送風スプレーによるプレクーリングは暑熱下運動時の深部体温上昇と脱水を半減させる

時澤　健[1]，岡　龍雄[1]，安田彰典[1]，ソン スヨン[1]，和田　潤[2]，井田浩文[2]

（[1]（独）労働安全衛生総合研究所，[2]東京電力・技術開発センター）

（3）暑熱環境下での運動パフォーマンス向上を目的としたメントール含有炭酸泉の有用性

西村直記[1]，岩瀬　敏[1]，池田敬祐[2]，工藤道誠[2]

（[1]愛知医科大学，[2]花王㈱）

（4）オキシトシンニューロン特異的な光刺激と褐色脂肪熱産生

中村和弘[1,2]（[1]名古屋大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]JST・さきがけ）

（5）Lack of TRPV2 impaired thermogenesis in mouse brown adipose tissue

Wuping Sun[1,2], Kunitoshi Uchida[1,2], Yoshiro Suzuki[1,2], Yiming Zhou[1], Minji Kim[3], Yasunori Takayama[1]
Nobuyuki Takahashi[3], Tsuyoshi Goto[3], Shigeo Wakabayashi[4], Teruo Kawada[3], Yuko Iwata[4] and Makoto Tominaga[1,2]

([1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National Institute for Physiological Sciences);
[2]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI;
[3]Division of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University;
[4]Department of Molecular Physiology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute)

（6）Neuropeptide Y が褐色脂肪熱産生を抑制する中枢神経回路メカニズム

中村佳子[1]，柳川右千夫[2]，Shaun F. Morrison[3]，中村和弘[1,4]

（[1]名古屋大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]群馬大学大学院医学系研究科遺伝発達行動学，
[3]Department of Neurological Surgery, Oregon Health & Science University, USA，[4]JST・さきがけ）

（7）視索前野・前視床下部へのαアドレナリン作動薬の灌流が体温調節機構に及ぼす影響

石川　亮，鄭　鑫焱，長谷川　博（広島大学大学院 総合科学研究科）

（8）脳波事象関連電位を用いた高体温時の認知機能評価

大城　岬，中田大貴，芝﨑　学（奈良女子大学大学院人間文化研究科）

（9）老若男女の発汗機能とその運動トレーニング効果

井上芳光（大阪国際大学 人間科学部スポーツ行動学科）

（10）脳内温度計測と脳内温度変化から見た脳内エネルギー変化

吉岡芳親[1]，及川　浩[2]，関　淳二[3]

（[1]大阪大学 免疫学フロンティア研究センター，[2]岩手県立二戸病院 放射線科，
[3]関西大学 先端科学技術推進機構）

（11）暑熱負荷時の頸動脈血管反応性

金丸櫻子，野間あゆみ，芝﨑　学（奈良女子大学生活環境学部）

（12）脳機能画像法による温熱感覚の評価

永島　計[1]，相澤優香[1]，原田宗子[2]，中田大貴[3]，綱川みずき[1]，定藤規弘[2]

（[1]早稲田大学・人間科学，[2]生理学研究所・心理生理，[3]奈良女子大学・生活環境）

（13）褐色脂肪の活性化・増量による肥満軽減

斉藤昌之（北海道大学）

（14）脳出血による発熱の分子・細胞メカニズム：mPGES-1 の関与

篠崎一秀[1]，平井佑紀[1]，山村剛司[1]，岡本士毅[2]，箕越靖彦[2]，松村　潔[1]

（[1]大阪工業大学 工学研究科 生体情報研究室，

[2]生理学研究所 生殖・内分泌系発達機構研究部門）

（15）アミロイドβ脳室投与がラット行動性体温調節機能と暑熱馴化形成機能に及ぼす影響

松崎健太郎[1]，片倉賢紀[1]，杉本直俊[2]，原　俊子[1]，橋本道男[1]，紫藤　治[1]

（[1]島根大学医学部環境生理学，[2]金沢大学医薬保健研究域医学系）

【参加者名】

斉藤昌之・天野大樹（北海道大学），永島　計・丸井朱里・綱川みずき・相澤優香・小幡千紗・三宅史高・脇　直也・片岡理絵（早稲田大学），時澤　健（(独)労働安全衛生総合研究所），中村和弘・中村佳子・太田　航・黒野嵩矢（名古屋大学），西村直記・犬飼洋子（愛知医科大学），芝崎　学・中田大貴・大城　岬・野間あゆみ・金丸櫻子（奈良女子大学），吉岡芳親（大阪大学），井上芳光（大阪国際大学），松村　潔・篠崎一秀（大阪工業大学），砂川玄志郎（理化学研究所），田村　豊・門田麻由子（福山大学），松崎健太郎（島根大学），石川亮（広島大学），金田謙治・小林泰良（豊田中央研究所），式井愼一（パナソニック㈱），檜山武史（基礎生物学研究所），岡本士毅・徳岡広太（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・Derouiche Sandra・Wuping Sun・西本れい・Rupali Gupta・Kurganov Erkin・藤山雄一（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

H27 年度の温熱生理研究会（代表 奈良女子大学・芝崎（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日間にわたって最新の研究成果発表と活発な討論が行われた。

２題の招待講演では温熱生理学および温度計測関連のトピックスが発表された。井上は熱中症に罹りやすい高齢者の体温調節を中心に，老若男女の体温調節反応について最新知見までをわかりやすく解説した。吉岡は MRS を用いた温度計測の研究の基本原理から実測例を含めたヒト非侵襲脳内温度測定について解説した。

一般演題では１３題の最新研究成果が発表された。

１日目は，野間らが高体温時の起立性ストレス時に脳へ血液を供給する椎骨動脈において逆行性成分が認められることを紹介し，大城らは高体温時の認知機能低下を脳波事象関連電位から客観的に評価した結果を報告した。時澤らは手足の浸水や送風スプレーによる運動前の身体の冷却が深部体温上昇を抑制し，発汗抑制による脱水を軽減することを報告し，西村らは TRPM8 を刺激して冷感覚を促進するメントールを利用し，温度感覚から運動中の快適性について検討した結果を報告した。

中村（和）はオキシトシンが褐色脂肪熱産生に関与することを視覚的にその経路を証明するための手法と仮説の検証結果を報告し，Sun らはマウスの褐色脂肪熱産生に TRPV2 チャネルが関与していることを紹介し，中村（桂）らは NPY による褐色脂肪熱産生抑制の中枢神経回路メカニズムを報告した。石川らはマイクロダイアリシス法を用いた視索前野・前視床下部へのαアドレナリン作動薬投与に対する体温調節反応への影響を報告した。

２日目は，金丸らが暑熱負荷時の脳への血流調節に関与する総頸動脈における血管特性の評価方法について紹介し，永島らは機能的核磁気共鳴画像法を用いた温度感覚と温度に対する快不快の評価部位の違いを報告し，斉藤は陽電子放射断層撮影法を用いた褐色脂肪組織の評価方法から TRP チャネル刺激物質の摂取による褐色脂肪の活性化および抗肥満効果について発表した。

篠崎らは脳出血性発熱におけるシクロオキシゲナーゼの局在性とプロスタグランジン E2 の関与について報告し，松崎らはアミロイド β を脳室内に投与することによって作成した認知症モデルラットの行動性体温調節および暑熱馴化形成機能の解析結果を報告した。

（1）高体温時における下肢陰圧負荷時の脳血流量反応

野間あゆみ，金丸櫻子，大城　岬，芝﨑　学
（奈良女子大学生活環境学部）

熱中症の症状の一つである熱失神は，高体温時の血流配分調節が関与していると考えられる。失神には脳への不十分な血液供給が影響することが指摘されており，先行研究においても高体温時における起立性ストレス時に脳血流が大きく低下することが報告されている。多段階の下肢陰圧負荷（20,35,50 mmHg）時の内頸動脈（ICA）と椎骨動脈（VA）血流量反応を検討したところ，ICA 血流量は負荷強度に依存して低下するが，VA 血流量は低レベルの負荷では一定に維持されるがあるレベルから急激に低下するような反応が観察された。これらのことから，暑熱負荷時の脳血流量調節にも部位特性があり，起立耐性には VA 血流量調節が大きく関与している可能性が示唆された。

健康な若年者９名を被験者とし，水循環服によって受動的に体温を上昇させた。先の研究から外耳道温が安静時よりも 1.2℃上昇すると，十分に換気が亢進することから，外耳道温が 1.4℃上昇したことを確認したのちに段階的な下肢陰圧負荷（20 mmHg から３分ごとに 10 mmHg 上昇）を実施し，明らかな心拍数と血圧の低下もしくは被験者が終了申告するまで継続した。

ICA は失神兆候時においても順行性の血流波形が維持されたが，VA には明らかな部分的な逆行性血流波形が観察された。

(2) 手足の浸水と送風スプレーによるプレクーリングは暑熱下運動時の深部体温上昇と脱水を半減させる

時澤　健[1]，岡　龍雄[1]，安田彰典[1]，ソン スヨン[1]，和田　潤[2]，井田浩文[2]
([1](独)労働安全衛生総合研究所，[2]東京電力・技術開発センター)

運動前に深部体温を下げるプレクーリングは，暑熱下運動時の生理的・心理的負担を和らげ運動パフォーマンスを高める。実験的には 10～20℃のウォーターバスに全身浸かる方法が用いられているがフィールドでは不向きであり，労働現場などでも応用可能な簡便な方法が必要とされる。我々は送風スプレーによるプレクーリングを検証したが，2 割程度の負担軽減に留まった（Tokizawa et al. Int J Biometeorol, 2014）。本研究では，特殊な放熱器官である手と足に注目し，プレクーリングの冷却対象となるか否か，また送風スプレーと併用する効果についても検証した。

健常成人男性を対象に，暑熱下運動前に両手足を 18℃の水に 30 分間浸ける試行（WI），それに加え全身に送風スプレーを同時に行う試行（WI+FAN），冷却を行わないコントロール（Con）試行を行った。暑熱下運動は，室温 37℃，相対湿度 50％の環境下で防護服を着用し，2.5 km/h で 1 時間歩行した。

深部体温（直腸温）の上昇は，Con と比較し WI で有意に低値を示し半減した（1.0±0.1℃，0.5℃±0.1℃）。WI+FAN の上昇は WI と同程度であった。胸部発汗率は Con と比較し WI と WI+FAN で抑制され，WI+FAN の方が有意に低減率は高かった（22±5%，45±2%）。体重減少率も同様であった（19±4%，38±6%）。温度感覚，温熱的不快感，および疲労感の主観的感覚（VAS）のスコアは，Con と比較し WI と WI+FAN で同程度有意に低値を示したが，口渇感については WI+FAN のみ有意に抑制された。

深部体温の上昇抑制には，手足の浸水によるプレクーリングが有効であり，さらに全身の皮膚温低下を引き起こす送風スプレーを行うことで，発汗が抑制され脱水を軽減させることが示唆された。

（3）暑熱環境下での運動パフォーマンス向上を目的としたメントール含有炭酸泉の有用性

西村直記[1]，岩瀬　敏[1]，池田敬祐[2]，工藤道誠[2]
（[1]愛知医科大学，[2]花王㈱）

メントールは，皮膚感覚神経に発現している温度受容体 TRPM 8 を活性化させることから，肌に塗布することで冷涼感が得られることが知られている。また，メントールを含有した炭酸ガス入浴剤(M+CO_2 浴)を用いた入浴時には，入浴中の皮膚血管拡張効果に加え，入浴後には明らかな冷涼感が得られることから，特に夏季においての利用が推奨されている。

本研究では，M+CO_2 浴後の暑熱環境下での運動が，体温調節機能，呼吸循環機能，筋電図および主観的感覚に及ぼす効果について，炭酸浴（CO_2 浴）やさら湯浴（FR 浴）と比較・検討した。健常男子大学生を対象に M+CO_2 浴，CO_2 浴，FR 浴をそれぞれ別の日に 20 分間ずつ行わせた後，室温 33℃，相対湿度 60%に設定した人工気候室内にて多段階負荷の自転車ペダリング運動を行わせた。その際に，被験者の前方と左右から扇風機で送風した。M+CO_2 浴後では，他の入浴と比較して①暑熱環境下での運動中の心拍数の増加がより軽減される，②暑熱環境下であっても運動開始初期では明らかに涼しく感じ，快適感覚の評価が最も良い等の結果が得られた。以上の結果は，M+CO_2 浴が暑熱環境下での運動前の入浴方法として有用である可能性を示唆するものである。

（4）オキシトシンニューロン特異的な光刺激と褐色脂肪熱産生

中村和弘[1,2]
（[1]名古屋大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]JST・さきがけ）

オキシトシンは多彩な作用を持つペプチドホルモンだが，代謝調節における機能は不明である。私はこれまでに，褐色脂肪熱産生に関わる交感神経プレモーターニューロンが分布する延髄縫線核にオキシトシンニューロンの軸索終末が分布し，この軸索が視床下部室傍核に由来することを見出した。また，ラット延髄縫線核へオキシトシンを注入すると褐色脂肪熱産生が惹起されることから，視床下部室傍核から延髄縫線核へ投射するオキシトシン含有神経終末から放出されるオキシトシンがプレモーターニューロンを活性化することで褐色脂肪熱産生を亢進させるという仮説を立てた。しかし，視床下部室傍核ニューロンを刺激すると褐色脂肪熱産生が抑制されることから，オキシトシンニューロン特異的な刺激を行い，熱産生に対する影響を調べる必要があった。

今回，オキシトシンニューロン特異的にレポーター遺伝子を発現させる OXY-Tet ウイルスの作製に成功した。このウイルスを用いて膜標的型 GFP を視床下部室傍核に発現させると，オキシトシンニューロンに対する高い発現特異性が確認できた。また，これらのニューロンに由来する多数の軸索終末が延髄縫線核に分布することも確認できた。次に，視床下部室傍核のオキシトシンニューロン特異的に光活性化カチオンチャネル ChIEF を発現させ，延髄縫線核の ChIEF 含有軸索終末を光刺激すると褐色脂肪熱産生が惹起された。この実験結果は上記の仮説を支持する。

（5）Lack of TRPV2 impaired thermogenesis in mouse brown adipose tissue

Wuping Sun[1,2], Kunitoshi Uchida[1,2], Yoshiro Suzuki[1,2], Yiming Zhou[1], Minji Kim[3], Yasunori Takayama[1]
Nobuyuki Takahashi[3], Tsuyoshi Goto[3], Shigeo Wakabayashi[4], Teruo Kawada[3], Yuko Iwata[4] and Makoto Tominaga[1,2]
（[1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National Institute for Physiological Sciences);
[2]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI;
[3]Division of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University;
[4]Department of Molecular Physiology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute）

Brown adipose tissue (BAT), which is a major site for mammalian non-shivering thermogenesis, could be a target for prevention and treatment of human obesity. Transient receptor potential vanilloid 2 (TRPV2), a Ca^{2+}-permeable non-selective cation channel, plays vital roles in the regulation of various cellular functions. However, the involvement of TRPV2 in physiological function of mouse BAT remains unexplored. We revealed that TRPV2 was expressed in brown adipocytes at mRNA, protein and functional levels. The mRNA levels of mitochondrial oxidative metabolism-related genes were significantly lower in both primary cultured brown adibocytes and BAT form TRPV2 knockout (TRPV2KO) mice. Moreover, white adipose tissue weights were significantly larger in TRPV2KO mice. The sizes of adipocytes and lipid droplet were larger in TRPV2KO BAT. In addition, TRPV2KO mice showed cold intolerance and reduced responses to administration of a β3-adrenergic receptor agonist in measurement of *in vivo* BAT and body temperatures. Therefore, we concluded that TRPV2 might be involved in BAT thermogenesis by modulating the expression levels of genes related to thermogenesis and energy metabolism.

（6）Neuropeptide Y が褐色脂肪熱産生を抑制する中枢神経回路メカニズム

中村佳子 [1]，柳川右千夫 [2]，Shaun F. Morrison[3]，中村和弘 [1,4]
（[1] 名古屋大学大学院医学系研究科統合生理学，[2] 群馬大学大学院医学系研究科遺伝発達行動学，
[3]Department of Neurological Surgery, Oregon Health & Science University, USA，[4]JST・さきがけ）

視床下部室傍核に neuropeptide Y (NPY)が作用すると摂食量が増大し，また，褐色脂肪熱産生や代謝が抑制される。これは飢餓時のエネルギー節約反応の一部を構成すると考えられているが，その中枢メカニズムはよくわかっていない。そこで，我々は神経解剖学および *in vivo* 生理学的手法を用いて中枢神経経路を探索した。これまでの我々の実験から，NPY による褐色脂肪熱産生抑制作用は，延髄縫線核の交感神経プレモーターニューロンが GABA 作動性に抑制されることによって生じることがわかっている。そこで，神経トレーシング実験を行うと，延髄の中間網様核（IRt）や小細胞性網様核（PCRt）から延髄縫線核へ多くの GABA 作動性の投射があることがわかった。さらに，IRt/PCRt が褐色脂肪熱産生を抑制するかを調べるために，麻酔ラットを用いた *in vivo* 生理実験を行なった。NPY を視床下部室傍核に注入すると褐色脂肪熱産生が抑制されるが，この NPY による抑制作用は，IRt/PCRt のニューロンを muscimol 注入によって抑制すると消失した。これらの結果から，視床下部の NPY に由来する飢餓シグナルは，IRt/PCRt の GABA 作動性ニューロン群を介して延髄縫線核の交感神経プレモーターニューロンを抑制し，褐色脂肪熱産生を抑制することが示唆される。

（7）視索前野・前視床下部へのαアドレナリン作動薬の灌流が体温調節機構に及ぼす影響

石川　亮，鄭　鑫焱，長谷川　博
（広島大学大学院 総合科学研究科）

これまでに視索前野・前視床下部におけるカテコールアミン（ドーパミン・ノルアドレナリン）が体温調節機構において重要な役割を果たしていることが報告されている。しかしながら，動物種や投与量，投与方法などの違いから，個々のノルアドレナリンサブタイプの温熱的役割は明らかとなっていない。

本研究の，α アドレナリン作動薬を用いてラットの体温調節機構におけるαアドレナリンサブタイプの役割を明らかにすることである。

Wistar 系雄ラットを用いて，チャンバー内（23℃）での 60 分の安静後に，シラゾリン（α-1 アドレナリン作動薬），クロニジン（α-2 アドレナリン作動薬）またはリンゲル液をプローブを通して 60 分間灌流した。腹腔温，尾部皮膚温（熱放散の指標），酸素消費量（熱産生の指標）を連続的に測定した。体温調節中枢と考えられる視索前野・前視床下部(PO/AH)の脳灌流液をマイクロダイアリシス法により 10 分毎に採取し，HPLC 法によってドーパミン(DA)，ノルアドレナリン(NA)及びセロトニン(5-HT)を測定した。

シラゾリン及びクロニジンを灌流すると，30 分後に DA 及び 5-HT レベルは変化せずに PO/AH の NA レベルが有意に上昇した（201 ± 31% : 212 ± 47%）。深部体温，尾部皮膚温及び酸素消費量に変化はなかった。

PO/AH における α-1 及び α-2 アドレナリンレベルの上昇は，体温調節機構に影響を及ぼす可能性は低い。

（8）脳波事象関連電位を用いた高体温時の認知機能評価

大城　岬，中田大貴，芝﨑　学
（奈良女子大学大学院人間文化研究科）

救急搬送時には，熱中症はその症状から重症度によって分類される。めまいや立ちくらみ，頭がぼーっとするといった脳機能に影響しているとみられる症状は重症度Ⅰ度に含まれる。暑熱環境下での運動時には，受動的にも能動的にも体温が上昇するため，熱中症のリスクが高まるだけではなく，運動パフォーマンスが低下する。その原因として末梢性の筋疲労や中枢性疲労による筋力発揮の低下などが報告されているが，集中力や判断力のような高次機能の低下も影響すると考えられる。

暑熱環境曝露や長時間の運動などによる高体温状態が高次の認知機能低下に影響することが示唆されているが，認知機能の客観的評価は難しく，高体温による認知機能への影響は不明のままである。我々は，聴覚刺激に対する脳波事象関連電位に注目し，高体温時の認知機能を客観的に評価することを試みた。

事象関連電位の評価には聴覚反応に関連する N100 および高次の認知処理系に関連する P300 のそれぞれのピークまでの潜時と振幅，反応実行系に関連する反応時間を対象とした。体温上昇に伴い, P300 の振幅は減弱し，高体温時では暑熱負荷前と比較して明らかな減弱が認められた。これは，高体温状態が認知処理系の脳活動，特に認知機能の反応性を大きく低下させることを示している。これより，認知機能を暑熱環境下でも維持するためには深部の温度を上昇しないようにする必要があることが示された。

（9）老若男女の発汗機能とその運動トレーニング効果

井上芳光（大阪国際大学 人間科学部スポーツ行動学科）

ここでは，発汗機能の発育と老化およびその性差について運動トレーニング効果の視点を加えて概説した。思春期前の子どもは，若者より活動汗腺密度は高いが，小さい汗腺サイズに起因して発汗量が少ない。子どもは，この少ない発汗量を代償するために頭や躯幹部の皮膚血流量を若者より増加して熱放散を促進する。発汗量には思春期前にほとんど性差はみられず，思春期開始後の増大の程度は女性が男性よりも小さいため，若者では女性の発汗量が男性より少ない。若者で観察された性差は一般人より運動トレーニング者で顕著だった。若者で観察された女性の少ない発汗量は，高温高湿下では有効発汗量ではなく，少ない無効発汗量に起因した。

高齢者は，老化に伴い皮膚血流量→単一汗腺当たりの汗出力→活動汗腺数と順次低下し，その一連の低下が下肢→躯幹後面→躯幹前面→上肢→頭部と進行する。また，老化に伴う低下は皮膚の温度感受性の低下が汗腺機能の低下より先行する。これらの老化の順序性や地域性は男女でほぼ同様に観察される。発汗機能の性差は，閉経期頃から小さくなり，80 歳あたりで消失することが窺えた。発汗機能に及ぼす運動トレーニングの効果は一般に高齢者が若者より小さかった。

熱帯地住人における発汗機能の発育・老化やその性差は，変化の程度に差はあるものの，日本人で観察された変化パターンと類似した。

（10）脳内温度計測と脳内温度変化から見た脳内エネルギー変化

吉岡芳親[1]，及川　浩[2]，関　淳二[3]
（[1]大阪大学 免疫学フロンティア研究センター，[2]岩手県立二戸病院 放射線科，
[3]関西大学 先端科学技術推進機構）

成人の脳は，全体として 20 W 程度のエネルギーを消費・産生しており，0.6 mL/g/min 程度の血流で温度が維持されているが，脳の温度は局部的・時間的には，様々な身体活動に応じてダイナミックに変動すると考えられる。私たちは磁気共鳴法を使うことで，ヒトの脳内温度の測定を試み，脳の温度が，飲水や運動負荷に応じて変動する事を示してきた。いくつかの運動負荷時や麻酔薬による鎮静時における脳温測定を実現し，温度変化より，脳活動に伴う脳のエネルギー消費量の変動を推算した。

下腿部の屈伸では，脳内温度は徐々に上昇したが，深部体温も上昇するので，その寄与を除外すると，0.01 ºC/min の変化であった。温度変化量から脳の消費エネルギーの増分を試算すると，0.3 W であった。比較的軽い負荷と考えられる手の掌握運動では，局所的な温度低下が観測され，10 mW の増加と推算された。麻酔薬を用いた鎮静時の温度低下では，深部体温の低下よりも脳の温度低下がやや大きく，脳では 0.5 W 程度の代謝低下と推算された。これらエネルギー変化の推算には仮定が含まれるが，局所的な血流量変化を大きく見積もった場合でも，脳全体で消費している 20 W や，一般の運動で消費されるエネルギー量に比較すれば非常に小さい。

（11）暑熱負荷時の頸動脈血管反応性

金丸櫻子，野間あゆみ，芝﨑　学
（奈良女子大学生活環境学部）

暑熱負荷による体温の上昇に伴い心拍数は増加し，心拍出量も増加する。心拍出量は増加するが血流配分が変化し，皮膚血流量が増大するが，内臓などの血流量は低下する。高体温時には起立耐性が低下することが知られており，熱性失神には脳への不十分な血液供給が影響している可能性が指摘されている。しかし，高体温時には心収縮機能が亢進し，脈圧も高くなるため，血液供給には効果的に作用すると考えられる。脳血管は血中二酸化炭素分圧に影響されるため，高体温時の換気亢進が影響していると考えられるが，高体温による血管特性の変化の影響も関与している可能性が考えられる。そこで本研究では先ず暑熱負荷によって血管特性がどのように変化するのかを明らかにすることを目的とした。

健康な若年女性 10 名を被験者とし，水循環服によって受動的に体温を上昇させた。暑熱負荷前，暑熱負荷中，外耳道温が 0.5℃，1.0℃および 1.5℃上昇時の総頸動脈血管特性を評価した。超音波診断装置（Vivid-I; GE healthcare）により右総頸動脈の血管径，平均血流速，血管伸展加速度の順に測定し，血流量は測定後に算出した。血圧は，デジタル自動血圧計（HEM9000AI；オムロンコーリン）により右橈骨動脈で血管径および血管伸展速度計測時に同時測定した。

暑熱負荷中平均動脈圧は維持されたが，脈圧は上昇した。脈圧の上昇に伴い収縮期の血管径は増大し，血管伸展加速度も増加した。

（12）脳機能画像法による温熱感覚の評価

永島　計[1]，相澤優香[1]，原田宗子[2]，中田大貴[3]，綱川みずき[1]，定藤規弘[2]
（[1]早稲田大学・人間科学，[2]生理学研究所・心理生理，[3]奈良女子大学・生活環境）

人の温度感覚は，狭義の温度感覚と温熱的快・不快感に分類されといわれており，古典的な心理学的手法で評価されることが多かった。近年，機能的核磁気共鳴画像法（fMRI）や陽電子放射断層撮影法（PET）が用いて，これら２つの温度感覚が異なる脳領域に独立して，それらの質に応じて発現することが示唆されている。しかし，一般に温度刺激はこれらの感覚を同時に変化させうるものであり，疑問が残る。今回，過去の研究を総括するとともに，我々が得た知見を紹介する。

方法

健康な 20-30 歳の男女 16 名を対象に実験を行った。3 種類の持続的皮膚表面温度刺激（17℃，32℃，47℃：水還流スーツの着用）下に，2 種類の右前腕局所温度刺激（18℃，41.5℃，30 秒間：直径 2 cm のペルチエ素子）を MRI 装置内で行った。30 秒の局所温度刺激後に MRI 内のスクリーン上の Visual analogue scale (VAS)に温度感覚，温熱的快・不快感を提示させた。

局所温度刺激は高温で熱い，低温で冷たいと常に同様に評価された。温熱的快・不快感は，水還流スーツの水温が 47℃の際に，局所温度刺激が高温で不快に，低温で快と評価された。水温が 18℃の際は逆転した。VAS による温度感覚と温熱的快・不快感に interaction は認めなかった。fMRI データの解析結果では，すべての条件に共通な両側体性感覚野，島皮質，眼窩前頭前野を含む脳活動が見られた。温度感覚評価時は島皮質を含む領域，快・不快感評価時は内側前頭前皮質を含む領域の活動が見られた。この結果は，温度感覚や温熱的快・不快感が異なるような温度刺激時にも，同一脳領域で活動が生じていることを示唆しており，従来の報告とは異なっている。しかし，温度受容とそのものと，その後のプロセスとしての熱い・冷たいや快・不快の評価部位は解剖的には異なる部位であるという同様な知見が得られた。

（13）褐色脂肪の活性化・増量による肥満軽減

斉藤昌之（北海道大学）

褐色脂肪は脱共役タンパク質 UCP1 による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は，実験動物のみならずヒトでもほぼ確定している(Kajimura S & Saito M: Annu Rev Physiol 2014; 76:225-249)。

褐色脂肪の活性化・増量する代表的な刺激は寒冷暴露であるが，それ以外にも抗肥満効果をもつ様々な薬物や内・外因性物質が知られている。例えば，β3-adrenoceptor 作動薬は直接褐色脂肪細胞を刺激して熱産生・エネルギー消費を高め肥満を軽減する。また，胆汁酸は TGR5 を介して T4-deiodinaseII を活性化し UCP1 発現を促進する。また，カプサイシンなどのバニロイド化合物は TRPV1 を，またメントールは TRPM8 をそれぞれ刺激して褐色脂肪を活性化・増量させ体脂肪を減少させる。これらの知見の大部分は動物実験から得られてきたが，ヒト褐色脂肪の再発見を契機にしてヒトでも検証が進んでいる(Saito M: Ad Food Nutr Res 2015, in press)。さらに最近，緑茶に豊富に含まれるカテキン類を摂取すると褐色脂肪が活性化し，長期にわたると褐色脂肪が増え脂肪酸酸化が亢進することが明らかになり，カテキン類の抗肥満効果に寄与する可能性が示された。

これらについて，特にヒト褐色脂肪に関する私共の最新知見を中心に紹介する。

（14）脳出血による発熱の分子・細胞メカニズム：mPGES-1 の関与

篠崎一秀 [1]，平井佑紀 [1]，山村剛司 [1]，岡本士毅 [2]，箕越靖彦 [2]，松村　潔 [1]
（[1] 大阪工業大学 工学研究科 生体情報研究室，[2] 生理学研究所 生殖・内分泌系発達機構研究部門）

脳出血にはしばしば発熱が伴う。私たちこれまでに脳出血性発熱にシクロオキシゲナーゼ（COX）が関与していることを明らかにした。本研究では脳出血性発熱における，①COX の局在，②プロスタグランジン E_2 (PGE_2) 合成酵素 mPGES-1 の関与を検討した。

C57/BL6 マウス(雄 8 週齢，以下 Wild マウス)と mPGES-1 遺伝子欠損マウス(以下 KO マウス)の視索前野にコラゲナーゼを投与し脳出血を惹起した。

①COX の局在

COX-1 は出血領域の内側で，数十 μm のドット状の構造として見られた。この構造は血小板マーカーである von Willebrand factor(vW factor)陽性構造と重なった。この構造は凝集した血小板と考えられる。

COX-2 は出血領域内では見られず，その周辺組織で発現していた。vW factor 陽性であることと，その形状から血管内皮細胞と考えられる。

②mPGES-1 の関与

脳組織 PGE_2：Wild マウス，KO マウスとも，脳出血したマウスは，脳出血していないマウスよりも視索前野の PGE_2 量が高値であった。しかし，脳出血した Wild マウスと KO マウスを比較した場合，KO マウスで PGE_2 量が著しく低かった。

体温：脳出血時の体温上昇が，KO マウスでは減弱していた。

以上の結果は脳出血性発熱に mPGES-1 が関与していることを示す。

（15）アミロイドβ脳室投与がラット行動性体温調節機能と暑熱馴化形成機能に及ぼす影響

松崎健太郎[1]，片倉賢紀[1]，杉本直俊[2]，原　俊子[1]，橋本道男[1]，紫藤　治[1]
（[1]島根大学医学部環境生理学，[2]金沢大学医薬保健研究域医学系）

本研究ではアミロイドβ（Aβ）をラット側脳室に注入して作製した認知症モデルラットの行動性体温調節および暑熱馴化形成機能を解析した。Wistar ラット（10 週齢：雄性）の左側脳室に塩化アルミニウムを 0.5 μg 注入し，さらに $A\beta_{1\text{-}40}$（5.5 nmol, 250 μl）を内蔵した浸透圧ポンプをラット背皮下に留置し，ガイドカニューレを右側脳室に挿入した（Aβ 群）。対照として Vehicle を用いた（対照群）。ラット行動性体温調節の指標として，約 10℃から 42℃の温度勾配を形成した装置の中にラットを入れて，ラットの居る位置の環境温度（選択環境温度）を測定した。また，ラットを 32℃の高温環境に 28 日間暴露し暑熱馴化の形成を試みた。暴露期間終了後，36℃の高温環境に暴露して腹腔内温の上昇を確認し，暑熱馴化形成の指標とした。測定後にラット脳を摘出し，免疫組織学解析を行った。対照群の選択環境温度は暗期に低く明期に高い二相性を示したが Aβ 群ではその二相性が消失した。Aβ 持続投与によりラット行動性体温調節機能が減弱する可能性が示唆された。Aβ 群では対照群と比較して耐暑熱性が有意に減弱した。Aβ 群の視床下部上衣層では神経前駆細胞の増殖マーカーなどの発現量が低下する傾向が確認された。先に我々はラット暑熱馴化の成立には視床下部上衣層における神経前駆細胞の分裂と成熟神経細胞への分化が関与する可能性を報告している。これらの結果から，Aβ 側脳室投与が視床下部上衣層における神経前駆細胞の増殖を抑制し，暑熱馴化の形成を減弱させる可能性が示唆された。AD 患者において脳内に蓄積した Aβ が行動性体温調節機能だけでなく暑熱馴化の形成を減弱させ，熱中症の罹患率を増加させる可能性を考えた。

17. 痛みの理解を目指した先端的アプローチ

2015 年 12 月 17 日－12 月 18 日

代表・世話人：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）
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）～特別講演～　痒み研究のオーバービューと今後の展望
倉石　泰（東京医科歯科大学リサーチ・アドミニストレーター室）

（2）～特別講演～　痛みの慢性化と扁桃体神経可塑性
加藤総夫（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，痛み脳科学センター）

（3）Menthol effects on ANO1 currents and TRPV1-related pain
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)

（4）先天的に痛覚障害を伴う遺伝性感覚性自律神経性ニューロパチー（HSAN type II）の診療経験
山田恵子（大阪大学大学院医学系研究科社会医学講座公衆衛生学）

（5）不活動に伴う筋機械的痛覚過敏と NGF の関係及び理学療法による治療効果
中川達貴（金沢大学医薬保健学総合研究科機能解剖学）

（6）組織損傷後の痛覚過敏における IGF-mTOR シグナリングの役割
天谷文昌（京都府立医科大学 麻酔科学教室）

（7）口腔顔面痛に対する局所麻酔の臨床応用
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）

（8）三叉神経脊髄路核尾側亜核および上部頸髄で検出された投射ニューロンにおける Extracellular Signal-regulated Kinase のリン酸化
斎藤弘人（日本大学歯学部歯科補綴学第一講座）

（9）神経障害性疼痛モデル動物の後根神経節における Cav3.2 T 型カルシウムチャネルの発現誘導メカニズムの解析
冨田詩織（近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室）

（10）マクロファージ由来 high mobility group box 1 はセルレイン誘起急性膵炎およびサブスタンス P 誘起間質性膀胱炎/膀胱痛症候群モデルにおける内臓痛に関与する
入江悠平（近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室）

（11）オキシトシンはラット上顎神経損傷による顔面皮膚機械痛覚過敏を軽減する
久保亜抄子（日本大学歯学部生理学講座）

（12）低酸素による TRPA1 過敏化が後肢虚血/再灌流誘発しびれ様行動に関与する
宗　可奈子（京都大学薬学研究科生体機能解析学分野）

（13）疼痛における糖脂質の関与
渡辺　俊（北里大学薬学部 薬理学）

（14）脳卒中後疼痛の発現に対する脊髄 high mobility group box-1 の関与
原田慎一（神戸学院大学薬学部臨床薬学研究室）

（15）かゆみ誘発物質クロロキンによる興奮作用と抑制作用
八木淳一（杏林大学医学部統合生理学教室）

（16）リゾフォスファチジン酸 (LPA) と痛み・かゆみシグナリング
橘高裕貴（生理学研究所細胞器官研究系細胞生理部門）

(17) *In vivo* パッチクランプ法を用いた脊髄後角における痒み情報伝達機構の解析
歌　大介（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学教室）
(18) 慢性掻痒における脊髄後角アストロサイト STAT3 の関与
白鳥美穂（九州大学 大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野）
(19) 痛み伝達修飾に働く脊髄膠様質の TRP チャネルの活性化 - 植物由来物質の構造異性体間での作用の差
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）
(20) 脊髄後角ニューロンの VNUT は脊髄における ATP 放出亢進を介して神経障害性疼痛に寄与する
大園由衣（九州大学 大学院薬学研究院薬理学分野）
(21) 脊髄後角 II 層 vertical cell への抑制性入力に関する研究
八坂敏一（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座）
(22) Unc5B 受容体結合分子群による脊髄感作の新規分子メカニズム
早野泰史（大阪大学 医学系研究科 分子神経科学教室）
(23) 脊髄アストロサイト特異的遺伝子導入法を用いた感覚情報伝達における機能解析
高露雄太（九州大学 大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野）
(24) 神経障害性疼痛モデルマウスの Exercise-induced hypoalgesia における強制運動と自発運動の効果の比較
上　勝也（和歌山県立医科大学 医学部 リハビリテーション医学講座）
(25) マウス系統間における神経障害性疼痛感受性差へ免疫系細胞応答性の違いが与える影響
勇　昂一（京都大学薬学研究科 生体機能解析）
(26) 歯周病に起因した歯周組織機械痛覚に対する CXCR4 の関与
長嶋秀和（日本大学歯学部 生理学講座）
(27) 先天性無痛症患者における変異ナトリウムチャネルの電気生理学的特性の解析
清澤研吉（信州大学医学部麻酔蘇生学教室）
(28) 光遺伝学的手法による神経障害性アロディニアの新たな評価法
田島諒一（九州大学 大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野）
(29) 神経障害性疼痛モデルラットにおける報酬誘発性側坐核内ドパミン遊離の時期依存的変調
南　雅文（北海道大学大学院薬学研究院 薬理学研究室）
(30) 内在性の痛覚調節システムにおけるラット視床 内側下核の機能
倉本恵梨子（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 歯科機能形態学）
(31) 脳内長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 を介した疼痛制御機構
中本賀寿夫（神戸学院大学薬学部臨床薬学研究室）
(32) 求心路遮断性疼痛に対する催眠
水谷みゆき（愛知医科大学学際的痛みセンター）
(33) ストレス低反応期前後の母子分離ストレスマウスの恐怖関連行動の解析
—痛みの「恐怖回避モデル」解明を目指して
小山なつ（滋賀医科大学生理学講座統合臓器生理学）
(34) 幼少期のストレス負荷が成熟期における神経障害性疼痛に及ぼす影響
西中　崇（神戸学院大学薬学部臨床薬学研究室）
(35) 慢性疼痛が引き起こす不安は前帯状回の presynaptic long-term potentiation を形成する
古賀浩平（弘前大学大学院医学研究科 脳神経生理学）

【参加者名】

南　雅文（北海道大学），古賀浩平（弘前大学），半場道子（福島県立医科大学），太田大樹（帝京大学），倉石　泰（東京医科歯科大学），加藤総夫・高橋由香里（東京慈恵会医科大学）片桐綾乃・久保亜抄子・斎藤弘人・長嶋秀和（日本大学），田辺光男・渡辺　俊（北里大学），河田美穂（星薬科大学），八木淳一（杏林大学），歌　大介・小泉祐佳・高槻雄太・酒井晶帆・佐藤杏奈・間越祐貴（富山大学），尾崎紀之・堀　紀代美・松原崇紀・平賀慎一郎・中川達貴（金沢大学），川真田樹人・清澤研吉（信州大学）田口　徹（名古屋大学），大澤匡弘・丸岡純也・北尾優花・石倉啓一郎・稲波千尋・石崎千晶・宮本啓補・大森翔太（名古屋市立大学），牛田享宏・水谷みゆき（愛知医科大学），水村和枝・片野坂公明・内村佳子（中部大学），岩下成人（滋賀医科大学），中川貴之・勇　昂一・三宅崇仁・宗　可奈子・緋山　遥・助石有沙美（京都大学），天谷文昌・松岡　豊・松田　愛（京都府立医科大学），柴田政彦・早野泰史・中西美保・山田恵子（大阪大学），仙波恵美子（大阪行岡医療大学），川畑篤史・入江悠平・冨田詩織（近畿大学），上　勝也（和歌山県立医科大学），小林希実子・大久保正道（兵庫医科大学），徳山尚吾・原田慎一・西中　崇・中本賀寿夫（神戸学院大学），龍野耕一（岡山大学），西江宏行（川崎医科大学），津田　誠・林　良憲・齊藤秀俊・高露雄太・田島諒一・大園由衣・白鳥美穂・古賀啓祐（九州大学），熊本栄一・八坂敏一・石川亜佐子・藤田亜美・WANG CHONG・YU TING（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），山村睦朗・増井邦晴（丸石製薬㈱），今井利安（日本ケミファ㈱），岩本祥佑・木野ゆりか（田辺三菱製薬㈱），田畑考統・道下真衣（旭化成ファーマ㈱），下平哲大（ライオン㈱），日向美紀枝（塩野義製薬㈱），渡邉修造・土平絢子・鈴木一弘（ラクオリア創薬㈱），新庄勝浩（日本イーライリリー㈱），古江秀昌・秋元　望・山口彬博・中尾弥起・當山峰道（生理学研究所），富永真琴・内田邦敏・鈴木喜郎・齋藤　茂・高山靖規・Derouiche Sandra・橘高裕貴・孫　武平・Kurganov Erkin・Rupali Gupta・西本れい・山野井　遊・李 天邦・Tuminaite Inga（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

末梢神経，脊髄後角，そして脳における分子・細胞・個体レベルの研究から，痛みの受容，伝達・処理，認知，さらには負の情動など各プロセスにおける仕組みが徐々に明らかになっている。しかし，臨床での慢性疼痛は非常に複雑で，基礎研究からのエビデンスでは説明が困難，また治療薬が奏功しない等の基礎と臨床間のギャップがある。故に，近年飛躍的に痛みの理解は進んだものの，その全容解明に向けてはまだ道半ばであり，本質に迫るような画期的な分子細胞メカニズムの発見が求められている。一方で，最近のジェネティックテクノロジーの発展，さらにその技術と解剖学や電気生理学，行動薬理学的手法と組み合わせることで，特定の細胞，領域，時間的な遺伝子発現や機能制御が可能となり，従来の痛みの感覚的・情動的神経メカニズムを大きく進展，あるいは一新させる成果が次々と出はじめている。そこで，痛みの基礎および臨床研究者が一堂に会する研究会を開催して，従来の一般演題に加え，特別講演を企画し，先端技術によって疼痛研究を展開する基礎および臨床研究者による最新研究成果の発表，および双方の踏み込んだ意見交換を行い，痛みの真の理解を目指した新しい考え方や研究の方向性などを議論し，今後の研究の発展に繋げることを目的とする。加えて，将来我が国の疼痛研究をリードする若手研究者の育成においても大きな役割も持つ。

研究会では，東京医科歯科大学 倉石泰特任教授が痒み研究のオーバービューと今後の展望について，東京慈恵会医科大学 加藤総夫教授が痛みの慢性化と扁桃体神経可塑性について特別講演を行った。さらに，計 35 演題の一般演題では，一次求心性神経，脊髄後角，脳，そしてそれぞれの相互連関に注目した，疼痛の生理・病態の最新の研究成果が発表され，痛みの理解を大きく前進させる新しい考え方や研究の方向性などが活発に議論された。また，参加者も 100 名を超え，うち約半数が大学等の助教・ポスドク・大学院生などの若手であり，将来我が国の疼痛研究をリードする若手研究者の育成という目的に対しても期待通りの成果があった。

（1）痒み研究のオーバービューと今後の展望

倉石　泰（東京医科歯科大学 リサーチアドミニストレーター室）

動物で掻き動作が痒みの指標となることを示した1995年の我々の報告まで，痒みの研究は主にヒトを対象に進められ，動物を用いた研究は極めて限られていた。しかし，痒みに関する研究の基礎報告が2000年以降次第に増加し，最近20年間で痒みを包んでいたベールの一部が掻き剥がされてきた。最近の研究により発痛物質の多くが痒みを起こすことが明らかにされてきた。また，侵害受容性一次求心線維（C及びAδ線維）のうちの皮膚表層を支配するものが痒み情報を末梢から後角に伝えると考えられるが，特にgastrin-releasing peptideのBB2ボンベシン受容体を発現する脊髄後角ニューロンが痒みシグナルの入力を受けることが示めされた。しかし，histamineとproteaseなどによる痒み情報は，別々の一次求心線維で運ばれ，別々の脊髄後角ニューロンに入力することも明らかになった。中枢性の痒みの制御機構としては，GABA/glycineおよびnoradrenalineによる痒みの抑制やグリア細胞による痒みの増強なども明らかにされてきた。今後の展望として，そう痒性疾患の予防・治療の進歩のためには，疾患ごとに痒みの発生機序を明らかにすることに加え，中枢神経系における痒みの増強・抑制機構の詳細を明らかにすることも重要である。

（2）痛みの慢性化と扁桃体神経可塑性

加藤総夫[1,2]（[1]東京慈恵会医科大学・神経科学研究部，[2]同・痛み脳科学センター）

痛みの慢性化は脳内の可塑的変化をともなう。前帯状回，扁桃体，島皮質，視床，側坐核，体性感覚野，および前頭前野などで，各種慢性痛モデル動物におけるシナプス伝達の可塑的変化が報告されている。さらに，これらの変化の局所的な是正が疼痛関連行動を改善する事実が示され「Aは，Bを介して慢性痛の発現と制御に関与している」という結論の論文が多く報告されている（Aには脳部位，Bには分子細胞機構が入る）。

だがこれらの発見の意義を統合的に理解するためには，多くの未解決の重要問題に答えなければならない。どのような侵害受容情報が，どのような経路を介して広範囲の可塑的変化を誘発するのか？　それらの因果関係・時間的前後関係は？　可塑性誘導因子は？　これらが担う痛み以外の多くの機能との関係は？　局所的介入はどのように疼痛関連行動を改善するのか？　その経路は？「疼痛関連行動」の指標として用いられている誘発withdrawal reflexは何を表しているのか？　自発痛とどういう関連があるのか？

我々は，「直接的」侵害受容情報入力と「間接的」入力が収斂する扁桃体に，このような「痛みのweb」の重要なhubの一つとして着目してきた。行動観察，機能的コネクトミクス，および超高磁場MRIを用いた4次元脳機能画像評価などに基づき，痛みの慢性化の本態は全脳におけるダイナミックなプロセスの総体であると提唱したい。

（3）Menthol effects on ANO1 currents and TRPV1-related pain

高山靖規 [1]，秋元　望 [2]，古江秀昌 [2]，富永真琴 [1]
（[1] 生理学研究所 細胞生理研究部門，[2] 神経シグナル研究部門）

灼熱痛に関与する TRPV1 はカルシウム活性化クロライドチャネルであるアノクタミン 1（ANO1）と物理的および機能的に相互作用した。　この相互作用によって一次感覚神経においては TRPV1 活性化に伴う疼痛シグナルが ANO1 の活性化により増幅された。　さらに，マウスにおいてカプサイシンによって誘発される足舐め行動は ANO1 阻害剤（T16Ainh-A01）の同時投与によって有意に抑制された。　これらのことから，TRPV1 の関わる痛みには TRPV1 阻害ではなく ANO1 阻害が有効であることが示された。　そのため，ANO1 アンタゴニストの探索は重要であると考えられる。

本研究では天然化合物の一つであるメントールが ANO1 を阻害することを発見した。　メントールは古くから灼熱痛を減弱させることが知られており, 近年の報告では TRPM8 発現ニューロンを介したゲートコントロール説が提唱されている。　そこで，カプサイシンによる疼痛シグナルに対するメントールの効果を TRPM8KO マウスにおいて検討した結果, 後肢へのカプサイシン投与によって引き起こされる神経興奮が脊髄後角において減弱していた。　すなわち，メントール投与によって疼痛シグナルは神経終末で抑制されることが示唆された。

（4）先天的に痛覚障害を伴う遺伝性感覚性自律神経性ニューロパチー（HSAN type II）の診療経験

山田恵子 [1,2]，柴田政彦 [1,3]
（[1] 大阪大学医学部附属病院疼痛医療センター，
[2] 大阪大学大学院医学系研究科社会医学講座公衆衛生学，
[3] 大阪大学大学院医学系研究科疼痛医学寄附講座）

進行性の関節破壊に伴う痛みを主訴とする遺伝性感覚性自律神経性ニューロパチー(HSAN type II)の患者を診療する機会を得たので報告する。

54 歳女性

【主訴】右手足首の鈍痛

【既往歴】気管支喘息　糖尿病

【現病歴】幼少期より他人と比べて体表面の痛みを感じにくいという自覚があったが，病的だとは思わず医療機関を受診したことはなかった。頭痛，歯痛は強く，腹痛も感ずる。15 歳時, 左足骨髄炎で多数の病院を受診し，治癒するのに 10 年以上を要した。X-5 年右膝の腫脹と痛みが出現し，近医を受診した。膝関節破壊を指摘され，A 病院を紹介受診し，温痛覚の著しい障害と関節破壊から HSAN と診断されていた。創傷治癒遅延の懸念から，手術の適応はないと判断された。痛みに対する集学的診療が必要との判断で，X 年当科を紹介受診された。

【現症】深部覚低下。顔面の温痛覚ほぼ正常。上肢から下肢にかけて徐々に感覚障害が著しい。本人は自覚していないが味覚の異常あり。

【検査・治療】遺伝子診断を行い，WNK1 遺伝子変異を伴う HSAN type II と診断された。関節の痛みのコントロールはアセトアミノフェン(2400mg/日)内服にて良好である。

（5）不活動に伴う筋機械的痛覚過敏と NGF の関係及び理学療法による治療効果

中川達貴[1]，平賀慎一郎[1]，肥田朋子[2]，堀　紀代美[1]，尾﨑紀之[1]
（[1]金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 機能解剖学，
[2]名古屋学院大学 リハビリテーション学部）

骨折・外傷や長期臥床により身体が不活動状態に陥ることが臨床上問題となる。近年では，この不活動状態により動作時の疼痛や深部痛が惹起されることが報告されているが，この疼痛メカニズムは不明であり，効果的な治療法は確立されていない。本研究では，不活動に伴う筋機械的痛覚過敏と NGF の関係性を検討し，さらに理学療法の治療効果を検討した。我々は両側後肢をギプス固定した不活動モデルラットを作成し，腓腹筋における筋機械的痛覚過敏を検討したところ，不活動に伴い腓腹筋における筋痛の発生を認めた。また，腓腹筋では NGF mRNA，NGF protein の増加が確認された。さらに NGF 中和抗体を腓腹筋に筋注し，行動薬理実験を行ったところ不活動に伴う筋機械的痛覚過敏を抑制した。また，理学療法による治療介入としてホットパックによる温熱療法を行ったところ筋機械的痛覚過敏を不完全ながらも抑制し，NGF の増加を有意に抑制した。以上の結果より，不活動に伴い筋では NGF が増加し，筋痛を引き起こしていた。また，理学療法としての温熱療法は，NGF の増加を抑制することで不活動に伴う筋痛に効果を示すことが示唆された。

（6）組織損傷後の痛覚過敏における IGF-mTOR シグナリングの役割

天谷文昌[1]，松岡　豊[1]，松田　愛[1]，和泉勇太[1]，佐々木美佳[2]，三浦真由美[1]
（[1]京都府立医科大学 麻酔科学教室，[2]新潟大学医歯学総合研究科 麻酔科学分野）

組織損傷後にはさまざまな生理活性物質が合成され，一次知覚神経に作用して痛覚過敏を引き起こす。われわれは，創傷組織で合成され，創傷治癒に働くインスリン様成長因子(IGF)およびその下流シグナルが痛覚過敏に与える影響を調査した。

雄性 SD ラットを用いて Brennan らの足底切開モデルを作成し実験を行った。ELISA で測定した足底組織における IGF 量は足底切開により有意に増加した。IGF 阻害薬 PPP を足底切開前に局所投与すると，足底切開後の機械刺激・熱刺激に対する痛覚過敏は減弱した。IGF 受容体およびその下流シグナルである mTOR の免疫組織化学法による発現は DRG の小型ニューロンを中心に検出された。足底切開後にはリン酸化 mTOR の発現量が有意に増加し，mTOR 阻害薬ラパマイシンは足底切開後の痛覚過敏を抑制した。足底組織に IGF を投与したところ，一過性の痛覚過敏とリン酸化 mTOR の発現増加が観察された。

これらの所見より，創傷組織で合成される IGF が mTOR のリン酸化を介して痛覚過敏の発症に関与していることが推察された。

（7）口腔顔面痛に対する局所麻酔の臨床応用

岡安一郎，達　聖月，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）

口腔顔面痛の治療薬として，抗うつ薬や抗けいれん薬，オピオイド鎮痛薬が有効なケースが多いが，その副作用が問題となる．三叉神経痛や帯状疱疹後神経痛をはじめとした神経障害性疼痛の治療薬として，局所麻酔の有効性が示唆されているが，十分なエビデンスは得られていない．本研究は，局所麻酔が口腔顔面領域の体性感覚に与える効果を調べる目的で，健常成人女性 18 名（年齢 22~38 歳）を対象に，表面麻酔薬の使用前後における舌，顔面および手の皮膚の体性感覚閾値を知覚テスターを用いて分析した．表面麻酔薬として 2%塩酸リドカインを各測定部位に塗布，5 分間放置後，触覚閾値と痛覚閾値を測定し，塗布前の値と比較した．対照実験として，無麻酔ゼリーを用い，同様の実験を行い，2 つの異なる実験条件間での比較を行った．結果，表面麻酔薬使用後，全ての部位で触覚閾値が有意に増大したが，実験条件間で有意差が認められたのは舌だけであった．痛覚閾値について，表面麻酔薬使用後，舌と手の皮膚で有意な増大がみられた．顔面皮膚では顕著な変化はみられなかったが，対照実験では閾値が低下したため，結果的に全ての部位で実験条件間に有意差が認められた．以上より，局所麻酔は，触圧感覚よりも痛覚により大きく作用し，特に舌の痛覚において顕著な効果がみられるという結論を得た．今後，健常者に加え，舌痛症をはじめとした口腔顔面痛患者を対象に，研究を進めたい。

（8）三叉神経脊髄路核尾側亜核および上部頸髄で検出された投射ニューロンにおける Extracellular Signal-regulated Kinase のリン酸化

斎藤弘人 [1]，片桐綾乃 [2]，岩田幸一 [2]
（[1] 日本大学歯学部 歯科補綴学第一講座，[2] 日本大学歯学部 生理学講座）

口腔顔面領域における侵害情報の上行路には三叉神経脊髄路核（Vc）および上部頸髄(Vc/C1)を経由し，視床髄板内核（PF）を中心とした視床内側核群に投射する内側系，視床後内腹側核（VPM）へ投射する外側系および結合腕傍核(PBN)を経由して辺縁皮質に投射する経路が知られているが，これらがどのようなメカニズムで上位中枢への急性痛伝達に関与するかについては不明な点が多く残されている。そこで PF，VPM および PBN に FG を注入し，上口唇のカプサイシン刺激により pERK あるいは NK1 を発現した FG 陽性ニューロンの Vc および Vc/C1 における分布様式を検討した。

pERK・FG 陽性ニューロン数/FG 陽性ニューロン数の割合は，VPM: 6 %，PF: 8 %，PBN: 15 %であった。また，FG・pERK・NK1 陽性投射ニューロンも少数観察された。以上から，C 線維入力を受ける Vc および Vc/C1 の侵害受容ニューロンは多くの場合，介在ニューロンを介した間接的な経路によって侵害情報を上位中枢に伝える可能性が示された。一方，上述の 3 投射経路を比較すると，PBN に投射する侵害受容ニューロンは VPM および PF に投射する pERK・FG 陽性ニューロン数に比べて約 2 倍の値を示したことから，PBN を介する経路は他の 2 つの上行路に比べてより直接的な侵害情報伝達に関与する可能性があると考えられた。

（9）神経障害性疼痛モデル動物の後根神経節における $Ca_v3.2$ T 型カルシウムチャネルの発現誘導メカニズムの解析

冨田詩織，式見志勇，関口富美子，坪田真帆，川畑篤史
（近畿大・薬・病態薬理）

我々は，第 5 腰神経切断 (L5SNC) ラットにおける神経障害性疼痛には, 後根神経節 (DRG) における $Ca_v3.2$ T 型 Ca^{2+}チャネルの発現誘導が関与することを報告している。$Ca_v3.2$ の転写は，early growth response 1 (Egr-1) により促進的に，RE-1 silencing transcription factor (REST) により抑制的に調節されること，また，脱ユビキチン化酵素 ubiquitin specific peptidase 5 (USP5) が $Ca_v3.2$ のプロテアソーム分解を抑制することが報告されている。そこで，今回, L5SNC ラットと坐骨神経部分結紮 (PSNL) マウスにおいて，DRG 中の $Ca_v3.2$ と関連分子の挙動を調べ，神経障害性疼痛の病態への関与を検討した。L5SNC ラットでは神経障害性疼痛発症初期 (術後 6 日) に L4 レベルの DRG で $Ca_v3.2$ と Egr-1 が，持続期 (術後 14 日) には $Ca_v3.2$ と Egr-1 に加え USP5 の発現増加が認められた。この発症初期の痛覚過敏と L4 DRG における $Ca_v3.2$ の発現増加は，アンチセンス法により Egr-1 をノックダウン (KD) することで抑制された。また，持続期では，Egr-1 よりも USP5 の KD によって，$Ca_v3.2$ の発現増加と痛覚過敏が明確に抑制された。一方，PSNL マウスでは，術後 7 日の痛覚過敏が種々の T-channel 阻害薬により抑制され，L4-L6 レベルの DRG において $Ca_v3.2$ および Egr-1 の劇的発現増加が見られたが，USP5 の発現増加は見られなかった。以上より，L5SNC による神経障害性疼痛発症初期では，L4-DRG において Egr-1 発現増加に伴う $Ca_v3.2$ の転写促進が，また持続期では，USP5 発現増加による $Ca_v3.2$ の分解抑制が，$Ca_v3.2$ の高発現と痛覚過敏に関与することが示唆された。一方，マウスにおける PSNL 誘起神経障害性疼痛には Egr-1 による $Ca_v3.2$ の発現誘導が特に大きく関与することが示唆された。

（10）マクロファージ由来 high mobility group box 1 はセルレイン誘起急性膵炎およびサブスタンス P 誘起間質性膀胱炎/膀胱痛症候群モデルにおける内臓痛に関与する

入江悠平 [1,2]，坪田真帆 [1]，関口富美子 [1]，石倉宏恭 [2]，西堀正洋 [3]，川畑篤史 [1]
（[1] 近畿大・薬・病態薬理，[2] 福岡大・医・救命救急，[3] 岡山大・医・薬理）

核内タンパク high mobility group box 1 (HMGB1) は活性化マクロファージ (Mφ)から分泌され炎症と痛みを促進する。そこで，cerulein 誘起急性膵炎 (AP)および substance P 誘起間質性膀胱炎 (IC)/膀胱痛症候群 (BPS) モデルにおける内臓痛にマクロファージ由来 HMGB1 が関与するか否かを検討した。マウスにおいて，cerulein の反復腹腔内投与により上腹部関連痛覚過敏を伴う AP モデルを，また substance P の膀胱内注入により尿道口周囲と後肢における関連痛覚過敏を伴う IC/BPS モデルを作製した。抗 HMGB1 中和抗体あるいは HMGB1 不活性化作用を有する可溶性トロンボモジュリンは，AP および IC/BPS モデルにおける関連痛覚過敏に対して予防および治療効果を示した。Mφ/ミクログリア阻害薬である minocycline，Mφ からの HMGB1 放出を阻止する ethyl pyrvate あるいはリポソーム化 clodronate による Mφ の枯渇によって両モデルの関連痛覚過敏は抑制され，AP モデルの膵組織では浸潤 Mφ 数の増加が認められた。次に HMGB1 の標的分子の関与について各種阻害薬を用いて検討したところ，両モデルにおいて，TLR4 の関与はなかったが，RAGE と CXCR4 が関連痛覚過敏の発症に関与することが示された。また発症した関連痛覚過敏の維持には AP モデルでは CXCR4 が，IC/BPS モデルでは RAGE が関与するとの知見が得られた。さらに，AP モデルの膵組織では RAGE，CXCR4，CXCR4 リガンドで

HMGB1 と複合体を形成する CXCL12 の発現増加が，また IC/BPS モデルの膀胱組織では CXCR4 の発現増加が認められた。以上より，AP および IC/PBS モデルの内臓痛の発症・維持に Mφ 由来 HMGB1 が関与すること，またその標的分子として RAGE および CXCL12/CXCR4 系が重要な役割を果たしていることが示唆された。

（11）オキシトシンはラット上顎神経損傷による顔面皮膚機械痛覚過敏を軽減する

久保亜抄子，篠田雅路，岩田幸一
（日本大学 歯学部 生理学講座）

オキシトシンは，視床下部で合成され下垂体後葉から分泌される 9 アミノ残基からなる神経ペプチドであり，子宮収縮作用や射乳反射などのホルモン作用だけでなく，鎮痛作用を有する可能性も示されている。しかし，その作用機構に関しては明らかにされていない。そこで今回，神経障害性疼痛に対する作用機構を解明することを目的に，ラット上顎神経損傷による顔面皮膚機械痛覚過敏モデルを作製し，検討を行った。

上顎神経を半結紮した SD ラットに対し，術後 6 もしくは 7 日目に口髭部皮膚の機械痛覚閾値が有意に低下していることを確認した後，オキシトシン 1 mM, 0.5 μl を三叉神経節に投与したところ，投与 2, 5 時間後に vehicle 投与群に比較して有意に閾値が上昇した。さらに，本モデルラットの三叉神経節細胞を急性単離・培養して，オキシトシン 10 μM を添加 2-6 時間後にホールセルパッチクランプ法により神経細胞の電気生理学的特性を調べた。その結果，vehicle 投与群の静止膜電位は sham 群に比べて有意に高かったが，オキシトシン投与により sham 群と同レベルまで低下した。また，基電流は vehicle 投与群に比べてオキシトシン投与群で有意に高かった。以上の結果より，オキシトシンは少なくとも神経損傷後の一次求心性神経の興奮性を抑制することで，疼痛を軽減する可能性があることがあきらかとなった。

（12）低酸素による TRPA1 過敏化が後肢虚血/再灌流誘発しびれ様行動に関与する

宗　可奈子 [1]，鄭　有奈 [2]，趙　萌 [1]，三宅崇仁 [1]，白川久志 [1]，中川貴之 [1,2]，金子周司 [1]
（[1] 京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野，[2] 京都大学医学部附属病院薬剤部）

しびれは異常感覚や感覚鈍麻を伴う不快な感覚であり，様々な疾患などに付随しても生じるが，その発生機序の多くは未だ不明な点が多い。本研究では，末梢虚血/再灌流により誘発されるしびれ様動物モデルを用い，その行動学的特性を明らかにするとともに，酸化感受性が非常に高く，また低酸素によっても活性化される TRPA1 の関与とその分子機構の解析を行った。マウス後肢に結紮による虚血/再灌流処置を施すと，触刺激に対する感覚鈍磨と処置側後肢への licking が観察された。この licking 行動は，幾つかの鎮痛薬により抑制され，また，活性酸素種(ROS)および TRPA1 が関与することを明らかにした。そこで，hTRPA1 発現細胞やマウス培養 DRG 神経を用いて Ca^{2+}イメージングにより検討したところ，通常酸素と比較して，30 分の低酸素負荷により TRPA1 の H_2O_2 への反応が増強した。この応答には，TRPA1 の低酸素活性化機構と同様，TRPA1 394 番目のプロリン残基やプロリン水酸化酵素 2(PHD2)が関与することを明らかとした。本研究結果から，後肢虚血時の低酸素負荷により PHD 活性が低下，それにより TRPA1 プロリン残基の脱水酸化がおき，ROS に対する TRPA1 の過敏化が生じたこと，さらに，再灌流時に発生した ROS が過敏化した TRPA1 を強く活性化したことで，しびれ様行動が惹起されたことが示唆された。

（13）疼痛における糖脂質の関与

渡辺　俊，田辺光男
（北里大学 薬学部 薬理学）

生体膜は多様な両親媒性脂質から構成されており，その一種である糖脂質は親水基に糖鎖を有し，数種類の単糖が分岐して結合することにより極めて多くの種類が存在する。特に，糖鎖を構成する単糖にシアル酸を持つ糖脂質（ガングリオシド）は神経系に多量に存在し，神経軸索の維持やミエリンとの相互作用などにおいて重要な機能を果たしていることが報告されている。その分子的なメカニズムとして，ガングリオシドが脂質ラフトと呼ばれるタンパク質間相互作用の足場として機能する生体膜上の微小領域に豊富な成分であることから，ガングリオシドとラフト機能との関連が考察されている。以上のように様々な細胞機能に関与しているが，痛みの発生や伝達におけるガングリオシドの機能はほとんど知られていない。そこで，まずガングリオシドをマウス足底に投与したところ，疼痛行動を引き起こし，さらにホルマリンによる疼痛をも増強した。この疼痛増強効果はグルタミン酸濃度の増加を伴い，末梢のグルタミン酸受容体活性化によるものであることが示唆された。ガングリオシドがシアル酸を含むため，炎症を惹起させた後シアル酸分解酵素を足底へと投与したところ，機械的アロディニアを和らげることができた。さらに，炎症を引き起こすことで足底皮膚の糖脂質組成の変化が認められた。以上から，末梢における疼痛の発現にシアル酸を有する糖脂質が関与していることが示唆された。

（14）脳卒中後疼痛の発現に対する脊髄 high mobility group box-1 の関与

原田慎一[1]，松浦　渉[1]，劉　克約[2]，西堀正洋[2]，徳山尚吾[1]
（[1] 神戸学院大学薬学部臨床薬学，[2] 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科薬理学）

【目的】本研究では，神経障害性疼痛の制御に関わる因子の一つである high mobility group box 1 (HMGB1) が脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain: CPSP) の発現に及ぼす影響について検討した。

【方法】5 週齢の ddY 系雄性マウスを用い，両側総頸動脈を 30 分間閉塞した（全脳虚血モデル; BCAO）。BCAO 3 日後に，抗 HMGB1 中和抗体 (50, 100 μg/mouse i.v.，2, 20 μg/mouse i.c.v. または i.t.) を投与し，逃避行動回数の変化を von Frey test を用いて評価した。各タンパク質発現は western blotting 法を用いて解析した。

【結果】BCAO 3 日後に認められた痛覚過敏反応は，抗 HMGB1 抗体の i.v. または i.t. によって有意に抑制されたが，i.c.v. 投与では何ら変化が認められなかった。同時に，脊髄において HMGB1 の有意な発現上昇が認められた。さらに，ERK のリン酸化率は，BCAO 3 日後に有意な上昇を示し，それは抗 HMGB1 抗体の i.v. によって消失した。

【考察】以上の結果から，CPSP の発現機序の一部に，脊髄領域における HMGB1 が関与している可能性が考えられた。

（15）かゆみ誘発物質クロロキンによる興奮作用と抑制作用

八木淳一[1]，小林　靖[2]
（[1]杏林大学 医学部 統合生理学，[2]防衛医科大学 解剖学）

C 線維を有する脊髄後根神経節（C-type DRG）ニューロンは，生体内外の様々な刺激（機械刺激，温度刺激，化学物質）に反応できるよう多種多様に分化している。近年，かゆみ誘発物質の一つ抗マラリア薬クロロキン（CQ）は，MrgA3 受容体を介して TRPA1 を活性化することで，一群の C-type DRG ニューロンを興奮させることが報告された。我々は，DRG ニューロンの生理学的・解剖学的性質を統合的に解析することを目的として「麻酔下ラット標本− DRG ニューロンホールパッチクランプ法」を独自に開発し，DRG ニューロンを機能別に分類した後，CQ が DRG ニューロンの興奮性に及ぼす作用を分析した。皮膚を支配する C-type DRG ニューロンは，活動電位の形状とイオンチャネルの発現パターンから 3 種類（Class I〜III）に分類された。Class I（高閾値機械受容型）の一部と Class II（中閾値機械受容型）の一部が，1 mM CQ 皮内注射により放電した。さらに，10 mM CQ を追加注射すると放電は止まった。CQ は，電位依存性のカリウムチャネルとナトリウムチャネルを修飾し，DRG ニューロンの活動に対して興奮と抑制の両方向性に作用することが示唆された。

（16）リゾフォスファチジン酸 (LPA) と痛み・かゆみシグナリング

橘高裕貴[1]，内田邦敏[1,2]，福田直美[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）

リゾフォスファチジン酸 (LPA) は坐骨神経結紮による慢性疼痛動物モデルにおける神経脱髄のイニシエーターとして非常によく研究されてきた物質である。一方，胆汁うっ滞患者の血清中のかゆみ物質に関する研究からは LPA がかゆみに関与することが示唆された。動物行動実験によって検討されてきた，LPA が感覚系に及ぼす急性的な生理作用としては疼痛関連行動あるいはかゆみ関連行動の惹起が挙げられるが，異なる測定系によるものであり，その作用はこれまで結論づけられていなかった。

昨年度の本研究会で我々は cheek injection model によって LPA はマウスの掻破行動を惹起するかゆみ物質であることを報告した。加えて末梢感覚神経細胞におけるセルシグナルングも不明であったためカルシウムイメージング法および動物行動実験で検討したところ，LPA の作用はカルシウム透過性カチオンチャネル transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) および vanilloid 1 (TRPV1) 依存的でその活性化の上流のシグナルとして LPA5 受容体およびホスホリパーゼ D の関与を明らかにした。

本研究会では過去に提唱された LPA-TRPV1 の痛みシグナルと対比しつつ，かゆみ感覚系における LPA シグナリングと TRPA1 および TRPV1 についてさらに詳細に検討したことについて紹介する。

（17） *In vivo* パッチクランプ法を用いた脊髄後角における痒み情報伝達機構の解析

歌　大介[1,3]，安東嗣修[1]，倉石　泰[1,2]，井本敬二[3]，古江秀昌[3]
（[1]富山大学 大学院 医学薬学研究部 応用薬理学教室，
[2]東京医科歯科大学 リサーチ・ユニバーシティ推進機構，
[3]生理学研究所 神経シグナル研究部門）

痛みに比べ脊髄における痒みの情報の伝達やその調節機構については不明なことが多い。そこで，脊髄後角での痒み伝達と処理機構について行動薬理学的解析及び電気生理学的解析を行った。まず，行動薬理学的解析により成熟雄性のラットにおいて 5-HT にて痒み行動が誘発されるかどうかを検討した。その結果，マウス同様にセロトニンにより長時間持続する痒み行動が誘発される事が明らかとなった。続いて，脊髄後角から *in vivo* パッチクランプ記録を行い 5-HT による痒み応答が記録できるかを検討した。その結果，一部の細胞で 5-HT により振幅の大きな自発性の興奮性シナプス後電流（EPSC）の発生頻度が著明に増加した。この興奮性の応答は数十分にわたり持続しており行動薬理学的解析と一致していた。5-HT により誘起される EPSC は，脊髄表面から投与した TTX や CNQX により完全に抑制された。

以上の事から，皮膚への 5-HT 投与によって痒み行動が起こること，末梢で発生した活動電位が脊髄の表層の細胞にシナプス入力し振幅の大きな EPSC の発生頻度を著明に増加させることが明らかとなった。

今回は，まだ予備実験ながら慢性掻痒モデルマウスを用いた脊髄後角における電気生理学的解析を行っているので併せて紹介させて頂く。

（18）慢性掻痒における脊髄後角アストロサイト STAT3 の関与

白鳥美穂[1]，古賀啓祐[1]，齊藤秀俊[1]，高露雄太[1]，蜂須賀淳一[2]
岡野栄之[3]，古江増隆[2]，井上和秀[4]，津田　誠[1]
（[1]九州大学大学院薬学研究院ライフイノベーション分野，
[2]九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野，[3]慶應義塾大学医学部生理学教室，
[4]九州大学大学院薬学研究院薬理学分野）

アトピー性皮膚炎などに伴う慢性的な痒み（慢性掻痒）は，抗ヒスタミン薬など既存の治療薬が十分に効かず，患者の QOL を著しく低下させる。そのため，慢性掻痒のメカニズム解明は急務の課題である。従来，痒みは弱い痛みであると認識されてきたが，最近，痒み特異的な物質や神経回路が発見され，痒み伝達機構が徐々に解明されつつある。しかし，痒みの慢性化メカニズムは依然不明である。

本研究ではこれまで不明であった慢性掻痒時の脊髄における変化に着目した。その結果，慢性掻痒モデルマウスの脊髄後角アストロサイトが活性化していること，さらに同細胞の活性化に関与する転写因子 STAT3 も活性化していることを見出した。STAT3 の活性化を薬理学的あるいは遺伝学的に不活性化したところ，アストロサイト活性化及び慢性掻痒が抑制された。また，慢性掻痒モデルマウスにおいて，脊髄痒み物質である GRP 依存的な痒みが増強されており，その増強が STAT3 の不活性化によって抑制されることもわかった。さらに，慢性掻痒時の脊髄において，LCN2 がアストロサイト STAT3 依存的に発現増加しており，LCN2 の発現をアストロサイト選択的に抑制したところ，慢性掻痒が抑制された。

以上の結果から，STAT3 依存的に活性化した脊髄後角アストロサイトと，それに伴い同細胞で発現増加した LCN2 が慢性掻痒に重要な役割を果たしていることが示唆された。

（19）痛み伝達修飾に働く脊髄膠様質の TRP チャネルの活性化 ー植物由来物質の構造異性体間での作用の差

熊本栄一，藤田亜美，王　狲，余　婷，平尾　崚，鈴木里佳
（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座神経生理学分野）

１次感覚ニューロンの中枢端で脊髄膠様質に存在している陽イオン透過性の TRP チャネルは痛み伝達の修飾に働いており，その代表例に TRPV1，TRPA1 および TRPM8 がある。それらは in vitro の脊髄スライス標本において植物由来物質により活性化される。その標本の膠様質ニューロンにパッチクランプ法を適用して記録される自発性興奮性シナプス後電流の発生頻度の増加からその TRP の活性化を評価できる。植物由来物質の構造異性体間での TRP 活性化の差を見出したので報告する。酸素の架橋位置が異なる 1,8-シネオールと 1,4-シネオールでは，前者は TRPA1，後者は TRPV1 を活性化し，それらの EC_{50} 値は，それぞれ 3.2 mM と 0.42 mM であった。また，ベンゼン環に存在する-OH 基の位置が異なるカルバクロールとチモールは，共に TRPA1 を活性化したが，それらの EC_{50} 値は互いに異なっており，それぞれ 0.69 mM と 0.18 mM であった。さらに，(-)-カルボンと(+)-カルボンの光学異性体間では異なった種類の TRP を活性化し，前者は TRPV1，後者は TRPA1 であった。それらの活性化の EC_{50} 値はほぼ同じであり，それぞれ 0.70 mM と 0.72 mM であった。これらの構造異性体間での TRP 活性化の差は，痛み伝達の修飾に働く TRP の性質を知るのに役立つかも知れない。

（20）脊髄後角ニューロンの VNUT は脊髄における ATP 放出亢進を介して神経障害性疼痛に寄与する

大園由衣[1]，増田隆博[1,2]，御厨颯季[1]，齊藤秀俊[1,2]，津田　誠[1,3]，井上和秀[1,2]
（[1]九州大院・薬・薬理，[2]CREST，[3]九州大院・薬・ライフイノベーション）

神経障害性疼痛は，癌や糖尿病等に伴う神経系の損傷や機能異常により引き起こされ，非侵害性刺激によって激烈な痛みを生じるアロディニアを主徴とする。我々はこれまでに，末梢神経損傷後に活性化した脊髄ミクログリアで発現増加する P2X4 受容体等の ATP 受容体が，神経障害性疼痛に重要であることを明らかにしてきた。しかし，ATP 受容体を刺激する細胞外 ATP の放出機序は未だ不明である。そこで本研究では，ATP の貯蔵や放出に重要な小胞型ヌクレオチドトランスポーター（VNUT）に着目し，ATP 供給及び神経障害性疼痛への関与を検討した。

神経障害性疼痛モデルマウスの正常側および神経損傷側脊髄スライス標本を作成し，スライスから放出される ATP 量を測定した。その結果，損傷側の脊髄で有意に細胞外 ATP 量が増加した。脊髄で ATP を放出する可能性のある細胞は複数存在するため，*VNUT* $^{flox/flox}$ マウスおよび細胞種特異的 Cre 発現マウスを利用して細胞種特異的 VNUT 欠損マウスを作成し，その放出源の特定を試みた。その結果，ミクログリアおよびアストロサイトでの VNUT 欠損マウスでは神経障害性疼痛に影響は見られなかったが，脊髄後角ニューロンにおける VNUT 欠損によって疼痛および ATP 放出の増加が有意に抑制された。

以上の結果から，末梢神経損傷後，脊髄後角ニューロンの VNUT を介して増加した細胞外 ATP が，神経障害性疼痛発症に寄与することが示唆された。

（21）脊髄後角 II 層 vertical cell への抑制性入力に関する研究

八坂敏一[1]，David I Hughes[2]，藤田亜美[1]，熊本栄一[1]，Andrew J Todd[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）

脊髄後角 II 層は C 線維の主なターゲットであり，この部位に存在するニューロンを解析することは，痛みの研究に重要であると考えられる。これらのニューロンは軸索が脊髄内に終止するインターニューロンであり，局所回路を構築して I 層や深層に存在する投射細胞（脊髄から脳への出力細胞）の活動を修飾すると考えられている。これらの II 層インターニューロンは興奮性細胞と抑制性細胞が存在し，さらに形態学的・電気生理学的・神経化学的特徴も様々である。これらの細胞が構築する局所回路の異常が病的な痛みに関与する可能性があり，現在急速にその研究が進められている。vertical cell は，形態学的分類による主要なインターニューロンであり，多くは興奮性であるが，抑制性も一部存在する。しかし，興奮性は大型で delayed firing を示し，抑制性は小型で tonic firing を示す。また，vertical cell の軸索は I 層の投射細胞にシナプスすること，樹状突起は深部 II 層から深層において低閾値機械受容性終末とコンタクトしていることから，病的な痛みの発症に関与する可能性が考えられている。換言すれば，生理的条件下で vertical cell がどのような抑制を受けているかを理解することが重要である。今回，vertical cell への抑制性入力について検討したので報告した。

（22）Unc5B 受容体結合分子群による脊髄感作の新規分子メカニズム

早野泰史，山下俊英（大阪大学大学院 医学系研究科 分子神経科学教室）

末梢から伝達される痛覚情報の中継基地である脊髄後角の異常な神経興奮（脊髄感作）は神経障害性疼痛の主要な原因の一つである。我々の研究室は脊髄感作を惹起する新しい分子メカニズムの解明を目指して研究を行っている。最近の研究結果から，脊髄後角の一部の介在ニューロンから分泌される軸索ガイダンス分子 Netrin-4 が Unc5B 受容体との結合を介して後角内興奮性シナプス伝達の亢進を引き起こす新規疼痛原因遺伝子であることを見出した（Hayano et al., *under submission*）。さらにこの新しい知見を基に，Netrin-4 以外にも Unc5B 受容体に結合するような分子群が疼痛病態下の脊髄で発現上昇して感作を引き起こしているのではないか，という仮説を立てて研究を進めている。特に疼痛病態下の脊髄アストロサイト特異的に発現している Unc5B 結合分子に着目して機能解析を行った結果，Netrin-4 と同様に Unc5B 受容体を介して脊髄感作を引き起こす働きがあることが明らかになった。またその遺伝子発現のエピジェネティック修飾メカニズムと，アストロサイト-ニューロン間の相互作用についても解析を行った。これら Unc5B 結合因子に着目した研究の進展によって，神経障害性疼痛における脊髄感作の新しい分子メカニズムが明らかになることが期待される。

（23）脊髄アストロサイト特異的遺伝子導入法を用いた感覚情報伝達における機能解析

高露雄太 [1], 桂木龍一 [1], 岡　嵩晃 [1], 田島諒一 [1], 齊藤秀俊 [1], 井上和秀 [2], 津田　誠 [1]
([1] 九州大学大学院薬学研究院ライフイノベーション分野,
[2] 九州大学大学院薬学研究院薬理学分野)

脊髄後角アストロサイトは，慢性的な痛みや痒みに対する関与が報告されているが，正常時においてアストロサイトの機能変化自体が感覚情報伝達に及ぼす影響については未だに不明な点が多い。そこで本研究では，脊髄後角アストロサイト特異的遺伝子導入法の確立およびそれを用いた脊髄後角アストロサイトの感覚情報伝達における役割について検討した。

gfaABC₁D プロモーターを搭載したアデノ随伴ウイルスを Th13 および L1 の椎骨の間から微量注入することにより, L4 脊髄後角アストロサイト特異的な遺伝子導入を可能にした。またこの方法はグリオーシス，神経細胞死や炎症反応は殆ど観察されないことから侵襲性が低いことが示された。次に，この方法を用いて脊髄後角アストロサイト特異的に Gq-DREADD を発現させることにより，脊髄アストロサイト特異的な機能制御法の確立を試みた。急性単離脊髄スライスを用いた検討において，Gq-DREADD 刺激により脊髄アストロサイトの細胞内 Ca^{2+}濃度の増加を確認した。また，脊髄後角アストロサイト特異的な Gq-DREADD 刺激により一過性のアロディニが生じた。一方で，その他の侵害刺激に対する反応性に変化は見られず，自発痛なども観察されなかった。

以上の結果から，脊髄後角アストロサイトの活性化は触刺激を痛みに変調し得ることが明らかとなり，様式特異的な感覚情報処理への関与が示された。

（24）神経障害性疼痛モデルマウスの Exercise-induced hypoalgesia における強制運動と自発運動の効果の比較

上　勝也 [1]，田口　聖 [1]，仙波恵美子 [1,2]
([1] 和歌山県立医科大学 医学部 リハビリテーション医学講座
[2] 大阪行岡医療大学 医療学部 理学療法学科)

私達は，トレッドミル走負荷が神経障害性疼痛（NPP）マウスに生じる疼痛を緩和し（exercise- induced hypoalgesia : EIH)，これには脊髄後角での GABA と GAD の産生の維持が重要な役割を担うことを報告した。実験動物に対する運動負荷には強制運動と自発運動があるが，自発運動負荷による EIH についての報告はない。本研究では，NPP マウスの EIH に及ぼす強制運動（トレッドミル走）と自発運動(voluntary wheel running: VWR)の効果を検討した。坐骨神経部分損傷(PSL)により作製した NPP マウスは，回転車輪を置いたケージ(Vo-PSL-Run)あるいは回転車輪を不動化したケージ(Vo-PSL-Sed)で 2 週間飼育した。また術後に 2 週間のトレッドミル走を負荷するマウスも作製した(Fo-PSL-Run)。Vo-PSL-Run の触アロディニアと熱痛覚過敏は有意に緩和され，それらの閾値は走行距離と正の相関を示した。Vo-PSL-Run の疼痛閾値は Fo-PSL-Run に比して高値となり，自発運動は強制運動よりも高い鎮痛効果を示した。免疫染色では，Vo-PSL-Sed の術側の後角で GAD65 と GAD67 の産生が減少したが, VWR は GAD65 の減少を抑制したことから，自発運動においても GABA 作動性疼痛抑制システムの維持が，EIH の要因となることが示唆された。

（25）マウス系統間における神経障害性疼痛感受性差へ免疫系細胞応答性の違いが与える影響

勇　昂一[1]，今井哲司[2]，助石有沙美[1]，中里　唯[2]，白川久志[1]，中川貴之[2]，金子周司[1]
（[1]京都大学大学院薬学研究科 生体機能解析，[2]京都大学医学部附属病院 薬剤部）

マウスは系統により痛みの感受性が異なることが報告されているが，免疫系細胞に着目してその原因を解析した報告は少ない。そこで本研究では複数のマウス系統を用い，神経障害性疼痛感受性の系統差および免疫系細胞/脊髄グリア細胞の応答の違いについて比較検討した。今回用いた系統では，神経損傷後のアロディニアの程度がC57BL/6J（B6）で最も強く，C3H/He（C3）が最も弱かった。免疫組織学的検討の結果，C3 では B6 に比べ，神経損傷 3 日後以降から，後根神経節（DRG）において抗炎症性 M2 マクロファージの指標である CD206 の免疫活性が著しく強くなり，7 日後以降の脊髄後角では活性型ミクログリアの数が有意に少なかった。そこで，末梢マクロファージ/脊髄ミクログリアの系統間差の関与を検討すべく，骨髄移植により B6/C3 間の骨髄キメラマウスを作成した。その結果，DRG での M2 マクロファージ増加はドナーマウス系統の免疫細胞応答を反映するが，神経損傷早期のアロディニア形成に一部関与するのみであり，一方，脊髄ミクログリアの活性化は，ドナーマウス系統の影響を受けず，アロディニアの形成・維持に大きく関与することを見出した。以上より，マウス系統間における神経障害性疼痛感受性差には，初期には DRG のマクロファージフェノタイプの差が一部関与するものの，主に脊髄ミクログリアの応答の系統間差が関与することが示唆された。

（26）歯周病に起因した歯周組織機械痛覚に対する CXCR4 の関与

長嶋秀和[1,2]，篠田雅路[2]，鈴木達郎[1,2]，渡辺雅弘[1,2]，菅野直之[1]，佐藤秀一[1]，岩田幸一[2]
（[1]日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座，[2]日本大学歯学部生理学講座）

【目的】

通常，炎症性疾患では痛みが持続するのに対し，歯周病では炎症が進行しているにもかかわらず痛みが発症しない。この原因の一つとして，歯周病の病原菌である *P. gingivalis* (*P.g.*) の病原因子として知らている繊毛蛋白 (Fimbriae) が免疫細胞に発現するケモカイン受容体の一つである CXCR4 に対してリガンドとして働くことが関与すると考えられる。そこで本研究では，臼歯への絹糸の結紮および *P.g.* の播種による歯周炎モデルマウスを作製し，歯周病による歯周組織の機械痛覚に対する CXCR4 の役割を検討した。

【材料と方法】

C57BL/6 マウス (7w, ♂) の上顎第二臼歯周囲を 5-0 絹糸にて結紮し *P.g.* を播種 (*P.g.*群), または上顎第二臼歯頬側歯肉に Complete Freund's adjuvant (CFA) を注射した (CFA 群)。浅麻酔下にて上顎第二臼歯頬側歯肉に機械刺激を与え，逃避反射閾値を経日的に測定した。さらに，*P.g.* 群に対し上顎第二臼歯頬側歯肉に CXCR4 中和抗体を連続投与し (100 μg/day)，機械刺激に対する逃避反射閾値の変化を解析した。

【結果】

P.g. 群において上顎第二臼歯頬側歯肉への機械刺激に対する逃避反射閾値に変化は見られなかったが，CFA 群において逃避反射閾値が有意に低下した。*P.g.* 群において上顎第二臼歯頬側歯肉への CXCR4 中和抗体の連続投与により，逃避反射閾値が有意に低下した。

【結論】

CXCR4 を介したシグナルが歯周病における機械痛覚の変調に関与していることが示唆された。

（27）先天性無痛症患者における変異ナトリウムチャネルの電気生理学的特性の解析

清澤研吉 [1]，柏原俊英 [2]，中田　勉 [2]，杉山由紀 [1]，田中　聡 [1]，山田充彦 [2]，川真田樹人 [1]
（[1] 信州大学 医学部麻酔蘇生学教室，[2] 信州大学 医学部分子薬理学教室）

臨床的に先天性無痛症と考えられる７０歳代の女性を発見した。家系図より常染色体劣性遺伝による遺伝形式と考えられた。そこで，患者血液を用いてオリゴヌクレオチド SNP array を行い，Loss of Heterozygosity 領域の解析を行い，報告されている先天性無痛症の原因遺伝子と照合し，候補遺伝子を検索した。その結果，本患者では膜電位依存性ナトリウムチャネル(Nav)1.7 をコードする SCN9A の変異が検出された。Wild-type（WT）と変異 Nav1.7(MT)を，tsA201 細胞に発現させ，ホールセルパッチクランプ法を用いて電気生理学的特性の解析を行った。その結果，MT は WT と比べて，有意差はないものの活性化と不活性化ともに脱分極側へシフトしていた。また，不活性化からのリカバリーは，MT が WT に比べ有意に速かった。ランプパルスによる電流のピーク値は，-20 mV への矩形波で誘発されるピーク電流の 0.58±0.13 % (WT. n=10)，および 0.25±0.21 % (MT, n=13)と，MT の電流が有意に減少していた(P<0.05)。したがってこのランプ電流の減少が，末梢神経における興奮を抑制するものと考えられるため，今後，後根神経節ニューロンに WT と MT を発現させて，より詳細な解析を行っていく予定である。

（28）光遺伝学的手法による神経障害性アロディニアの新たな評価法

田島諒一 [1]，古賀啓祐 [1]，高露雄太 [1]，八尾　寛 [2]，井上和秀 [3]，古江秀昌 [4]，津田　誠 [1]
（[1] 九州大学大学院薬学研究院・ライフイノベーション分野，
[2] 東北大学大学院生命科学研究科・脳機能解析分野，
[3] 九州大学大学院薬学研究院・薬理学分野，
[4] 生理学研究所生体情報研究系・神経シグナル研究部門）

神経障害性疼痛の主症状の一つであるアロディニアは，非侵害性の触刺激を激烈な痛みとして認識させてしまう感覚異常のことを指す。その発症維持メカニズムは未解明で特効薬もない。過去の報告から，触刺激を伝達する一次求心性神経 Aβ 線維を介した神経回路異常がアロディニア誘発の原因であると考えられてきた。しかし，これを直接的に証明した報告はなく，神経損傷後の Aβ 線維選択的な刺激による疼痛行動の実証例も皆無である。そこで本研究では光遺伝学的手法に注目し，Aβ 線維を含む大型の一次求心性神経にチャネルロドプシン-2 を発現する遺伝子改変ラットを用いて検討した。神経障害性疼痛モデルを作成し，足底部に 470 nm の青色光の照射により誘発される後肢逃避行動をスコア化し評価した。神経損傷後において損傷側足底部への光刺激によって後肢逃避行動が出現し，スコアは有意に増加した。一方，非損傷側ではそのような現象は認められなかった。また，損傷側への光刺激によって痛覚伝達領域として知られる脊髄後角第 I 層での神経活動マーカーc-Fos の陽性ニューロンが多数出現した。さらに，今回見られた光刺激によるスコアの上昇はプレガバリンの脊髄くも膜下腔内投与で抑制されたが，モルヒネでは影響を受けなかった。以上の結果から，光遺伝学的手法を利用した本法は無麻酔・無拘束・非接触での新規アロディニア評価法となる可能性が示唆された。

（29）神経障害性疼痛モデルラットにおける報酬誘発性側坐核内ドパミン遊離の時期依存的変調

南　雅文（北海道大学 大学院薬学研究院 薬理学研究室）

報酬系において重要な脳領域である側坐核では，報酬の獲得や予測によって快情動が生じるとドパミン遊離が増加することが報告されているが，慢性疼痛下での脳内報酬系の機能変化については十分に研究がなされていない。本研究では，側坐核内ドパミン遊離を指標として，痛みの慢性化による報酬系機能の減弱の経時変化について検討した。

慢性疼痛モデル動物として神経障害性疼痛モデル動物を用いた。第５腰髄神経を結紮，切断することにより脊髄神経結紮モデル(SNL モデル)を作製した。30%スクロース水あるいは鎮痛薬処置（pregabalin 100 μg/10 μl 脊髄くも膜下腔内投与）による痛み緩和を報酬刺激とし，側坐核内におけるドパミン遊離変化を in vivo マイクロダイアリシス法を用いて解析した。慢性疼痛の持続期間を２週間および４週間とし，スクロースあるいは鎮痛薬処置を報酬刺激として与えドパミン遊離を検討したところ，２週間の慢性疼痛群では側坐核内ドパミン遊離亢進が観察されたが，４週間の慢性疼痛群では消失していた。慢性疼痛２週間目では，報酬刺激に対してドパミン遊離が亢進するのに対し，慢性疼痛４週間目では報酬刺激を与えてもドパミン遊離は変化せず，脳内報酬系機能が減弱している可能性が示唆された。鎮痛薬による除痛をより早期に行うことが，快情動の惹起，すなわち，高い治療満足度を得るために重要である可能性が示唆された。

（30）内在性の痛覚調節システムにおけるラット視床 内側下核の機能

倉本恵梨子[1]，岩井治樹[1]，山中淳之[1]，千堂良造[2]，大野　幸[2]，
古田貴寛[3]，日置寛之[3]，金子武嗣[3]，後藤哲哉[1]
（[1]鹿児島大学大学院　医歯学総合研究科 歯科機能形態学，
[2]鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 歯科麻酔全身管理学，
[3]京都大学大学院 医学研究科 高次脳形態学教室）

"痛み" の感じ方は精神状態により大きく変化する。例えば試合中のスポーツ選手は少々の傷では痛みを感じない。これは内在性の痛覚調節システムによるもので，脳幹にある痛覚抑制回路が活性化されると，最終的に脊髄後角/延髄後角において痛覚入力が抑制される。脳幹の痛覚抑制回路は様々な脳領域から制御を受けることが知られ，その一つに視床 内側下核 (Sm) がある。Sm は均一な細胞構築像を示すものの，脳幹からの痛覚情報が背側部にのみ入力し，腹側部には入力しないことから，両者で機能が異なると推測された。本研究では単一細胞レベルで Sm ニューロンの軸索投射の形態学的解析を行い，背側部と腹側部の機能の違いを明らかにすることを目的とした。遺伝子改変シンドビスウイルスベクターを順行性トレーサーとして用い，単一 Sm ニューロンにウイルスを感染させ蛍光タンパクにより標識，免疫組織化学染色を行い，樹状突起から軸索末端までニューロン全体を完全再構築した。興味深いことに軸索投射領域に違いが見られ，大脳皮質において，背側 Sm ニューロンが眼窩野腹外側部 (VLO) に限局して軸索投射したのに対し，腹側 Sm ニューロンはむしろ VLO を避けて，その周囲に軸索投射することが明らかとなった。VLO は脳幹の痛覚抑制回路に興奮性の軸索投射を送ることから，背側 Sm は痛覚抑制機能に特化した回路を形成し，腹側 Sm は異なる機能を担っていることが示唆された。

（31）脳内長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 を介した疼痛制御機構

中本賀寿夫[1]，西中　崇[1]，相澤風花[1]，山下琢也[2]，万倉三正[3]，糟谷史代[2]，小山　豊[4]，徳山尚吾[1]
（[1]神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室，[2]神戸学院大学 薬学部 毒性学研究室，
[3]くらしき作陽大学・現代食文化学部，[4]大阪大谷大学 薬学部 薬理学教室）

近年，ドコサヘキサエン酸 (DHA) のような長鎖脂肪酸が G 蛋白共役型受容体の１つである長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 のリガンドであることが発見された。これらの受容体を介した脂肪酸シグナルは，末梢領域においてインスリンなどのホルモン分泌の調節を介して糖・脂質代謝の恒常性維持に関与し，糖尿病の治療標的分子として注目されている。一方，中枢神経系領域においては広範囲にわたって発現しているにも関わらず，生理的な意義やその役割は不明である。

最近我々は，DHA が脳内の長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 を介して β-エンドルフィンの遊離を促進し痛みを抑制することを示した。さらに，GPR40/FFAR1 は下行性疼痛制御系の起始核である青斑核および大縫線核領域に発現していることを見出し，GPR40/FFAR1 アゴニストがこれらの神経系を直接的または間接的に活性化することで，痛みを抑制することも明らかにしている。一方，慢性疼痛時には GPR40/FFAR1 アゴニストの遊離脂肪酸が変動すること，またこれらの変動にはアストロサイトが関与していることも示した。これらの知見は，脳内の遊離脂肪酸を介した GPR40/FFAR1 シグナル伝達機構が，疼痛制御機構の調節に重要な役割をしていることを示唆するものである。

本研究会では，脳内 GPR40/FFAR1 の新たな生理作用としての疼痛制御機構における役割について紹介する。

（32）求心路遮断性疼痛に対する催眠

水谷みゆき（愛知医科大学，学際的痛みセンター）

求心路遮断性疼痛に対する催眠の結果を報告した。対象は肢切断あるいは，腕神経叢引き抜き損傷後の幻肢痛，頚椎損傷後「完全」麻痺にともなう下肢/臀部痛であった。対象者は，身体的治療の限界を理解し，認知症・向精神薬・麻薬の影響は無視できる範囲と思われた。

方法としては，生理的な呼吸・内部感覚や観念運動に関する暗示を反応しやすいスモールステップで与えた。その理由は，１＞難治な慢性痛患者では無力感が強く，痛み自体や幻肢痛に伴う苦痛な肢位を操作して変化させる暗示が実際には反応困難である，２＞難治な慢性痛がもつ個別的な経験内容に合わない暗示を一方的に与えると，無効となり無力感を強化する可能性が高いからである。

その結果，鏡療法無効例も含め，催眠鎮痛は自動的に生じ，解催眠後も数時間から２週間持続した。さらに自己催眠の反復により，慢性痛はコントロールされた。幻肢の不快な肢位は鎮痛に伴い苦痛が取れると同時に解消し，義肢を使用しない症例では鎮痛が持続すると幻肢も短縮した。頚椎損傷後「完全」麻痺に伴う臀部痛は消失，下肢痛はしびれに変化した。一方，侵害刺激が絶えず入力される急性期幻肢痛では持続的鎮痛には至らなかった。

以上のような非薬物的鎮痛過程は，求心路遮断性疼痛の慢性状態において脳内で維持されている痛みが存在すること，また，それが催眠によって解除され，コントロールされると考えられた。

（33）ストレス低反応期前後の母子分離ストレスマウスの恐怖関連行動の解析
—痛みの「恐怖回避モデル」解明を目指して

小山なつ，Kenny Daun，等　誠司
（滋賀医科大学 生理学講座 統合臓器生理学）

痛みの慢性化に対して「恐怖回避モデル」が注目されているが，そのメカニズムは明らかではない。恐怖回避傾向には，遺伝的要因や後天性のストレスの関与が予想されるので，母子分離ストレスによるマウスの恐怖関連行動を解析した。

マウス（C57BL/6J 系）の出生後から 14 日のストレス低反応期（SHRP）は，HPA 軸の減弱により生後脳の発達を保護する時期であると言われている。SHRP 中，あるいは SHRP 後の母子分離は，成体期における恐怖行動に影響を及ぼすかを解析した。出生後 1~14 日の分離群群（MD14），15~21 日の母子分離群（MD21），母子分離をしない対照群に分け，母子分離群は 3 時間／日，母および同腹仔から分離した。行動解析は雄マウスを対象とし，10 週齢から開始した。オープンフィールドテスト，聴覚性驚愕テストにおいては，MD14/MD21 群と対照群の間に有意差がみられなかった。恐怖条件付けテストにおいは，MD14 群では特に手がかりテストにおけるフリージング時間に有意な減少が認められ，MD21 群においてはさらにベーサルのフリージングレベルも減弱していた。しかし恐怖消去効果は対照群との間に有意差がみられなかった。母子分離マウスの条件付け恐怖行動は減弱していたが，恐怖消去学習は正常であった。また条件付け後の恐怖行動の減弱は SHRP 後の母子分離で著しいことが確認された。

（34）幼少期のストレス負荷が成熟期における神経障害性疼痛に及ぼす影響

西中　崇，中本賀寿夫，徳山尚吾（神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室）

育児放棄や虐待といった幼少期ストレスは，中枢神経系の発達に影響を与え，様々な精神疾患の発症リスクとなる。さらに，成人期における慢性疼痛の発症とも関連することが報告されているが，そのメカニズムは不明である。そこで我々は，幼少期ストレスモデルマウスを用いて慢性疼痛の一つである神経障害性疼痛に対する影響に関して解析を行った。

実験には，ddY 系のマウスを使用した。幼少期ストレスとして，母子分離と隔離飼育ストレスを組み合わせたモデル (maternal separation and social isolation; MSSI) を用いた。生後 2 週目から 3 週目の間に，1 日 6 時間仔マウスを別々のケージに移し母子分離を行い，生後 3 週目以降は単独で飼育することで隔離飼育ストレスを与えた。9 週齢時において，坐骨神経部分結紮 (partial sciatic nerve ligation; PSL) により神経障害性疼痛モデルを作製した。

幼少期ストレスモデルマウスでは，成熟期において痛みの感受性には影響を及ぼさなかったが，神経障害後に生じる痛覚過敏を増強した。さらに，神経障害性疼痛後に認められる情動障害に対しても幼少期ストレス負荷による増悪が認められた。以上の結果から，母子分離・隔離飼育ストレスは成熟期における神経障害性疼痛を増悪させることが示唆された。

（35）慢性疼痛が引き起こす不安は前帯状回の presynaptic long-term potentiation を形成する

古賀浩平 [1,2]，Min Zhuo[1]
（[1] トロント大学 医学部 生理学，[2] 弘前大学 医学研究科 脳神経生理学）

慢性疼痛は心因性要因, 例えば不安を引き起こす一方，不安が痛みを増大させる事が考えられている。しかしながら，この慢性疼痛が惹起する心因性要因についてのシナプス機序は，これまでほとんど知られていない。我々は侵害応答と情動形成の両方に関わる前帯状回に注目してシナプスの長期増強（long-term potentiation : LTP）を調べた。これまでに，前帯状回の後シナプスの LTP が NMDA 型グルタミン酸受容体を介する事を報告している。今回，シナプス前終末（presynaptic: pre-）の LTP の形成機序と生理学的意義をマウスの前帯状回で調べた。この前帯状回の pre-LTP には，カイニン酸型グルタミン酸受容体，アデニル酸シクラーゼ，プロテインキナーゼ A が関与する事を明らかにした。さらに，*過分極*活性化環状ヌクレオチド依存性チャネル（Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated:HCN）チャネルが pre-LTP の発現と維持に必要である事を見つけた。さらに興味深い事に，神経損傷モデルと不安様行動が，pre-LTP を特異的に消失させる事を見出した。最後に，HCN チャネルの拮抗薬を前帯状回に局所投与すると，抗不安作用と侵害刺激逃避行動の緩和効果が得られた。これらの結果から，前帯状回において２つの LTP が共存し，不安と慢性疼痛が相互に影響する可能性を示した。

18. 生物学的階層構造をまたぐセルセンサー情報伝達に関する戦略的研究開発

2015 年 9 月 14 日－9 月 15 日

代表・世話人：高橋信之（東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科）
所内対応者：古江秀昌（生理学研究所 生体情報研究系）

（1）内胚葉に由来する幹細胞の三次元培養系
岩槻　健（東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科）
（2）セルセンサー情報伝達に関わる研究ツールを開発する
佐藤幸治（自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 生体制御シグナル研究部門）
（3）イメージングデータの定量化とトランスオミクス解析
瀬尾茂人（大阪大学大学院 情報科学研究科 バイオ情報工学専攻 ゲノム情報工学講座）
（4）タイトジャンクション構成蛋白質クローディンの構造と機能
～消化管におけるノックアウトマウス解析を中心に～
田村　淳（大阪大学大学院 生命機能研究科/医学系研究科 分子生体情報学研究室）
（5）腸管脂質センサーPPARα を介した食後高脂血症の改善
高橋信之（東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科 生理機能学研究室）
（6）霊長類における苦味感覚の多様性
鈴木-橋戸南美，今井啓雄（京都大学 霊長類研究所 ゲノム細胞研究部門 ゲノム進化分野）
（7）レプチンによる甘味調節機構
吉田竜介（九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能解析学分野）
（8）乳酸菌による腸管免疫応答の制御
戸塚　護（東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命科学専攻 食糧化学研究室）

【参加者名】

今井啓雄，鈴木南美，今村公紀，西　栄美子，西山瑠衣（京都大学霊長類研究所），吉田竜介，重村憲徳（九州大学），久光　隆（国立循環器病研究センター），瀬尾茂人，田村　淳（大阪大学），戸塚　護（東京大学），岩槻　健，高橋信之，大木淳子，藤井駿吾，佐藤　綾（東京農業大学），宇野茂之（日本大学），佐藤幸治（岡崎統合バイオサイエンスセンター），笠井昌俊，岡本士毅，古江秀昌，内田邦敏，秋元　望，山田彬博（生理学研究所），堀井和弘（岐阜大学）

【概要】

近年，分子・細胞生物学的研究の進展が急速に進み，様々な生体応答が分子・細胞レベルで説明可能となりつつある。しかし特定の分子機能によって生体応答すべてが説明可能である訳ではなく，分子／細胞／臓器／生体レベルという様々な生物学的階層が存在することから，より詳細な理解のためには，そうした階層をまたぐ情報伝達経路の解明が必須である。にもかかわらず，現在，生物学的階層間をまたぐ研究は極めて少なく，この階層構造を意識した戦略的な研究が求められる。一方，新たな研究成果は新たな研究技術の開発によってもたらされる場合が多く，日進月歩する科学技術をタイムリーに導入し一定の志向性を有する技術開発が求められている。そこで本研究会では，環境変化に対する生体応答に必須であるセルセンサー分子に着目し，そこから生じる分子間レベルのシグナル伝達，それにより誘導される細胞レベルの応答および細胞間レベルの動態変化，さらに組織レベル，臓器レベルでの局所応答，そして最終的に起こる生体レベルの環境適応といった様々な生物学的階層構造をまたぐ情報伝達経路に関する最新研究が紹介された。また，そうした研究を推進させる手法の開発につながる

最新の研究成果が発表された。発表内容や今後の研究開発に関する活発な議論が行われ，当該目的である戦略的研究推進について多様な意見が飛び交うなど，十分な情報交換が行われた。

（1）内胚葉に由来する幹細胞の三次元培養系

岩槻　健（東京農業大学 応用生物科学部 食品安全健康学科）

消化管は栄養の吸収にとどまらず，食品成分や環境因子の認知，生体防御，バリア機能，ホルモンのコントロールなど様々な機能を有している。一方で消化管は，外界からの異物に曝される事が多い事に加え，精神的ストレスや過剰栄養摂取による代謝異常などで，慢性的な炎症状態にあると言われている。近年では，機能性胃腸症，クローン病，潰瘍性大腸炎など原因不明な疾患が増加している。しかしながら，消化管機能を *in vitro* にて解析する実験系は少なく，新しい実験系が待ち望まれていた。

最近になり，消化管幹細胞が特定され，続いて消化管幹細胞の三次元幹細胞培養系（オルガノイド培養法）が開発されたことで（Sato T *et al*. 2009），これまで困難であった *in vitro* での消化管幹細胞実験が可能となり，各種因子が幹細胞に与える影響を観察できるようになった。

そこで我々は，新しく開発された消化管のオルガノイド培養系を導入し，これまで難しかった消化管機能解析を，タイムラプスなどの可視化技術と組み合わせて行っている。これまで当グループでは，消化管の様々な部位からオルガノイドを作製する事に成功している。昨年には，海外との共同研究にて，消化管から派生した組織である味蕾の幹細胞培養系も世界に先駆けて確立した（Ren W, *et al*. 2014）。遺伝子改変マウスよりオルガノイドを作製し，それらを用いて，食品成分や体内の炎症成分が消化管上皮細胞にどのような影響を与えるかを解析中した。オルガノイド培養法を概説し，その有用性や応用について論じた。

（2）セルセンサー情報伝達に関わる研究ツールを開発する

佐藤幸治（自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 生体制御シグナル研究部門）

嗅覚や味覚などの化学感覚系では，種ごとに多様化した受容体やシグナル伝達関連分子が機能しており，外界の化学物質認識に寄与している。これらの分子は感覚器以外にも生殖細胞や腸など，様々な組織でも異所的に発現しており，その機能に関して未解明な点が多い。化学感覚の末梢神経細胞では，細胞内カルシウムが細胞内電位や遺伝子発現など，様々な細胞機能を制御している。細胞内カルシウムの機能について理解を深めるため，我々はカルシウムチャネルを活性化させる光スイッチ（BACCS）を開発し，光刺激により細胞内カルシウム濃度を調節することに成功した。BACCS を発現した細胞では，遺伝子発現や G タンパク質シグナル伝達経路を介した匂い応答など，カルシウムが関わる様々な細胞機能を光で制御することができる。一方で，このような遺伝子再構成系を利用した，化学感覚に関わる機能的タンパク質の発現解析では，気体状分子の検出に関わる嗅覚受容体の機能が再現できない問題が指摘されていた。この課題に対し，細胞集積技術と MEMS 技術を利用して，嗅覚器表面の気液界面の再現を試みた。その結果，培養細胞で再構成した嗅覚受容体に，気体状匂い刺激を検知させることに成功した。このような生物模倣技術による統合的なアプローチは，生命科学における有効な研究手法である。

（3）イメージングデータの定量化とトランスオミクス解析

瀬尾茂人（大阪大学大学院 情報科学研究科 バイオ情報工学専攻 ゲノム情報工学講座）

画像処理を利用した生命動態の定量計測は，高解像度の顕微鏡等の光学技術や蛍光タンパクやゲノム組み換え等の遺伝子工学的技術の進展に伴い，医学・生物学の研究を進めるうえで主要な要素技術となりつつある。そして，バイオイメージングデータの高解像度化・高ハイスループット化が進む現在，まずはその一次解析として，細胞や粒子の位置を正確に抽出する技術や，動画に対してこれらの検出と追跡を自動で行う技術の開発等が喫緊の課題となっている。加えて，自動化によって得られたデータを用いて表現型や動態に関する定量化を行う方法論や，さらには定量化された情報を別の階層の網羅的なデータと対応付け，より高次の知識を獲得するための方法論も必要とされている。

蛍光タンパク質を用いて癌細胞の細胞周期の可視化を行ったイメージングデータから，細胞核の自動検出と追跡を行うために粒子フィルタを応用した方法を紹介する。また，癌細胞に対する抗がん剤の薬効や実験条件による細胞動態の違いを定量的に評価するために，生存時間分析を応用した事例を紹介した。

（4）タイトジャンクション構成蛋白質クローディンの構造と機能 ～消化管におけるノックアウトマウス解析を中心に～

田村　淳（大阪大学大学院 生命機能研究科/医学系研究科 分子生体情報学）

多細胞生物を覆う上皮細胞は，互いに横つながりに接着することでシート状の構造をつくり，体内外の物質の自由な漏出を防ぐことで，体内環境の恒常性の維持に寄与する。タイトジャンクション(TJ)は，こうした上皮細胞間の接着装置の１つで，クローディン(Cldn)蛋白質を主要な構成要素とする。

Cldn は，分子量およそ 23kD の小さな４回膜貫通蛋白質で，ヒトやマウスでは，27 種類のサブタイプからなるファミリーを形成する。Cldn は，細胞間にバリアを構築するが，Cldn2 や Cldn15 などの特定の Cldn は，細胞間にチャネルをつくる。組織ごとの Cldn サブタイプ発現パターンの違いが，組織による上皮細胞間の透過の特性を決定し，組織に適した微小環境の構築に寄与する。

ごく最近の 2.4A の高分解能での Cldn15 の結晶構造解析の成功により，TJ のイオンの選択的透過性の分子基盤が確立した。一方，Cldn の各臓器における発現パターンの違いは，その異常が，組織微小環境の恒常性破綻を介して，さまざまな病的な状態につながる。例えば，腸管上皮細胞に発現するチャンル型 Cldn 2 や 15 の欠損は腸管内イオン環境の破綻を介した栄養吸収障害につながる。バリア型 Cldn 7 の欠損は細菌由来物質の透過を介して大腸炎につながる。胃に発現の多い胃型 Cldn18 の欠損はプロトンの透過を介した胃炎につながる。こうした中から，消化管における Cldn ノックアウトマウス解析を中心に述べた。

（5）腸管脂質センサーPPARα を介した食後高脂血症の改善

高橋信之（東京農業大学 応用生命科学部 食品安全健康学科 生理機能学研究室）

脂質摂取後に血中の中性脂肪濃度が上昇する食後高脂血症のピークの高さは，これまで動脈硬化性疾患発症リスクとして重要と考えられていた空腹時の血中中性脂肪濃度と比べ，動脈硬化性疾患の発症とより強い相関があ

ることが報告されている。そのため，食後高脂血症の改善は，動脈硬化性疾患発症予防における新たなターゲットとなりうる。食事由来のトリアシルグリセロール（TG）は，モノアシルグリセロールと遊離脂肪酸（FFA）に消化され，腸管上皮細胞に吸収されるが，その後，細胞内で再び TG に再合成されて体内へ吸収される。この腸管上皮細胞内での TG 再合成の際に，基質となる FFA が酸化により減少すると，体内に吸収される TG 量が抑えられ，食後高脂血症が改善されるのではないかと考えた。そこで，脂肪酸酸化亢進作用を有するペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体 α（PPARα）の腸管上皮細胞内での活性化が食後高脂血症にどのような影響を与えるかを検討したところ，腸管上皮細胞での PPARα 活性化を介した脂肪酸酸化の亢進は食後高脂血症を改善すること，さらに PPARα 活性化能が薬剤に比べて弱い食品成分によっても改善されることが明らかとなった。腸管上皮細胞は，肝臓代謝の前に位置しており，肝臓で代謝分解を受けやすい化合物であっても，PPARα を活性化することが可能と考えられ，今後，多くの化合物に食後高脂血症改善作用が認められることが期待される。

（6）霊長類における苦味感覚の多様性

鈴木−橋戸 南美・今井啓雄（京都大学 霊長類研究所 ゲノム細胞研究部門 ゲノム進化分野）

苦味感覚は採食品目に含まれる生理活性物質や毒性物質を検知する役割をもつ。そのため，苦味感覚を担う苦味受容体遺伝子群（TAS2R）は採食環境や代謝能力に応じた変化をしてきた。我々は野生動物における TAS2R の適応的な変化を明らかにするために，これまでに，チンパンジーやニホンザルをはじめとする様々な霊長類種を対象に，TAS2R の多型解析，受容体機能解析および行動実験を行い，種間や亜種間，地域間での違いを明らかにしてきた（Suzuki et al. 2010; Hayakawa et al. 2012, Imai et al. 2012）。本研究発表では，最近，ニホンザルで明らかにした知見を紹介する（Suzuki-Hashido et al. 2015）。

ヒトにおいて phenylthiocarbamide（PTC）の苦味感受性に個人差があることは古くから広く知られている。我々は，遺伝子，タンパク質，個体レベルの実験から，ニホンザルにおいても PTC 感受性に個体差があることを発見した。興味深いことにこの個体差は，解析した 17 地域集団のうち，紀伊半島の集団のみに生じており，集団内では約 3 割の遺伝子頻度を示していた。さらに集団遺伝学的な解析から，PTC 非感受性タイプは，感受性タイプに比べ利点を獲得して，集団中に適応的に急速にひろがったことを明らかにした。感受性を失うことが有利にはたらいた背景について，ニホンザルの採食行動や生息環境の変化の視点からも考察を行った。

（7）レプチンによる甘味抑制機構

吉田竜介（九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能解析学分野）

レプチンは摂食やエネルギー代謝を調節する重要なホルモンのひとつである。近年，レプチンが末梢の味覚感受性調節にも重要な働きを持つことが明らかとなってきた。野生型マウスにレプチンを投与すると甘味に対する神経・行動応答が選択的に抑制され，このような効果はレプチン受容体に変異を持つ *db/db* マウスでは見られなかった。末梢味覚器である味蕾内でのレプチン受容体 Ob-Rb の発現を調べると，Ob-Rb は主に甘味受容体コンポーネント T1R3 と共発現し，GLAST や GAD67 といった他の味細胞マーカーとの共発現は見られなかった。T1R3-GFP，GAD67-GFP および gustducin-GFP マウスを用い，それぞれ GFP 発現味細胞の甘味，酸味，苦味応答に対するレプチンの効果を調べると，レプチンは T1R3-GFP 発現味細胞の甘味応答のみ抑制した。その効果はレプチンアンタゴニストにより阻害され，*db/db* マウスの甘味受容細胞では見られなかったことから，レプ

チンは甘味受容細胞に発現するOb-Rbを介しその効果を発揮すると考えられる。さらに，味蕾内ではT1R3, Ob-Rb, およびK_{ATP}チャネルサブユニットSUR1が共発現し，レプチンによる甘味受容細胞の応答抑制効果は K_{ATP} チャネル阻害剤glibenclamideにより消失し，甘味受容細胞の応答はK_{ATP}チャネル活性化剤diazoxideにより抑制された。以上の結果から，レプチンによる甘味応答抑制は甘味受容細胞に発現するOb-Rb, およびK_{ATP}チャネルの活性化により生じると考えられる。

（8）乳酸菌による腸管免疫応答の制御

戸塚　護（東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻）

腸内細菌叢の変化は様々な疾患と関わる。乳酸菌など腸内細菌叢に影響を与え健康に寄与する生きた微生物をプロバイオティクスと呼び，その健康効果の研究が進められている。我々は乳酸菌の経口投与による腸管免疫系の制御，特に経口免疫寛容誘導の強化の検討を行っている。経口免疫寛容とは抗原の経口摂取により，その抗原に特異的な免疫応答が抑制される現象であり，その破綻は食物アレルギーの発症と深く関係し，その誘導強化は早期寛解を助けるとともに，スギ花粉症等の経口免疫療法の効果増強も期待される。本報告では乳酸菌 *Lactobacilluls gasseri* OLL2809株（LG2809）の経口免疫寛容誘導に対する効果について報告する。

オボアルブミン（OVA）特異的T細胞受容体遺伝子を導入したDO11.10マウスに，20%OVA水を自由摂取させ経口免疫寛容を誘導するモデルを用いた。LG2809生菌体の強制経口投与により，脾臓CD4T細胞の増殖，IL-2産生が対照群に比べてより強く抑制され，寛容誘導の強化が認められた。この時，IL-10産生が増強され，TGF-β産生及び $Foxp3^+$ 制御性T細胞の有意な増加は認められなかった。LG2809投与の効果は小腸粘膜固有層（LP）CD4T細胞においてより早期に観察され，LP中の形質細胞様樹状細胞の増加がTr1様IL-10産生T細胞の誘導を増強したことが示唆された。

19. 電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス
～ 電子顕微鏡による生物構造情報の抽出 ～

2015 年 11 月 18 日－11 月 19 日
代表・世話人：大野伸彦（山梨大学）
所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（1）SBF-SEM を用いたミトコンドリアと小胞体の形態学的解析
長島　駿（東京薬科大学生命科学部分子生化学研究室）

（2）SEM 連続断面観察法を活用した糸球体足細胞の構造解析
市村浩一郎（順天堂大学医学部）

（3）インフルエンザウイルスゲノム転写機構の微細構造学的解析
野田岳志（京都大学ウイルス研究所・JST さきがけ）

（4）Correlative Light and Electron Microscopy in Cell Biology
Bruno M. Humbel（University of Lausanne, Switzerland）

（5）Near-atomic Resolution Single Particle Analysis with the Volta Phase Plate
Radostin Danev（Max Planck Institute, Germany）

（6）Sub-tomogram averaging of protein complexes in intact cells
Yoshiyuki Fukuda（Max-Planck Institute, Germany）

【参加者名】

長島　駿（東京薬科大学），市村浩一郎（順天堂大学医学部），野田岳志（京都大学），Bruno M. Humbel（University of Lausanne, Switzerland），Radostin Danev（Max Planck institutes, Germany），福田善之（Max Planck institutes, Germany），唐原一郎（富山大学），大野伸彦（山梨大学），松下敦子（総合研究大学院大学），岩根敦子（理化学研究所），岡山聡子（久留米大学），田所　治（松本歯科大学），渡辺敬文（信州大学），高浪景子（岡山大学），齊藤　成（山梨大学），SONG　CHIHONG（神戸大学），井上朋大（山梨大学），田村豪主（シンガポール国立大学），山口正視（千葉大学），玉田宏美（名古屋大学），Weihau Chang（Academia Sinica Institute of Chemistry），志茂　聡（健康科学大学），福田安希（兵庫県立大学），竹内美由紀（東京大学），佐生　愛（京都府立大学），東浦彰史（大阪大学），佐藤慧太（岡山大学），竹市裕介（神戸大学），中道優介（大阪大学），日高　聰（藤田保健衛生大学），杉田修啓（名古屋工業大学），深澤有吾（福井大学），福場郁子（広島大学），坂口美亜子（長崎大学），亀谷清和（信州大学），林　明子（東京薬科大学），針山孝彦（浜松医科大学），山本悠太（名古屋大学），前野哲輝（国立遺伝学研究所），野田　亨（藍野大学），薗村貴弘（金沢医科大学），中尾知代（名古屋大学），榎本早希子（名古屋大学），太田啓介（久留米大学），玉置大介（富山大学），Kang Byung-Ho（The Chinese University of Hong Kong），板倉広治（名古屋大学），大崎雄樹（名古屋大学），角田　潤（名城大学），王　淑杰（三重大学），北原陽介（久留米大学），中村桂一郎（久留米大学），平嶋伸悟（久留米大学），峰雪芳宣（兵庫県立大学），小林希実子（兵庫医科大学），西田倫希（日本繊維製品品質技術センター），高橋知里（愛知学院大学），森山陽介（藤田保健衛生大学），福西菜穂子（東海大学），玉巻伸章（熊本大学），坂本浩隆（岡山大学），尾崎まみこ（神戸大学），上野豊（産業技術総合研究所），長野広太郎（大阪大学），大浪修一（理化学研究所），永山國昭（総合研究大学院大学），WANG CHUN-HSIUNG（Academia Sinica Institute of Chemistry），WU YI-MIN（Academia Sinica Institute of Chemistry），古瀬幹夫（生理学研究所），窪田芳之（生理学研究所），畑田小百合（生理学研究所），山西治代（㈱資生堂），青山一弘（日本エフイー・アイ㈱），余涌（日本エフイー・アイ㈱），完山正林（日本エフイー・アイ㈱），葦原雅道（日本エフイー・アイ㈱），許斐麻

美（㈱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），黒田　靖（㈱日立ハイテクノロジーズ），富松　聡（㈱日立ハイテクノロジーズ），荻原伸介（日本電子㈱），名雪桂一郎（日本電子㈱），茅根　駿（日本電子㈱），春田知洋（日本電子㈱），関根裕介（日本電子㈱），金子　信（日本電子㈱），山口祐樹（日本電子㈱），高木孝士（日本電子㈱），高橋佳子（花市電子），藤谷　洋（㈱日本ローバー），関川明生（カールツァイスマイクロスコピー），小西功記（㈱ニコン），佐瀬一郎（㈱ニコン），山下美香（㈱コーセー），中村一哉（㈱東レリサーチセンター），杉山直之（㈱東レリサーチセンター），清水美代子（㈱システムインフロンティア），森　裕子（㈱システムインフロンティア），古河弘光（㈱システムインフロンティア），近藤信也（テガサイエンス㈱），伊藤喜子（ライカマイクロシステムズ㈱），石原あゆみ（ライカマイクロシステムズ㈱），新井善博（テラベース），香山容子（テラベース），斎藤善平（テラベース），池田　充（テラベース），江口純一（テラベース），村田和義（生理学研究所），宮崎直幸（生理学研究所），永谷幸則（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），加藤三津子（生理学研究所）

【概要】

本研究会は，「電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス」“電子顕微鏡による生物構造情報の抽出”をテーマにして開催いたしました。120 名を超える参加者を得て，6 演題の口演と 24 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。本研究会では，急速に普及が進む電子顕微鏡ビッグデータの 3 次元解析法の理解を参加者全員で深めるべく，データ解析手法に関するハンズオン形式の発表を行って頂いた。またオルガネラや細胞の 3 次元形態解析の最新の知見や，無染色の生物試料を解析するための新しい技術，光顕と電顕観察をつなぐ方法など，電子顕微鏡ビッグデータに関わるテーマを様々な角度から取り上げ，医学・生物学の幅広い研究領域をカバーする発表を行って頂いた。また生理学研究所の共同研究機器（電子顕微鏡）を中心とした多くの共同研究が紹介されました。現在のビッグデータの取得と解析の成果，そして今後に残された課題について，深い議論が行われた。

本研究会のルーツは，2000 年から提案代表者：藤吉好則先生（元京都大学），所内対応者：永山國昭先生により始まりました。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”など，時代のニーズに対応して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。そして今後も次々と生まれてくる電顕技術を積極的に生物電顕に応用するため，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，SBF-SEM などの成果を持ちより，医学・生物学に必要な可視化方法と解析手法を含めてその関連技術を討論し，生体観察方法の発展と新たな展開を創造する機会を提供していきたいと考えています。

（1）SBF-SEM を用いたミトコンドリアと小胞体の形態学的解析

長島　駿，柳　茂（東京薬科大学生命科学部）
大野伸彦（山梨大学大学院医学工学総合研究部）

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ので，これらの知見を含めて得られた研究成果を報告する。

（2）SEM 連続断面観察法を活用した糸球体足細胞の構造解析

市村浩一郎，坂井建雄（順天堂大学医学部）

最近，演者らは SEM 連続断面観察法により糸球体足細胞の超微立体構造を再評価し，この細胞の新しい構造階層性を提唱することができた（Ichimura et al. Sci Rep 5 : 8993, 2015）。今回の研究では，FIB-SEM, SBF-SEM を活用し足細胞の突起構造とスリット膜が形成される形態的過程をラットの未熟糸球体において検討した。

糸球体発生の初期段階では，足細胞はタイト結合（TJ）やアドヘレンス結合（AJ）で連結された円柱上皮を成している。既にこの段階で，隣接する細胞間で細い突起（超未熟足突起）による噛み合い構造が形成されている。ただし，超未熟足突起間にはスリット膜を含む細胞間結合装置はほぼ見られなかった。発生が進むと，足細胞には造山運動が生じ，お互いに一次突起を伸ばして組み合うようになる。一次突起の辺縁からは足突起が伸び出ているが，おそらくは一次突起の形成過程で超未熟足突起には TJ と AJ からなる結合装置が新たにリクルートされ，未熟足突起が形成される。さらに，足突起間の結合装置がスリット膜に置き換わり，スリット間隙が形成されると成熟足突起となる。

今回の研究では，細胞と結合装置の純形態のみを解析したわけだが，現在は包埋前イムノゴールド法と本電顕法を組み合わせ，スリット膜構成分子と突起形成に関与するアクチン結合タンパク質の動態についても検討を進めている。

（3）インフルエンザウイルスゲノム転写機構の微細構造学的解析

野田岳志（京都大学ウイルス研究所・JST さきがけ）

インフルエンザウイルスのゲノム RNA（vRNA）は，ウイルス核タンパク質 NP や RNA ポリメラーゼ（PB2, PB1, PA）とともに，らせん状の ribonucleoprotein complex（RNP 複合体）を形成する。RNP 複合体は vRNA の転写装置として機能し，mRNA の合成を担う。近年，X 線結晶構造解析により，RNP 複合体を構成する NP, PB2, PB1, PA の分子構造が決定された。また，クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により，RNP 複合体の立体構造が明らかにされた。しかし，RNP 複合体は mRNA の合成を担う動的な分子装置であるにも関わらず，機能的な状態における RNP 複合体の構造に関しては全くわかっていない。

我々は現在，転写における RNP 複合体の動態/合成される mRNA の挙動を明らかにするために，in vitro transcription assay と高速原子間力顕微鏡法ならびにクライオ電子顕微鏡法を組み合わせ，RNP 複合体/mRNA の微細構造解析を行っている。本シンポジウムでは，インフルエンザウイルスゲノムの転写機構について，微細構造学的観点から議論したい。

（4）Correlative Light and Electron Microscopy in Cell Biology

Bruno M. Humbel（University of Lausanne, Switzerland）
Celine Loussert Fonta（Nestle Research Center, Switzerland）
Caroline Kizilyaprak, Jean Daraspe, Willy Blanchard
（University of Lausanne, Switzerland）

In recent years correlative microscopy, combining the power and advantages of light and electron microscopy, has become an important tool for biomedical research.

Light microscopy has the advantage of easily searching large areas, even volumes, for the cells of interest, e.g., a special cell type in tissue, astrocytes in brain [1] or for cells that have been modified either by transfections or by RNAi in a large population of non-modified cells. Also on thin sections, the low magnification of light microscopy and therefore ease of searching large areas are very beneficial to speed-up the analysis of rare events [2]. The predominant disadvantage of this technique, however, is that only the fluorescently labelled structures can be imaged in relation to each other.

Electron microscopy reveals the cellular ultrastructure a high resolution and individual organelles, even large protein polymers like cytoskeletal filaments or ribosomes can unequivocally identified. Proteins of interest can be labelled with colloidal gold. Searching for a few gold particles within a few cells of a large tissue, however, is very cumbersome and can be extremely time consuming.

Seen the advantages of light and electron microscopy suggests that the optimal approach is to combine both techniques for cell biology research. Localisation of rare cellular events are followed and identified by (fluorescence) light microscopy, the high resolution data and fine localisation to cellular substructures are done by electron microscopy.

In this presentation we will describe the approach we have chosen to follow the cell(s) of interest from sampling the tissue until the analysis by electron microscopy [3].

[1] Loussert Fonta, C., et al., J Struct Biol 189 (2015). 53-61.
[2] Schwarz, H. and B.M. Humbel, Methods Mol Biol 1117 (2014). 559-592.
[3] Loussert Fonta, C. and B.M. Humbel, Arch Biochem Biophys 581 (2015). 98-110.

（5）Near-atomic Resolution Single Particle Analysis with the Volta Phase Plate

Radostin Danev, Maryam Khoshouei, Wolfgang Baumeister
（Max Planck Institute, Germany）

In recent years there is an increased interest in the development and use of phase plates in cryo-EM. The oldest and the most productive type of phase plate is the thin film Zernike phase plate. It has been successfully used in cryo-tomography and single particle analysis applications [1] but has a short lifetime and produces fringes in the images.

In collaboration with FEI we recently developed a new type of phase plate - the Volta phase plate (VPP) [2]. It solves the problems of the Zernike phase plate and is much easier to use. Our tests indicate that the Volta phase plate has a lifetime of more than an year. This is a big advantage in terms of servicing and up time of the microscope. The other big advantage of the VPP is that it produces fringe-free images which have an appearance close to whant an ideal in-focus phase contrast image should look like.

In this study the Volta phase plate was used to collect single particle analysis datasets of ice-embedded proteins. The reconstructions reached near-atomic resolutions. This is the first time that such resolutions have been achieved with a phase plate. In addition, the data were collected in-focus and

thus no CTF fitting or correction were necessary during the reconstructions. Compared to conventional defocus phase contrast reconstructions the Volta phase plate provided a slight improvement in resolution with the same number of particles.

[1] K Murata et al, Structure 18 (2010) 903-912.
[2] R Danev et al, PNAS 111 (2014) 15635-15640.

（6）Sub-tomogram averaging of protein complexes in intact cells

Yoshiyuki Fukuda, Radostin Danev , Wolfgang Baumeister
（Max Planck Institute, Germany）

In order to understand cellular function, it is important to investigate macromolecular assemblies in cellular environment. Electron cryo-tomography combined with sub-tomogram averaging has unique property to visualize three dimensional structure of macromolecular complexes with a resolution of 1-3 nm. Due to the sensitivity of vitrified biological specimens to electron beam irradiation, signal-to-noise ratio of electron cryo-microscope image is limited. In order to overcome the limitation, Volta phase plate has been developed (Danev et al., 2014). We applied electron cryo-tomography with the Volta phase plate to plunge-frozen primary cultured neuronal cells and Thermoplasma acidophilum to visualize macromolecular in situ. In the primary cultured neuronal cell, 26S proteasomes were identified and shown their conformational changes. In the Thermoplasma acidophilum, two kinds of membrane protein complex are visualized.

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔　目　　次　〕

1．TRPs and SOCs　~ Unconventional Ca^{2+} Physiology ~
（代表者：森　誠之　2015 年 6 月 4 日－6 月 5 日）…… 421

1．TRPs and SOCs　~ Unconventional Ca^{2+} Physiology ~

2015 年 6 月 4 日－6 月 5 日

代表・世話人：森　誠之（京都大学）

所内対応者：西田基宏（生理学研究所）

（1）Still Mysterious and 'Unconventional' TRP Channels.

Yasuo Mori (KyotoUniversity)

（2）TRPV1 in cardiachypertrophy and heart failure.

Alexander J. Stokes (HawaiiUniversity)

（3）Functional Interaction between TRPchannels and anoctamin1.

Makoto Tominaga (NIPS)

（4）The effect of PIP_2 regulation and cysteine modification for the activity of TRPC4/C5channel.

Insuk So (Seoul National University)

（5）Role of TRPC3 on a slow increase in twitch force and Ca^{2+} transient to sustained stretch in cardiomyocytes.

Yohei Yamaguchi (Okayama University)

（6）Regulation of TRPM3 activity by intracellular signaling cascades.

Johannes Oberwinkler (Philipps-University)

（7）Does activation of TRPM4 contribute to the pathophysiological automaticity of HL-1 atrial cardiomyocyte model?

Yaopeng Hu (Fukuoka University)

（8）Trigeminal TRPA1 contributes to irritant-induced respiratory slowing.

Tomoyuki Kuwaki (Kagoshima University)

（9）Role of TRP channels inrespiratory control.

Yasumasa Okada (Murayama Medical Center)

（10）CRAC channel Activation Domain (CAD) can make the different flexibility.

Chan Young Park (Ulsan National Institute of Science and Technology)

（11）Functional role of store-operated STIM1 phosphorylation.

Katsuya Hirano (Kagawa University)

（12）Nitric oxide-cGMP-PKG acts on Orai1 to inhibit the hypertrophy of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes.

Xiaoqiang Yao (Chinese University of Hong Kong)

（13）STIM1 plays anessential role in the development of basophil-mediated chronic allergic inflammation.

SoichiroYoshikawa (Tokyo Medical and Dental University)

（14）Mechanomedicine: Applications of mechanobiology to regenerative and reproductive medicine.

Keiji Naruse (Okayama University)

（15）Evolutionary changes of heat sensors drove shifts inthermosensation between Xenopus species inhabiting different thermalniches.

Shigeru Saito (OIB)

（16）Anti-fibrotic effects of Daikenchuto (TU-100) are associated within testinal myofibroblast TRPA1 channel.

Lin-Hai Kurahara (Fukuoka University)

（17）Identification of Redox Sensitive TRPChannels as a key Pathway in Paracetamol induced Hepatocellular Damage.

Heba Elsaid (Kyoto University)

（18）Vascular endothelial transient receptor potential vanilloid4 links colonic inflammation index transulfate sodium-induced colitis model mice.

Kenjiro Matsumoto (Kyoto Pharmaceutical University)

（19）Extracellula rmicroRNAs activate nociceptor neurons to elicit pain via TLR7 and TRPA1.

Chul-Kyu Park (Gachon University)

（P1）Inflammatory pain via the activation of nociceptive TRPA1 by polysulfide.

Yukari Hatakeyama[1], Kenji Takahashi[1], Makoto Tominaga[2], Hideo Kimura[3], ○Toshio Ohta[1]
([1]Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, Tottori University
[2]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National Institute for Physiological Sciences), National Institutes of Natural Sciences
[3]Natinal Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry)

（P2）Orai1-Orai2 Complex is Involved in Store-Operated Calcium Entry in Chondrocyte cell line.

○Satoshi Yamada[1], Munenori Inayama[1], Yoshiaki Suzuki[1], Takashi Kurita[1]
Hisao Yamamura[1], Susumu Ohya[1,2], Wayne R. Giles[3], Yuji Imaizumi[1]
([1]Department of Molecular & Cellular Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, Nagoya 467-8603, Japan
[2]Department of Pharmacology, Division of Pathological Sciences, Kyoto Pharmaceutical University, Kyoto 607-8414, Japan
[3]Faculty of Kinesiology, University of Calgary, Calgary, Alberta T2N 1N4, Canada)

（P3）Involvement of Trpm7 in the intercellular junction formation in mouse urothelium.

Masaki Watanabe[1,2], ○Yoshiro Suzuki[1,3], Kunitoshi Uchida[1,3], Naoyuki Miyazaki[4]
Kazuyoshi Murata[4], Seiji Matsumoto[2], Hidehiro Kakizaki[2], Makoto Tominaga[1,3]
([1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National Institute for Physiological Sciences), National Institute of Natural Sciences, Okazaki, Japan
[2]Department of Renal and Urologic Surgery, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Japan
[3]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI (The Graduate University for Advanced Studies), Okazaki, Japan
[4]Electron Microscopy Group, National Institute for Physiological Sciences, Natural Institute of National Sciences, Okazaki, Japan)

（P4）Detection of TRPC and Orai1 proteins in bovine ciliary muscle cells prepared by a Percoll density-gradient centrifugation method

○Motoi Miyazu, Toshiyuki Kaneko, Akira Takai
(Department of Physiology, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Japan)

（P5）Mutagenesis of TRPC7-OGU1 Interaction.

(○Tomoyuki Ohno[1], Tomoya Ito[1], Yasuo Mori[2], Yasunori Aizawa[1,3]
([1]Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology
[2]Department of Synthetic and Biological Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University
[3]Center for Biological Resources and Informatics, Tokyo Institute of Technology)

（P6）TRPV2 is critical for the maintenance of BAT thermogenesis in mice

○Wuping Sun[1,2], Kunitoshi Uchida[1,2], Yoshiro Suzuki[1,2], Yiming Zhou[1], Yasunori Takayama[1], Nobuyuki Takahashi[3]
Tsuyoshi Goto[3], Shigeo Wakabayashi[4], Teruo Kawada[3], Yuko Iwata[4], Makoto Tominaga[1,2]

([1]Div of Cell Signaling, OIIB (NIPS), Okazaki, Japan
[2]Dep of Physiol Sci, SOKENDAI, Okazaki, Japan
[3]Div of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan
[4]Dep of Molecular Physiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan)

（P7）Mast cell programming using complex calcium release and influx mechanisms.

Kristina Maaetoft-Udsen[1], Lori M.N. Shimoda[1], Noel M. Rysavy[1] Ingo Lange[2]
Mark Speck[1], Carl Sung[1], Dana Koomoa-Lange[2], ○Helen Turner[1,3]
([1]Laboratory of Immunology and Signal Transduction, Chaminade University, Honolulu, HI
[2] Department of Pharmaceutical Sciences, Daniel K. Inouye College of Pharmacy,
University of Hawaii at Hilo, Hilo, HI
[3] Department of Cell and Molecular Biology, John A. Burns School of Medicine, University of Hawaii)

（P8）A screening of TRPC channels activators identifies novel neurotrophic compounds.

○Seishiro Sawamura[1], Masahiko Hatano[1], Hajime Sasaki[1], Yoshinori Takada[1,3]
Takashi Kuwamura[1], Tomohiro Numata[1,2], Shigeki Kiyonaka[1,2], Kyosuke Hino[3]
Tetsuya Kawamura[3], Jun Tanikawa[3], Hiroshi Nakagawa[3], Ryu Nagata[3], Ryuji Inoue[4], Yasuo Mori[1,2]
([1]Kyoto Univ., Dept. Synth. Chem. & Biol. Chem., Grad. Sch. Engineer., Kyoto, Japan
[2]Kyoto Univ., Dept. Technol. & Ecol., Hall Global Environment, Kyoto, Japan
[3]Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.
[4] Dept. Physiol., Grad. Sch. Med., Fukuoka Univ.)

（P9）TRPM4: new molecular target for cardiac ischemia–reperfusion injury

○Ken Takahashi
(Cardio Vascular Physiology, Okayama University)

（P10）Mechanosensitive ATP release via hemichannels and Ca^{2+} influx through TRPC6 channels accelerate wound closure in keratinocytes

○Kishio Furuya[1], Hiroya Takada[2], Masahiro Sokabe[1]
([1]Mechanobiology Laboratory
[2]Department of Physiology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan)

（P11）Inhibition of TRPC6 mimics voluntary exercise-induced improvement of peripheral artery disease

○Tsukasa Shimauchi, Takuro Numaga-Tomita, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida
(Div. Cardiocirculatory Signaling, Okazaki Inst. Integ. Biosci., NIPS, NINS)

（P12）Improvement of peripheral arterial disease by a novel TRPC3/6-selective inhibitor

○Ryosuke Matsukane[1,2], Tsukasa Shimauchi[1,2], Akiyuki Nishimura[1], Takuro Tomita[1], Motohiro Nishida[1,2]
([1]Division of Cardiocirculatory Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National
Institute for Physiological Sciences)
[2]Department of Translational Pharmaceutical Sciences,
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University)

（P13）TRPC3 mediates pressure overload-induced maladaptive cardiac remodeling

Naoyuki Kitajima[1,2], Takuro Numaga-Tomita[1], Akiyuki Nishimura[1], ○Motohiro Nishida[1,2]
([1]Division of Cardiocirculatory Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National
Institute for Physiological Sciences)
[2]Department of Translational Pharmaceutical Sciences,
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University)

（P14）Phosphorylation of TRPC6 underlies promotion of endothelium-dependent arteriogenesis after hindlimb ischemia

○Takuro Tomita, Tsukasa Shimauchi, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida
(Division of Cardiocirculatory Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (National Institute for Physiological Sciences), National Institutes of Natural Sciences)

（P15）Receptor-operated Ca^{2+} currents of TRPC channels and phosphoinositides regulation.

Hideharu Hase[1], ○Masayuki X. Mori[1], Kyohei Itsuki[2], Yuko Imai[2], Yasushi Okamura[3], Ryuji Inoue[4], Yasuo Mori[1]
([1] Department of Synthetic and Biological Chemistry, School of Engineering, Kyoto University, Kyoto, Japan
[2]Faculty of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan
[3]Laboratory of Integrative Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Osaka University, Osaka, Japan
[4]Department of Physiology, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan)

（P16）FUNCTIONAL ROLE OF TRPC5 CHANNELS IN AORTIC BARORECEPTOR

○Eva On-Chai Lau, Bing Shen, Ching On Wong, Yu Huang, Xiaoqiang Yao
(School of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong)

（P17）Activation of mitochondrial TRPV1 contributes to microglial migration.

○Hisashi Shirakawa[1], Takahito Miyake[1], Takayuki Nakagawa[1,2], Shuji Kaneko[1]
([1]Department of Molecular Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University
[2]Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Kyoto University Hospital)

【参加者名】

高橋　賢（岡山大学），西本れい（総合研究大学院大学（生理学研究所）），Wuping SUN（生理学研究所），富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）），桑木共之（鹿児島大学），橘高裕貴（生理学研究所），クルガノフエルキン（生理学研究所），成瀬恵治（岡山大学大学院），Alexander James Stokes（University of Hawaii），Helen Turner（Chaminade Univeristy），Derouiche Sandra（NIPS），尾形光津子（日産化学工業株式会社生物科学研究所），宮津　基（旭川医科大学），長澤雅裕（群馬大学），Heba Abdallah Elsaid Badr（京都大学），倉原（海）琳（福岡大学），小栗　岳（東京大学医学部附属病院），岡田泰昌（独立行政法人国立病院機構村山医療センター），森　泰生（京都大学），澤村晴志朗（京都大学大学院），内山　誠（京都大学），白石拓也（京都大学），齋藤　茂（岡崎統合バイオ(生理学研究所)），大洞将嗣（九州大学），波多野紀行（愛知学院大学），鈴木裕可（愛知学院大学），鈴木喜郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター），松本健次郎（京都薬科大学），Chan Young Park（Ulsan National Institute of Science and Technology），Insuk So（Seoul National University），Johannes Oberwinkler（Philipps-Universitat Marburg），Xiaoqiang Yao（Chinese University of Hong Kong），城戸瑞穂（九州大学大学院），高山靖規（生理学研究所），内田邦敏（生理学研究所），本吉　葵（京都薬科大学），黒川竜紀（京都大学大学院），吉本怜子（九州大学大学院），岡田由香（和歌山県立医科大学），雑賀司珠也（和歌山県立医科大学），福田隆文（キリン㈱），太田利男（鳥取大学），吉川宗一郎（東京医科歯科大学大学院），西田基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理研）），永井直杜（生理学研究所），伊藤智哉（生理学研究所），重松智博（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理研）），冨田拓郎（生理学研究所），松金良祐（岡崎統合バイオサイエンスセンター），長澤隆介（小野薬品工業），Rupali Gupta（生理学研究所），長谷直樹（帝人ファーマ㈱），平野勝也（香川大学），西村明幸（生理学研究所），Onur Kerem Polat（Kyoto University），島内　司（岡崎統合バイオサイエンスセンター），相澤康則（東京工業大学），笹村　崇（小野薬品工業㈱），大野知幸（東京工業大学），加藤賢太（帝人ファーマ），佐藤主税（産総研），胡　耀鵬（福岡大学），金子周司（京都大学），白川久志（京都大学），高井　章（旭川医科大学），山口陽平（岡山大学），Tian bang Li（生理学研究所），野田さゆり（名古屋市立大学大学院），佐伯尚紀（名古屋市立大学大学院），山田啓史（名古屋市立大学），川崎桂輔（名古屋市立大学），古家喜四夫（名古屋大学大学院），森　誠之（京都大学大学院工学研究科），山越大槻（名古屋市

立大学大学院），Chul-Kyu Park（Gachon University），平瀬　僚（京都大学），富澤恵里（京都大学），織田麻衣（長浜バイオ大学大学院），Lau On Chai Eva（Chinese University of Hong Kong），藤山雄一（岡崎統合バイオサイエンスセンター），美濃部雅士（名古屋市立大学），佐藤幸治（岡崎統合バイオサイエンスセンター），荻原由美子（名古屋市立大学），古川奈美（名古屋市立大学），作田　拓（基生研），井上隆司（福岡大学），檜山武史（基生研），浅野周一（名古屋市立大学），秋元　望（生理研），山方基寛（名古屋市立大学），山村英斗（名古屋市立大学），岩谷優希（名古屋市立大学），木全茂利（名古屋市立大学），花田菜摘（名古屋市立大学），鈴木良明（名古屋市立大学），Rafiqul Islam（生理学研究所）

【概要】

TRP タンパク質はカチオン透過型イオンチャネルであり、これまで 30 種以上の類縁分子が発見されている。その機能は、多様な内外界からの刺激（光、熱、圧、化学物質）に対するセンサーとして働くことから、様々な生命における重要性に注目が集まっている。また、多くの遺伝子疾患が TRP チャネル関連で報告されることから病態生理との関わりも深い。これに STIM-Orai 系による store-operated Ca^{2+} entry (SOC) を加えた、より広遠かつ未知の Ca^{2+}生理学を意識した集会が必要である。過去の TRP 関連の研究会では、国内の研究者を中心に行われてきた。このため、国際的な研究会の開催が望まれてきた。平成 27 年 6 月 4-5 日の 2 日間, 岡崎カンファレンスセンターにて上記名の TRPs and SOCs ~Unconventional Ca^{2+} Physiology~と題して、生理研国際研究集会が開催された (http://www.nips.ac.jp/circulation/TRP2015workshop/)。国外 6 名と国内 13 名の最先端研究者による講演, 16 題のポスター発表，および 96 名の国内外からの参加者があった。企業からの参加もあり、多様な人材の交流の場を提供した。TRP channel と SOCs の生理的機能に関する研究や、病態との関連性について、比較的若手の研究者を中心に最新の発表が行われた。特に TRPA1 や TRPV チャネル群の機能解析、病態生理に関する報告が複数行われ、その活発さが伺えた。また、特別講演(岡田、成瀬)では、呼吸、心臓生理学の最新かつ包括的な講演がそれぞれ行われ、現在及び将来の方向性について考える場を提供できた。 計 2 日間に分け、比較的時間を多く取ったポスター発表では、学生を中心に幅広くかつ活発な議論、十分な国際交流の機会を提供し、無事に会を終了した。

（1）Still Mysterious and 'Unconventional' TRP Channels

Yasuo Mori (Kyoto University)

Who expected TRPs are so diverse in function and rich in physiology? In my case, I confined myself to the PLC-mediated signaling cascade at the initial stage of TRP research, which was later expanded in a completely unexpected direction. This I believe is an experience shared by many scientists in the TRP channel field. An 'unconventional' title of the symposium should express at least in part the still mysterious and unconventional nature of the TRP channel research. To start the symposium, I will make a short remark about the history of TRP channels in mammalian systems. I will also add its relationship with oxygen biology revealed through our recent studies.

（2）TRPV1 in cardiac hypertrophy and heart failure

Alexander J. Stokes (Cell & Molecular Biology, University of Hawaii)

Heart failure is becoming a global epidemic. It exerts a staggering toll on quality of life, and substantial medical and economic impact. In a pre-clinical model of cardiac hypertrophy and heart failure, we were able to overcome loss of heart function through knockout of TRPV1 or by administering a TRPV1 antagonist. We also observe regulation of TRPV1 through a previously unlinked paracrine signaling complex associated with cardiac hypertrophy and heart failure.

（3）Functional Interaction between TRP channels and anoctamin1.

Makoto Tominaga (Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience)

We studied physical and functional interaction between TRPV4 and anoctamin1 (ANO1), a Ca^{2+}-activated chloride channel, in HEK293T cells and choroid plexus epithelial cells (CPECs). Chloride currents induced by a TRPV4 activator were markedly increased in an extracellular calcium-dependent manner in HEK293T cells expressing TRPV4 with ANO1 and in CPECs. We also found physical interaction between TRPV4 and ANO1. Cell volume changes were induced by ANO1-mediated chloride currents in parallel with membrane potential changes, and the cell volume was significantly decreased at negative membrane potentials by TRPV4-induced ANO1 activation. These results indicate that the TRPV1-ANO1 interaction is a significant pain-enhancing mechanism in the peripheral nervous system.

（4）The effect of PIP_2 regulation and cysteine modification for the activity of TRPC4/C5 channel

Insuk So (Seoul National University, College of Medicine)

We demonstrated the kinetic model for PIP_2 regulation or redox events of TRPC4/C5 channel activity. We identified that PIP_2 is an essential lipid for sustaining the open status of TRPC4 channel using a rapamycin-inducible system with Patch clamp technique. We found the functional role of three irreversible cysteines (C181, C549(C553), and C554(C558) in TRPC4(TRPC5)) and two reversible cysteines (C176 and C178) for channel activation. The disulfide bond between extracellular cysteines, especially C553, is essential for functional TRPC5 activity by channel multimerization and trafficking. Accordingly, these results focus on our current understanding of the molecular determinants for TRPC channel activation.

（5）Role of TRPC3 on a slow increase in twitch force and Ca^{2+} transient to sustained stretch in cardiomyocytes

Yohei Yamaguchi (Department of Cardiovascular Physiology, Okayama University Graduate School of Medicine)

We focused on the functional linkages between angiotensin II type 1 (AT1) receptor and TRPC3 via diacylglycerol (DAG) on SFR. Mouse ventricular myocytes were enzymatically isolated. A pair of carbon fibers was attached to each cell end to apply stretch. The stretch caused an immediate increase in twitch force. Following this response, the force and Ca^{2+} transient slowly increased. AT1 receptor blocker, specific TRPC3 inhibitor and DAG inhibitor (Olmesartan, Pyr3 and U-73122) suppressed the SFR. These results suggest that TRPC3 activated by AT1 receptor is involved in SFR.

（6）Regulation of TRPM3 activity by intracellular signaling cascades

Johannes Oberwinkler (Philipps-University)

We have investigated whether TRPM3 channels are also modulated by GPCR signaling. In this presentation, I will show new data demonstrating that, indeed, TRPM3 channels are regulated by the canonical $G\alpha_q$-pathway with subsequent phospholipase C activation and $PI(4,5)P_2$ depletion. However, even under conditions of strong $PI(4,5)P_2$ depletion, TRPM3 inhibition was incomplete. Interestingly, activation of $G\alpha_i$-coupled GPCRs in both, pancreatic β cells and nociceptors, quickly and strongly, but still reversibly, inhibited TRPM3 activity. These data show that TRPM3 channels are under multiple control of receptor-mediated signaling pathways.

（7）Does activation of TRPM4 contribute to the pathophysiological automaticity of HL-1 atrial cardiomyocyte model?

Yaopeng Hu (Department of Physiology, Fukuoka University School of Medicine)

In the heart, enhanced automaticity often leads to tachyarrhythmias, but the mechanism underlying it remains insufficiently understood. In this study, we investigated the possible contribution of TRPM4, a Ca^{2+}-activated cation channel, in a beating monolayer of cultured atrial cardiomyocyte cell line HL-1. Mathematical simulations based on an HL-1 AP model indicated that the activation of TRPM4 is critical for Ba^{2+}-induced depolarization and subsequent increase in the AP firing rate, in which successive activations of NCX and T-type voltage-dependent Ca^{2+} channel appear to play pivotal roles.

（8）Trigeminal TRPA1 contributes to irritant-induced respiratory slowing

Tomoyuki Kuwaki
(Department of Physiology, Kagoshima University Graduate School of Medical andDental Sciences)

We examined relative importance of TRPA1 located in upper airway (nasal cavity) and lower airway (trachea) in urethane-anesthetized mice. For separate stimulation to the upper and lower airways, two cannulas were inserted into the nasal cavity and the lower trachea through a hole made on the trachea just caudal to the thyroid cartilage. Flow velocity of spontaneous breathing was measured with a Lilly type flow meter and a vapor of one of the TRPA1-stimulants, allyl isothiocyanate (AITC), was introduced into the airline by placing a cotton paper soaked with 20 uL of AITC solution. As a result, we conclude that TRPA1 in the trigeminal nerve is essential for irritant-induced respiratory slowing.

（9）Role of TRP channels in respiratory control

○Yasumasa Okada (Laboratory of Electrophysiology Clinical Research Center, Murayama Medical Center)

It has been elucidated that TRP channels are critically involved in various aspects of respiratory control. Activation of TRPA1 channels is involved in respiratory rhythm generation by inducing a long-lasting facilitation of respiratory rhythm. TRPA1 channel could also be a sensor of high and low oxygen, and we have demonstrated that TRPA1 channel is essential for shaping the milder part of hypoxic ventilatory chemoreflex. These findings suggest that TRP channels could be targets of innovative drug development for the treatment of respiratory control disorders.

（10）CRAC channel Activation Domain (CAD) can make the different flexibility

Chan Young Park, Ph.D.
(Dept. of Biological Sciences, School of Life Sciences Ulsan National Institute of Science and Technology)

SOCE is mediated by the STIM proteins, STIM1 and STIM2, which sense depletion of ER Ca^{2+} stores and activate Orai channels. We have identified a CRAC activation domain (CAD) within STIM1 that binds directly to and open the CRAC channel. These studies establish a molecular mechanism for CRAC channel activation.

（11）Functional role of store-operated STIM1 phosphorylation

○Katsuya Hirano (Department of Cardiovascular Physiology, Faculty of Medicine, Kagawa University)

STIM1 senses a decrease in the Ca^{2+} content of intracellular store sites, and plays a pivotal role in activating store-operated Ca^{2+} entry (SOCE). STIM1 is shown to be phosphorylated; however, their functional role for regulation of SOCE remains elusive. We addressed this issue by using cultured porcine aortic endothelial cells and HeLa cells. Our study suggest STIM1 to be phosphorylated in response to Ca^{2+} depletion. This phosphorylation contribute to maintenance of SOCE.

（12）Nitric oxide-cGMP-PKG acts on Orai1 to inhibit the hypertrophy of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes

Yao Xiaoguing (School of Biomedical Sciences, the Chinese University of Hong Kong)

In the present study, we used human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes (hESC-CMs) as the model to explore the mechanism of NO-cGMP-PKG inhibition on human cardiac hypertrophy. Four hypertrophic indexes were measured, including cell size enlargement, sarcomere organization and expression of cardiac hypertrophy-characteristic genes ANF and ACTA1. Suppression of Orai1 expression using dominant-negative construct and siRNA inhibited the phenylephrine-induced hypertrophy, suggesting a positive role of Orai1 in promoting human cardiomyocyte hypertrophy. The data provide conclusive evidence that cGMP and PKG acted through Orai1 to inhibit the phenylephrine -induced hypertrophy in hESC-CMs.

（13）STIM1 plays an essential role in the development of basophil-mediated chronic allergic inflammation

YOSHIKAWA Soichiro (Department of Immune Regulation, Tokyo Medical and Dental University)

Recent report suggested that stromal interaction molecule 1 (STIM1), which is a sensor of ER Ca^{2+} stores and couples depletion of Ca^{2+} from ER stores with SOCE influx, is essential for mast cell degranulation. However, the function of STIM1 in basophil is unknown. To address this issue, we here established transgenic mice expressing a tamoxifen-inducible improved-Cre recombinase under the control of the basophil-specific promoter (*Mcpt8*^{iCreERT2}), and crossbred them with mice carrying loxP-flanked Stim1. Importantly, mice with targeted deletion of STIM1 in basophils failed to develop IgE-mediated chronic allergic inflammation (IgE-CAI), a prototype of basophil-mediated allergic response. Taken together, these results suggest that STIM1 plays an essential role in IgE-mediated activation of basophils.

（14）MECHANOMEDICINE: APPLICATIONS OF MECHANOBIOLOGY TO REGENERATIVE AND REPRODUCTIVE MEDICINE

○Keiji Naruse
(Cardiovascular Physiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences)

Mechanobiology is indispensable to all living creatures ranging from bacteria to human beings because every living thing continually experiences mechanical stimuli, not only exogenous but also endogenous, and responds appropriately to these stimuli. We have been intensively investigating systems to apply mechanical environments to cells and tissues such as cell stretchers and microfluidics systems. In this lecture, I am going to introduce mechanobiology of cardiovascular cells and then introduce MECHANOMEDICINE, applications of mechanobiology to regenerative medicine and reproductive medicine.

（15）Evolutionary changes of heat sensors drove shifts in thermosensation between Xenopus species inhabiting different thermal niches

Shigeru Saito (Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience)

In order to clarify molecular mechanisms for the evolution of thermosensation, thermal responses were compared between two species of clawed frogs (*Xenopus laevis* and *Xenopus tropicalis*) inhabiting different thermal environments. *X. laevis* was much more sensitive to heat stimulation than *X. tropicalis* at the behavioral level and similar species difference was also observed in sensory neurons. Thermal responses of TRPV1 and TRPA1, serving as heat sensors, differed between the two *Xenopus* species, and the single amino acid substitution within TRPV1 was largely responsible for the species difference. Combined, the subtle amino acid substitutions in thermal sensors potentially served as a driving force for the evolution for the thermal and chemical sensation.

（16）Anti-fibrotic effects of Daikenchuto (TU-100) are associated with intestinal myofibroblast TRPA1 channel

Lin-Hai Kurahara (Department of Physiology, Fukuoka University. School of Medicine)

Daikenchuto (TU-100), a traditional oriental herbal medicine has often been used to mitigate post-operative ileus and constipation. In this study, we explored the possible effects of TU-100 on intestinal myofibroblast's signal transduction associated with fibrosis, migration and collagen synthesis. The study suggested that TU-100 can activate TRPA1 channel thereby eliciting a transmembrane Ca^{2+} influx and upregulate its expression, which may in turn prevent the progression of intestinal fibrogenesis to mitigate the symptoms of intestinal stenotic diseases.

（17）Identification of Redox – Sensitive TRP Channels as a key Pathway in Paracetamol induced Hepatocellular Damage

Heba A. Elsaid (Graduate School of Engineering, Kyoto University)

Acetaminophen (APAP) is a safe analgesic antipyretic drug at prescribed doses. Its overdose, however, can cause life-threatening liver damage. Although widely acknowledged, the role of increased formation of reactive oxygen species (ROS) and deranged Ca^{2+} homeostasis in APAP-induced hepatocellular death is still not clear. Here, using human hepatoma cell line (HepG2) as a model of hepatocytes, the redox-sensitive TRPV1, TRPC1, TRPM2 and TRPM7 were found to be molecularly expressed in HepG2 by RT-PCR and western blot. Conclusively, these redox-activated TRPV1, TRPC1, TRPM2 and TRPM7 are essential in the mechanism of APAP-induced Ca^{2+} entry and subsequent hepatocellular death.

（18）Vascular endothelial transient receptor potential vanilloid 4 links colonic inflammation in dextran sulfate sodium-induced colitis model mice

Kenjiro Matsumoto (Kyoto Pharmaceutical University)

We investigated the alteration of TRPV4 expression in the colonic vascular endothelial cells during dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis. TRPV4 KO mice protected against DSS-induced weight loss, neutrophil (MPO), colon shortening, diarrhea, occult-fecal blood, and histological damage. TRPV4 immunoreactivities were detected mostly in epithelial cells of normal distal colon. Our findings indicate that the alteration of TRPV4 in vascular endothelial cells may contribute to progression of colonic inflammation via increasing vascular permeability.

（19）Extracellular microRNAs activate nociceptor neurons to elicit pain via TLR7 and TRPA1

Chul-Kyu Park (Department of Physiology, School of Medicine, Gachon University, Korea)

We here report an unconventional role of extracellular miRNAs for rapid excitation of nociceptor neurons via toll-like receptor-7 (TLR7) and its coupling to TRPA1 ion channel. miRNA-let-7b induces rapid inward currents and action potentials in dorsal root ganglion (DRG) neurons. These responses require the GUUGUGU motif, only occur in neurons co-expressing TLR7 and TRPA1, and are abolished in mice lacking *Tlr7* or *Trpa1*. Furthermore, let-7b induces TLR7/TRPA1-dependent single channel activities in DRG neurons and HEK293 cells over-expressing TLR7/TRPA1. Intraplantar injection of let-7b elicits rapid spontaneous pain via TLR7 and TRPA1. Finally, let-7b can be released from DRG neurons by neuronal activation, and let-7b inhibitor reduces formalin-induced TRPA1 currents and spontaneous pain. Thus, secreted extracellular miRNAs may serve as novel pain mediators via activating TLR7/TRPA1 in nociceptor neurons.

【 各種シンポジウム 】

2015（平成 27）年度生理研国際シンポジウム

The 46th NIPS international Symposium

第 46 回生理研国際シンポジウムを，2015 年 10 月 2 日と 3 日の両日，名古屋国際会議場（名古屋市）において開催しました。本年度は，基礎研究者と臨床研究者が一同に介し，「肥満」という共通の研究テーマを議論するため，第 36 回日本肥満学会と第 8 回アジア・オセアニア肥満学会（AOCO）を合同で開催しました。20 名の演者の中で，海外からの演者が 7 名でした。7 名の海外演者は，何れも，最近数年間で Nature，Science，Nature Medicine，Cell など，著名な科学雑誌に論文を発表した若手研究者です。また，日本からの演者も，海外演者に劣らない研究成果を有する方々ばかりでした。それゆえ，日本肥満学会と AOCO の参加者を中心に，159 名の登録者があり，盛況なシンポジウムとなりました。日本肥満学会で特別講演を行って頂いた，リズム研究で著名な米国アカデミー会員 Joseph S. Takahashi 博士，摂食調節機構の研究で有名な Richard Palmiter 博士も discussant として参加して頂き，活発な討論が行われました。生理学研究所国際シンポジウムは，これまで岡崎において開催され，このように臨床の学会と合同で開催したことは初めてでした。本シンポジウムのテーマが臨床と密接に関連することから，今回は特別に合同開催となりましたが，学術レベルだけでなく生理研の活動を広く知ってもらう点においても，十分な成果がありました。

The 46th NIPS International Symposium, “Homeostatic mechanisms among interacting organ systems - Key to understanding obesity”

October 2- 3, 2015,
Nagoya Congress Center,　Nagoya, Aichi, Japan

The 46th NIPS International Symposium held at Nagoya Congress Center in Nagoya City from October 2nd to 3rd, 2015. This symposium was co-held with the 36th Annual Meeting of Japan Society for the Study of Obesity (JASSO) and the 8th Asia-Oceania Congress of Obesity (AOCO) with 159 participants including 7 oversea speakers (total 20 speakers). All speakers presented their recent studies with high quality level in science. Prof. Joseph S. Takahashi and Richard Palmiter who are special lecturers of the 36th Annual Meeting of JASSO and leading authorities on biological clock system and food intake regulation, respectively, also participated in this symposium as a discussant. This was the first NIPS symposium co-held with clinical scientific meetings. All participants enjoyed intensive and fruitful discussion about their common scientific interests regarding “Obesity”.

Program

Oct 2 (Fri) 2015

Opening remarks

Yasuhiko Minokoshi (National Institute for Physiological Sciences)

Session 1

Chair: Toshihiko Yada, FeiFan Guo

16:50-17:20

The neurobiology of homeostatic hunger

Scott M. Sternson (Janelia Research Campus, HHMI, Ashburn, Virginia, USA)

17:20-17:38

Pathophysiological roles of adipokine and epigenome dysregulation in obesity

Toshimasa Yamauchi (University of Tokyo)

17:38-17:56

Inter-organ neural network mediate the regulation of systemic energy metabolism

Tetsuya Yamada (Tohoku University)

17:56-18:14

Regulation of skeletal muscle mass and fat mass by myokines and origin of ectopic fat accumulation in skeletal muscle

Kunihiro Tsuchida (Fujita Health University)

18:14-18:32

Hepatokine selenoprotein P and skeletal muscle receptor LRP1 induce exercise-insensitivity by inhibition of ROS and AMPK

Hirofumi Misu[1,2] ([1]Kanazawa University, [2]PRESTO, Japan Science and Technology Agency)

18:32-18:50

Role of novel variants of PGC-1α in the regulation of energy metabolism

Kazuhiro Nomura (Kobe University)

Oct 3 (Sat)

Session 2

Chair: Shin-Ichiro Imai, Michihiro Matsumoto

8:10-8:28

AMP-activated protein kinase in CRH neurons in the PVH controls food selection behavior

Shiki Okamoto[1,2], Tatsuya Sato[2], Yasuhiko Minokoshi[1,2] ([1] National Institute for Physiological Sciences, [2] SOKENDAI)

8:28-8:58

Discovery and characterization of a novel class of endogenous lipids

Alan Saghatelian ,Mark M. Yore, Ismail Syed, Pedro M. Moraes-Vieira,Tejia Zhang, Mark A. Herman, Edwin A. Homan, Rajesh T. Patel, Jennifer Lee,Shili Chen, Odile D. Peroni, Abha S. Dhaneshwar, Ann Hammarstedt, Ulf Smith,Timothy E. McGraw, Barbara B. Kahn (The Salk Institute for Biological Studies, Peptide Biology Laboratory, USA)

8:58-9:16

Role of dsRNA-mediated immunometabolic regulation in obesity

Takahisa Nakamura (Divisions of Endocrinology and Developmental Biology, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, USA)

9:16-9:34

The transcriptional coregulator CITED2 regulates adipose tissue mass by enhancing preadipocyte proliferation and PPARγ expression through Rb inactivation

Michihiro Matsumoto (National Center for Global Health and Medicine)

Session 3

Chair: Shingo Kajimura, Takahisa Nakamura

9:34-10:04

Adipose tissue controls systemic NAD^+ biosynthesis through the secretion of extracellular nicotinamide phosphoribosyltransferase (eNAMPT)

Shin-ichiro Imai (Department of Developmental Biology, Department of Medicine (Joint), Washington University School of Medicine, USA)

10:04-10:22

Engineering fat cell fate to fight obesity and metabolic diseases

Shingo Kajimura (University of California, UCSF Diabetes Center and Department of Cell and Tissue Biology, USA)

10:22-10:40

Regulation of higher-order chromatin structure during thermogenesis in brown adipocytes

Takeshi Inagaki[1], Yohei Abe[1], Royhan Rozqie[1], Yoshihiro Matsumura[1],Shingo Kajimura [2], Juro Sakai[1] ([1]University of Tokyo, [2]UCSF Diabetes Department of Cell and Tissue Biology, University of California, USA)

Session 4

Chair: Tetsuya Yamada, Takeshi Inagaki

14:20-14:38

Amino acid regulation of metabolism

FeiFan Guo (Institute for Nutritional Sciences, Shanghai Institute for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, China)

14:38-14:56

Regulation of hepatic glucose production by central insulin action through vagus and kupffer cells

Hiroshi Inoue (Kanazawa University)

14:56-15:14

Mechanisms by which PTP1B affects energy balance

Ryoichi Banno (Nagoya University)

15:14-15:32

Impact of successful leptin replacement therapy in Japan on adult and child, systemic and partial lipodystrophy

Kiminori Hosoda, Toru Kusakabe, Daisuke Aotani, Ken Ebihara, Kazuwa Nakao (Kyoto University)

Session 5

Chair: Masamitsu Nakazato, Hiroshi Inoue

15:32-16:02

Neural dynamics underlying hunger

Zachary A. Knight (Department of Physiology, University of California, USA)

16:02-16:20

Gut hormones regulating energy homeostasis

Masamitsu Nakazato (University of Miyazaki)

16:20-16:38

Na^+,K^+-ATPase in the arcuate nucleus senses systemic energy states to regulate feeding behavior

Toshihiko Yada, Hideharu Kurita, Masanori Nakata (Jichi Medical University)

Closing remarks

Keiji Imoto (Director General, National Institute for Physiological Sciences)

【トレーニングコース】

第 26 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—

2015 年 8 月 3 日－8 月 7 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 26 回目を迎え，8 月 3 日（月）より 8 月 7 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，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。本年度は，21 コース（約 120 名）の募集を行ったところ 161 名の応募があった。119 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 6 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. 「質感認知の神経機構を探る」
   小松英彦（生理学研究所 感覚認知情報研究部門 教授）
2. 「筋肉のストレス適応と不適応の分子制御」
   西田基宏（生理学研究所 心循環シグナル研究部門 教授）

【紹介】

「総合研究大学院大学の紹介と説明会の案内』及び『生理学研究所の紹介」
南部　篤（生理学研究所 生体システム研究部門 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その解析手法　—生化学および細胞生物学的手法—
(2)　目的タンパク質に修飾されている糖鎖の精製および解析
(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 標本およびスライス標本からの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）高次心循環機能評価法
（18）免疫電子顕微鏡法
（19）ウイルスベクターの作製とその応用
（20）生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング (1)（生体アンプとバスチェンバーの作製）
（21）生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング (2)（C 言語による PIC 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/2015/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/2015/questionnaire/TC2015Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. 異なるスケールを統合する，初期視覚野単一細胞における両眼視差の検出

馬場美香（大阪大学 大学院生命機能研究科）

（2015.4.2）

我々は，2 次元の網膜画像から鮮明な 3 次元世界を知覚することができる。我々の脳内の視覚システムは様々な手がかりを用いて 3 次元的な奥行きを推定しているが，中でも重要なものが左右の網膜画像のずれ，「両眼視差」である。両眼視差の検出は初期視覚野とよばれる領野から始まるが，この領野の神経細胞は，それぞれが異なるスケールの画像特徴に選択性を持ち，粗い画像特徴と細かい画像特徴は別々の細胞において処理されている。しかし，一般に自然な外界からの視覚入力は幅広いスケールの画像特徴を含んでおり，両眼視差による左右間での網膜像の位置ずれは，その様々なスケールの成分（すなわち様々な空間周波数成分）すべてにおける同じ大きさの位置ずれとして特徴付けられる。従って，より正確に信頼性高く機能するために，異なるスケール，すなわち異なる周波数チャンネルからの情報統合が以降の処理として必要であると考えられる。このような情報の統合が初期視覚野の両眼視差選択性細胞で起こっているかどうかを調べるため，麻酔不動化したネコ 17 野において実験を行った。実験では，両眼周波数組み合わせ領域における神経細胞の両眼性応答を，左右眼間で様々な周波数・位相の組み合わせのサイン波フラッシュ刺激を用いて計測した。

計測により得られた 74 個の細胞について両眼周波数相互作用マップを解析した結果，一部の複雑型細胞において異なる周波数チャンネルの統合が起こっていることがわかった。またこの統合は，周波数バンド間で最適視差が同一となるように行われていることも示唆された。これらの結果から，より正確な両眼視差検出を可能にするために，粗いものから細かいものまで異なるスケールからの情報の統合が，既に初期視覚野から始まっていることが示された。

2. 分子時計を基盤にした創薬

大戸茂弘（九州大学大学院薬学研究院薬剤学分野）

（2015.4.21）

肝臓癌は未だアンメットメディカルニーズの高い疾患である。肝臓癌は，慢性肝炎そして肝硬変を経て発症するが，その機構は未だ明らかとされていない。一方，様々な生体機能には日周リズムが認められ，時計遺伝子と呼ばれる転写因子群により制御される。近年これら時計遺伝子が各種疾患の発症や重症度と関連し，医療の側面から注目されている。本研究では，分子時計を基盤とした新規の肝癌発症機構を解明し，新しい慢性炎症，肝癌の治療薬の開発を目指した。5 週齢 ICR 雄性マウスを対象に，ジエチルニトロソアミン（DEN：80mg/L）の飲水投与によって慢性炎症-肝癌モデル作製した。標的分子発現抑制化合物の探索は，東京大学 創薬オープンイノベーションセンター所有のコアライブラリー9600 を対象にスクリーニングした。DEN 暴露後 14 週目の肝臓の時計遺伝子発現リズムは変容，細胞周期調節因子 Ccrf（特許取得のため）の発現リズムも変容することを明らかとした。Ccrf の機能を明らかとするため，肝初代培養細胞に Ccrf をノックダウンした細胞を対象にマイクロアレイ解析を行った。その結果，癌や細胞増殖に関連したシグナルが変容することが明らかとされた。また機能解析した結果，Ccrf は体内時計機構により制御され，炎症シグナルに重要な因子であることが明らかとなった。現在，Ccrf の発現機構に基づく新規化合物の探索をしている。

3. 脳波と脳磁図を用いた注意の神経機構の検証：脳活動からネットワークへ

木田哲夫（生理学研究所・感覚運動調節研究部門）

(2015.4.28)

ヒトは多感覚環境から入力される感覚刺激に対して注意を適応的に制御することにより必要な情報を選択する。本セミナーではこれまで脳波・脳磁場計測を用いて調べた注意の神経機構に関する我々の研究を紹介する。脳波・脳磁場は計測機器としてだけでなく生体としての時間分解能にも優れた手法であり，ミリ秒単位で焦点が移動する注意を調べる手法として有用である。本セミナーでは，感覚系内，感覚系間，感覚系超の注意効果に関するデータを紹介する。また近年，複雑ネットワーク解析を導入して得られた，注意制御に関わる脳機能ネットワーク特性の時空間動態についての予備的研究を紹介する。

4. 神経科学における電子顕微鏡法　－ 最近の技術進歩と応用 －

釜澤尚美（Max Planck Florida Institute for Neuroscience の電子顕微鏡室長）

（2015.5.11）

神経科学研究における最近の話題であるコネクトーム解析と，光・電子相関顕微鏡法は，いずれも電子顕微鏡と周辺技術の進歩が鍵となっている。コネクトーム研究には，走査型電子顕微鏡 (scanning electron microscope, SEM) を使って，試料を高解像度で連続撮影し，比較的大きな体積情報を取得する「volume electron microscopy」の手法が必須である。試料の連続画像を取得するためには，連続的に切削した試料の表面を撮影する serial block face SEM (SBFSEM) 法と，試料の超薄切片をテープ上に連続自動回収する automated tape-collecting ultramicrotome (ATUM) を用いる方法がある。いずれの装置も商品化されたことで，volume -EM はまさに実用段階に入ったといえる。２つの手法は一長一短があり，研究の目的によってどちらを選択するかを考慮する必要がある。SBFSEM 装置，3View は細胞体からの突起の広がりを可視化，解析するような目的に適するが，例えば，個々の小胞を明確に区別出来る像を得ようとすると，電子線によって樹脂包埋試料が変形し，均一な切削が難しくなることが多い。また，免疫電顕法の応用にも限界がある。一方，ATUM は，試料作製法に制限が少なく，切片の免疫染色，組織化学染色も可能である。一旦テープに回収した超薄切片は倍率を変えて繰り返し撮影することができるが，必要な情報を取得するためには長い時間を要し，また，得られた連続画像のアライメントはSEBSEMに比べて困難な場合が多い。細胞の機能と構造を結びつけて解析する為には，電気生理の記録に続いて，蛍光顕微鏡あるいは超解像顕微鏡による観察を行い，同一細胞の微細構造を電顕で可視化することが望まれる。さらに，近年の光遺伝学の進歩にともない，光で細胞の機能を操作し，その細胞をライブイメージングし，そして電顕観察へつなげたいという需要が高まっている。人力に頼るところがおおい従来の免疫電顕法を超えて，一連の作業をいかにルーチン化できるかが今後の課題である。X 線顕微鏡を介した試み，あるいは，Volume-EM の手法を組み合わせた新しい光・電子相関顕微鏡法ワークフローの現状を紹介し，今後の可能性を討論したい。

5. 1. Improvement of contrast in Electron Cryo-Tomography by Volta Phase Plate
2. Automated Cryo-tomography and Single Particle Analysis with the Volta Phase Plate

1. 福田義之（Department of Molecular Structural Biology, Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried, Germany）
2. Dr. Radostin Danev（Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried, Germany）

（2015.5.11）

演者１（3pm~）：福田義之
演題名：Improvement of contrast in Electron Cryo-Tomography by Volta Phase Plate

細胞における各分子の分布，及び「その場」での巨大分子複合体の形成過程に関する知見は細胞機能理解のために重要である。電子線クライオトモグラフィーは生物試料を生理的条件に保持したまま，その三次元構造の解析を可能にする。しかしながら，電子線クライオトモグラフィーでは生物試料を構成する低原子番号の元素に由来する観察像の低コントラストが問題である。これまでに，クライオ透過電子顕微鏡による生物試料の観察像のコントラストを改善するために，様々な位相板が開発されてきた。それらの位相板の中でゼルニケ位相板は最も多く使用され，生物試料の形態，構造解析に貢献してきた。しかしながら，ゼルニケ位相差法では，コントラストの改善に伴う，フリンジの発生が知られている。そして，このフリンジが観察像の解釈を阻害する可能性が有るとして指摘されている。

近年，透過電子顕微鏡用の新たな位相板として，ボルタ位相板が開発された。ゼルニケ位相板とは異なり，このボルタ位相差法ではコントラストの改善に伴う，フリンジが発生しない。そのため，クライオ透過電子顕微鏡を用いた各手法による細胞，ウイルス，タンパク質複合体などの構造解析に非常に有用であると期待される。

我々は，電子線クライオトモグラフィーにおけるボルタ位相板の有用性を検討するために，急速凍結磁走性細菌を試料として，通常法とボルタ位相差法，エナジーフィルターの有無の 4 つの異なる組み合わせにおいて観察を行い，得られた観察像におけるコントラストの比較を行った。その結果，ボルタ位相板がエナジーフィルターよりも観察像のコントラスト向上に貢献していることが示された。

さらに，ボルタ位相板を用いた急速初代培養神経細胞の電子線クライオトモグラフィーにおいて神経細胞内の 26S プロテアソーム分子を直接可視化することに成功した。そして，可視化された 26S プロテアソーム分子の平均化処理及び立体構造の分類を試みた。その結果「基底状態」と「基質処理状態」の 2 つの主要な立体構造を得られた。

Reference: Electron cryotomography of vitrified cells with a Volta phase plate.
Fukuda Y, Laugks U, Lučić V, Baumeister W, Danev R.
J Struct Biol. 2015 Mar 12. pii: S1047-8477(15) 00058-1. doi:10.1016/j.jsb.2015.03.004.

演者２（4pm~）：Dr. Radostin Danev
演題名：Automated Cryo-tomography and Single Particle Analysis with the Volta Phase Plate

Recent years have shown an increased interest in the development and use of phase plates in cryo-EM. The oldest and the most productive type of phase plate is the thin film Zernike phase plate. It has been successfully used in cryo-tomography and single particle analysis applications. Despite its good performance the Zernike phase plate has a few pitfalls. One major practical hindrance is its short lifetime.

Typically within 10 days after being installed into the microscope its performance deteriorates to the point where it has to be exchanged.

Another disadvantage of the Zernike phase plate is that it produces fringes around high-contrast features in the image, such as lipid membranes, support film edges etc. Despite its shortcomings the Zernike phase plate has been the main motivation and experience generator in the last years.

In collaboration with the FEI Company we recently developed a new type of phase plate – the Volta phase plate. It addresses both shortcomings of the Zernike phase plate discussed above. Our tests indicate that the new phase plate lasts for more than six months inside the microscope. This is a big advantage in terms of servicing and up time of the

microscope. The other big advantage of the new phase plate is that it produces fringe-free images which resemble in appearance light microscopy phase contrast images.

The new phase plate was tested with the two main 3D cryo-EM techniques – cryo-tomography and single particle analysis. Comparing the results with what has been published shows that it performs significantly better than the thin film Zernike phase plate. The improvements are both in image appearance and resolution.

Reference: Volta potential phase plate for in-focus phase contrast transmission electron microscopy.
Danev R, Buijsse B, Khoshouei M, Plitzko JM, Baumeister W.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Nov 4;111(44):15635-40.
doi:10.1073/pnas.1418377111.

6. Structures of TRP ion channels by single particle cryo-EM）

Yifan Cheng（UCSF, USA）

（2015.5.12）

As a versatile tool in structural biology, single particle electron cryo-microscopy (cryo-EM) has been used to determine the three-dimensional (3D) structures of proteins and macromolecular complexes without the need for crystals. Recent technological breakthroughs in electron detector technologies have enabled developments of novel techniques in both data acquisition and image processing. Together, these novel technologies revolutionized single particle cryo-EM and enabled near atomic resolution structure determinations of a broad range of proteins complexes without the need of crystals. Thus, it is now feasible to use single particle cryo-EM to determine structures of protein complexes that are challenging for the more traditional X-ray crystallographic structure determination approach. This is particularly true for integral membrane proteins.

The Transient Receptor Potential (TRP) ion channel is a large and functionally diverse superfamily, second only to potassium channels.

TRPV1 is the founding member of a subfamily of thermosensitive TRP channels. Up to date, there is no crystal structure of any member of TRP channel family. Facilitated by novel single particle cryo-EM technology, we determined atomic structures of TRPV1 ion channels in three different conformations, ligand free apo state and in complexes with vanilloid agonist capsaicin, or resiniferatoxin and Double-Knot toxin. These structures revealed the atomic structure of TRPV1 ion channel, providing a structural blueprint for understanding unique aspects of TRP channel function. They also revealed the gating mechanism different from that of voltage gated ion channels.

Reference: Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy.
Liao M1, Cao E, Julius D, Cheng Y.
Nature. 2013 Dec 5;504(7478):107-12.
doi: 10.1038/nature12822.

7. カルモジュリンキナーゼ II による脳機能の制御 －不活性型ノックインマウスを通してわかること－

山肩葉子（生理学研究所・神経シグナル研究部門）

（2015.5.26）

Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II (カルモジュリンキナーゼ II) は，中枢神経系に豊富に存在するプロテインキナーゼの代表格であり, 脳機能の制御, 特にシナプス可塑性や学習・記憶といった高次脳機能の調節に関わる分子として，多くの注目を集めてきた。標的遺伝子組換え技術の脳機能解明への最初の応用例として, 1992 年にノックアウトマウスが作製されて以来, 様々な機能改変マウスが作製され，その生体内での役割がよ

り詳細に明らかになりつつある。本セミナーでは，歴史的な経緯も踏まえながら，私たちが作製した不活性型ノックインマウスの解析を中心に，どこまでのことがわかってきたのかを紹介する。また，生体レベルで分子の機能を解析するには，今後どのような方向を目指すべきなのかについても，考察したい。

8. Resting-state fMRI in monkeys: Neural correlates and alterations following focal stroke

Stefan Everling（Western University）

（2015.5.27）

Blood-oxygenation-level dependent (BOLD) based functional magnetic resonance imaging (fMRI) has revolutionized the way neuroscientists study the human brain. The technique allows large-scale functional mapping of cortical and subcortical brain areas during sensory, motor, and cognitive tasks. While task-based BOLD fMRI is tremendously successful in human brain studies, its application has been technically challenging in awake, behaving macaque monkeys, which have been used extensively as surrogates for human brain function in electrophysiological recording, pharmacological, lesion, and neuroanatomical studies for over 50 years.

Here I will present the results from several studies in which we have successfully utilized resting-state fMRI to investigate the organization of brain networks in macaque monkeys. Our results show that functional connectivity measures based on the low-frequency fluctuations of the BOLD signal are largely determined by the underlying anatomical architecture, but also display dynamic fluctuations that have been previously ignored. I will show that resting-state fMRI in nonhuman primates can be used for the investigation of the neural basis of resting-state fMRI and for monitoring functional connectivity changes following focal stroke.

9. 促通反復療法（川平法）の理論と治療成績，今後の展開

川平和美（前鹿児島大学医学部リハビリ講座教授）

（2015.6.11）

近年，脳損傷後に損傷を免れた神経細胞が損傷された神経細胞の役割を代行する脳の可塑性の存在が明らかにされ，この脳の可塑性を最大限に発揮させて，これまでにない機能回復を目指した新たなリハビリテーションの開発と治療成績の検証が進んでいる。

今回の講演では促通反復療法を中心に脳卒中による片麻痺の改善を目指す新たなリハビリテーションについて述べる。片麻痺への治療に多用されてきた従来の神経筋促通法(ボバース法，他)は長年の検討にも関わらず，通常の治療法に比べて大きな改善効果が認められないため，「脳卒中治療ガイドライン 2009」では積極的な推奨はなく，「Lancet のガイドライン 2011」では「ボバース法は推奨しない」とされている。これらの神経筋促通法は「片麻痺肢と躯幹の筋緊張の正常化や姿勢反射の異常の正常化が麻痺肢の随意性や巧緻性を回復するための前提である」との考え方に囚われ，片麻痺の原因となっている損傷された運動性下行路の再建・強化が不十分で麻痺の回復を促進できなかった。

運動を含めて全ての情報処理は機能分担する神経細胞や神経路が行っているが，この神経路の結合が増強するか，減弱するかは単純な原則に従っている。この結合強化はシナプス前細胞の興奮がシナプス後細胞に伝わることによって，シナプスの伝達効率の向上，シナプスの組織的結合強化の形で進行する。したがって，大脳から脊髄前角細胞への神経路を再建・強化して片麻痺の回復促進を図るためには，大脳ならびにその運動性下行路の興奮水準を調整して，患者が意図した運動を実現し，それを反復できる治療手法が必要である。

近い将来に実用化される神経系の再生医療が最大の効果を得るためには，運動だけでなく，感覚や連合野の情報処理を担う神経路に埋め込まれた神経細胞を組み込む必要があり，神経路レベルのリハビリテーション技術が

不可欠になろう。

促通反復療法は患者の意図した運動(個々の指の屈伸や道具使用，共同運動の分離や歩行パターンなど)の実現と反復によって，目標の神経路の再建・強化を行い，麻痺の大きな改善を得ている。それらの治療効果は無作為対照試験や比較対照試験，クロスオバーデザインなど検証され，これまでの治療法より優れていることが証明されている。

現在，我々は促通反復療法との併用療法(振動刺激痙縮抑制法，持続的電気刺激法，経頭蓋磁気刺激法，ボツリヌス療法)の治療成績の検証と促通反復療法を応用した促通機能付きロボットの開発を進めているが，神経路の再建・強化のメカニズムの解明が進み，より効果的な治療の確立が進めば再生医療や超高齢者の医療・福祉に大きく貢献できよう。

＜参考文献＞

1. 川平和美: 片麻痺回復のための運動療法，第 2 版，医学書院，2010
2. Shimodozono M, et al: Benefits of a repetitive facilitative exercise program for the upper paretic extremity after subacute stroke: A randomized controlled trial. Neurorehabil Neural Repair. 2013; 27(4): 296-305.
3. Etoh S, et al: Effects of repetitive trascranial magnetic stimulation on repetitive facilitation exercises of the hemiplegic hand in chronic stroke patients. J Rehabil Med. 2013; 45(9): 843-847. doi: 10.2340/16501977-1175.

10. コモンマーモセットにおけるハンドリングのポイントと体調不良個体への対応 マーモセット専用のレンタルラボ

鍵山謙介（日本クレア㈱中動物事業部）

（2015.6.24）

マーモセット講演

11. 超高磁場 MRI でみる脳の微細構造と機能

福永雅喜（生理学研究所 心理生理学研究部門）

（2015.6.24）

MRI による生体構造の観察は，空間分解能と信号雑音比 (SNR) とともに, 組織パラメータである緩和時間およびコントラストに依存する。一方, 静磁場強度の上昇は, SNR の上昇に加え，位相の分散やシフトを促進する。超高磁場 MRI では，これらに鋭敏な測定手法を選択することで，優れた組織のコントラストノイズ比 (CNR) が得られ，従来困難であった皮質層構造など脳微細構造の描出も可能となる。本セミナーでは，7T MRI によるヒトおよび 11.7T MRI による齧歯類の脳 MRI を，その使用経験も含め紹介したい。

12. Behind the blue door: use of blue colours to understand the physiology of primitive visual pathways

Paul R. Martin（University of Sydney）

（2015.7.1）

The seminar concerns the parallel organisation of visual pathway in primates. The main thalamic target of retinal ganglion cell axons is the dorsal lateral geniculate nucleus (LGN). In primates the ganglion cell axons are segregated into target LGN layers called parvocellular, magnocellular and koniocellular. It was once thought that signals for color vision

travel exclusively on the parvocellular pathway, but experiments from our and other laboratories showed that many koniocellular cells in marmoset monkeys show "blue-yellow" color sensitivity. I will summarise these experiments, then show how we used color selectivity as a doorway through which other functional properties of koniocellular pathways in marmosets could be explored. We found koniocellular cells interact with brain circuits regulating attention and alertness, and that some koniocellular cells show properties (orientation sensitivity, binocular integration) previously thought first elaborated at the primary visual cortex. The broad hypothesis arising from the results is that koniocellular pathways could support some low-acuity visual functions independent of the "textbook" feed-forward pathways to primary visual cortex.

13. Design protein molecules from scratch

Nobuyasu Koga（NINS, IMS, CIMoS）

（2015.7.3）

Protein molecules fold into unique tertiary structures specified by their amino acid sequences from random coils, and then exert functions based on the folded structures. Many naturally occurring protein structures have been determined for understanding principles for folding and functions. However, long evolutional histories of naturally occurring proteins prevent us to uncover the principles. Designing protein molecules from scratch provides us opportunities to explore the principles: hypothesis on folding and functions can be evaluated by computationally designing proteins and experimentally assessing how they behave. We carried out a study of designing ideal protein structures, which are completely optimized for folding, to investigate how they fold into unique tertiary structures. We discovered a set of rules relating secondary structure patterns to protein tertiary motifs, which make possible the design of strongly funneled protein folding energy landscapes. Guided by these rules, we computationally designed sequences predicted to fold into ideal protein structures consisting of alpha helices, beta strands, and minimal loops.

Designs for various topologies were found to be monomeric, very stable, and adopt structures in solution nearly identical to the computational models.

These results illuminate how proteins fold into unique tertiary structures.

14. Properties of microglia

Helmut Kettenmann（Max-Delbruck-Center for Molecular Medicine）

（2015.7.8）

Kettenmann 教授は７月９－１０日に行われます新学術領域「グリアアセンブリ」のワークショップで講演するために来所されるのですが，これを機会に研究所でもセミナーをしてくださいます。Kettenmann 教授はグリア研究の大御所で, 雑誌 Glia の創刊, Euroglia meeting の開始, グリアの教科書的な本 Neuroglia の編集, など世界のグリア研究をリードされている方です。

今回のセミナーでは“Properties of microglia”というタイトルで，近年注目されているミクログリア全般の話から Kettenmann 教授の最新の知見まで話していただきます。グリア研究をされていない方に対してもわかりやすくお話してくださいますので是非ご参集ください。

15. Pharmaceutical Drug Discovery and Development : Opportunities for Biodiversity ?

Michael-Robin（Gabather AB）

（2015.7.9）

The presentation will review the key elements of the drug discovery and development process of small molecules in the pharmaceutical industry as well as highlight critical issues regarding this process. The role of natural products in drug discovery, with particular emphasis in the indication area oncology as well as the relevance of the maintenance of molecular biodiversity will be discussed.

The presentation is of general character and addresses both graduate and undergraduate students as well as an interested general public.

16. 細胞内物流システムの時空間的制御

大谷哲久（理化学研究所多細胞システム形成研究センター形態形成シグナル研究チーム）

（2015.7.13）

細胞は区画化されており，それぞれの区画に必要な物質を正しく輸送する事は細胞の生理機能を維持する上で重要である。細胞内物流システムは神経細胞や上皮細胞などの極性化細胞の機能的分化において重要な役割を担っており，極性をもって配向された微小管とその上を走るモータータンパク質の働きによって細胞内のそれぞれの区画に積荷が正しく送り届けられると考えられている。微小管プラス端に向かうモーターであるキネシンはモーターの種類を多様化させることによって様々な積荷に対応している。しかしながら，微小管マイナス端に向かう主要な分子モーターである細胞質ダイニンにはこのような多様性は認められず，細胞質ダイニンがどのようにして積荷や目的地の多様性に対応しているのかは十分に理解されていない。

私は，単一細胞の伸長によって形成され，細胞質ダイニンによる輸送が先端部に向かう特性を持つショウジョウバエの剛毛細胞に着目し，細胞質ダイニンによる輸送の調節機構を研究してきた。その結果，剛毛細胞の先端部には様々な積荷が輸送されてくるが，先端部に到着した後の積荷の運命には多様性がある事を見いだした。クチクラ成分の輸送に関わる低分子量 GTPase である Rab11 によって標識される小胞は，先端部に到着した後に速やかに細胞体へと送り返されていたのに対し，細胞伸長の司令塔の役割を果たすリン酸化酵素である IKKε とアダプタータンパク質 Spindle-F の複合体は，先端部に到着した後に安定的にそこに係留された。さらに，それぞれの輸送様式の分子機構を検討した結果，積荷の運命の決定には細胞質ダイニンと積荷とを繋ぐアダプタータンパク質の特異的な認識が重要であることが明らかとなった。これらの結果から，剛毛細胞の先端部が細胞質ダイニンの積荷の仕分け基地として働いており，アダプタータンパク質が積荷の輸送運命の決定において中心的な役割を担っていると考えられる。

17. Illuminating signal transduction in single dendritic spines

Ryohei Yasuda（Scientific Director, Max Planck Florida Institute, USA）

（2015.7.24）

In the central nervous system, most excitatory synapses terminate on dendritic spines, tiny (~0.1 femtoliter) protrusions emanating from the dendritic surface. Calcium influx into spines activates signaling networks composed of tens of species of molecules to induce diverse forms of synaptic plasticity, which is thought to underlie learning and memory. Although many of the molecules required for synaptic plasticity have been identified, signaling mechanisms by which calcium dynamics are decoded and translated into specific cell responses are unknown. To further our understanding of signaling

mechanisms underlying synaptic plasticity, we have developed a technique to monitor signaling activity in single dendritic spines in light scattering brain slices using 2-photon fluorescence lifetime imaging (2pFLIM) in combination with new FRET sensor extensively optimized for 2pFLIM. Further, combining this technique with 2-photon glutamate uncaging greatly allowed us to image signaling activity while inducing plasticity in single dendritic spines. Using these techniques, we succeeded in monitoring activity of signaling proteins CaMKII, Ras, Rac, RhoA, Cdc42, PKC, ERK and TrkB during synaptic potentiation and associated spine enlargement induced at a single spine. Our results indicated that signaling are transmitted in multiple steps: first, short Ca2+ elevation (~0.1 s) is integrated by CaMKII which decays over ~5 s. This signal is further relayed by slower small GTPase proteins Ras, Rac, RhoA and Cdc42, which decays over 10-30 min. Interestingly, stimulation of a single spine causes BDNF release from the stimulated spine and activates TrkB (BDNF receptor) on the same spine in an autocrine manner. Furthermore, this autocrine TrkB activation regulates activation of Rho GTPase proteins Rac and Cdc42 in the spine. Overall, the signal imaging techniques provide new insights into the spatiotemporal organization of biochemical computation in dendritic spines and surrounding area during synaptic plasticity.

18. Sensing Our Way to Motor Recovery

Aya Takeoka（University of Basel, Switzerland）

（2015.7.24）

Spinal cord injuries alter motor function by disconnecting neural circuits above and below the lesion, rendering sensory inputs a primary source of direct external excitatory drive to neuronal networks caudal to the injury. Here, we studied mice lacking functional muscle spindle feedback to determine the role of this sensory channel in gait control and locomotor recovery after spinal cord injury. High-resolution kinematic analysis of intact mutant mice revealed proficient execution in basic locomotor tasks but poor performance in a precision task. After lateral hemisection injury, wild-type mice spontaneously recovered basic locomotor function, whereas mice with deficient muscle spindle feedback failed to regain control over the ipsi-lesional hindlimb. Virus-mediated tracing demonstrated that mutant mice exhibit defective rearrangements of descending circuits projecting to deprived spinal segments during recovery. Our findings reveal an essential role for muscle spindle feedback in directing basic locomotor recovery and facilitating descending circuit reorganization after spinal cord injury.

19. 膜電位感受性 Na+チャネルの機能・構造連関研究

下村拓史（生理学研究所・神経機能素子研究部門）

（2015.7.27）

膜電位感受性 Na+チャネルは神経における活動電位の伝導を担う分子であり，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。高等動物のNa+チャネルは24本もの膜貫通ヘリックスを持つ巨大な膜タンパク質である。一方，原核生物由来の Na+チャネルは 6 回膜貫通型というより単純な構造をしていること，またすでに結晶構造が解明されていることから，機能・構造解析のモデルとして適している。

本セミナーでは，原核生物 Na+チャネルの立体構造，活性制御メカニズム，局所麻酔剤の作用などについて，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明らかにしてきたこれまでの結果を紹介する。また，高等動物の Na+チャネルにおいて，より複雑な分子構造が要求された理由を明らかにするため，現在検討している手法・戦略についても議論したい。

20. How do hibernators deal with temperature extremes?

Elena Gracheva（Yale University）

（2015.7.27）

Animals that tune their temperature sensitivity to the extreme provide unique model systems for dissecting molecular mechanism(s) by which thermosensory pathways adapt to environmental conditions. Mammalian hibernation is a fascinating phenomenon characterized by prolonged alternating periods of hypothermia (core body temperature drops from 37C to 2-4C) associated with unusual resistance of tissues to cold. The same environmental conditions are poorly tolerated by non-hibernating species. Humans and mice, for example, perceive cold as painful once ambient temperature drops below 15C. During hibernation, animals undergo repetitive cycles of torpor and arousal, accompanied by dramatic changes in core body temperature. Small obligate mammalian hibernators, such as the thirteen-lined ground squirrel (Ictidomys tridecemlineatus) can warm up their body from 2 to 37C within less than 2 hours, by employing shivering and non-shivering thermogenesis in muscular and brown adipose tissues, respectively. Remarkably, torpid animals retain some level of nervous system function, even as metabolic rates drop to 1 percent of euthermic levels and core body temperature approaches freezing. In addition to cold tolerance, thirteen-lined ground squirrels exhibit tolerance to heat. For example, thirteen-lined ground squirrels can raise their body temperature as high as 40-42C without showing signs of discomfort or distress. This phenomenon is referred to as extreme thermogenesis. Together with cold tolerance, extreme thermogenesis further highlights the unique adaptability of the thermoregulatory system of hibernators. Despite the robustness of these phenomena, fundamental questions about their cellular and molecular basis remain unanswered. We combined deep sequencing and differential transcriptomics paired with histological, biochemical, functional, and behavioral studies to understand cold and heat adaptations at the molecular, cellular and organismal levels. We already identified several strategies that hibernators use to support unique lifestyle.

21. Vision and eye movements

Karl Gegenfurtner（Justus-Liebig-University）

（2015.8.3）

The existence of a central fovea, the small retinal region with high analytical performance, is arguably the most prominent design feature of the primate visual system. This centralization comes along with the corresponding capability to move the eyes to reposition the fovea continuously. Past research on perception was mainly concerned with foveal vision while the eyes were stationary. Research on the role of eye movements in visual perception emphasized their negative aspects, for example the active suppression of vision before and during the execution of saccades. But is the only benefit of our precise eye movement system to provide high acuity of small regions at the cost of retinal blur during their execution? In my talk I will compare human visual perception with and without eye movements to emphasize different aspects and functions of eye movements. I will argue that our visual system has evolved to optimize the interaction between perception and the active sampling of information.

For orientation and interaction in our environment we tend to make repeated fixations within a single object or, when the object moves, we track it for extended periods of time. When our eyes are fixating a stationary target, we can perceive and later memorize even complex natural images at presentation durations of only 100 ms. This is about a third of a typical fixation duration. Our motion system is able to obtain an excellent estimate of the speed and direction of moving objects within a similar time frame. What is then the added benefit of moving our eyes?

Recently we have shown that lightness judgments are

significantly determined by where on an object we fixate. When we look at regions that are darker due to illumination effects, the whole uniformly colored object appears darker, and vice versa for brighter regions. Under free viewing conditions, fixations are not chosen randomly. Observers prefer those points that are maximally informative about the object's lightness.

For pursuit eye movements, we have shown that our sensitivity to visual stimuli is dynamically adjusted when pursuit is initiated. As a consequence of these adjustments, colored stimuli are actually seen better during pursuit than during fixation and small changes in the speed and direction of the object are more easily detected, enabling a better tracking of moving objects. Pursuit itself increases our ability to predict the future path of motion lending empirical support to the widespread belief that in sports it's a good idea to keep your eyes on the ball.

These results demonstrate that the movements of our eyes and visual information uptake are intricately intertwined. The two processes interact to enable an optimal vision of the world, one that we cannot fully grasp while fixating a small spot on a display.

22. マイクロ RNA によるがん細胞特異的エネルギー代謝（Warburg 効果）の脱制御

赤尾幸博（岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 創薬科学専攻）

（2015.8.10）

① 現在，癌に対して様々な分子標的治療薬が臨床で使用されているが，単一の分子を標的とする治療はその標的が driver mutant であっても必然的に代償性機構（point mutation も含む）を促進させ，耐性を誘導する。そこで我々は，がんの代謝という，がんの生存機構全体を標的とすることで治療効果の増強と特異性を可能にできないかと考えている。我々はマイクロ RNA の研究からがん代謝機構（ワーバーグ効果）を調節する重要な microRNAs 及び標的分子 PTB1 を同定した。その機構について解説する。

② がん細胞に特異的にアポトーシスを誘導する TRAIL-リセプター系はサイトカイン療法として有望であるが耐性の問題が大きな課題となっている。我々は耐性の機構を明らかにし，さらに sensitizer としてキサントン誘導体を見出した。

23. MRI によるヒト脳マッピングの形成メカニズムの研究

松尾香弥子（浜松医科大学精神医学講座こころの予防医学研究センター）

（2015.8.27）

脳の構造と機能には一定の対応関係が認められるが，その形成メカニズムについてはほとんどわかっていない。そこで，本セミナーでは，これまでに私が取り組んできた，ヒト脳マッピングの形成原理，特に言語側性化に関する MRI 研究について述べる。

白質神経線維の観察には拡散テンソル法（DTI）が一般的だが，言語入力に必須である聴放線などの微細神経の評価には拡散スペクトラム法（DSI）が優れている。この DSI と灰白質の構造解析および fMRI とを組み合わせて，統合失調症の幻聴の病態解明に取り組んでいるので研究経過を紹介したい。また言語機能の左右差（側性化）は fMRI で評価されるが，従来の側性化指標計算法には閾値設定などに課題があった。そこでそれらを解決し，閾値を設定しない指標を開発してウェブ（http://aveli.web.fc2.com/）に公開した。この新しい指標を使って統合失調症患者を調べたところ，「言語左側性化の減少」が確認された。これは発達障害や高齢者などにも見られる現象である。今後は視覚野など他の機能部位の形成をも含め，ヒト脳マッピングの仕組みの解明に貢献したい。これには言語右半球優位者を含む多様なデータ収集が必要であり，そのためのコホート MRI を提案したい。

24. 主観的価値や味覚の質の脳内表象の探索

近添淳一（コーネル大学人間神経科学研究所情動認知研究室）

（2015.8.27）

外界の情報は脳内で多元的に表現（表象）されている。例えば，初期視覚野では傾きなどの視覚的特徴，側頭葉など高次視覚野では統合された対象（例：顔や椅子の視覚イメージ）など，脳内表象は脳領域によって異なる様式をとる。近年の解析技術の進歩により，functional MRI などの非侵襲的手法により得られた脳機能画像から，表象内容の情報を読み取ることが可能になった。本講演では，脳内表象の解析に特化した，多ボクセルパターン解析の一種である「表象類似度解析」を解説する。この手法を用いれば，脳内および行動レベルで観察される表象内容相互の関係から，表象の構造とそれに関連する脳領域を特定することができる。

今回は，この手法を視覚刺激実験および味覚刺激実験遂行中の脳機能画像データに適用し，得られた知見を紹介する。具体的には，感覚モダリティ依存性または非依存性の価値表象の存在，前頭眼窩皮質における価値表象構造の被験者間での普遍性，甘味や苦味などの味覚の質の表象の島皮質内での統合などについてお話しする。また，今後の方向性として，より一般的な視点からの脳機能画像法の臨床応用の可能性についてもお話ししたい。

25. 報酬，意思決定情報を眼の小さな揺らぎから読み取る

小林　康（大阪大学大学院・生命機能研究科・脳神経工学講座・視覚神経科学研究室）

（2015.8.28）

「視野内のある一点を見つめているときでさえ，われわれの眼球は止まることなく，常に小さく揺らいでいます。この小さな揺らぎは「固視微動」と呼ばれ，われわれの意思とは無関係に起こると思われていました。わたしたちは最近固視微動の頻度が視覚情報の変化，随意的な眼球運動意思，報酬予測によってダイナミックに変化することを発見しました。この研究より，固視微動の計測によって認知過程，意思決定，報酬予測などの脳の状態を読み取れる可能性が出てきました。

26. 神経突起形成における膜タンパク sez-6 の N 型糖鎖機能の解析について

日高千晴（群馬大学大学院・保健学研究科）

（2015.9.2）

一回膜貫通型の膜タンパク質で細胞外ドメイン上に 11 個の N 型糖鎖修飾サイトを持つ糖タンパクである Seizure-related gene 6 (sez-6)は神経の過剰興奮を誘発することにより mRNA の発現が上昇し，大脳皮質や海馬に置いて高い発現が見られる。特に生後一週間に高い発現を示し，sez-6 の欠損は樹状突起の分岐やシナプス形成に影響を与えることが知られている。

脳内の膜タンパク質の多くは N 型糖鎖修飾を受けており，機能発現に糖鎖が重要な働きをすることが近年明らかになりつつある。従って sez-6 の機能発現においても糖鎖が何らかの役割を担っていることが推測されるが，sez-6 の糖鎖修飾についての報告は今のところ知られていない。そこで sez-6 の N 型糖鎖の役割について検討した。

本研究では，11 個の N 型糖鎖修飾サイトを 3 つのクラスター(SC1-3, SC4-7,SC8-11)に分け，部分的に欠損させた 7 つの sez-6 変異体を作製し，それらを Neuro2a に遺伝子導入し発現させ機能発現における糖鎖の影響を解析した。結果，未成熟型糖鎖修飾を受けた sez-6 変異体は成熟型と同様に細胞膜上までは輸送されることが出来るが，細胞膜全体に局在する能力を失っていた。また変異体の中で成熟型糖鎖修飾を受け，局在は野生型と同様であったにも関わらず糖鎖を部分的に欠損させた sez-6 変異体は糖

鎖の部分欠損により突起形成機能に影響をあたえることも明らかとなった。特に SC4-7 クラスターを欠損した sez-6 変異体はフィロポディア新生が促進されなくなっていた。今回の結果は sez-6 上の N 型糖鎖が sez-6 の分布や機能発現に必要であることを示唆する。また突起形成能においては CUB ドメイン上の N 型糖鎖修飾が必要であることが推測される。

27. Behavioral consequences of dysmyelination

Wendy Macklin（University of Colorado）

（2015.9.7）

Wendy B. Macklin, Elizabeth Gould, Diego Restrepo Department of Cell and Developmental Biology, University of Colorado School of Medicine.

Myelin is required for proper nerve conduction and has an important role in normal neuronal function. Polymorphisms in myelin genes are associated with neurologic and psychiatric diseases. However, little is known about the neuronal and behavioral consequences of myelin disruption and the role of myelin genes in pathology. To address the contribution of myelin function to behavioral and cognitive deficits, we investigated behavior in the proteolipid protein (PLP)-null mouse. These mice generate myelin but they exhibit progressive myelin dysfunction and subsequent axonal degeneration. We tested 3 and 8 month-old PLP knockout PLP(-/Y) male mice in several behavioral tests. No motor deficits were observed in 3 and 8 month old PLP(-/Y) mice on the Rotarod, a classical test of motor function. In an open field test, 8 month PLP(-/Y) mice spent less time in the center of the open field, while exploration of the walls was increased. PLP(-/Y) mice had decreased motivation to bury marbles in the marble burying task, in which the number of marbles buried in 10 minutes is quantified. This is an instinctive behavior, but 3 month PLP(-/Y) mice buried fewer marbles and by 8 months they buried almost none. Their performance on the Y maze, a test of spatial memory and hippocampal function, was normal at both ages. However, their behavior in the Puzzle Box, a test of problem-solving and executive function, suggested deficits in problem solving. The Puzzle Box involves moving from a lighted box into a darkened goal box. The entry to the goal box becomes increasingly difficult, initially by covering it, then putting sawdust into it and finally covering the sawdust-filled entry. The 3 and 8 month PLP(-/Y) mice displayed cognitive deficits evidenced by longer latency to reach the goal box when presented with the new challenges. Intriguingly, 3 and 8 month PLP(-/Y) mice exhibit a significant increase in immobility and a lack of coordinated swimming behavior when placed in water. We are currently investigating why there is a swimming deficit in PLP(-/Y) mice. These behavioral results indicate that myelin dysfunction prior to significant axonal degeneration results in targeted behavioral deficits and cognitive dysfunction. Ongoing investigation aims at refining the characterization of these deficits and linking them to structural alteration of myelin in specific areas of the brain. Supported by NS25304.

28. 見えない形の見える化の試み： グリア細胞の形態計測解析による ALS の病態形成メカニズムへの新規アプローチ

大篭友博（九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野）

（2015.9.10）

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の病態形成には，初期においては軸索輸送障害などによる神経細胞自律的変性が，後期においては神経細胞非自律的変性が関わっていることが示されているが，グリア細胞の病初期の関与については不明な点が多い。

(1) ALS のモデルマウスの一つである SOD1G93A マウス

を用いて，脊髄ミクログリアの 3 次元再構築と，多変量形態計測データに基づくクラスター解析を行った。これにより，ALS の病初期のミクログリアは，既知の静止・活性型サブタイプと異なる独自の形態学的特徴を有することを見出した。また，このサブタイプは，リポポリサッカライドの投与では誘導されず，薬理学的に軸索輸送を阻害した場合にのみ誘導された。これらから，ALS の病初期には，軸索輸送障害に伴って生じるミクログリアの新規サブタイプが関わる未知の病態形成メカニズムが存在する可能性が示唆された。

(2) 病初期の SOD1G93A マウス脊髄前角運動ニューロンの細胞体周辺微小環境を，蛍光四重ラインプロファイル解析により評価した。事前の予想とは異なり，ALS の病初期においては，細胞体へのシナプス前終末・アストロサイト・ミクログリアのコンタクトレベルは変化しないという結果を得た。一方で，病初期の運動ニューロンの細胞体シナプス前終末の分子プロファイル解析により，グルタミン酸過活動を示唆する所見を見出しており，ALS の新たな病態形成メカニズムの同定につながる可能性がある。

29. Early life experience change dendrite patterning and neuronal connectivity

下郡智美（理研 BSI）

（2015.9.15）

There are many evidences that experience changes neuronal circuit to make stronger connection or remove unnecessary connection to avoid mis-wiring. However, how exactly neuronal activity refines neuronal circuit is largely unknown. I will introduce our recent findings, which is about detailed molecular mechanism of neuronal input dependent dendrite patterning in mammalian cerebral cortex. In our previous study, we showed BTB domain containing protein (BTBD3) plays important role to change dendrite orientation toward higher neuronal input. We also showed that function of BTBD3 is conserved in mouse somatosensory cortex and ferret visual cortex. We have further revealed partner molecule for BTBD3 to respond to neuronal activity and remove excess dendrite. Knock out mouse of BTBD3 partner molecule showed aberrant dendrite pruning activity. Lack of BTBD3 biding domain also showed altered dendrite pruning activity in mouse somatosensory cortex. Finally we revealed that the molecular pathway is conserved in ferret visual cortex to control visual input dependent dendrite patterning in ocular dominance column. Taken together, the results implicate discrete molecular mechanisms for high-resolution sensory function.

30. ２光子イメージングによる神経細胞集団の活動から見る上丘浅層の側方抑制機構

笠井昌俊（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門）

（2015.9.17）

上丘は，視野内の対象物への素早い視線の移動 (saccade) をおこなうための，視覚－運動情報変換をつかさどる神経核である。これまでの電気生理学的手法をもちいた研究により，上丘浅層のニューロンで側方抑制の影響が知られており，これにより，複雑な視覚対象から saccade の対象となる対象物を選び出していると考えられている。しかしどのような回路機構によって側方抑制が作られているかについては不明な点が多い。本研究では，２光子顕微鏡による in vivo カルシウムイメージング法をもちいて，上丘浅層における側方抑制が集団レベルでどのように表現されているかを解析した。さらに，抑制性細胞の活動パタンの解析から，上丘浅層における側方抑制には long-range の抑制メカニズムが重要であることが示唆された。

31. LGI:ADAM interactions in myelination and synapse formation

Dies Meijer（University of Edinburgh, Centre for Neuroregeneration）

（2015.9.18）

Dynamic interactions between neuronal cells determine key morphological and functional properties of the nervous system during ontogeny and adult life. This is perhaps most profoundly illustrated by the elaboration of the myelin sheet that surrounds many axons and by the assembly and dynamics of the neuronal synapse. Members of the neuronal ADAM receptor family and their extracellular ligands, the LGI proteins, play critical, but as yet poorly understood roles in these dynamic interactions. ADAM and LGI proteins have been associated with tumorigenesis, hereditary forms of epilepsy, limbic encephalitis and amyelination. These diverse neurological diseases are not only a reflection of distinct expression patterns of the individual ADAM and LGI proteins but also reflect functional differences between these proteins.

We use myelination of peripheral nerves and formation of the pinceau synapse in the cerebellum as experimental systems to study the role of LGI and ADAM proteins in different cellular interactions and gain insight into common and distinct mechanisms of their action. I will present our recent work on LGI2 and LGI4 and their ADAM receptors and discuss their role in potassium channel clustering and myelination.

32. HTR7 Mediates Serotonergic Acute and Chronic Itch

Takeshi Morita（UC Berkeley, MCB and Hellen wills neuroscience institute Dr. Diana Bautista lab）

（2015.10.6）

Chronic itch is a prevalent and debilitating condition for which few effective therapies are available. We harnessed the natural variation across genetically distinct mouse strains to identify transcripts co-regulated with itch behavior. This survey led to the discovery of the serotonin receptor HTR7 as a key mediator of serotonergic itch. Activation of HTR7 promoted opening of the ion channel TRPA1, which in turn triggered itch behaviors. In addition, acute itch triggered by serotonin or a selective serotonin reuptake inhibitor required both HTR7 and TRPA1.

Aberrant serotonin signaling has long been linked to a variety of human chronic itch conditions, including atopic dermatitis. In a mouse model of atopic dermatitis, mice lacking HTR7 or TRPA1 displayed reduced scratching and skin lesion severity. These data highlight a role for HTR7 in acute and chronic itch and suggest that HTR7 antagonists may be useful for treating a variety of pathological itch conditions.

33. Toward a second-person neuroscience

Leonhard Schilbach (Max-Planck Institute of Psychiatry)
Bert Timmermans (School of Psychology, King's College Aberdeen)

（2015.10.14）

In spite of the remarkable progress made in the burgeoning field of social neuroscience, the neural mechanisms that underlie social encounters are only beginning to be studied and could – paradoxically – be seen as representing the “dark matter” of social neuroscience. Recent conceptual and empirical developments consistently indicate the need for investigations that allow the study of real-time social encounters in a truly interactive manner. This suggestion is based on the premise that social cognition is fundamentally different when we are in interaction with others rather than merely observing

them. In this article, we outline the theoretical conception of a second-person approach to other minds and review evidence from neuroimaging, psychophysiological studies, and related fields to argue for the development of a second-person neuroscience, which will help neuroscience to really “go social”; this may also be relevant for our understanding of psychiatric disorders construed as disorders of social cognition.

34. The Small World in Big Visual Data

西野　恒（Associate Professor, Department of Computer Science, Drexel University）

（2015.10.15）

We now live in an era of big data especially of big visual data consisting of photos and videos. Although the quantity of visual data speaks itself by lending hands for novel approaches to long standing computer vision problems (e.g., enabling the success of deep learning for object recognition), we must not forget that we live in a well-structured physical world. Our world has structures in its geometry, appearance, motion, the way these vary and so on. We are merely capturing a slice of these innate structures as an image or as a video. My research goal is to fully exploit such inherent structures induced by the actual physical world on the images and videos at hand to make more effective interpretations of them. In other words, I want to unveil and tap into the tight, small world, in the otherwise big bloated, visual data. In this talk, I will draw examples from my past and current research, particularly on your eyes, crowds, and materials, to provide a better insight into what I strive for in research.

35. 視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構

岡本士毅（生理学研究所 生殖・内分泌系発達機構研究部門）

（2015.10.19）

AMP キナーゼ（AMPK）は，細胞内エネルギーレベルの低下などによって活性化し，糖，脂質，蛋白質代謝を制御して ATP レベルを回復させる。視床下部 AMPK は，摂食調節に関与し，絶食させると室傍核（PVH）など視床下部神経核において AMPK 活性が高まる。

マウスを絶食後に再摂食させると，高脂肪食ではなく高炭水化物食を多く選択，摂取することを見出した。また，この変化が AMPK に対する shRNA を PVH に発現させると消失する事を見出した。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炭水化物食を選択，摂取した。この食物選択行動は，PVH に存在する数種類のニューロペプチドの中で，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観察された。Cre 選択的 DREADD 発現系を用いて CRH ニューロンを選択的に活性化することによっても，高炭水化物食の選択が有意に増加することを確認した。さらに活性化の指標である AMPK のリン酸化（Thr172）が，PVH における一部の CRH ニューロンにおいて絶食時に亢進することも確認した。そこで, CRH ニューロン選択的に AMPK を活性化させると，絶食時と同様に高炭水化物食の選択が有意に増加し，逆に AMPK に対する shRNA を CRH ニューロン特異的に発現させると消失した。

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 を介して炭水化物食と脂肪食の選択行動を制御することを明らかにした。絶食後の再摂食において炭水化物食を選択する行動は，マウス個体，あるいは脳の糖代謝を速やかに改善するための恒常性維持機構の一つと考えられる。

36. マウス嗅神経細胞における光活性型カルシウムチャネルの発現

佐藤幸治（生理学研究所 生体制御シグナル研究部門）

（2015.11.10）

嗅覚や味覚などの化学感覚系では，種ごとに多様化した受容体やシグナル伝達関連分子が機能しており，外界の化学物質認識に寄与している。脊椎動物の匂い応答では，細胞内に流入したカルシウムはイオンチャネルのネガティブフィードバックによる脱感作や，クロライドチャネルの活性化による応答増幅，転写因子の核移行など様々な細胞生理機能に関わっている。我々は細胞内カルシウム濃度を自在に制御し，その細胞機能を解析するために，カルシウムチャネルを活性化する光スイッチ（BACCS）を開発した。BACCS は光受容部に LOV ドメインを用い，光刺激により Orai1 チャネルを特異的に活性化できるようにデザインした。Orai1 はユビキタスなチャネルであり, BACCS は様々な動物種から作製することができる。BACCS を発現した細胞では，光刺激によりカルシウム流入が生じ，遺伝子発現などのカルシウムが関与する細胞機能が活性化される。我々は，匂い応答における細胞内カルシウムの役割について検討するため，このチャネルをマウス嗅神経細胞特異的に発現させた。本講演では BACCS を発現したマウス嗅上皮表面における，光刺激による細胞外電位変化について発表する。また最近，光受容部に CRY2 を用いたツールも発表され（Kyung et al., Nat. Biotech. AOP），その比較も試みる予定である。

37. 小胞輸送の特異性を決定する分子メカニズムの解明

小池誠一（Max Planck Institute for Biophysical chemistry, Neurobiology）

（2015.11.11）

細胞内のオルガネラ間では輸送小胞を介した物質や情報のやり取りがさかんに行われている。では，これらの小胞はどのように目的のオルガネラまで正しく送り届けられるのだろうか？それぞれの小胞膜上に「宛先」として働く分子があると考えられているが，これまで，実際にどの分子が「宛先」として機能しているのかはっきりしていなかった。そこで，私たちは，「宛先」の候補分子を発現させることで輸送小胞に見立てたプロテオリポソームを生細胞内に導入し, それらの挙動を追うことで，小胞輸送の特異性を決めるメカニズムの解明を試みている。本セミナーではこれまでに得られた結果を紹介したい。

38. Clinical and cognitive neuroscience research using 3T and 7T MRI.

Ravi S. Menon（ウェスタンオンタリオ大学）

（2015.11.20）

Modern day clinical scanners operating at 3T and 7T have the potential to translate the results from group studies to practical application in single subjects. This is particularly true in neuroimaging. I will review some potential applications from 3T and 7T. I will show how fMRI and DTI can be used to identify developmental deficits in neonatal populations that have suffered perinatal trauma as well as how DTI and resting state fMRI can be used to predict recovery in cerebral palsy. In other examples, I will demonstrate how patient diagnosis in epilepsy and multiple sclerosis could be altered through the use of 7T.

39. 細胞を操る合成化合物

上杉志成（京都大学 物質-細胞統合システム拠点 副拠点長・教授）

（2015.12.12）

人間の歴史の中で，生理活性小分子化合物は医薬品，農薬，基礎生物学研究のツールとして利用されてきました。今回の講演では，基礎生物学ツールの紹介に加えて，生理活性化合物の第４の利用法として，細胞治療を助ける小分子化合物を紹介します。これまでの古典的な医薬品の枠にとらわれなければ，化合物にはさまざまな可能性や未来が想像できます。新しいサイズ，新しいカタチ，新しい作用メカニズムなどを考えれば，化合物の新しい使い方や未来が垣間見えます。

40. Relationships of us aerobic living organisms with O2 are more delicate than we think

森　泰生（京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻 生物化学講座 分子生物化学分野）

（2015.12.12）

O2 is essential for aerobic organisms. While this characterization for O2 appears almighty in biology, it is not enough to describe delicate significance of O2 in vivo. When O2 is highly required to elicit metabolic activity through ATP productio n in cells and organs, it is very true that their survival is easily endangered by disruption of O2 supply (hypoxia). Howe ver, recently, evidence has been accumulated that hypoxia can support certain states of cells and organs. In addition, if s urplus O2 is provided to cells and organs in the body (hyperoxia), it leads to the production of reactive species responsibl e for oxidative stress that influences and often dysregulates downstream cellular signals. Today, I would like to introduce some of our works on TRP channels that act as sensors for O2 and reactive oxygen species and also as actuators to initiate downstream electrical/chemical signals, and discuss about how ‘appropriate’ levels of O2 are attained via TRP channels.

41. Phenomenology, Camouflage and Emergent Neuronal Mechanisms

Lothar Spillmann（National Taiwan University）

（2015.12.14）

It is generally assumed that the visual system represents stimulus features veridically to enable us to get around in the visual world.

This is called naïve realism. However, the physical stimulus cannot always explain the phenomenology of what we see. Just think of visual illusions. Here we see what is not there. Also, many stimuli are ambiguous and yet we see only one percept. The fact that percepts cannot be fully accounted for by knowledge of the stimulus is called the inverse optics problem. Nevertheless, we see sufficiently well in order to navigate, find food, and escape danger.

The Gestaltists were well aware of these achievements and assigned visual perception an active role in parsing the visual input. Their approach is best captured by Koffka’s question: Why do we see the way we do and not differently? Furthermore: What is it that phenomenology is trying to tell us? Can we deduce the structural factors that govern figure-ground organization and grouping from simple observations?

Numerous examples suggest that our perception is structured by inherent “laws” that are responsible for the way in which scenes are segmented, figures are segregated on the ground, and stimuli are grouped. These laws of seeing (Metzger) are the so-called Gestalt factors of closure, smooth continuation, proximity, symmetry, and similarity under the overarching

principle of good Gestalt or Praegnanz. The strongest factor is the factor of common fate (i.e., coherent motion) that governs grouping in moving stimuli. All these factors were shown to be effective both in adults and children, although to different extents, and also in many species of animals. They are assumed to be largely innate and are considered laws of nature.

While the Gestalt factors enable us to see, they are equally suited for disguising, for example, in camouflage. Powerful measures for hiding an object from perception are tearing up the uniformity of its surfaces, wrongly partitioning it and breaking up the borders through inappropriate continuations. The universality of the Gestalt laws in man and nonhuman species implies that the visual brains of such species are similar to ours. Today's neuroscience aims at finding neuronal correlates and mechanisms for the descriptive categories of the Gestaltists. The talk will discuss the emergent role of such mechanisms for the perception of border ownership, collinear grouping, completion of contours, filling-in of the blind spot, and binding of coherently moving patterns.

Literature

Spillmann, L. and Ehrenstein, W.: Gestalt factors in the visual neurosciences. In: Chalupa, L. and Werner, J.S. (Eds.): The Visual Neurosciences (pp. 1573-1589). MIT-Press, Cambridge, MA 2004

42. 各種ストレスに対する心臓の適応および不全メカニズムにおける TRPC3 チャネルの役割

冨田拓郎（生理学研究所 心循環シグナル研究部門）

（2015.12.18）

多くの体細胞において環境変化に対する応答・適応はその生存に必須であり，“増殖を伴う”表現型変化に依存する。一方で，心筋細胞のような増殖サイクルから抜け出した細胞においては組織のリニューアルは不可能でありながら，寿命を迎えるまで機能し続ける頑健性を有する。しかし心臓組織における各種ストレスに対する適応応答とその後の不全に至るメカニズムは未だ明らかにされていない。一般に，運動負荷や高血圧により心臓に対して負荷がかかると心臓は心筋の可逆的な肥大によりその機能を亢進させる。一方で慢性的な心臓に対する負荷は，線維化を伴う不可逆的な肥大・拡張により心不全に陥っていく。本セミナーでは，この心臓の適応応答と慢性時の心不全に至るメカニズムにおける，非選択的カチオンチャネ TRPC3 の関与およびその分子機構を最近の知見を交えながら紹介したい。

43. Whole-body and Whole-organ Clearing and Imaging with Single-cell Resolution toward Organism-level Systems Biology in Mammals

Hiroki R. Ueda（University of Tokyo, Professor/RIKEN QBiC,Group Director）

（2016.1.5）

Organism-level systems biology aims to identify, analyze, control and design cellular circuits in organisms. Many experimental and computational approaches have been developed over the years to allow us to conduct these studies. Some of the most powerful methods are based on using optical imaging in combination with fluorescent labeling, and for those one of the long-standing stumbling blocks has been tissue opacity. Recently, the solutions to this problem have started to emerge based on whole-body and whole-organ clearing techniques that employ new tissue-clearing chemistry. In this talk, I introduce these advancements and discuss how combining new clearing techniques with high performing fluorescent proteins, rapid volume imaging and efficient image informatics is resulting in comprehensive and quantitative organ-wide single-cell-resolution experimental data. These technologies are starting to yield information on connectivity and dynamics in cellular circuits at unprecedented resolution, and bring us closer to system-level

understanding of physiology and diseases of complex mammalian systems.

References
1. Ueda, H.R. et al, Nature 418, 534-539 (2002).
2. Ueda, H.R. et al, Nat. Genet. 37, 187-92 (2005).
3. Sato T. K. et al, Nat Genet. 38, 312-9 (2006).
4. Ukai H. et al, Nat Cell Biol.　9, 1327-34 (2007).
5. Ukai-Tadenuma M. et al, Nat Cell Biol. 10, 1154-63 (2008).
6. Minami Y. et al PNAS 106, 9890-5 (2009).
7. Isojima Y. et al, PNAS 106, 15744-49 (2009).
8. Masumoto KH. et al, Curr Biol.20(24):2199-206. (2010).
9. Ukai-Tadenuma M et al. Cell 144(2):268-81 (2011).
10. Hogenesch JB, Ueda HR. Nature Rev. Genet. 12(6): 407-16 (2011).
11. Jolley Cc, Ode KL, Ueda H.R. Cell Reports 2(4): 938-50 (2012).
12. Sasagawa et al. Genome Biol. 14(4):R31 (2013).
13. Susaki et al. Cell, 157(3): 726–39, (2014).
14. Tainaka et al. Cell, 159(6):911-24(2014).
15. Susaki et al. Nature Protocols, 10(11):1709-27 (2015).
16. Sunagawa et al, Cell Reports, in press (2016).
17. Susaki and Ueda. Cell Chemical Biology, in press (2016).

44. Radial Ultrashort TE Magnetic Resonance Imaging at Higher Magnetic Fields

小林尚玄（University of Minnesota, Assistant Professor）

（2016.1.5）

近年のMRIハードウェア技術の進歩および新たなパルスシークエンスの開発により，radial MRI 撮像法がより一般的になりつつある。Radial MRI の一番の利点は，エコータイム（TE）を極端に短く設定できることであり，それにより，肺や骨のようなこれまで MRI による撮像が困難であった組織の画像化が可能となる。加えて，radial MRI では，k 空間の中心領域を繰り返しデータ収集するため，動きによるアーチファクトの低減や比較的容易な self-gating の利用等の利点もある。本講演では，radial MRI の長所・短所を説明すると共に，ヒト用 7T および動物実験用 9.4T の高磁場 MRI 装置によって得られた radial MRI 画像および撮像法を紹介する。

45. 霊長類と齧歯類の視覚情報処理の類似と相違　ー視運動性反応の研究からー

三浦健一郎（京都大学医学研究科認知行動脳科学分野）

（2016.1.15）

46. 極限・宇宙生物学? 生命の起源と生命とは何かの解を求めて? では，教えてくれ。生物学の「生命」とはなんのことだ。「生命」が何かを知らずに，生物学を研究していると言うのか？

高井　研（海洋研究開発機構 基幹研究領域 深海・地殻内生物圏研究分野 分野長）

（2016.1.22）

今の地球の暗黒の深海には，400℃を超えるような熱水が噴出している場が 500 カ所以上見つかっています。最近では，こうした深海熱水は銅や貴金属やレアメタルといった海底資源の宝庫として注目されていますが，発見以来，深海熱水研究の一番の原動力になってきたのは，「そこで地球生命が誕生した」のではないかという人間の好奇心をかきたてる根源的な科学興味でした。これまでにわかってきた深海熱水を巡る様々な研究分野の成果から，「少なくとも我々の祖先はすべて，約 40 億年前の深海熱水という場所の洗礼を通じて地球全域に適応進化・

伝播し，今に至った」ことは間違いないようです。

一方，深海熱水の発見と時を同じくして，太陽系の他の惑星や小惑星起源の隕石から，地球生命の細胞の原材料となる有機物が見つかり，それ以降たくさんの有機物が太陽系や太陽系の宇宙に存在することがわかってきました。しかも，それらの有機物は地球にもたくさん届けられている可能性があることもわかってきました。「もしかして宇宙で作られた有機物から地球生命は誕生したのではないか」と考える研究者も増えてきました。そして「地球生命が宇宙の有機物から生み出されるのなら，他の惑星の生命も宇宙の有機物からドンドン生み出されるのではないか」とも考えられるようになってきました。

実は，「地球生命が地球でできた有機物から生み出される」シナリオと「地球生命が宇宙でできた有機物から生み出される」シナリオでは，「生命がどのように誕生してゆくか」という過程が大きく異なってくるのです。私は当初，「宇宙でできた有機物が深海熱水で加工されて地球生命が生み出されたのではないか」と考えていました。ところが最近は，「地球生命は地球で（深海熱水で）できた有機物から生み出される」という地産地消シナリオの方が正しいと考えるようになりました。その理由についてお話しします。

47. 連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）による３次元形態観察の特徴と応用

宮崎直幸（脳機能計測・支援センター 形態情報解析室）

（2016.1.26）

連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）は，樹脂に包埋した試料ブロックの表面をダイヤモンドナイフで薄く削り，ブロック表面に現れてきた構造を SEM により記録するという過程を繰り返し，試料の連続断層像を得る最先端電子顕微鏡装置である。そして，その連続断層像から３次元構造を再構成することで，細胞や細胞小器官の微細構造やその分布を３次元で解析することが可能となる。形態情報解析室では，この装置を用いて単一の細胞から構成される酵母や血球などの単一細胞全体の形態解析から，組織内での細胞間ネットワーク解析までさまざまな形態に関わる解析を行っている。本セミナーでは，この SBF-SEM の原理と特徴，さらにその特徴を生かした最近の観察例をいくつか紹介したい。

48. 単一細胞レベルでの形態解析から見えてきた，視床ニューロンの新しい分類と機能

倉本恵梨子（鹿児島大学医歯学総合研究科）

（2016.2.1）

ラット大脳皮質運動関連領野へ投射する視床核として，前腹側核-外側腹側核 (VA-VL) と内側腹側核 (VM) が知られる。VA-VL 核は，大脳基底核からの情報を受ける inhibitory input-dominant zone (IZ)と小脳からの情報を受ける excitatory subcortical input-dominant zone (EZ) に分けられる。Sindbis ウイルスベクターを用いて視床皮質投射を単一細胞レベルで調べたところ，IZ ニューロンは主に皮質１層へ matrix type の入力を送るのに対して，EZ ニューロンは core type として皮質中間層に強く入力するという特徴を有し，さらに IZ，EZ ともに単一細胞レベルで運動関連領野に広く入力して皮質カラム構造を反映しないことを明らかにした。次に，IZ と同様に基底核情報を担う VM について検討し，1) VM には運動関連領野に主として投射するニューロンと，前頭前野，特に眼窩野／前帯状野に強く投射するニューロンの２群が存在する，2) VM ニューロンの軸索の 78%が皮質１層に分布し，matrix type の入力を示したが，これは IZ ニューロンの 54%よりも高率である，などの所見を得た。さらに，高次運動関連領野と考えられる前頭前野と関連が深い，背内側核 (MD) についても同様の手法で調べた結果，MD ニューロンの軸索の 80%が皮質中間層に分布したことから，前頭前野は VM から matrix type の入力を，MD から core type の入力を受けることが判明した。また，MD ニューロンの特徴として，単一細胞が複数の皮質領野に

軸索投射すること，投射先の領野のバリエーションが豊富であること，直径 1 mm 程度の axon bush を形成することが明らかになった。EZ ニューロンと MD ニューロンは，ともに core type に分類されるものの，その axon bush の広がる範囲が異なることから，運動関連領野と前頭前野はそれぞれ異なるメカニズムで機能を発現していると推測される。

参考文献

Kuramoto, E., Furuta, T., Nakamura, K.C., Unzai, T., Hioki, H., and Kaneko, T. (2009). Two types of thalamocortical projections from the motor thalamic nuclei of the rat: a single neuron-tracing study using viral vectors. Cerebral cortex 19, 2065-2077

Kuramoto, E., Ohno, S., Furuta, T., Unzai, T., Tanaka, Y.R., Hioki, H., and Kaneko, T. (2015). Ventral medial nucleus neurons send thalamocortical afferents more widely and more preferentially to layer 1 than neurons of the ventral anterior-ventral lateral nuclear complex in the rat. Cerebral cortex 25, 221-235.

49. 霊長類動物を用いて高次脳機能の統合的理解をめざす実験研究のストラテジー

磯田昌岐（関西医科大学医学部生理学第二講座）

（2016.2.8）

霊長類動物を用いて高次脳機能の統合的理解を進めるために，我々は（1）社会システム神経科学の確立，（2）システム神経生理学研究と認知ゲノミクス研究の融合的推進，そして（3）精神・神経疾患モデルの作出とその病態機構の解明に取り組んできた。本セミナーでは各々の研究ストラテジーを概説し，これまでに得られている成果を紹介する。社会システム神経科学研究は，本来的に社会的動物である霊長類の脳機能を，自他関係や社会的環境の枠組みにおいて明らかにするアプローチである。本研究では社会的認知行動制御の重要側面を，適切に統御された実験系に再現することが重要になる。我々は２頭のサルを同時に用いた認知行動タスクを考案し，自他の行動情報の識別や，他者の行動情報のモニタリングと利用において，内側前頭前野ニューロンと中脳ドーパミンニューロンが異なる役割を果たすことを明らかにした。認知ゲノミクス研究は，こころの個性の基盤となる脳機能とゲノム情報との関係を明らかにするアプローチである。我々はこの手法とシステム神経生理学的手法とを融合させることにより，自閉症様の認知行動パターンを呈したサル個体において，他者の行動情報を表現する内側前頭前野ニューロンが顕著に少ないことや，ヒトの精神疾患のリスク遺伝子に‘稀な変異’があることを見出した。精神・神経疾患モデル研究では，神経発達症群（DSM-5）に分類されるトゥレット障害のマカクモデルを薬理学的操作によって作出することに成功している。線条体の被殻背外側部へのビククリン注入によって運動チックが発症し，側坐核への注入によって発声チックが発症することを明らかにし，両者の差異を特徴づける広域神経回路活動の異常を PET イメージングと電気生理学的手法により同定した。これら３つの研究を学際的連携の下で一体的に推進することにより，ヒトを含む霊長類がもつ高度な認知機能を支える神経回路基盤とゲノム基盤を明らかにできると同時に，その破綻によって顕在化する精神・神経疾患の病態を神経科学的に解き明かすことができると期待している。

50. 視覚長期記憶の表象・想起を司るサル側頭葉の神経回路機構

平林敏行（放射線医学総合研究所）

（2016.2.8）

霊長類において，大脳皮質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，並びに視覚長期記憶の形成・想起を司る脳領域として知られている。これまで，サルを用いた神経活動記録により，この領域において物体についての視覚長期記憶の表象・想起に関わる単一ニューロン活動が見られる事が報告されてきた。しかし，

これらのニューロンが互いにどのような「回路」を形成し，どういった計算原理によってそれらの活動を成立させているかという問題については，上記の単一ニューロン活動の報告以来，20 年以上に渡って未解明のままであった。そのような問いに答えるには，これまでのように個々のニューロン活動を別々に記録するのではなく，複数のニューロンから同時に記録を行い，関連するニューロン間の情報伝達を調べるのが一つの方法として考えられる。そこで本研究では，物体間の連想記憶課題を遂行中のマカクザルにおいて，下部側頭葉から多細胞同時記録を行い，Granger 因果性解析（Hirabayashi et al., J. Neuroscience 2010）及び相互相関解析（Hirabayashi et al., J.Neuroscience 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，連想記憶に関連したニューロン間の情報伝達とそのダイナミクスを解析し，連想記憶の表象と想起に関わる側頭葉神経回路の計算原理をそれぞれ明らかにした。本セミナーでは，まず連想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，その回路動作に関する側頭葉領野間の相違（Hirabayashi et al., J. Neuroscience 2014）について紹介する。さらに，連想記憶の神経表象が側頭葉の 2 つの領野に渡る階層的な計算原理によって生成される，という新しい仮説を支持する結果（Hirabayashi et al., Science2013）について紹介し，最後にこうした物体記憶の想起を巡る認知神経回路研究について，今後の方向性を議論したい。

51. 知覚判断の神経メカニズムの研究

宇賀貴紀（順天堂大学医学部生理学第一講座）

（2016.2.8）

ヒト脳機能の神経メカニズムを解明するには，行動学的な機能解析，その基盤となる神経回路の同定，情報表現の理解，そして情報処理を統一的に説明できる理論などの多面的なアプローチが必要である。このような統合的な脳機能理解，いわゆるシステム神経科学的理解には，霊長類を用いた研究がこれまでに大きな貢献をなしてきた。本セミナーでは，見たものが何かを答える単純な判断である「知覚判断」を例に，知覚能力の定量化，信号検出理論をベースとした神経活動に含まれる情報量の解析，情報のダイナミックな蓄積による柔軟な判断の生成メカニズムの検討，などの多面的なアプローチについて概説する。具体的には最近我々が行っているタスクスイッチングの研究を紹介する。状況に応じて柔軟に判断をし，多様な選択を行うことはヒトの重要な認知機能のひとつである。素早い判断の切り替えには，短時間でダイナミックにスイッチする神経回路が必要であるが，我々はこれまでに，2 つのルール（運動方向を判断する，奥行きを判断する）をランダムに切り替えるタスクスイッチ課題を用い，運動方向の判断，奥行きの判断，それぞれに特異的に使用される感覚ニューロン群を使い分けることで，判断の切り替えが実現されていることを解明した。また，運動方向，奥行き情報が共に時間的に蓄積され，ルールに依存して情報蓄積のゲインが調整されることで，柔軟な判断が生成されていることを解明した。今後はルールに依存した情報蓄積（時間積分）のゲイン調節の神経回路メカニズムと動作原理を解明することが重要であると考えられる。本セミナーでは，タスクスイッチングに関連する神経回路や分子の同定，さらには，このような研究の臨床への応用について議論する。

52. 2 つのドーパミン神経系とその機能的役割

松本正幸（筑波大学医学医療系）

（2016.2.8）

中脳に分布するドーパミンニューロンは，脳の報酬システムの中枢として知られている。これらのニューロンは，予測していたよりも大きな報酬が得られたときに活動を上昇させ，予測よりも小さな報酬しか得られなかっ

たときに活動が抑制される。このような“報酬予測誤差”を伝達するドーパミン信号は，報酬を得るための学習や意欲に深く関わると考えられてきた。一方，ドーパミンニューロンの変性・消失は，パーキンソン病で見られるように，運動機能障害や認知機能障害など，報酬機能とは直接関係のない障害も引き起こす。我々は，ドーパミンニューロンが報酬以外の情報についても伝達している可能性を探るため，罰刺激や認知課題をサルに用いてドーパミンニューロンの活動を記録した。そして，ドーパミンニューロンには，“価値”に関連した情報を伝達するグループと“salience（顕著性）”に関わる情報を伝達するグループがあることを明らかにした。価値情報を伝達するドーパミンニューロンとは，報酬予測誤差と一致して，報酬に対して活動を上昇させ，罰刺激に対しては活動が抑制されるニューロンである。一方，salience 情報を伝達するドーパミンニューロンとは，報酬はもちろん，罰刺激や記憶しなければならない視覚刺激など，動物の行動にとって重要な刺激に対して活動を上昇させるニューロンである。注目すべきことに，価値情報と salience 情報を伝達するドーパミンニューロンは異なる中脳の領域に分布していた。我々が得た結果は，これまで価値情報（報酬予測誤差）を一様に伝達すると考えられてきたドーパミンニューロンが，異なる情報を伝達する複数のグループに分かれていることを示唆する。次に我々は，それぞれのドーパミンニューロンの機能を解析するためのツールとして，マカクザルを対象にした神経路選択的な光遺伝学の手法を新たに開発した。今後，それぞれのドーパミンニューロンの活動を神経路選択的に操作したとき，サルの行動や投射先の神経活動にどう影響するのか解析し，２つのドーパミン神経系の機能的役割を明らかにしていきたい。

53. 有髄・脱髄軸索におけるミトコンドリアの振る舞いとその役割

大野伸彦（山梨大学大学院総合研究部 医学域 基礎医学系 解剖分子組織学教室）

（2016.2.15）

髄鞘は脊椎動物の神経系において軸索を被覆する多重の細胞膜からなる構造であり，速い跳躍伝導を可能にし，軸索の長期的な生存を助けている。髄鞘は跳躍伝導の際に Na+の流入をランビエ絞輪部に集中させることで，神経伝達に必要なエネルギーを低減させるといわれている。したがって髄鞘疾患において永続的な神経障害につながる軸索変性には，軸索のエネルギー代謝の破綻が深く関わると考えられてきた。実際，軸索の主なエネルギー産生の場であるミトコンドリアの分布や動態は，髄鞘の形成と喪失によって大きく変化する。有髄軸索のミトコンドリアの多くは Na+/K+-ATPase が豊富な絞輪間部に静止して点在し，その間を比較的小さなミトコンドリアが両方向性に輸送される。神経伝達に伴って Ca2+依存性に静止したミトコンドリアがランビエ絞輪部で増加するが，こうしたランビエ絞輪部に特異的なミトコンドリアの振る舞いは，遺伝的な髄鞘形成の障害によってみられなくなる。これらの多くのミトコンドリアは数時間以上の長期にわたって軸索の特定部位に安定して静止してみえるが，実際は輸送ミトコンドリアとの分裂・融合を介して常にターンオーバーを繰り返している。その半減期は数時間程度であり，ミトコンドリア輸送の低下に伴って遅延する。一方，脱髄に伴って，軸索の静止ミトコンドリアは増加する。この静止ミトコンドリアの増加はミトコンドリアと微小管の結合に依存しており，その障害はミトコンドリアの減少と Na+依存性の軸索変性を惹起する。本セミナーでは細胞やオルガネラの 3 次元的微細構造解析に有用な Serial block-face scanning electron microscopy の応用と進歩にも触れながら，有髄・脱髄軸索の機能や生存におけるミトコンドリア動態の役割について議論したい。

＜参考文献＞

Ohno N, et al. PNAS. (2014) 111:9953-8.
Ohno N, et al. J Neurosci. (2011) 31:7249-58.

54. A human glycine receptor startle mutation impairs the stability of the ligand-bound receptor

Trevor Lewis（Senior Lecturer School of Medical Sciences,The University of New South Wales, Australia）

（2016.2.16）

Startle disease is a rare neurological disorder, producing an exaggerated startle response to auditory, visual and tactile stimuli. It is due to a deficiency in glycinergic neurotransmission, most often caused by mutations in the glycine receptor (GlyR). This study describes the functional consequences of a novel startle mutation, W170S, in the alpha1 subunit of the human GlyR. Using a combination of homology modelling with mutagenesis and electrophysiology studies, we have investigated the functional changes at the whole-cell and single channel level. We propose that the W170 residue normally forms a H-bond that links the inner and outer β-sheets of the extracellular domain, contributing to the stability the receptor conformation when ligand is bound.

55. 顎口腔顔面領域の機能特性

坂本喜和子（研究力強化戦略室・感覚運動調節研究部門）

（2016.3.2）

ヒトの脳機能イメージング技術は，機器の精度の向上や新たな解析技術の開発によって，特にここ１０年間で目覚ましい進歩を遂げてきました。しかし，こと顎口腔顔面領域の感覚・運動処理機構に関しては，この流れに乗っているとは言い難い状況です。その理由には，顎口腔顔面領域が脳と近接していることや，特に口腔内が常に湿潤環境にあること，咀嚼から嚥下にかけての運動が非常に複雑であることなどから，他の体部位で用いられるような刺激手法を用いることができないことが挙げられます。今回のセミナーでは，今一度ヒトの顎口腔顔面領域の人類学的・解剖学的・生理学的機能特性についておさらいするとともに，私の研究のメインテーマの一つである「咀嚼が脳に与える影響」についての成果について，今現在どこまで分かっているのかについてお話しさせていただきます。

56. 幼若期社会的経験，前頭前野機能，グリアと自閉スペクトラム症

牧之段　学（奈良県立医科大学 精神科）

（2016.3.7）

自閉スペクトラム症（ASD）発症に遺伝要因が強く関与していることは周知されていますが，最近の報告によりますと環境要因の寄与も少なくないとのことです。幼少期に虐待を受けたこどもらは発達障害様の症状を呈すことがありますので，これらの方々が ASD と診断されている可能性は考えられます。マウスの幼若期社会的経験の質は前頭前野のミエリン形成や同部位の機能に影響を与え，またマイクログリアの動態をも変化させます。ミエリン形成やマイクログリアの異常は ASD 患者脳でも報告されておりますので，臨床症状と同様に，脳内の病態も ASD 患者と被虐待患者では類似しているのかもしれません。また，自閉スペクトラム症患者は概して幼少期に孤立しやすいため，そもそも幼少期の（主観的な）社会的経験が健常者とは異なると想定され，それによって自閉スペクトラム症症状が一定の修飾を受けている可能性は十分に考えられます。

本セミナーでは，自閉スペクトラム症症状の一部は，幼少期社会的経験の質の相違によって形成される可能性，またそれらがグリアの動態を介しているかもしれないこと，そして後天的に形成された ASD 患者の症状は何らかの介入により修復可能であるかもしれないこと，などを話したいと思います。

57. 哺乳類における多能性幹細胞と始原生殖細胞の関係性

小林俊寛（Wellcome Trust /Cancer Research UK Gurdon Institute, University of Cambridge）

（2016.3.9）

着床前初期胚から樹立される ES 細胞に代表される多能性幹細胞は，in vitro での無限の増殖能と，成体のすべての細胞に分化できる多分化能を兼ね備えた細胞である。一方，始原生殖細胞 (Primordial germ cell：PGC) はすべての生殖細胞の元となる細胞で，哺乳類の着床後初期胚において，多能性を持つエピブラストから最も早く分化して生じる細胞の一つである。両者は起源やその能力は異なるものの，遺伝子発現や，エピゲノム状態など，多くの点で共通した特徴を持っている。一方で，それぞれに特異的に発現する遺伝子の機能が両者の違いを明確にしている。本セミナーでは，マウスあるいはヒトの多能性幹細胞と PGC の関係性について，それぞれに特異的な遺伝子の発現・機能解析，および多能性幹細胞からの in vitro での PGC 様細胞分化誘導系などを交えて，紹介したい。

58. Control of the cochlear amplifier by the olivocochlear efferent pathway

Gary Housley（Chair of Physiology, Head Dept. Physiology, Director,Translational Neuroscience Facility and Department of Physiology, School of Medical Sciences, UNSW Australia, Sydney, Australia）

（2016.3.14）

Hearing in mammals has considerably greater sensitivity than other vertebrates because of the ‘cochlear amplifier’, which uses outer hair cell electromotility to enhance sound transduction at the inner hair cells and hence drive auditory neurotransmission. The cochlear amplifier is controlled by negative neural feedback from the medial olivocochlear (MOC) efferent neurons located bilaterally in the medial superior olivary complex.

The efferent feedback is important for binaural hearing, and hence for sound localization and masking of noise for improved speech recognition. It also plays a protective role during acoustic overstimulation. The MOC reflex is evident as contralateral suppression, where sound in one ear causes a loss of hearing sensitivity in the opposite ear. Here we describe studies using the peripherin knockout mouse model that show that the sensory drive for the MOC reflex stems from the type II spiral ganglion afferent innervation of the outer hair cells. This represents a separate auditory coding channel that drives closed-loop negative feedback control of the cochlear amplifier.

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 184 回（2015.4.22）
   演者：大脳皮質機能研究系 脳形態解析研究部門　古瀬幹夫　教授
   演題：タイトジャンクションと傍細胞輸送の制御

2. 第 185 回（2015.5.13）
   演者：生体情報研究系 神経シグナル研究部門　古江秀昌　准教授
   演題：痛みの中枢性（下行性）制御機構の in vivo 解析

3. 第 186 回（2015.6.10）
   演者：生命時空間設計研究領域 神経分化研究部門　東島眞一　准教授
   演題：ゼブラフィッシュ脊髄・脳幹運動系神経回路の機能解析

4. 第 187 回（2015.9.9）
   演者：行動・代謝分子解析センター遺伝子改変動物作製室　平林真澄　准教授
   演題：発生工学技術の社会貢献　－ 食物生産から再生医療まで －

5. 第 188 回（2015.10.14）
   演者：生体情報研究系 感覚認知情報研究部門　小松英彦　教授
   演題：色と質感知覚の神経機構

6. 第 189 回（2015.11.11）
   演者：統合生理研究系 生体システム研究部門　南部　篤　教授
   演題：大脳皮質－大脳基底核ループと大脳基底核疾患

7. 第 190 回（2015.12.2）
   演者：大脳皮質機能研究系 心理生理研究部門　福永雅喜　准教授
   演題：超高磁場 MRI を用いた脳構造・機能の解析

8. 第 191 回（2016.1.13）
   演者：細胞器官研究系 細胞生理研究部門　岡田俊昭　特任准教授
   演題：容積調節性アニオンチャネルの機能とその分子実体

9. 第 192 回（2016.2.17）
   演者：細胞器官研究系 細胞膜研究部門　深田正紀　教授
   演題：パルミトイル化脂質修飾による蛋白質の局在制御機構

10. 第 193 回（2016.3.2）
    演者：分子生理研究系 分子神経生理研究部門　池中一裕　教授
    演題：髄鞘形成制御機構とその生理的意義

生理学研究所年報　第３７巻

発　　行　　2016 年 12 月 26 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