自然科学研究機構

生理学研究所年報

第44巻

2023

（2022 年度業務報告書）

はじめに

生理学研究所年報第 44 巻をここに刊行し、2022（令和 4）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、「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。2022 年度におきましては、前年度と同様、新型コロナウイルス感染の周期的拡大で研究者の移動が制限されるなか、研究および共同研究のリモート化など徐々にコロナ禍のなかでの対処法への工夫が行われ、また、コミュニティ研究者の皆様の御協力と所員一同の努力によって、素晴らしい研究成果や例年以上の多数（200 件以上；法人化以前の約２倍）の共同研究・共同利用実験を行なうことができました。この数年間で生理学研究所を長年牽引して頂いた教授の退任が続き、新規教授の着任により生理学研究所の新たな展開が見込まれます。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す。今後とも皆様方のご支援・ご鞭撻を心よりお願い申しあげます。

2023 年 9 月

生理学研究所　所長　鍋　倉　淳　一

生理学研究所年報

〔 目　　次 〕

職　員（2022 年度）…… i

研究活動報告

目　次…… 3
分子細胞生理研究領域…… 9
生体機能調節研究領域…… 19
基盤神経科学研究領域…… 30
システム脳科学研究領域…… 39
研究連携センター…… 56
脳機能計測・支援センター…… 59
行動・代謝分子解析センター…… 64
動物資源共同利用研究センター…… 68
技　術　課…… 71

研 究 発 表

ａ．発 表 論 文…… 81
ｂ．学 会 発 表…… 99

一般共同研究報告…… 127

計画共同研究報告（生理学研究所）…… 171

計画共同研究報告（動物資源共同利用研究センター）…… 209

生体機能イメージング共同利用実験報告…… 225

研究会報告…… 253

国際研究集会…… 475

各種シンポジウム

第 52 回　生理研国際シンポジウム…… 481

トレーニングコース

第 33 回生理科学実験技術トレーニングコース…… 487

セミナー報告…… 491

大学院特別講義…… 507

職員（2022年度）

所　　長　鍋倉淳一

【分子細胞生理研究領域】

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
NIPS リサーチフェロー	平澤輝一（～2023.3.31）
大学院生	LIU, Chang （～2023.3.31）
技術支援員	内藤知津江（～2023.3.31）

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
特任助教	宮崎裕理
大学院生	江川孝彦
〃	TEH, Zhi Hui
技術支援員	鈴木由美（～2023.3.31）
〃	渡邊聖愛（～2023.3.31）
〃	古川佐千子
〃	原　早苗

生体分子構造研究部門

教　　授	村田和義
特任助教	宋　致弘
〃	BURTON-SMITH, Raymond（2023.3.1～）
研 究 員	BURTON-SMITH, Raymond（～2023.2.28）
〃	陳　林（2022.8.1～）
大学院生	角田　潤
〃	千原あかね（～2023.3.31）
〃	渡邉凌人
技術支援員	山田幸子（～2023.3.31）
〃	肥田宗政（2022.12.1～）
〃	竹市裕介（～2022.10.31）
〃	香山容子（2022.6.1～）
〃	池田　充（2022.10.1～）
事務支援員	河口美江

神経発達・再生機構研究部門

客員教授	澤本和延

【生体機能調節研究領域】

細胞構造研究部門

教　　授	古瀬幹夫
准 教 授	泉　裕士
助　　教	大谷哲久
〃	大橋正人
特任助教	藤原佐知子（～2022.12.31）
大学院生	NGUYEN, Thanh Phuong
〃	長澤有祐（～2023.3.31）
技術支援員	渡邊美香（～2023.3.31）
〃	古瀬京子

細胞生理研究部門

教　　授	富永真琴
准 教 授	曽我部隆彰
特任准教授	加塩麻紀子
〃	丸山健太
助　　教	齋藤　茂
特任助教	佐藤翔馬（2023.1.1～）
NIPS リサーチフェロー	水藤拓人
研 究 員	齋藤くれあ
〃	佐藤翔馬（～2022.12.31）
生理研研究員	雷　晶（2022.10.1～）
日本学術振興会特別研究員	宇治澤知代（～2022.10.31）
大学院生	邓　香梅
〃	DEVECI, Aykut （～2022.9.30）
〃	雷　晶（～2022.9.30）
〃	ALIYU, Mudassir Magaji
技術支援員	福岡慶子
〃	橋本照美
〃	泉地真由美（2022.6.16～）
事務支援員	伊藤嘉美

心循環シグナル研究部門

教　　授	西田基宏
特任准教授	西村明幸
大学院生	湯　肖康
〃	ZHOU, Liuchenzi（2022.10.1～）
技術支援員	藤森仁美（～2023.3.31）
〃	大村幸恵
〃	赤司育子（2023.3.1～）

生殖・内分泌系発達機構研究部門

教　　授　　箕　越　靖　彦
准 教 授　　中　島　健一朗
助　　教　　近　藤　邦　生
特 任 助 教　　菊　地　晶　裕
特別協力研究員　　堀　尾　修　平
日本学術振興会特別研究員
　　上　原　優　子
大 学 院 生　　RATTANAJEARAKUL, Nawarat
　〃　　三　須　宏　武
　〃　　YU, Long
技術支援員　　林　　めぐみ（～2023.3.31）
　〃　　佐　藤　香　織（～2023.2.28）
　〃　　乙　部　晶　代

分子神経免疫研究部門

教　　授　　村　上　正　晃
特任准教授　　長谷部　理　絵
助　　教　　山　崎　剛　士
技術支援員　　後　藤　美　穂
　　（2022.5.16～2023.3.31）

超微形態研究部門

客員教授　　大　野　伸　彦

【基盤神経科学研究領域】

生体恒常性発達研究部門

所　　長（併任）　鍋　倉　淳　一
准 教 授　　鳴　島　　円
准 教 授（兼任）　揚　妻　正　和（2022.11.1～）
特任准教授　　揚　妻　正　和（～2022.10.31）
特 任 助 教　　堀　内　　浩（～2022.9.30）
特任研究員　　CHEUNG, Dennis Lawrence
　〃　　金　　叢　芸
技術支援員　　大　場　多津子（～2023.3.31）
　〃　　市　橋　結　貴
　〃　　小　林　知　子
　〃　　石　田　順　子（2022.4.1～）
事務支援員　　小　林　文　絵（～2022.10.31）
　〃　　永　田　みづほ
　　（～2022.4.15，2022.10.16～）

視覚情報処理研究部門

教　　授　　吉　村　由美子
助　　教　　林　　健　二（～2023.3.31）
特 任 助 教　　米　田　泰　輔
NIPS リサーチフェロー　山　本　真理子
研　究　員　　呉　　嘉　豪（～2022.7.31）
研究支援員（RA）　入　佐　紘　司（2022.10.1～）
技術支援員　　石　神　久美子
　〃　　池　江　亜希子（2022.9.16～）
事務支援員　　比　賀　昌　子

バイオフォトニクス研究部門

教　　授　　根　本　知　己
准 教 授　　榎　木　亮　介
　〃　（兼任）　大　友　康　平
助　　教　　石　井　宏　和
特 任 助 教　　堤　　元　佐
特任研究員　　張　　菁　圃
　　（2022.4.1～2023.3.31）
　〃　　坂　本　　丞（2022.5.1～）
日本学術振興会特別研究員
　　高　橋　泰　伽（～2023.3.31）
日本学術振興会外国人特別研究員
　　李　　明　亮
大 学 院 生　　安　宅　光　倫（～2023.3.31）
　〃　　中　田　開　人（
　〃　　廣　　蒼　太
技術支援員　　土　屋　加　奈
　〃　　渡　邉　真　規
　〃　　河　内　美　輪

多細胞回路動態研究部門

教　　授　　和　氣　弘　明
特別訪問研究員　　加　藤　大　輔
　　（2022.4.1～2022.3.31）
　〃　　杉　尾　翔　太
　　（2022.4.1～2022.3.31）
　〃　　堀　内　　浩
　　（2022.10.1～2022.3.31）
　〃　　竹　田　育　子
　　（2022.4.1～2022.3.31）
　〃　　谷　隅　勇　太
　　（2022.4.1～2022.3.31）
特別共同利用研究員　郭　　中　天
　　（2022.4.1～2022.3.31）
　〃　　進　藤　麻理子
　　（2022.4.1～2022.3.31）
　〃　　高　橋　菜　々
　　（2022.5.1～2022.3.31）
　〃　　渋　下　　碧
　　（2022.4.1～2022.3.31）

【システム脳科学研究領域】

認知行動発達機構研究部門

教　　授　磯 田 昌 岐
特任准教授　郷　 康 広
特任准教授　戸 松 彩 花
助　　教　二 宮 太 平
〃　則 武　 厚
特任助教　植 松 明 子
大学院生　新 居 桂 陽
特任専門員　柴 田 あゆみ
〃　山 西 ユ ミ
技術支援員　城 地 智 子

生体システム研究部門

教　　授　南 部　 篤（～2023.3.31）
助　　教　畑 中 伸 彦
〃　知 見 聡 美
研 究 員　纐 纈 大 輔
大学院生　NONDHALEE, Pimpimon
（～2022.8.31）
技術支援員　磯 谷 ひとみ（～2023.3.31）
〃　粟 村 香奈子（～2023.3.31）

神経ダイナミクス研究部門

教　　授　北 城 圭 一
助　　教　上 原 一 将（～2023.3.31）
〃　岡 崎 由 香
特任助教　横 山　 寛（～2022.5.31）
技術支援員　佐 藤 明 子

心理生理学研究部門

教　　授　定 藤 規 弘（～2023.3.31）
客員教授　LE BIHAN, Denis（～2022.5.31）
准 教 授　福 永 雅 喜（～2023.3.31）
助　　教　小 池 耕 彦（～2023.3.31）
〃　郷 田 直 一
特任助教　山 本 哲 也
日本学術振興会特別研究員
土 元 翔 平（～2023.3.31）
日本学術振興会外国人特別研究
BOLIS, Dimitrios
（2022.6.27～2023.2.13）
大学院生　南 條 啓 孝（～2023.3.31）
〃　小 山 雄太郎（～2022.8.31）
〃　綾 部 宏 明
〃　橋 口 真 帆（～2023.3.31）
大学院生　小笠原 香 苗（～2023.3.31）
〃　鳴 川　 紗（2022.4.1～）
〃　花 田 捺 美（2022.10.1～）
特別共同利用研究員　伊津野　 巧
特任専門員　木 村 玲 子（～2023.3.31）
〃　岩 瀬　 恵
技術支援員　竹 中 邦 子
〃　伊 藤 嘉 邦
〃　中 川 恵 理
（2022.7.16～2022.9.30）

感覚認知情報研究部門

教　　授　竹 村 浩 昌
NIPS リサーチフェロー　羅　 俊 翔（2022.8.1～）
特別共同利用研究員　宮 田 季 和（～2023.3.31）
技術支援員　庭 木 由 紀
〃　青 山 大 希
（2022.5.16～2023.1.31）
〃　小 林 久美子（2022.12.1～）

【研究連携センター】

センター長（併任）　久 保 義 弘

共同利用研究推進室

教　　授（併任）　久 保 義 弘
特任助教（併任）　西 尾 亜希子

学術研究支援室

客員教授　高 田 昌 彦
特任准教授（併任）　丸 山 めぐみ
特任専門員　林　 愛
事務支援員　土 井　 優
〃　太 田 美穂子
（2022.4.1～2022.5.31）
〃　鈴 木 陽 子（2022.7.1～）

NBR事業推進室

教　　授（併任）　磯 田 昌 岐（2022.4.1～）
教　　授（併任）　南 部　 篤
事務支援員　岡 本 友 紀

流動連携研究室

国際連携研究室

【脳機能計測・支援センター】

センター長（併任）　磯　田　昌　岐

形態情報解析室

多光子顕微鏡室

准　教　授		村　越　秀　治
大 学 院 生		植　田　大　海
〃		長　澤　祐太郎
技術支援員		佐　藤　愛　子（～2023.3.31）
〃		平　田　華　代

電子顕微鏡室

教　　授（併任）		古　瀬　幹　夫
准　教　授（併任）		村　田　和　義
〃		窪　田　芳　之
〃	（兼任）	浦久保　秀　俊（2022.12.31～2023.3.31）
特 任 助 教		石　原　義　久
〃		浦久保　秀　俊（～2022.12.30）
〃		孫　　在　隣（～2022.5.31）
特任研究員		PANDEY, Vikas（～2023.3.31）
〃		SIMANKOVA, Anna（～2023.1.31，2023.3.16～）
〃		宮　崎　隆　明（2022.4.16～）
〃		KAMIJI, Nilton Liuji（2022.6.16～）
技術支援員		今　井　篤　子
〃		服　部　宣　子
〃		荒　木　玲　子
〃		北　　啓　子（～2023.3.31）
〃		江　川　尚　美（～2022.4.15，2022.10.16～）
〃		兵　藤　智栄美（～2023.3.31）
〃		江　藤　智　子
〃		渡　邊　晴　子
〃		廣　岡　依　里
〃		淵　田　淳　子（2022.5.16～2022.10.31）
〃		TIRPATHY, Swati（2022.9.16～）

生体機能情報解析室

教　　授（併任）		定　藤　規　弘（～2023.3.31）
客 員 教 授		乾　　幸　二
〃		山　地　一　禎

時系列細胞現象解析室

教　　授（併任）		吉　村　由美子
助　　教		佐　竹　伸一郎
〃		大　塚　　岳

【行動・代謝分子解析センター】

センター長（併任）　富　永　真　琴

ウイルスベクター開発室

教　　授（併任）		南　部　　篤（～2023.3.31）
准　教　授		小　林　憲　太
技術支援員		影　山　梨　衣

遺伝子改変動物作製室

准　教　授		平　林　真　澄
准　教　授（兼任）		小　林　俊　寛
技術支援員		山　内　恵　子
〃		吉　田　史　香（～2023.3.31）
〃		大　西　皆　子

多階層生理機能解析室

教　　授（併任）		西　島　和　俊
助　　教		山　肩　葉　子（～2023.3.31）

【情報処理発信センター】

センター長（併任）　深　田　正　紀（～2023.3.31）

アーカイブ室

医学生理学教育開発室

教　　授（併任）　富　永　真　琴

ネットワーク管理室

【安全衛生管理室】

教　　授（併任）　富　永　真　琴

【研究力強化戦略室】

教　　授（併任）		南　部　　篤（～2023.3.31）
〃	（併任）	深　田　正　紀（～2023.3.31）
〃	（併任）	吉　村　由美子
〃	（併任）	箕　越　靖　彦（～2023.3.31）
〃	（併任）	久　保　義　弘
〃	（併任）	北　城　圭　一
特 命 教 授		浦　野　　徹
特任准教授		丸　山　めぐみ
特 任 助 教		西　尾　亜希子
〃		本　多　結城子（2022.4.1～）

特任研究員　NARGIS, Akter
〃　山根　到
特任専門員　内山　千保美
特任専門員　岡安　友美
事務支援員　安井　亜紀（～2022.6.15）
〃　芝村　賞子（～2022.5.31，2022.12.1～）
〃　菊池　和美（2022.6.16～）

【動物資源共同利用研究センター】

センター長（併任）　箕越　靖彦（～2023.3.31）
教授　西島　和俊
特命教授（併任）　浦野　徹
技術支援員　犬塚　小百合
〃　岩瀬　悦子
〃　梅村　佳子
〃　浦川　裕乃
〃　大島　由揮
〃　奥　留美
〃　小林　明子
〃　小宮山　果
〃　重本　久実
〃　柴田　愛（2022.7.1～2022.7.31）
〃　新関　奈央子
〃　橋本　恵
〃　深津　葵（～2023.2.28）
〃　不退　久恵
〃　本多　千佳
〃　水野　みどり
〃　山本　美華

【動物実験コーディネータ室】

特任研究員　山根　到
事務支援員　松倉　さゆり

【生命創成探究センター】（生理学研究所関連）

創成研究領域

温度生物学研究グループ

細胞生理研究部門（兼務）

（ i 頁の細胞生理研究部門を参照）

心循環ダイナミズム創発研究グループ

心循環シグナル研究部門（兼務）

（ i 頁の心循環シグナル研究部門を参照）

バイオフォトニクス研究グループ

バイオフォトニクス研究部門（兼務）

（ ii 頁のバイオフォトニクス研究部門を参照）

物質–生命境界領域研究グループ

生体分子構造研究部門（兼務）

（ i 頁の生体分子構造研究部門を参照）

認知ゲノム研究グループ

【技　術　課】

課長　大河原　浩（～2023.3.31）

研究領域技術班

課長補佐（班長）　戸川　森雄

分子細胞生理研究領域　技術係

係長　山本　友美
係員　稲橋　宏樹

生体機能調節研究領域　技術係

係長　福田　直美
係員　加納　雄一朗
〃　平山　祐哉

基盤神経科学研究領域　技術係

係長　髙木　正浩
係員　渡我部　ゆき

システム脳科学研究領域　技術係

係長　佐藤　茂基
主任　横井　功（2022.4.1～）
特任専門員　岩瀬　恵

研究施設技術班

班長　吉村　伸明

研究連携　技術係

係長　吉友　美樹

脳機能計測･支援　技術第一係

係長　石原　博美（2022.4.1～）

脳機能計測･支援　技術第二係

係長　髙橋　直樹（2022.4.1～）

情報処理･発信　技術係

係長　村田　安永
係員　稲垣　茉利子

係　　員　　伊　藤　　翼
（2022.4.1～2022.12.31）

動物実験　技術係

係　　長　　廣　江　　猛
主　　任　　神　谷　絵　美
〃　　窪　田　美津子
係　　員　　高　橋　伸　明
〃　　山　中　　緑

行動･代謝分子解析　技術係

係　　長　　三　寶　　誠

研究基盤　技術係

係　　長　　森　　将　浩

研究力強化戦略室

特任専門員　　内　山　千保美
特任専門員　　岡　安　友　美

技術支援員・事務支援員

技術支援員　　粟　村　香奈子（～2023.3.31）
〃　　石　神　久美子
〃　　磯　谷　ひとみ（～2023.3.31）
〃　　市　橋　結　貴
〃　　伊　藤　嘉　邦
〃　　犬　塚　小百合
〃　　岩　瀬　悦　子
〃　　梅　村　佳　子
〃　　浦　川　裕　乃
〃　　大　島　由　揮
〃　　大　西　皆　子
〃　　大　場　多津子（～2023.3.31）
〃　　奥　　留　美
〃　　後　藤　美　穂
〃　　小　林　明　子
〃　　小宮山　　果
〃　　佐　治　俊　幸
〃　　佐　藤　明　子
〃　　重　本　久　実
〃　　柴　田　　愛
（2022.7.1～2022.7.31）

技術支援員　　城　地　智　子
〃　　鈴　木　由　美（～2023.3.31）
〃　　土　屋　加　奈
〃　　内　藤　知津江（～2023.3.31）
〃　　永　田　　治
〃　　新　関　奈央子
〃　　庭　木　由　紀
〃　　橋　本　　恵
〃　　林　　めぐみ（～2023.3.31）
〃　　肥　田　宗　政（～2022.12.1）
〃　　深　津　　葵（～2023.2.28）
〃　　福　岡　慶　子
〃　　藤　森　仁　美（～2023.3.31）
〃　　不　退　久　恵
〃　　本　多　千　佳
〃　　水　野　みどり
〃　　山　内　恵　子
〃　　山　口　　登
〃　　山　田　幸　子（～2023.3.31）
〃　　山　本　美　華
〃　　吉　田　史　香（～2023.3.31）
〃　　渡　邊　美　香（～2023.3.31）
事務支援員　　小　澤　祐　子（～2022.5.31）
〃　　菊　池　和　美（2022.6.16～）
〃　　小　林　文　絵（～2022.10.31）
〃　　坂　本　　愛
〃　　柴　田　利　江（～2022.12.31）
〃　　芝　村　賞　子
（～2022.5.31，2022.12.1～）
〃　　杉　山　朋　美（～2023.1.31）
〃　　手　嶌　直　子
〃　　長　尾　法　子（2023.1.1～）
〃　　永　田　みづほ（2022.10.16～）
〃　　藤　井　真　弓（2022.7.16～）
〃　　松　倉　さゆり（2023.2.1～）
〃　　安　井　亜　紀

【研究活動報告】

研究活動報告

〔　目　　次　〕

分子細胞生理研究領域

神経機能素子研究部門 ………………………………………………………………………… 9

概　要
THIK-1 チャネル活性化に関与する第 2 および第 4 膜貫通部位の解析（立山充博，久保義弘）
Two-pore Na+ channel のゲーティングモード切り替え機構の解析（下村拓史，山本友美，久保義弘）
遷移金属イオン蛍光共鳴エネルギー移動法による電位依存性カチオンチャネルの解析
（平澤輝一，立山充博，下村拓史，久保義弘）
Regulation of muscarinic acetylcholine receptor M2 by Sigma-1 receptor
（劉　暢 (Chang Liu)，久保義弘，Ruth Murrell-Lagnado，陳　以珊 (I-Shan Chen) ）
Structural determinants of the direct inhibition of GIRK channels by Sigma-1R antagonist）
（劉　暢 (Chang Liu)，立山充博，久保義弘，陳　以珊 (I-Shan Chen) ）
新規ウミカラマツ由来毒素の同定（下村拓史，久保義弘，本間智寛）

生体膜研究部門 ………………………………………………………………………… 12

概　要
難治性乳幼児てんかんにおける ADAM22 てんかん脳症の病態メカニズムの解明
（深田優子，宮崎裕理，平野瑤子，深田正紀）
知的障害と関連する脳内分泌蛋白質 LGI3 の性状解析
（宮崎裕理，深田優子，深田正紀，大塚　岳，三宝　誠，平林真澄，小林憲太，佐野裕美，山肩葉子）
シナプス構成蛋白質と液-液相分離（Teh Zhi Hui，深田優子，稲橋宏樹，深田正紀）
ZDHHC 酵素群欠損組織/細胞を用いたパルミトーム解析（横井紀彦，深田優子，深田正紀，小林憲太，崎村建司）
PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析（江川孝彦，横井紀彦，宮崎裕理，深田優子，深田正紀）
Tyrosinse のパルミトイル化によるメラニン形成制御（上川健彦，奥　慎一郎，深田優子，深田正紀）
イオンチャネルポアを有さない電位センサー蛋白質 TMEM266 の生理機能解析
（河合喬史，岡村康司，横井紀彦，深田優子，深田正紀）
DHHC5 による cdc42 のパルミトイル化のスパイン形成への効果
（Alexander Wirth，Evgeni Ponimaskin，横井紀彦，深田優子，深田正紀）
慢性炎症性脱髄性多発神経炎に関連する juxtaparanode における抗 LGI4 自己抗体（吉良潤一，深田優子，深田正紀）

生体分子構造研究部門 ………………………………………………………………………… 16

概　要
電子顕微鏡による巨大メドゥーサウイルスの形態と成熟過程の解析
（渡邉凌人，ソン チホン，香山容子，村田和義，武村政春）
サポウイルスカプシドのクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析（宮崎直幸，ソン チホン，村田和義，片山和彦）
巨大ウイルス“トーキョーウイルス”の超高圧クライオ電子顕微鏡による構造解析
（千原あかね，レイ バートンスミス，ソン チホン，村田和義，梶村直子，光岡　薫）

神経発達・再生機構研究部門 ………………………………………………………………………… 17

概　要
生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析（松本真実，久保山和哉，澤田雅人，澤本和延）
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
（荻野　崇，澤田雅人，澤本和延）

生体機能調節研究領域

細胞構造研究部門 …… 19

概　要

クローディン欠失細胞を用いたクローディン分子の機能解析
（藤原佐知子，Thanh Phuong Nguyen，大谷哲久，古瀬幹夫）

上皮細胞の細胞間接着構造の恒常性維持機構の解析
（Thanh Phuong Nguyen，大谷哲久，藤森俊彦，根本知巳，古瀬幹夫）

上皮バリアのホメオスタシスにおける細胞競合の役割の解析（大谷哲久，藤森俊彦，古瀬幹夫）

ショウジョウバエ腸管幹細胞の増殖における aPKC の関与（泉　裕士，古瀬幹夫）

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）

細胞生理部門 …… 21

概　要

TRPM2 の温度感受性がカルシウムとリン酸化で調節されていることを発見（加塩麻紀子，富永真琴）

表皮ケラチノサイトでの TRPV3 とアノクタミン 1 の機能連関（山野井　遊，富永真琴）

ショウジョウバエ視細胞の TRP チャネル活性制御に寄与する脂質代謝物の同定
（曽我部隆彰，Bradshaw H，富永真琴，Leishman E，Chandel A，Montell C）

オタマジャクシが生育環境にあわせて温度依存性行動を変化させる分子メカニズム（齋藤　茂，齋藤くれあ，富永真琴）

心循環シグナル研究部門 …… 23

概　要

Sulfide catabolism を介した心筋早期老化機構（西村明幸，湯　肖康，Zhou Liuchenzi，西田基宏）

酸化型グルタチオンによる Drp1 グルタチオン化を介した心筋保護作用の解明
（西村明幸，湯　肖康，Kowit Hengphasatporn，重田育照，西田基宏）

Echinochrome A による心筋保護作用の解明（西村明幸，湯　肖康，西田基宏）

抹消循環における TRPC6 チャネルの役割（冨田拓郎，加藤百合，西村明幸，西田基宏）

生殖・内分泌系発達機構研究部門 …… 25

概　要

グルコース飢餓において炭水化物食の選択的摂取を引き起こす NPY ニューロンの役割
（Nawarat Rattanajearakul，中島健一朗，近藤邦生，箕越靖彦）

外側視床下部・透明帯 GABA ニューロンによる糖代謝調節機構（Yu Long，近藤邦生，箕越靖彦）

全身の脂肪消費を制御する新たな視床下部神経細胞の同定（近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦）

ビタミン B1 の脳内感知メカニズムの解明（中島健一朗，近藤邦生，箕越靖彦）

シングル核解析による視床下部室傍核 CRH ニューロンの多様性の解明
（菊地晶裕，近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦，郷　康広）

分子神経免疫研究部門 …… 27

概　要

関節リウマチの左右対称の遠隔炎症を説明する「遠隔炎症 G 反射」（長谷部理絵，村上正晃）

ストレスにて自己免疫疾患が増悪する分子機構（阿部靖矢，長谷部理絵，村上正晃）

超微形態研究部門 …… 28

概　要

環境変化が髄鞘の構造に及ぼす影響の解明（大野伸彦）

オリゴデンドロサイト前駆細胞の超微形態解析（大野伸彦）

基盤神経科学研究領域

生体恒常性発達研究部門 ………………………………………………………………… 30

概　要
In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経回路再編機構の解析
（堀内　浩，揚妻正和，Dennis Chung，和氣弘明，鍋倉淳一）
慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編（竹田育子，小泉修一，鍋倉淳一）
感覚情報処理回路の発達およびその制御機構の解明（鳴島　円，金　叢芸）
イオンイメージングセンサの脳内埋め込み技術の構築（堀内　浩，石田順子，鍋倉淳一）
カリウムークロライド共役担体の発現と運動機能回復（Dennis Chang，鍋倉淳一）

視覚情報処理研究部門 ………………………………………………………………… 32

概　要
マウス一次視覚野 6b 層ニューロンの経験依存的可塑性（米田泰輔，林　健二，吉村由美子）
マウス一次視覚野 2/3 層における Fast spiking 抑制性細胞－錐体細胞間結合の活動依存的な調節（山本真理子，吉村由美子）

バイオフォトニクス研究部門 ………………………………………………………………… 33

概　要
概日リズム，糖代謝，冬眠を制御する神経細胞~回路の光イメージング解析
（榎木亮介，廣　蒼太，李　明亮，張　菁圃，根本知己，金　尚宏，山口良文，戸田知得，江川　潔）
先端光技術を駆使した二光子高速超解像イメージング法の研究
（石井宏和，大友康平，坂本　丞，堤　元佐，榎木亮介，根本知己，横山弘之，佐藤俊一，小澤祐市，田辺綾乃，栗原　誠，橋本信幸）
高い二光子吸収断面積値を有する有機蛍光色素の探索
（大友康平，石井宏和，渡我部ゆき，根本知己，喬　琳，有澤光弘）
新規ケージド化合物の二光子励起分解特性の評価
（石井宏和，渡我部ゆき，根本知己，菊地和也，蓑島維文，橋本　龍，加藤晃一，谷中冴子）
画像解析による新規超解像法 SRRF の二光子イメージングへの適用（堤　元佐，髙橋泰伽，根本知己，小林健太郎）
二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用
（大友康平，中田開人，安宅光倫，堤　元佐，石井宏和，榎木亮介，根本知己，村田　隆，長谷部光泰，中村咲耶，泉　正範，上原亮太，木村　暁，木村幸太郎，渡辺実咲，関本弘之，中山博史）
高分子超薄膜のマウス脳 in vivo イメージング応用
（髙橋泰伽，大友康平，石井宏和，根本知己，揚妻正和，鍋倉淳一，岡村陽介）
二光子顕微鏡による生体組織の深部可視化に向けた計算補償光学技術の開発（髙橋泰伽，大友康平，根本知己，松田厚志）

多細胞回路動態研究部門 ………………………………………………………………… 37

概　要
グリア細胞の生理機能解明
（郭　中天，進藤麻理子，高橋奈々，渋下　碧，堀内　浩，杉尾翔太，竹田育子，加藤大輔，和氣弘明）
ホログラフィック顕微鏡の構築（谷隅勇太，堀内　浩，加藤大輔，和氣弘明）

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門 ………………………………………………………………… 39

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）
他者との運動同期指向性を指標とした社会性形成の神経基盤解明（戸松彩花，磯田昌岐）
心理・生理学的実験による社会脳ネットワークの動作原理の解明（二宮太平，磯田昌岐）
社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構（則武　厚，二宮太平，磯田昌岐）
他者への報酬は脳内でどのように処理されるのか（植松明子，磯田昌岐）

生体システム研究部門 ········· 41

概　要
運動異常症の病態生理の統一的理解（南部　篤，畑中伸彦，知見聡美，佐野裕美）
大脳基底核における上肢運動キャンセル課題遂行中の活動調節（畑中伸彦，南部　篤）
喪失四肢の脳内表現（Pimpimon Nondhalee，畑中伸彦，南部　篤）
パーキンソン病モデルサルにおける小脳活動（知見聡美，南部　篤）
マーモセット脳機能解析のための神経活動測定技術の開発（纐纈大輔，南部　篤）

神経ダイナミクス研究部門 ········· 44

概　要
頭皮脳波信号による E/I バランスのデータ同化推定手法の開発（横山　寛，北城圭一）
半側空間無視における同期能力の半球間バイアス：定常視覚誘発反応からの洞察
（岡崎由香，服部憲明，河野悌二，畠中めぐみ，宮井一郎，北城圭一）
選択的一貫性仮説による，神経応答と脳機能に一貫性をもたらすメカニズムとその機能的意義についての理解
（後藤優仁，北城圭一）

心理生理学研究部門 ········· 45

概　要
触覚の時間予測誤差処理の中帯状皮質レイヤー特異的活性化: 7 テスラ fMRI 研究
（福永雅喜，定藤規弘，楊　家家，于　英花，Laurentius Huber）
統合失調症の脳構造非対称性 -ENIGMA コンソーシアムによる大規模脳画像解析-
（福永雅喜，Dick Schijven, Merel C Postema, Clyde Francks，Paul M Thompson，Jessica A Turne，Theo G M van Erp，松本純弥，三浦健一郎，橋本亮太）
みつめあいと共同注意の神経基盤の関連性：Dual MRI を用いた研究
（小池耕彦，土元翔平，小笠原香苗，橋口真帆，定藤規弘）
ひらめきに関係する神経基盤の解明：RAT 課題と RAVEN 課題を用いて
（小池耕彦，山本哲也，吉岡　歩，小笠原香苗，土元翔平，橋口真帆，原田　勉，定藤規弘）
スムースな情報共有の学習に関連した神経基盤の解明：迷路ゲーム課題を用いて（小池耕彦，角谷基文，定藤規弘）
映像に対する意見交換が映像視聴に与える影響の検討：Dual fMRI を用いて
（小池耕彦，Angela Zhang，Reza Farivar，定藤規弘）
脳機能種間比較に向けた非ヒト霊長類 MRI / fMRI 解析環境の開発と適用（郷田直一，福永雅喜，定藤規弘）
光遺伝学 fMRI によるサル大脳小脳連関トポグラフィーの可視化
（郷田直一，長谷川　拓，纐纈大輔，知見聡美，菊田里美，佐野裕美，小林憲太，南部　篤，定藤規弘，福永雅喜）
情報エントロピーによる HCP 最新ヒト大脳皮質分画地図とレガシーMRI データの対応性の評価
（山本哲也，福永雅喜，定藤規弘）
高品質な課題 fMRI オープンデータベース構築のための汎用的な時系列ノイズ除去手法の開発
（山本哲也，福永雅喜，定藤規弘）
二者間の社会的行動選択中の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究
（土元翔平，小池耕彦，吉岡　歩，小笠原香苗，山本哲也，福永雅喜，定藤規弘，二宮太平，則武　厚，磯田昌岐）
ヒトを対象とした他者の報酬情報に関連する神経基盤
（土元翔平，吉岡　歩，伊津野　巧，花田捺美，小笠原香苗，山本哲也，小池耕彦，福永雅喜，定藤規弘，則武　厚，二宮太平，磯田昌岐）
セラピストの congruence の高い返答が相談者の不安を軽減させる神経基盤の検討
（橋口真帆，小池耕彦，土元翔平，小笠原香苗，伊津野　巧，定藤規弘）
高プレッシャー下でのパフォーマンス低下の神経基盤: 7 テスラ MRI を用いた検討
（小笠原香苗，小池耕彦，福永雅喜，吉岡　歩，山本哲也，定藤規弘）
社会的報酬によるアンダーマイニング効果の神経基盤（綾部宏明，小池耕彦，定藤規弘）
連続的な知覚意思決定におけるメタ認知の神経基盤（南條啓孝，山本哲也，宮田紘平）
認知機能の時系列的活動レベル推定（小山雄太郎，山本哲也，平山淳一郎，地村弘二，定藤規弘，近添淳一）
対人交流時の視点取得による感情制御に関連する神経基盤の検討（伊津野　巧，小池耕彦，定藤規弘）
発話動作に基づく音象徴の神経基盤（鳴川　紗，村井翔太，小林耕太，定藤規弘，福永雅喜）
感情経験が左右する処罰評価を自己および他者視点取得の選定により統制できるか（花田捺美，定藤規弘，福永雅喜）

感覚認知情報研究部門 …… 53

概　要

眼科疾患が白質線維束に及ぼす影響の検討
（小川俊平，堀口浩史，増田洋一郎，吉川啓司，中野　匡，竹村浩昌，宮崎　淳，松元健二）

定量的 MRI を用いたヒト外側膝状体の下位領域の計測（大石浩輝，竹村浩昌，天野　薫）

機能的 MRI および拡散強調 MRI によるヒト初期視覚野と白質線維束の関連の分析
（宮田季和，竹村浩昌， Noah C. Benson，Jonathan Winawer）

拡散強調 MRI データ解析による視覚白質線維束の種間比較
（竹村浩昌， 兼子峰明，Chet C. Sherwood，G. Allan Johnson，Markus Axer，Frank Q. Ye，David Leopold）

研究連携センター …… 56

概　要

共同利用研究推進室 …… 56

概　要

学術研究支援室 …… 57

概　要

NBR 事業推進室 …… 58

概　要

脳機能計測・支援センター

多光子顕微鏡室 …… 59

概　要

シナプス可塑性における短時間-長時間変換シグナルのメカニズムの解明
（長澤裕太郎，佐藤愛子，平田華代，村越秀治）

CaMKII 分子の高速 AFM イメージング（村越秀治，長澤裕太郎，柴田幹大）

親水性を大きく改善した蛍光タンパク質の開発（村越秀治，小杉貴洋）

新規レーザーによる 3/4 光子顕微鏡の開発（村越秀治，植田大海，長澤祐太郎，藤　貴夫）

電子顕微鏡室（窪田グループ） …… 60

概　要

ラットの前頭皮質における視床前外側核 (VL) 由来神経終末のシナプスターゲット構造
（窪田芳之，江川尚美，北 啓子，江藤智子，倉本恵梨子）

シナプス可塑性の空間広がりを明らかにする生化学シグナル伝達シミュレーション（浦久保秀俊，窪田芳之）

生体機能情報解析室 …… 61

概　要

三叉神経瞬目反射プレパルス抑制の標的部位（バヤスガラン･ボルギル, 伊東保志, 新垣　愛， 乾　幸二，木田哲夫）

時系列細胞現象解析室 …… 62

概　要

エタノールの EAAT 機能亢進作用：シグナル機構の検討（佐竹伸一郎）

皮質領野間結合回路における学習形成の制御機構（大塚　岳）

行動・代謝分子解析センター

ウィルスベクター開発室 …… 64

概　要

ウィルスベクターの提供による共同研究の推進（小林憲太）

脳機能解析に有用なウィルスベクターシステムの開発（小林憲太, 南部　篤, 佐野裕美）

細胞内シグナル伝達分子の活性操作による新しいパーキンソン病治療法の探索（小林憲太, 南部　篤, 佐野裕美, 貝淵弘三）

遺伝子改変動物作製室 …… 65

概　要

ラット多能性幹細胞からの機能的始原生殖細胞の分化誘導（小林俊寛，平林真澄）

多階層生理機能解析室 …… 65

概　要

ドーパミン D2 受容体発現神経細胞 NMDA 受容体活性化マウスにおける大脳基底核内情報伝達の異常
（知見聡美，南部　篤，笹岡俊邦，齊藤奈英）

褐色脂肪組織の機能異常は trimethylamine N-oxide 依存性に心不全を増悪させる
（吉田陽子，清水逸平，南野　徹，岡本士毅，箕越靖彦）

心臓の圧受容反射応答（陽性変力作用の増強）における TRPC6 チャネル依存的 Zn^{2+}流入の役割と心不全への治療応用
（西山和宏，加藤百合，西村明幸，西田基宏）

カルモジュリンキナーゼ II 活性と不安様行動（山肩葉子，柳川右千夫）

情動，学習・記憶に関わる行動解析実験の支援（山肩葉子，西島和俊）

動物資源共同利用研究センター …… 68

概　要

技術課 …… 71

概　要　　（大河原　浩，吉村伸明）

施設の運営状況

①脳機能計測･支援センター

(1) 磁気共鳴装置（生体機能情報解析室）　　（伊藤嘉邦，岩瀬 恵）

(2) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）　　（石原博美，山口　登）

(3) 機器研究試作室（生理研・基生研共通施設）　　（佐治俊幸）

②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，稲垣茉利子）

③岡崎共通研究施設

(1) 動物資源共同利用研究センター　　（廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美，山中　緑，高橋伸明）

分子細胞生理研究領域

神経機能素子研究部門

【概要】

イオンチャネル・受容体・G タンパク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，神経機能素子の変異体やキメラ分子の作成，tag の付加，非天然蛍光アミノ酸の導入等を進め，卵母細胞，HEK293T 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，蛍光非天然アミノ酸を用いた膜電位固定下蛍光変化測定等の光生理学的手法により，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，赤外分光による膜タンパク質の構造変化の解析等も行っている。以下に，今年度実施した研究課題とその内容の要約を記す。

THIK-1 チャネル活性化に関与する第 2 および第 4 膜貫通部位の解析

立山充博，久保義弘

THIK-1 チャネルは，4 つの膜貫通部位と 2 つのポア領域を有する 2 ポア型カリウム（K2P）チャネルファミリーに属し，アラキドン酸（AA）により活性化する。我々は，Gq 共役型受容体（Gq-R）が THIK-1 チャネルを活性化することを見出した。Gq-R の THIK-1 チャネル活性化機構解明のため，紫外線照射により近傍のアミノ酸残基と反応する人工光クロスリンクアミノ酸（4-azido-phenylalanine, AzP）をチャネルの第 2 あるいは第 4 膜貫通部位（M2, M4）に導入し，紫外線照射後に Gq-R の作用を阻害する部位を検索した。実験では，アンバーコドンとこれに対応する tRNA を利用し任意の部位へ AzP 導入し，AzP 導入チャネルを CHO 細胞に発現させホールセルパッチクランプ法により電流を記録した。20 種の AzP 導入チャネルのうち，Gq-R 反応を維持していたものは 18 種であり，紫外線照射後に Gq-R 反応が阻害されていたものは 6 種であった。この 6 種のアミノ酸残基は，M2 および M4 が交差する部分に集中していた。この結果は，M2 および M4 が近接する部位での光クロスリンク反応によるチャネル構造の固定化のため，Gq-R 反応による構造変化が阻害されたことを示唆する。

Two-pore Na^+ channel のゲーティングモード切り替え機構の解析

下村拓史，山本友美，久保義弘

Two-pore Na^+ channel (TPC) は，膜電位依存性カチオンチャネルファミリーに共通する基本単位を同一分子中に 2 つ有するという特徴的な分子構造を持つ。このうちドメイン I はホスホイノシチド（PI）結合領域を有する一方，ドメイン II は膜電位感知に主要な役割を果たし，これら２つの刺激がチャネルの開口を促す。特にドメイン II においては，4 番目のヘリックス（DII-S4）が膜電位に応じて構造変化することが膜電位感受性の実体で

ある。各 TPC サブタイプは 2 つの刺激に対してそれぞれ異なる応答性を有しているが，この違いがどのようにして生じているかはよくわかっていなかった。

我々は，TPC において，DII-S4 の状態に依存してチャネルのゲーティングモードがスイッチされることを見出した。膜電位固定下蛍光測定法により TPC サブタイプ 3（TPC3）の DII-S4 の動きを蛍光でトレースしチャネル電流と比較したところ，DII-S4 は脱活性化状態と活性化状態の他に中間状態をとることがわかった。DII-S4 をこの中間状態に固定化する E447R/F514E 変異体では，本来主に電位依存性のチャネルである TPC3 においてその電位依存的な開口は抑制され，強く PI 依存的なチャネルに変換された。一方，本来 PI 依存性のチャネルである TPC2 に対してこれに相当する変異を導入した場合には，その PI 依存性は損なわれなかった。これらの結果から，TPC は PI 依存性のゲーティングに対応した中間状態を備えたユニークな電位依存性カチオンチャネルであることが明らかになった。

遷移金属イオン蛍光共鳴エネルギー移動法による電位依存性カチオンチャネルの解析

平澤輝一，立山充博，下村拓史，久保義弘

膜電位依存性カチオンチャネルは 4 番目の膜貫通ヘリックス（S4）に複数の正の荷電残基を有しており，膜電位変化に応じてこの S4 が構造変化を起こす。Two-pore Na^+ channel (TPC) 3 は単量体中に 2 種類の S4 を持ち，主に 2 番目の S4 (2^{nd} S4) が膜電位センサーとして機能する。また 2^{nd} S4 の構造変化はホスホイノシチドによって制御される。一方，電位依存性 H^+ チャネル（Hv）はその膜貫通ドメインが S4 を含む 4 本のヘリックスからなり，6 本からなる典型的なチャネルとは異なる。これらの特徴的なチャネルの S4 も非典型的な構造変化を起こす可能性があるが，その詳細は不明である。そこで本研究では，蛍光分子と遷移金属イオン（tm）の間の蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の変化を指標に，S4 の構造変化を具体的に捉えることができる tmFRET の実験を行った。FRET ペアとして蛍光非天然アミノ酸の Anap と，システイン（Cys）修飾が可能な TETAC-Cu^{2+} 錯体を用いた。S4 の細胞外領域に Anap を導入した TPC3 並びに Hv は，ツメガエル卵母細胞により良好に発現された。Anap 導入部位の周辺の残基を Cys に変異させ，TETAC-Cu^{2+} 錯体でラベルし，Voltage Clamp Fluorometry 法により FRET 変化の検出を試みたところ，大きな FRET 変化が検出されず，錯体ラベル方法の最適化の必要性が示された。

Regulation of muscarinic acetylcholine receptor M2 by Sigma-1 receptor

劉　暢 (Chang Liu)，久保義弘
Ruth Murrell-Lagnado (School of Life Sciences, University of Sussex)
陳　以珊 (I-Shan Chen)（和歌山県立医科大学医学部薬理学講座）

Sigma-1 receptor (S1R) is a protein expressed mostly on the endoplasmic reticulum (ER) membrane. It has been implicated in various psychiatric and neurological disorders such as Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). S1R can redistribute from ER to plasma membrane (PM) or ER-PM junction to interact with various membrane proteins like NMDAR, STIM1, IP_3R, voltage-gated K^+ and Na^+ channels etc., subsequently inducing different effects via these proteins respectively. S1R has been reported to postsynaptically colocalize with muscarinic acetylcholine receptor M2 (M2R) on the soma of motoneurons in the mouse brainstem and spinal cord while the functional aspects were remained unknown. Thus, we would like to clarify whether and how S1R could interact with M2R using HEK293T cells as an in vitro expression system. By patch-clamp recordings from transfected HEK293T cells, we observed S1R inhibits the function of M2R, but not

other $G_{i/o}$ coupled receptors such as M4R. By immunohistochemical staining, we observed that the expression level of M2R on the plasma membrane (PM) is not down regulated by S1R and that S1R is closely localized to M2R. By co-immunoprecipitation, the physical interaction of M2R and S1R was confirmed. By analyzing various chimeras and mutants between M2R and M4R, we identified Glu172 and Glu175 of M2R on the extracellular loop 2 region, and also Ala401 on transmembrane 6 domain (TM6) are essential for the inhibition by S1R. Taken together, our data show that S1R inhibits, not the expression on the PM, but the function of M2R via the extracellular loop 2 and TM6.

Structural determinants of the direct inhibition of GIRK channels by Sigma-1R antagonist

劉　暢 (Chang Liu)，立山充博，久保義弘
陳　以珊 (I-Shan Chen)（和歌山県立医科大学医学部薬理学講座）

G-protein-gated inward rectifier K^+ (GIRK) channel has four subfamily members which are GIRK1, GIRK2, GIRK3 and GIRK4, and they form functional homotetramers or heterotetramers which contribute to the regulation of the excitability of cardiomyocytes and neurons. BD1047 is one of the representative antagonists of Sigma-1 receptor (S1R). In the analysis of the effect of S1R on the membrane proteins, we tried to inhibit the function of S1R using BD1047 in the patch-clamp study, and unexpectedly observed that BD1047 directly inhibits GIRK channel current even without the expression of S1R. We aimed to clarify the effect of BD1047 on GIRK channels as well as the structural determinants. We performed two-electrode voltage clamp experiments using Xenopus oocytes as in vitro expression system. It has been found that BD1047 directly inhibits the current of GIRK channels. BD1047 has a weak inhibition effect on GIRK2 channel and a remarkable inhibition effect on GIRK4 channel. A GIRK4-GIRK2 chimera which contains only the cytoplasmic N-terminal of GIRK4 showed a strong inhibition effect by BD1047. Leu77 on the N-terminal of GIRK4 is essential for the inhibition effect. Molecular docking analysis indicated the importance of the Leu77 for the docking. The activator of GIRK channel, ivermectin, competes with BD1047 at Leu77 on GIRK4. BD1047 also inhibits the ACh-induced GIRK current in isolated atrial myocytes from rat. The data demonstrate that BD1047 directly inhibits the current of GIRK channels and GIRK4 Leu77 is essential for the inhibition effect by BD1047.

新規ウミカラマツ由来毒素の同定

下村拓史，久保義弘
本間智寛（東海大学，生物学部）

数多くの海洋性動物は毒素を有し，そのいくつかは古来より毒あるいは有用な薬として人類にも恩恵をもたらしてきた。一例として，イソギンチャクなどの刺胞動物はイオンチャネル阻害剤などの毒素を持つことが知られている。本研究では，同じく刺胞動物の一種でツノサンゴ目に属するウミカラマツおよびムチカラマツ由来の毒素について，ツメガエル卵母細胞を用いた電流測定系による毒素活性の測定・スクリーニングを行った。これまでの解析により，これら 2 種のカラマツ抽出液を，分子量の違いにより分離を行うゲルろ過クロマトグラフィー法により精製して得られた各画分の溶液を卵母細胞に投与し，イオンチャネル活性を有するものを同定していた。この毒素タンパク質は，細胞膜に侵入しチャネルを形成するものと想定される。また，分子量などか

ら判断して，これらは新規のペプチド毒素と推定されていた。さらに精製純度を上げる目的で，毒素活性を有する画分を，標的の荷電状態により分離する陰イオン交換クロマトグラフィー法によりさらに分離・精製した。得られた各画分を再度電流測定系により毒素活性の有無を確認することで，より精製純度の高いものが得られた。この画分を用いてプロテインシークエンスを行った結果，部分的なアミノ酸配列の決定に成功した。決定されたアミノ酸配列について他のタンパク質との相同性解析を行ったところ，イソギンチャクの溶血毒素との相同性が認められ，機能解析の結果とよく合致することがわかった。今後は，この新規毒素の cDNA クローニングおよび詳細な作用機序の解析を進める予定である。また，これらとは別にイソギンチャク近縁種の粗抽出液に対して同様のスクリーニングを行い，新規毒素の同定を狙うことを計画している。

生体膜研究部門

【概要】

生体膜研究部門では，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研究を行っている。具体的には，脳の速い興奮性シナプス伝達の大部分を司る 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，AMPA 受容体制御分子として，てんかん関連リガンド–受容体である LGI1–ADAM22 複合体を見出した。また，AMPA 受容体のシナプス局在を制御する足場蛋白質 PSD-95 のパルミトイル化酵素 ZDHHC 蛋白質と脱パルミトイル化酵素 ABHD17 を見出してきた。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イル化修飾の定量的解析法などの新しい実験手法を開発し，超解像イメージング，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病態機構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，どのようにしてシナプス形成，成熟，可塑性を制御しているのか，さらにはマウス・ヒトの記憶，学習，認知機能に関与するのかを明らかにすることを目指し，研究を展開している。

難治性乳幼児てんかんにおける ADAM22 てんかん脳症の病態メカニズムの解明

深田優子，宮崎裕理，平野瑤子，深田正紀

てんかんは罹患率 1％ ほどの頻度の高い脳疾患で，脳の神経細胞や神経回路の異常興奮により引き起こされる。我々はてんかん原因遺伝子 LGI1 の受容体として ADAM22 を見出し，その機能解析を進めてきた。2016 年には ADAM22 の複合ヘテロ接合型変異を有する最初のてんかん患者症例を報告した。その後，さらに 17 カ国の遺伝学者，臨床医との連携を進めて，ADAM22 の変異を有し，難治性乳幼児てんかん症状を示す 19 名の常染色体潜性遺伝のてんかん脳症患者を見出した。さらに病態メカニズムとして，ADAM22 蛋白質の（1）成熟異常，（2）発現量の低下，（3）細胞膜表面での発現低下，（4）LGI1 リガンドとの結合不全，そして（5）PSD-95 足場タンパク質との結合不全を見出した。本研究成果より，「ADAM22 てんかん脳症」という新たな疾患分類を提案した。

（van der Knoop MM*, Maroofian R*, Fukata Y* et al. *Brain* 2022, 145, 2301）

知的障害と関連する脳内分泌蛋白質 LGI3 の性状解析

宮﨑裕理，深田優子，深田正紀
大塚　岳（時系列細胞現象解析室）
三宝　誠，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）
佐野裕美（生体システム研究部門/藤田医科大学）
山肩葉子（多階層生理機能解析室）

LGI ファミリー遺伝子（LGI1～4）の変異は中枢及び末梢神経系の異なる神経疾患を引き起こすことが知られている。近年のヒト遺伝学的研究によって，LGI3 遺伝子変異と遺伝性神経疾患（知的障害）の関連性が報告され，LGI3 が正常な脳活動に寄与している可能性が示された。しかし，LGI3 の生理機能は十分に理解されておらず，特に LGI3 の脳内発現，細胞内分布，結合蛋白質（受容体）等については未だ不明である。そこで本研究では，LGI3 の生理機能を解明することを目指した。我々は LGI3 遺伝子にエピトープタグを付加したノックインマウスおよびノックアウトマウスを作製した（平林グループとの共同研究）。2022 年度は，このノックインマウスを用いて，マウス脳内の LGI3 結合タンパク質の網羅的な同定を試み，LGI3 が LGI1・LGI4 の受容体である ADAM22 ファミリータンパク質と相互作用することを見出した。また，LGI3 ノックアウトマウスの性状解析を推進した。

シナプス構成蛋白質と液-液相分離

Teh Zhi Hui，深田優子，稲橋宏樹，深田正紀

神経シナプスでは，シナプス前部と後部が協調して作動して，神経細胞間の情報伝達が行われる。近年の超解像観察により，シナプス前部の神経伝達物質放出に関わる蛋白質とシナプス後部の受容体集積に関わる蛋白質は，シナプス膜局所でナノドメインを形成しており，これらがナノスケールで対面整列することが精緻なシナプス伝達に重要であることが分かってきた（シナプス-ナノカラム仮説）。一方，PSD-95 や SynGAP 等のシナプスタンパク質は試験管内で液-液相分離（相分離）を介して膜によらない区画（液滴）を形成するが，シナプス-ナノカラム構築における相分離の生理的意義は明らかではない。本研究では，（1）“種々のシナプス構成タンパク質が相分離を駆動し，ナノカラムを構築維持する”という仮説を検証し，（2）構成タンパク質の疾患変異がナノカラム形成と相分離に与える影響を明らかにすることを目的とした。2022 年度は，様々なシナプス構成タンパク質を組換えタンパク質として精製し，試験管内で液-液相分離を検証することが可能な実験系（沈降実験やイメージング実験等）を構築した。

ZDHHC 酵素群欠損組織/細胞を用いたパルミトーム解析

横井紀彦，深田優子，深田正紀
小林憲太（ウィルスベクター開発室）
崎村建司（新潟大学）

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。PSD-95 は AMPA 受容体をシナプス後部膜にアンカリングする足場タンパク質

であり，我々はこれまでに PSD-95 がパルミトイル化酵素 ZDHHC2 を代表とする複数のパルミトイル化酵素によって，パルミトイル化されることを報告してきた。そこで, 新潟大学の崎村博士との共同研究で ZDHHC2 ノックアウトマウスを作製し，ZDHHC2 によるパルミトイル化の生理的意義を検証した。予想に反して，ZDHHC2 ノックアウトマウス脳においては, PSD-95 のパルミトイル化レベルは大きく変化しなかった。そこで, 他の ZDHHC 酵素ファミリーによる機能的冗長性，相補性が考えられたため，培養神経細胞において，23 種類の ZDHHC 蛋白質の中から複数の ZDHHC 酵素を Crisper/Cas9 法を用いて欠損させ, PSD-95 のパルイトイル化レベルを検証した。その結果, PSD-95 のパルミトイル化レベルを低下させる ZDHHC 酵素の組み合わせを見出すことに成功した。また，並行して，上述のパルミトイル化酵素群を欠損させた組織や細胞を用いたパルミトーム解析を行い，酵素特異的な基質の探索を開始した。

PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析

江川孝彦，横井紀彦，宮崎裕理，深田優子，深田正紀

足場蛋白質 PSD-95 は, 興奮性シナプス後肥厚部（PSD）に濃縮し，AMPA 受容体など様々なシナプス膜タンパク質を裏打ちすることにより，シナプス伝達やシナプス形成の中核的な役割を果たす。PSD-95 が PSD に局在，濃縮するために，パルミトイル化脂質修飾が必要不可欠である。そして，パルミトイル化修飾が可逆反応であり，外界刺激に依存して変化することからその制御機構の解明が求められている。最近，我々は PSD-95 脱パルミトイル化酵素として ABHD17A/B/C を同定した。しかし，ABHD17 の脳内発現，細胞内局在，基質特異性，活性制御機構，生理機能については未だ不明である。本研究では ABHD17 にタグを挿入したノックインマウスを用いて，ABHD17 に相互作用する分子の探索を行った。2022 年度は新たに見出した ABHD17 相互作用分子の生理的なパルミトイル化修飾の解析を進めた。

Tyrosinse のパルミトイル化によるメラニン形成制御

上山健彦（神戸大学）
奥　慎一郎，深田優子，深田正紀

Tyrosinase はメラニン合成の律速段階を担う。神戸大学の上山博士によって，培養細胞や 3 次元皮膚モデルにおいて，パルミトイル化阻害剤 2-bromopalmitate が Tyrosinase の分解を抑制し，メラニン量を増加させることが見出された。我々は共同研究として，Tyrosinase のパルミトイル化酵素として DHHC2，3，7，15 を同定した。続いて本研究では，これらの DHHC 酵素のノックダウンによって Tyrosinase の分解が抑制されることが見出された。さらにこれら DHHC 酵素がそれぞれの局在する細胞内小器官において，Tyrosiease のパルミトイル化を担うことが明らかにされた。

（Niki et al. *J Invest Dermatol* 2022, 143, 317-327）

イオンチャネルポアを有さない電位センサー蛋白質 TMEM266 の生理機能解析

河合喬史，岡村康司（大阪大学）
横井紀彦，深田優子，深田正紀

一般的に電位センサー蛋白質は電位センサー部位とイオンチャネルポア（細孔）部位を有し，電位依存性イオンチャネルを形成する。一方，小脳顆粒細胞に発現する電位センサー蛋白質 TMEM266 はイオンチャネルポアを有さず，その生理機能も明らかでなかった。我々は大阪大学岡村博士との本共同研究において，TMEM266 の生理機能を明らかにするために，TMEM266 への結合蛋白質を調査した。その過程で, 60 kDa の全長型の TMEM266（fTMEM266）以外に電位センサー部位を含む 35 kDa の短鎖型（sTMEM266）も発現していることを見出した。本研究ではさらに，fTMEM266 と sTMEM266 がホモダイマーを形成することを明らかにし，TMEM266 ノックアウトマウスの行動解析で，TMEM266 欠損がマウスの行動に弱いながらも影響を与えることを見出した。

（Kawai T et al. *Biochem J* 2022, 479, 1127）

DHHC5 による cdc42 のパルミトイル化のスパイン形成への効果

Alexander Wirth，Evgeni Ponimaskin（Hannover Medical School，独国）
横井紀彦，深田優子，深田正紀

低分子量 GTP 結合蛋白質 Cdc42 は異なる翻訳後修飾をうける 2 つのスプライスバリアントが知られている。一つは広範に発現し，プレニル化修飾を受け，もう一方は脳特異的に発現し，2 箇所のパルミトイル化修飾を受けると予測されていた。ドイツ ハノーバー医科大学の Ponimaskin 博士のグループは Cdc42 の Cys188 のパルミトイル化が Cdc42 の膜局在を決定することを見出してきた。本共同研究では，このパルミトイル化の制御機構の解明のために, 当研究室が開発した APEGS 法を用いて，Cdc42 のパルミトイル化修飾率を調べた。その結果，神経細胞中の Cdc42 が 1 箇所のみパルミトイル化を受けることを明らかにした。さらに，本研究では Cdc42 のパルミトイル化酵素を DHHC5 と同定し, DHHC5 のノックダウンによって海馬におけるスパイン数が減少することを見出した。

（Wirth A et al. *J Biol Chem* 2022, 298, 102048）

慢性炎症性脱髄性多発神経炎に関連する juxtaparanode における抗 LGI4 自己抗体

吉良潤一（国際医療福祉大学大学院）
深田優子，深田正紀

我々はこれまでに，神経分泌蛋白質 LGI1 や $GABA_A$ 受容体に対する自己抗体が自己免疫性脳炎を引きおこすことを報告してきた。今回，国際医療福祉大学大学院の吉良潤一博士との共同研究で慢性炎症性脱髄性多発神経炎（chronicinflammatory demyelinating polyneuropathy; CIDP）の患者の血清を用いて, 血清に含まれる自己抗体がマウスの坐骨神経や後根神経節表面上の蛋白質認識するのか調べた。その結果，133 人の患者の血清のうち，4 人の患者の血清に含まれる抗体が LGI4 を認識することを見出した。坐骨神経では傍パラノード（juxtaparanode）において，自己抗体の染色が認められた。本研究成果から，抗 LGI4 抗体が CIDP の新規自己抗原の一つであることが示された。

（Zhang X et al. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2023, 10, e200081）

生体分子構造研究部門

【概要】

生体分子構造研究部門では，クラオ EM を中心とする先端電子顕微鏡機器を駆使して，生体組織や細菌などの細胞性試料の立体形態観察と，ウイルス粒子，タンパク質複合体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を行っている。前年度末に生命創成探究センターによる 300 kV クライオ EM（TITAN Krios G4）とそのトモグラフィー試料作製装置（Aquios2）が導入され，自前で高分解能のタンパク質構造解析を行うことが可能となった。クライオ EM による共同研究は，タンパク質複合体からウイルス粒子の高分解能単粒子構造解析などに関する課題で，生理研一般共同研究と計画共同研究，ExCELLS 共同研究，AMED BINDS 研究支援ならびに先端バイオイメージング研究支援（ABiS）を通して合計 26 件行われた。本研究部門では，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。

電子顕微鏡による巨大メドゥーサウイルスの形態と成熟過程の解析

渡邉凌人，ソン チホン，香山容子，村田和義
武村政春（東京理科大学）

メドゥーサウイルスは国内の温泉湯だまりで発見された直径約 260 nm の巨大ウイルスで，アカントアメーバを宿主として単離された。そして，これまでの研究から，既知の巨大ウイルスに属さない独立した系統であることが示された。また構造についても正二十面体カプシドの表面が長さ約 14 nm の突起状構造で覆われたユニークな特徴を示した。

メドゥーサウイルス粒子は宿主細胞内外で 4 つの異なるタイプを示し，その形態から DNA-Empty [Empty], Empty-Intermediate [E-I], DNA-Ful [Full], DNA-Fulll-Intermediate [F-I]と名付けた。そして，これらの形態はウイルス粒子の形成過程を表していると考えられたため，メドゥーサウイルスを感染させたアメーバ細胞を数時間ごとに化学固定し，その樹脂包埋切片を電子顕微鏡で観察した。その結果，感染後，宿主内で最初に E-I 粒子が形成され，Empty 粒子へと変化し，そして，複製されたウイルス DNA を取り込むことで，F-I を経て完全な Full 粒子になることが予想された。さらに，これらの詳細な構造をクライオ電子線トモグラフィーにより調べたところ, Empty と E-I 粒子の内膜にはウイルス DNA を取り込むために使用されると考えられる開口構造が確認された。また，クライオ電子顕微鏡による単粒子解析では，Full 粒子は Empty 粒子に比べてサイズがわずかに縮小しており，詰め込まれたウイルス DNA がカプシドと強く相互作用することが示唆された。今回の結果は，巨大ウイルスの成熟過程に新しいモデルを提案した。

Watanabe R, Song C, Kayama Y, Takemura M, Murata K* (2022) Particle morphology of Medusavirus inside and outside cells reveals new maturation process of giant virus. J Viol 96(7), e0185321.

サポウイルスカプシドのクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析

宮崎直幸，ソン チホン，村田和義
片山和彦（北里大学）

サポウイルスは，ノロウイルスと同様に世界中で流行するウイルス性急性胃腸炎の主要な原因物質である。抗ウイルス薬やワクチンの開発には，ウ イルス粒子の詳細な構造情報が必要であるが，サポウイルスではこれら

を研究するためのウイルス様中空粒子(VLP)の作製が難しく，研究が遅れていた。今回，北里大学との共同研究によりヒトサポウイルス GI.6 株で安定な VLP の作製に成功し，クライオ電子顕微鏡単粒子解析により 2.9 Å 分解能でそのカプシド構造を明らかにした。結果，サポウイルス表面の突起構造は，二層の屋根構造からなるアーチ型をしており，他のカリシウイルス科ウイルス とは異なることがわかった。また，カプシドの突起の先端には，アミノ酸の 4 つの超可変領域が集中して存在しており，さらに，これらの隙間に宿 主細胞との結合を担うアミノ酸領域が局在すると推定された。本成果により，サポウイルスに対する治療薬の開発が大きく加速されると期待される。

Miyazaki N, Song C, Oka T, Miki M, Murakami K, Iwasaki K, Katayama K, Murata K* (2022) Atomic structure of the human sapovirus capsid reveals a unique capsid protein conformation in caliciviruses. J Virol 96(9), e0029822.

巨大ウイルス“トーキョーウイルス”の超高圧クライオ電子顕微鏡による構造解析

千原あかね，レイ バートンスミス，ソン チホン，村田和義
梶村直子，光岡　薫（大阪大学）

巨大ウイルスは，粒子サイズも遺伝子のサイズも小型の細菌に匹敵するほど大きなウイルスである。しかし，その構造に関する報告はほとんどない。従来の電子顕微鏡で観察するには大きすぎ，光学顕微鏡で観察するには小さすぎるからである。大阪大学超高圧電子顕微鏡センターとの共同研究により 2016 年に東京の荒川で発見された巨大ウイルス，トーキョーウイルスの構造が明らかにした。共同研究グループは，世界でも数少ない超高圧クライオ電子顕微鏡を用いることでトーキョーウイルスの全体構造を精密に画像化し，その画像を用いて全体構造を 7.7 Å の解像度で明らかにした。粒子表面は，ウイルス粒子に共通なメジャーカプシドタンパク質（MCP）で覆われているが，その直下には，トーキョーウイルスに固有のマイナーカプシドタンパク質（mCP），さらに足場タンパク質（ScP）が存在し，その中には膜（IM）で囲まれたその巨大な遺伝子 DNA が格納されていた。今後，超高圧クライオ電子顕微鏡を用いてさらに多くの巨大ウイルスの構造が明らかになると期待される。

Chihara A, Burton-Smith RN, Kajimura N, Mitsuoka K, Okamoto K, Song C*, Murata K* (2022) A novel capsid protein network allows the characteristic inner membrane structure of Marseilleviridae giant viruses. Sci Rep 12(1):21428.

神経発達・再生機構研究部門

【概要】

近年の研究により，生後脳においても神経幹細胞が存在し，持続的に新生ニューロンやグリア細胞が産生されていることが明らかになった。生理的条件下では，これらの神経新生の制御機構が脳の発達や恒常性の維持に関与している。一方，脳外傷や脳梗塞などの病態的条件下では，神経新生が活性化して，傷害によって失われたニューロンの一部を再生させる。本研究部門では，マウスを用いて生後脳における新生ニューロンやグリア細胞の産生・移動・成熟メカニズム[1-3]および，脳傷害後のニューロン・グリア細胞の再生や脳機能の回復を賦活化する操作技術の開発[4-7]を進めている。さらに，コモンマーモセットやブタなど他のモデル動物におけるニューロン新生を比較し，その制御機構の共通性，多様性を解析している[8,9]。これらの研究において，生理学研究所の他の研究部門の協力を得て，二光子顕微鏡を用いたニューロン再生の生体イメージング（鍋倉淳一教授と共同）や連続ブロック表面走査型電子顕微鏡を用いた新生ニューロンおよび周囲細胞群の微細形態解析（古瀬幹夫教

授，大野伸彦客員教授と共同）を実施している。本研究部門では，上記の研究を通じて，生後脳におけるニューロンやグリア細胞の神経新生メカニズムとその意義を解明し，様々な中枢神経系疾患に対する新たな治療法の開発に貢献することを目指している。

1. Sawada et al., *EMBO J* (2018) **37**: e97404
2. Matsumoto et al., *J Neurosci* (2019) **39**: 9967-9988
3. Kurematsu et al., J Exp Med (2022) e20202304
4. Fujioka et al., *EBioMedicine* (2017) **16**: 195-203
5. Jinnou et al., *Cell Stem Cell* (2018) **22**: 128-137
6. Kaneko et al., *Science Adv* (2018) **4**: eaav0618
7. Ohno et al., *Biomaterials* (2023) **294**:122003
8. Akter et al., *Cereb Cortex* (2020) **30**: 4092-4109
9. Kaneko et al., *Mol Brain* (2020) **13**: 98.

生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析

松本真実，久保山和哉，澤田雅人，澤本和延

生理的条件下において，生後脳の側脳室周囲組織である脳室下帯では，神経幹細胞より持続的に新生ニューロンが産生されている。産生された新生ニューロンは，お互いに接着して鎖状の細胞塊を形成しながら，目的地に向かって高速で移動する。これらの新生ニューロンは，適切な場所で移動を停止させ，成熟ニューロンへの分化を開始する。一方で，脳傷害時には傷害部位へ新生ニューロンが移動し，ごく一部の新生ニューロンが成熟する。しかし，正常脳および傷害脳内の新生ニューロンの移動維持・停止過程における接着様式および制御機構は未だ不明である。

本研究では，細胞構造研究部門との計画共同研究により連続ブロック表面走査型電子顕微鏡を用いて，移動する新生ニューロンの微細形態を 3 次元的に解析している。

本年度は，以下の４つのテーマについて解析を進めた。１つ目として，成体正常および傷害脳内を移動する新生ニューロン間の接着状態を解析した。２つ目として，新生仔大脳皮質傷害脳内を移動する新生ニューロンと周囲細胞群との相互作用について解析した。３つ目として，出生時イベントが生後の脳室下帯の細胞構築に与える影響について解析した。４つ目として，マイクロミニピッグの脳室下帯の細胞構築を解析した。これらの解析から，生後脳における脳室下帯の細胞構築と新生ニューロンの移動および接着制御の関係が明らかになった。

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

荻野　崇，澤田雅人，澤本和延

成体嗅球では，脳室下帯で産生された新生ニューロンが神経回路へ組み込まれる一方，古い嗅球ニューロンは細胞死により除去されている。このようにニューロンがつねに入れ替わることで，嗅球の神経回路の維持および再編成が生じ，嗅覚機能が保たれている。我々は，生体恒常性発達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，ニューロン再生過程における嗅覚入力の役割を明らかにした（Sawada et al., ***J. Neurosci.***, 2011）。しかし，ニューロン再生と周囲の微小環境との関係およびその制御機構はいまだ解明されていない。

新生ニューロンは血管の近傍に存在することが報告されている。本研究ではニューロン再生における微小環境として血管の役割に着目し，多光子顕微鏡を用いて，嗅球におけるニューロン再生の観察と血流の記録を行なった。嗅球内を長期間観察することで，ニューロン再生の様子を捉え，血流との関連性を調べた。これらの結果から，ニューロン再生における血管の役割が明らかとなることが期待される。

生体機能調節研究領域

細胞構造研究部門

概　要

体の様々な器官を構成する上皮は，二つの空間を隔てつつ選択的な物質輸送を行うことにより各器官の液性環境の恒常性を維持している。細胞構造研究部門では，この上皮の本質的な役割に寄与する上皮のバリア機能と透過性制御のしくみを理解するために，細胞間隙における物質透過を制御する細胞間結合の分子構築と機能の解明を進めている。研究の対象はタイトジャンクション（密着結合；TJ），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（tTJ），腸管上皮のバリア機能をショウジョウバエモデルで研究するためのセプテートジャンクション(SJ)である。研究グループで同定してきた細胞間結合の構成分子の機能解析を中心に，分子細胞生物学，遺伝学，電子顕微鏡形態学と生理学的手法を組み合わせて研究を行っている。TJ のコア構造を構成する分子群を系統的に欠失させた培養上皮細胞の解析から，上皮細胞間結合の恒常性維持機構や細胞競合のメカニズム解明につながる研究が発展している。tTJ に関しては，培養上皮中心の研究から個体レベルの機能解析にシフトしつつある。また，SJ による上皮幹細胞の増殖制御に関するシグナル伝達の解明が着実に進展している。細胞内膜系の選別輸送に関する研究も行っている。

クローディン欠失細胞を用いたクローディン分子の機能解析

藤原佐知子，Thanh Phuong Nguyen，大谷哲久，古瀬幹夫

2019 年に発表したクローディン欠失細胞は，イヌ腎臓上皮由来細胞株 MDCK 細胞から発現する主要なクローディンサブタイプ全てをゲノム編集により欠失させることにより TJ を失った上皮細胞である。この細胞にクローディンを再発現させると TJ が再構成されるので，この実験系を用いることにより内在性に発現するクローディンの影響を受けずにクローディン分子の機能解析することが可能である。そこで，TJ の足場タンパク質 ZO-1 と相互作用ドメインを欠失させたクローディン変異分子を安定的に再発現させた細胞を免疫蛍光染色および凍結割断レプリカ電子顕微鏡法で解析したところ，細胞接着部位の最も頂端部にベルト状の TJ が形成されることを見出した。この結果は，ZO-1（およびその近縁分子）との結合がクローディンによる TJ 形成の位置を規定するという通説を覆すものであり，TJ 形成のメカニズム，上皮細胞における細胞膜ドメインに新しい視点を与える。（Fujiwara et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 2022）

上皮細胞の細胞間接着構造の恒常性維持機構の解析

Thanh Phuong Nguyen，大谷哲久，
藤森俊彦（基礎生物学研究所），根本知巳，古瀬幹夫

上皮組織は外界と直接接する組織であるため，様々なストレスにさらされるが，その際にどのようにして上皮恒常性が保たれるのかは十分に理解されていない。私たちは，タイトジャンクションの膜タンパク質であるクローディンファミリー分子群と JAM-A を欠損した細胞において細胞間接着構造が力学ストレスに対して不安定

化することを見出した。クローディン・JAM-A 欠損細胞における細胞間接着装置の不安定化の分子機構を解析した結果，クローディン・JAM-A のトランス相互作用と裏打ちタンパク質である ZO-1 との連結の重要性が示唆された。超解像顕微鏡を用いて ZO-1 の分子構造を解析した結果，正常細胞では開いた構造をとる ZO-1 が，クローディン・JAM-A 欠損細胞では閉じた構造をとることが明らかとなった。これらの結果から，クローディンと JAM-A は ZO-1 の分子構造を制御することにより力学的ストレスに対する細胞間接着構造の安定性を保つことが示唆された。

上皮バリアのホメオスタシスにおける細胞競合の役割の解析

大谷哲久，藤森俊彦（基礎生物学研究所），古瀬幹夫

上皮組織は体表に存在し，様々な化学ストレスや物理ストレスに常に晒される。これらのストレスはしばしば上皮バリアの破綻をもたらすことが知られているが，上皮バリアのホメオスタシスを保証する仕組みはほとんど明らかとされていない。我々は，モデル上皮細胞である MDCK 細胞において，上皮バリアが破綻した細胞株を樹立した。局所的な上皮バリアの損傷に対する上皮組織の応答を検討するために，この細胞と正常細胞を共培養したところ，バリア破綻細胞に選択的に細胞死が誘導されることによって上皮バリアが修復された。このことは，細胞競合によって上皮バリアの恒常性が保たれていることを示している。さらに，上皮バリアが破綻した細胞の除去機構を解析した結果，正常細胞における接着結合と Hippo シグナル伝達経路が異常細胞の排除に重要な役割を果たすことが示唆され，その分子メカニズムの解明を進めた。

ショウジョウバエ腸管幹細胞の増殖における aPKC の関与

泉　裕士，古瀬幹夫

atypical Protein Kinase C (aPKC) は，普遍的な細胞極性制御分子として知られる。最近，ショウジョウバエの腸管上皮において，セプテートジャンクション（SJ）構成分子の欠失による腸管幹細胞（ISC）の増殖亢進に，aPKC が関与することが報告された。SJ はショウジョウバエの上皮バリアに関わる細胞間接着構造である。そこで，aPKC は腸管上皮の異常を検知し，ISC 増殖を促すことで上皮修復に関与するとの仮説を立て，その検証を進めた。腸管上皮細胞で SJ 構成分子 Mesh の発現を抑制し，上皮バリア機能を低下させると ISC の増殖が亢進するが，このとき aPKC も同時に発現抑制すると，ISC の増殖が低下した。さらに，薬剤による上皮損傷で亢進する ISC 増殖も aPKC の発現抑制により低下した。また，Mesh 発現抑制および薬剤で損傷した腸管上皮のいずれでも，aPKC が発現上昇してアピカル膜に局在する細胞が増加していた。従って，aPKC は上皮バリアの機能低下及び上皮損傷を検知し，上皮修復のために ISC の増殖を促すことが示唆された。

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）

我々は，発生過程での個々の細胞と,その構築体である組織の三次元形態形成における，細胞内膜系の動態によるシグナル制御に注目し，その解明を進めている。これまでに，モデル細胞系と発生実験系を相補的に利用し，

平面細胞極性形成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。現在，タンパク質機機能阻害ライブラリーの作製法を新たに工夫し,それを用いたスクリーニングによって，関連する新たな制御因子を探索する実験系の確立を進めている。本年度は,これまで,フローサイトメトリーで検出していたシグナル応答を,少量の細胞溶解液のウェスタンブロッティングにより解析する手法を工夫し,フローサイトメトリー法と対応する結果を得ることができた。現環境では,試料の保存性や多検体化,費用などの点では,こちらの手法のほうが優れるので,この方法をスクリーニングのアッセイ方法として用いることとし,実験を進めている。

細胞生理部門

【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。個体レベルでの研究対象として，主にマウス・ラット・カエル・ショウジョウバエを用いている。

TRPM2 の温度感受性がカルシウムとリン酸化で調節されていることを発見

加塩麻紀子，富永真琴

温度感受性 TRPM2 チャネルは体温により活性化し，深部体温に保たれた様々な臓器で機能している。TRPM2 は，体温に保たれた組織および細胞に発現することから，体温下での機能が何らかのメカニズムにより調節されることで体温センサーとして機能していると考えられるが，その詳細は不明であった。細胞内のカルシウムイオン濃度に依存して TRPM2 を活性化させる温度の閾値が変化することがわかった。さらに，TRPM2 は PKC によってリン酸化を受けることが明らかになった。PKC よってリン酸化が進むと，カルシウムイオン濃度に関係なく活性化温度閾値が高かった。この結果は，TRPM2 のリン酸化が，細胞内カルシウムイオンの作用を打ち消す働きをすることを示している。また，TRPM2 を活性化させる温度の調節に関わるアミノ酸残基を同定した。

（愛知医科大学 増渕 豪悟博士との共同研究）

1) Kashio M, Masubuchi S and Tominaga M. Protein kinase C-mediated phosphorylation of transient receptor potential melastatin type 2 Thr738 counteracts the effect of cytosolic Ca^{2+} and elevates the temperature threshold. J Physiol 600:4287-4302, 2022.

表皮ケラチノサイトでの TRPV3 とアノクタミン 1 の機能連関

山野井　遊，富永真琴

擦り傷，切り傷などで皮膚が傷ついた時には皮膚の表面を覆っている表皮細胞が削り取られてしまう。こ

のような傷が治る際には傷の周囲に残った表皮細胞が増殖し，傷口を再度覆うように移動する。これまで，この表皮細胞の増殖・移動には温度感受性 TRP チャネルの 1 つである TRPV3 が関わることが知られていたが，その詳細は不明であった。TRPV3 の活性化が同じ表皮細胞に発現するカルシウム活性化クロライドチャネルのアノクタミン 1（ANO1）を活性化させることが分かった。さらに，人工的に傷の治りを模した実験で ANO1 の働きを阻害する薬剤の存在下では表皮細胞の動きが遅くなり，増殖も抑制されることが分かった。また，表皮細胞内のクロライドイオン濃度を測定したところ，細胞外のクロライドイオン濃度よりも低く保たれていることが分かった。これらのことから TRPV3 により活性化された ANO1 を介してクロライドイオンが細胞内へ流入することが，表皮細胞による傷の修復に重要と考えられた。（昭和大学 高山 靖規博士，京都薬科大学 細木 誠之博士，京都府立医科大学 丸中 良典博士との共同研究）

1) Yamanoi Y, Lei J, Takayama Y, Hosogi S, Marunaka Y, Tominaga M. TRPV3-ANO1 interaction positively regulates wound healing in keratinocytes. Comms. Biol. 6: 88, 2023.

ショウジョウバエ視細胞の TRP チャネル活性制御に寄与する脂質代謝物の同定

曽我部隆彰，Bradshaw H，富永真琴，Leishman E，Chandel A，Montell C

ショウジョウバエの視細胞は，ロドプシンから PLC を経て TRP チャネルに至るシグナル情報伝達経路のモデルとして長らく研究されてきたが，PLC の下流で TRP チャネルがどのように制御されるかは議論が続いている。そこで，光刺激したハエから急速凍結した頭部を回収して脂質分析を行ったところ，内因性カンナビノイドの一種である 2-linoleoyl glycerol (2-LG) が光刺激依存的に増加することを見出した。この増加は PLC とその下流で働く diacylglycerol lipase 依存的であった。2-LG は異所性発現系において TRPL チャネルを活性化し，単離したハエ視細胞の TRP および TRPL チャネルを活性化した。これまでに，PIP_2 の加水分解にともなう膜変形による機械刺激応答がメカニズムの一つとして提唱されている。2-LG と機械刺激を同時に負荷すると，それぞれ単独の刺激より強い活性化が見られたことから，PIP_2 の加水分解で生じる diacylglycerol とその下流で産生される 2-LG が，共同して TRP チャネルの活性制御に働くことを明らかにした。2-LG はオルソログである哺乳類の TRPC5 や TRPC6 も活性化することを見出し，内因性カンナビノイドによるチャネル制御が進化的に広く保存されている可能性を示した。

1) Sokabe T, Bradshaw HB, Tominaga M, Leishman E, Chandel A, Montell C. Endocannabinoids produced in photoreceptor cells in response to light activate *Drosophila* TRP channels. Sci. Signal. 15(755): eabl6179, 2022.

オタマジャクシが生育環境にあわせて温度依存性行動を変化させる分子メカニズム

齋藤　茂，齋藤くれあ，富永真琴

近年，温暖化による気候変動により，熱波のような極端な気象が増えている。極端な高温や低温は細胞，組織に大きなダメージを与え，時に生死にかかわることから，危険な温度を感じ，逃避する行動応答は動物が生き抜くうえで欠かせない。一方で，動物は進化の過程で多様な温度条件の環境に適応してきた。異なる温度環境に適応した動物種

の間では高温の感じ方が異なることはこれまで知られていたが, 進化の過程でどのように温度の感じ方が変化してきたのか, また進化的変化を生み出す分子メカニズムは分かっていなかった。日本在来で様々な地域に生息する 5 種のカエルのオタマジャクシを用いて, それぞれの種のオタマジャクシの忌避温度を調べ，TRPA1 の機能との関係を解析した。高温に鋭敏に応答して低めの温度で忌避行動を示す種ほど, TRPA1 の温度応答性が高く維持されており，高温逃避行動に TRPA1 が関わっていることが分かった。（広島大学 井川 武博士，鳥取大学 太田 利男博士，岩手医科大学 小巻翔平博士との共同研究）

1) Saito S, Saito CT, Igawa T, Takeda N, Komaki S, Ohta T, Tominaga M. Evolutionary tuning of TRPA1 underlies the variation in heat avoidance behaviors among frog species inhabiting diverse thermal niches. Mol Biol Evol 39: msac180, 2022.

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。当部門では，筋肉の柔軟性や老化を制御する分子機構を病態特異的なタンパク質間相互作用の視点から明らかにし, それを基軸に健康長寿につながる創薬戦略の構築を目指した研究を行っている。また，近年同定された超硫黄分子（反応性が極めて高い硫黄代謝物）をはじめとした硫黄を軸としたレドックス研究から筋組織の再生・修復・成熟化機構についても研究を行っている。今年度は，心筋虚血に対する硫黄代謝の役割について解析を行い，超硫黄分子から硫化水素への Sulfide catabolism が心筋ミトコンドリアの品質異常および心筋早期老化を誘導することを見出した。そして，虚血性疾患に対する治療効果が複数の臨床試験から証明されている海洋天然物 Echinochrome A (Ech-A) は Sulfide catabolism を改善することで心保護作用を示すことを明らかにした。また，グルタチオンは生体内に豊富に存在するトリペプチドであるが, これまで抗酸化能を持つ還元型グルタチオンの重要性のみが議論され, 酸化型グルタチオンの役割についてはあまり注目されてこなかった。今回，酸化型グルタチオンはタンパク質のグルタチオン化修飾を介して, 虚血性心疾患の予後改善に寄与することを見出した。以下に各課題の概要を示す。

Sulfide catabolism を介した心筋早期老化機構

西村明幸，湯　肖康，Zhou Liuchenzi，西田基宏

近年, 超硫黄分子と呼ばれる硫黄原子が複数個連なった硫黄代謝物が生体内から次々に同定された。これら超硫黄分子は従来の硫黄代謝物とは異なり電子の授受に優れたユニークな化学的特性を示すと共に, タンパク質システイン側鎖に取り込まれることでタンパク質の活性や性質に影響を与える。蛍光プローブを用いて心臓組織切片での超硫黄分子とその還元代謝産物である硫化水素をイメージング解析する技術を確立した。この方法を用いて心筋梗塞モデルマウスの心臓では超硫黄分子から硫化水素への Sulfide catabolism が促進されていることを見出した。単離心筋細胞を低酸素条件下で培養した際も同様の硫黄代謝の変化が確認されたことから，低酸素ストレスが Sulfide catabolism を誘導していると予想された。超硫黄分子の枯渇はミトコンドリア分裂促進因子（Drp1）のシステイン 644 番の超硫黄化を抑制することで Drp1 の活性化を引き起こし, ミトコンドリアの異常分裂および心筋細胞の早期老化を誘導することを明らかにした。心筋虚血時に超硫黄分子ドナーを投与することで心筋早期老化および心機能低下が改善したことから，Sulfide catabolism の亢進が心不全の発症に関わることが示唆された。

酸化型グルタチオンによる Drp1 グルタチオン化を介した心筋保護作用の解明

西村明幸，湯　肖康，Kowit Hengphasatporn（筑波大学 計算科学研究センター）
重田育照（筑波大学 計算科学研究センター），西田基宏

タンパク質のグルタチオン化修飾は最も重要なレドックス依存性翻訳後修飾の 1 つであり，様々なグルタチオン化修飾タンパク質が心筋細胞内で同定されているものの心不全との関連性は不明であった。今回，ミトコンドリア品質制御に関与する Drp1 のシステイン 644 番は酸化型グルタチオン（GSSG）によってグルタチオン化修飾されることで自身の活性を負に制御することを見出した。初代培養心筋細胞モデルにおいて GSSG は Drp1 のグルタチオン化を介して虚血ストレスによるミトコンドリア異常分裂および心筋早期老化を改善することを明らかにした。マウス心筋梗塞モデルに対して還元型グルタチオン（GSH）と GSSG をそれぞれ投与し心保護効果を検討したところ，抗酸化剤として知られる GSH 投与では心保護効果は確認されず，GSSG 投与でのみ Drp1 のグルタチオン化および心保護効果が確認された。分子シミュレーションを用いて Drp1 のシステイン 644 番の修飾状態が活性に与える影響について検証し，セリン 637 番とグルタミン酸 640 番を介した相互作用が Drp1 の活性化に関わり，システイン 644 番に超硫黄化やグルタチオン化といったかさ高い修飾が入ることで両者の相互作用が外れ活性が抑制される分子モデルを提唱した。

Echinochrome A による心筋保護作用の解明

西村明幸，湯　肖康，西田基宏

Echinochrome A (Ech-A) は主にウニから抽出される海洋天然物であり，虚血性疾患に対する治療効果が複数の臨床試験から証明されている。マウス心疾患モデルを用いて，Ech-A の作用機序の解明を行った。低酸素刺激によって起こる心筋細胞内での超硫黄分子から硫化水素への Sulfide catabolism は Ech-A 処置により改善されることを見出した。また，In vitro 実験と同様に心筋梗塞処置 1 週後のマウスに Ech-A を 4 週間投与したところ，心臓非拘束領域での硫化水素の蓄積は抑制され，心機能の改善も確認できた。以上の結果から，Ech-A は低酸素ストレス時に起こる Sulfide catabolism を抑制する作用を持つことが明らかとなった。

Tang X et al., *Mar. Drugs.* (2023) **21**, 52

抹消循環における TRPC6 チャネルの役割

冨田拓郎（信州大学 医学部），加藤百合（九州大学 薬学研究院），西村明幸，西田基宏

末梢血管の閉塞によって正常に血液が循環しなくなる末梢循環障害は，内皮細胞を標的とする治療薬が使用されるが，加齢等により既に血管内皮機能が低下している場合その治療効果を発揮することは困難であった。

本研究では，血管平滑筋細胞に発現している受容体作動性チャネルタンパク質 TRPC 6 に着目し，TRPC6 チャネル阻害薬が血管内皮機能に関係なく下肢虚血後の末梢循環障害を改善させることをマウスで明らかにした。さらに，TRPC6 チャネル阻害活性をもつ化合物の中から，下肢虚血後の血流回復を最も強く促進する 1-BP 見いだし，この化合物は虚血後の運動機能も回復させることを明らかにした。

Numaga-Tomita T et al., *Br. J. Pharmacol.* (2023) **180**, 94-110

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）甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝える神経細胞の同定，２）空腹に伴い味覚を調節する神経ネットワークの発見。

グルコース飢餓において炭水化物食の選択的摂取を引き起こす NPY ニューロンの役割

Nawarat Rattanajearakul，中島健一朗，近藤邦生，箕越靖彦

2-デオキシグルコース（2DG）投与により引き起こされる炭水化物嗜好性の上昇は，視床下部室傍核の AMPK 制御型 CRH 産生ニューロンを介する。本研究では，室傍核に投射するニューロペプチド Y (NPY) ニューロンが 2DG による食物嗜好性効果にどのような作用を及ぼすかを調べた。PVH に投射する NPY 神経を探索したところ，室傍核に投射し 2DG によって活性化する NPY ニューロンは，延髄孤束核など複数の部位に存在した。室傍核に投射する延髄孤束核 NPY ニューロンを，オプトジェネティクスにより活性化すると炭水化物嗜好性が上昇し，その後，ゆっくりと脂肪摂取が増加した。これに対して，室傍核に投射する視床下部弓状核 NPY ニューロンは脂肪摂取のみを亢進した。2DG による炭水化物嗜好性は，AMPK 制御型室傍核 CRH ニューロンを抑制することによって消失し，脂肪嗜好性は室傍核 MC4R ニューロンを活性化することによって消失した。このことから室傍核 NPY ニューロンは，異なる神経回路を介して食物嗜好性を調節することが明らかとなった。

外側視床下部・透明帯 GABA ニューロンによる糖代謝調節機構

Yu Long，近藤邦生，箕越靖彦

外側視床下部と透明帯 GABA ニューロンは，これを活性化すると摂食行動が速やかに促進されて摂食量が高まる。しかし，この GABA ニューロンが末梢組織の代謝にどのような調節作用を及ぼすかは明らかとなっていない。本研究では，外側視床下部・透明帯 GABA ニューロンを DREADD 法で活性化して糖代謝に及ぼす効果を調べた。その結果，同 GABA ニューロンを活性化してグルコース負荷試験（GTT）を行うと，グルコース耐性が有意に高まった。さらに，GTT を行わない時の血中グルコース濃度も一過性に低下した。ピルビン酸負荷試験を行うと糖新生が抑制されていた。さらに，肝臓において G6P 量が低下していた。末梢組織の糖取込を調べると，肝臓においてのみ糖取込が増加する傾向があった。以上の実験結果から，外側視床下部・透明帯 GABA ニューロンは，肝臓において糖産生を抑制することによりグルコース耐性を高めると考えられる。

全身の脂肪消費を制御する新たな視床下部神経細胞の同定

近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦

視床下部室傍核（PVH）は，交感神経に投射する神経細胞が存在することが知られており，末梢組織の機能制御に関わる。しかし，PVH には様々な神経細胞が混在しており，どの神経細胞が末梢組織のエネルギー代謝を制御するかは不明な部分が多い。本研究では，末梢組織のエネルギー代謝を制御する PVH 神経細胞の同定を行い，PVH の Nos1 (nitric oxide synthase 1) 発現細胞（Nos1 ニューロン）が骨格筋と褐色脂肪を含むさまざまな組織に投射していることを見出した。

DREADD 法により Nos1 ニューロンを活性化したところ，エネルギー代謝と運動量が増加し，特に脂質の消費量が大きく増加した。一方，Nos1 ニューロンの神経活動を恒常的に抑制すると，明期（休息期）に生じる脂質消費量の増加が抑制された。Nos1 ニューロンの活動は明期に増加しており，Nos1 ニューロンが明期の脂質消費に関わることが明らかになった。

Nos1 ニューロンによる脂質代謝制御のメカニズムを明らかにするため，放射性トレーサーを用いた実験を行った。その結果，Nos1 ニューロンの活性化により骨格筋などを含む様々な末梢組織の脂肪の利用が高まることがわかった。さらに，Nos1 ニューロンの活性化は白色脂肪組織の脂肪分解を促進し，血中の遊離脂肪酸量を増加させた。また，Nos1 ニューロンの活性化により，脂質代謝に関わる末梢組織の交感神経の活動が高まっていた。これらの結果から，Nos1 ニューロンは脂質の産出と利用の両者を促進して全身の脂質の利用を促進する，新たな神経細胞群であることが明らかになった。

ビタミン B1 の脳内感知メカニズムの解明

中島健一朗，近藤邦生，箕越靖彦

食物には三大栄養素(糖・脂質・タンパク質)だけでなく微量必須栄養素も含まれる。このうち，代表的な成分であるビタミン B1 は全身のエネルギー代謝に必須だが，その脳による感知機構は不明であった。

本研究では，マウスをモデルに B1 欠乏性食欲不振と B1 摂取によるそこからの急速な食欲回復のプロセスに注目し，実験を実施した。

活性化している神経で分子ツールを発現誘導できる遺伝子改変マウス（TRAP2 マウス）を用い，B1 欠乏時と回復時に活性化している神経を比較した。その結果，B1 の有無に応じて活動が大きく変化する神経細胞が脳内の複数の部位に存在することが明らかになった。
そこで，そのうちの 1 つである脳幹に抑制型 DREADD を導入し，B1 欠乏時にその神経活動を制御した。その結果，このマウスは対照群とは異なり，B1 を摂取しなくても短期的には食欲が急速に回復した。このことから脳幹内にビタミン B1 を感知し摂食を制御する仕組みがあることが明らかになった。また，この神経の接続先を探索したところ，扁桃体や視床下部の複数の部位への投射が見られたが，経路特異的な抑制実験を実施した結果，特に扁桃体中心核の活動を抑制することが食欲の回復に重要であることが判明した。また，苦い餌を摂取した場合にも扁桃体内の B1 欠乏で活性化する神経が応答することから，この神経は不快な感覚を伝える役割があることが示唆された。

シングル核解析による視床下部室傍核 CRH ニューロンの多様性の解明

菊地晶裕，近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦
郷　康広（生命創成探究センター 認知ゲノム研究グループ）

CRH ニューロンの多様性を明らかにすることを目的に，シングル核 RNA-seq 解析を行った。約 10,000 核のシークエンスデータを用いてクラスター解析を行ったところ，視床下部室傍核の CRH ニューロンは４つのメジャークラスター（A，B，C, D）に分類できた。クラスターA は，グルココルチコイド受容体（*Nc3r1*）などが高発現しており, HPA 軸を介したストレス制御に関与する CRH ニューロン群であると考えられた。また，クラスターB は，*Crh* に加えて *Avp* などを共発現するグルタミン酸ニューロンであり，クラスターC は *Cck* などを共発現する GABA ニューロンであった。一方，クラスターD には栄養状態のセンシングやエネルギー代謝調節への関与が知られる遺伝子群が発現していた。また，Wnt シグナル経路を制御する遺伝子群が高発現しており，新規な CRH ニューロン群であると考えられた。さらに，社会的敗北ストレスによって Wnt シグナルの発現が有意に増加した。今後，クラスターD を中心に，各クラスターの生理的機能を解析して行く予定である。

分子神経免疫研究部門

【概要】

私たちは神経免疫連関の新たなコンセプトとして，2012 年にゲートウェイ (G) 反射を発見した。G 反射では, 血中での中枢神経系や網膜に対する自己反応性 T 細胞の存在下に，重力，痛み，ストレス，光，炎症などの環境刺激や人為的刺激により, 特定の神経回路が活性化し，血液関門を持つ中枢神経系（CNS）などの特定血管においてノルアドレナリンや ATP などの神経伝達物質が放出され, 特定部位の血管内皮細胞が刺激され, NFkB 活性化機構である IL-6 アンプが誘導される。その結果，過剰産生されるケモカインにより自己反応性 T 細胞が集積し, 免疫細胞の組織への侵入口である血管ゲートが形成され，組織特異的炎症性疾患が誘導される。G 反射は様々な病態や生理現象に関与するので, 分子神経免疫研究部門では，新たな G 反射の発見と，既知の G 反射の詳細な神経回路をはじめとする分子機構の解明を目的に研究を行っている。以下に概説するように, 2022 年度は新規の G 反射である「遠隔炎症 G 反射」を報告した。また，2017 年にストレスが引き金になって生じる「ストレス G 反射」を報告したが，2022 年度は，慢性ストレスで自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス（SLE）が増悪する分子機構について論文を発表した。

関節リウマチの左右対称の遠隔炎症を説明する「遠隔炎症 G 反射」

長谷部理絵，村上正晃

関節リウマチ，乾癬，間質性肺炎などの炎症性疾患では，遠隔部位に左右対称性に炎症が生じる。これらの現象を説明しうる分子機構として「遠隔炎症 G 反射」を発見した。IL-6 信号伝達分子 gp130 のアミノ酸置換により，IL-6 依存性の STAT3 シグナルが過剰となる F759 マウスの片側の足関節に IL-6 と IL-17A を投与すると，血管内皮細胞や滑膜線維芽細胞で IL-6 アンプが活性化し, 局所的に ATP が過剰産生される。この ATP が炎症反応を増強すると共に，感覚神経を活性化し，活性化シグナルが L5 脊髄から下部胸髄のプロエンケファリン陽性介在神経を介して反対側の感覚神経に伝達する。さらに，反対側感覚神経から ATP が放出され，反対側足関節で ATP-NFkB 依存性に IL-6 アンプの活性化が起こり，炎症が促進された。コラーゲン誘導関節炎

モデルでも同様の現象が確認されたことから，「遠隔炎症 G 反射」は，遠隔性で左右対称に炎症が起こる様々な疾患に共通したメカニズムである可能性がある（*J Exp Med.* 2022. **219**(6), e20212019）。

ストレスにて自己免疫疾患が増悪する分子機構

阿部靖矢（北海道大学大学院 医学研究院），長谷部理絵，村上正晃

自己免疫疾患の全身性エリテマトーデス（SLE）では，気分障害などを示す精神神経ループス（NPSLE）と呼ばれる重症の病態があるが，その発症機構は不明であった。私たちは，慢性ストレスが NPSLE の病態形成に関与するという仮説を立て，モデルマウスを用いて検証した。慢性ストレス負荷は，正常マウスでは不安を増強したが，SLE モデルでは逆に不安を減少させ，NPSLE 様の脱抑制様行動を誘導した。また，内側前頭前皮質（mPFC）で異常に活性化したミクログリアから IL-12/23p40 が産生され神経細胞を活性化した。これらの変化は IL-12/23p40 中和抗体投与で抑制された。また，健常者や軽症 SLE 患者と比べて，NPSLE 患者ではモデルと同様に髄液 IL-12/23p40 濃度が高く，mPFC の体積が小さいことから，ヒトでも同様の発症機構が関与する可能性が示唆された。従って，SLE における mPFC でのミクログリアからの慢性ストレス誘導性の IL-12/23p40 産生と当該領域の神経回路活性化は，NPSLE の新たな治療標的，診断マーカーとなる可能性がある（*Ann Rheum Dis.* 2022. **81**(11), 1564-1575）。

超微形態研究部門

【概要】

本研究部門では，神経系の発達・機能維持・そして疾患を含む，様々な生命現象における機能の裏付けとなる「かたち」を捉える技術を開発・改良し，その変化と分子メカニズム，役割の関係を理解することを目標に，研究を行っている。その中核をなすのは電子顕微鏡をはじめとするイメージング技術であり，特に Serial block-face scanning electron microscopy (SBEM) による 3 次元微細構造解析では，多くの成果をあげている。また，カーボン含有導電性樹脂を初めて生物観察に応用するなど，SBEM の応用に資する技術開発を行っており，神経系だけでなく，腎臓や血管，ヒト病理組織などを対象として，国内外の多くの研究者との共同研究も行っている。本研究部門の研究で特に注目しているのは，神経系を構成する様々な細胞の相互作用である。神経軸索の周囲に形成される髄鞘は，神経伝導速度を向上させるだけでなく，軸索の生存にも重要な役割を果たす。髄鞘の形成や異常が及ぼす形態学的・機能的変化とそのメカニズム，そしてそれらの制御を行うことによる治療的意義を明らかにしたいと考えている。特に，細胞の中でオルガネラの動態異常は，様々な疾患の病態生理に深く関わっている。髄鞘の形成や異常におけるオルガネラの関与の解明とその制御技術の開発を目指して研究を進めている。

環境変化が髄鞘の構造に及ぼす影響の解明

大野伸彦

本研究は，視覚刺激に注目し，視覚の発達に重要な視覚臨界期に暗い環境で育てた場合，視神経と視交叉の有髄軸索の形態にどのような影響が出るのかを検討した（Osanai et al. 2022）。以前の研究で視覚の刺激が神経の伝達速度に関わる髄鞘の長さに影響を与えることが知られていたが，その長さの計測はオリゴデンドロサイト

のまばらな標識を用いて行われていた。この研究では，新しい方法として免疫染色と組織の透明化を組み合わせ，脳の様々な領域へと応用可能な，髄鞘の長さを正確に測定する手法を開発した。その結果，暗い環境で育てたマウスの視神経と視交叉における髄鞘の長さが短く，厚みが増していたことが分かった。以上から，視覚臨界期における暗所飼育が，成熟した後も神経の構造に持続的な影響を与えることが明らかになった。

オリゴデンドロサイト前駆細胞の超微形態解析

大野伸彦

本研究では，髄鞘が形成される前の，新生後間もない視神経を対象として，中枢神経系において髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトの前駆細胞（OPC）と，他のグリア細胞の 3 次元超微細形態的差異に関する，詳細な解析を行った(Ono et al. 2022)。その結果，OPC と判断される細胞(pOPC)は形が単純で，ゴルジ体を細胞核の周りに集中して有していた。一方で，視神経に多く存在するアストロサイトは，形が複雑で，ゴルジ体も複雑な形状をしていた。さらに，pOPC とアストロサイトの両方が中心体を有し，その中で約 45%の pOPC では短い繊毛が伸びており，20%には中心体周囲に小胞が存在した。これらの結果から，pOPC が繊毛を活発に生成しており，OPC の他のグリア細胞と大きく異なる機能や動態を示していることが示唆された。

基盤神経科学研究領域

生体恒常性発達研究部門

【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と細胞活動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) 新規イメージングおよび操作技術の構築を JST・クレスト研究の分担研究を遂行している。前者は，豊橋技術工科大学・澤田和明教授が開発したイオンイメージングセンサーのマウス生体脳内埋め込み技術の構築と脳活動の記録技術の構築を進めている。また，後者は脳内の神経細胞・グリア細胞の光による高精度の 4 次元時空間制御の技術の構築についてクレスト事業の分担（代表:和氣弘明教授･名古屋大学医学系研究科）として 2017 年度から参画している。

3) 学術変革領域（A）「脳の若返りによる生涯可塑性誘導」に参画し，発達期の感覚経験に依存した神経回路の再編成が成熟後の行動を変える仕組みの解明に向け，新たなモデル系の構築と臨界期メカニズムの解明に取り組んでいる。

新学術領域・研究支援基盤形成事業・先端バイオイメージングに分担（2 光子顕微鏡を用いた生体イメージング支援）として 2016 年度から参画している。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経回路再編機構の解析

堀内　浩，揚妻正和，Dennis Chung，和氣弘明（名古屋大学医学研究科），鍋倉淳一

脳内免疫細胞であるミクログリアの生体内での機能評価をおこなうため，2 光子励起顕微鏡を用いてグリア細胞と神経細胞や脳内微小血管との相互作用の生体脳内観察を行った。今年度は，高確率で精神・神経症状を併発する全身性免疫疾患である全身性エリトマーシスのモデルマウスを用いて，脳内微小血管とミクログリア連関を検討した。

ミクログリアに関しては，同細胞内におけるカルシウム動態の時空間的解析を行っている。活動イベントを個別に抽出・定量することで，ミクログリアの機能活動にはその場に留まる静的な活動と方向性をもって拡散する動的な活動が存在することを見出した。さらに，突起を起源とする動的なイベントの拡散方向を定量的に算出することで，情報伝達の方向性，速度，範囲を定量的に読み出すことに成功した。興味深いことに，分岐点において精密に情報伝達が制御されている所見を得た。現在，ミクログリア周囲の神経細胞をはじめとした活動変化がこれらの時空間的な活動の性質に与える影響を検証している。

また，記憶・情動時における Prefrontal　Cortex における神経回路活動の変化について，計算論手法を用いた解析も行っている。

慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編

竹田育子（名古屋大学医学研究科），小泉修一（山梨大学医学研究科），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，アストロサイトにおける５型代謝型グルタミン酸受容体の再発現によりその活動が亢進していることが判明した。これらの知見に基づいて，慢性疼痛の慢性期（維持期）にアストロサイトを再活性化し，神経回路の可塑性を再度更新させ，異常痛覚を除去する試みを開始した。　慢性疼痛持続期に DREADD システムを用いてアストロサイトを活性化し，さらに障害末梢神経活動のブロックを組み合わせると，長期に痛覚過敏が除去されることが行動実験で確認された。さらに，臨床応用を目指して，慢性痛覚モデルマウスに経頭蓋電気刺激によるアストロサイト活性化と障害末梢神経への局所麻酔薬投与によっても，痛覚過敏が長期的に除去されることが判明した。その脳内メカニズムの解明のため，マウス大脳皮質一次体性感覚野におけるシナプスの変化の長期観察を行った。その結果，末梢神経損傷後，痛覚過敏発症時に形成されたシナプスが有意に消失するが判明した。この結果から，過剰痛覚関連回路に回路再編が起こり，痛覚過敏が除去される可能性が示唆され，研究を継続している。そのメカニズムとして，アストロサイト活性化の下流にミクログリアの活性化が関与していることが判明し，現在シグナルの探索を行っている。

感覚情報処理回路の発達およびその制御機構の解明

鳴島　円・金　叢芸

発達期における視覚関連神経回路の再編とそれによる行動変化の解明を目的として，敵対視覚情報に対する防衛行動である逃避行動とフリージングの切り替えメカニズムに着目した実験系を確立した。現在，発達期の視覚情報の有無が与える影響を解明するための行動実験と，同行動との関連が報告されている上丘において，シナプス特性の電気生理学的解析を行っている。電気生理学的実験では，光遺伝学的手法を用いることで網膜または大脳皮質由来入力を選択的に刺激することに成功しており，シナプス伝達の修飾物質の効果の比較や発達期の感覚経験が与える影響の解明を目指している。

また昨年度より，学術変革領域（A）脳の若返りによる生涯可塑性誘導－iPlasticity－臨界期機構の解明と操作（臨界期生物学）に参画し，視覚系視床（外側膝状体）の視覚経験依存的なシナプス結合パタン維持機構におけるグリア細胞の役割を解明するための研究を開始した。

イオンイメージングセンサの脳内埋め込み技術の構築

堀内　浩（名古屋大学医学研究科），石田順子，鍋倉淳一

JST・戦略的創造研究推進事業（代表：豊橋技術科学大学：澤田和明教授，非標識神経伝達物質イメージングセンサーによる細胞活動可視化システム構築と脳機能の時空間解析）の分担研究として，豊橋技術大学で開発し

たイオンイメージングセンサの脳内埋め込み技術の構築を行っており，大脳皮質内における pH の不均一性などの予備結果が得られつつある。また，癲癇様の電気活動の発生と脳内 pH の変化（低下）が同期していることを見出した。さらに，この pH 変化にはアストロサイトが関連している可能性を示唆する予備実験結果を得ており，癲癇発症予防法の開発に向けた基礎情報を今後積み重ねていく予定である。さらに，自由行動下における計測を可能とするため，小型軽量化・参照電極内蔵化を進めており，実際に動物の行動中の細胞外イオン計測が可能なレベルまで到達した。今後は，さらなる最適化を行いつつ，個体の行動や脳機能に伴うイオン計測を進めていく。

カリウムークロライド共役担体の発現と運動機能回復

Dennis Chang，鍋倉淳一

神経細胞内クロールイオン調節分子であるカリウムークロライドイオン共役担体（KCC2）は障害によってその機能および発現が低下し，GABA の作用が正常細胞における過分客作用から脱分極作用に変化する。この変化が機能回復への影響について，脊髄前角運動神経細胞の軸索を障害させた運動神経損傷モデルを用いて検討した。KCC2 を強制発現させた遺伝子改変マウスでは，運動機能の回復が遅延した。その原因として，回復過程で同細胞への興奮性入力と抑制性入力の変化のバランスが不均衡になることが判明した。障害時に KCC2 の低下による GABA の脱分極性へのスイッチは機能回復には必要であることが判明した。

視覚情報処理研究部門

【概要】

脳機能の発現に必要な神経回路は，胎生期から生後間もない時期に遺伝的プログラムにより大まかに形成され，その後，経験や学習に依存して柔軟に再構築される。このプロセスを経て，生まれ育った環境に適した機能が獲得される。視覚情報処理研究部門では，大脳皮質の情報処理の基盤となる神経回路の動作特性やその発達・可塑性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，主に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）発達期視覚野のシナプス可塑性と視覚反応可塑性メカニズム，３）シナプスの結合特異性とその発達メカニズムの解析を行っている。本年度は，覚醒マウスの大脳皮質一次視覚野から２光子励起カルシウムイメージングを行い，視覚野の 6B 層にある興奮性ニューロンの視覚反応可塑性の解析を進めた。また，発達期に興奮性―抑制性神経結合形成を調整する神経活動を検索した。以下に本年度に行った研究内容の中で，2 テーマについての要約を記載する。

マウス一次視覚野 6b 層ニューロンの経験依存的可塑性

米田泰輔，林　健二，吉村由美子

大脳皮質の神経回路は，その形成過程において経験依存的な可塑性によって調整される。我々はこれまでに大脳皮質最深部である 6b 層において機能解析を行い，発達期マウスの一次視覚野における 6b 層ニューロンの視覚応答特性を明らかにした。本年度は 6b 層ニューロンが経験依存的な可塑性を示すかを評価した。

同一の 6b 層ニューロンからの繰り返し 2 光子カルシウムイメージングによって，6b 層ニューロンが視覚経験

依存的な可塑性を示すことを見出した。また 6b 層ニューロンには安定した視覚応答を示す細胞集団と，顕著な可塑性を示す集団が存在することが明らかになった。

これらの結果は，6b 層ニューロンは経験依存的可塑性によって機能が調節され，大脳皮質のニューロンと協調して働く可能性を示唆する。

マウス一次視覚野 2/3 層における Fast spiking 抑制性細胞－錐体細胞間結合の活動依存的な調節

山本真理子，吉村由美子

大脳皮質の Fast-spiking 抑制性細胞（FS）と錐体細胞（Pyr）間の神経結合調節について神経活動の影響を検討した。一次視覚野 Pyr に興奮性 DREADD を発現させ，2 日間アゴニスト（C21）を投与したマウスの一次視覚野切片標本において，2/3 層の FS と Pyr のペアから同時ホールセル記録により神経結合を解析した。生理食塩水投与群では，野生型マウスと同様に Pyr→FS の EPSC 振幅が大きいペアほど FS→Pyr の IPSC 振幅が大きいという相互関係が観察された。一方，C21 投与群ではこのような関係はみられなかった。さらに上記操作をしたマウスで２光子 Ca イメージングにより Pyr と FS の神経活動を計測したところ，C21 投与群では Pyr の活動増加や FS-Pyr 間の活動相関の上昇が観察された。これらの結果から，Pyr の正常な神経活動は FS-Pyr 間結合の相互な結合調節に必要であることが示唆された。

バイオフォトニクス研究部門

【概要】

本研究部門は，先端的な光レーザー技術を駆使した独自の光イメージング法の開発を通じ，生理機能の創発原理やその分子基盤の理解を目指している。特に，レーザー科学技術，材料科学，画像解析技術を用いて，非線形光学や二光子励起過程による非侵襲的な超深部広範囲のイメージング，超解像イメージングを実現し，中枢神経系の生理機能や生体リズムの研究を推進している。

特に，二光子顕微鏡の超解像化については，新規光技術や画像解析技術を用いて樹状突起スパインの *in vivo* 超解像イメージングの実現を目指し，研究開発を推進した。新規超薄膜を用いた超広視野イメージングの研究開発も推進した。また共同研究を介して新たに計算補償光学技術の開発を推進した。また，高速 3 次元イメージング多点走査型二光子顕微鏡を開発し，マウス脳の神経活動の *in vivo* 高速体積イメージング，アストログリア細胞の Ca^{2+} 動態などの基盤神経科学研究に加え，線虫の母胎中での初期胚の動態，植物細胞の細胞分裂関係における細胞内小器官等の再構成，植物細胞の染色体数の評価などといった多様なサンプルを用いた共同研究にも供している。また新規蛍光プローブやケージド化合物の開発，評価についても計画研究等を通じて実施している。

また，生体リズム研究においては，長期蛍光イメージングシステムにおける概日リズムの細胞生理学的基盤について研究を進めると共に，新たに *in vivo* 内視鏡や蛍光ファイバーフォロメトリー技術を導入することで，冬眠時の脳深部における神経活動や代謝の可視化解析を実施している。

概日リズム，糖代謝，冬眠を制御する神経細胞~回路の光イメージング解析

榎木亮介，廣　蒼太，李　明亮，張　菁圃，根本知己
金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所）
山口良文 (北海道大学 低温科学研究所）
戸田知得（熊本大学大学院 生命科学研究部）
江川　潔（北海道大学大学院 医学研究科）

哺乳類の概日リズムの中枢は，視床下部領域にある視交叉上核に局在する。視交叉上核は約２万個の神経細胞とそれを取り巻くグリア細胞から構成され，ネットワーク全体としては正確でロバストな概日リズムを示すと考えられている。私たちはこれまでに長期間光イメージング計測法を確立し，視交叉上核の神経細胞における細胞内カルシウムや膜電位の概日リズムを報告してきた。現在は，細胞内小器官内（核，小胞体，ミトコンドリア等）のカルシウムリズムの可視化解析の研究プロジェクトが進行中である。北海道大学の江川博士との共同研究では，GABA 作動性細胞で構成される視交叉上核の神経細胞のクロライドイオンの可視化解析が進行中である。また，学術変革領域（B）「冬眠生物学」の助成をうけて，低温環境下における概日リズム発振メカニズムの研究が進行中である。これまでに，　山手キャンパス建物内に冬眠実験室を設置し，シリアンハムスターの冬眠実験を可能とした。現在，冬眠ハムスターの脳内における産熱メカニズムを解析している。名古屋大学の金尚宏特任講師との共同研究では，概日リズムの温度補償性機構に細胞内カルシウムイオンが関与することを見いだしている。金特任講師および山口良文教授との共同研究により，様々な温度帯域においてマウスおよびハムスターにおける概日リズム中枢のリズムの可視法を確立し，低温により停止し，復温により位相リセットされる概日リズム中枢の特性を見いだした（Enoki R *et al., BioRxiv*, 2022）。また熊本大学の戸田知得准教授との共同研究により，冬眠様状態の動物におけるグルコース代謝の解析が進行中である。冬眠様状態を惹起させたマウスは糖尿病様フェノタイプを示すことを見いだしており，そのメカニズムを追求している。

先端光技術を駆使した二光子高速超解像イメージング法の研究

石井宏和，大友康平，坂本　丞，堤　元佐，榎木亮介，根本知己
横山弘之（東北大学未来科学技術共同研究センター）
佐藤俊一，小澤祐市（東北大学多元物質科学研究所）
田辺綾乃，栗原　誠，橋本信幸（シチズン時計㈱）

本研究では，生体深部をサブ細胞スケールで観察できる二光子励起顕微鏡法を応用し，神経科学をはじめとした広範な研究分野の発展に資する高速超解像 *in vivo* 3D イメージング法の実現を目的とする。我々は東北大学横山教授，佐藤教授，小澤准教授と共同研究を行い，これまでに半導体制御による超短パルスレーザー光の発生，透過型液晶素子を用いた光波面補正といった独自の光学技術を開発・統合した超解像二光子励起誘導放出制御（STED）顕微鏡を開発してきた。これにより，従来の二光子顕微鏡に比べて約 5 倍，70 nm の空間分解能を達成した。さらに飛翔時間計測型のサブナノ秒ゲート高感度蛍光検出器を導入した全パルス式二光子 STED 顕微鏡法を確立し，固定脳スライスにおける神経樹状突起スパインを従来法に比べてさらに 1.4 倍高い空間分解能でイメージングすることに成功した（Ishii *et al., PLOS ONE*, 2023）。また緑色蛍光プローブの超解像観察を念頭においた新規パルスレーザー光源系を開発し，　顕微鏡システムに導光した。さらに，焦点面（xy 面）だけでなく，深さ方向（z 方向）に対しても等方な超解像 3D イメージングを実現するための液素子デバイスを新たに開発・導入した。一方, 生体深部の *in vivo* イメージングにおいて，広範囲の３次元空間を高い時間分解能で可視化するこ

とは困難である。そこで，二光子励起発生領域が軸性方向に広がった光ニードルを作成して高速走査する事で，高速 3D イメージング法を可能とする技術開発を進めた（Chang *et al., Sci. Rep*. 2022）。以上の成果の一部に関して解説を公刊した（Ishii, Otomo *et al., Neurosci. Res*. 2022; Ishii *et al., Microscopy,* 2023）。

高い二光子吸収断面積値を有する有機蛍光色素の探索

大友康平，石井宏和，渡我部ゆき，根本知己
喬　琳（北海道大学 電子科学研究所）
有澤光弘（大阪大学大学院 薬学研究科）

大半の蛍光バイオイメージング法においては，可視化対象を蛍光発色団で標識することが必要である。そのため，蛍光発色団を新規に創成する遺伝学，生物有機化学，材料科学等の技術貢献は重要である。我々はこれまでに，二光子顕微鏡や超解像顕微鏡観察に適した蛍光発色団について探索を行ってきた。その探索の過程で，大阪大学大学院薬学研究科の有澤光弘教授らが発見した新規骨格を基に合成した色素が，高い二光子吸収断面積値を有することを見出した（Avena *et al., ACS omega*, 2020）。さらに本色素をベースとした様々な類縁化合物を合成し，分子構造と二光子吸収断面積値の相関を精査した（Avena *et al., Dyes and Pigments,* 2023）。実用的な蛍光量子収率や高い誘導放出効率を両立する色素についてのスクリーニングを進めている。

新規ケージド化合物の二光子励起分解特性の評価

石井宏和，渡我部ゆき，根本知己
菊地和也，蓑島維文，橋本　龍（大阪大学 工学研究科）
加藤晃一，谷中冴子（生命創成探究センター，分子科学研究所）

ケージド化合物とは，生理活性分子に光分解性保護基を結合させて不活性化させた化合物である。顕微鏡下で生理活性分子を任意の場所・時間に局所投与し，活性化分子が関与する生命現象を時空間的に操作・可視化することができる。ただ，汎用的なケージド化合物は紫外光照射によりアンケージングを行うため，生細胞に対する光毒性が問題となる。神経科学においては，ケージドグルタミン酸（e.g. MNI-Glu）などを用いた二光子励起アンケージングにより単一シナプスの可塑性を誘導するという研究アプローチが広く浸透しているが，740 nm 程度の波長で二光子励起分解を誘起できる化合物しかないため，波長選択性が少ない，比較的深部到達性が低いといった問題がある。

本研究では，大阪大学 菊地教授らが新規開発した可視光応答型ケージドグルタミン酸（Sul-HTO-Glu）の二光子励起分解特性を評価した。Sul-HTO-Glu は緑色光照射でアンケージングされ，その分解効率は既存の緑色光応答型ケージド化合物の 2 倍以上といった優れた特性を有していた。我々は Sul-HTO-Glu の二光子励起分解特性を評価する実験系を生命創成探究センター加藤グループと共に確立した。その結果，Sul-HTO-Glu は波長 940 nm の超短パルスレーザー光で二光子励起分解されることがわかった。さらに波長 740 nm で MNI-Glu を同様に光照射した場合の結果と比較したところ，Sul-HTO-Glu の方がより効率的に光分解されることが示唆された。これらの結果を学術論文にまとめ公刊した（Hashimoto *et al., Chem. Sci.,* 2022）。

画像解析による新規超解像法 SRRF の二光子イメージングへの適用

堤 元佐，髙橋泰伽，根本知己
小林健太郎（北海道大学 電子科学研究所）

Super Resolution Radial Fluctuation（SRRF）法は，2016 年にイギリスの研究グループによって発表された，画像解析による新規超解像法である（Gustafsson et al. Nat. Commun. 2016, 17, 12471）。蛍光分子局在化法を基にしており，蛍光強度の空間・時間相関を解析することで，蛍光ピーク位置を決定する。画像解析による手法であることから，既存の蛍光顕微鏡法に容易に適用できることが特長である。我々はこれまでに落射蛍光顕微鏡，共焦点顕微鏡など種々の市販蛍光顕微鏡における SRRF 法の適用条件の検証を行い，本手法に関して国内有数の知見を得てきた。現在，我々は生体深部超解像観察の実現に向けて，二光子顕微鏡法への SRRF 適用（TP-SRRF）の検証を実施している。本年度までに二光子顕微鏡での SRRF 適用条件の最適化を行い，マウス固定脳スライス及び生体脳観察で TP-SRRF による空間分解能の顕著な改善を実証した（原著論文執筆中）。本研究成果について，堤らが 2021 年 9 月に日本バイオイメージング学会にて発表し，同会にてベストイメージング賞（優秀発表賞）を受賞した。

二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用

大友康平，中田開人，安宅光倫，堤　元佐，石井宏和，榎木亮介，根本知己
村田　隆，長谷部光泰（基礎生物学研究所）
中村咲耶，泉　正範（理化学研究所）
上原亮太（北海道大学 大学院 生命科学院）
木村　暁（国立遺伝学研究所）
木村幸太郎（名古屋市立大学大学院 理学研究科）
渡辺実咲，関本弘之（日本女子大学大学院 理学研究科）
中山博史（横河電機㈱）

我々はこれまでにスピニングディスク共焦点スキャナを用いた高速二光子顕微鏡システムの開発に取り組んできた。二光子蛍光を観察する際，その励起領域は対物レンズの集光スポットに限局されるため，検出器に共焦点ピンホールを前置せずとも光学断層像を取得することが可能である。一方で本システムは，ニポウディスクに配したピンホールを通過した蛍光のみを二次元検出器に結像する。共焦点効果は二光子顕微鏡像にも有効であり，構築システムは通常の二光子顕微鏡より 3 割程度高い光軸方向分解能を実現する。本特徴は三次元イメージングにおいて有用性を発揮することから，共同研究・共同利用を通じ，線虫，ゼブラフィッシュ，シロイヌナズナ，マウス，ミカヅキモ等の様々な生体試料中の微細形態の三次元動態観察に供されている。また，最近我々は本顕微鏡をマウス由来初代培養アストロサイトにおける Ca^{2+} イメージングに適用し，高速かつ微小な領域で生じる Ca^{2+} 応答の観察系を確立した（原著論文投稿準備中）。さらに，*in vivo* イメージングのために本システムを正立顕微鏡光学系へ展開し，これに併せたレーザー光源系，焦点面走査機構の要素技術開発を行なった。その結果，本システムによるマウス脳 *in vivo* 高速ボリュームイメージングに関する原理検証実験を成功させた(原著論文執筆中)。

高分子超薄膜のマウス脳 in vivo イメージング応用

髙橋泰伽，大友康平，石井宏和，根本知己
揚妻正和，鍋倉淳一（生理学研究所 生体恒常性発達研究部門）
岡村陽介（東海大学 工学部 応用化学科）

二光子顕微鏡により，生きたままのマウス脳深部の観察を行う場合には，不透明な頭蓋骨を透明で平坦なカバーガラスに置き換える手術が広く用いられる。しかし，観察領域が広いほど手術の難易度は高くなるため，従来は狭い領域のみを観察する研究手法が一般的であり，多くの細胞を観察することは困難であった。これに対して，我々は“どこにでも貼れる”というユニークな性質を有する高分子超薄膜を活用して，マウス脳の *in vivo* イメージングへの応用を行ってきた（Zhang H *et al., PLOS ONE* 2020， Takahashi T *et al.*, *iScience,* 2020）。現在は既存手法を改良した高分子超薄膜と新規素材を併用した観察窓作成法の実証を進めており，手法の光学的特性および炎症評価を終えている。これらの結果をもとに，現在原著論文を査読付き国際雑誌に投稿中である。

二光子顕微鏡による生体組織の深部可視化に向けた計算補償光学技術の開発

髙橋泰伽，大友康平，根本知己
松田厚志（情報通信研究機構 未来 ICT 研究所）

二光子顕微鏡を用いて生体脳組織の深部を観察する上では，主に光路長に存在する試料の屈折率差に由来する光学収差により理想的な結像からのズレが生じてしまい，観察の妨げとなる。我々はこれまでに，独自の透過型液晶素子や空間光位相変調器を活用した補償光学法を開発することで，二光子顕微鏡観察時の球面収差，非点収差，コマ収差の補正を実現してきた。一方，より簡便な方法として，光学素子の新規導入なしに，取得した三次元画像のみから光学収差を推定・補正する手法の開発を行っている（特願 2022-132546）。現在までに，蛍光ビーズおよび生きたままのマウス脳の神経細胞の二光子イメージング像に本手法を応用し，シグナルノイズ比を数十倍にすることに成功している。本年度は，マウス生体脳の神経細胞の形態イメージングへの本手法の応用に関する論文化にあたり，収差を人為的に付与したデータの取得を行い，来年度に向けた原著論文作成への準備を行った。

多細胞回路動態研究部門

【概要】

多細胞回路動態研究部門は，中枢神経系の神経細胞とグリア細胞で成り立つ多細胞回路基盤の高次脳機能に対する生理的機能を明らかにすることを目的として，研究を行っている。そのためにマウスの行動につながる神経回路に関与するグリア細胞の生理的機能を検討し，これを病態につなげることを目指す。これまでの 2 光子顕微鏡による可視化技術に加えて，更に我々が開発したホログラフィック顕微鏡の生物応用を進め，神経細胞間の機能結合やそれを担うトランスクリプトームに着目して，ホログラフィック刺激・計測を用いることで局所神経回路の評価に取り組む。

グリア細胞の生理機能解明

郭　中天，進藤麻理子，高橋奈々，渋下　碧，堀内　浩
杉尾翔太，竹田育子，加藤大輔，和氣弘明

（a）ミクログリア

これまで我々はミクログリアが直接シナプスに接触することを見出しており（Wake et al., 2009），P2Y12 シグナルにより接触シナプスの機能を変化させ，その活動の同期性を調節することを報告してきた（Akiyoshi et al., 2018, Badimon et al., 2020）。

更に炎症により血液脳関門に誘導され初期に保護的に作用していたミクログリアが，炎症の増悪とともに傷害性に働くことも見出した（Haruwaka et al., 2019）。2022 年度は運動学習や異種感覚の可塑性におけるミクログリアの関与を進めた。

（b）オリゴデンドロサイト

我々は活動依存的な髄鞘化とオリゴデンドロサイトの機能的反応について 2 光子顕微鏡と電気生理学的手法を用いて明らかにしてきた（Wake et al., 2011, Wake et al, 2015, Kato et al., 2020）。2022 年度は更にこの細胞応答や分子メカニズムの解析を進めた。

ホログラフィック顕微鏡の構築

谷隅勇太，堀内　浩，加藤大輔，和氣弘明

神経細胞とグリア細胞による回路を時空間的高解像度で操作するため，ホログラフィック顕微鏡を構築した。この顕微鏡は単一細胞の刺激による局所回路機能結合の抽出を可能にし，痛みモデルにおいてその機能結合が変化することを明らかにしている（Okada et al., 2021）。2022 年度は精神疾患モデルマウスにおける局所回路機能結合の変化を抽出しており，今後はこのホログラフィック顕微鏡の生物応用をさらに推進し，神経回路解析に用いる。

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門

【概要】

社会的認知機能の神経機構の解明を目指し，ニホンザル等の非ヒト霊長類動物をヒトのモデルとするシステム神経科学研究を推進した。研究対象とした社会的認知機能は，他者との運動同期指向性，他者動作情報に基づく自己動作の制御，他者報酬情報に基づく自己報酬の価値評価，他者報酬情報の文脈依存的処理である。これらの研究では，対面する２頭のサルが行動タスクを遂行する際に，複数の脳領域から神経活動を記録し，神経細胞や神経回路で処理される自己・他者関連情報の解読をおこなった。また，ウイルスベクターを用いた神経回路選択的遮断法を駆使して，推定される神経回路機能の因果的検証をおこなった。さらに，ヒトの精神・神経疾患の解明に資する認知ゲノミクス研究を推進した。各研究テーマの成果は以下のとおりである。

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

ヒト精神･神経疾患の霊長類モデル動物の開発のための認知ゲノミクス研究を推進した。マーモセット 1832 個体を用いた多型解析より, 日本国内で飼育されているマーモセットは主に３つの系統に由来することを明らかにした。また，ヒト精神神経疾患関連 1281 遺伝子を対象とした変異解析を行った結果，機能喪失変異候補遺伝子を 27 個同定した。

また, バルプロ酸投与により作出した自閉症様マーモセットにおける 1 細胞遺伝子発現解析を行った。約 7 万細胞の発現データを用いて遺伝子発現プロファイリングを行った結果，30 種類を超える細胞タイプを同定し，バルプロ酸投与による薬理学的摂動を加えた際の分子動態を定量化した。さらに，ヒト自閉症スペクトラム患者死後脳を用いた先行研究と比較解析を行ったところ, 多くの細胞タイプにおいて, 遺伝子発現動態変化が類似していること, 特に自閉症関連遺伝子において類似傾向が高いことを明らかにした。

他者との運動同期指向性を指標とした社会性形成の神経基盤解明

戸松彩花，磯田昌岐

リズミカルな運動実行時には, 場のリズムへの同調が生じたり, 動作者同士が互いにリズムを引き寄せ合うことが知られている（Keller et al. 2014 他多数）。本研究ではこれを同期指向性と呼ぶ。同期指向性は，集団・社会の形成に密接にかかわる性質であるが, その神経実態は未解明である。いかなる神経ネットワークが自己と他者のリズムを同期するように仕向けるのだろうか。この疑問に答えるために, ニホンザルをモデル動物として同期指向性を抽出するための課題を開発し, サル二頭の運動が同期することを報告した。この現象には視覚情報が重要で，動画よりも実際の動物に対する同期が強く現れた。また，相手の運動が自己の運動に与える影響を評価すると, 社会的序列の高い個体が，相手からより強く影響を受けていた。すなわち，序列の形成と運動同期は関連していると考えられる。今後はこの運動課題遂行中の運動前野および補足運動野より神経活動の記録を重ね，各脳領域の関与について検討する。

心理・生理学的実験による社会脳ネットワークの動作原理の解明

二宮太平，磯田昌岐

映像編集・提示技術を活用した統御性の高い実験系を用いて，社会脳ネットワークの動作原理の解明に向けた研究に着手した。マカクザルを対象とした認知行動課題のトレーニングが完了し，社会脳ネットワークの機能仮説の検証に向けた，腹側運動前野および内側前頭前野からの課題遂行中の神経活動計測をおこなっている。1 個体からの計測がほぼ完了しており，今後は各脳領野の機能差および機能連関について解析を進めるとともに，2 頭目からの神経活動計測をおこなう。

また，自由行動下における社会行動の神経基盤の解明に向けた，大型プレイケージ実験系の構築を進めており，AI を用いたマカクザル 2 個体の 3 次元トラッキングシステムがほぼ完成した。実験系の構築と並行して，皮質下神経路を対象としたウイルスベクターの注入をおこなった。今後，当該神経路と社会行動との因果的解析を進める予定である。

社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構

則武　厚，二宮太平，磯田昌岐

内側前頭前野（MPFC）から視床下部外側野（LH）への神経情報の流れが社会的コンテキストにおける他者の報酬情報処理に重要であるかを DREADD 法にて検証した。新たに社会的条件づけをおこなったサル一頭に対し， ウイルスベクター二重感染法を用い，DCZ 注入によって MPFC から LH へ至る神経路の活動を選択的に遮断した。その結果， 昨年度検証した個体と同様に，自己の報酬確率は区別するものの他者の報酬確率を区別しなくなった。DCZ 注入前後の MPFC と LH から神経活動を同時記録し，DCZ の注入前後において比較したところ，行動変化に伴い，MPFC―LH 間の Coherence および MPFC から LH への神経情報流（Granger causality）において，主に δ･θ 帯域の減弱が認められた。一連の結果は，MPFC →LH 神経路が，社会的コンテキストにおける他者の報酬情報の処理において決定的に重要な役割を担っていることを示すものである。

他者への報酬は脳内でどのように処理されるのか

植松明子，磯田昌岐

我々は，他者の利益を自らの喜びとすることもあれば，それを妬みの対象とすることもある。他者の利益は，前者では快刺激であり，後者では不快刺激である。同じ「他者の利益」に対して，なぜこのような正反対の情動が生じるのだろうか。この疑問を明らかにするためには，自己の脳内で，他者の利益がどのように処理されるのかを，特にそのコンテキスト依存性に着目して明らかにする必要がある。

実験では，対面した２頭のサルに対し，様々なコンテキストで，他者に報酬を与えるか，あるいは与えないかを判断させるタスクを開発した。タスク遂行中の神経活動を，大脳皮質および皮質下の諸領域から計測することで，他者の報酬に対する各領域の神経活動の変化や，領域間での神経情報流を詳しく解析することを目指している。現在，前頭葉内側部ならびに皮質下領域で，コンテキスト依存的な神経活動が記録できている。今後，さらにデータを集めるとともに解析を進める。

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。逆にこれらの領域が機能不全に陥ると，パーキンソン病やジストニア，ジスキネジ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，げっ歯類，霊長類（マーモセット，ニホンザル）を用いて，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やその様式を調べる，②運動課題遂行中の動物から神経活動の記録を行う。薬物注入による経路の一時的ブロックや光遺伝学，化学遺伝学などの手法も併用する，③大脳基底核疾患を中心とした疾患モデル動物からの記録を行う，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きた。

本部門の南部篤教授が 2023 年 3 月に定年退職したことに伴い，大森治紀教授，森茂美教授と続いてきた部門名は終了することになったが，それぞれ，聴覚知覚，歩行制御，大脳基底核の正常と異常について，生体をシステムと捉える観点から，ヒトの生理機能解明に幾ばくかの寄与をしたものと信じる。

運動異常症の病態生理の統一的理解

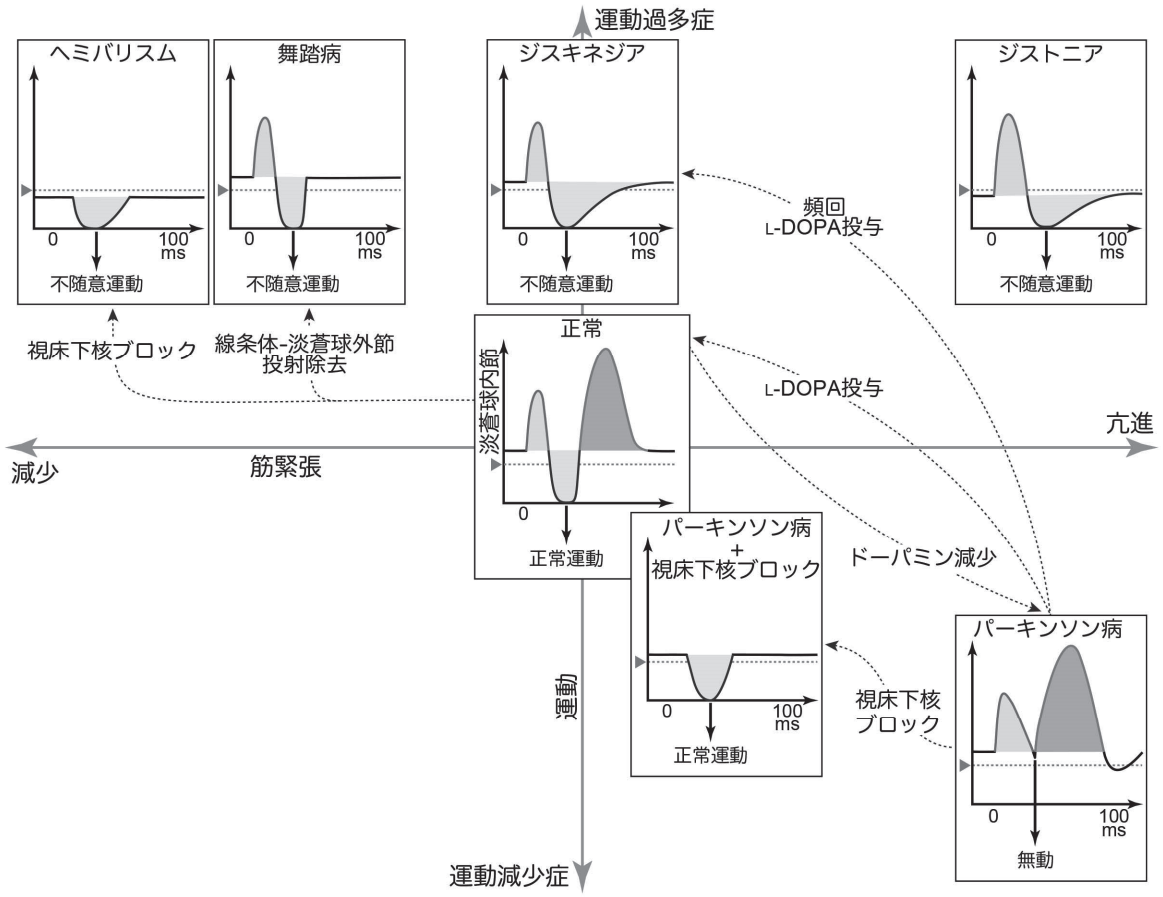
南部　篤，畑中伸彦，知見聡美
佐野裕美（藤田医科大学）

大脳基底核が不調に陥ると，運動が減少あるいは過多になったり筋緊張が亢進･低下するなど運動異常を中心とした症状を示す。大脳基底核疾患の病態生理は，大脳基底核の平均発射頻度の亢進･減少や発射パターンの変化（バースト発射，発振）によって説明されてきたが，矛盾する報告も多く必ずしも症状発現メカニズムを的確に説明できないなど，統一的に説明できるモデルが求められていた。

サル，ヒト，げっ歯類において，大脳皮質を電気刺激し大脳基底核の出力核である淡蒼球内節・黒質網様部から神経活動を記録すると，早い興奮―抑制―遅い興奮の３相性の応答が得られる。これまでの研究から，早い興奮はハイパー直接路（大脳皮質―視床下核―淡蒼球内節・黒質網様部路），抑制は直接路（大脳皮質―線条体―淡蒼球内節・黒質網様部路），遅い興奮は間接路（大脳皮質―線条体―淡蒼球外節―視床下核―淡蒼球内節・黒質網様部路）を介することがわかっている。実際の随意運動の際にも同様に運動情報が大脳皮質運動野から淡蒼球内節・黒質網様部に伝達されるとすると，まずハイパー直接路が視床を抑制，投射先である大脳皮質運動野の活動をリセットし，次に直接路が視床を脱抑制し必要な運動を引き起こし，最後に間接路が再び視床を抑制し，惹起された運動をストップさせると考えられる（動的活動モデル）。

この動的活動モデルを元に大脳基底核疾患の病態生理を考えてみる。疾患モデル動物では，淡蒼球内節･黒質網様部で観察される大脳皮質由来の３相性の応答パターンが体系的に変化していた（下図参照）。例えば，MPTP（ドーパミン神経毒）投与によるパーキンソン病モデルサルから記録すると，直接路由来の抑制が消失していた。正常では淡蒼球内節での抑制が視床を脱抑制し運動を引き起こすが，パーキンソン病では抑制が減弱し視床を脱抑制できなくなり，運動を引き起こせなくなった（無動）と解釈できる。一方，パーキンソン病モデルサルの視床下核の神経活動を薬剤局所注入によりブロックすると，大脳皮質由来の興奮が消失し抑制が復活すると同時に運動が回復した。

ハイパー直接路・間接路がブロックされ淡蒼球内節での抑制が相対的に復活したため, 再び視床を脱抑制し運動が可能になったと考えられる。パーキンソン病に対する視床下核の凝固術や脳深部刺激療法（DBS）の治療メカニズムを説明していると思われる。また，6-OHDA 投与によるパーキンソン病モデルマウスに，L-DOPA を連続投与しジスキネジアを生じさせると, 黒質網様部で観察される大脳皮質由来の遅い興奮が消失していた。正常では遅い興奮が運動をストップさせるが, その消失により運動をストップできなくなり不随意運動に至ったと解釈できる。このように大脳基底核疾患は，ハイパー直接路，直接路，間接路を介する動的な神経活動のバランスが失われることにより引き起こされ, バランスを元に戻すことにより治療できると考えられる。



大脳基底核における上肢運動キャンセル課題遂行中の活動調節

畑中伸彦，南部　篤

視床下核は大脳皮質から入力を受ける大脳基底核の入力核の一つであり，同時に淡蒼球外節から入力を受ける中継核でもあるという，非常に複雑な回路を構成している。また，視床下核は大脳基底核の出力核である淡蒼球内節ニューロンへグルタミン酸作動性の強い興奮性入力を送っている。そのため視床下核の活動は大脳基底核の活動に大きな影響を与えると考えられている。これまで運動開始直前に運動をキャンセルさせる Cancel 課題に関する視床下核の活動が報告されているが，前頭前皮質や辺縁皮質から入力を受ける視床下核領域の報告

のみで，実際の運動に関わっている背側部の視床下核ニューロンの報告はなかった。われわれは運動皮質に刺激電極を慢性的に埋め込み，情報の流れを確認して視床下核ニューロンの活動を記録した。その結果一次運動野や補足運動野から入力を受ける視床下核のニューロンには，Cancel 課題に応じて活動を変化させるグループがあることが解った。2022 年度は論文としてまとめ投稿し，現在リバイス中である。

喪失四肢の脳内表現

Pimpimon Nondhalee，畑中伸彦，南部　篤

大脳皮質の一次運動野（MI）や一次体性感覚野（SI）には，明確な四肢や体幹の体部位再現がある。これまで，動物の四肢がアクシデントにより喪失した場合, MI や SI の喪失された四肢の体部位再現領域では可塑的な変化が生じる可能性が示唆されているが, 再現領域の大きさには差がないとされてきた。しかし，それらの研究では全身麻酔薬の影響を受けたもので，覚醒下での研究例はなかった。また補足運動野（SMA）においては先行研究がなく全くの不明であった。これまで，われわれは若年時に片腕を事故により喪失した 2 頭の成年期ニホンザルの，MI，SI および SMA にたいして皮質内微小刺激法を用いて電気生理学的にマッピングを行った。その結果，MI では低閾値で運動が誘発されるコア領域が喪失側で小さくなっており, 同様に SMA でも喪失部の体部位再現領域が縮小していた。一方で SI ではその様な明確な縮小は見られなかった。また大脳皮質微小刺激法で誘発された健常側および喪失側の筋電図の解析を行い, 喪失側では刺激の増強に対して誘発される筋活動の大きさが健常側に比べ大きくならないことが観察されたが, 潜時には影響がないことがわかった。2022 年度は論文にまとめ投稿準備中である。

パーキンソン病モデルサルにおける小脳活動

知見聡美，南部　篤

パーキンソン病（PD）は，中脳のドーパミン作動性神経細胞が変性・脱落することによって大脳基底核が変調をきたし，運動障害が生じる。小脳は大脳基底核とともに運動制御において重要な役割を果たす高次中枢であり，大脳基底核との間で相互連絡を持つことが，解剖学的研究によって明らかにされている。本研究ではドーパミン神経毒 MPTP を投与して作製した PD モデルサルにおいて，小脳の出力部である歯状核の神経活動を記録した。大脳皮質運動野に電気刺激を加えて応答を記録すると，健常サルでは「抑制－興奮」という応答様式が観察されるが, PD サルにおいては, 抑制に続く興奮が著しく増強された異常な応答様式が多く観察された。また，PD 症状の 1 つである振戦が生じている際に神経活動を記録すると，振戦周期に一致した発振活動が観察された。これらのことから，小脳における神経活動の異常も PD 症状の発現に関与している可能性が示唆された

マーモセット脳機能解析のための神経活動測定技術の開発

纐纈大輔，南部　篤

小型の霊長類動物であるマーモセットを用い，前頭連合野の神経生理学的な機能マッピングを行っている。マーモセットにチェアー・トレーニングを行なった後に，タッチパネルを用いて，遅延期間を伴う記憶課題である遅延見本合わせ課題を習得させ，記憶課題遂行中の前頭連合野から細胞活動記録と Ca イメージングを行い，前

頭連合野の機能マップを作成している。また皮質下領域のイメージングとして，蛍光ドーパミンセンサーである GRAB-DA を用いた線条体のドーパミン計測を行った。線条体に GRAB-DA を発現させ，光ファイバーを埋め込んだ後に，メタアンフェタミンを全身投与し，線条体のドーパミン量を測定した。メタアンフェタミン投与 5 分後から線条体でのドーパミン量が上昇し始め，その後徐々に増加することが確認できた。現在，行動課題習得中のマーモセットの線条体でドーパミン量の変化を計測しており，学習過程におけるドーパミン動態の詳細を明らかにしたい。

神経ダイナミクス研究部門

【概要】

神経ダイナミクス研究部門では脳活動の振動，同期，ゆらぎ等の非線形ダイナミクスの脳情報処理機構における機能的役割について理解をすることを主要な目的として研空を行っている。非線形動力学，情報理論，信号処理理論，複雑ネットワーク解析，統計的機械学習手法，力学系数理モデルを用いたデータ同化等の手法を組み合わせることにより，脳の非線形ダイナミクスの機能的意義について計算論的神経科学の観点での解明を目指している。

部門において実験と理論の両アプローチを高いレベルで行うことを目指し，実験面では特にヒトの頭皮脳波を計測し，遠隔の脳領域間でみられる脳波の位相同期ネットワークを定量化し，柔軟な脳ネットワークを実現する機構的な仕組みの理解を試みている。また，心電図，呼吸など，ヒトの自律神経系活動に関連する生体信号計測を脳波計測と同時に行い，脳と身体の連関した情報処理について統合的な理解を目指した研究を行っている。さらに，非侵襲脳刺激手法と脳波計測を組み合わせた同時計測による脳ダイナミクスの操作による因果性の理解を目指した研究も遂行している。

2021 年度より，計画共同研究として「神経活動ダイナミクスの解析による精神・神経疾患の病態解明」が新設され，当研究部門が担当している。2022 年度は医療機関との共同研究体制を強化し，計画共同研究と一般研究を推進した。2022 年度の成果の一部を下記に紹介する。

頭皮脳波信号による E/I バランスのデータ同化推定手法の開発

横山　寛，北城圭一

脳における高度な脳情報処理機構は，脳内の興奮/抑制，2 つの活動の均衡化(E/I バランス)により，維持・制御されていると考えられている。しかし，E/I バランスの変調に伴う脳機能への影響やそのメカニズムの詳細は未だ不明確である。本研究では，時間分解能が高い頭皮脳波から，E/I バランスの時系列変化を再構成するデータ同化手法の開発を行った．具体的には，E,I それぞれのニューロンの相互作用から脳波様の神経活動をシミュレートする数理モデル(Neural mass model)から，実験計測された実際の脳波信号を予測し，その過程で得られた E,I パラメタの変化から E/I バランスの時系列変化を定量する。本手法により，睡眠深度に応じた E/I バランスの時系列変化の再構成に成功し，生理学的な知見とも一致する妥当な傾向を示した。今後は，本手法をもとに E/I バランスが担う脳機能維持・制御のメカニズム解明研究を展開する。

半側空間無視における同期能力の半球間バイアス： 定常視覚誘発反応からの洞察

岡崎由香，服部憲明（富山大学），河野悌二（森之宮病院），
畠中めぐみ（森之宮病院），宮井一郎（森之宮病院）北城圭一

半側空間無視（USN）患者は，通常左側にある物体に対する視知覚の障害を示す。本研究では，USN と同期不全の関連を調べるため，異なる周波数の明滅刺激に対する定常視覚誘発電位（SSVEP）を調べた。実験には視覚野を除く右半球に病変がある USN と非 USN の脳卒中患者，および健常者が参加した。健側と患側半球の SSVEP パワーを比較したところ，非 USN 群ではどの周波数の刺激でも有意差は見られなかった。USN 群もほとんどの周波数に対して両半球で等しく反応したが，9 Hz の刺激にのみ大脳半球間の偏りがみられた。一方，刺激前の自発的な α 振動の発生には有意な半球間差は観察されず，USN 群では振動の発生には問題がなく，特定の周波数の内部振動を外部振動に同期させる能力に障害があり，それが注意や皮質の興奮性に影響を及ぼしている可能性があることがわかった。リズム刺激で顕わになる同期障害が周波数および領域特異的であり，リズム刺激の臨床応用の可能性を示す研究結果である。

選択的一貫性仮説による，神経応答と脳機能に一貫性をもたらすメカニズムとその機能的意義についての理解

後藤優仁，北城圭一

複雑なネットワークである脳は, 非線形科学の観点からは同一の入力 (感覚) に対してであっても異なる応答 (知覚) を示すことが予想される。しかし実際には，我々の知覚はこれに反して驚くほど一貫している。同一の対象が時や場合によって異なる様に知覚されることは無く, 脳の情報処理はある程度の一貫性を保っている。この一貫性をもたらすメカニズムは脳の情報処理について理解する上で極めて重要であるが，未だ解明されていない。近年，神経応答の一貫性は生得的なものではなく, 繰り返し呈示される刺激に対して急速に，教師なしかつ暗黙的に強化され，知覚の一貫性が向上することが報告された。我々は，この入力に依存した一貫性を「選択的一貫性」と表現し，リザバー計算を用いた数理モデル的アプローチでその獲得メカニズムの解明を試みた。その結果，選択的一貫性が神経系内の可塑性によって自己組織的に獲得されうることを理論的に示すことに成功した。

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。言語・非言語性のコミュニケーションを含む人間の社会行動の神経基盤を明らかにするため，3 テスラ MRI 2 台を用いて，社会的相互作用時の 2 個体同時脳機能計測を行い，共同注意を始めとする共同作業の神経基盤をあきらかにするとともに，超高磁場（7 テスラ）MRI を用いて，非ヒト霊長類との種間比較を展開しつつある。一方で，共同利用研究の新たな方向性であるデータベース構築と meta-analysis の一環として，日本国内の精神科関連の研究機関で構成される COCORO（認知ゲノム共同研究機構）に参加し大規模データ解析による imaging genetics を展開した。

触覚の時間予測誤差処理の中帯状皮質レイヤー特異的活性化: 7 テスラ fMRI 研究

福永雅喜，定藤規弘
楊　家家（岡山大学･ヘルスシステム統合科学研究科）
于　英花（岡山大学･ヘルスシステム統合科学研究科）
Laurentius Huber（University of Maastricht, Netherlands）

人間の脳は，常時，予測とその誤差を評価し，絶えず内部で生成される予測モデルを更新している。一方，中帯状皮質（MCC）は予測処理に寄与する領域の一つであるが，時間予測誤差処理における皮質層特異的な機能は十分な検討が進んでいない。本研究では，７テスラ MRI 装置による高分解能（0.76 mm）BOLD および VASO fMRI を用いてレイヤーfMRI を実施し，手指タッピング予測課題時の予測誤差の脳内表現について MCC に注目して層横断的に調査した。

刺激呈示間隔の異なる３つの時間予測課題の全てにおいて，MCC 全体に皮質浅層と深層に高い活動を示す二峰性のプロファイルが示され，とくに刺激呈示間隔が短縮された予測課題では，他の予測課題より皮質表層での活動に増強がみられた。本研究より，MCC の表層および深層が予測処理に関与し，とくに皮質表層における活動は，刺激の遅延期間に生じた予測エラー処理に関連する可能性が示唆された。

統合失調症の脳構造非対称性 -ENIGMA コンソーシアムによる大規模脳画像解析-

福永雅喜
Dick Schijven，Merel C Postema，Clyde Francks（マックス･プランク心理言語学研究所）
Paul M Thompson（南カリフォルニア大学），Jessica A Turner（ジョージア州立大学）
Theo G M van Erp（カリフォルニア大学アーバイン校）
松本純弥，三浦健一郎，橋本亮太（国立精神･神経医療研究センター･精神保健研究所）

健常における脳の左右非対称性は重要な生理解剖的特徴である。統合失調症では，この非対称性に変化の可能性があるものの，従来の多くの研究では，比較的少ないサンプル数と非画一的なアプローチのため，その結果が不明確であった。本研究では，46 データセット，統合失調症 5,080 名，健常者 6,015 名の大規模 MRI データを対象に，画一的な画像解析プロトコルを用いて，統合失調症における脳の構造的非対称性の症例対照研究を実施した。データセットごとに大脳皮質の厚さ･表面積，皮質下容積の非対称性指標を算出，罹患者と対照者の差の効果量をメタ解析した。その結果，罹患者の吻側前帯状回と中側頭回の皮質厚の非対称性が，対象者より小さいことが示された。服薬や症状との関連は見られなかったが，高齢者において淡蒼球の左側優位の非対称性が大きかった。データの一部（2,029 名）を用いた多変量解析により，構造的非対称性の全分散の約 7%が症例対照間差によって説明されることが明らかになった。これらは，障害に機能的に関連する分子，細胞構造，または回路レベルでの差を反映している可能性があると考えられた。本研究は，Proc Natl Acad Sci U S A: e2213880120 (2023) として発表した。

みつめあいと共同注意の神経基盤の関連性：Dual MRI を用いた研究

小池耕彦，土元翔平，小笠原香苗，橋口真帆，定藤規弘

我々は Dual MRI を用いて，アイコンタクトや共同注意の実験をおこない, それらの神経基盤が島皮質にある可能性を示唆してきた（Koike et al., 2016, 2020, 2021）。また発達心理学に関連した多くの先行研究は, アイコンタクトと共同注意の間には深い関係があることを示唆している。それではアイコンタクトと共同注意の神経基盤の間には, 関連性があるのだろうか？本研究では, 一般的には連続して起こるアイコンタクトと共同注意に関連した神経基盤を別々に描出することが可能な実験系を作り，Dual MRI を用いて検討している。データの収集は終了しており, 現在, Human Connectome Project で用いられている方法を利用したデータ前処理を終えて，解析中である。

ひらめきに関係する神経基盤の解明：RAT 課題と RAVEN 課題を用いて

小池耕彦，山本哲也，吉岡　歩，小笠原香苗，土元翔平，橋口真帆，原田　勉（神戸大学），定藤規弘

悩んだ末にアイデアが閃く過程の神経基盤を，様々な可能性を脳内で検索する拡散過程（Divergent process）と，それら可能性の中から一つの結論に収束する過程（Convergent process)に分けて検討した。実験課題としては，一つの漢字に別の漢字をつけて熟語を完成させる RAT 課題と，８枚の画像からルールを見つけ出してそのルールに当てはまる別の画像を考える RAVEN 課題を用いた。RAT 課題は言語性の閃きであり，RAVEN 課題は視覚イメージ的な閃きであることから，それらの神経基盤の異動を検討することで，モダリティに拠らない閃きの神経基盤を描出できると考えた。RAT 課題の解析の結果，尾状核の活動が閃きと関連していることが明らかとなった。RAVEN 課題の解析の結果も，尾状核の活動がひらめきと関連していることを示した。これらの結果は, 閃きに辿り着く思考の拡散-収束過程には, 思考するモダリティが言語か画像化を問わず，尾状核が関与している可能性を強く示唆する。本研究は，論文投稿中である。その後，Dual fMRI を用いて，二人が会話コミュニケーションをしながら RAVEN 課題をしている最中の脳活動を計測する実験により，社会的な場面における閃きの神経基盤を検討する研究をおこなった。現在，このデータの解析をおこなっている。

スムースな情報共有の学習に関連した神経基盤の解明：迷路ゲーム課題を用いて

小池耕彦，角谷基文，定藤規弘

他者と会話をする際には，抽象的かつ目の前に物理的には存在しない情報や概念について口頭で情報交換をおこない，それらについてのモデルを共有する必要がある。この神経基盤を, 迷路ゲーム(Pickering & Garrod, 2004)を用いた実験により検討した。参加者は Dual fMRI 装置に入り，口頭で情報を交換しながら協力して迷路ゲームを解く課題を，トータル４回繰り返した。行動指標の解析をすると，第三者評価による会話のスムースさはゲームを繰り返すごとに上昇し，　二者の口の動きの因果性は向上，さらにゲームをクリアできる確率は上昇した。さらに課題関連の脳活動は，内側前頭前野および上側頭回において，ゲームを繰り返すごとに増加していた。また，二者の情報共有の神経基盤を描出するのに利用される二者脳活動相関を計算すると，内側前頭前野と右上側頭回にて有意であり，二者脳活動相関と学習効果は内側前頭前野において重複していた。これらの結果は，ゲームのルールや局面，またそれに相手がどのように対応するかといった抽象性の高い情報の共有には，前頭前野が大きな役割を果たしている可能性が示唆される。本研究は，論文執筆中である。

映像に対する意見交換が映像視聴に与える影響の検討：Dual fMRI を用いて

小池耕彦，Angela Zhang（McGill University），Reza Farivar（McGill University），定藤規弘

同じ映像を視聴するときに脳活動の二者間相関が存在することが知られており，これは脳への共通入力の効果である（Hasson et al., 2004）。加えて，友人間では映像視聴による二者脳活動相関が高いことが知られており，「友人は見方/考え方が類似しているから」と解釈されている（Parkinson et al., 2018）。我々は，この解釈の妥当性を直接的に検討するため，二者で同時に映画を視聴する場面を模した実験をおこなった。参加者らはハイパースキャニング fMRI 装置の中で同時に映画を見たあとに，その見どころや印象について語り合い，その後再び同じ映画を視聴する。このときに，語り合い前後での二者間脳活動相関の変化を検討した。解析の結果，右下前頭回において，語り合いの後の映画視聴中に二者脳活動相関が高まることが明らかになった。本研究の結果は現在，国際誌に投稿済みである。

脳機能種間比較に向けた非ヒト霊長類 MRI / fMRI 解析環境の開発と適用

郷田直一，福永雅喜，定藤規弘

非ヒト霊長類（NHP）を対象とした MRI/fMRI は，直接的なヒト・非ヒト種間比較を可能とし，脳機能のより深い理解に貢献する重要な研究手法である。本研究では，特に超高磁場 MRI で収集した NHP データの処理に最適化した MRI/fMRI 解析パイプラインの開発および実データへの適用を進めている。本年度においては，本研究所 7 テスラ MRI にて，麻酔下マカクザル構造 MRI 実験（延べ 17 例），光遺伝学/化学遺伝学的手法を用いた麻酔下マカクザル fMRI 実験（皮質内刺激 fMRI 延べ 27 例，課題 fMRI 延べ 17 例，安静時 fMRI 延べ 18 例），マーモセット構造 MRI 実験（6 例）等を他部門・他機関と共同で実施し，それらデータのパイプライン解析を行なった。また，In/ex-vivo 超高解像度 MRI および定量的磁化率マッピングによる刺激脳部位等の高精度ターゲティング・同定，MRI とヒストロジーデータとの照合，光遺伝学/化学遺伝学 fMRI を効率的に進めるための準リアルタイム fMRI 解析等に関する技術開発を行なった。加えて，本年度より，他部門・他機関と共同で実施したミニブタ構造 MRI 実験データ（延べ 25 例）への適用に向けた解析パイプライン開発を新たに開始した。

光遺伝学 fMRI によるサル大脳小脳連関トポグラフィーの可視化

郷田直一，長谷川　拓（理化学研究所），
纐纈大輔（生体システム研究部門），知見聡美（生体システム研究部門），
菊田里美（国立精神･神経医療研究センター），
佐野裕美（藤田医科大学），小林憲太（ウィルスベクター開発室），
南部　篤（生体システム研究部門），定藤規弘，福永雅喜

光遺伝学（オプトジェネティクス）技術を fMRI と組み合わせた光遺伝学 fMRI は，脳の特定の神経集団の活動を光で制御し，それによって生じる脳全体の神経活動を可視化する技術である。この技術はマウス・ラット研究において普及が進んでいるが，サルへの応用は遅れており，その成功例はほとんど報告されていない。我々の研究グループは，最近開発した効率的ウィルスベクターによる光遺伝学技術（Watanabe et al. Nat. Comm. 2020）と超高磁場 7 テスラ fMRI とを組み合わせることで，マカクザル大脳皮質運動野 (M1) を光遺伝学的に刺激・活

性化した時の脳全体の活動を可視化することに成功した（Goda et al., Cereb. Cortex Comm. 2022）。M1 刺激に対する遠隔活動は小脳虫部に最も安定して観察され，また，M1 上肢・下肢領域をそれぞれ刺激すると，小脳においてもトポグラフィックに異なる部位に活動が生じることが確認された。本成果は，これまで困難であったサルを対象とする光遺伝学 fMRI 技術を大きく進展させるものである。

情報エントロピーによる HCP 最新ヒト大脳皮質分画地図とレガシーMRI データの対応性の評価

山本哲也，福永雅喜，定藤規弘

Human Connectome Project（HCP）は新たなヒト大脳皮質分画地図 HCP_MMP1.0 (HCP's Multimodal Parcellation, version 1.0) を公開している。既存の Brodmann 脳地図や MNI (Montreal Neurological Institute) 座標ではなく，HCP_MMP1.0 の脳領域名や grayordinates に基づく脳部位報告は，高精度な脳位置情報の共有を研究間で容易にする一方，従来の研究結果との比較を困難にする。本研究は HCP_MMP1.0 の 360 脳領域と MNI 座標を対応付けるべく，HCP 提供のデータベース ConnectomeDB の 1,018 名のデータを用い，各領域の MNI 空間上での確率マップ生成の他，情報エントロピーマップを生成し，定位される脳領域の一意性・不確定性を評価した。初期視覚野，体性感覚・運動野，島，辺縁系，内側部でエントロピーは低い一方，後頭側頭部，頭頂間溝，外側前頭部で高い傾向が見られた。重回帰分析から，分画の細かさよりも脳溝・脳回の走向パターンの複雑さがエントロピーの決定因子であることが示された。

高品質な課題 fMRI オープンデータベース構築のための汎用的な時系列ノイズ除去手法の開発

山本哲也，福永雅喜，定藤規弘

利用価値の高い課題 fMRI オープンデータベースの実現には，高品質なデータの提供が必要である。様々な目的で実施された課題 fMRI 実験の時系列データのノイズをいかに効率的に除去できるかが鍵となるが，現在主流の独立成分分析とアンサンブル学習をベースとしたノイズ除去手法 FIX は，撮像パラメーターや課題内容が異なる fMRI 時系列データに対し，十分な判別性能を有しない。汎用的に fMRI 実験データのノイズ除去が可能な機械学習アルゴリズムの開発・実装に向け，初期検討として既存の FIX の誤判別の機序を分析した結果，課題 fMRI 特有の低周波数成分の増加や，信号・ノイズ判別のための個々の特徴量の相互関係にまで学習が及んでいないことが要因と考えられた。特に，後者については，判別器の多層化による相互関係の学習促進で解決が期待されることから，今後，GPU による演算や深層学習ベースのアルゴリズムを導入し，時間コストを低減しつつ，人間の判断基準に準じた汎用ノイズ除去技術を実現する予定である。

二者間の社会的行動選択中の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究

土元翔平，小池耕彦，吉岡　歩，小笠原香苗，山本哲也，福永雅喜，定藤規弘
二宮太平，則武　厚，磯田昌岐（生理研認知行動発達機構研究部門）

種間の神経基盤を比較検証するために，サルで実施した社会的行動選択課題をヒトで実施した。課題内容は，３つのボタンから１つの正解ボタンを選べば報酬がもらえるという試行であり，２人が交代しながらボタンを

押す。課題相手の対照条件として，録画再生されたスクリーン上の手や棒状の物体がボタンを押すという条件を設定した。この課題中の二者間の脳活動を Dual fMRI を用いて計測した。取得した脳活動データを Human Connectome Project の pipeline を用いた前処理を適用した後，各試行の脳活動を抽出した。現在は，デフォルト・モード・ネットワークとミラーシステムネットワークの関連性を検討している。

ヒトを対象とした他者の報酬情報に関連する神経基盤

土元翔平，吉岡　歩，伊津野　巧，花田捺美，小笠原香苗，山本哲也，小池耕彦，福永雅喜，定藤規弘
則武　厚，二宮太平，磯田昌岐（生理研認知行動発達機構研究部門）

種間の神経基盤を比較検証するために，サルで実施した社会的古典的条件づけ実験をヒトで実施した。課題内容は，フラクタル図形刺激に応じて自己または他者に金銭的報酬が与えられる。報酬結果は，まず他者に提示され，次いで自己に提示される。この課題では，各図形刺激には，あらかじめ自己報酬確率と他者報酬確率が対応づけられている。自己変化条件では３つの図形の中から一つが毎試行ランダムに提示され，どれが提示されるかによって，自己の報酬確率だけが異なるようにした。他者変化条件ではまた別の３つの図形の中から一つが毎試行ランダムに提示され，どれが提示されるかによって，他者の報酬確率だけが異なるようにした。これまで予備実験で 19 名，本実験において 38 名の被験者の課題中の脳活動を fMRI にて計測した。現在は，データ解析の準備中である。

セラピストの congruence の高い返答が相談者の不安を軽減させる神経基盤の検討

橋口真帆，小池耕彦 ，土元翔平，小笠原香苗 ，伊津野　巧，定藤規弘

セラピストが congruence（一致性）を保ち返答することで相談者の不安が和らぐと経験的には知られていたが神経基盤は不明であった。我々は，不安感情評定および 2 個体脳機能計測を行い，セラピストの congruence の高い返答が相談者の不安を軽減させる神経基盤を検討した。実験は配役した相談者とセラピストの対話であった。相談者へは全トライアルで不安喚起画像を呈示した。相談者は各画像を見た後「不安です」と感情をセラピストへ伝えた。一方，セラピストには中立画像と不安喚起画像を半数ずつ呈示した。セラピストはいずれかの画像を見た後「そうですね（共感）」または「そうですか？（反問）」と返答をした。我々は，セラピストの返答と感情の一致性の高く，不安感情を持ち「そうですね」と返した場合，相談者の不安軽減に対応した脳活動がみられると仮定した。男性 6 名女性 14 名のデータを取得し，データ取集・解析を継続している。

高プレッシャー下でのパフォーマンス低下の神経基盤: 7 テスラ MRI を用いた検討

小笠原香苗，小池耕彦，福永雅喜，吉岡　歩，山本哲也，定藤規弘

高プレッシャー下での運動パフォーマンスの低下は「あがり」として知られているが，そのメカニズムや神経基盤は明らかになっていない。本研究では，あがりが内部モデルの変化と関連しているという仮説のもと，高解像度での脳機能描出が可能な 7 テスラ MRI を用いて高プレッシャー下での脳活動を記録した。実験では，両手の握力を用いた視覚運動協調課題をおこなわせた。結果として，低頻度で起こる高報酬なイベントで高プレッ

シャーをかけると，(1) 視覚運動協調課題の成績が低下し，(2) 内部モデルに関連する小脳と，感覚信号に関連する hMT+の過活動がみられた。実験や解析はすべて終了しており，現在は論文の執筆中である。

社会的報酬によるアンダーマイニング効果の神経基盤

綾部宏明，小池耕彦，定藤規弘

褒めは，金銭的報酬と比べて社会的報酬とよばれ，私たちの行動を促す外的報酬である。反面，外的報酬は課題や活動の面白さ（内発的動機づけ）を弱体化させて自発的な行動を抑制することがある（アンダーマイニング効果）。この効果は金銭的報酬において顕著であり，報酬系（線条体，中脳領域）の脳活動減少と対応づけて神経基盤も確認されている（Murayama et al., 2010）。一方，社会的報酬はその効果を生じさせないとされる。ところが，いずれも報酬系脳活動を高めるため（脳内共通通貨仮説），ヒトの脳は報酬の種類を区別していない可能性がある。したがって，もし，褒めがアンダーマイニング効果を生じさせないならば，神経基盤も異なるはずであるが，未だ検証されていない。

本研究では，金銭的報酬に着目した先行研究を再現しつつ，社会的報酬によるアンダーマイニング効果の神経基盤を検証できる実験を実施して分析を行った。

連続的な知覚意思決定におけるメタ認知の神経基盤

南條啓孝，山本哲也，宮田紘平（東京大学大学院総合文化研究科）

メタ認知は我々の認知を監視し，制御する高次認知機能として知られている。このメタ認知は，自己の認知や精神状態を大局的な視点で認知するメタ認知的モニタリング及びそれを受けて後続する行動を制御するコントロールから構成される（Nelson & Narens, 1990）。メタ認知はこのような複数のプロセスから構成されているにも関わらず，多くの先行研究がメタ認知の特にモニタリング過程に重きをおいて研究を行ってきた。特に認知神経科学分野では，磁気共鳴画像法（MRI）を用いて，行動指標であるメタ認知的モニタリング能力の個人差を説明する脳領域が調べられてきており，外側部の前頭棘皮質や前頭前野が基盤的な役割を担っていることが示唆されてきた（e.g., Fleming et al., 2010; 2012）。実験的にはこのようにメタ認知の単一プロセスに焦点を当てるほうが簡便であるが，我々の日常生活において監視するが制御は行われないといった 2 つのプロセスが切り離されて起こることは考え難い。そこで本研究では，メタ認知における監視と制御の神経基盤及びそれらに共通する神経活動を描出することを目的に，健常成人 34 名を対象に課題 fMRI 実験を行った。確信度評定を伴う知覚意思決定を同一刺激に対して 2 回連続で行う実験課題を考案し，メタ認知に特有な監視と制御を表現することに成功した。自己の意思決定を大局的に監視する過程では，確信度に応じて前内側前頭前野が賦活した。また，後続する意思決定の制御には，内側前頭前野の異なる領域である背側前帯状皮質が関係することを示した。更に，監視と制御の両プロセスに共通して，前帯状皮質前部（perigenual ACC）が描出された。機能的結合性の評価をこれら 3 領域に対して行ったところ，前内側前頭前野(監視)から背側前帯状皮質(制御)が直接的な結合性を有しているのではなく，前帯状皮質前部を介して一連のシステムとしてメタ認知が機能していることが示唆された。

認知機能の時系列的活動レベル推定

小山雄太郎，山本哲也，平山淳一郎（産業技術総合研究所），
地村弘二（群馬大学），定藤規弘，近添淳一（㈱アラヤ）

脳機能画像データは空間軸と時間軸の 2 軸からなる 2 次元のデータである。現在主流となっている解析法は，時間軸において，刺激提示や被験者の反応を基に認知機能と関連する脳活動の時系列的変化を仮定し，これを回帰子として用いることで，認知機能と関連する脳活動マップを作成する手法である。本研究においては，この問題を転置し，認知機能と関連する脳活動マップを回帰子として用いることで，認知機能の活動レベルの時系列的変化を同定する手法を開発した。先行研究の結果を統合するメタアナリシスによって，認知機能のマップを作成し，これらを回帰子としたリッジ回帰を適用することで，言語課題遂行中の認知機能の時系列的変化を同定した。その結果，従来法では分離不可能であった認知機能間の信号の分離に成功するのみでなく，時系列的変化の波形が課題遂行能力を反映しているものであることを明らかにした。本研究は現在は査読中である。

対人交流時の視点取得による感情制御に関連する神経基盤の検討

伊津野　巧，小池耕彦，定藤規弘

視点取得とは，自分の現在の視点を異なる立場や位置に移動させ，その視点にある者がもつだろう考えや感情などを推測することを指す。これまでの研究では，提示される状況に直接関係のない人物の視点取得を行うことがほとんどであったが，本研究では，自分と，自分とコミュニケーションしている相手，その状況を眺めている第三者を設定し，提示される Happy もしくは Unhappy な状況に関係した 3 種類の視点取得を行い，その前後で自身の感情を評価させることで，視点取得による感情制御の効果とそれに関連する神経基盤を調べた。

結果として，Unhappy な状況において，自分視点もしくは第三者視点と比較して，相手視点を取得すると自身のネガティブな感情が緩和されたことが分かった。また，相手視点を取得した前後で，右の上頭頂小葉が活動するようになり，相手視点を取得している最中の同部位の活動と感情の変化量が相関していることが分かった。現在は論文執筆を行っている。

発話動作に基づく音象徴の神経基盤

鳴川　紗，村井翔太（東京大学 ニューロインテリジェンス国際研究機構），
小林耕太（同志社大学 生命医科学研究科），定藤規弘，福永雅喜

「ア」は大きく，「イ」は小さい印象をもつ。このように音が特定の印象を持つ現象を音象徴という。音象徴の発生要因はいくつか提案されているが，中でも発話動作に基づく説は音象徴の普遍性を説明できる。例えば，「ア」は開口度や口腔内の共鳴空間が大きいが，「イ」はどちらも小さい。そのため，発話動作に対する大きさの印象が音声の大きさの印象の基となっているという説である。本研究では音象徴の発話動作由来説に注目し，音声聴取時の大きさの印象と脳活動から，音象徴の神経基盤を明らかにすることを目的とする。そこで図形の大きさを判別する課題の成績が，図形と音声を同時提示することにより影響を受けることから，音声の大きさ知覚への影響の大きさを測る実験系を考案した。今後はその改良を進め，fMRI を用いて神経基盤を明らかにしていく。

感情経験が左右する処罰評価を自己および他者視点取得の選定により統制できるか

花田捺美，定藤規弘，福永雅喜

一般に，道理に反する他者への処罰判断は厳罰化される（Singer et al., 2006）。しかし，その逸脱者に同情的な情報があると，共感が生じ処罰判断が軽減される。これは逸脱者の逸脱背景にある環境および感情を，第三者が過去に主観的に経験していたか否か，つまり感情経験を共有するかに依存する（板山，2018）。脳イメージング研究では，処罰判断時にメンタライジング脳領域に活動がみられるのに加え，感情経験と関連のある脳領域に処罰量との相関が見られた（Yamada et al., 2012）。これらのことより，感情経験はメンタライジングシステムを介して，処罰判断における意志決定に作用すると考えられる。本研究ではこれらの背景から，感情経験が左右する処罰評価を，メンタライジングシステムの根源的機能である自己・他者視点の選択的取得により統制できると考え，現在，行動並びに機能的 MRI 実験を計画している。

感覚認知情報研究部門

【概要】

感覚認知情報研究部門では, 主に磁気共鳴画像（MRI）法を用いた脳マッピングの手法を用いて，ヒトの脳と構造と機能の連関に関する研究を実施している。特に，機能的 MRI（functional MRI; fMRI）による脳機能イメージングの他に，拡散強調 MRI（diffusion MRI; dMRI）による白質線維束イメージング，定量的 MRI（quantitative MRI; qMRI）を用いた脳微細構造イメージングを用いた研究を実施している。

これまで，ヒト健常成人を対象とした研究によって視覚系における背側領域と腹側領域を連絡する経路である Vertical Occipital Fasciculus (VOF) を対象にした研究で成果が得られているほか，dMRI によるモデル動物を対象としたイメージング研究によって種間比較を行う研究を実施している。また網膜疾患症例を対象とした脳機能・脳構造イメージングにより，疾患が神経回路に及ぼす影響についても評価を行っている。

眼科疾患が白質線維束に及ぼす影響の検討

小川俊平，堀口浩史，増田洋一郎，吉川啓司，中野　匡（東京慈恵会医科大学）
竹村浩昌
宮崎　淳，松元健二（玉川大学）

眼科疾患の中でも緑内障は網膜神経節細胞および視神経に障害を及ぼす疾患であり，日本における中途失明原因の第一位であるとされる。緑内障が視覚情報の伝達経路に及ぼす影響を調べるため，玉川大学脳科学研究所の保有する３テスラ MR 装置を用いて緑内障症例 17 名，および健常対照群 30 名を対象に拡散強調 MRI および定量的 T1 計測を行い，初期視覚情報の伝達経路である視索および視放線の分析を行った。その結果，視索においてはいずれの MRI 計測法でも, 緑内障症例において異常値が見られることを認めた。一方で，網膜神経節細胞より 1 シナプス離れた視放線においては，定量的 T1 計測において緑内障症例は異常値が見られなかったものの，拡散強調 MRI 計測においては異常値を示した。2022 年は，主に論文の審査過程における査読者からのコメントへの対応を行い，拡散テンソルモデルでなく NODDI 法と呼ばれる複数拡散成分を仮定した研究を行う意義を論文内で明確に記述した上で，被験者間でのデータ相関に関する追加解析を行った。この結果，緑内障を対象とした研究成果につい Investigative Ophthalmology & Visual Science 誌に論文発表するに至った（Ogawa et al., 2022）。

【参考文献】Ogawa S.*, Takemura H.*, Horiguchi H., Miyazaki A., Matsumoto K., Masuda Y., Yoshikawa K, Nakano T. (2022) Multi-contrast magnetic resonance imaging of visual white matter pathways in patients with glaucoma. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 63: 29. doi: 10.1167/iovs.63.2.29.　(*: equal contribution)

定量的 MRI を用いたヒト外側膝状体の下位領域の計測

大石浩輝（情報通信研究機構･カリフォルニア大学バークレー校），竹村浩昌，天野　薫（東京大学）

外側膝状体（lateral geniculate nucleus; LGN）は網膜からの視覚信号を中継する視覚情報処理に関与する重要な神経核である。LGN は大別して大細胞領域（magnocellular, 以下 M 領域）と小細胞領域（parvocellular, 以下 P 領域）からなり, それぞれ異なる機能を担うことが電気生理学および解剖学研究から明らかになっている。しかし，ヒト生体脳において M 領域および P 領域を計測する方法は十分に確立していない。本研究では，Macromolecular Tissue Volume (MTV)法（Mezer et al., 2013）と呼ばれる qMRI 計測法を応用し，ヒト LGN における組織構造の計測を行なった。その結果，MTV の計測結果に基づいてヒト被験者における M 領域と P 領域の位置を判定できること，判定された M 領域と P 領域の位置がヒト死後脳解剖データと一致していたことが分かったが分かった。またこの結果は, 同一被験者を対象に異なる日再度行われた MTV 計測実験においても見られた。加えて判定された M 領域と P 領域の活動を fMRI で計測したところ電気生理学研究で知られている刺激選択性と一致する結果が得られた。2022 年はこの結果を論文として投稿した上で, 査読者からのコメントへの対応を行った。具体的には，(1) 関心領域法解析における評定者間一貫性についての追加データ解析，(2) 部分容積効果に関する追加データ解析，(3) 大脳基底核を関心領域とする追加データ解析を行うことで, 論文における主要な結果の妥当性をさらに検討した。この結果，論文は 2022 年中に NeuroImage 誌に受理され，2023 年になってから出版された(Oishi et al., 2023)。今後，LGN を対象とした研究をさらに追求することで，ヒト脳における LGN の下位領域が視覚情報処理においてどのような寄与をしているのかがさらに解明されることが期待される。

【参考文献】Oishi H, Takemura H, Amano K (2023) Macromolecular tissue volume mapping of lateral geniculate nucleus subdivisions in living human brains. NeuroImage, 265: 119777. doi: 10.1016/j.neuroimage.2022.119777.

機能的 MRI および拡散強調 MRI によるヒト初期視覚野と白質線維束の関連の分析

宮田季和，竹村浩昌
Noah C. Benson（University of Washington），Jonathan Winawer（New York University）

ヒトの一次視覚野の大きさは, 健常視力を持つ成人どうしの間でも３倍程度異なる場合があることが知られている。しかしどのような要因によって，このような大きな個人差が生じているのかは明らかでない。先行する死後脳を対象とする研究（Andrews et al., 1997）では，ヒトの一次視覚野の大きさが網膜神経節細胞由来の白質線維束である視索の大きさと相関することが示されている。このため, 視索と一次視覚野の関連がヒト生体脳においても見られるのかを 178 名の健常成人から得られた機能的 MRI および拡散強調 MRI データセット（HCP 7T Retinotopy Dataset; Benson et al., 2018）を分析することで検討した。その結果, 視索の組織構造（拡散異方性）と一次視覚野の表面積との間に相関関係があること, またこの相関関係が異なる計測条件においても再現されることが分かった。さらに，双生児を対象とした分析により, 視索と一次視覚野の両方において遺伝の影響が見られることが分かった。2022 年度はこの研究結果を原著論文として投稿し, 査読者からのコメントへの対応を行った。具体的には査読者の提案に基づき, (1) 視索の向きの違いを考慮した追加でのコントロール解析の実施，(2) 先行研究(Andrews et al., 1997)で報告され

ている相関係数と今回の結果との統計的な関係についての検討，(3) 拡散強調 MRI データの信号ノイズ比を考慮した追加でのコントロール解析の実施，(4) Test-retest reliability の評価を行った。これらの追加解析を実施した結果, 論文の結論の科学的妥当性がさらに担保されることになり，Journal of Neuroscience 誌に原著論文として受理されるに至った。

【参考文献】Miyata T, Benson NC, Winawer J, Takemura H (2022) Structural covariance and heritability of the optic tract and primary visual cortex in living human brains. The Journal of Neuroscience, 42: 6761-6769.
doi: 10.1523/JNEUROSCI.0043-22.2022.

拡散強調 MRI データ解析による視覚白質線維束の種間比較

竹村浩昌，兼子峰明（京都大学），
Chet C. Sherwood（George Washington University），G. Allan Johnson（Duke University），
Markus Axer（Jülich Research Institute），Frank Q. Ye, David Leopold（National Institute of Health）

これまでの研究で，大脳視覚野における白質線維束の空間構造に個人差が見られることが分かってきた。この研究では，霊長類６種，非霊長類５種から計測された拡散強調 MRI データを分析することにより, 視覚系における白質線維束がどの程度の進化的な共通点を持つのかを検討した。NIH において計測された霊長類６種から得られた拡散強調データを分析した結果，いずれの種においても視覚野における白質の内側に視放線に相当する白質線維束が，外側に背側視覚野と内側視覚野を連絡する白質線維束である Vertical Occpital Fasciculus (VOF) に相当する線維束があることが分かった。一方で NIH で計測された４種の非霊長類データ，およびデューク大学で計測されたラットの拡散強調 MRI データにおいては VOF に相当するような白質線維束が見られなかった。またラット脳からユーリッヒ総合研究機構において計測された偏光顕微鏡データにおいても，VOF に相当する白質線維束は見られなかった。この結果は VOF が霊長類間で保存された白質線維束である一方，非霊長類には明確に見られない白質線維束であることを示唆しているが，2023 年以降分析対象の種を増やすことで結論の一般性についてさらに検討する。

研究連携センター

【概要】

研究連携センターは 2016 年 4 月に設立され活動を開始した。開始時において，本センターは，共同利用研究推進室，学術研究支援室，NBR (National Bio-Resource) 事業推進室，流動連携研究室，国際連携研究室の 5 室により構成された。(1) 共同利用研究推進室は，大学共同利用機関として生理学研究所の担う重要な役割である共同利用研究の推進を担っている。具体的には，共同利用研究の実施希望者に対し対応できる研究手法や研究部門を紹介する等のいわば相談窓口としての役割を果たし，また機器設備や研究手法に関する要望の汲み上げも行っている。(2) 生理学研究所は基礎生物学研究所と共に，2016 年度より新学術領域研究「学術研究支援基盤形成」のひとつである「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」事業を担当し，2022 年度からは，新たに，その後継事業である，学術変革領域研究「学術研究支援基盤形成」の「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」事業（代表者：鍋倉淳一生理研所長）を担当している。学術研究支援室は，このプラットフォームにおける光学顕微鏡，電子顕微鏡，機能的磁気共鳴装置等を用いた先端的技術支援の遂行をサポートしている。また，学術研究支援室は「次世代脳」プロジェクトの支援を行っている。これは，多数の脳科学関連の新学術領域等の日本全国の脳科学研究者を横断的に束ねて毎年全体会合を行う，これまで「包括脳」が担ってきた役割を継承するものである。(3) 生理学研究所はこれまで中核機関として実験用サルの供給事業（NBR 事業）に取り組んできた。NBR 事業推進室は，この事業の担当部署を明確化し，これまでの脳機能計測・支援センターの霊長類モデル動物室を改変して設けられた。2017 年度に NBR 事業の中核機関が京都大学・霊長類研究所に移り，生理学研究所は協力して円滑な事業の推進に貢献している。2019 年度以降は，サルの供給は停止し，母群の維持を行っている。(4) 流動連携研究室は，2015 年度末で閉鎖となった多次元共同脳科学推進センターから本センターに移設されたもので，国内の研究者のサバティカル滞在による研究の推進を目的として，随時募集を行っている。2020 年度は，応募が無く活動は行われなかった。そこで，2022 年度に，本室は改組され，新たに，所長が室長を務める先端研究プロジェクト推進室が立ち上げられ，研究活動を開始した。(5) 国際連携研究室は，外国人客員教授が長期滞在して運営する 3 年の時限付き研究室で，国際連携研究の推進を目的としている。2017 年度から NeuroSpin （フランス原子力・代替エネルギー庁）の元 Director である Denis Le Bihan 博士が，外国人客員教授として研究室の P.I.を務め，2 期目の 3 年目にあたる 2022 年度も，引き続き 7T- MRI を用いたヒト脳イメージングの研究，特に拡散強調画像の新規撮像法および解析法の開発に取り組んだ。また，2023 年度以降の次期の新たな P.I.の選考を進め，Andrew Moorhouse 博士（サウスウエールズ大学シドニー（オーストラリア））に決定した。

共同利用研究推進室

【概要】

共同利用研究推進室は，全国の他大学や研究機関に所属する研究者が，生理学研究所においてスムーズに共同研究を円滑に遂行することができるようサポートする総合案内窓口として，2016 年度に発足した。

生理学研究所では，他大学や研究機関では購入，維持，管理，運営が困難な連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM），位相差低温電子顕微鏡，多光子励起顕微鏡等の各種顕微鏡や，２個体間同時計測磁気共鳴画像装置（dual fMRI），7 テスラ MRI など，最新の大型実験機器を多数整備し，全国の研究者へ機器と人的な技術支援を行っている。また，脳科学研究に有用な高品質かつ高機能のウイルスベクター，臓器キメラ動物を含む種々の遺伝子改変マウスおよびラット等の開発・作成・供給や，技術的支援にも積極的に取り組んでいる。

共同利用研究推進室では，これらの最先端設備や研究技術を必要とする全国の大学や研究機関，企業に属する研究者と，生理学研究所を繋ぐことを第一の目的とし，関連学会や生理学研究所外で開催される研究会などへ研究所紹介のためのブース展示を行うなど，共同利用研究を周知，支援する活動の全般を担っている。2022 年度

は日本生理学会第 100 回記念大会において，生理研初のランチョンセミナーを行った。セミナーでは鍋倉所長による共同利用研究の紹介のほか，名古屋市立大の飛田教授にご登壇を依頼し，利用者からみた共同利用研究についても講演を行っていただいた。また，10 月 16 日（日）に開催された大学共同利用機関シンポジウムの HP 上でも共同利用研究等について紹介した。

学術研究支援室

【概要】

学術研究支援室では，研究所のミッションの一環として，以下の 3 つの事業の運営を進めている。

・先端バイオイメージング支援プラットフォーム（ABiS）

学術研究支援室は，2016 年～2021 年度まで実施された新学術領域研究（学術研究支援基盤形成）「先端バイオイメージング支援プラットフォーム（ABiS）」の運営事務局を担当してきた。ABiS は，生理学研究所と基礎生物学研究所が中核機関を担う，各種顕微鏡や MRI による先端的イメージング観察および画像解析技術支援プラットフォームであり，共同利用研究と相補的な取組として，全国の連携機関とネットワークを構成し，オーダーメイド型の支援を行う事業である。

過去 6 年間の支援活動が高く評価され，2022 年度より鍋倉淳一所長を代表として学術変革領域研究（学術研究支援基盤形成）「先端バイオイメージング支援プラットフォーム（ABiS）」として新たなスタートを切ることとなり，本室が継続して事務局を担当することとなった。

今年度は，事業開始にあたりロゴマークおよびオフィシャルウェブサイトを刷新し，より支援内容を充実させたことをアピールするよう心がけた。また，前事業と同様に支援内容，公募情報，会議や研究集会の案内，トレーニング開催情報，支援による成果発表等を随時発信するとともに，他の支援プラットフォームと連携もとりつつ，種々の生命科学関係の学会において周知活動を実施した。2022 年 6 月 3 日には，生命科学連携推進協議会主導による，生命科学 4 プラットフォーム「支援説明会・キックオフシンポジウム」を東京にてハイブリッド形式で実施した。

2022 年 9 月 14 日～16 日には，全世界規模でのバイオイメージングの国際連携ネットワークを進める Global BioImaging (GBI) の第 7 回年会に GBI 参加国代表として出席し，「Imaging Impact & Sustainable Development Goals」について議論した。

・「次世代脳」プロジェクト

2016 年度に，脳科学分野の新学術領域研究が協力し，全体会合を行うための枠組み「次世代脳」プロジェクトが立ち上がり，本室はその事務局を務めている。本プロジェクトは，全国の脳科学研究者を横断的に束ね，若手育成を主眼においたシンポジウムの企画，ウェブサイト運営やメーリングリストによる関連情報発信を行い，脳科学コミュニティを支える取組を進めている。

・戦略的国際脳科学研究推進プログラム（国際脳）

世界の国家的プロジェクトとの連携を強化し，我が国の，ひいては世界の脳科学研究の飛躍的な発展に貢献することを目的として，戦略的国際脳科学研究推進プログラム（国際脳）が 2018 年 6 月より開始された。また，同年 11 月には，事業を機動的かつ円滑に運営し，戦略的な国際展開に資する成果創出の加速，さらには日本の脳科学研究における国際的なハブとなる研究推進支援を実施する中核的組織として，生理学研究所が採択され，本室はその事務局を務めることとなった。

今年度は，国際的な脳科学研究の枠組みである International Brain Initiative（IBI）に設置されているワーキンググループ（WG），Data Standards & Sharing WG の全ての活動の実務を行った。本 WG の会議運営に加え，SfN Neuroscience 2022 サテライトイベント 2 件（公開シンポジウムおよび招待制の会議）の企画・運営を担当した。また，2022 年 5 月 30 日～31 日には，プログラムスーパーバイザー（PS）・プログラムオフィサー（PO）による研究計画の確認および助言，研究者間の交流促進を図ることを目的とする「国際脳分科会（ハイブリッド形式）」を主催した。革新脳中核拠点と連携し，革新脳および国際脳のこれまでの研究成果を広く紹介し，脳科学研究の将来展望を議論する機会として，両プロジェクト合同主催による国際および国内シンポジウムを 2022 年 6 月 24 日～25 日の 2

日間に渡ってオンラインで開催した。さらには，両プロジェクトのデータベースを紹介するために, NEURO2022（第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会）にてブース出展を行った。2023 年 1 月 26 日には PS がプロジェクト全体の運営を監督し, 研究の進捗と点検に関わる情報収集等を行うことを目的とする「プロジェクト推進会議」を主催した。

NBR事業推進室

【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 2002 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。2017 年度からの第４期 NBRP「ニホンザル」は京都大学霊長類研究所を代表機関，自然科学研究機構生理学研究所を分担機関とする新体制で本事業を推進している。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して提供する事を目的としている。事業推進の柱として 2022 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し，生理学研究所外部委託施設ではサル繁殖事業の停止を続けている。生理学研究所外部委託施設では 2022 年度末時点で繁殖母群９７頭，育成仔ザル４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３２件１１４頭の応募があり，３２件１１４頭が採択，３２件６６頭が京都大学霊長類研究所（代表機関）から提供された。提供先機関は，国公立が９機関，私立大学が３機関，研究所が６機関，合計１８機関である。

（３）研究用ニホンザルの組織試料提供の実施

NBRP「ニホンザル」事業がより広く周知されるに伴い，血液等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，提供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，2014 年度から組織試料の提供を試験的に開始し，引き続き本格的な体制づくりに努めた。

（４）プロジェクトの総合的推進

１）委員会等の実施

プロジェクトを円滑かつ総合的に推進するため，運営委員会（メール会議を含む），提供検討委員会（メール会議を含む），合同会議（メール会議含む）の開催支援を行った。

２）ユーザーコミュニティとの連携

研究者コミュニティとの連携協力，情報の共有を図るために使用者会議を開催すると共に，情報伝達のためにホームページを活用した。また，実験動物使用者会議をオンラインにて開催し，ユーザーとの意見交換を行った。

３）事前講習会の開催

事前講習会を開催して，ニホンザル提供を希望する研究者に対して教育と指導を行った。今年度はオンラインにて３回開催した。

４）母群検討委員会

生理学研究所外部委託施設の繁殖母群について話し合うために，生理学研究所所長の諮問機関として設置された。科学的観点，社会的観点から慎重に検討している。

脳機能計測・支援センター

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。

シナプス可塑性における短時間-長時間変換シグナルのメカニズムの解明

長澤裕太郎，佐藤愛子，平田華代，村越秀治

神経回路の形成と機能の基礎となるシナプスは数万タンパク質分子からなる 300 ナノメートル程度の分子複雑体である。その形態・体積や内部構造は動的に制御されており，動物の記憶メカニズムの基礎と考えられている。我々はこれまで，2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法により, 海馬興奮性シナプスにおいて, 短時間の Ca^{2+} 流入および CaMKII 活性化が局所的かつ動的な長時間の低分子量 G タンパク質（Cdc42）活性に変換されることがシナプス長期増強の基礎となっていることを明らかにした。現在，このタイムスケール変換メカニズムを調べている。本研究では，Cdc42 の活性化因子に着目し，網羅的にそれらのダイナミクスと分子機能を 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法と局所分子光操作法により明らかにすることを試みている。現在までに６つの候補分子を決定し，これらの分子のダイナミクスを観察するための新規蛍光プローブの開発を進めた。今後はこのプローブを用いて海馬スライスのシナプスでの入力依存的なダイナミクスを解析する。

CaMKII 分子の高速 AFM イメージング

村越秀治，長澤裕太郎，柴田幹大

脳内の記憶形成や忘却に関わる酵素である“カルシウム・カルモジュリンキナーゼ II（CaMKII）”の入力依存的な構造変化（活性化）の種による違いを，高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）を用いて，ナノメートルスケールで可視化することを試みている。ラット由来の CaMKIIα を高速 AFM で観察したところ，CaMKIIα は主に 12 個の分子がリング状に集合し, 花びらを広げたような美しいリング構造を取ることが分かった。次に，3 か所（Thr286/Thr305/Thr306）の自己リン酸化により生じる CaMKIIα を観察したところ，非常に活発に動くキナーゼドメインと, 隣り合うキナーゼドメインが集まってできた集合体(キナーゼドメイン集合体)が観察された。一方で，興味深いことに，ヒドラや線虫の CaMKII では，ラット由来のもので観察されたキナーゼドメイン集合体は観察されなかった。キナーゼ集合体との相関はないものの，ラットの CaMKII はヒドラや線虫のものと比較して脱リン酸化酵素への強い耐性を示した。なぜ異なる種でこのような耐性が生じるのかを調べることは今後の課題である。

親水性を大きく改善した蛍光タンパク質の開発

村越秀治，小杉貴洋

蛍光タンパク質は今や生物学分野において，生命現象を明らかにするためのなくてならないツールとなっている。例えば，蛍光タンパク質を細胞に発現させることで分子局在をモニターすることができる。一方で，蛍光タンパク質が細胞内タンパク質に非特的に結合することによって，細胞機能を阻害することが知られている。そこで本研究では，細胞内タンパク質との非特異的結合を減少させた蛍光タンパク質の開発を進めている。EGFP を鋳型にして，側鎖が表面にあるアミノ酸をより親水性のものに置換することによって，非特異的結合を減らした新規蛍光タンパク質を作製した。今年度は親水性化したタンパク質（super-soluble Green Fluorescent Protein: ssGFP）の結晶構造解析を行い ssGFP の表面アミノ酸が親水性のアミノ酸に置き換わっていることを確認した。また，ssGFP のスペクトルなどの光学的性質を調べ，従来の EGFP よりも，精製したもの，細胞内の両方で明るいことを確認した。今後は EGFP に非特異的に結合している分子の解析を進める。

新規レーザーによる 3/4 光子顕微鏡の開発

村越秀治，植田大海，長澤祐太郎，藤　貴夫

現在，脳深部の神経細胞の観察を目指して豊田工大藤教授と連携して，新規ファイバー型レーザーの構築とそれを利用した３光子顕微鏡システムを構築している。現在多光子顕微鏡に利用される市販レーザーは 700-1000 nm のものが一般的であるが，水による吸収が比較的少ない波長 1900 nm 程度までは波長が長いほど組織による散乱が少ないと考えられている。そこで本研究では 1800 nm のファイバー型レーザーを開発し多光子顕微鏡を構築することで脳組織深部の観察を試みている。具体的には，長波長領域において透過性の高いツリウムファイバーを用いて新規レーザーシステムの構築を進めた。現在までにこのレーザーを用いて，赤色蛍光タンパク質である TurboFP635 を発現した海馬スライス内神経細胞の可視化に成功した。今年度は，このシステム下において個体マウス脳のイメージングを進め，脳深部 700 マイクロメートルにある神経細胞の可視化に成功し論文として発表した（Murakoshi et al. Biomedical Optics Express 2023）。

電子顕微鏡室（窪田グループ）

【概要】

大脳皮質の神経回路が機能的に働き，私たちの知覚，運動，思考といった知的活動を支えている。当研究室では大脳皮質局所回路の構築の研究をしている。大脳皮質の１次・２次運動野に焦点をあて，in vivo imaging，免疫組織化学法，光顕-電顕相関解析法，大規模電顕画像解析法などの多岐にわたる実験手技を取り入れ，神経細胞タイプごとのシナプス結合パターンや 可塑的な神経回路リモデリング等，記憶学習などを中心に研究をすすめた。新皮質局所回路と大脳システム回路を統合的に解析し，ニューロンタイプの機能分担や層構造の役割，さらに運動野から感覚野・海馬・視床・基底核・小脳などへの多様な投射などの機能的解析を進めている。

ラットの前頭皮質における視床前外側核（VL）由来神経終末のシナプスターゲット構造

窪田芳之，江川尚美，北　啓子，江藤智子，
倉本恵梨子（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科）

ラットの視床前原側核（VA）および視床外側核(VL)からの視床-皮質神経線維を AAV で GFP 標識した前頭皮質（第２次運動野）の組織の切片を，まず，ランドマークとして，血管を赤色蛍光レクチン標識，核を DAPI で標識し，共焦点顕微鏡で画像撮影した。組織処理し，樹脂に包埋した後，連続電顕切片を自動でテープに回収する Automated Tape Collecting Ultramicrotome (ATUMtome) を使って，1193 枚の連続超薄切片を作成した。ランドマークを手がかりとして，GFP 標識した VA からの遠隔投射軸索を大規模電顕データセットで見出した。１層，４層，５層において解析を進めた。大規模光顕電顕相関解析法により電顕画像データセットの解析作業を手作業，あるいは Princeton 大学との共同研究による自動セグメンテーションで進め，視床-皮質神経終末のターゲット神経構造を検討したところ，視床-皮質 VA 神経終末のターゲットはほぼ全てが（96%）が棘突起であった。また，視床外側核(VL)からの視床-皮質神経線維のターゲット解析を実施中である。

シナプス可塑性の空間広がりを明らかにする生化学シグナル伝達シミュレーション

浦久保秀俊，窪田芳之

記憶の要素であるシナプス可塑性は，特徴的な形状をもつ樹状突起スパインにおいて生じる。しかし，スパイン形状がシナプス可塑性へ与える影響を具体的に見積もることは容易ではない。そこで，電子顕微鏡（EM）３次元画像に基づいてデンドライト～スパイン形状を丸ごと再構築すると共に，生化学シグナル伝達のシミュレーションを行い，シナプス可塑性の空間的広がりであるヘテロ可塑性を導く分子活性の観測を続けている。その結果，どうやらスパインには形状に依存した個性があり，(1) 周囲に影響を与えやすい（ヘテロ可塑性シグナルを発信する）シナプスと，(2) 周囲から影響を受けやすい（ヘテロ可塑性を生じやすい）シナプスが存在することが明らかになってきた。これまでの表面的なスパイン形状の類別（マッシュルーム型，フィロポディア型など）とは異なり，脳情報処理の観点からスパイン形状の分類が可能であることを示唆している。そこで，シミュレーションをさらに進め，形状のいかなる要素がヘテロ可塑性の決定因子であるかを明らかにする。

生体機能情報解析室

【概要】

ヒト並びにサルを対象とする脳機能計測を支援するとともに，脳の構造機能連関研究を進めることを目的としている。高磁場 MRI（３テスラおよび７テスラ）装置の基礎研究・機器開発から臨床画像研究ならびにヒト電気生理学的計測の共同研究を推進し，測定方法，解析手法，応用の範囲，安全性の検証などの面で基盤技術を整備する。脳の構造機能連関を研究するにあたり，生成される大量の画像データを統計数理学的に取り扱う手法を開発しつつ，心理生理学研究部門と共同して共同利用研究の新たな方向性であるデータベース構築と meta-analysis を推進している。

三叉神経瞬目反射プレパルス抑制の標的部位

バヤスガラン･ボルギル，伊東保志，新垣　愛（発達障害研究所）
乾　幸二，木田哲夫

プレパルス抑制は,驚愕反射を惹起する強い感覚刺激の前に，それ自体は反射を起こさない弱い感覚刺激を先行させると，驚愕反射が抑制される現象である。我々は，三叉神経刺激による瞬目反射を指標としたプレパルス抑制に注目している。R1 は，三叉神経主知覚核と顔面神経核を経由する乏シナプス反射であり，抑制機序解明に好都合であると期待される。

眼窩上神経（SON）を電気刺激し,同側下眼瞼から瞬目の R1 成分を記録する。テスト刺激強度を R 1 閾値 1.5 倍，プレパルスを 0.9 倍とし，プレパルスを先行させた場合の抑制率を計算する。プレパルスーテスト間隔は 20–600 ミリ秒とした。SON-SON 以外に，顔面神経軸索-SON，音-SON，音-音の場合の抑制も同様のパラダイムで計測した。その結果，１）顔面神経核は，どのような入力であっても促通する，２）感覚刺激の種類を問わず，140 ミリ秒の間隔で最も抑制が強い，３）SON-SON の R 1 抑制は主知覚核で生じる，等が明らかとなった。

J Neurosci, 43: 261-269, 2023.

時系列細胞現象解析室

【概要】

脳は神経細胞を素子とし，シナプスを介した神経回路で情報を処理することによって高次機能を発揮する。従って，神経回路の構造を理解した上で個々の細胞の活動や細胞間のシナプス伝達の制御機構を明らかにすることは，脳の機能を理解することにおいて必要不可欠である。私たちは，大脳皮質，基底核，小脳などの脳領域において主に生理学的手法を用いて，高次機能と関連した神経回路の機能的構造や動態制御ならびにシナプス伝達の動作・制御機構を研究してきた。また，脳・神経系疾患の発症機序について，新規治療法の開発も目指して，疾患関連遺伝子変異マウスの病態解析も行っている。本年度は，高次機能に関連した神経細胞・回路の動態制御機構として，運動学習における皮質二次運動野の錐体細胞サブタイプの機能的役割について解析を行った。また，エタノールがグルタミン酸輸送体（興奮性アミノ酸輸送体 excitatory amino acid transporter, EAAT）の機能亢進を引き起こすメカニズムを追究し，タンパク質キナーゼ C（protein kinase C, PKC）の関与を示唆する結果を得た。

エタノールの EAAT 機能亢進作用：シグナル機構の検討

佐竹伸一郎

エタノールは，グルタミン酸輸送体 EAAT の機能を可逆的に亢進させる作用を示す。この作用の分子的基盤を明らかにするため，細胞内シグナル機構に焦点を当てて薬理学的手法による検討を行った。エタノールの EAAT 機能増強作用（ターンオーバー亢進作用）は，タンパク質キナーゼ C（protein kinase C, PKC）阻害薬 GF109203X ならびに PI3 キナーゼ（phosphatidylinositol 3-kinase）阻害薬 wortmannin の投与により消失した。一方，PKC 作動薬ホルボールエステル PDBu や PMA に EAAT 亢進作用は認められなかった。エタノールが EAAT の機能を増強する作用には，PKC を必要とするものの，その活性化は十分な要素ではないと結論した。PKC は，エタノールから EAAT に至る機能制御/シグナル制御機構の維持に関わるなど，補助的な位置付けにあると推定して引き続き検討を進めている。

皮質領野間結合回路における学習形成の制御機構

大塚　岳

皮質錐体細胞は多様な投射先に対応して分化しており，局所回路においてサブネットワークを形成し，複雑な情報処理を行っている。ラットの一次運動野（M1）において脊髄に投射する 5 層錐体細胞（PT）に依存して β/γ 周波数帯（～30 Hz）のオシレーションが誘発され，学習形成に重要な役割を担っていることをこれまでに報告した。本年度は，二次運動野（M2）からの M1 のシナプス結合様式と M2 による学習の制御について検討した。チャネルロドプシンを M2 錐体細胞サブタイプ選択的に発現させ，光刺激によって誘発されるシナプス入力についてスライス標本を用いて検討した結果，M1 では抑制性介在細胞への結合特異性がみられた。また，回転カゴを用いた足場バーのパタン学習をラットに行わせ，M2 錐体細胞サブタイプの機能的役割を検討した。光操作で M2 錐体細胞サブタイプの神経活動を抑制すると学習形成がサブタイプ依存的に抑制された。これらの結果は，M2 が運動学習の形成に関与しており，特定の錐体細胞サブタイプから抑制性介在細胞への結合回路が重要な役割を担っていることを示唆する。

行動・代謝分子解析センター

ウィルスベクター開発室

【概要】

ウィルスベクターは，げっ歯類から霊長類に至る広範な哺乳類モデル動物に適用可能な非常に優れた遺伝子導入ツールである。ウィルスベクター開発室では，アデノ随伴ウィルス（AAV）ベクターとレンチウィルスベクターの大量精製システムが確立しており，これらのウィ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，ベクターコアとしての役割を担っており，国内外の研究機関からの要望に応じてウィルスベクターの提供を行い，共同研究を推進している。また，独自に開発したウィルスベクター遺伝子導入システムを駆使して，脳における特定神経路の機能解析に取り組んでいる。

ウィルスベクターの提供による共同研究の推進

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 205 件のウィルスベクターの提供を行い，共同研究を推進した。これらの共同研究の中には，すでに今年度に論文として発表されたものや投稿中のものが含まれており，引き続き活発な共同研究が進められている。

脳機能解析に有用なウィルスベクターシステムの開発

小林憲太，南部　篤，佐野裕美（藤田医科大学）

脳機能解析を行う上で，特定神経路において高効率な逆行性遺伝子導入を可能にするウイルスベクターシステムは，強力なツールとなる。現在，種々のモデル動物の様々な神経路に適用出来る高効率な逆行性 AAV ベクターシステムの開発・改良に取り組んでいる。

細胞内シグナル伝達分子の活性操作による新しいパーキンソン病治療法の探索

小林憲太，南部　篤，佐野裕美（藤田医科大学），貝淵弘三（藤田医科大学）

独自に開発したダブル AAV ベクターシステムを利用して，パーキンソン病モデルマウスの線条体-黒質投射ニューロンで特異的に protein kinase A (PKA) のドミナントアクティブ変異体を発現誘導した結果，パーキンソン病様の表現型が顕著に緩和された。現在，PKA の下流で機能する低分子量GTP結合タンパク質に着目して，同様の解析を進めている。本研究は，特定の細胞内シグナル伝達分子を標的とした新しいパーキンソン病治療法の開発に大きく貢献すると考えられる。

遺伝子改変動物作製室

【概要】

目的遺伝子の機能を個体レベルで解析するため，あるいはヒト疾患をモデルとして再現するため，遺伝子改変動物は欠かすことができない。ラットにおいて胚性幹（ES）細胞の樹立方法が確立され，CRISPR/Cas9 システムのような遺伝子編集技術も急速な発展を遂げたことにより，ラットでも自在に遺伝子改変動物を作製できるようになった。これまではマウスを用いて追究されてきた様々な生命現象をラットでも解析でき，動物種を超えた諸現象の保存性や種特異性の有無も明らかになる。以下には，ラット多能性幹細胞から試験管内で精子・卵子の元になる機能的な始原生殖細胞の分化誘導について紹介する。

ラット多能性幹細胞からの機能的始原生殖細胞の分化誘導

小林俊寛，平林真澄

体のあらゆる細胞になれる多能性幹細胞（ES 細胞や iPS 細胞）から精子・卵子といった生殖細胞を作ることができれば，効率的な産業動物の繁殖や，絶滅危惧種の保存，ヒトの高度生殖医療など，様々な応用に繋がると期待される。今から約 10 年前，マウスにおいて多能際幹細胞から精子・卵子の元となれる始原生殖細胞（PGC）の誘導が報告され，以来，試験管内で生殖細胞を作製する研究が加速度的に進んできた。しかし，これまでに受精能および個体発生能をもつ機能的な生殖細胞の作製はマウス以外の動物種では達成されていなかった。そこで本研究ではラットの多能性幹細胞を用いて機能的な PGC の誘導を試みた。これまで我々が独自に積み重ねてきたラット多能性幹細胞および生殖細胞発生の研究成果を元にラット初期発生を模倣する段階的な分化誘導法を開発した結果，試験管内で効率的にラット PGC を誘導できることに成功した。誘導された PGC を生殖細胞欠損ラットの新生仔精巣に移植すると，およそ 2 か月後には移植した PGC 由来の精子形成が観察され，得られた精子細胞および精巣内精子を用いた顕微授精により産仔を獲得できた。以上より，マウス以外では世界初の成果として，ラットにおける多能性幹細胞からの機能的な PGC 誘導を示すことができた。

多階層生理機能解析室

【概要】

行動様式解析室と代謝生理解析室が統合され，多階層生理機能解析室が設置された。

本解析室では，遺伝子改変動物および様々な病態生理学的状況におけるマウス・ラットを対象として，代謝，神経活動の in vivo 計測や幅広い領域を対象とした行動解析を含めた多階層に渡る生理機能解析を行い，標的遺伝子，分子の機能を明らかにすることを目的とする。遺伝子改変動物作製室あるいは各研究者が作製，保有する遺伝子改変マウス・ラットなどを用いて以下の項目について解析を行う。

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の神経活動の計測（担当：生体システム研究部門，南部教授），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), 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），麻酔マウスを用いた臓器形態－機能連関（肝・腎・血管），4 次元心機能変化，微小循環血流量（脳・臍帯）の非侵襲的超音波イメージ（担当：心循環シグナル研究部門，西田教授），円形温度グラジエント装置によるマウス温度嗜好性解析（担当：細胞生理研究部門，富永教授），情動，学習・記憶に関わる行動解析 : オープンフィールド，明暗往来，高架式十字迷路，強制水泳，ロータ・ロッド，受動的回避反応，恐怖条件づけ，モリス水迷路，バーンズ迷路，Y 字迷路，3 チャンバー社会性など。

ドーパミン D2 受容体発現神経細胞 NMDA 受容体活性化マウスにおける大脳基底核内情報伝達の異常

知見聡美，南部　篤，笹岡俊邦，齊藤奈英（新潟大学）

ドーパミン D2 受容体発現神経細胞のグルタミン酸 NMDA 受容体における Mg^{2+} ブロック機構が機能しない遺伝子改変マウス GEMA において，大脳基底核の淡蒼球外節の神経活動を記録した。大脳皮質に電気刺激を加えて応答を調べてみると，正常マウスでは「早い興奮－抑制－遅い興奮」という３相性の応答を示すが，GEMA マウスでは，抑制と遅い興奮が著しく増強されていた。淡蒼球外節における皮質由来の抑制は大脳皮質－線条体－淡蒼球外節路を，遅い興奮は大脳皮質－線条体－淡蒼球外節－視床下核－淡蒼球外節路を介して伝達される。また，淡蒼球外節に投射する線条体間接路ニューロンはドーパミン D2 受容体を発現していることが知られている。GEMA マウスでは，間接路ニューロンにおける NMDA 受容体の Mg^{2+} ブロック機構が機能しないため，大脳皮質の電気刺激に対して間接路ニューロンが過剰な興奮を生じた結果，抑制と遅い興奮が増強したと考えられる。

褐色脂肪組織の機能異常は trimethylamine N-oxide 依存性に心不全を増悪させる

吉田陽子，清水逸平，南野　徹（順天堂大学大学院医学研究科循環器内科）
岡本士毅，箕越靖彦

体温の低下が心不全患者の病態を悪化させることは知られているが，そのメカニズムはよく分かっていない。本研究では，熱産生組織である褐色脂肪組織の機能異常によって心不全が増悪することを，マウスモデルを用いて明らかにした。

本研究ではまず，マウスに対して大動脈弓縮窄術（TAC）或いは心筋梗塞を引き起こすと，褐色脂肪組織の熱産生機能が低下し，寒冷曝露によって体温が低下すること，褐色脂肪組織の熱産生機能を高めると，心機能も改善することを見出した。これに対して，褐色脂肪組織の熱産生機能が低下させたマウスでは心機能が低下して，TAC による生存率を低下させた。メタボローム解析を行ったところ，褐色脂肪組織の熱産生は血漿 trimethylamine N-oxide (TMAO) 濃度の上昇と逆相関していた。TMAO をマウスに投与すると，心臓においてミトコンドリア complex IV 活性を抑制し，phosphocreatine と ATP レベルを低下させた。薬理学的に血漿 TMAO レベルの上昇を抑制すると心機能も改善した。拡張型心筋症の患者では血漿 TMAO レベルが上昇しており，体温も低下していた。以上の実験結果から，褐色脂肪組織の機能を維持し血漿 TMAO レベルを低下させることは，心不全の新規治療となることを示唆する。

心臓の圧受容反射応答（陽性変力作用の増強）における TRPC6 チャネル依存的 Zn^{2+} 流入の役割と心不全への治療応用

西山和宏，加藤百合（九州大学）
西村明幸，西田基宏

心臓の圧受容反射は血液循環恒常性を維持するうえで極めて重要な役割を果たしている。血圧が低下した際，交感神経系が活性化することで代償的に心機能が亢進することは教科書的にも知られているが，交感神経終末から放出されるノルアドレナリン（NA）を感知する GPCR が NA 高親和性の α 受容体でなく NA 低親和性の β 受容体である理由については良くわかっていなかった。我々は，TRPC6 欠損マウスを用いた解析から，NA が α

受容体刺激により TRPC6 チャネルの活性化を介して亜鉛イオン（Zn^{2+}）を細胞内に動員させることで β 受容体／Gs シグナリング，特に陽性変力作用（強心作用）を増強させることを明らかにした。また，TRPC6 活性化薬 PPZ2 が様々な心不全モデルマウスの心機能を強く改善させることも実証した。

カルモジュリンキナーゼ II 活性と不安様行動

山肩葉子
柳川右千夫（群馬大学）

Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（CaMKII），中でも神経細胞特異的に発現するアイソフォームである CaMKIIα は，脳に多く存在する蛋白質リン酸化酵素であり，学習・記憶の分子メカニズムの基礎になっていることが知られている。我々は，その活性をなくした CaMKIIα ノックインマウス（CaMKIIα-KI）の解析を行い，海馬依存性のシナプス可塑性と海馬依存性の記憶が強く障害されることを示してきた。一方，CaMKIIα-KI にオープンフィールドテストと高架式十字迷路テストを課すと，それぞれ不安様行動の増大と減少という一見相反する結果が得られた。さらに，恐怖条件づけの 1 回刺激で恐怖反応の減弱が観察されたこと，強制水泳で 1 日目と 2 日目の運動量・無動の時間経過がほぼ同様であったことから，CaMKIIα 活性が学習・記憶のみならず，不安様行動の発現にも関与していることが示唆された。

情動，学習・記憶に関わる行動解析実験の支援

山肩葉子，西島和俊

マウスを用いて情動や学習・記憶に関わる行動解析を行うことにより，特定の遺伝子・蛋白質の生理機能の解明や，疾患モデル動物の開発・評価を目指して行動解析室が設置されている。本室のセットアップ，並びに学生への実習指導，共同利用研究者に対する研究支援を行った。具体的には，既存の行動実験装置に加えて情動関連・社会性行動の評価のために，Y 字迷路，３チャンバー社会性の各テストの導入・最適化を行った。また，生理学研究所内外への行動解析室の紹介，大学院生・訪問研究員等への行動解析実習を行うと共に，所内の 2 研究室・3 研究プロジェクトに対して，行動実験計画の作成，具体的な実験指導，データ解析支援を行った。

動物資源共同利用研究センター

【概要】

動物資源共同利用研究センター（以下「センター」と略す）は，2019 年 4 月に改組され，運営部門，先端モデル動物作製室，モデル動物表現型解析室の 3 部門からなる。センターでは，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して，管理運営，研究，研究支援，教育及び社会貢献を行うべくその責務を果たした。

Ⅰ．管理運営

1. 動物飼育数及び入館者数

明大寺地区の動物種別飼育数（特定の日に集計した値）は，マウス 2,645 匹，ラット 0 匹，魚類 11,790 匹，両生類 85 匹，サル類 42 匹であった。年間入館者数は延べ 3,656 人（センター職員を除く），登録者数は 155 名であった。山手地区の動物種別飼育数（特定の日に集計した値）は，マウス 2,968 匹，ラット 232 匹，魚類 4,020 匹，両生類 279 匹であった。年間入館者数は延べ 5,400 人（センター職員を除く），登録者数は 133 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，15 部門（生理研 14 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，9 部門（生理研 5 部門，生命創成探究センター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。水生動物の利用状況は，明大寺地区では 4 部門（生理研 1 部門，基生研 3 部門），山手地区では 3 部門（生命創成探究センター3 部門）が水槽を利用した。

3. 微生物学的品質管理

（1）齧歯類の微生物モニタリング項目

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，ラットを対象に，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：Mouse hepatitis virus, Sendai virus, Ectromelia virus, Lymphocytic choriomeningitis virus, Sialodacryoadenitis virus, Hantavirus；細菌性感染症：*Mycoplasma pulmonis*, *Salmonella spp.* , *Clostridium piliformis*, *Pasteurella pneumotropica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus pneumoniae*, *Citrobacter rodentium*, *Corynebacterium kutscheri*, *Helicobacter hepaticus*, *Helicobater bilis* ；内部寄生虫：Giardai muris, Spironucleus muris, Trichomonads etc. , Pinworms と外部寄生虫とした。

（2）齧歯類の微生物モニタリング検査体制

3 ヶ月に一回の割合で，センターにおける自家検査により，齧歯類の微生物モニタリングを行った。自家検査はセンターの獣医師の指導の下，ICLAS モニタリングセンターで研修を受けた技術職員 1 名及び技術支援員 1 名で実施した。なお，自家検査による成績の正確性を維持することを目的として，継続して ICLAS モニタリングセンターでの研修を受ける予定であったが，2022 年度は新型コロナ禍のため中止した。

（3）微生物検査の件数

明大寺及び山手地区で飼育される実験動物の適正な微生物学的品質管理を目的として，搬入時には全てのマウス（ブリーダー等の特に指定された施設からの動物を除く）の検疫を，飼育中の齧歯類動物については定期的な微生物モニタリングを実施した。検査試薬が入手できない検査項目や自家検査の対象としていない検査項目については，検査を外部委託した。自家検査で行った件数は，明大寺地区ではマウス 156 件，山手地区ではマウス 122 件とラット 24 件であった。外部委託検査依頼件数は，明大寺・山手両地区合わせて，マウス Lymphocytic choriomeningitis virus 278 件，ラット Hantavirus 24 件であった。

4. サル類の検疫

サル類実験動物の検疫検査と一般健康診断を実施した。2022 年度はニホンザル 12 頭の検疫検査を実施した。サルの定期的健康診断においては，全頭（45 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菌感染検査，B ウイルス抗体検査，サルレトロウイルス（SRV）抗体検査・核酸検出，HEV 抗体検査・核酸検出，麻疹ワクチン予防接種及びイベルメクチンの予防投与を実施した。

5. マウス受精卵凍結胚操作・融解・クリーンアップ

げっ歯類の授受について，動物輸送件数は年間でのべ

55 件の導入と 75 件の供与があった。このうちの一部について凍結保存やクリーンアップを行った。すなわち，受精卵凍結保存 17 件，精子凍結保存 1 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存 4 件, 融解･移植 5 件を実施した。

6. 設備等の主な修繕

適正な動物飼育環境の保持のために，各設備のトラブルについて対処した。

（1）明大寺地区動物棟 1

・空調機の仕様パラメーターの変更
・給排気装置風圧センサーの交換
・万能洗浄機配線の修繕，タッチパネルの交換
・ケージ洗浄機用排気ファンの修理
・オートクレーブ漏水の修理
・飼育室の給水配管フラッシング装置減圧弁の交換
・弱酸性水用コックの交換
・実験室への緊急放送用スピーカー増設
・火災時非常ベルの無線機の設置
・超純水装置（Milli Q）の更新

（2）明大寺地区動物棟 2

・冷温水機冷却チューブの洗浄修理
・排風機軸受け部ベアリングの交換
・マーモセット飼育装置給水部配管の交換
・貯水タンクボールバルブの交換
・検査室エアコンのドレーン詰まりの除去
・排水フラッシュ弁の修理
・エレベーター通信機器，バッテリーの交換

（3）山手地区

・空調機配管蒸気漏れの修理，タイマースイッチの交換，温水ポンプの更新
・冷温水発生機インバータ冷却ファンの交換
・貫流蒸気ボイラーの修理
・オートクレーブのプログラム変更，スチームトラップ交換
・EOG 滅菌装置温水循環ポンプの修理
・ディープフリーザーのファンモーター，バッテリーの交換
・温水循環ポンプのストレーナー，ポンプのエンペラなどの清掃
・洗濯機・衣類乾燥機の更新
・EV 用防火扉の修理
・火災感知器の交換
・チャタテムシの駆除

7. 動物実験の自動化，リモート化の推進

概算要求による資金を獲得し，マウスを対象とした集団型全自動行動･記憶学習測定システム（明大寺地区，山手地区に 1 台ずつ），脳 in -vivo イメージング及びオプトジェネティクスシステム， 小動物用吸入麻酔装置を導入した。サル類を対象として，自動飼育システム，多目的集団ケージ及びサル飼育室用移動式カメラシステムを設置した。

Ⅱ．研究

1. 個別換気飼育ラックフィルターからの微生物モニタリング検査法の検討

従来，微生物モニタリングを実施する際には，飼育環境内に暴露して存在する微生物を感染させた囮動物を検査する方法がとられている。これに対し，飼育ケージからの排気中の微粒子をトラップするフィルターから微生物を検出することにより，動物の犠牲を伴わずに微生物モニタリング出来る。この微生物モニタリング方法について，実験動物中央研究所と共に検討を進めた。

2. 受賞等

廣江猛技術職員が「動物資源共同利用研究センターにおける新型コロナウイルス感染症対応について」で生理学実験技術特別賞を受賞した。

Ⅲ．研究支援

1. 運営部門

・センターの計画共同研究に関わる応募要項を作成し，応募のあった計画共同研究についてセンター内で審議を行った。その後に運営委員会での審議，生理研共同利用研究部会での審議を経て承認された（31 件を採択）。

2. 先端モデル生物作製室

・研究所外 12 件の要請に応え, 研究の進捗に重要な役割を果たすトランスジェニック（Tg）動物やノックアウト/ノックイン（KO/KI）マウス・ラット計 17 系統を作製し，提供した。

3. モデル動物表現型解析室

・2 件の計画共同研究課題を実施すると共に，生理研内 2 研究室の 3 研究課題について，マウスの情動，学習・記憶に関わる行動解析の計画・実施に対する援助を行った。

Ⅳ．教育

1. 利用者講習会

初めてセンターを利用するユーザーを対象として，利用者講習会及び実務講習会を開催した。新型コロナ禍であったため，利用者講習会の開催回数を減らし，オンラインでの開催とした。実務講習会は実地で行ったが，密を避けるために人数を制限した。利用者講習会には明大寺地区で 7 名，山手地区で 9 名，実務講習会には明大寺地区で 11 名，山手地区で 12 名の参加があった。

2. 実技講習

マウスの取り扱いに不慣れな方及び動物実験初心者の方を対象として, 3R の原則に基き動物の福祉に配慮したマウスの正しい取り扱い方法と基本的な手技を習得するための実技講習会を計画したが，新型コロナ禍のために中止した。

3. 生理研トレーニングコース

生理研トレーニングコース「遺伝子改変マウスの基本的手技と学習･記憶行動解析入門」を実施予定であったが，コロナ禍のために現地での開催は中止となった。

4. 動物実験委員会主催講習会

動物実験委員会実験用霊長類専門委員会の「サル講習会」では，サルの利用に関する規定，法律，ガイドライン，動物愛護管理法の改正，事故・感染予防及びヒトの健康診断とサルの血液検査，獣医学的管理と人獣共通感染症について講義が行われ，その一部を担当した。受講者は合計 38 名であった。

Ⅴ．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，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，日本学術会議，日本実験動物技術者協会，同協会東海北陸支部，東洋大学動物実験委員会，徳島大学，実験動物中央研究所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，副理事長，理事，評議員，委員，顧問，支部長等の役割を担って活動した。また，熊本大学，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. 動物愛護管理法, 動物実験基本指針等の各種規制に関連する活動

「動物の愛護及び管理に関する法律」や「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」等の各種規制に関して，文部科学省，農林水産省，環境省，厚生労働省，内閣府等，日本学術会議（実験動物分科会・機能医科学分科会・ICLAS 分科会），全国医学部長病院長会議との打合せを行った。

3. 日本実験動物学会主催の人材育成事業

日本実験動物学会が主催する人材育成事業に関して中心的な役割を担った。人材育成事業とは，主催：日本実験動物学会，事業主：文部科学省，事業名：ナショナルバイオリソースプロジェクト・情報センター整備プログラム「外部検証促進のための人材の育成と活用」事業（2021～2026 年度），後援：文部科学省として展開しているものである。

4. 行政との情報交換

文部科学省，農林水産省，環境省，厚生労働省，内閣府等との間で情報交換を行った。特に，「動物の愛護及び管理に関する法律」の見直しに向けて，関係省庁との間で協議を重ねた。

5. 実験動物等の関係者への周知徹底

研究所外の実験動物・動物実験関係者に対して，各種研修会や講演会において，「動物の愛護及び管理に関する法律」の改正等に関するこれまでの経験，現状及び将来に向けての方向性等について，周知徹底を図った。

技術課

大河原浩，吉村伸明

【概要】

今年度, ネットワーク管理および情報セキュリティ管理を強化するため, 法人採用試験により伊藤翼係員を採用した。また，昨年度に引き続き，ネットワーク管理および情報セキュリティ管理の強化, 動物飼育および実験技術向上を図るため，技術職員の採用に向けた活動を行った。

技術課組織の強化と指導体制の見直し，研究支援体制の充実を図るため，石原博美主任，髙橋直樹主任の 2 名を係長に，横井功係員を主任に昇任させた。

今年度，1 名の技術職員が中途退職となり，担当業務の整理と引継ぎを行った。

また，今年度末，技術課長が定年退職を迎えるため，「生理学研究所技術課に置かれる技術課長及び課長補佐に関する申合せ」の改訂を行ったのち，それに従い，生理研教授会議に技術課長選考委員会が，技術課内に技術課長候補者推薦委員会がそれぞれ設置され，次期技術課長の選考が行われた。

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，『生体アンプ回路工作と機械工作入門』を現地開催で企画した。3 名の受け入れを予定していたが，COVID-19 の影響でオンラインのみでの実施に変更となり，現地開催コースは中止となった。

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 45 回を，生物学技術研究会（基礎生物学研究所技術課主催）と合同で 2023 年 2 月 16 日－17 日の 2 日間にわたりオンライン開催した。会では，ポスター口演発表が 28 題あり，研修講演として『定量生物学の現状と展望』（北城 圭一教授，生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門）を，特別講演として『生理学技術研究会を振り返って』（大河原技術課長，生理学研究所 技術課）を行った。これらの報告を『生理学技術研究会報告（第 45 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 17 回の報告会（2022 年 2 月 16 日）を 12 演題で行った。この報告を『生理学技術研究会報告（第 45 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技術紹介と技術連携・異分野連携を目的に開催し，第 16 回を 2022 年 6 月 23 日に国立天文台でオンライン開催した。会では，13 題の技術テーマに分かれて，グループディスカッションを行った。また，各研究所の最新動向と技術トピックスが 5 演題あった。詳細は『第 16 回自然科学研究機構技術研究会報告書（Web 掲載）』にまとめた。

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技術向上を目的に，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，本年は情報コースが企画された。開催日を調整し実施されたが受講者はなかった。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（名古屋，Web 開催，3 名）に参加し，今後の研修会開催について議論を進めた。

その他，共同利用機関におけるセキュリティワークショップ（滋賀，Web 開催，3 名），実験・実習技術研究会 2023（広島，Web 開催，2 名），分子科学研究所技術研究会（岡崎，Web 開催，2 名），令和 4 年度自然科学研究機構初任者研修（岡崎，Web 開催，2 名），令和 4 年度東海地区国立大学法人等係長研修（名古屋，Web 開催，3 名），令和 4 年度国立大学法人等情報化要員研修（東京，Web 開催，1 名），第 48 回国立大学法人動物実験施設協議会総会（鳥取，Web 開催，5 名），微生物モニタリング研修（神奈川，1 名），第 4 回 京都大学ヒト行動進化研究センター技術部セミナー（犬山，1 名）などに参加し，業務の研究技術力および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，ビートルズ de 英文法（’２１）の 1 科目を選択し，1 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ったが，今年度は採択者がいなかった。

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。今年度も，その編集を技術係員が行い，その更新を進めた。また，閲覧状況を確認できるようにしている。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。なお，業務報告会には，基礎生物学研究所 三輪朋樹技術課長に聴講をお願いし，意見を求めることとしている。

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 18 回労働安全衛生に関する情報交換会（岐阜, Web 開催, 1 名），令和 4 年度東海・北陸地区 国立大学・研究所 環境安全衛生協議会（名古屋，Web 開催，1 名）を受講した。また，防火防災体制を強化するため，自衛消防業務再講習講習（名古屋，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，オンライン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（1 中学校，1 名）の職場体験を受入れ，生体膜研究部門の技術職員が指導した。また，せいりけん市民講座（オンライン開催），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脳機能計測･支援センター

(1) 磁気共鳴装置（生体機能情報解析室）

伊藤嘉邦，岩瀬　恵

【概要】

今年度の磁気共鳴画像装置を利用した研究成果については，システム脳科学研究領域心理生理学部研究部門の研究活動報告および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。

生理学研究所には，独シーメンス社の 3T-MRI 装置 2 台と 7T-MRI 装置 1 台の計 3 台が共同利用実験装置として設置されている。その内訳は，2010 年度に導入された 2 台の 3T-MRI Verio で構成された世界初の Dual fMRI 実験装置および 2015 年度に導入された 7T-MRI 装置である。7T-MRI 装置は，3T-MRI に比べてより高解像度で脳の断層画像の撮影を行うことが可能であり，脳機能画像計測においても新たな研究領域への貢献が期待されている。

各 MRI 装置の保守は，3 ヶ月毎にシーメンスによる定期点検が行われている。また，実験用の PC を含む実験装置の保守や更新などの技術系のサポートは心理生理学部門の技術支援員伊藤が，事務系のサポートは心理生理学部門の特任専門員岩瀬が担当している。

その他, 前年度に引き続き MRI 実験で得られる大量のデータ解析に対応するために，データ解析用 PC クラスタおよびメニーコア PC で利用する大容量ファイルサーバ・システムの増設等の解析環境の整備を行った。

7T-MRI は，6 月と 7 月に冷凍機不調により実験を行えない期間があった。7 月に冷凍機とコールドヘッドの交換を行うとともに，ヘリウムの補充を行った。また，10 月には，マグネットの真空引き作業を行った。

それぞれの MRI 装置ごとの稼働率を表に示す。なお，Dual fMRI 実験装置を構成する 2 台の Verio は単体でも実験に使用しているため，便宜上 Verio-A，Verio-B として個々の稼働率を算出している。

2022 年度　磁気共鳴装置稼働率

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	
2022 年 4 月	30	10	0	20	35	2	5	
5 月	31	12	1	18	39	0	7	
6 月	30	8	0	22	86	0	19	
7 月	31	11	1	19	100	0	19	定期保守
8 月	31	9	2	20	93	0	18.5	
9 月	30	10	0	20	100	0	20	
10 月	31	11	1	19	61	0	11.5	
11 月	30	10	1	19	79	0	15	定期保守
12 月	31	11	1	19	47	0	9	
2023 年 1 月	31	12	1	18	72	0	13	
2 月	28	9	1	18	94	0	17	
3 月	31	9	3	19	89	0	17	定期保守
計	365	122	12	231	75%	2	171	

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	
2022 年 4 月	30	10	0	20	5	0	1	
5 月	31	12	1	18	19	0	3.5	
6 月	30	8	0	22	77	0	17	定期保守
7 月	31	11	0	20	95	0	19	
8 月	31	9	0	22	82	0	18	
9 月	30	10	1	19	95	0	18	定期保守
10 月	31	11	0	20	53	0	10.5	
11 月	30	10	1	19	89	0	17	
12 月	31	11	1	19	84	0	16	
2023 年 1 月	31	12	1	18	50	0	9	定期保守
2 月	28	9	2	17	76	0	13	
3 月	31	9	2	20	70	0	14	
計	365	122	9	234	67	0	156	

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	
2022 年 4 月	30	10	1	19	58	1	10	
5 月	31	12	1	18	89	2	14	定期保守
6 月	30	8	12	10	20	0	2	使用停止 液体ヘリウム補充
7 月	31	11	10	10	0	0	0	使用停止 冷凍機交換作業 液体ヘリウム補充
8 月	31	9	2	20	45	4	5	定期保守
9 月	30	10	5	15	47	0	7	
10 月	31	11	9	11	100	1	11.5	真空引き作業
11 月	30	10	4	16	50	2	6	
12 月	31	11	5	15	93	0	14	定期保守
2023 年 1 月	31	12	1	18	67	0	12	
2 月	28	9	1	18	83	0	15	
3 月	31	9	3	19	89	0	17	定期保守 液体ヘリウム補充
計	365	122	54	189	65	10	113.5	

*使用日数は，装置を実験計測に使用した日数であり，保守作業などの使用は含んでいない。
*稼働率 = 使用日数/（日数-(休日数+保守日数)）×100
*使用日は土日を含みます（0.5）。

(2) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）

石原博美，山口　登

【概要】

電子顕微鏡室では，これまで山手地区と明大寺地区にそれぞれ 1 名ずつ配置していた技術課職員の退職に伴い担当職員の入れ替えがあり，2 名とも山手地区に常駐させる新体制で運営することとなった。

今年度も幾つかの機器においてトラブルが発生したが，技術課職員による保守作業やメーカーによる修理対応により，現在はほとんどの機器が順調に稼働している。特に，2 台ある 3 次元再構築型走査型電子顕微鏡（Zeiss 製 SBF-SEM）は，経年劣化と考えられる故障が頻発し修理を繰り返してきたが，現在は共に復旧している。研究の停滞を避けるために，2021 年度末に山手地区 2 号館 1 階電顕室スペースに導入された 3 台目の SBF-SEM 装置（日本電子製 IT800）は，試運転で一部不具合が見つかり，メーカーによる調整を行っている。

透過型電子顕微鏡に関しては，これまで主力機として利用されてきた電子顕微鏡（日本電子製 JEM1010）のメーカーによる保守契約が一昨年度をもって打ち切られ，今後の故障対応が難しくなると予想されたため，新しく電子顕微鏡室に移管された電子顕微鏡（日立製 HT7700）を後継機とすべく一昨年度から準備を進め，昨年度より保守契約を開始した。JEM1010 の利用者が依然として多いことから，こちらも引き続き運転する予定であり，今年度は機器のメンテナンスとして明大寺地区の JEM1010 のオーバーホールを行なった。

また，今年度は電気料金の急激な高騰により，研究所から節電の要請があった為，利用者の少ない Normal SEM と HT7700 について，一時的に装置を停止し，節電に協力した。さらに，今年度は落雷による瞬時停電が多く発生した為，撮影したデータを守る為にも各電顕に付属している NAS および PC 用の無停電電源装置を導入した。

電子顕微鏡室の利用状況としては，SBF-SEM においては，前年同様，計画共同研究，バイオイメージング支援で多く利用された。また，それ以外の機器についてもほとんどの機器で利用があり，特に，透過型電子顕微鏡については多数の利用申請があった。

(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，研究の多様化は常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が，本年度の受講希望者は居なかった。また，生理科学実験技術トレーニングコースの受講者は 2 名を受け入れた。

金工室の汎用旋盤に設置されているマグネスケールの電源が入らなくなった。このため，修理を依頼したが，古い装置のため修理不能との回答であった。しかし，「どうしても」と依頼したところ，引き受けていただけ，修理が完了した。（マグネスケール：刃物の移動量をデジタル表示する装置）

このマグネスケールを含み他の使用機器は，設置後 40 年近くの経過があり，使用頻度が低いとは言え，故障の発生頻度が増している。修理に必要な予算の計上の必要性を感じた。

なお，機器研究試作室の今年度の利用状況は，以下の通りである。

2022 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	45	生体システム	10	心理生理学	4	技術課	3
神経ダイナミクス	1	動物センター	1				

基生研							
分野横断研究ユニット(大野)	2	植物環境応答	2	進化発生	2	共生システム	1
バイオイメージング	1						

機器研究試作室　利用人数表

月	生理研		基生研		合計	
	利用人数	利用時間(h)	利用人数	利用時間(h)	利用人数	利用時間(h)
4	8	12	1	2	9	14
5	10	11	0	0	10	11
6	6	12	3	7	9	19
7	1	1	2	5	3	6
8	6	9	0	0	6	9
9	4	4	2	7	6	11
10	12	18	0	0	12	18
11	2	2	0	0	2	2
12	3	4	0	0	3	4
1	4	11	0	0	4	11
2	7	7	0	0	7	7
3	3	3	0	0	3	3
合計	66	94	8	21	74	115
前年度実績	*100*	*172*	*2*	*4*	*102*	*176*

機器研究試作室　依頼製作品例

機械工作	ウルトラミクロトーム改造	カブトムシ給餌器	マウス拘束用チューブ
電気工作	赤外線ＬＥＤコントローラ	熱刺激装置	圧電セラミックドライバー
レーザー加工	マイクロ流路	魚固定装置	マウス用トレッドミル

②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，稲垣茉利子

【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行くためには，所内 LAN の管理，整備や情報セキュリティの確保も重要である。このような現状をふまえたうえで，岡崎情報ネットワーク管理室や機構 CSIRT（両組織に当室の技術職員 1 名が併任）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，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 上で利用可能である。登録者は 79 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 アドレス認証の動的 VLAN 機能を有する 1000BASE-T ネットワークの提供を基とし，利便性の向上と情報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，あるいは Web 認証機能を持つ無線 LAN，並びに eduroam は，構内全域で利用可能である。今年度は端末のセキュリティ強化のため，EDR 製品の利用を開始した。さらにインシデント対応等の向上のため，CaptivePortal 認証を開始するとともに，利便性向上のため，Google Workspace 等も CaptivePortal 認証と同一の認証基盤へ移行した。

情報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いる。これに対応するため機構 CSIRT が組織されており，発生予防，対策，監視等を行うと共に，発生時及び発生後の対応を行っている。

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 357 名。WWW 登録者が 92 名。LAN の端末数が 2,071 台。WWW は 5,000 IP／日の端末から 26,000 ページ／日の閲覧があった。

③岡崎共通研究施設

(1) 動物資源共同利用研究センター

廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美，山中　緑，高橋伸明

【概要】

明大寺地区動物棟 1 内のバリア施設は，2021 年 3 月からマウスの飼育を開始した。まだ初期不良による不具合はあるものの，運用面では軌道に乗せることができた。

明大寺地区動物棟 2 は竣工から 29 年が経過しており，空調機器類及び配管類の経年劣化による不具合が続発した。現在は，修繕をしながら運用しているが，全面改修が望まれる。

山手地区の施設は竣工から 21 年が経過し，空調機器類の経年劣化，バリア構築の根幹である高圧蒸気滅菌機で不具合が起きており，修繕をしながら運用している。特に空調機器においては，今後の根本的な対策が必要である。

昨年に引き続き COVID-19 の対応が必要だった。生理研の感染対応マニュアル「COVID-19 感染対策」の改訂にあわせ，「COVID-19 におけるセンターの対応マニュアル」を改訂した。センター職員に COVID-19 感染者が発生し，マニュアルに従い対応を行った。また，職員や利用者に COVID-19 濃厚接触者が確認され，該当者が通行した場所の噴霧消毒やドアノブ等の清拭消毒を行った。

【明大寺/山手地区 共通業務】

①施設の利用状況

動物の飼育数は，昨年度と比べ，マウス，ラットはやや増加した。マカクサル，マーモセットは増加した。また新たに，動物棟 2 でウサギの飼育を開始した。

②齧歯類の授受

年間で延べ 55 件の導入と 75 件の供与があった。いずれも昨年より増加した。他機関からの導入および供給，岡崎 3 機関内の導入と供与は増加した。海外からの導入，供与はいずれも減少した。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注力した。

③受精卵凍結・クリーンアップ

受精卵凍結保存 17 件，クリーンニング後の個体化兼受精卵凍結保存 4 件（生体からの個体化兼受精卵凍結保存 2 件，凍結精子からの個体化兼受精卵凍結保存 2 件），凍結受精卵の融解・移植 5 件，精子凍結 1 件を実施した。昨年度と比較してクリーニング後の個体化，凍結，融解の受託件数は減少した。精子凍結は業務としては行っていないが，要望があったため，実施した。今後も精子凍結の要望に備え実施する方針である。

④齧歯類微生物検査

昨年度に引き続き，マウス 254 件，ラット 24 件の自家検査を実施した。また，外部施設からのマウス導入にあたり，受精卵からの個体化に際する里親検査を 10 件，個体導入の際の検疫囮動物検査を 14 件実施した。

獣医師の指導の下，技術職員と技術支援員の 2 名体制で業務を進めた。

⑤マウス・ラットの取り扱い実技講習会

例年，マウス・ラットを主な対象として，馴化，保定，経口投与法，一般的な飼育作業等の内容について，利用者への実技講習を年 2 回行っているが，COVID-19 の影響のため中止した。また，生理研トレーニングコース「遺伝子改変マウスの基本的手技と学習・記憶行動解析入門」は実施するために準備をしていたが， COVID-19 の蔓延により中止となった。

【明大寺地区 陸生動物エリア】

①施設の利用状況

陸生動物の飼養保管室利用部門数は，15 部門（生理研 14 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

利用者講習会は COVID-19 の影響のため，座学をオンラインで実施し，7 名の参加があった。また実地講習は，11 名の参加があった。

②齧歯類微生物モニタリング

マウス，ラット飼養室について，3 ヶ月に 1 度の微生物モニタリング検査を実施した。

③サル類

ニホンザル 12 頭の検疫を行い導入した。また，ニホンザル 45 頭の定期検診を行い，体調不良による検査を 2 件，治療経過観察による検査を 3 件行った。

マーモセットの導入時には臨床症状の観察を行い，3 頭の導入を行った。また，ツベルクリン検査をともなう検疫を 2 件，トリコモナス検査を 3 件行った。

④施設整備について

動物棟 1 においては，作業の省力化を目的として，クリーン廊下，セミクリーン廊下，クリーン倉庫にロボット掃除機を導入し，消毒効果も含め検討を行った。また，実験室や飼育室等場所によって，館内放送や火災警報が聞こえないことが判明したため，スピーカーの増設や，警報機の導入を行った。節電のため，これまで一般廊下の照明は，手動で半分のみ点灯していたが，人感センサーを設置した。共同利用研究の一環として“脳 in-vivo イメージングおよびオプトジェネティクスシステム”，“集団型全自動行動・記憶学習測定基本システム”を SPF バリア内の実験・飼育室に導入設置した。

動物棟 2 においては，経年劣化による空調，配管も含む大規模改修にかかる概算要求を行うため，南部教授，磯田教授とともに改修図面案を作製した。また，動物棟 1 内の SPF バリアシステムの稼働に伴う人員の見直しにより，土・日・祝日のサル類飼育は利用者が行うこととなったが，飼育作業のリモート化を目的とし，自動洗浄装置一体型ケージ架台および自動給餌装置を導入した上で，サル用監視カメラを設置した。今後は運用方針を検討していく予定である。

⑤主な工事及び修理

（1）動物棟 1 オートクレーブ 2 号機の配管から漏水があったため修理
（2）動物棟 1 動物棟非常用発電機のスイッチが入らなかったため修理
（3）動物棟 1 非常放送が聞こえなかったため実験室にスピーカーを増設
（4）動物棟 2 空調用冷温水機 2 号機の能力が低下したため冷却チューブを洗浄修理

【山手地区 陸生動物エリア】

①施設の利用状況

陸生動物の飼養保管室利用部門数は，9 部門（生理研 5 部門，生命創成探究センター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

利用者講習会は COVID-19 のため，座学をオンラインで実施し，9 名の参加があった。また，実地講習を実施し，12 名の参加があった。

②齧歯類微生物モニタリング

全 SPF 飼育室およびマウス・ラット一時保管室 2〜3 の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。

③施設整備

作業の省力化を目的として，セミクリーン廊下にロボット掃除機を導入した。また，共同利用研究の一環として“集団型全自動行動・記憶学習測定基本システム”を SPF 飼育室内に導入設置した。

④主な工事及び修理

（1）1 号館 A 棟 5 階動物棟機械室 ACU-2 空調機配管が蒸気漏れしたため修理
（2）貫流蒸気ボイラー1,2 号機が漏水したため修理
（3）1 号館冷温水発生器 1 号機の故障したインバータの交換
（4）1 号館 A 棟 4 階設備室の 1 号館 A 棟・B 棟共用の空調用熱交換器 HE-2C の蒸気漏れのため修理
（5）空調機給水ユニット噴霧ポンプの交換
（6）オートクレーブ 1 号機ウォーターハンマーがひどかったためスチームトラップを交換
（7）エチレンオキサイドガス滅菌機の温水循環ポンプの修理
（8）3F 洗濯機の更新
（9）2F 衣類乾燥機の更新

【明大寺/山手地区 水生動物エリア】

①施設の利用状況

（1）明大寺地区では，生理研 1 部門，基生研 3 部門の利用があった。
（2）山手地区では，生命創成探究センター3 部門が水槽を利用した。

②主な工事及び修理

特に大きな工事及び修理は行わなかった。

陸生動物部門別・動物種別搬入数（2022 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	ハムスター
神経機能素子										
生体膜	152							160	24	
時系列細胞現象解析室								37	27	
生体システム	154	2				5	11			
認知行動発達							4			
電子顕微鏡室								18		
生殖内分泌系	414									
生体恒常性発達	413									
多光子顕微鏡室	116							24		
動物資源共同利用研究センター	318				4			124	24	
視覚情報処理	136	14								
細胞生理								140	12	60
遺伝子改変動物作製室								580	218	
心循環シグナル	28							398	40	
細胞構造	83							25		
バイオフォトニクス	13							145		
神経細胞生物学								84		
ウイルスベクター開発室										
多細胞回路動態	435									
分子神経免疫	771									
合計	3,027	16			4	5	15	1,735	345	60

※サル 3 頭は 3 月に搬入し，検疫中

【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 82
生体膜研究部門 82
生体分子構造研究部門 83
神経発達・再生機構研究部門 83
細胞構造研究部門 84
細胞生理研究部門 84
心循環シグナル研究部門 86
生殖・内分泌系発達機構研究部門 87
分子神経免疫研究部門 88
超微形態研究部門 89
生体恒常性発達研究部門 90
視覚情報処理研究部門 90
バイオフォトニクス研究部門 90
多細胞回路動態研究部門 91
認知行動発達機構研究部門 92
生体システム研究部門 92
神経ダイナミクス研究部門 93
心理生理学研究部門 93
感覚認知情報研究部門 94
多光子顕微鏡室 95
電子顕微鏡室（窪田グループ） 95
生体機能情報解析室 96
時系列細胞現象解析室 96
ウィルスベクター開発室 96
遺伝子改変動物作製室 98
動物資源共同利用研究センター 98

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1)　英文原著論文

1. Shimomura T, Hirazawa K, Kubo Y (2023) Conformational rearrangements in the second voltage sensor domain switch PIP_2- and voltage-gating modes in two-pore channels. Proc Natl Acad Sci USA 120(6): e2209569120. doi: 10.1073/pnas.2209569120.
2. Brake N, Mancino AS, Yan Y, Shimomura T, Kubo Y, Khadra A, Bowie D (2022) Closed-state inactivation of cardiac, skeletal, and neuronal sodium channels is isoform specific. J Gen Physiol 154: e202112921. doi: 10.1085/jgp.202112921.

2)　研究関係著作

1. Kubo Y, Kohl P (2023) Congratulations, celebrations, invitations! J Physiol 601(6): 1047. doi: 10.1113/JP284355.

《生体膜研究部門》

1)　英文原著論文

1. van der Knoop MM, Maroofian R, Fukata Y, van Ierland Y, Karimiani EG, Lehesjoki AE, Muona M, Paetau A, Miyazaki Y, Hirano Y, Selim L, de França M, Fock RA, Beetz C, Ruivenkamp CAL, Eaton AJ, Morneau-Jacob FD, Sagi-Dain L, Shemer-Meiri L, Peleg A, Haddad-Halloun J, Kamphuis DJ, Peeters-Scholte CMPCD, Hiz Kurul S, Horvath R, Lochmüller H, Murphy D, Waldmüller S, Spranger S, Overberg D, Muir AM, Rad A, Vona B, Abdulwahad F, Maddirevula S, Povolotskaya IS, Voinova VY, Gowda VK, Srinivasan VM, Alkuraya FS, Mefford HC, Alfadhel M, Haack TB, Striano P, Severino M, Fukata M, Hilhorst-Hofstee Y, Houlden H (2022) Biallelic ADAM22 pathogenic variants cause progressive encephalopathy and infantile-onset refractory epilepsy. Brain 145:2301-2312. doi: 10.1093/brain/awac116.
2. Wirth A, Labus J, Galil DA, Schill Y, Schmidt S,Bunke T, Gorinski N, Yokoi N, Fukata M, Ponimaskin E (2022) Palmitoylation of the small GTPase Cdc42 by DHHC5 modulates spine formation and gene transcription. J Biol Chem 298:102048. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102048
3. Kawai T, Narita H, Konno K, Akter S, Andriani RT, Iwasaki H, Nishikawa S, Yokoi N, Fukata Y, Fukata M, Wiriyasermkul P, Kongpracha P, Nagamori S, Takao K, Miyakawa T, Abe M, Sakimura K, Watanabe M, Nakagawa A, Okamura Y (2022) Insight into the function of a unique voltage-sensor protein (TMEM266) and its short form in mouse cerebellum. Biochem J 479:1127-1145. doi: 10.1042/BCJ20220033
4. Niki Y, Adachi N, Fukata M, Fukata Y, Oku S, Makino-Okamura C, Takeuchi S, Wakamatsu K, Ito S, Declercq L, Yarosh DB, Mammone T, Nishigori C, Saito N, Ueyama T. (2023) S-Palmitoylation of Tyrosinase at Cysteine500 Regulates Melanogenesis. J Invest Dermatol. 143:317-327. doi: 10.1016/j.jid.2022.08.040
5. Zhang X, Kira J I, Ogata H, Imamura T, Mitsuishi M, Fujii T, Kobayashi M, Kitagawa K, Namihira Y, Ohya Y, Maimaitijiang G, Yamasaki R, Fukata Y, Fukata M, Isobe N, Nakamura Y (2023) Anti-LGI4 antibody is a novel juxtaparanodal autoantibody for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm Jan 11;10(2):e200081. doi: 10.1212/NXI.0000000000200081.

《生体分子構造研究部門》

1)　英文原著論文

1. Watanabe R, Song C, Kayama Y, Takemura M, Murata K (2022) Particle morphology of Medusavirus inside and outside cells reveals new maturation process of giant virus. J Viol 96(7), e0185321. doi: 10.1128/jvi.01853-21
2. Matsushita A, Stewart F, Ilić M, Chen PJ, Wakita D, Miyazaki N, Murata K, Kinoshita M, Belusic G, Arikawa K (2022) Connectome of the lamina reveals the circuit for early color processing in the visual pathway of a butterfly. Cur biology 32(10):2291-2299.e3. doi: 10.1016/j.cub.2022.03.066
3. Miyazaki N, Song C, Oka T, Miki M, Murakami K, Iwasaki K, Katayama K, Murata K (2022) Atomic structure of the human sapovirus capsid reveals a unique capsid protein conformation in caliciviruses. J Virol 96(9), e0029822. doi: 10.1128/jvi.00298-22
4. Nishizawa Y, Watanabe T, Noguchi T, Takizawa M, Song C, Murata K, Minato H, Suzuki D (2022) Durable gelfoams stabilized by compressible nanocomposite microgels. Chem Commun (Camb) Oct 19. doi: 10.1039/d2cc04993g. Epub ahead of print. PMID: 36260283.
5. Chihara A, Burton-Smith RN, Kajimura N, Mitsuoka K, Okamoto K, Song C, Murata K (2022) A novel capsid protein network allows the characteristic inner membrane structure of Marseilleviridae giant viruses. Sci Rep Dec 12. doi: https://doi.org/10.1038/s41598-022-24651-2 Epub ahead of print.

2)　研究関係著作

1. 宋 致弘、村田和義（2022）特集　クライオ電子顕微鏡の現在「生命分子動態機能解析システムと組み合わせたクライオ EM 研究支援」顕微鏡 Vol 57. No.3 P.113-117　日本顕微鏡学会
2. 武村政春、深谷将、緒方博之、村田和義（2022）巨大ウイルスの一種メドゥーサウイルス～そのゲノムならびに粒子構造に関する特殊性～，化学と生物 Vol.60(6) P.290-294

《神経発達・再生機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Kurematsu C, Sawada M, Ohmuraya M, Tanaka M, Kuboyama K, Ogino T, Matsumoto M, Oishi H, Inada H, Ishido Y, Sakakibara Y, Nguyen HB, Thai TQ, Kohsaka S, Ohno N, Yamada MK, Asai M, Sokabe M, Nabekura J, Asano K, Tanaka M and Sawamoto K (2022) Synaptic pruning of murine adult-born neurons by microglia depends on phosphatidylserine. Journal of Experimental Medicine 219 (4): e20202304 doi: 10.1084/jem.20202304
2. Namiki J, Suzuki S, Shibata S, Kubota Y, Kaneko N, Yoshida K, Yamaguchi R, Matsuzaki Y, Masuda T, Ishihama Y, Sawamoto K and Okano H (2022) Chitinase-like protein 3: A novel niche factor for mouse neural stem cells. Stem Cell Rep 17: 2704-2717. https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2022.10.012
3. Tsuboi Y, Ito A, Otsuka T, Murakami H, Sawada M and Sawamoto K (2022) Habilitation improves mouse gait development following neonatal brain injury. Progress in Rehabilitation Medicine 7: 20220061 https://doi.org/10.2490/prm.20220061

2)　研究関係著作

1. 榑松千紘、澤本和延 (2022) ミクログリアはホスファチジルセリン依存的に成体新生ニューロンのシナプスを貪食する．神経化学トピックス doi:10.11481/topics177
2. 澤本和延　(2022) 損傷した脳の再生．カンデル神経科学第 2 版 分担翻訳 メディカル・サイエンス・インターナショナル
3. 榑松千紘、澤田雅人、澤本和延 (2022) ミクログリアによる成体新生ニューロンのシナプス刈り込みはホスファチジルセリンに依存する．　臨床免疫・アレルギー科　78(6):703-708

4. 豊田貴一、澤田雅人、澤本和延 (2022) 成体脳におけるニューロンの細胞死と再生．医学のあゆみ 283:432-437

《細胞構造研究部門》

1)　英文原著論文

1. Mohri T, Kyozuka K (2022) Starfish oocytes of A. pectinifera reveal marked differences in sperm-induced electrical and intracellular calcium changes during oocyte maturation and at fertilization. Mol Reprod Dev 89:3-22. doi: 10.1002/mrd.23544.
2. Thölmann S, Seebach J, Otani T, Florin L, Schnittler H, Gerke V, Furuse M, Ebnet K (2022) JAM-A interacts with α3β1 integrin and tetraspanins CD151 and CD9 to regulate collective cell migration of polarized epithelial cells. Cell Mol Life Sci. 79:88. doi: 10.1007/s00018-022-04140-5.
3. Fujiwara S, Nguyen TP, Furuse K, Fukazawa Y, Otani T, Furuse M　(2022) Tight junction formation by a claudin mutant lacking the COOH-terminal PDZ domain-binding motif.Ann NY Acad Sci 1516:85-94. doi.org/10.1111/nyas.14881
4. Gonschior H, Schmied C, Eva Van der Veen R, Eichhorst J, Himmerkus N, Piontek J, G⎦nzel D, Bleich M, Furuse M, Haucke V, Lehmann M (2022) Nanoscale segregation of channel and barrier claudins enables paracellular ion flux. Nat Commun 13:4985. doi: 10.1038/s41467-022-32533-4.
5. Ciesielski HM, Nishida H, Takano T, Fukuhara A, Otani T, Ikegawa Y, Okada M, Nishimura T, Furuse M, Yoo SK (2022) Erebosis, a new cell death mechanism during homeostatic turnover of gut enterocytes. PLoS Biol 20:e3001586. doi: 10.1371/journal.pbio.3001586.
6. Abe M, Kamiyama T, Izumi Y, Qian Q, Yoshihashi Y, Degawa, Watanabe K, Hattori Y, Uemura T, Niwa R. (2022) Shortened lifespan induced by a high-glucose diet is associated with intestinal immune dysfunction in Drosophila sechellia. J Exp Biol 225:jeb244423.
7. Haas AJ, Zihni C, Krug SM, Maraspini R, Otani T, Furuse M, Honigmann A, Balda MS, Matter M. (2022) ZO-1 guides tight junction assembly and epithelial morphogenesis via cytoskeletal tension-dependent and -independent functions. Cells 11:3775. doi: 10.3390/cells11233775.

2)　研究関係著作

1. 古瀬幹夫（2022）血管内皮細胞のバリア機能と細胞間接着　Clinical Neuroscience 40：1519-1521

《細胞生理研究部門》

1)　英文原著論文

1. Hiramatsu Y, Suzuki K, Nishida T, Onoda N, Satoh T, Akira S, Ikawa M, Ikeda H, Kamei J, Derouiche S, Tominaga M, Horiguchi T (2022) The mechanism of pertussis cough revealed by the mouse-coughing model. mBio e0319721. doi: 10.1128/mbio.03197-21.
2. Nakamura T, Sakamoto J, Okabe K, Taniguchi A, Yamada TG, Nonaka S, Kamei Y, Funahashi A, Tominaga M, Hiroi NF. (2022) Temperature elevation detection in migrating cells. Optics Contin. 1:1085-1097.
3. Ujisawa T, Sasajima S, Kashio M, Tominaga M (2022) Thermal Gradient Ring Reveals Different Temperature-dependent Behaviors in Mice Lacking Thermosensitive TRP Channels. J Physiol Sci 72:11. doi: 10.1186/s12576-022-00835-3.
4. Sasajima S, Kondo M, Ohno N, Ujisawa T, Motegi M, Hayami T, Asano S, Asano-Hayami E, Nakai-Shimoda H, Inoue R, Yamada Y, Miura-Yura E, Morishita Y, Himeno

T, Tsunekawa S, Kato Y, Nakamura J, Kamiya H, Tominaga M (2022) Thermal Gradient Ring Reveals Thermosensory Changes in Diabetic Peripheral Neuropathy in Mice. Sci Rep 12:9724. doi: 10.1038/s41598-022-14186-x.

5. Nguyen THD, Chapman S, Kashio M, Saito C, Strom T, Yasui M, Tominaga M (2022) Single amino acids set apparent temperature thresholds for heat-evoked activation of mosquito transient receptor potential channel TRPA1. J Biol Chem 102271. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102271.
6. Yoshimura A, Saito S, Saito CT, Takahashi K, Tominaga M, Ohta T (2022) Functional analysis of thermos-sensitive TRPV1 in an aquatic vertebrate, mas salmon (Oncorhynchus masou ishikawae). Biochem Biophys Rep 31:101315. doi: 10.1016/j.bbrep.2022.101315.
7. Saito S, Saito CT, Igawa T, Takeda N, Komaki S, Ohta T, Tominaga M (2022) Evolutionary tuning of TRPA1 underlies the variation in heat avoidance behaviors among frog species inhabiting diverse thermal niches. Mol Biol Evol 39: msac180. doi: 10.1093/molbev/msac180.
8. Kashio M, Masubuchi S and Tominaga M (2022) Protein kinase C-mediated phosphorylation of transient receptor potential melastatin type 2 Thr738 counteracts the effect of cytosolic Ca^{2+} and elevates the temperature threshold. J Physiol 600:4287-4302. doi: 10.1113/JP283350.
9. Sugino S, Inoue K, Kobayashi R, Hirose R, Doi T, Harusato A, Dohi O, Yoshida N, Uchiyama K, Ishikawa T, Takagi T, Yasuda H, Konishi H, Hirai Y, Mizushima K, Naito Y, Tsuji T, Okuda T, Kagawa K, Tominaga M, Itoh Y (2022) Association Between the Cool Temperature-dependent Suppression of Colonic Peristalsis and Transient Receptor Potential Melastatin 8 Activation in Both a Randomized Clinical Trial and an Animal Model. J Neurogastroenterol Motil 28:693-705. doi: 10.5056/jnm21198.
10. Sokabe T, Bradshaw HB, Tominaga M, Leishman E, Chandel A, Montell C (2022) Endocannabinoids produced in photoreceptor cells in response to light activate Drosophila TRP channels Sci Signal 15: eabl6179. doi: 10.1126/scisignal.abl6179.
11. Suito T, Nagao K, Juni N, Hara Y, Sokabe T, Atomi H, Umeda M (2022) Regulation of thermoregulatory behavior by commensal bacteria in Drosophila. Biosci Biotechnol Biochemb 86:1060-1070. doi: 10.1093/bbb/zbac087.
12. Atsumi Y, Toriyama M, Kato H, Nakamura M1,4, Morita A, Okada F, Tominaga M, Ishii K, Fujita F (2023) Anti-inflammatory role of TRPV4 in human macrophages. ImmunohHorizons Jan 1;7(1):81-96. doi: 10.4049/immunohorizons.2200100.
13. Yamanoi Y, Lei J, Takayama Y, Hosogi S, Marunaka Y, Tominaga M (2023) TRPV3-ANO1 interaction positively regulates wound healing in keratinocytes. Commun Biol. 6(1):88. doi: 10.1038/s42003-023-04482-1

2)　英文総説

1. Boudaka A, Tominaga M (2022) Physiological and pathological significance of esophageal TRP channels: Specific focus on TRPV4 in esophageal epithelial cells. Int J Mol Sci 23:E4550. doi: 10.3390/ijms23094550.
2. Kashio M, Tominaga M (2022) TRP channels in thermosensation. Curr Opin Neurobiol 75:102591. 75:102591. doi: 10.1016/j.conb.2022.102591.
3. Kasahara Y, Narukawa M, Takeuchi A, Tominaga M, Abe K, Asakura T (2022) Molecular logic of salt taste reception in special reference to transmembrane channel-like 4 (TMC4). J Physiol Sci 72:31. doi: 10.1186/s12576-022-00856-y.
4. Okumo T, Takayama Y, Maruyama K, Kato M, Sunagawa M (2022) Senso-Immunologic Prospects for Complex Regional Pain Syndrome Treatment. Front Immunol. 12:786511. doi: 10.3389/fimmu.2021.786511.
5. Maruyama K (2022) Senso-immunology: crosstalk between nociceptive and immune systems. FEBS J 289:4132-4145. doi: 10.1111/febs.15846.

3)　研究関係著作

1. 富永真琴：温度と味（第 4 節）「味以外のおいしさの科学」 第 2 編「食環境とおいしさ」第 4 章「食の属性とおいしさ」pp.303-308, 2022.
2. 富永真琴：TRP チャネル、アノクタミン 1 の機能連関の生理機能と作用物質の有用性　化学工業　73 (7): 444-447, 2022.
3. 富永真琴：温度感受性 TRP チャネル 生化学 94 (2): 236-257, 2022.
4. 富永真琴：David Julius, Ardem Patapoutrian (2021) 温度と触覚の受容体の発見　CLINICAL NEUROSCIENCE

40 (8): 1025-1027, 2022.
5. 富永真琴 : Piezo チャネル、TRP チャネルと触覚　医学のあゆみ「五感を科学する」282 (6): 684-688, 2022.
6. 富永真琴 : 痒みと TRP チャネル　医学のあゆみ「痒みはどこまでわかったか - 痒み研究の最前線」282 (13): 1115-1119, 2022.
7. 富永真琴 : 基礎から学ぶ麻酔科学ノート「TRPV1 と侵害受容器」Anet 26（3）22-25,　2022.
8. 笹島沙知子、富永真琴 : カプサイシンレセプター糖尿病・内分泌代謝科　55: 617-622, 2022.
9. 水藤拓人、長尾耕治郎、梅田眞郷 : 昆虫の体温調節行動を司る因子　実験医学 40 (19): 3085-3090, 2022.

《心循環シグナル研究部門》

1)　英文原著論文

1. Masuda A, Lee J, Miyata T, Mon H, Sato K, Oyama K, Sakurai Y, Yasuda J, Takahashi D, Ueda T, Kato Y, Nishida M, Karasaki N, Kakino K, Ebihara T, Nagasato T, Hino M, Nakashima A, Suzuki K, Tonooka Y, Tanaka M, Moriyama T, Nakatake H, Fujita R, Kusakabe T (2022) Optimization of SARS-CoV-2 Spike protein expression in the silkworm and induction of efficient protective immunity by inoculation with alum adjuvants., Front. Immunol, Jan 12;12:803647. doi: 10.3389/fimmu.2021.803647.
2. Nishiyama K, Nishimura A, Shimoda K, Tanaka T, Kato Y, Shibata T, Tanaka H, Kurose H, Azuma YT, Ihara H, Kumagai Y, Akaike T, Eaton P, Uchida K, Nishida M (2022) Redox-dependent internalization of purinergic P2Y6 receptor limits colitis progression. Sci Signaling Jan 11;15(716):eabj0644. doi: 10.1126
3. Shimauchi T, Numaga-Tomita T, Kato Y, Morimoto H, Sakata K, Matsukane R, Nishimura A, Nishiyama K, Shibuta A, Horiuchi Y, Kurose H, Kim SG, Urano Y, Ohshima T, Nishida M (2022) A TRPC3/6 Channel Inhibitor Promotes Arteriogenesis after Hind-Limb Ischemia. Cells. Jun 27;11(13):2041. doi: 10.3390/cells11132041.
4. Numaga-Tomita T, Shimauchi T, Kato Y, Nishiyama K, Nishimura A, Sakata K, Inada H, Kita S, Iwamoto T, Nabekura J, Birnbaumer L, Mori Y, Nishida M (2023) Inhibition of transient receptor potential cation channel 6 promotes capillary arterialization during post-ischaemic blood flow recovery. Br J Pharmacol.Jan;180(1):94-110. doi: 10.1111/bph.15942. Epub 2022 Oct 3.
5. Hirata N, Yamada S, Yanagida S, Ono A, Yasuhiko Y, Nishida M, Kanda Y (2022) Lysophosphatidic acid promotes the expansion of cancer stem cells via TRPC3 channels in triple-negative breast cancer. Int. J. Mol. Sci. 23(4), 1967. doi: 10.3390/ijms23041967.
6. Murata R, Watanabe H, Nosaki H, Nishida K, Maeda H, Nishida M, Maruyama T (2022) Long-acting thioredoxin ameliorates doxorubicin-induced cardiomyopathy via its anti-oxidative and anti-inflammatory action. Pharmaceutics 14(3), 562. doi: 10.3390/pharmaceutics14030562.
7. Iwata Y, Nakade Y, Kitajima S, Yoneda-Nakagawa S, Oshima M, Sakai N, Ogura H, Sato K, Toyama T, Yamamura Y, Miyagawa T, Yamazaki H, Hara A, Shimizu M, Furuichi K, Mita M, Hamase K, Tanaka T, Nishida M, Muramatsu W, Yamamoto H, Shichino S, Ueha S, Matsushima K, Wada T (2022) Protective effect of d-alanine against acute kidney injury. Am J Physiol Renal Physiol. Jun 1;322(6):F667-F679. doi: 10.1152/ajprenal.00198.2021.
8. Yamada S, Noda T, Okabe K, Yanagida S, Nishida M, Kanda Y (2022) SARS-CoV-2 induces barrier damage and inflammatory responses in the human iPSC-derived intestinal epithelium. J Pharmacol Sci. Jul;149(3):139-146. doi: 10.1016/j.jphs..04.010.
9. Tokuyama T, Uosaki H, Sugiura A, Nishitai G, Takeda K, Nagashima S, Shiiba I, Ito N, Amo T, Mohri S, Nishimura A, Nishida M, Konno A, Hirai H, Ishido S, Toshizawa T, Shindo T, Takada T, Kinugawa S, Inatome R and Yanagi S (2022) Protective roles of MITOL against myocardial senescence and ischemic injury partly via Drp1 regulation. iScience, 25:14582
10. Akiyama M, Unoki T, Aoki H, Nishimura A, Shinkai Y,

Warabi E, Nishiyama K, Furumoto Y, Anzai N, Akaike T, Nishida M, Kumagai Y (2022) Cystine-dependent antiporters buffer against excess intracellular reactive sulfur species-induced stress. Redox Biology 17;57:102514. doi: 10.1016/j.redox 102514.

11. Oda S, Nishiyama K, Furumoto Y, Yamaguchi Y, Nishimura A, Tang X, Kato Y, Numaga-Tomita T, Kaneko T, Mangmool S, Kuroda T, Okubo R, Sanbo M, Hirabayashi M, Sato Y, Nakagawa Y, Kuwahara K, Nagata R, Iribe G, Mori Y, Nishida M (2022) Myocardial TRPC6-mediated Zn^{2+} influx induces beneficial positive inotropy through β-adrenoceptors. Nature Communications. 26;13(1):6374. doi: 10.1038/s41467-022-34194-9.
12. Kato Y, Nishiyama K, Lee JM, Ibuki Y, Imai Y, Noda T, Kamiya N, Kusakabe T, Kanda Y, Nishida M (2023) TRPC3-Nox2 protein complex formation increases the risk of SARS-CoV-2 Spike protein-induced cardiomyocyte dysfunction through ACE2 upregulation. Int. J. Mol. Sci. 24, 102. https://doi.org/10.3390/ijms24010102.

2)　英文総説

1. Kato Y, Nishiyama K, Nishimura A, Noda T, Okabe K, Kusakabe T, Kanda Y, Nishida M (2022)　Drug repurposing for the treatment of COVID-19. J Pharmacol Sci. Jul;149(3):108-114. doi: 10.1016/j.jphs.2022.04.007.

3)　研究関係著作

1. 近藤 萌, 西山 和宏, 西村 明幸, 加藤 百合, 西田 基宏 (2022) G タンパク質共役型受容体を標的としたコバレント創薬.日本薬理学雑誌 157(5): 356-360
2. 加藤 百合, 西山 和宏, 西村 明幸, 西田 基宏 (2022) COVID-19 治療薬開発を目指したエコファーマ研究.日本薬理学雑誌 157(2):119-123

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Yoshida Y, Shimizu I, Shimada A, Nakahara K, Yanagisawa S, Kubo M, Fukuda S, Ishii C, Yamamoto H, Ishikawa T, Kano K, Aoki J, Katsuumi G, Suda M, Ozaki K, Yoshida Y, Okuda S, Ohta S, Okamoto S, Minokoshi Y, Oda K, Sasaoka T, Abe M, Sakimura K, Kubota Y, Yoshimura N, Kajimura S, Zuriaga M, Walsh K, Soga T, Minamino T. (2022) Melanin-concentrating hormone-producing neurons in the hypothalamus regulate brown adipose tissue and thus contribute to energy expenditure. Sci Rep. 12(1):14883. doi: 10.1038/s41598-022-19245-x.
2. Izawa S, Yoneshiro T, Kondoh K, Nakagiri S, Okamatsu-Ogura Y, Terao A, Minokoshi Y, Yamanaka A, Kimura K. (2022) Melanin-concentrating hormone-producing neurons in the hypothalamus regulate brown adipose tissue and thus contribute to energy expenditure. J Physiol 600(4):815-827. doi: 10.1113/JP281241

2)　英文総説

1. Nakajima KI (2022) Neural insights into sweet taste transduction and hunger-induced taste modification in mice. Biosci. Biotechnol. Biochem. 86(11):1485-1489. doi: 10.1093/bbb/zbac142

3)　研究関係著作

1. 中島健一朗(2022) 空腹が味覚に及ぼす影響の検証. ソフト・ドリンク技術資料　197(2):43-52.
2. 中島健一朗(2022) 食欲を生み出す仕組みーエネルギー恒常性と嗜好性.「生体の恒常性を担う本能行動のメカニズム」実験医学 40(19):3071-3077.
3. 箕越靖彦 (2022) 食嗜好性を分子・神経基盤から考える. アグリバイオ 6(1):6-7.
4. 岡本士毅, 益崎裕章, 箕越靖彦 (2022) 炭水化物嗜好性を決定するのは CRH である. アグリバイオ 6(1):18-22.

《分子神経免疫研究部門》

1)　英文原著論文

1. Hasebe R, Murakami K, Harada M, Halaka N, Nakagawa H, Kawano F, Ohira Y, Kawamoto T, Yull FE, Blackwell TS, Nio-Kobayashi J, Iwanaga T, Watanabe M, Watanabe N, Hotta H, Yamashita T, Kamimura D, Tanaka Y, Murakami M (2022) ATP spreads inflammation to other limbs through crosstalk between sensory neurons and interneurons. The Journal of experimental medicine 219:e20212019. doi: 10.1084/jem.20212019.
2. Abe N, Tarumi M, Fujieda Y, Takahashi N, Karino K, Uchida M, Kono M, Tanaka Y, Hasebe R, Kato M, Amengual O, Arinuma Y, Oku K, Sato W, Tha KK, Yamasaki M, Watanabe M, Atsumi T, Murakami M (2022) Pathogenic neuropsychiatric effect of stress-induced microglial interleukin 12/23 axis in systemic lupus erythematosus. Annals of the rheumatic diseases 81:1564-1575. doi: 10.1136/ard-2022-222566.
3. Murakami K, Iwasaki S, Oguri S, Tanaka K, Suzuki R, Hayasaka K, Fujisawa S, Watanabe C, Konno S, Yokota I, Fukuhara T, Murakami M, Teshima T (2022) SARS-CoV-2 Omicron detection by antigen tests using saliva. Journal of clinical virology plus 2:100109. doi: 10.1016/j.jcvp.2022.100109.
4. Kudo T, Nakazawa D, Watanabe-Kusunoki K, Kanda M, Shiratori-Aso S, Abe N, Nishio S, Koga JI, Iwasaki S, Tsuji T, Fukasawa Y, Yamasaki M, Watanabe M, Masuda S, Tomaru U, Murakami M, Aratani Y, Ishizu A, Atsumi T (2022) Regulation of NETosis and Inflammation by Cyclophilin D in Myeloperoxidase-Positive Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis. Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ). doi: 10.1002/art.42314.
5. Abe N, Kono M, Kono M, Ohnishi N, Sato T, Tarumi M, Yoshimura M, Sato T, Karino K, Shimizu Y, Fujieda Y, Kato M, Hasebe R, Oku K, Murakami M, Atsumi T (2022) Glycogen synthase kinase 3β/CCR6-positive bone marrow cells correlate with disease activity in multicentric Castleman disease-TAFRO. British journal of haematology 196:1194-1204. doi: 10.1111/bjh.17993.
6. Abe N, Kono M, Kono M, Katsuyama T, Ohmura K, Sato T, Karino K, Fujieda Y, Kato M, Hasebe R, Murakami M, Atsumi T (2022) Cytokine and chemokine multiplex analysis-based exploration for potential treatment and prognostic prediction in large-vessel vasculitis: A preliminary observational study. Frontiers in immunology 13:1066916. doi: 10.3389/fimmu.2022.1066916.

2)　英文総説

1. Uchida M, Yamamoto R, Matsuyama S, Murakami K, Hasebe R, Hojyo S, Tanaka Y, Murakami M (2022) Gateway reflexes, neuronal circuits that regulate the autoreactive T cells in organs having blood barriers. International immunology 34:59-65. doi: 10.1093/intimm/dxab022

3)　研究関係著作

1. 村上正晃（翻訳） (2022) 分子細胞免疫学第 10 版 (Celllarand Molecular Immunology 10th edition) エルゼビア・ジャパン「第 15 章　免疫寛容と自己免疫」(Chapter 15 - Immunology Tolerance and Autoimmunity) 337-363.
2. 村上薫, 西李依子, 北條慎太郎, 田中勇希, 村上正晃 (2022) 自己免疫疾患　層別化する新時代へ　臨床検体のマルチオミクス解析、腸内細菌によって見えてきた免疫経路の全容 (第 2 章) 自己免疫疾患の基盤メカニズムの最新知見　ゲートウェイ反射による自己免疫疾患の制御(解説)、実験医学 40(15)2456-2466.
3. 田中勇希, 長谷部理絵, 村上正晃 (2022) 基盤病態としての慢性炎症 IL-6 アンプおよびゲートウェイ反射による関節リウマチ発症メカニズム. 医学のあゆみ. 282(1): 92-99.
4. 西李依子, 村上薫, 長谷部理絵, 村上正晃 (2022) BBB―単なる障壁ではない. Clinical Neuroscience vol40(12): 1544-1548.

《超微形態研究部門》

1)　英文原著論文

1. Nishida H, Matsuo M, Konishi S, Ohno N, Manni L, Onuma TA (2022) Germline development during embryogenesis of the larvacean, Oikopleura dioica. Dev Biol 481:188-200. doi: 10.1016/j.ydbio.2021.10.009.
2. Mursalimov S, Ohno N, Deineko E (2022) Intercellular nuclear migration in cryofixed tobacco male meiocytes. Protoplasma 259:1371-1376. doi: 10.1007/s00709-021-01725-y.
3. Johkura K, Usuda N, Tanaka Y, Fukasawa M, Murata K, Noda T, Ohno N (2022) Whole- cell observation of ZIO-stained Golgi apparatus in rat hepatocytes with serial block-face scanning electron microscope, SBF-SEM. Microscopy 71:262-270. doi: 10.1093/jmicro/dfac024.
4. Tamura S, Mantani Y, Nakanishi S, Ohno N, Yokoyama T, Hoshi N (2022) Region specificity of fibroblast-like cells in the mucosa of the rat large intestine. Cell Tissue Res 389:427-441. doi: 10.1007/s00441-022-03660-7.
5. Osanai Y, Battulga B, Yamazaki R, Kouki T, Yatabe M, Mizukami H, Kobayashi K, Shinohara Y, Yoshimura Y, Ohno N (2022) Dark Rearing in the Visual Critical Period Causes Structural Changes in Myelinated Axons in the Adult Mouse Visual Pathway. Neurochem Res 47:2815-2825. doi: 10.1007/s11064-022-03689-8
6. Sugaya A, Ohno N, Yashiro T, Kawahito K (2022) Morphological Changes in Endothelial Cell Organelles in a No-Touch Saphenous Vein Graft. Braz J Cardiovasc Surg 37(Spec 1):49-56. doi: 10.21470/1678-9741-2022-0111.
7. Hayakawa ESH, Wayama M, Tokumasu F, Ohno N, Matsumoto M, Usukura J (2022) Budding pouches and associated bubbles: 3D visualization of exo-membrane structures in plasmodium falciparum gametocytes. Front Cell Infect Microbiol 12:962495. doi: 10.3389/fcimb.2022.962495.
8. Morizawa YM, Matsumoto M, Nakashima Y, Endo N, Aida T, Ishikane H, Beppu K, Moritoh S, Inada H, Osumi N, Shigetomi E, Koizumi S, Yang G, Hirai H, Tanaka K, Tanaka KF, Ohno N, Fukazawa Y, Matsui K (2022) Synaptic pruning through glial synapse engulfment upon motor learning. Nat Neurosci 25:1458-1469. doi: 10.1038/s41593-022-01184-5.
9. Shinozaki Y, Leung A, Namekata K, Saitoh S, Nguyen HB, Takeda A, Danjo Y, Morizawa YM, Shigetomi E, Sano F, Yoshioka N, Takebayashi H, Ohno N, Segawa T, Miyake K, Kashiwagi K, Harada T, Ohnuma SI, Koizumi S (2022) Astrocytic dysfunction induced by ABCA1 deficiency causes optic neuropathy. Sci Adv 8:eabq1081. doi: 10.1126/sciadv.abq1081.
10. Hirayama T, Kadooka Y, Tarusawa E, Saitoh S, Nakayama H, Hoshino N, Nakama S, Fukuishi T, Kawanishi Y, Umeshima H, Tomita K, Yoshimura Y, Galjart N, Hashimoto K, Ohno N, Yagi T (2022) CTCF loss induces giant lamellar bodies in Purkinje cell dendrites. Acta Neuropathol Commun 10:172. doi: 10.1186/s40478-022-01478-6.
11. Ono K, Gotoh H, Nomura T, Morita T, Baba O, Matsumoto M, Saitoh S, Ohno N (2022) Ultrastructural characteristics of oligodendrocyte precursor cells in the early postnatal mouse optic nerve observed by serial block-face scanning electron microscopy. PLoS One 17:e0278118. doi: 10.1371/journal.pone.0278118.
12. Nakanishi S, Mantani Y, Ohno N, Morishita R, Yokoyama T, Hoshi N (2022) Histological study on regional specificity of the mucosal nerve network in the rat large intestine. J Vet Med Sci　85:123-134. doi: 10.1292/jvms.22-0433.

2)　英文総説

1. Osanai Y, Yamazaki R, Shinohara Y, Ohno N (2022) Heterogeneity and regulation of oligodendrocyte morphology. Front Cell Dev Biol 10:1030486. doi: 10.3389/fcell.2022.1030486.

3)　研究関係著作

1. 大野伸彦, 齊藤百合花, 長内康幸, 山崎礼二, 篠原良章 (2022) 組織細胞化学を応用したボリューム電子顕微鏡イメージング. 日本組織細胞化学会編. 組織細胞化学. 中西印刷株式会社. 165-176.

《生体恒常性発達研究部門》

1)　英文原著論文

1. Cheung DL, Cooke MJ, Goulton CS, Chaichim C, Cheung LF, Khoshaba A, Nabekura J, Moorhouse AJ (2022) Global transgenic upregulation of KCC2 confers enhanced diazepam efficacy in treating sustained seizures. Epilepsia. Jan;63(1):e15-e22.
   doi: 10.1111/epi.17097. Epub 2021 Nov 17.
   PMID: 34791657.
2. Narushima M, Agetsuma M, Nabekura J (2022) Development and experience-dependent modulation of the defensive behaviors of mice to visual threats. J Physiol Sci.　Mar 7;72(1):5.
   doi: 10.1186/s12576-022-00831-7. PMID: 35255805.
3. Danjo Y, Shigetomi E, Hirayama YJ, Kobayashi K, Ishikawa T, Fukazawa Y, Shibata K, Takanashi K, Parajuli B, Shinozaki Y, Kim SK, Nabekura J, Koizumi S (2022) Transient astrocytic mGluR5 expression drives synaptic plasticity and subsequent chronic pain in mice. J Exp Med. Apr 4;219(4):e20210989.
   doi: 0.1084/jem.20210989. Epub 2022 Mar 23.
   PMID: 35319723; PMCID: PMC8952801.
4. Takeda I, Yoshihara K, Cheung DL, Kobayashi T, Agetsuma M, Tsuda M, Eto K, Koizumi S, Wake H, Moorhouse AJ, Nabekura J (2022) Controlled activation of cortical astrocytes modulates neuropathic pain-like behaviour. Nat Commun.　Jul 4;13(1):4100.
   doi: 10.1038/s41467-022-31773-8.
   PMID: 35835747; PMCID: MC9283422
5. Tabata H, Sasaki M , Agetsuma M , Sano H, Hirota Y , Miyajima M , Hayashi K , Honda T , Nishikawa M , Inaguma Y, Ito H, Takebayashi H , Ema M , Ikenaka K , Nabekura J, Nagata K ,Nakajima K (2022) Erratic and Blood Vessel-Guided Migration of Astrocyte Progenitors in the Cerebral Cortex. Nat Commun. 2022; 13: 6571.
   doi: 10.1038/s41467-022-34184-x

2)　研究関係著作

1. 鍋倉淳一、鳴島　円 (2022) シナプスの形成と除去. 第 48 章　カンデル神経科学　第 2 版. 9 月 28 日発行 p1195-1224. (翻訳)

《視覚情報処理研究部門》

1)　英文原著論文

1. Takeda H, Yoshimura Y, Takagi M, Sato A, Kihara N, Choudhury ME, Yano H & Tanaka J (2022) Bromovalerylurea modulates $GABA_A$ receptor-mediated inhibitory neurotransmission while inducing sleep. Biochem Biophys Res Commun. 638:176-183.
   doi: 10.1016/j.bbrc.2022.11.062

2)　研究関係著作

1. 吉村由美子. (2022) 中枢神経系におけるシナプス統合. 第 13 章 カンデル神経科学 第 2 版（翻訳）, メディカル・サイエンス・インターナショナル, pp 283-311

《バイオフォトニクス研究部門》

1)　英文原著論文

1. Hashimoto R, Minoshima M, Sakata S, Ono F, Ishii H, Watakabe Y, Nemoto T, Yanaka S, Kato K, Kikuchi K (2022) Efficient visible/NIR light-driven uncaging of hydroxylated thiazole orange-based caged compounds in aqueous media. Chem Sci. 13: 7462-7467
   doi: 10.1039/d2sc02364d
2. Chang C-P, Otomo K, Kozawa Y, Ishii H, Yamasaki M,

Watanabe M, Sato S, Enoki R, Nemoto T (2022) Single-scan volumetric imaging throughout thick tissue specimens by one-touch installable light-needle creating device. Sci. Rep.　12:10468,
doi: 10.1038/s41598-022-14647-3

3. Kamada T, Otomo K, Murata T, Nakata K, Hiruma S, Uehara R, Hasebe M,　Nemoto T (2022) Low-invasive 5D visualization of mitotic progression by two-photon excitation spinning-disk confocal microscopy, Sci. Rep. 12:809, doi:10.1038/s41598-021-04543-7

2)　英文総説

1. Ishii H, Taiga Takahashi T, Yamaguchi K, Nemoto T (2022) Advanced observation of brain and nerve cells using two-photon microscopy with novel techniques, Microscopy　doi: 10.1093/jmicro/dfac047

3)　研究関係著作

1. 石井宏和、根本知己 (2022) 二光子励起顕微鏡法によるプレシナプス構成因子の可視.Clinical Neuroscience, 40(6):731-735
2. 大友康平、山口和志、石井宏和, 根本知己 (2022) 二光子顕微鏡法の高解像化・高速化への展開.生物物理 62（2），131-133（2022）DOI: 10.2142/biophys.62.131
3. 根本知己、大友康平、山口和志、高橋泰伽 (2022) 新規的な技術を用いた二光子顕微鏡による生体イメージングの展開．レーザー研究、50: 68-71
4. 石井宏和、根本知己(2022) 生体脳「ナノ」イメージングへの展開．BIO Clinica 37(11),994-998.
5. 榎木亮介 (2022)概日時計中枢におけるカルシウムリズム．生物物理 62(4) 228-231.
doi: 10.2142/biophys.62.228.
6. 大友康平、野中茂樹、亀井保博 (2022)何ができる？どこで使える？先端蛍光顕微鏡使い分けガイド.実験医学 40(1)67-76

《多細胞回路動態研究部門》

1)　英文原著論文

1. Nishi M, Sugio S, Hirano T, Kato D, Wake H, Shoda A, Murata M, Ikenaka Y, Tabuchi Y, Mantani Y, Yokoyama T, Hoshi N (2022) Elucidation of the neurological effects of clothianidin exposure at the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) using two-photon microscopy in vivo imaging. J Vet Med Sci 84:585-592.
doi: 10.1292/jvms.22-0013.
2. Hirata Y, Nomura K, Kato D, Tachibana Y, Niikura T, Uchiyama K, Hosooka T, Fukui T, Oe K, Kuroda R, Hara Y, Adachi T, Shibasaki K, Wake H, Ogawa W (2022) A Piezo1/KLF15/IL-6 axis mediates immobilization-induced muscle atrophy. J Clin Invest 132:1-13.
doi: 10.1172/JCI154611.

2)　英文総説

1. Murayama M, Wake H (2022) Lighting up cosmic neuronal networks with transformative in vivo calcium imaging. Neurosci Res 179:1-2.
doi: 10.1016/j.neures.2022.04.007.
2. Quan X, Kato D, Daria V, Matoba O, Wake H (2022) Holographic microscope and its biological application. Neurosci Res 179:57-64.
doi: 10.1016/j.neures.2021.10.012.
3. Kato D, Quan X, Tanisumi Y, Guo Z, Morita M, Takiguchi T, Matoba O, Wake H (2022) Evaluation and Manipulation of Neural Activity using Two-Photon Holographic Microscopy. J Vis Exp.
doi: 10.3791/64205.
4. Sugio S, Kato D, Wake H (2022) Myelinated axon as a plastic cable regulating brain functions. Neurosci Res.
doi: 10.1016/j.neures.2022.11.002.

3)　研究関係著作

1. 渋下碧、竹田育子、和氣弘明 (2022) ミクログリアの生理機能と病態　炎症と免疫 vol.30 no.3
2. 橋本明香里、和氣弘明 (2022) ミクログリアによるシナプス制御－健常時、発達期、病態期でのミクログリア．薬学雑誌ファルマシア
3. 和氣弘明 (2022) ミクログリアと血液脳関門の透過性．実験医学月間ミクログリア
4. 和氣弘明 (2022) ミクログリアと血液脳関門の透過

性シナプスの機能.　Medical Science Digest

5. 進藤麻理子、辻貴宏、和氣弘明 (2022) ミクログリアによる BBB の制御と免疫機能.　Clinical Neuroscience 40(12)

《認知行動発達機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Ishishita S, Kitahara S, Takahashi M, Iwasaki S, Tatsumoto S, Hara I, Kaneko Y, Kinoshita K, Yamaguchi K, Harada A, Ohmori Y, Ohkawa Y, Go Y, Shigenobu S, Matsuda Y, Suzuki T (2022) Uterus-specific transcriptional regulation underlies eggshell pigment production in Japanese quail. PLoS One 17: e0265008. doi: 10.1371/journal.pone.0265008
2. Asogwa NC, Toji N, He Z, Shao C, Shibata Y, Tatsumoto S, Ishikawa H, Go Y, Wada K (2022) Nicotinic acetylcholine receptors in a songbird brain. Journal of Comparative Neurology 530: 1966-1991. doi: 10.1002/cne.25314
3. Ninomiya T, Noritake A, Tatsumoto S, Go Y, Isoda M (2022) Cognitive genomics of learning delay and low level of social performance monitoring in macaque. Scientific Reports 12: 16539. doi: 10.1038/s41598-022-20948-4

2)　研究関係著作

1. 磯田昌岐（2022）　意思決定と意識 カンデル神経科学第 2 版　p1409-1433
2. 郷康広（2022）疾患原因遺伝子・タンパク質の解析技術と創薬/診断技術への応用. 技術情報協会（編）（技術情報協会）
3. 郷康広（2022）マーモセットにおけるトランスクリプトーム解析. 岡野栄之（編）、生体の科学（医学書院）（分担執筆）

《生体システム研究部門》

1)　英文原著論文

1. Chakravarty K, Roy S, Sinha A, Nambu A, Chiken S, Hellgren Kotaleski J, Kumar A (2022) Transient response of basal ganglia network in healthy and low-dopamine state. eNeuro 9(2):1-26 doi: 10.1523/ENEURO.0376-21.
2. Darbin O, Hatanaka N, Takara S, Kaneko N, Chiken S, Naritoku D, Martino A, Nambu A (2022) Subthalamic nucleus deep brain stimulation driven by primary motor cortex γ2 activity in parkinsonian monkeys. Sci Rep 12:6493 doi: 10.1038/s41598-022-10130-1
3. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A (2022) Subthalamic nucleus stabilizes movements by reducing neural spike variability in monkey basal ganglia. Nat Commun 13: 2233　doi: 10.1038/s41467-022-29750-2

2)　研究関係著作

1. 南部篤、知見聡美、西尾亜希子（2021）自然科学研究機構生理学研究所(NIPS) Clinical Neuroscience 39:1203-1207.
2. 齊藤奈英、板倉誠、田井中一貴、Tom Macpherson、疋田貴俊、山口瞬、佐藤朝子、大久保直、知見聡美、南部篤、笹岡俊邦 (2022) D1 および D2 ドーパミン受容体を介する神経伝達による運動制御と学習記憶の仕組みの理解. 日本生物学的精神医学会誌 33(3):100-105
3. 南部　篤（2022）大脳基底核. カンデル神経科学 第 2 版（訳書）, メディカル・サイエンス・インターナショナル, pp 945-964

《神経ダイナミクス研究部門》

1)　英文原著論文

1. Narihara I, Kitajo K, Namba H, Sotoyama H, Inaba H, Watanabe D, Nawa H (2022) Rat call-evoked electrocorticographic responses and intercortical phase synchrony impaired in a cytokine-induced animal model for schizophrenia. Neuroscience Research, doi: 10.1016/j.neures.2021.10.007
2. Yokoyama H, Kitajo K (2022) Detecting changes in dynamical structures in synchronous neural oscillations using probabilistic inference. NeuroImage, 252, 119052, doi: 10.1016/j.neuroimage.2022.119052

《心理生理学研究部門》

1)　英文原著論文

1. Goda N, Hasegawa T, Koketsu D, Chiken S, Kikuta S, Sano H, Kobayashi K, Nambu A, Sadato N, Fukunaga M (2022) Cerebro-cerebellar interactions in non-human primates examined by optogenetic functional magnetic resonance imaging. Cerebral Cortex Communications, tgac022. doi:10.1093/texcom/tgac022.
2. Hashiguchi M, Koike T, Morita T, Harada T, Le Bihan D, Sadato N (2022) Neural substrates of accurate perception of time duration: A functional magnetic resonance imaging study. Neuropsychologia, 166:108145. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2022.108145.
3. Ida E. Sønderby, Christopher R. K. Ching, Sophia I. Thomopoulos, Dennis van der Meer Daqiang Sun, Julio E. Villalon‐Reina, Ingrid Agartz, Katrin Amunts, et al. (2022) Effects of copy number variations on brain structure and risk for psychiatric illness: Large‐scale studies from the ENIGMA working groups on CNVs. Hum Brain Mapp.,43(1):300-328. doi: 10.1002/hbm.25354.
4. Ito S, Miura K, Miyayama M, Matsumoto J, Fukunaga M, Ishimaru K, Fujimoto M, Yasuda Y, Watanabe Y, Hashimoto R (2022) Association between globus pallidus volume and positive symptoms in schizophrenia. Psychiatry Clin Neurosci., 76(11):602-603. doi: 10.1111/pcn.13465.
5. Kasai C, Sumiya M, Koike T, Yoshimoto T, Maki H, Sadato N (2022) Neural underpinning of Japanese particle processing in non-native speakers. Sci Rep., 12(1):18740. doi: 10.1038/s41598-022-23382-8.
6. Matsui T, Taki M, Pham TQ, Chikazoe J, Jimura K (2022) Counterfactual explanation of brain activity classifiers using image-to-image transfer by generative adversarial network. Front. Neuroinf., 15:802938. doi: 10.3389/fninf.2021.802938.
7. Miyata K, Yamamoto T, Fukunaga M, Sugawara S, Sadato N (2022) Neural correlates with individual differences in temporal prediction during auditory-motor synchronization. Cereb Cortex Commun, 3(2):tgac014. doi: 10.1093/texcom/tgac014.
8. Nagashima K, Nakata H, Harada T, Kato I, Sadato N (2022) Differences in the neural networks of thermal sensation with and without evaluation process. IBRO Neuroscience Report;13:274-283. doi: 10.1016/j.ibneur.2022
9. Nakagawa E, Koike T, Sumiya M, Shimada K, Makita K, Yoshida H, Yokokawa H and Sadato N (2022) The Neural Correlates of Semantic and Grammatical Encoding During Sentence Production in a Second Language: Evidence From an fMRI Study Using Structural Priming. Front. Hum. Neurosci, 15:753245. doi : 10.3389/fnhum.2021.753245.
10. Nakamura NH, Fukunaga M, Yamamoto T, Sadato N, Oku Y (2022) Respiration-timing-dependent changes in activation of neural substrates during cognitive processes. Cerebral Cortex Communications, 3(4):tgac038. doi: 10.1093/texcom/tgac038.
11. Nakamura T, Matsui T, Utsumi A, Sumiya M, Nakagawa

E, Sadato N (2022) Context-prosody interaction in sarcasm comprehension: A functional magnetic resonance imaging study. Neuropsychologia, 170:108213. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2022.108213.

12. Nakayama Y, Sugawara SK, Fukunaga M, Hamano YH, Sadato N, Nishimura Y (2022) The dorsal premotor cortex encodes the step-by-step planning processes for goal-directed motor behavior in humans. NeuroImage, 256:119221. doi: 10.1016/j.neuroimage.2022.119221.
13. Nakazawa E, Fukushi T, Tachibana K, Uehara R, Arie F, Akter N, Maruyama M, Morita K, Araki T, Sadato N (2022) The way forward for neuroethics in Japan: A review of five topics surrounding present challenges. Neurosci Res., 183:7-16. doi: 10.1016/j.neures.2022.07.006.
14. Sakai H, Harada T, Larroque SK, Demertzi A, Sugawara T, Ito T, Wada Y, Fukunaga M, Sadato N, Laureys S (2022) Left parietal involvement in motion sickness susceptibility revealed by multimodal MRI. Human Brain Mapping, 43(2)1103-1111. doi: 10.1002/hbm.25710.
15. The PRIMatE Data and Resource Exchange (PRIME-DRE) Global Collaboration Workshop and Consortium (.., Fukunaga M. et al.) (2022) Toward next-generation primate neuroscience:A collaboration-based strategic plan for integrative neuroimaging. Neuron, 110(1):16-20. doi: 10.1016/j.neuron.2021.10.015.
16. Tsumura K, Kosugi K, Hattori Y, Aoki R, Takeda M, Chikazoe J, Nakahara K, Jimura K (2022) Reversible fronto-occipitotemporal signaling complements task encoding and switching under ambiguous cues. Cerebral Cortex, 32(9):1911-1931. doi: 10.1093/cercor/bhab324. doi: 10.1093/cercor/bhab324.
17. Yoshimoto T, Okazaki S, Sumiya M, Takahashi HK, Nakagawa E, Koike T, Kitada R, Okamoto S, Nakata M, Yada T, Kosaka H, Sadato N, Chikazoe J (2022) Coexistence of sensory qualities and value representations in human orbitofrontal cortex. Neurosci Res ., 180:48-57. doi: 10.1016/j.neures.2022.02.004.
18. Yu Y, Huber L, Yang J, Fukunaga M, Chai Y, Jangraw DC, Chen G, Handwerker DA, Molfese PJ, Ejima Y, Sadato N, Wu J, Bandettini PA (2022) Layer-specific activation in human primary somatosensory cortex during tactile temporal prediction error processing. Neuroimage, 248:118867. doi: 10.1016/j.neuroimage.2021.118867.
19. Ebisu T, Fukunaga M, Murase T, Matsuura T, Tomura N, Miyazaki Y, Osaki S, Okada T, Higuchi T, Umeda M. Functional Connectivity Pattern Using Resting-state fMRI as an Assessment Tool for Spatial Neglect during the Recovery Stage of Stroke: A Pilot Study. Magn Reson Med Sci., doi:10.2463/mrms.mp.2022-0010.

2)　研究関係著作

1. 郷田直一，定藤規弘（2022）第 17 章感覚の符号化（翻訳）．カンデル神経科学第２版，pp.399-420. ISBN:978-4-8157-3055-0.
2. 定藤規弘（2022）Part VI 情動、動機づけ、ホメオスタシスの生物学（監訳）．カンデル神経科学第２版，pp.987-1108. ISBN:978-4-8157-3055-0.
3. 福永雅喜（2022）7 テスラ超高磁場 MRI による脳イメージング．神経治療学.39:604-607.

《感覚認知情報研究部門》

1)　英文原著論文

1. Ogawa S, Takemura H, Horiguchi H, Miyazaki A, Matsumoto K, Masuda Y, Yoshikawa K, Nakano T (2022) Multi-contrast magnetic resonance imaging of visual white matter pathways in patients with glaucoma. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 63: 29. doi: 10.1167/iovs.63.2.29.
2. Morita T, Hirose S, Kimura N, Takemura H, Asada M, Naito E (2022) Hyper-adaptation in the Human Brain: Functional and structural changes in the foot section of the primary motor cortex in a top wheelchair racing Paralympian. Frontiers in Systems Neuroscience, 16: 780652. doi: 10.3389/fnsys.2022.780652.
3. Miyata T, Benson NC, Winawer J, Takemura H (2022)

Structural covariance and heritability of the optic tract and primary visual cortex in living human brains. The Journal of Neuroscience, 42: 6761-6769.
doi: 10.1523/JNEUROSCI.0043-22.2022.

4. Oishi H, Takemura H, Amano K (2023) Macromolecular tissue volume mapping of lateral geniculate nucleus subdivisions in living human brains. NeuroImage, 265: 119777. doi: 10.1016/j.neuroimage.2022.119777.

2)　研究関係著作

1. 竹村浩昌（2022）図説　視覚の事典（日本視覚学会編），朝倉書店，pp.170-171.

3)　その他

1. Takemura H, Rosa MPG (2022) Understanding structure-function relationships in the mammalian visual system: part two. Brain Structure and Function, 227:1167-1170.
doi: 10.1007/s00429-022-02495-w.

《多光子顕微鏡室》

1)　英文原著論文

1. Ueda HH, Nagasawa Y, Sato A, Onda M, and Murakoshi H (2022) Chronic neuronal excitation leads to dual metaplasticity in the signaling for structural long-term potentiation. Cell Reports, 38, 110153.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110153

2)　英文総説

1. Ueda HH, Nagasawa Y, and Murakoshi H (2022) Imaging intracellular protein interactions/activity in neurons using 2-photon fluorescence lifetime imaging microscopy. Neuroscience Research, 179, 31–38.
DOI: 10.1016/j.neures.2021.10.004.

《電子顕微鏡室（窪田グループ）》

1)　英文原著論文

1. Sohn J, Suzuki M, Youssef M, Hatada S, Larkum ME, Kawaguchi Y, Kubota Y (2022) Presynaptic supervision of cortical spine dynamics in motor learning. Science Advances, 8: eabm0531 doi: 10.1126
2. Aghvami SS, Kubota Y, Egger V (2022)　Anatomical and functional connectivity at the dendrodendritic reciprocal mitral cell-granule cell synapse: impact on recurrent and lateral inhibition. Frontiers in Neural Circuits 16: article 933201,
doi.org/10.3389/fncir.2022.933201

2)　研究関係著作

1. 窪田芳之 (2022) 脳組織の大容量電顕画像データセット撮影と自動セグメンテーション.顕微鏡 57(1):31-34.
doi: https://doi.org/10.11410/kenbikyo.57.1_31
2. 窪田芳之 (2022) ATUM-SEM 法を用いた大脳皮質局所神経回路の超微細構造三次元解析の標準化と迅速化. 生体の科学 73(5) 10 月号（増大号）増大特集 革新脳と関連プロジェクトから見えてきた新しい脳科学 420-421. doi:org/10.11477/mf.2425201563.

《生体機能情報解析室》

1)　英文原著論文

1. Takeuchi N, Fujita K, Taniguchi T, Kinukawa T, Sugiyama S, Kanemoto K, Nishihara M, Inui K (2022) Mechanisms of short- and long-latency sensory suppression: magnetoencephalography study. Neuroscience Nov 23;S0306-4522(22)00572-3. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.11.016.
2. Inui K, Kakigi R (2022) International Federation of Clinical Neurophysiology: Review of techniques useful for the assessment of sensory small fiber neuropathies: Report from an IFCN expert group. Clin Neurophysiol Apr;136:13-38. doi: 10.1016/j.clinph.2022.01.002.
3. Takeuchi N, Fujita K, Taniguchi T, Kinukawa T, Sugiyama S, Kanemoto K, Nishihara M, Inui K (2022) Mechanisms of long-latency paired pulse suppression: MEG study. Brain Topogr Mar;35(2):241-250. doi: 10.1007/s10548-021-00878-6. Epub 2021 Nov 8.
4. Taniguchi T, Kinukawa TA, Takeuchi N, Sugiyama S, Nishihara M, Nishiwaki K, Inui K (2022) A minimally invasive method for observing wind-up of flexion reflex in humans: comparison of electrical and magnetic stimulation.　Front Neurosci Feb 23;16:837340. doi: 10.3389/fnins.2022.837340. eCollection 2022.
5. Sugiyama S, Taniguchi T, Kinukawa T, Takeuchi N, Ohi K, Shioiri1 T, Nishihara M, Inui K (2022) Suppression of low-frequency gamma oscillations by activation of 40-Hz oscillation. Cerebral Cortex, 32(13):2785-2796. doi: 10.1093/cercor/bhab381.
6. Fujita K, Takeuchi N, Sugiyama S, Inui K, Fujita Y, Yamaba A, Kamiya T, Kanemoto K, Nishihara M (2022) Relationship of loudness-dependent auditory evoked potentials with change-related cortical responses. PLoS One 17(11):e0277153. doi: 10.1371/journal.pone.0277153. PMID: 36342917.
7. Bayasgalan B, Matsuhashi M, Fumuro T, Takahashi R, Kato A, Nakano N, Iida K, Katagiri M, Shimotake A, Kikuchi T, Kunieda T, Ikeda A, Koji Inui (2022) Neural sources of vagus nerve stimulation-induced slow cortical potentials. Neuromodulation, 25: 407-413, 2022. doi: 10.1016/j.neurom.2022.01.009.

《時系列細胞現象解析室》

1)　英文原著論文

1. Im S, Ueta Y, Otsuka T, Morishima M, Youssef M, Hirai Y, Kobayashi K, Kaneko R, Morita K, Kawaguchi Y (2022) Corticocortical innervation subtypes of layer 5 intratelencephalic cells in the murine secondary motor cortex. Cerebral cortex, Apr 9; bhac052, doi: 10.1093/cercor/bhac052
2. Tsuboi D, Otsuka T, Shimomura T, Faruk O, Yamahashi Y, Amano M, Funahashi Y, Kuroda K, Nishioka T, Kobayashi K, Sano H, Nagai T, Yamada K, Tzingounis A, Nambu A, Kubo Y, Kawaguchi Y, Kaibuchi K (2022) Dopamine drives neuronal excitability via KCNQ channel phosphorylation for reward behavior. Cell Reports, 6;40(10):111309, doi: 10.1016/j.celrep.2022.111309

《ウィルスベクター開発室》

1)　英文原著論文

1. Matsushita M, Awazawa M, Kobayashi N, Ikushima YM, Soeda K, Tamura-Nakano M, Muratani M, Kobayashi K, Blüher M, Brüning JC, Ueki K (2022) An antisense transcript transcribed from Irs2 locus contributes to the pathogenesis of hepatic steatosis in insulin resistance. Cell

Chem Biol 29:680-689.e6.
doi: 10.1016/j.chembiol.2021.12.008.

2. Ma L, Zhang J, Fujita Y, Qu Y, Shan J, Wan X, Wang X, Ishima T, Kobayashi K, Wang L, Hashimoto K (2022) Nuclear factor of activated T cells 4 in the prefrontal cortex is required for prophylactic actions of (R)-ketamine. Transl Psychiatry 12:27.
doi: 10.1038/s41398-022-01803-6.
3. Isa K, Tokuoka K, Ikeda S, Karimi S, Kobayashi K, Sooksawate T, Isa T (2022) Amygdala underlies the environment dependency of defense responses induced via superior colliculus. Front Neural Circuits 15:768647.
doi: 10.3389/fncir.2021.768647.
4. Suzuki M, Inoue KI, Nakagawa H, Ishida H, Kobayashi K, Isa T, Takada M, Nishimura Y (2022) A multisynaptic pathway from the ventral midbrain toward spinal motoneurons in monkeys. J Physiol 600:1731-1752.
doi: 10.1113/JP282429.
5. Miyata K, Ikoma Y, Murata K, Kusumoto-Yoshida I, Kobayashi K, Kuwaki T, Ootsuka Y (2022) Multifaceted roles of orexin neurons in mediating methamphetamine-induced changes in body temperature and heart rate. IBRO Neurosci Rep 12:108-120.
doi: 10.1016/j.ibneur.2022.01.002.
6. Tsuji Y, Kerever A, Furukawa T, Kamagata K, Saito Y, Aoki S, Hata J, Okano H, Kobayashi K, Okada T, Miya K, Keino-Masu K, Masu M, Arikawa-Hirasawa E (2022) Diffusion magnetic resonance tractography-based evaluation of commissural fiber abnormalities in a heparan sulfate endosulfatase-deficient mouse brain. Magn Reson Imaging 88:123-131. doi: 10.1016/j.mri.2022.01.017.
7. Abdelaal MS, Midorikawa M, Suzuki T, Kobayashi K, Takata N, Miyata M, Mimura M, Tanaka KF (2022) Dysfunction of parvalbumin-expressing cells in the thalamic reticular nucleus induces cortical spike-and-wave discharges and an unconscious state. Brain Commun 4:fcac010. doi: 10.1093/braincomms/fcac010.
8. Kasahara Y, Masukawa D, Kobayashi K, Yamasaki M, Watanabe M, Goshima Y (2022) L-DOPA-induced neurogenesis in the hippocampus is mediated through GPR143, a distinct mechanism of dopamine. Stem Cells 40:215-226. doi: 10.1093/stmcls/sxab013.
9. Ito T, Ota K, Ueno K, Oisi Y, Matsubara C, Kobayashi K, Ohkura M, Nakai J, Murayama M, Aonishi T (2022) Low computational-cost cell detection method for calcium imaging data. Neurosci Res 179:39-50.
doi: 10.1016/j.neures.2022.02.008.
10. Tsujikawa K, Hamanaka K, Riku Y, Hattori Y, Hara N, Iguchi Y, Ishigaki S, Hashizume A, Miyatake S, Mitsuhashi S, Miyazaki Y, Kataoka M, Jiayi L, Yasui K, Kuru S, Koike H, Kobayashi K, Sahara N, Ozaki N, Yoshida M, Kakita A, Saito Y, Iwasaki Y, Miyashita A, Iwatsubo T; Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI), Ikeuchi T; Japanese Longitudinal Biomarker Study in PSP and CBD (JALPAC) Consortium, Miyata T, Sobue G, Matsumoto N, Sahashi K, Katsuno M (2022) Actin-binding protein filamin-A drives tau aggregation and contributes to progressive supranuclear palsy pathology. Sci Adv 8:eabm5029.
doi: 10.1126/sciadv.abm5029.
11. Ago K, Nagoshi N, Imaizumi K, Kitagawa T, Kawai M, Kajikawa K, Shibata R, Kamata Y, Kojima K, Shinozaki M, Kondo T, Iwano S, Miyawaki A, Ohtsuka M, Bito H, Kobayashi K, Shibata S, Shindo T, Kohyama J, Matsumoto M, Nakamura M, Okano H (2022) A non-invasive system to monitor in vivo neural graft activity after spinal cord injury. Commun Biol 5:803.
doi: 10.1038/s42003-022-03736-8.
12. Terada SI, Kobayashi K, Matsuzaki M (2022) Transition of distinct context-dependent ensembles from secondary to primary motor cortex in skilled motor performance. Cell Rep 41:111494. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111494.

2)　研究関係著作

1. Kobayashi K, Kato S, Kobayashi K (2023) HiRet/NeuRet vectors: Lentiviral system for highly efficient gene transfer through retrograde axonal transport. In: Eldridge M and Galvan A (ed) Neuromethods, Vectorology for Optogenetics and Chemogenetics, Springer, New York, pp17-27.

《遺伝子改変動物作製室》

1)　英文原著論文

1. Inoue N, Hotta A, Goto T, Hirabayashi M, Uenoyama Y, Tsukamura H (2022) Establishment of embryo transfer in the musk shrew (*Suncus murinus*). J Reprod Dev 68:340-344. doi: 10.1262/jrd.2022-003.
2. Hochi S, Ide M, Ueno S, Hirabayashi M (2022) High survival of bovine mature oocytes after nylon mesh vitrification, as assessed by intracytoplasmic sperm injection. J Reprod Dev 68:335-339. doi: 10.1262/jrd.2022-053.
3. Oikawa M, Kobayashi H, Sanbo M, Mizuno N, Iwatsuki K, Takashima T, Yamauchi K, Yoshida F, Yamamoto T, Shinohara T, Nakauchi H, Kurimoto K, Hirabayashi M, Kobayashi T (2022) Functional primordial germ cell-like cells from pluripotent stem cells in rats. Science 376:176-179. doi: 10.1126/science.abl4412.
4. Oikawa M, Nagae M, Mizuno N, Iwatsuki K, Yoshida F, Inoue N, Uenoyama Y, Tsukamura H, Nakauchi H, Hirabayashi M, Kobayashi T (2022) Generation of Tfap2c-T2A-tdTomato knock-in reporter rats via adeno-associated virus-mediated efficient gene targeting. Mol Reprod Dev 89:129-132. doi: 10.1002/mrd.23562.
5. Chen J, Minabe S, Munetomo A, Magata F, Sato M, Nakamura S, Hirabayashi M, Ishihara Y, Yamazaki T, Uenoyama Y, Tsukamura H, Matsuda F (2022) Kiss1-dependent and independent release of luteinizing hormone and testosterone in perinatal male rats. Endocr J. 69:797-807. doi: 10.1507/endocrj.EJ21-0620.
6. Tang WWC, Castillo-Venzor A, Gruhn WH, Kobayashi T, Penfold CA, Morgan MD, Sun D, Irie N, Surani MA (2022) Sequential enhancer state remodelling defines human germline competence and specification. Nat Cell Biol 24:448-460. doi: 10.1038/s41556-022-00878-z.
7. Kazuki Y, Gao FJ, Yamakawa M, Hirabayashi M, Kazuki K, Kajitani N, Miyagawa-Tomita S, Abe S, Sanbo M, Hara H, Kuniishi H, Ichisaka S, Hata Y, Koshima M, Takayama H, Takehara S, Nakayama Y, Hiratsuka M, Iida Y, Matsukura S, Noda N, Li Y, Moyer AJ, Cheng B, Singh N, Richtsmeier JT, Oshimura M, Reeves RH (2022) A transchromosomic rat model with human chromosome 21 shows robust Down syndrome features. Am J Hum Genet. 109:328-344. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.12.015.

《動物資源共同利用研究センター》

1)　英文原著論文

1. Sakamoto SH, Nishijima K, Ohno T, Tanaka S (2022) Effects of aging and delivery order on the breeding capacity of F344/N rats. J Vet Med Sci 84(7):960-963. doi: 10.1292/jvms.22-0111.

b.　学会発表

〔 目　　次 〕

神経機能素子研究部門 100
生体膜研究部門 100
生体分子構造研究部門 101
神経発達・再生機構研究部門 102
細胞構造研究部門 103
細胞生理研究部門 104
心循環シグナル研究部門 105
生殖・内分泌系発達機構研究部門 108
分子神経免疫研究部門 109
超微形態研究部門 111
生体恒常性発達研究部門 111
視覚情報処理研究部門 112
バイオフォトニクス研究部門 112
多細胞回路動態研究部門 114
認知行動発達機構研究部門 115
生体システム研究部門 116
神経ダイナミクス研究部門） 117
心理生理学研究部門 118
感覚認知情報研究部門 120
多光子顕微鏡室 121
電子顕微鏡室（窪田グループ） 121
時系列細胞現象解析室 122
ウィルスベクター開発室 122
遺伝子改変動物作製室 123
多階層生理機能解析室 124
動物資源共同利用研究センター 124

学　会　発　表

神経機能素子研究部門

1. Michihiro Tateyama, Yoshihiro Kubo (2022.3.17) The 4th transmembrane domain of THIK-1 channel plays critical roles in the regulation of the channel activity. 第 99 回日本生理学会大会（仙台，オンライン発表）
2. Takushi Shimomura, Ki-ichi Hirazawa, Yoshihiro Kubo (2022.3.17) Analysis of the relationship between channel opening and position of the second S4 helix in two-pore Na^+ channel 3.　第 99 回日本生理学会（仙台，オンライン発表）
3. 下村拓史 (2022.11.9) 膜電位下蛍光電流同時測定法により明らかになった，Two-pore Channel におけるリガンド依存性と電位依存性ゲーティングの切り替え・統合の分子基盤　第 95 回日本生化学会（名古屋）
4. I-Shan Chen, Yoshihiro Kubo (2022.3.16) Identification of mechanisms underlying the abnormal ion selectivity induced by gene mutations of GIRK2 channel. 第 99 回日本生理学会大会（仙台，オンライン発表）
5. Ki-ichi Hirazawa, Michihiro Tateyama, Takushi Shimomura, Yoshihiro Kubo (2022.3.17) Phosphoinositide- dependent modulation of the structural rearrangements of Two-pore channel 3 evoked by depolarization 第 99 回日本生理学会大会（仙台，オンライン発表）
6. Chang Liu, I-Shan Chen, Ruth Murrell-Lagnado, Yoshihiro Kubo (2022.3.16) Regulation of muscarinic acetylcholine receptor M2 by Sigma-1 receptor. 第 99 回日本生理学会大会（仙台，オンライン発表）
7. 堀翔悟，立山充博，白井剛，久保義弘，齊藤修 (2022.5.28) 有尾両生類 TRPV1 に共通の低い高温活性化閾値は N 端の２アミノ酸残基が決定する　第 68 回日本生化学会近畿支部例会（大津）
8. 堀翔悟，白井剛，立山充博，久保義弘，齊藤修 (2022.9.10) 有尾両生類 TRPV1 が示す低い高温活性化閾値の分子機構　第 93 回日本動物学会大会（東京）
9. 堀翔悟，立山充博，白井剛，久保義弘，齊藤修 (2022.11.30) TRPV1 のアンキリンリピート 1 は高温開口温度を決定する　第 45 回日本分子生物学会大会（千葉）
10. 塚本寿夫, 久保義弘 (2022.8.10) 一過性の細胞応答を引き起こす無脊椎動物オプシンの解析 第22回日本光生物学協会年会（大阪）
11. 塚本寿夫, 久保義弘 (2022.9.28)　An invertebrate opsin functionally biased for Gβγ-dependent ion channel responses. 第 60 回日本生物物理学会年会（函館）
12. Hisao Tsukamoto, Yoshihiro Kubo (2022.10.30) Characterization of an invertebrate opsin having transient G protein-activating state(s) as optical control tool. THE 19TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON RETINAL PROTEINS（札幌）

生体膜研究部門

1. 横井紀彦，深田正紀，深田優子（2022・2・4）LGI1-ADAM22 抗てんかん蛋白質複合体の量的制御機構の解明. 生理研研究会「機能的神経回路の構築と動作を支える分子細胞基盤」（オンライン）
2. Yokoi N（2022・2・17）Regulatory mechanisms of the LGI1-ADAM22 level to prevent epilepsy in mice. The 11th NIPS-PRI-BRINU Joint Symposium（オンライン）
3. Yokoi N（2022・2・19）LGI1-ADAM22 levels to regulate seizure threshold in mice. The 3rd Nagoya CIBoG Retreat（オンライン）
4. Fukata M, Fukata Y（2022・6・23）Function and regulation of ADAM22, a receptor for LGI1, in epileptic disorders. SYNABS & CONNECT-GENERATE Symposium 2022（Starnberger, Germany）招待講演
5. Yokoi N, Fukata Y, Okatsu K, Yamagata A, Liu Y, Sanbo M, Miyazaki Y, Goto T, Hirabayashi M, Fukai S, Fukata M（2022・6・30）14-3-3 proteins stabilize LGI1-ADAM22 levels to prevent epilepsy in mice. The

45th annual meeting of the Japan Neuroscience Society (Ginowan)

6. 深田正紀（2022・7・19）シナプス機能と脳の疾患に関する研究。第 4 回 FUJITA ブレインサイエンスセミナー（藤田医科大学）
7. 宮﨑裕理，大塚岳，深田優子，深田正紀（2022・9・10）知的障害関連脳内分泌タンパク質 LGI3 の性状解析。第 12 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン）
8. Egawa T, Hirata T, Yokoi N, Miyazaki Y, Sanbo M, Goto T, Inahashi H, Kobayashi K, Hirabayashi M, Fukata Y, Fukata M（2022・11・9）Proteomic characterization of ABHD17B, a depalmitoylating enzyme, in the mouse brain. 第 95 回日本生化学大会（名古屋）

生体分子構造研究部門

1. 村田和義（2022.3.23）岡崎におけるクライオ電子顕微鏡施設の紹介。生理研研究会「機能的神経回路の構築と動作を支える分子細胞基盤」（オンライン）
2. 宋　致弘, 村田和義（2022.5.11-13）クライオ電子顕微鏡で観るウイルス構造から学ぶ感染症対策。日本顕微鏡学会第 78 回学術講演会（福島）
3. Ray Burton-Smith, Jun Tsunoda, Chihong Song, Hiroshi Ueno, Takeshi Murata, Ryota Iino, Kazuyoshi Murata（2022.5.11-13）The Off-Axis Rotor of Enterococcus hirae V-type ATPase by Volta Phase Contrast and Conventional Phase Cryo-EM. 日本顕微鏡学会第 78 回学術講演会（福島）
4. 渡邉凌人，ソンチホン，武村政春，村田和義（2022.5.11-13）Medusavirus の局所構造解析により示されるウイルス粒子形成に伴う構造変化。日本顕微鏡学会第 78 回学術講演会（福島）
5. Chihong Song, Kei Haga, Reiko Todaka, Ryoka Ishiyama, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata（2022.5.11-13）Analysis of Two Variable Structures of Norovirus by Cryo-EM. 日本顕微鏡学会第 78 回学術講演会（福島）
6. Takumi Watanabe, Satoki Ushida, Chihong Song, Kazuyoshi Murata, Daisuke Suzuki（2022.8.22）Emulsion polymerization in the presence of microgels. ACS Fall 2022 National Meeting（Online）
7. 村田和義（2022.8.24）生命分子動態機能解析システムによる創薬標的探索をめざした研究支援。令和 4 年度 BINDS シンポジウム「知って　使って　進むあなたの研究」（東京）
8. Takumi Watanabe, Satoki Ushida, Song Chihong, Kazuyoshi Murata, Daisuke Suzuki（2022.9.3）Design of Nanocomposite Hydrogel Particles. Gelsympo 2022（Hokkaido）
9. 渡邊拓巳，西澤佑一朗，湊遥香，ソンチホン，村田和義，鈴木大介（2022.9.6）泡安定化剤としてのナノコンポジットゲル微粒子の創製。第 71 回高分子討論会（札幌）
10. 渡邊拓巳，牛田吏紀，ソンチホン，村田和義，鈴木大介（2022.9.6）多層型ハイドロゲル微粒子の創製とその機能創製（札幌）
11. 渡邉凌人，ソンチホン，武村政春，村田和義（2022.9.10）Medusavirus の局所構造解析により明らかになったウイルス粒子形成に伴う構造変化。第 12 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン）
12. 伊達弘貴，Thuc Toan PHAM，内橋貴之，上久保裕生，宋致弘，村田和義，上野隆史（2021.12.20）pH 応答性伸縮タンパク質集合体の構造解析。第 16 回バイオ関連化学シンポジウム（オンライン）
13. Burton-Smith R, Tsunoda J, Song C, Ueno H, Murata T, Iino R, Murata K（2022.9.28-30）The Off-Axis Rotor of Enterococcus hirae V-type ATPase by Volta Phase Contrast and Conventional Phase Cryo-EM. 日本生物物理学会第 60 回年会（函館）
14. Ryoto Watanabe, Chihong Song, Masaharu Takemura, Kazuyoshi Murata（2022.9.28-30）Visualization of structural changes associated with virus particle formation. 日本生物物理学会第 60 回年会（函館）
15. 村田和義（2022.11.10）巨大ウイルスの構造にみる物質と生命の境界. 2022 年度生理研研究会「極限環境適応」（岡崎）
16. 村田和義（2022.11.11）ウイルスってどんなかたち？。生理研出前授業（岡崎）
17. 伊達弘貴，Thuc Toan PHAM，内橋貴之，上久保裕生，宋致弘，村田和義，上野隆史（2022.11.24-26）

pH 応答性伸縮タンパク質集合体の伸縮機構解析。第 11 回発動分子科学領域会議（沖縄）

18. 渡邊拓巳，西澤佑一朗，野口哲矢，ソンチホン，村田和義，鈴木大介（2022.12.12）ナノコンポジットゲル微粒子による水性泡の長期安定化。第 32 回日本 MRS 年次大会（横浜）
19. Watanabe R, Song C, Takemura M, Murata K（2022.12.12）Focused structural analysis of Medusavirus shows structural changes during viral particle formation. 第 5 回 ExCELLS シンポジウム（岡崎）
20. Burton-Smith R, Tsunoda J, Song C, Ueno H, Murata T, Iino R, Murata K（2022.12.12）The Off-Axis Rotor of Enterococcus hirae V-type ATPase by Volta Phase and Conventional Phase Contrast Cryo-EM. 第5回ExCELLS シンポジウム（岡崎）
21. Haruka Kawabata, Chihong Song, Kana Miyamoto, Ryoka Ishiyama, Reiko Todaka, Kei Haga, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata（2022.12.12）Structural changes of Human Astrovirus by proteolytic processing in infection. 第 5 回 ExCELLS シンポジウム（岡崎）

神経発達・再生機構研究部門

1. 榑松千紘，澤田雅人，大村谷昌樹，田中基樹，久保山和哉，荻野崇，松本真実，大石久史，稲田浩之，石戸友梨，榊原悠紀菜，Huy Bang Nguyen，Truc Quynh Thai，高坂新一，大野伸彦，山田麻紀，浅井真人, 曽我部正博, 鍋倉淳一, 浅野謙一, 田中正人，澤本和延（2022・12・4）ミクログリアによるフォスファチジルセリン依存的な成体新生ニューロンのシナプス貪食。第 73 回名古屋市立大学医学総会（愛知県名古屋市）
2. Kazunobu Sawamoto（2022・12・3）Glial control of postnatal neuronal migration and regeneration. EMBO workshops Neural development and neurodegeneration（台湾台北市）
3. 荻野崇，澤本和延（2022・12・3）成体脳で生じる新生ニューロンの移動における血流の役割。生理研研究会『多次元脳形態研究会』（オンライン）
4. Kazunobu Sawamoto（2022・11・4）Endogenous and artificial scaffolds for neuronal migration and regeneration. (1) The 6th International Conference on Innovative Biology Medicine and Engineering in Kuala Lumpur,Malaysia (2) The 2nd ASEAN-Japan International Conference on Innovative Biology Medicine and Engineering in Kuala Lumpur, Malaysia（マレーシア）
5. Mami Matsumoto, Chentao Wen, Huy Bang Nguyen, Truc Quynh Thai, Vicente Herranz-Perez, Masato Sawada, Jose Manuel Garcia-Verdugo, Tatsunori Seki, Koutarou D. Kimura, Nobuhiko Ohno, Kazunobu Sawamoto（2022・10・29）成体脳傷害において集団移動するニューロンの細胞接着変化 Altered cell adhesion in collective neuronal migration in the adult injured brain. 成体脳のニューロン新生懇談会（京都府京都市）
6. Kazunobu Sawamoto（2022・10・21）Mechanisms of generation, migration and maturation of new neurons after neuronal cell death in the postnatal brain. The 29th FAOBMB & 2022 CSBMB Conference（オンライン）
7. 岡田正康（新潟大学）, 澤本和延, 五十嵐道弘（2022・10・8）JNK 依存性リン酸化 GAP-43 の霊長類神経再生マーカーとしての有用性. AMED 適応・修復領域 令和 4 年度 若手主体の会議（長崎県長崎市）
8. 中嶋智佳子，澤本和延（2022・10・8）傷害脳を移動する新生ニューロンの成長円錐における移動制御機能。令和 4 年度 AMED 適応・修復領域 若手主体の会議（長崎県長崎市）
9. 岡田正康（新潟大学），金子奈穂子，金村米博，澤本和延，藤井幸彦，五十嵐道弘（2022・9・10）JNK 制御リン酸化 GAP-43 はヒトの神経成長を同定できる JNK-Dependent Phosphorylation Sites of GAP-43 are the Novel Markers for Axonal Growth in Rodent and Human Neurons. 第 47 回日本医用マススペクトル学会年会（オンライン）
10. 宮本拓哉，金子奈穂子，澤本和延（2022・8・31）神経再生における髄鞘形成細胞・ニューロンの移動と相互作用. 2022 年度技術支援講習会（愛知県名古屋市）
11. 澤本和延（2022・8・31）モデル動物の解析から見いだされた神経再生機構と再生促進技術. 2022 年度技術支援講習会（愛知県名古屋市）

12. 岡田正康（新潟大学），金子奈穂子, 玉田篤史, 嶌田学, 大石誠, 河﨑洋志, 金村米博, 澤本和延, 藤井幸彦, 五十嵐道弘（2022・7・23）リン酸化プロテオミクスを駆使したヒト神経成長マーカーの検討。第 22 回日本分子脳神経外科学会 シンポジウム 6「実験モデル」（石川県金沢市）
13. Masayasu Okada（新潟大学）, Asami Kawasaki, Naoko Kaneko，Motohiro Nozumi，Hiroyuki Yamazaki，Kazunobu Sawamoto，Hayato Fukusumi，Yonehiro Kanemura，Yukihiko Fujii，Michihiro Igarashi（2022・7・1）JNK-dependent phosphorylation sites of GAP-43 in the growing axons of rodents and human .Neuro2022（沖縄県宜野湾市）
14. Masato Sawada，Ayato Hamaguchi，Naomichi Mano，Akiyoshi Uemura，Kazunobu Sawamoto（2022・7・1）Sema3E-PlexinD1-RhoJ シグナルによる嗅球新生ニューロンの樹状突起形成機構 Dendritic development of newborn neurons in the postnatal olfactory bulb is regulated by Sema3E-PlexinD1-RhoJ signaling. Neuro 2022（オンライン）
15. Chihiro Kurematsu, Masato Sawada, Masaki Ohmuraya, Motoki Tanaka, Kazuya Kuboyama, Takashi Ogino, Mami Matsumoto, Hisashi Oishi, Hiroyuki Inada, Shinichi Kohsaka, Nobuhiko Ohno, Maki K. Yamada, Masato Asai, Masahiro Sokabe, Junichi Nabekura, Kenichi Asano, Masato Tanaka, Kazunobu Sawamoto（2022・7・3）ミクログリアによるフォスファチジルセリン依存的な成体新生ニューロンのシナプス貪食 Synaptic pruning of murine adult-born neurons by microglia depends on phosphatidylserine. Neuro2022（沖縄県宜野湾市）
16. 山本悟暁，中嶋智佳子，中村春野，島田直樹，中村耕一郎，上杉昭二，田畑泰彦，澤本和延（2022・6・30）細胞外マトリックスによる傷害大脳皮質における新生ニューロンの移動促進(Promotion of postnatal neuroblast migration by extracellular matrix (ECM)-containing biomaterial). Neuro2022（オンライン）
17. 澤本和延（2022・4・8）脳に内在するニューロン再生機構と操作技術 Elucidation and manipulation of endogenous mechanisms of neuronal regeneration. FUJITA ブレインサイエンスセミナー（オンライン）
18. 榑松千紘，澤田雅人，大村谷昌樹，田中基樹，久保山和哉，荻野崇，松本真実，大石久史，稲田浩之，石戸友梨，榊原悠紀菜，Huy Bang Nguyen，Truc Quynh Thai，高坂新一，大野伸彦，山田麻紀，浅井真人, 曽我部正博, 鍋倉淳一, 浅野謙一, 田中正人，澤本和延（2022・3・20-21）ミクログリアによるフォスファチジルセリン依存的な成体新生ニューロンのシナプス貪食。成体脳ニューロン新生懇談会（オンライン）
19. 大野雄也，味岡逸樹，村岡貴博，藤岡哲平，松川則之，金子奈穂子，澤本和延（2022・3・17-19）自己集合性バイオマテリアルを用いた脳傷害再生過程における新生ニューロンの移動促進。第 21 回日本再生医療学会総会（オンライン）
20. Kazunobu Sawamoto（2022・3・14-17）Postnatal neuronal migration in health and disease. The International Symposium on Development and Plasticity of Neural Systems（新学術 発生時計と世界拠点 ASHBi と合同で国際シンポジウム）（京都府京都市）
21. Kazunobu Sawamoto（2022・1・12-13）Postnatal neuronal migration in health and disease .Joint symposium of McGill University – National Institute of Physiological Sciences “Recent Adcances in Neuroscience” （オンライン）

細胞構造研究部門

1. Otani T, Furuse M. (2022.6.2) Competitive elimination of tight junction deficient cells regulate epithelial barrier homeostasis. The 55th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists (金沢)
2. Otani T, Furuse M. (2022.6.28) Competitive elimination of tight junction deficient cells regulate epithelial barrier homeostasis 第 74 回日本細胞生物学会大会（東京）
3. Nguyen TP, Otani T, Furuse M. (2022.6.28) The roles of claudins and JAM-A in providing tight junction-dependent mechanical resistance. 第 74 回日本細胞生物学会大会（東京）
4. 菅原太一，若山友彦，古瀬幹夫 (2022.6.28) 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-1 によるタイトジャンクション形成の制御. 第 74 回日本細胞生物学会大会（東京）

5. 泉 裕士. 古瀬幹夫 (2022.6.28~30) aPKC はショウジョウバエの腸管バリア機能の破綻に伴う腸管上皮幹細胞の増殖に関与する. 第 74 回日本細胞生物学会大会（東京）
6. Izumi Y., Furuse M. (2022.9.12~14) Septate junctions regulate renal stem cell proliferation in the Drosophila Malpighian tubules. 第15回日本ショウジョウバエ研究会 （名古屋）
7. 藤原佐知子, 天野剛志, 廣明秀一, 古瀬幹夫 (2022.11.9~11) 立体構造に基づく点変異導入を利用したタイトジャンクションタンパク質 ZO-1 の機能解析. 第 95 回日本生化学会大会（名古屋）
8. 大谷哲久 (2022.12.1) 細胞間接着装置と上皮恒常性 第 45 回日本分子生物学会年会 （千葉）
9. Nguyen TP, Otani T, Furuse M. (2022.12.6) Dissecting the roles of claudins and JAM-A in providing tight junction-dependent mechanical resistance Cell Bio 2022 - An ASCB/EMBO meeting (Washington DC, USA)

細胞生理研究部門

1. 笹島 沙知子（2022.2.17）Thermal Gradient Ring Reveals Thermosensory Changes in Diabetic Peripheral Neuropathy in Mice. 第 11 回生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（オンライン開催）
2. 富永真琴（2022.2.26）TRP チャネルを介した侵害刺激受容のメカニズムと臨床応用～神経障害性疼痛治療を目指して～ 日本ペインクリニック学会 第２回東海北陸支部セミナー（オンライン開催）
3. Deng Xiangmei（2022.3.16）Physiological functions of diacylglycerol acyl trancferase(DGAT) in thermotaxis in Drosophila melanogaster. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
4. 富永真琴（2022.3.17）冷刺激感受性と温度感受性 TRP チャネル. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
5. 曽我部隆彰（2022.3.17）Activation of TRP channels by an endocannabinoid and other stimuli in Drosophila photoreceptor cells. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
6. 水藤拓人（2022.3.17）Elucidation of the regulatory mechanism of sensory proteins via modulations of membrane phospholipid. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
7. 佐藤翔馬（2022.3.17）Evaluation of TRPA1 activators as insect repellents. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
8. Nguyen Thi Hong Dung（2022.3.17）Identification of amino acids determining the temperature thresholds for heat-evoked activation of mosquito TRPA1. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
9. Lei Jing（2022.3.17）Investigation of the interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse keratinocytes. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
10. Deveci Aykut（2022.3.17）Investigation of the possible relation between TRPM2-IKca1 ion channels. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・東北大学）
11. Makoto Tominaga（2022.6.23）Structure and Function of Thermosensitive TRP Channels. Ion Channel Modulation Symposium 2022（Cambridge, UK）
12. 富永真琴（2022.6.30）温度感受性 TRP チャネルの構造と生理機能. 第 49 回日本毒性学会学術年会（札幌）
13. 富永真琴（2022.7.1）温度受容・侵害刺激受容の分子機構に関する研究. 第 27 回日本緩和医療学会学術大会（神戸）
14. 富永真琴（2022.7.28）温度感受性 TRP チャネルの構造と機能 -2021 年ノーベル生理学医学賞によせて- . 千里ライフサイエンスセミナー（大阪）
15. 富永真琴（2022.7.30）Structure and Function of Thermosensitive TRP Channels. 2nd TRP Conference in Wakayama（和歌山）
16. 齋藤 くれあ（2022.8.5）両生類特異的な TRPA1 選択的スプライシングバリアントの起源と機能的な進化過程. 日本進化学会第 24 回沼津大会（静岡）
17. 齋藤 茂（2022.8.6）サケ科の系統における高温セン

サーTRPV1 の機能的制約の緩みと再強化．日本進化学会第 24 回沼津大会（静岡）

18. 富永真琴（2022.8.28）TRP チャネル，Piezo チャネルを介した温度・化学物質受容，機械刺激受容．コク研究会（東京）
19. 富永真琴（2022.8.31）温度感受性 TRP チャネルの発見からの25年．第62回生物物理 若手の会夏の学校（岐阜）
20. 齋藤　茂（2022.9.8）無尾両生類における温度ニッチの多様化に応じた忌避行動および高温センサー分子の進化．日本動物学会第 93 回早稲田大会（東京）
21. 水藤拓人（2022.9.13-14）Regulatory role of ether phospholipid in TRP channel function and thermotactic behaviors. 第 15 回日本ショウジョウバエ研究集会（名古屋）
22. 佐藤翔馬（2022.9.13）A TRPA1 activator 2-methylthiazoline acts as an insect repellent. 第 15 回日本ショウジョウバエ研究集会（名古屋）
23. 富永真琴（2022.9.28）温度感受性 TRP チャネルの構造と機能－2021 年ノーベル生理学医学賞によせて－．日本薬学会東海支部特別講演会（岐阜）
24. 富永真琴（2022.10.1）TRP チャネルとかゆみ．RINVOQ Atopic Dermatitis 1st Anniversary Symposium（東京）
25. Makoto Tominaga（2022.10.5）TRP channels in Pain. The 16th Aslla Symposium 2022（Gangneung, Korea）
26. Deng Xiangmei（2022.10.14）Acylglycerol acyl trancferase mediates preference via changes in gene expression of ionotropic receptors in Drosophila larvae. 第 69 回中部日本生理学会（豊明）
27. 富永真琴（2022.10.27）カプサイシン受容体の発見：2021 年ノーベル生理学医学賞受賞の意義．第 75 回日本自律神経学会総会（埼玉）
28. 富永真琴（2022.10.28）温度感受性 TRP チャネルの生理機能．第 48 回佐島シンポジウム（東京）
29. 水藤拓人（2022.11.9-11.11）温度感覚受容におけるエーテル脂質の制御的役割の解明．第 95 回日本生化学会大会（名古屋）
30. 富永真琴（2022.11.12）カプサイシン受容体の発見と夢を麻酔科医に語る．日本臨床麻酔学会第 42 回大会（京都）
31. 富永真琴（2022.12.2）カプサイシン受容体発見からの 25 年．第 44 回日本疼痛学会（岐阜）
32. 加塩 麻紀子（2022.12.2）熱帯および温帯を生息域とする蚊における TRPA1 活性化温度閾値の違いを決定づけるアミノ酸の同定．第 44 回日本疼痛学会（岐阜）
33. 富永真琴（2022.12.4）The novel mechanism of itch．日本研究皮膚科学会共催セミナー（長崎）
34. 富永真琴（2022.12.17）TRP チャネルを介した侵害刺激受容のメカニズムと臨床応用～神経障害性疼痛治療を目指して～．中部 Neuropathic pain Symposium（名古屋）
35. Deng Xiangmei（2022.12.21）Monoacylglycerol acyl trasfetases (MGATs) mediate cool temperature avoidance by maintainig expression level of temperature sensors in Drosophila larvae. 2022 生命科学リトリート（静岡）
36. Aliyu Mudassir Magaji（2022.12.21）Molecular and physiological bases of thiazoline avoidance in insects. 2022 生命科学リトリート（静岡）

心循環シグナル研究部門

1. 西田基宏（2022.1.8）心不全パンデミックを見据えたミトコンドリア創薬研究。第 30 回日本病態生理学会（福岡）
2. 西田基宏（2022.2.5）心不全パンデミックを見据えたエコファーマ創薬研究．Cardiovascular Translational Research Conference 第 18 回学術集会（WEB 開催）
3. 西山和宏（2022.2.18）システイン修飾に依存した GPCR の内在化機構の解明。第 21 回分子予防環境医学研究会大会（WEB 開催）
4. 西村明幸（2022.2.18）超硫黄分子による心筋の虚血耐性機構。第 21 回分子予防環境医学研究会（WEB 開催）
5. 西田基宏（2022.2.18）心不全時のタンパク質間相互作用に着目したドラッグ.リポジショニング。第 14 回 Leading Edge Anti-Diabetes Forum（WEB 開催）
6. 西山和宏，西村明幸，加藤百合，下田翔，西田基宏

（2022.3.8）GPCR のレドックス依存的内在化（REDAI）を標的とする創薬。第 95 回日本薬理学会年会（福岡）

7. 加藤百合, 西田基宏（2022.3.8）COVID-19 治療薬開発を目指したエコファーマ研究。第 95 回日本薬理学会年会（福岡）
8. 西村明幸，田中智弘，下田　翔，佐々木渉太，金子俊郎，西田基宏（2022.3.8）プラズマ照射による硫黄代謝物の産生とその生理学的意義の解明。第 95 回日本薬理学会年会（福岡）
9. 加藤百合（2022.3.16）筋萎縮における TRPC3-Nox2 複合体の役割。第 99 回 日本生理学会大会（仙台）
10. 加藤百合, 西山和宏, 諫田泰成, 西田基宏（2022.3.17）iPS 細胞由来心筋細胞を用いた新型コロナウイルス治療薬の探索。第 21 回 日本再生医療学会総会（WEB 開催）
11. 西田基宏，加藤百合，西山和宏，西村明幸，諫田泰成（2022.3.18）COVID-19 重症化.後遺症のリスク因子に着目したドラッグ.リポジショニング研究。第 99 回 日本生理学会大会（仙台）
12. 西山和宏，西村明幸，加藤百合，下田翔，西田基宏（2022.3.27）システイン修飾を介した GPCR の内在化機構の解明。日本薬学会第 142 年会（名古屋）
13. 西田基宏（2022.4.9）TRPC チャネルタンパク質に着目した COVID-19 治療薬開発。心電学関連春季大（WEB 開催）
14. 西田基宏（2022.4.26）TRPC タンパク質による心循環機能制御．Kidney Research Forum（岡山）
15. 西村明幸，下田翔，西山和宏，加藤百合，西田基宏（2022.5.26）超硫黄分子による心筋の虚血耐性機構の解析。第 75 回日本酸化ストレス学会学術集会（WEB 開催）
16. 加藤百合，鮎川皓一，西山和宏，Mi Xinya，西村明幸，西田基宏（2022.6.18）骨格筋の病的萎縮における TRPC3-Nox2 タンパク質複合体形成の関与。日本生化学会九州支部（WEB 開催）
17. 渡邉倫, 加地憲武, 山口賢彦, 坂本多穂, 渡邊泰秀, 行方衣由紀，田中光，芦原貴司，諫田泰成，西田基宏，黒川洵子（2022.7.1）ペーシング刺激によるヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞の成熟化。第 49 回日本毒性学会学術年会（札幌）
18. 加藤百合, 西山和宏, 諫田泰成, 西田基宏（2022.7.1）COVID-19 心筋重症化のメカニズムとその治療戦略。第 49 回日本毒性学会学術年会（札幌）
19. 青木はな子，秋山正博，鵜木隆光，蕨栄治，西村明幸，西田基宏，熊谷嘉人（2022.7.1）システイン要求性アンチポーターを介した過剰な活性イオウ分子の細胞外排出。第 49 回日本毒性学会学術年会（札幌）
20. 西山和宏，西村明幸，加藤百合，下田翔，西田基宏（2022.7.31）システイン修飾を介した GPCR の内在化機構の解明。第 51 回 日本心脈管作動物質学会（東京）
21. 加藤百合, 西山和宏, 西村明幸, 西田基宏（2022.7.1）横紋筋の萎縮における TRPC3-Nox2 複合体の関与。第 51 回日本心脈管作動物質学会（東京）
22. 西田基宏（2022.8.26）心不全治療を指向したグリーンファルマ研究。日本薬学会薬理系部会　生体機能と創薬シンポジウム 2022（静岡）
23. 酒田康介, 島内司, 冨田拓郎, 加藤百合, 西山和宏, 西村明幸，西田基宏（2022.8.26）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割と治療応用。生体機能と創薬シンポジウム 2022（静岡）
24. 古本裕香，西山和宏，加藤百合，西村明幸，西田基宏（2022.8.26）筋萎縮における TRPC6 チャネルの役割。生体機能と創薬シンポジウム 2022（静岡）
25. 大久保礼真，小田紗矢香，西山和宏，西村明幸，加藤百合，Mi Xinya，西田基宏（2022.8.26）心臓の圧受容応答制御における TRPC6 チャネルを介した Zn2+流入の役割解明。生体機能と創薬シンポジウム 2022（静岡）
26. Xiaokang Tang, Akiyuki Nishimura, Kazuhiro Nishiyama, Yuri Kato, Elena A Vasileva, Natalia P. Mishchenko, Sergey A. Fedoreyev, Valentin A. Stonik, Hyoung, Kyu Kim, Jin Han, and Motohiro Nishida（2022.8.26）Echinochrome enhances myocardial stress resistance by preserving reactive sulfur species. 生体機能と創薬シンポジウム 2022（静岡）
27. 下田翔, 西村明幸, 西山和宏, 加藤百合, 赤池孝章, 守田匡伸，西田基宏（2022.8.27）心臓の虚血耐性における活性硫黄分子の役割。次世代を担う若手のための創薬.医療薬理シンポジウム（静岡）
28. 西山和宏, 西村明幸, 下田翔, 加藤百合, 柴田貴広, 熊谷嘉人, 赤池孝章, 内田浩二, 西田基宏（2022.8.30）スルフォラファンによる GPCR 内在化機構の発見。衛生薬学フォーラム（熊本）

29. 加藤百合，西山和宏，友清大樹，西村明幸，諫田泰成，西田基宏（2022.8.30）ACE2 に着目した新型コロナウイルス感染症治療薬の探索とその薬理学的応用。衛生薬学フォーラム（熊本）
30. 大久保礼真，小田紗矢香，西山和宏，西村明幸，加藤百合，Mi Xinya，西田基宏（2022.8.30）TRPC6 チャネルを介した Zn2+流入による心臓の圧受容応答制御。衛生薬学フォーラム（熊本）
31. Xiaokang Tang, Akiyuki Nishimura, Kazuhiro Nishiyama, Yuri Kato, Yuko Ibuki, Takaaki Akaike, Yoshito Kumagai, Motohiro Nishida（2022.8.30）Mechanism of cardiomyocytes aging due to cigarette sidestream smoke. 衛生薬学フォーラム（熊本）
32. 酒田康介，島内司，冨田拓郎，加藤百合，西山和宏，西村明幸，西田基宏（2022.9.3）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割と治療応用。第 21 回次世代を担う若手のためのファーマ.バイオフォーラム 2022（名古屋）
33. 古本裕香，小田紗矢香，西山和宏，西村明幸，加藤百合，Mi Xinya，西田基宏（2022.9.3）心臓 TRPC6 チャネルの生理的役割。第 21 回次世代を担う若手のためのファーマ.バイオフォーラム 2022（名古屋）
34. Xiaokang Tang, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida（2022.9.3）GSSG rescues Drp1 mediated mitochondrial hyperfission and cardiac vulnerability by electrophilic glutathionylation at Cys624. 第 21 回次世代を担う若手のためのファーマ.バイオフォーラム 2022（名古屋）
35. 西田基宏（2022.9.9）超硫黄分子による心臓の頑健性制御。第 33 回日本微量元素学会（淡路島）
36. 加藤百合，島内司，冨田拓郎，酒田康介，西山和宏，西村明幸，岩本隆宏，森泰生，西田基宏（2022.10.1）TRPC6 チャネル阻害は末梢循環障害を改善する。第 75 回日本薬理学会西南部会（高知）
37. 有吉航平，加藤百合，小谷さゆみ，島内司，川西英治，王子田彰夫，西山和宏，西村明幸，西田基宏（2022.10.1）高血圧治療薬シルニジピンを軸にした糖尿病における適応拡大の研究。第 75 回 薬理学会西南部会（高知）
38. 古本裕香，小田紗矢香，西山和宏，大久保礼真，湯肖康，加藤百合，西村明幸，西田基宏（2022.10.1）心筋 TRPC6 チャネル依存的 Zn2+流入はβ受容体を介して心臓に有益な陽性変力作用を示す。第 75 回薬理学会西南部会（高知）
39. 西田基宏（2022.10.7）心筋 TRPC チャネルの生理機能に着目した創薬研究。第 4 回 Metabolic Cardiac Liaison Conference（東京）
40. Xiaokang Tang, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida（2022.10.14）GSSG rescues Drp1 mediated mitochondrial hyperfission and cardiac vulnerability by electrophilic glutathionylation at Cys624. 生理学研究会 比較統合生理学的観点からの循環生理の解析（信州）
41. Kakeru Shimoda, Akiyuki Nishimura, Tomoaki Ida, Shota Sasaki, Tomohiro Tanaka, Toshiro Kaneko, Takaaki Akaike, Motohiro Nishida（2022.10.29）Cold plasma-irradiated cysteine attenuates aberrant sulfide metabolism induced by ischemia. The 12th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide（仙台）
42. Xiaokang Tang, Akiyuki Nishimura, Kazuhiro Nishiyama, Yuri Kato, Elena A Vasileva, Natalia P. Mishchenko, Sergey A. Fedoreyev, Valentin A. Stonik, Hyoung, Kyu Kim, Jin Han, and Motohiro Nishida（2022.10.30）Echinochrome prevents sulfide catabolism-associated chronic heart failure after myocardial infarction in mice. The 12th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide（仙台）
43. Kazuhiro Nishiyama, Akiyuki Nishimura, Kakeru Shimoda, Yuri Kato, Yoshito Kumagai, Takaaki Akaike, Philip Eaton, Koji Uchida, Motohiro Nishida（2022.11.1）Redox-dependent alternative internalization (REDAI) of GPCRs. The 12th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide（仙台）
44. Akiyuki Nishimura, Kakeru Shimoda, Xiaokang Tang, Kazuhiro Nishiyama, Yuri Kato, Yuko Ibuki, Takaaki Akaike, Yoshito Kumagai, Motohiro Nishida（2022.11.1）Environmental stress-induced aberrant mitochondrial fission underlies cardiac vulnerability to mechanical load through Drp1 depolysulfidation . 4th International Conference on Persulfide and Sulfur Metabolism in Biology and Medicine（仙台）
45. 下田翔，西村明幸，西山和宏，加藤百合，守田匡伸，赤池孝章，西田基宏（2022.11.7）超硫黄分子生成酵

素 CARS2 の心筋虚血耐性における役割。レドックス R&D 戦略委員会第 2 回若手シンポジウム（WEB 開催）

46. Xiaokang Tang, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida（2022.11.7）GSSG rescues Drp1 mediated mitochondrial hyperfission and cardiac vulnerability by electrophilic glutathionylation at Cys624. レドックス R&D 戦略委員会 第 2 回若手シンポジウム（WEB 開催）
47. 西田基宏（2022.11.10）超硫黄分子による心臓の虚血ストレス抵抗性制御。第 95 回日本生化学会大会（名古屋）
48. 下田翔（2022.11.30）Therapeutic strategy for heart failure based on dynamics of reactive sulfur species. 第 96 回日本薬理学会年会（横浜）
49. 西田基宏, 西村明幸, 加藤百合, 西山和宏（2022.12.2）Drug Repurposing を活用した循環器疾患治療薬の探究。第 96 回日本薬理学会年会／第 43 回日本臨床薬理学会学術総会（横浜）
50. 西村明幸，湯肖康，下田翔，加藤百合，西山和宏，西田基宏（2022.12.2）硫黄代謝によるミトコンドリア品質制御を介した心筋頑健性機構の解析。第 96 回日本薬理学会年会（横浜）

生殖・内分泌系発達機構研究部門

1. 菊地 晶裕, 郷 康広, 近藤邦生, 箕越靖彦, (2022.2.11) 視床下部室傍核 CRH ニューロンのシングル核 RNA 解析. 第 25 回アディポサイエンス・シンポジウム, （千里ライフサイエンスセンター, 大坂）
2. Rattanajearakul N, Nakajima K, Yasuhiko M, (2022.2.17) Role of NPY-CRH neural axis in the PVH in carbohydrate selection in mice. The 11th NIPS-PRI-BRINU Joint Symposium, (Online)
3. Kunio Kondoh, (2022.2.17) Development of new transsynaptic viral tracers. 第 11 回 生理研—霊長研—新潟脳研 合同シンポジウム, （オンライン）
4. Rattanajearakul N, Nakajima K, Yasuhiko M, (2022.2.19) Role of NPY-CRH neural axis in the PVH in carbohydrate selection in mice. The 3rd CIBoG Retreat (The 14th NAGOYA Global Retreat), (Online)
5. 中島健一朗, (2022.3.16) Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification. 日本農芸化学大会 2022 年度シンポジウム, (Zoom online)
6. 田中まゆひ, Nawarat R, 箕越靖彦, 朝倉富子, 中島健一朗, (2022.3.16) 精神的ストレスに伴う甘味嗜好性の調節メカニズムの解析. 日本農芸化学会 2023 年度大会, (Zoom online)
7. 箕越靖彦, (2022.3.19-20) 視床下部によるエネルギー代謝調節機構. 第 8 回 Medical Frontier Consortium beyond the Organcentric Dogma（Beyond 研究会）, （東京）
8. 箕越靖彦, (2022.3.23) 視床下部によるエネルギー代謝調節機構. 自然科学研究機構「ネットワーク型研究加事業国ネットワーク」生理研プロジェクト「機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと, それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成」最終成果報告会, (岡崎, 愛知)
9. 岡本士毅, 箕越靖彦, 益崎裕章, (2022.3.26-27) 肥満症と精神疾患に共通する病態メカニズム. 第 42 回日本肥満学会・第 39 回日本肥満症治療学会学術集会, (パシフィコ横浜会議センター, 横浜, 神奈川)
10. 菊地晶裕, 郷　康広, 近藤邦生, 箕越靖彦, (2022.3.26-27) CRH ニューロンのシングル核解析により明らかとなった新規クラスターの発見. 第 42 回日本肥満学会・第 39 回日本肥満症治療学会学術集会, (パシフィコ横浜会議センター, 横浜, 神奈川)
11. 近藤邦生, Misbah Rashid, 箕越靖彦, (2022.3.26-27) 食餌性肥満における視床下部腹内側核の脂肪組織炎症制御. 第 42 回日本肥満学会・第 39 回日本肥満症治療学会学術集会, （オンライン）
12. 近藤邦生, (2022.5.21) 視床下部による脂質代謝制御. 第 6 回 愛知糖尿病・内分泌研究会,（名古屋）
13. 箕越靖彦, (2022.6.2-4) 視床下部↓交感神経系による代謝調節機構. 第 95 回日本内分泌学会総会 YEC シンポジウム, (別府国際コンベンションセンター, 別府, 大分)
14. Kunio Kondoh, Ken-ichi Inoue, Yasuhiko Minokoshi, (2022.7.3) Development of new trans-synaptic viral tracers with low cytotoxicity. Neuro2022,（沖縄）
15. 小林海斗，森下雅大，三塚萌里，恒岡洋右，堀尾修平，加藤）樹，小林和人，塚原伸治, (2022.9.8-10) マ

ウスの内側視索前野における性差を構築するカルビンディンニューロンの形態学的特徴と生理機能. 第 93 回日本動物学会,（東京）

16. 近藤邦生, 箕越靖彦, (2022.10.1) 脂肪利用の概日リズムを制御する視床下部神経細胞. 食欲・食嗜好を形成する感覚・内分泌・神経基盤研究会 2022,（オンライン）
17. Nawarat R, Nakajima K, Minokoshi Y, (2022.10.29) Regulation of glucoprivation-induced carbohydrate selection by NPY-CRH neural axis in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. 第 48 回日本神経内分泌学会,（下野, 栃木）
18. 菊地晶裕, 郷　康広, 近藤邦生, 箕越靖彦, (2022.10.29-30) 視床下部室傍核 CRH ニューロンのシングル核 RNA-seq 解析. 第 48 回日本神経内分泌学会学術集会,（自治医科大学, 下野, 栃木）
19. 箕越靖彦, (2022.10.29-30) 視床下部は炭水化物・脂肪代謝をどのように調節しているか？ 特別講演. 第 48 回日本神経内分泌学会学術集会,（自治医科大学, 下野, 栃木）
20. Kunio Kondoh, (2022.11.1) Trans-synaptic protein expression in the nervous system using trans-synaptic viral vectors. 19th International Conference on Retinal Proteins,（札幌）
21. 近藤邦生, 箕越靖彦, (2022.11.26) 脂肪利用の概日リズムを制御する視床下部神経細胞. 生理学研究所研究会 臓器連関による生体恒常性維持機構と生体活動の統合的理解,（オンライン）
22. 箕越靖彦, (2022.12.2-3) 食欲制御機構アップデート-炭水化物と脂肪の摂取調節機構 教育講演. 第 43 回日本肥満学会・第 40 回日本肥満症治療学会学術集会,（那覇文化芸術劇場, 那覇, 沖縄）
23. Yasuhiko Minokoshi, (2022.12.6-11) Homeostatic versus hedonic control of carbohydrate selection - from studies of AMPK in the hypothalamus. 22ND IUNS-ICN International Congress of Nutrition in TOKYO Sepecial lecture invited, (Tokyo International Forum, Chiyoda-ku, Tokyo)
24. Rattanajearakul N, Nakajima K, Yasuhiko M, (2022.12.6-11) Regulation of glucoprivation-induced carbohydrate selection by NPY-CRH neural axis in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition, (Online)
25. Nakajima K, (2022.12.8) Neuronal mechanism of state-dependent modulation of taste preference. 22nd IUNS-International Congress of Nutrition, (Tokyo, Japan

分子神経免疫研究部門

1. 村上正晃（2022.2.13）ゲートウェイ反射による組織特異的な炎症性疾患の誘導機構. 第 8 回京都大学ー稲盛財団合同京都賞シンポジウム（Web 開催）
2. 村上正晃（2022.3.1）量子と神経の力で炎症の誘導機構を理解して直す！ 夢ナビ講演（動画配信）
3. 大木出, 田中勇希, 北條慎太郎, 村上正晃（2022.5.10）健康長寿社会を目指して量子技術と神経の力で「病気の芽=微小炎症」を制御する. 革新的医療技術研究開発推進事業ワークショップ（東京都）
4. 長谷部理絵, 村上薫, 北條慎太郎, 田中勇希, 村上正晃（2022.5.26）遠隔炎症ゲートウェイ反射：局所の炎症反応で生じる ATP は感覚神経-脊髄介在神経回路を活性化し，遠隔部位での炎症を誘導する. 量子生命科学会第 4 回大会（Web 開催・神戸市）
5. 村上正晃（2022.5.27）量子技術と神経回路で病気の芽を診て摘む:ムーンショット微小炎症制御プロジェクト. 量子生命科学会第 4 回大会（Web 開催・神戸市）
6. 田中勇希, 大木出, 村上正晃（2022.6.7）量子技術と神経回路の人為的な制御による健康長寿社会実現への挑戦. 第 19 回 量子生命・医学「部門セミナー」（Web 開催）
7. 村上正晃（2022.6.15）量子と神経の力で病気の芽を摘む: ムーンショット微小炎症制御プロジェクトとは. 第 37 回日本生体磁気学会（Web 開催・札幌市）
8. 田中勇希, 大木出, 村上正晃（2022.6.22）ムーンショット研究：微小炎症制御プロジェクトとは？＜量子技術と神経回路の人為的な制御による健康長寿社会実現への挑戦＞. 日本科学振興協会キックオフミーティング（Web 開催・東京都）
9. 山﨑剛士, 阿部靖矢, 田中勇希, 長谷部理絵, 久保

田晋平, 橋本茂, 北條慎太郎, 上村大輔, 村上 正晃（2022.6.29）ストレス依存性の内側前頭前野でのミクログリア内 IL-12/23 経路は神経ループスに関連する. 第 7 回日本骨免疫学会（名護市）

10. 村上正晃（2022.6.30）ゲートウェイ反射による組織特異的炎症性疾患の制御機構. 第 7 回日本骨免疫学会（Web 開催・名護市）
11. 長谷部理絵, 村上薫, 北條慎太郎, 田中勇希, 村上正晃（2022.7.1）遠隔炎症ゲートウェイ反射：感覚神経－介在神経回路と ATP による遠隔部位での炎症誘導. 第 7 回日本骨免疫学会（名護市）
12. 村上正晃（2022.7.2）認知症の診断，治療を量子と神経から切り開く. 北海道大学認知症研究共同プロジェクト拠点スタートアップ講演会（札幌市）
13. 村上正晃（2022.7.7）ゲートウェイ反射による組織特異的炎症性疾患の誘導機構. 第 43 回日本炎症・再生医学会（Web 開催・淡路市）
14. 北條慎太郎, 下山修平, 田中勇希, 渥美達也, 上村大輔, 村上正晃（2022.7.9）自己免疫疾患関連遺伝子 C8orf13 による病態誘導機構. 第 59 回日本生化学会北海道支部例会 日本生化学会北海道支部・日本生物物理学会北海道支部 合同シンポジウム（札幌市）
15. 田中勇希，北條慎太郎，村上正晃（2022.7.21）COVID-19 サイトカインストームモデルの確立とその病態解析. 公益財団法人 喫煙科学研究財団 第 36 回 令和 3 年度助成研究発表会（Web 開催）
16. 村上正晃（2022.8.12）ゲートウェイ反射による炎症性疾患の制御. リエゾンラボ炎症シンポジウム（札幌市）
17. 村上正晃（2022.9.10）ゲートウェイ反射による炎症病態の制御. 第 12 回 名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（Web 開催）
18. Takeshi Yamasaki, Noriyuki Nagata, Toru Atsumi, Rie Hasebe, Yuki Tanaka, Yong Bin Teoh, Nozomu Yokoyama, Noboru Sasaki, Kensuke Nakamura, Hiroshi Ohta, Yoshihiro Matsuno, Shimpei Kubota, Shintaro Hojyo, Mitsuyoshi Takiguchi, Masaaki Murakami (2022.9.10) Local MMP9-plasminogen axis is involved in the development of inflammation in intestine of dogs and patients. 第 12 回 名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（Web 開催）
19. 久保田晋平, 長谷部理絵, 村上薫, 田中勇希, 村上正晃（2022.9.17）ゲートウェイ反射による組織特異的な炎症性疾患の誘導機構. 第 102 回北海道医学大会病理分科会・第 55 回北海道病理談話会（札幌市）
20. 村上正晃（2022.9.22）神経-免疫機能連関における IL-6 アンプとゲートウェイ反射の役割. 中外製薬講演～IL-6 ベーシックセミナー（Web 開催）
21. 村上正晃（2022.10.8）寝たきりの真犯人「炎症」を極める～炎症性サイトカインと免疫細胞の新知識～. 日本離床学会（Web 開催）
22. 堀田記世彦, 岩原直也, 高田祐輔, 樋口はるか, 辻隆裕, Ivy Rosales, 村上正晃, Robert Colvin, 篠原信雄（2022.10.13）腎移植患者における慢性抗体関連型拒絶反応の早期診断法の開発の取り組み. 第 58 回日本移植学会総会（名古屋市）
23. 久保田晋平, 村上正晃（2022.11.21）光シート顕微鏡を用いた三次元病理学解析. 光シート顕微鏡ワークショップ（札幌市）
24. Takeshi Kurosu, Daisuke Okuzaki, Masaaki Murakami（2022.12.7）Interleukin-17A released from intestinal gdT cells induces cytokine storm in mice with severe dengue. 第 51 回日本免疫学会学術集会（熊本市）
25. 村上正晃（2022.12.7）脳神経代謝と免疫 神経回路と免疫系の新たなクロストーク学の創成にむけてゲートウェイ反射による組織特異的炎症誘導機構. 第 51 回日本免疫学会学術集会（熊本市）
26. Yuki Tanaka, Nobuya Abe, Masato Tarumi, Rie Hasebe, Tatsuya Atsumi, Masaaki Murakami (2022.12.8) Pathogenic neuropsychiatric effect of stress-induced microglial interleukin 12/23 axis in SLE. 第 51 回日本免疫学会学術集会（熊本市）
27. Shintaro Hojyo, Shuhei Shimoyama, Yuki Tanaka, Tatsuya Atsumi, Daisuke Kamimura, Masaaki Murakami (2022.12.8) Mechanisms of pathogenesis induced by autoimmune disease-associated gene C8orf13. 第 51 回日本免疫学会学術集会（熊本市）
28. Takeshi Yamasaki, Noriyuki Nagata, Toru Atsumi, Rie Hasebe, Yuki Tanaka, Yong Bin Teoh, Hiroshi Ohta, Yoshihiro Matsuno, Shimpei Kubota, Shintaro Hojyo, Mitsuyoshi Takiguchi, Masaaki Murakami (2022.12.8) Local MMP9-plasminogen axis is involved in the development of inflammation in intestine of dogs and patients. 第 51 回日本免疫学会学術集会（熊本市）

超微形態研究部門

1. 山崎　礼二，長内　康幸，幸喜　富，篠原　良章，大野　伸彦（2022.2.12）　中枢および末梢脱髄モデルマウスにおける脱髄病変の肉眼的観察法，第６回日本ミエリン研究会，オンライン開催
2. 大野伸彦（2022.3.1）SBF-SEM による 3 次元微細構造解析の実績と展望. ABiS シンポジウム，オンライン開催
3. 山崎礼二，長内康幸，幸喜　富，篠原良章，大野伸彦（2022.3.26-29）Novel detection method of demyelinated lesions in mouse PNS with neutral red dye.第 127 回日本解剖学会総会・全国学術集会, (オンライン開催)
4. 大野伸彦（2022.5.11-13）ボリューム電子顕微鏡による生体の 3 次元微細構造の探求. 日本顕微鏡学会第 78 回学術講演，福島(ハイブリッド開催)
5. 山崎礼二，長内康幸，幸喜富，篠原良章，大野伸彦（2022.6.30-7.3）内包脱髄モデルマウスによる再髄鞘化促進薬の新たな評価法. 第 65 回日本神経化学会,第 45 回日本神経科学会,第 32 回日本神経回路学会合同大会，沖縄（ハイブリット開催）
6. 大野伸彦（2022.10.22-23）髄鞘の構造制御と髄鞘疾患の病態の理解を目指した組織細胞化学の応用. 第 63 回日本組織細胞化学会 総会・学術集会，東京.
7. 大野伸彦（2022.11.5-6）電子顕微鏡のルネッサンス：細胞検査士，細胞診指導医が知っておくべき電顕の現況. 第 61 回日本臨床細胞学会秋期大会,宮城

生体恒常性発達研究部門

1. 竹田育子（2022.1.17-1.18）Modulating astrocyte activity reverse allodynia in chronic pain. 第11回生理研－霊長研－新潟脳研シンポジウム,（オンライン）
2. 揚妻正和（2022.1.19）光と機械学習で紐解く恐怖記憶コード神経回路の動的生成過程と情報処理. CREST オプトバイオ第 7 回領域会議,（淡路島（オンライン））
3. 鍋倉淳一（2022.3.16）グリア細胞による大脳皮質神経回路再編. 第 99 回日本生理学会大会,（仙台市）
4. 竹田育子（2022.3.16-3.18） Modulating astrocyte activation reorganizes noxious circuits in chronic pain. 第 99 回生理学会,（仙台市）
5. 堀内　浩，揚妻正和，石田順子，Dennis Cheung，澤田和明，鍋倉淳一（2022.3.17） CMOS イオンイメージセンサによって捉える生体脳の pH ダイナミクス. 第 99 回日本生理学会,（オンライン）
6. Narushima M, Nabekura J（2022.3.17）Development and experience-dependent modulation of defensive behaviors to visual threat in mice. 第 99 回生理学会,（仙台市）
7. 鍋倉淳一（2022.3.23）神経回路再編とグリア細胞. 自然科学研究機構「ネットワーク型研究加速事業（国際ネットワーク）」生理研プロジェクト「機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと，それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成」最終成果報告会,（オンライン）
8. 鍋倉淳一（2022.5.18） Long term-remodeling of neuronal circuits in vivo: neuron-glia interaction.「HIGO 最先端研究セミナー（リエゾンラボ研究会）」,（熊本市）
9. 揚妻正和（2022.05.24） 恐怖記憶を支える神経回路の動的生成過程と情報処理. 第 9 回　蛍光イメージング・ミニシンポジウム,（北海道（オンライン））
10. Agetsuma M（2022.05.31）Activity-dependent organization of prefrontal hub-networks for associative learning and signal transformation. Neurobiology Seminar at the Technische Hochschule Kaiserslautern, (Germany (online))
11. 揚妻正和（2022.6.2）恐怖記憶を支える神経回路の動的生成過程と情報処理. 玉川大学脳科学研究所特別講演会,（町田市）
12. 鍋倉淳一（2022.6.10）大脳皮質神経回路再編：ニューロンーグリア連関. 浜松医科大学大学院特別講義,（浜松市）
13. 堀内　浩，石田順子，鍋倉淳一（2022.6.20）脳内免疫細胞における活動情報の時空間解析. 日本科学振興協会　第 1 回総会・キックオフミーティング,（オンライン）
14. 揚妻正和（2022.6.24）光と AI 技術で紐解く「こころ」の制御基盤. 第３回細胞構成研究会,（京都市）
15. Agetsuma M（2022.06.30） Functional rewiring of

prefrontal cortical networks　by associative learning ~ dissected by optical and computational methods ~. Neuro2022,（宜野湾市）

16. Horiuchi H, Ishida J, Nabekura J（2022.7.1）Spatiotemporal divergence of microglial Ca^{2+} activity . Neuro2022,（宜野湾市）
17. Narushima M, Agetsuma M., Nabekura J（2022.7.2）Development and the critical period for the experience-dependent modulation of the defensive behaviors of mice to visual threats. Neuro2022,（宜野湾市）
18. 鍋倉淳一（2022.7.26） 病態における神経回路の再編成：グリアーニューロン連関. 第 19 回鹿児島ニューロフォーラム,（鹿児島市）
19. 揚妻正和（2022.7.30）光と機械学習による　情動記憶を支える神経回路の動的生成過程と情報処理〜嫉妬の科学にむけた独自基盤〜. 嫉妬の科学　第一回領域会議,（豊中市）
20. 鍋倉淳一（2022.8.12）グリアによる神経回路再編と脳内環境センシング. リエゾンラボ炎症シンポジウム,（札幌市）
21. 揚妻正和, 佐藤一誠, 田中康裕, Luis Carrillo-Reid, 笠井　淳司,　新井由之, 吉友美樹, 稲垣貴士, 橋本均, 鍋倉 淳一, 永井 健治（2022.09.3-09.04）光と機械学習で紐解く, 恐怖記憶コード神経回路の動的生成過程と情報処理. 第 31 回バイオイメージング学会学術集会,（吹田市）
22. 鍋倉淳一（2022.9.27）脳を覗く： にぎやかな細胞たち. 中部大学創発学術院　第 29 回創発セミナー,（春日井市）
23. 堀内　浩（2022.10.1）浸透圧変化に対するミクログリアの応答メカニズム. 第 4 回グリアデコーディング領域会議,（京都市）

視覚情報処理研究部門

1. 米田泰輔, 林　健二, 吉村由美子（2022.9.10）生後マウス一次視覚野に残るサブプレートニューロンの経験依存的な可塑性. 第 12 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（WEB 開催）
2. 吉村由美子（2022.8.12）一次視覚野神経活動の環境に依存した動的変化. リエゾンラボ炎症シンポジウム（札幌）
3. 山本真理子, 岩里琢治, 吉村由美子（2022.7.2）マウス一次視覚野における fast-spiking 抑制性細胞－錐体細胞間結合の発達. 第 45 回日本神経科学大会（沖縄）
4. 吉村由美子（2022.6.30）マウス視覚野サブプレートニューロンの視覚反応選択性.　第 45 回日本神経科学大会（沖縄）
5. 米田泰輔, 林　健二, 吉村由美子（2022.6.30）発達期マウス一次視覚野 6b 層における視覚応答選択性. 第 45 回日本神経科学大会（沖縄）

バイオフォトニクス研究部門

1. 大友康平, 根本知己（2022.1.14）生体深部ナノイメージングを目指した二光子顕微鏡法の超解像化. レーザー学会学術講演会第 42 回年次大会（オンライン）
2. 石井宏和, 大友康平, 根本知己（2022.1.12）二光子顕微鏡法の高時空間分解能化と生体イメージング応用. レーザー学会学術講演会第 42 回年次大会（オンライン）
3. 石井宏和, 大友康平, 根本知己（2022.2.1）Advanced two-photon microscopy for super-resolution deep-tissue imaging. 第 4 回 ExCELLS 若手リトリート（オンライン）
4. Nakata K, Otomo K, Ishii H, Tsutsumi M, Enoki R, Nemoto T（2022.2.1）Visualization of calcium elevations and glutamate release under Aβ oligomers exposure in primary cultured astrocytes with spatiotemporal resolution. 第 4 回 ExCELLS 若手リトリート（オンライン）
5. 廣蒼太, 榎木亮介, 根本知己（2022.2.1）Long-term fluorescence imaging of organelle Ca^{2+} rhythms in the central circadian clock. 第 4 回 ExCELLS 若手リトリート（オンライン）
6. Lee ML, Chang CP, Nemoto T, Enoki R（2022.2.4）*In vivo* calcium imaging reveals dynamic neuronal glucose-sensing regulated by body energy status. 第４回冬眠休眠研究会（オンライン）

7. 高橋泰伽, 張宏, 川上良介, 鎗野目健二, 揚妻正和, 鍋倉淳一, 大友康平, 岡村陽介, 根本知己（2022.3.15）高分子超薄膜を用いたマウス脳深部の広視野 *in vivo* 二光子イメージング. 2021 年度日本分光学会生細胞分光部会研究会（オンライン）
8. 榎木亮介, 金尚宏, 山口良文, 根本知己（2022.3.16）概日リズム中枢における低温耐性カルシウムリズム. 第 99 回日本生理学会大会（仙台/ハイブリッド）
9. 安宅光倫, 大友康平, 榎木亮介, 根本知己（2022.3.18）多点走査型 2 光子顕微鏡を用いた生体脳ボリューム Ca^{2+}イメージング. 第 99 回日本生理学会大会（仙台/ハイブリッド）
10. 廣　蒼太, 根本知己, 榎木亮介（2022.3.18Optical recording of mitochondrial Ca^{2+} dynamics in the central circadian clock. 第 99 回日本生理学会大会（仙台/ハイブリッド）
11. 中田開人, 大友康平, 石井宏和, 堤元佐, 榎木亮介, 根本知己（2022.3.17）Optical recording of mitochondrial Ca^{2+} dynamics in the central circadian clock. 第 99 回日本生理学会大会（仙台/ハイブリッド）
12. Chang CP, Otomo K, Kozawa Y, Ishii H, Yamasaki M, Watanabe M, Sato S, Enoki R, Nemoto T（2022.3.18）An easy-to-use light-needle creating device for single scan volumetric imaging in thick tissue specimens. 第 99 回日本生理学会大会（仙台/ハイブリッド）
13. Lee ML,　Chang CP, Nemoto T, Enoki R（2022.3.16）*In vivo* calcium imaging reveals neuronal glucose-sensing regulated by body energy status. 第 99 回日本生理学会大会　（仙台/ハイブリッド）
14. 根本知己（2022.6.2）二光子顕微鏡によるライブイメージングの高度化・超解像化. 第 121 回日本皮膚科学大会（京都）
15. 根本知己（2022.7.23）二光子励起顕微鏡によるバイオイメージングの高度化・超解像化. 日本光学会 X 線・EUV 結像光学研究 Gr 第一回研究会（オンライン）
16. 榎木亮介（2022.8.10）時を刻む脳 ~概日時計の光イメージング解析~. 北海道大学低温科学研究所公開セミナー（札幌）
17. Ishii H（2022.9.1）Improvement of two-photon microscopy toward realizing *in vivo* nano-imaging. The 5th ExCELLS Retreat for Young Scientists（オンライン）
18. 廣蒼太, 根本知己, 榎木亮介（2022.9.1）Optical imaging of organellar circadian Ca^{2+} rhythm in the suprachiasmatic nucleus. 第 5 回 ExCLLS Retreat for Young Scientists（オンライン）
19. Tsutsumi M（2022.9.1）*In vivo* super-resolution two-photon microscopy based on spatiotemporal correlation analysis. 5th ExCELLS retreat for young researchers（オンライン）
20. 石井宏和, 大友康平, 根本知己（2022.9.10）二光子顕微鏡の超解像化による生体深部「ナノ」イメージングへの展開. 第 12 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン）
21. 石井宏和, 大友康平, 根本知己（2022.9.15）生体深部「ナノ」イメージングに向けた二光子顕微鏡法の超解像化. 2022 年度 生理学研究所研究会 「細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線」（岡崎）
22. 上原日和, 安原亮, シーチュエン, 村上政直, 小西大介, 大友康平, 渡我部ゆき, 石井宏和, 堤元佐, 根本知己（2022.9.21）中赤外 Er:YAP レーザーを用いた樹脂フィルムおよび生体試料の切断加工」第 83 回応用物理学会秋季学術講演会.（仙台/オンライン）
23. 榎木亮介, 金尚宏, 山口良文, 根本知己（2022.9.30）低温環境下における概日時計中枢のリズム発振機構. 温熱研究会 2022（オンライン）
24. 堤元佐（2022.10.7）"接着"を見る, 視る, 観る -蛍光顕微鏡技術の最前線-. 日本接着学会東北・北海道地区合同セミナー（仙台）
25. 榎木亮介（2022.11.3） 時を刻む脳 ~生命が時を刻む仕組み~. 生命の海科学館（蒲郡）（オンライン）
26. Nemoto T（2022.11.10）. *In vivo* observation of brain and nerve cells using two-photon microscopy with novel techniques. 13th International Conference on Organic Nonlinear Optics（奈良）
27. 大友康平, 根本知己（2022.11.22）多光子顕微鏡法の高度化～北大電子研での研究とその後. 北海道大学ニコンイメージングセンター学術講演会
28. 榎木亮介, 金尚宏, 山口良文, 根本知己（2022.11.11）極低温環境下における概日リズム発振機構. 第 2 回生理研研究会「極限環境適応」（岡崎）
29. 廣蒼太, 根本知己, 榎木亮介（2022.11.30）概日時計中枢における核-ミトコンドリア-細胞質の Ca^{2+} リ

ズムの光イメージング解析/Optical imaging of nuclear-mitochondrial-cytoplasmic circadian Ca^{2+} rhythm in the master circadian clock. 第 45 回日本分子生物学会年会（千葉）

30. 榎木亮介, 金尚宏, 清水貴美子, 小林憲太, 山口良文, 根本知己（2022.12.3）視交叉上核の神経細胞における細胞内カルシウムおよび時計遺伝子転写のリズムは低温により停止しリセットする. 第 29 回時間生物学会学術大会（栃木）
31. 廣蒼太, 根本知己, 榎木亮介（2022.12.3）概日時計中枢における核-ミトコンドリア-細胞質の Ca^{2+}リズムの光イメージング解析. 第 29 回時間生物学会学術大会（栃木）
32. Nemoto T, Otomo K, Ishii H, Takahashi T, Tsutsumi M, Yamaguchi K（2022.12.6）Visualization of cellular functions in the central nervous system using two-photon microscopy advanced by novel technologies. The 15th International Symposium of Nanomedicine（ISNM2022）（徳島）
33. Takahashi T, Hong Zhang, Otomo K, Agetsuma M, Nabekura J, Okamura Y, Nemoto T（2022.12.6）*In vivo* wide-field imaging of the mouse brain through novel cranial window utilizing PEO-CYTOP nanosheet. The 15th International Symposium on Nanomedicine（ISNM2022）（徳島）
34. Nakata K, Otomo K, Ishii H, Tsutsumi M, Enoki R, Nemoto T（2022.12.7）Amyloid-β dimers enhance localized fast calcium elevations. The 15th International Symposium of Nanomedicine（ISNM2022）（徳島）
35. Nakata K, Otomo K, Ishii H, Tsutsumi M, Ryosuke Enoki, Nemoto T (2022.12.12) Fast two-photon imaging of Ca^{2+} response to amyloid-β dimers exposure in mouse primary cultured astrocytes. 第 5 回 ExCELLS シンポジウム（岡崎）
36. 廣蒼太, 根本知己, 榎木亮介（2022.12.12）Optical analysis of organelle circadian Ca^{2+} rhythms in the master clock neurons. 第 5 回 ExCELLS シンポジウム（岡崎）
37. 榎木亮介, 金尚宏, 山口良文（2022.12.27）極低温環境下における概日リズム発振機構. BIOTHERMOLOGY WORKSHOP 2022 &温度生物学若手の会合同シンポジウム（静岡）

多細胞回路動態研究部門

1. 竹田育子（2022・1・17）Modulating astrocyte activity reverse allodynia in chronic pain. 第 11 回生理研一霊長研一新潟脳研シンポジウム（オンライン）
2. 和氣弘明（2022・3・7）ミクログリアがコードする情報の読み出しへの挑戦。第 95 回日本薬理学会（オンライン）
3. 渋下碧（2022・3・17）Elucidating the pathological mechanism of ASD from sensory abnormalities through the visualization of S1 neuronal activity. 第 99 回日本生理学会（オンライン）
4. 竹田育子（2022・3・17）Modulating astrocytes activation reorganizes noxious circuits in chronic pain. 第 99 回日本生理学会（オンライン）
5. 和氣弘明（2022・3・27）脳-臓器動態を観る。第 127 回日本解剖学会総会・全国各術集会（オンライン）
6. 杉尾　翔太（2022・3・27）Oligodendrocytes sense the changes in neural activity and synchronize the action potential propagation. 第 127 回日本解剖学会総会・全国各術集会（オンライン）
7. 和氣弘明（2022・4・26）多細胞回路動態の計測と操作. Parkinson's Disease Expert Meeting～新たな治療選択肢を考える～（オンライン）
8. 和氣弘明（2022・5・18）生体イメージングで解き明かすグリア細胞の新規生理機能とその病態への寄与。第 63 回日本神経学会学術大会（東京）
9. 和氣弘明（2022・5・26）量子計測技術の医学応用への展開。第４回量子生命科学会（神戸）
10. 和氣弘明（2022・5・30）多細胞回路動態の計測と操作. Cardiovascular Research Conference（オンライン）
11. 谷隅勇太（2022・6・27）感覚皮質の多様なニューロン活動 Holographic 技術を駆使したマウス間 -知覚情報転送プロジェクト。神戸大学シンポジウム（神戸）
12. 和氣弘明（2022・6・30）グリア細胞により実現する高次脳機能. NEURO2022（沖縄）
13. 竹田育子（2022・7・1）The alteration of astrocytes in

cross-modal plasticity．Neuro2022 （沖縄）
14. 進藤麻理子（2022・7・1）SLE-induced CNS inflammation causes anxiety-like behavior．Neuro2022 （沖縄）
15. 渋下碧（2022・7・1）Elucidating the neural circuit basis of sensory abnormalities in ASD．Neuro2022 （沖縄）
16. 和氣弘明（2022・7・6）光による神経・グリア生理活動の叙述と制御。第 43 回日本炎症・再生医学会（淡路）
17. 和氣弘明（2022・7・20）光で階層的に神経・グリア回路活動を叙述し，制御する研究を目指して。北海道大学神経内科オンライン講演（オンライン）
18. 和氣弘明（2022・7・22）グリア細胞の生理機能と病態への関与。第 16 回日本パーキンソン病・運動障害疾患コレグレス（浜松）
19. 竹田育子（2022・8・3）ミクログリアによる異種感覚の可塑性。学術変革 A iPlasticity 夏の領域会議（東京）
20. 和氣弘明（2022・8・26）Microglia and sensory modality. 2022Glia and Neuroimmune Symposium（浜松）
21. 和氣弘明（2022・8・29）Microglia and sensory modality. ISN-APSN2022Biennial Meeting（ハワイ）
22. 杉尾翔太（2022・9・10）オリゴデンドロサイトによる活動電位の電動同期化機構の存在と運動学習への関与。第 12 回 名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（名古屋）
23. 竹田育子（2022・9・30）アストロサイトが関与する高次視覚野感覚統合機序。学術変革 A 第 4 回グリアデコ領域会議（京都）
24. 杉尾翔太（2022・9・30）オリゴデンドロサイトは活動電位の伝導を制御し運動学習の成立に関与する。学術変革 A 第 4 回グリアデコ領域会議（京都）
25. 加藤大輔（2022・9・30）2 光子ホログラフィック顕微鏡による多細胞の可視化と操作。学術変革 A 第 4 回グリアデコ領域会議（京都）
26. 堀内浩（2022・10・1）浸透圧変化に対するミクログリアの応答メカニズム。学術変革 A 第 4 回グリアデコ領域会議（京都）
27. 和氣弘明（2022・10・13）Toward understanding multicellular circuit dynamics．Heterogeneity of Glia Functions in Development and Disease（ドイツ）
28. 杉尾翔太（2022・10・14）オリゴデンドロサイトは活動電位の伝導を同期化し運動学習の成立に関与する。第 69 回 中部日本生理学会大（愛知）
29. 加藤大輔（2022・10・22）Holographic microscopy and its biological application．Development and Plasticity of the Brain（オンライン）
30. 加藤大輔（2022・10・22）ホログラフィック顕微鏡による脳機能の可視化と操作。日本顕微鏡学会第 65 回シンポジウム（倉敷）
31. 和氣弘明（2022・11・9）Physiological and pathological functions of microglia．第 95 回日本生化学会大会（名古屋）
32. 和氣弘明（2022・11・19）Pharmacological approach to overcome schizophrenia. 精神・神経病態解明センター国際シンポジウム（名古屋）
33. 和氣弘明（2022・11・21）Toward measurement and manipulation of multicellular circuit dynamics．The Australian Physiological Society（オーストラリア）
34. 和氣弘明（2022・11・30）フォールディング異常と脳機能障害の理解。第 45 回分子生物学会（千葉）
35. 和氣弘明（2022・12・7）多細胞計測・操作技術の未来。第 51 回日本免疫学学術集会（熊本）
36. 和氣弘明（2022・12・14）多細胞計測・操作技術の未来。次世代脳シンポジウム（オンライン）
37. 竹田育子（2022・12・17）アストロサイトが誘導する神経回路再編成。次世代脳シンポジウム（オンライン）

認知行動発達機構研究部門

1. Taihei Ninomiya（2022.1.13）Social action monitoring in the macaque mid-STS region. McGill-NIPS Joint Symposium（WEB）
2. 郷康広，渡邊恵，中垣慶子，小賀智文，辰本将司，石川裕恵，臼井千夏，一戸紀孝（2022.2.1）自閉症モデルマーモセット脳におけるシングルセル遺伝子発現解析。第 11 回日本マーモセット研究会（WEB）
3. Saeka Tomatsu（2022.2.17）Inter-individual entrainment in non-human primates movement．第 11 回生理研・霊

長研・新潟脳研合同シンポジウム（WEB）

4. Atsushi Noritake（2022.3.7）Neural mechanisms for social reward valuation and monitoring in the macaque brain. 10th CIN-NIPS Joint Symposium（WEB）
5. 則武厚（2022.3.17）社会的情報の基礎となり得る自己と他者の報酬情報の脳内処理. 「感情のかけ橋」シンポジウム 2022（大阪府）
6. 郷康広，二階堂愛（2022.3.23）適応回路を担う網羅的細胞種センサス技術の開発と高度化。科研費・学術変革領域（A）「適応回路センサス」第 1 回領域会議（WEB）
7. 郷康広（2022.3.25）適応回路を担う網羅的細胞種センサス技術の開発と高度化。科研費・学術変革領域研究 (B)「ハブ決定剛軟因子」シンポジウム (WEB)
8. 二宮太平（2022.4.15）上側頭溝中間部の神経活動解析。第 126 回日本眼科学会総会（大阪府）
9. Masaki Isoda（2022.6.6）Development of the systems neuroscience of self and other using macaques. NIH Neuroscience Seminar Series（WEB）
10. 二宮太平, 則武厚, 磯田昌岐 (2022.7.2.) サル上側頭溝中間部における自己と他者の動作情報表現. 第 45 回日本神経科学大会（沖縄県）
11. 則武厚, 磯田昌岐（2022.7.2.）内側前頭前野の神経細胞は他者の報酬予測誤差信号を処理しているか？　第 45 回日本神経科学大会（沖縄県）
12. 郷康広（2022.8.31）自閉症モデル霊長類における 1 細胞遺伝子発現解析。シングルセルゲノミクス研究会 2022（京都府）
13. 郷康広（2022.9.15）自閉症モデル霊長類における 1 細胞遺伝子発現解析。日本遺伝学会第 94 回大会（北海道）
14. 郷康広, 辰本将司, 石川裕恵, 臼井千夏, 野口京子, 大石高生（2022.9.19）ヒトと類人猿の脳における 1 細胞遺伝子発現解析。第 76 回日本人類学会大会・第 38 回日本霊長類学会大会連合大会（京都府）
15. 郷康広，二階堂愛（2022.10.29）適応回路を担う網羅的細胞種センサス技術の開発と高度化。科研費・学術変革領域（A）「適応回路センサス」第 1 回領域会議（静岡県）
16. Saeka Tomatsu, Masaki Isoda M（2022.11.15）Enhancement of rhythmic motion entrainment by social contexts in the macaque. SfN2022（WEB）
17. Atsushi Noritake, Taihei Ninomiya, Kenta Kobayashi, Masaki Isoda（2022.11.16）A cortico-subcortical circuit plays a causal role in social reward monitoring and valuation. SfN2022（San Diego, USA）
18. 郷康広（2022.12.15）適応回路を担う細胞種センサス技術の開発と高度化。「次世代脳」プロジェクト冬のシンポジウム（WEB）

生体システム研究部門

1. Daisuke Koketsu (2022.1.13) Memory tasks of common marmosets for the functional mapping of prefrontal cortex. MacGrill University-NIPS Joint Symposium（web 開催）
2. Satomi Chiken, Hiromi Sano, Naokazu Goda, Hidenori Watanabe H, Taku Hasegawa, Daisuke Koketsu, Kenta Kobayashi, Satomi Kikuta, Yuko Fukata, Masaki Fukata, Hajime Mushiake, Norihiro Sadato, Masaki Fukunaga, Atsushi Nambu (2022.2.3) Mapping of the macaque brain using optogenetics and fMRI. The 7th CiNet Conference（web 開催）
3. Atsushi Nambu (2022.2.25) What does basal ganglia activity teach us about the pathophysiology of movement disorders?, Swedish Basal Ganglia Society (SWEBAGS) Webinar (web 開催)
4. 南部篤（2022/3/5）大脳基底核はどこまでわかったか？, 京都大学霊長類研究所研究会（犬山）
5. Pimpimon Nondhalee (2022.3.10) Somatotopic reorganization of the sensorimotor cortex in Japanese macaques after accidental arm amputation. CIN-NIPS-Asia Pacific Systems Neuroscience Symposium 2022（web 開催）
6. Hiromi Sano (2022.3.10) Pathophysiological changes of the basal ganglia in Parkinson's disease and drug addiction. CIN-NIPS-Asia Pacific Systems Neuroscience Symposium 2022（web 開催）
7. Yuya Taguchi, Hiromi Sano, Satomi Chiken, Atsushi Nambu (2022.3.16) Abnormal neuronal activity in the

basal ganglia of drug dependence model mice,第 99 回日本生理学会大会（web 開催）

8. Satomi Chiken, Atsushi Nambu（2022.3.17）Impaired information flow through the cortico-basal ganglia pathways is responsible for Parkinson's disease symptoms, 第 99 回日本生理学会大会（web 開催）
9. Hiromi Sano, Atsushi Nambu（2022.3.17）The effects of zonisamide, an anti-parkinsonian drug, on L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease model mice. 第 99 回日本生理学会大会（web 開催）
10. 南部篤（2022.5.18）大脳基底核の神経活動から迫るパーキンソン病の病態. 第 63 回日本神経学会学術大会（東京）
11. 南部篤（2022.6.25）モデル動物を用いてヒトの神経疾患の病態を明らかにする. 革新脳･国際脳合同国内シンポジウム（東京）
12. Pimpimon Nondhalee, Nobuhiko Hatanaka, Atsushi Nambu（2022.7.1）Somatotopic reorganization of the sensorimotor cortex in macaque monkeys after accidental arm amputation, Neuro2022（宜野湾）
13. 畑中伸彦, Zlata Polyakova, 知見聡美, 南部篤（2022.7.1）マカクサルにおける運動の実行と中止に関わる視床下核ニューロンの活動様式. Neuro2022 （宜野湾）
14. 中山義久, 佐野暢哉, 知見聡美, 南部篤, 西村幸男（2022.7.1）上肢到達運動の制御過程に小脳を起点とし筋肉に至る神経経路が関与する. Neuro2022（宜野湾）
15. 吉岡望, 黒瀬雅之, 佐野裕美, 知見聡美, 山村健介, 南部篤, 竹林浩秀（2022.7.1）*dystonia musculorum* マウスの運動異常における感覚運動回路の役割, Neuro2022（宜野湾）
16. 坪井大輔, 大塚岳, 下村拓史, Md.Faruk Omar,山橋幸恵, 天野睦紀, 佐野裕美, 永井　拓, 山田清文, Anastasios V. Tzingounis, 南部篤, 久保義弘, 川口泰雄, 貝淵弘三（2022.7.2）ドーパミンは KCNQ チャネルのリン酸化を介して神経細胞の興奮性を高めることで報酬行動を促進させる. Neuro2022（宜野湾）
17. 野々村聡，リオス アライン，加藤成樹，酒井裕，南部篤，高田昌彦，小林和人，木村實，礒村宜和（2022.7.2）黒質-線条体路ドーパミン伝達による行動関連ニューロン活動の報酬履歴への依存性. Neuro2022（宜野湾）
18. 知見聡美，南部篤 (2022.8.21) パーキンソン病の病態生理－モデルサルの神経活動から考察する。第 36 回日本大脳基底核研究会（滋賀）
19. Satomi Chiken, Atsushi Nambu (2022.8.30) Pathophysiology of Parkinson's disease. 生理学研究所 -CiNet 連携シンポジウム（web 開催）
20. 南部篤（2022.9.10）大脳基底核疾患の病態生理を統一的に理解する. 第 12 回名古屋大学医学系研究科–生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
21. 知見聡美（2022.9.17）光遺伝学による非ヒト霊長類の脳活動制御と機能的 MRI による計測（オプト fMRI）。第 6 回ヒト脳イメージング研究会（東京）
22. 南部篤（2022.11.25）大脳基底核疾患の病態生理の統一的理解に向けて. 第 52 回日本臨床神経生理学会（山口）

神経ダイナミクス研究部門）

1. 北城圭一（2022・1・18）脳波非線形ダイナミクスのデータ解析によるヒトの個性と精神･神経疾患の理解。岡崎市医師会セミナー（岡崎）
2. Makoto Hagihara，Kazumasa Uehara, Keiichi Kitajo（2022・2・17）The role of gamma-band neural synchronization in the integration of visual information between cerebral hemispheres. 第 11 回　生理研-霊長研-新潟脳研 合同シンポジウム（オンライン）
3. 北城圭一（招待講演）（2022・3・17）Unravelling the role of transient synchronization in human brain activity. ヒト脳活動の過渡的な振動同期の機能的意義の解明。第 99 回日本生理学会（仙台市・ハイブリッド）
4. 上原一将，萩原淳，北城圭一（2022・7・1）加齢による脳機能結合柔軟性変化と運動誤差学習能力. Neuro2022（宜野湾市・ハイブリッド）
5. 萩原淳，上原一将，北城圭一（2022・7・1）半球間視覚情報統合の個人差に関するメカニズムの解明. Neuro2022（宜野湾市・ハイブリッド）

6. 後藤優仁，北城圭一（2022・7・2）Echo state network に基づく時系列予測モデルによる暗黙的知覚学習. Neuro2022（宜野湾市・ハイブリッド）
7. 上原一将（2022・8・30）Cortical network flexibility associated with the ability of sensorimotor adaptation in younger and older adults. CiNet・生理学研究所 連携シンポジウム（岡崎）
8. 萩原　淳（2022・11・14）脳活動の計測と活用方法。総研大 2022 年度社会連携事業「未知への挑戦：若手が語る最先端研究」（飯田）
9. 北城圭一（2022・11・25）TMS-EEG 同時計測による脳律動研究。第 52 回日本臨床神経生理学会学術大会（京都）
10. 北城圭一，後藤優仁（2022・11・26）Unsupervised perceptual learning induced by the improvement of neural consistency: A Hebbian-ESN model simulation study. 第 5 回脳情報の解読と制御研究会（鴨川）
11. Makoto Hagihara，Kazumasa Uehara，Keiichi Kitajo，（2022・12・21）A pilot study to investigate individual differences in interhemispheric visual information integration in humans. Life Science Retreat 2022（沼津）

心理生理学研究部門

1. 福永雅喜（2022.1.30）Task fMRI 篇。第 11 回 ABiS 脳画像解析チュートリアル（オンライン開催)
2. 福永雅喜(2022.2.10) MRI の最新技術動向について。第 31 回 ASCOT セミナーつくば応用超電導コンステレーションズ（オンライン開催）
3. 小笠原香苗，小池耕彦，定藤規弘（2022.3.4）高プレッシャー下でのパフォーマンス低下の神経基盤: 7 テスラ MRI を用いた検討。第 9 回顔・身体学領域会議（高松，香川）
4. 小笠原香苗，小池耕彦，福永雅喜，吉岡歩，定藤規弘（2022.3.28）高プレッシャー下でのパフォーマンス低下の神経基盤: 7 テスラ MRI を用いた検討. 2021 年度生理研研究会「スポーツからみる日常と非日常の神経生理学」（オンライン開催）
5. Okada N, Fukunaga M, Miura K, Nemoto K, Matsumoto J, Hashimoto N, Kiyota M, Morita K, Koshiyama D, Ohi K, Takahashi T, Koeda M, Yamamori H, Fujimoto M, Yasuda Y, Hasegawa N, Narita H, Yokoyama S, Mishima R, Kawashima T, Kobayashi Y, Sasabayashi D, Harada K, Yamamoto M, Hirano Y, Itahashi T, Nakataki M, Hashimoto RI, Tha KK, Koike S, Matsubara T, Okada G, van Erp TG, Yoshimura R, Abe O, Onitsuka T, Watanabe Y, Matsuo K, Yamasue H, Okamoto Y, Suzuki M, Turner JA, Thompson PM, Ozaki N, Kasai K, Hashimoto R, COCORO (2022.6.5) ENIGMA CDJ Subcortical. 第 18 回 COCORO 会議(第 18 回脳表現型の分子メカニズム研究会)（オンライン開催）
6. 松本純弥，福永雅喜，三浦健一郎，根本清貴，岡田直大, 橋本直樹, 森田健太郎, 越山太輔, 大井一高, 高橋努，肥田道彦，山森英長，藤本美智子，安田由華，長谷川尚美，伊藤颯姫，成田尚，横山仁史，三嶋亮, 河島孝彦, 小林祐子, 笹林大樹, 原田健一郎, 山本真江里，平野羊嗣，板橋貴史，中瀧理仁，橋本龍一郎, タキンキン, 小池進介, 松原敏郎, 岡田剛, 吉村玲児, 阿部修, 鬼塚俊明, 渡邊嘉之, 松尾幸治, 山末英典，岡本泰昌，鈴木道雄，尾崎紀夫，笠井清登，橋本亮太（2022.6.5）ENIGMA CDJ Cortical: 多施設共同研究による統合失調症・双極性障害・うつ病・自閉スペクトラム症の疾患横断的大脳皮質構造画像解析。第 18 回 COCORO 会議(第 18 回脳表現型の分子メカニズム研究会)（オンライン開催）
7. 山﨑龍一，松本純弥，根本清貴，福永雅喜，橋本直樹，小高文聰，髙野晴成，伊藤颯姫，長谷川尚美，安田由華，藤本美智子，山森英長，渡邉嘉之，三浦健一郎，橋本亮太（2022.6.5）統合失調症らしさの縦断画像解析。第 18 回 COCORO 会議(第 18 回脳表現型の分子メカニズム研究会)（オンライン開催）
8. 根本清貴，福永雅喜，宮田淳，橋本直樹，肥田道彦（2022.6.5）撮像法の異なる rsfMRI 共通 QC 法と特徴量抽出法開発。第 18 回 COCORO 会議(第 18 回脳表現型の分子メカニズム研究会)（オンライン開催）
9. 伊藤颯姫，三浦健一郎，宮山未来乃，松本純弥，福永雅喜，石丸径一郎，藤本美智子，安田由華，渡邉嘉之，橋本亮太（2022.6.5）統合失調症における淡蒼球と陽性症状の関連解析。第 18 回 COCORO 会議

(第 18 回脳表現型の分子メカニズム研究会)（オンライン開催）

10. 宮山未来乃，三浦健一郎，伊藤颯姫，松本純弥，福永雅喜，石丸径一郎，藤本美智子，安田由華，山森英長，渡邉嘉之，橋本亮太（2022.6.5）統合失調症における労働時間と脳構造の関連。第 18 回 COCORO 会議 (第 18 回脳表現型の分子メカニズム研究会)（オンライン開催）
11. Fukunaga M (2022.6.19) Understanding brain structure and function with quantitative MRI: Magnetic susceptibility and brain microstructure at ultra-high field. OHBM 2022 educational course "Quantitative MRI for In Vivo Histology From Six Perspectives"（Scottish Event Campus in Glasgow, Scotland, Online／Hyblid)
12. Yamamoto T, Miura, K, Matsuda K, Matsumoto J, Hashimoto R, Ono S, Sadato N, Fukunaga M (2022. 6.30) Correspondence of functional cortical areas related to smooth pursuit eye movements and heavily myelinated regions. NEURO2022 (Ginowan, Okinawa)
13. 小笠原香苗，小池耕彦，福永雅喜，吉岡歩，定藤規弘（2022.6.30）Neural substrates of choking under pressure - A 7T-MRI study. 第 45 回日本神経科学大会（Neuro2022）（宜野湾，沖縄）
14. Tohyama T, Yamaguchi R, Goda N,　Yamamoto T, Isa K, Sadoto N, Isa T, Fukunaga M (2022.6.30) Changes of non-paretic hand stimulation evoked cortical activity in monkeys after spinal cord injury: a longitudinal fMRI study. Neuro 2022 (Ginowan, Okinawa)
15. Takahara Y, Arai K, Kawata KHDS, Fukunaga M, Ganesh G, Miyawaki Y (2022.6.30) Preliminary study of body representation change in brain by manipulating finger-type device for human augmentation. Neuro 2022 (Ginowan, Okinawa)
16. 福永雅喜（2022.7.15） 7 テスラ MRI で見る脳の構造と機能。国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 精神疾患病態研究部 第4回精神病態セミナー（東京，ハイブリッド開催）
17. 福永雅喜，定藤規弘（2022.7.29）種間比較を目指した画像データの一元的品質管理と解析について。ABReD 脳関連データベース機関連携 キックオフシンポジウム（オンライン開催）
18. 吉岡歩 (2022.7.29) 言語を介した経験共有の神経基盤 社会性研究 4 拠点連携シンポジウム (オンライン開催)
19. 安田玲，高原唯，上田大智，荒井謙，福永雅喜，Gowrishankar Ganesh，宮脇陽一（2022.8.26）人工余剰指の身体化に伴う神経活動変容に対する脳情報デコーディング。第 16 回 Motor Control 研究会（東京）
20. 上田大智，高原　唯，荒井　謙，福永雅喜，Gowrishankar Ganesh, 宮脇 陽一 （2022.8.26）身体拡張デバイスの装用位置が与える脳内身体表現変容への影響。第 16 回 Motor Control 研究会（東京）
21. Fukunaga M (2022.8.30) Imaging Brain Microstructure and Function with Ultra High Field MRI. 生理研・CiNet 連携シンポジウム（オンライン開催）
22. 橋口真帆，小池耕彦，守田知代，原田宗子，Denis Le Bihan，定藤規弘（2022.9.10）機能的磁気共鳴画像法を用いた，時間間隔知覚の正確さに関する神経基盤の検討。第 12 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン開催）
23. 山本哲也，福永雅喜，三浦健一郎，定藤規弘（2022.9.11）短時間安静時 fMRI データを用いた Multimodal Surface Matching の課題 fMRI 解析への適用。第 50 回日本磁気共鳴医学会大会（名古屋，愛知）
24. 平川知希，高橋洋人，福永雅喜，古藤雄大，田中壽，富山憲幸，酒井規夫（2022.9.11）双生児脳 MRI を用いた帯状回の遺伝環境因子解析。第 50 回日本磁気共鳴医学会大会（名古屋，愛知）
25. 安田玲，高原唯，上田大智，荒井謙，福永雅喜，Gowrishankar Ganesh，宮脇陽一（2022.9.16）人工余剰指の身体化に伴う脳活動パターン変化。第６回ヒト脳イメージング研究会（町田，東京／ハイブリッド開催）
26. 荒井謙，高原唯，上田大智，福永雅喜，Gowrishankar Ganesh，宮脇陽一（2022.9.16）独立動作可能な人工余剰指の身体化に伴う神経相関の評価。第６回ヒト脳イメージング研究会（町田，東京／ハイブリッド開催）
27. 小笠原香苗，小池耕彦，福永雅喜，吉岡歩，定藤規弘（2022.9.16）高プレッシャー下での運動パフォーマンス低下の神経基盤: 7 テスラ MRI を用いた検討。第６回ヒト脳イメージング研究会（町田，東京／ハイブリッド開催）若手奨励賞授賞

28. 中江俊介，公文将備，早川基治，佐藤百合子，稲本陽子，宇田武弘，三橋匠，福永雅喜，廣瀬雄一（2022.9.20）SEEG 後に posterior quadrant disconnection および inslectomy を行った症例に対する passive brain mapping および右頭頂側頭葉機能解析。第 55 回日本てんかん学会学術集会（仙台，宮城）
29. 伊藤颯姫，三浦健一郎，宮山未来乃，松本純弥，福永雅喜，石丸径一郎，藤本美智子，安田由華，渡邉嘉之，橋本亮太（2022.11.4）統合失調症における淡蒼球の肥大化と陽性症状の重症度の関連。生物学的精神医学会，臨床精神神経薬理学会，神経精神薬理学会，精神薬学会合同年会 (BPCNPNPPP)（東京）
30. 宮山未来乃，三浦健一郎，伊藤颯姫，松本純弥，福永雅喜，石丸径一郎，藤本美智子，安田由華，山森英長，渡邉嘉之，橋本亮太（2022.11.4）統合失調症における労働時間と脳構造の関連及び認知機能障害の媒介効果の検討。生物学的精神医学会，臨床精神神経薬理学会，神経精神薬理学会，精神薬学会合同年会 (BPCNPNPPP)（東京／ハイブリッド開催）
31. 松本純弥，福永雅喜，三浦健一郎，根本清貴，岡田直大，橋本直樹，森田健太郎，越山太輔，大井一高，高橋努，肥田道彦，山森英長，藤本美智子，安田由華，長谷川尚美，伊藤颯姫，成田尚，横山仁史，三嶋亮，河島孝彦，小林祐子，笹林大樹，原田健一郎，山本真江里，平野羊嗣，板橋貴史，中瀧理仁，橋本龍一郎，タキンキン，小池進介，松原敏郎，岡田剛，吉村玲児，阿部修，鬼塚俊明，渡邊嘉之，松尾幸治，山末英典，岡本泰昌，鈴木道雄，尾崎紀夫，笠井清登，橋本亮太（2022.11.4）統合失調症・双極性障害・うつ病・自閉スペクトラム症の多施設大規模データによる疾患横断的な大脳皮質構造の類似度の解析。生物学的精神医学会，臨床精神神経薬理学会，神経精神薬理学会，精神薬学会合同年会 (BPCNPNPPP)（東京／ハイブリッド開催）
32. 山﨑龍一，松本純弥，根本清貴，福永雅喜，橋本直樹，小高文聰，髙野晴成，伊藤颯姫，長谷川尚美，安田由華，藤本美智子，山森英長，渡邉嘉之，三浦健一郎，橋本亮太（2022.11.4）統合失調症に特徴的な脳体積減少パターンの経時変化。生物学的精神医学会，臨床精神神経薬理学会，神経精神薬理学会，精神薬学会合同年会 (BPCNPNPPP)（東京／ハイブリッド開催）
33. 福永雅喜（2022.11.9）7 テスラ MRI による脳画像研究 - 精神神経疾患への応用を目指して -。第 35 回東京臨床脳画像解析研究会（オンライン開催）
34. Arai K, Takahara Y, Ueda D, Fukunaga M, Ganesh G, Miyawaki Y (2022.11.14) Neural correlates of independent sixth finger embodiment. Neuroscience 2022 (San Diego, U.S.A)
35. Hamano YH, Sugawara SK, Fukunaga M, Sadato N (2022.11.14) The left primary motor cortex in a critical hub in bimanual sequential learning. Neuroscience 2022 (San Diego, U.S.A)
36. Sugawara SK, Nakayama Y, Yamamoto T, Hamano YH, Fukunaga M, Sadato N, Nishimura Y (2022.11.14) The ventral midbrain commonly representing approach and avoidance motivations encodes future force generation. Neuroscience 2022 (San Diego, U.S.A)
37. Nakamura NH, Fukunaga M, Sadato N, Oku Y (2022.11.14) The retrieval process coordinated by respiration via the right temporoparietal junction. Neuroscience 2022 (San Diego, U.S.A)
38. Ogasawara K, Koike T, Fukunaga M, Yoshioka A, Sadato N (2022.11.15) Neural substrates of performance failure under pressure - A 7T-fMRI study. Neuroscience 2022 (San Diego, U.S.A)

感覚認知情報研究部門

1. 竹村浩昌(2022.2.28) 視覚系における白質線維束の種間比較. 第 24 回日本ヒト脳機能マッピング学会（浜松）
2. Iida M, Ogawa S, Takemura H, Horiguchi H, Miyazaki A, Osawa M, Kinjo T, Matsumoto K, Nakadomari S, Masuda Y, Yoshikawa K, Nakano T (2022.5.4) The effect of binocular blindness in critical period on visual white matter pathways: a single case study. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (Virtual meeting)
3. Benson NC, Chen S, Takemura H, Winawer J (2022.6.1) Accurate and automated delineation of V1-V3 boundaries by a CNN. Vision Sciences Society (Virtual meeting)

4. Takemura H (2022.6.19) Why do we need anatomical knowledge for a correct and comprehensive interpretation of neuroimaging data? Organization for Human Brain Mapping (Glasgow, Scotland)
5. Miyata T, Benson NC, Winawer J, Takemura H (2022.6.20) Correlation between microstructural properties of the optic tract and size of primary visual cortex. Organization for Human Brain Mapping (Glasgow, Scotland)
6. Takemura H, Kaneko T, Sherwood CC, Johnson GA, Axer M, Ye FQ, Leopold DA (2022.6.22) Comparative diffusion MRI study on the vertical occipital fasciculus across mammalian species. Organization for Human Brain Mapping (Glasgow, Scotland)
7. 飯田将展, 小川俊平, 竹村浩昌, 堀口浩史, 宮崎淳, 松元健二, 仲泊聡, 増田洋一郎, 吉川啓司, 中野匡 (2022.7.3) 臨界期失明が視覚白質線維束に及ぼす影響（症例報告）. 第 11 回日本視野画像学会学術集会（横浜）
8. 竹村浩昌 (2022.7.19) 拡散強調 MRI を用いたヒト脳白質線維束の計測及び分析. 玉川大学脳科学研究所教育講演会（町田）
9. 竹村浩昌 (2022.8.27) 白質線維束イメージングによる感覚認知情報処理機構の研究. 第 71 回脳の医学・生物学研究会（名古屋）
10. Takemura H, Kaneko T, Sherwood CC, Johnson GA, Axer M, Ye FQ, Leopold DA (2022.9.19) Comparative neuroimaging on the vertical occipital fasciculus in primates and non-primates. 第 6 回ヒト脳イメージング研究会（町田）
11. 竹村浩昌 (2022.11.25) 白質線維束イメージングによる視覚情報伝達機構の研究. 2022 年度生理学研究所研究会　多次元脳形態研究会（オンライン開催）
12. 竹村浩昌 (2022.12.25) MRI で分かる脳の情報伝達経路. 基礎科学講演会（名古屋）

多光子顕微鏡室

1. 村越秀治（2022.7.1）Optogenetic manipulation and imaging of signaling molecules in dendritic spines of neurons. NEURO2022（第 45 回日本神経科学学会）（沖縄）
2. 村越秀治 (2022.11.16) 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡による分子活性の定量と光操作. 豊田工業大学研究セミナー（愛知）
3. 長澤裕太郎，村越秀治 （2023.1.11）Exploring Rho GEFs and GAPs required for regulating Cdc42 activation during structural long-term potentiation. IRCN-iPlasticity International Symposium（愛知）
4. 植田大海, 村越秀治（2023.3.29）Molecular mechanisms for metaplasticity in dendritic spines of hippocampal neurons. CIN-NIPS-Asia Pacific Systems Neuroscience Symposium 2023（愛知）

電子顕微鏡室（窪田グループ）

1. 窪田芳之 (2022.1.27) 大容量電顕画像撮影と深層学習アプリによる dense segmentation の試み。第 2 回中部大学 基礎生物学研究所 生理学研究所 連携セミナー「AI と生命システム」（岡崎）
2. Kubota Y, Sohn J, Kawaguchi Y (2022.3.18)学習に伴う大脳皮質一次運動野の神経回路構築のリモデリング。第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・仙台）
3. 浦久保秀俊 (2022.3.18) Simulation of spatiotemporal Ca^{2+} dynamics in morphologically realistic dendrites. 第 99 回日本生理学会大会（ハイブリッド開催・仙台）
4. Gutierrez CE, Lineard J, Girard B, Urakubo H, Ishiwaka Y, Doya K (2022.3.18) Exploration of learning by dopamine D1 and D2 receptors by a spiking network model of the basal ganglia. Computational and systems neuroscience (COSYNE) 2022 (Lisbon, Portugal)
5. 窪田芳之 (2022.3.25) 大容量電顕画像撮影と深層学習アプリによる dense segmentation の試み。日本顕微鏡学会生体ボリュームイメージング 第 6 回研究会（岡崎）

6. 窪田芳之 (2022.3.26) 2 光子・共焦点顕微鏡・大容量電顕画像による CLEM と AI assisted dense segmentation の試み。クラスタ/ハブダイナミズムの決定剛軟因子（ハブ決定剛軟因子）領域シンポジウム（金沢）
7. 窪田芳之 (2022.3.30) 大規模電顕画像データによる脳ミクロコネクトーム。日本電子セミナー（昭島）
8. Kubota Y(2022.5.31) Serial imaging with ATUM-SEM. CONNECTOMICS CONFERENCE 2022 (Berlin, Germany）
9. 孫在隣，川口泰雄，窪田芳之 (2022.6.30) 運動学習による大脳皮質運動野での入力依存的なシナプス可塑性 Presynaptic supervision of cortical synaptic plasticity in motor skill learning. NEURO2022・第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会（宜野湾）
10. 石原義久，Grosser S，Guinet A，Vida I，佐藤二美，窪田芳之 (2022.6.30) 切片作成法および観察レベルによってラット海馬台の領域数は変化する。NEURO2022・第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会（宜野湾）
11. 浦久保秀俊，Parajuli LK，深澤有吾，岡部繁男，石井信, 窪田芳之 (2022.7.2) コンピュータシミュレーションは樹状突起 Ca^{2+} シグナルがヘテロシナプス可塑性のために重要であることを示唆する。NEURO2022・第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会（宜野湾）
12. Egger V, Aghvami SS, Kubota Y (2022.7.10) Anatomical and functional connectivity at the dendrodendritic mitral cell-granule cell synapse: Impact on recurrent and lateral inhibition. FENS Forum 2022 (Paris, France）
13. 窪田芳之 (2022.8.29) 大容量電顕画像データ取得のための超高速電顕画像撮影システム Blade. 日本電子セミナー（昭島）
14. Kubota Y (2022.10.28) Cortical spine dynamics during a single seed grasp motor learning. Seminar at Dalhousie University (Halifax, Canada)
15. Kubota Y (2022.11.4) Cortical spine dynamics during a single seed grasp motor learning. Seminar at West Virginia University (Morgantown, U.S.A.)
16. Sohn J, Suzuki M, Larkum ME, Kawaguchi Y, Kubota Y (2022.11.13) Cortical spine dynamics during a single seed grasp motor learning. Neuroscience 2022 (San Diego, U.S.A.)
17. 窪田芳之 (2022.11.18) 大容量電顕画像データの獲得と画像処理。第 13 回 植物電顕若手ワークショップ（横浜）

時系列細胞現象解析室

1. 池田啓子，佐竹伸一郎，知見聡美，南部　篤 (2022.6.2-5) Na ポンプ α3 サブユニット遺伝子関連神経疾患の病態基盤－病態モデル動物を使った解析から－。第 64 回日本小児神経学会学術集会。企画シンポジウム『ATP1A3 変異の多面性と病態－AHC, CAPOS, RDP, DEE, PMG, etc.－』（高崎）
2. 佐竹伸一郎 (2022.9.8-10) エタノールはラット小脳においてプルキンエ細胞のグルタミン酸回収機能を亢進することにより登上線維伝達物質のシナプス外拡散を阻害する。日本動物学会第 93 回大会（東京）
3. 大塚岳, 川口泰雄 (2022.6.30-7.3) Functional organization of motor cortical circuitry for learning. 日本神経科学学会（沖縄）

ウィルスベクター開発室

1. M. SUZUKI1, K. KOBAYASHI, Y. NISHIMURA (2022.11.13) Chemogenetic activation of convergent inputs to the spinal motoneurons enhances motor outputs in monkeys. Neuroscience 2022 (San Diego, CA, USA)
2. S. UENO, T. SHIMIZU, K. KOBAYASHI, N. TAJIRI, H. HIDA (2022.11.14) Cerebello-rubral tract is related to the recovery of forced-limb use after cerebral hemorrhage. Neuroscience 2022 (San Diego, CA, USA)

3. S. ISHINO, T. KAMADA, G. A. SARPONG, J. KITANO, R. TSUKASA, H. MUKOHIRA, F. SUN, Y. LI, K. KOBAYASHI, N. HONDA, N. OISHI, M. OGAWA (2022.11.14) A dopamine circuit for active switching toward the pursuit of future reward. Neuroscience 2022 (San Diego, CA, USA)
4. A. NORITAKE, T. NINOMIYA, K. KOBAYASHI, M. ISODA (2022.11.16) A cortico-subcortical circuit plays a causal role in social reward monitoring and valuation. Neuroscience 2022 (San Diego, CA, USA)
5. Y. KASAHARA, D. MASUKAWA, K. KOBAYASHI, Y. GOSHIMA (2022.11.16) L-DOPA and its receptor GPR143 are involved in hippocampal neurogenesis and mood regulation. Neuroscience 2022 (San Diego, CA, USA)

遺伝子改変動物作製室

1. 吉村 文，松山 依里子，坂田 美和，白水 貴大，釘田 雅則, 熊本 海生航, 平林 真澄, 長尾 静子.（2022. 5. 19）食塩感受性高血圧の遺伝的背景を伴う多発性嚢胞腎症ラットの病態解析. 第 69 回日本実験動物学会（仙台）
2. 小林 俊寛.（2022.5.28）Induction of primordial germ cells from pluripotent stem cells in non-mouse mammals. 第 19 回幹細胞シンポジウム（兵庫）
3. Nagae M, Uenoyama Y, Tsuchida H, Hirabayashi M, Inoue N, Tsukamura H.（2022. 8. 6）KNDy neurons maintain gonadotropin pulses and folliculogenesis as the GnRH pulse generator. The 4th World Conference on Kisspeptin（Glasgow, UK）
4. Nagae M, Uenoyama Y, Tsuchida H, Hirabayashi M, Inoue N, Tsukamura H.（2022. 8. 8）KNDy neurons maintain gonadotropin pulses and folliculogenesis as the GnRH pulse generator. The 10th International Congress of Neuroendcrinology（Glasgow, UK）
5. 長江 麻佑子，榎本 悠希，米谷 麻里，平林 真澄，井上 直子，上野山 賀久，束村 博子.（2022. 9. 11）κ-オピオイド受容体発現細胞特異的 Kiss1 ノックアウト雌ラットの生殖機能解析. 第 115 回日本繁殖生物学会（東京）
6. 井出 美涼, 上野 清, 平林 真澄, 保地 眞一.（2022. 9. 11）ガラス化・加温ウシ成熟未受精卵へ ICSI したときの胚盤胞発生率は IVF の場合と異なり新鮮対照に劣らない. 第 115 回日本繁殖生物学会（東京）
7. 山田 晃熙，眞野 哲也，長江 麻佑子，井上 直子，上野山 賀久，平林 真澄，束村 博子.（2022. 9. 12）キスペプチンニューロンを蛍光により常時可視化したラットを用いた雌雄脳内の蛍光標識細胞分布の経時的解析. 第 115 回日本繁殖生物学会（東京）
8. 眞野 哲也，山田 晃熙，長江 麻佑子，井上 直子，上野山 賀久，平林 真澄，束村 博子.（2022. 10. 28）キスペプチンニューロン常時可視化ラットを用いた雌雄ラット脳の組織学的解析. 第 46 回日本比較内分泌学会大会（東京）
9. 長江 麻佑子，榎本 悠希，米谷 麻里，山田 晃熙，土田仁美，平林 真澄，井上 直子，上野山 賀久，束村 博子.（2022. 10. 28）κ-オピオイド受容体発現細胞特異的および Kiss1 発現細胞特異的 Kiss1 ノックアウトラットの生殖機能解析. 第 46 回日本比較内分泌学会大会（東京）
10. 小林 俊寛.（2022.10.28）Understanding and reconstitution of germline development in rats. 東アジアシンポジウム（オンライン）
11. 山田 晃熙，眞野 哲也，長江 麻佑子，井上 直子，上野山 賀久，平林 真澄，束村 博子.（2022. 10. 29）新規遺伝子改変動物 *Kiss1*-Cre ラットを用いた生殖中枢キスペプチンニューロン分布の性差および発達による変化の組織学的解析. 第 48 回日本神経内分泌学会学術集会（下野）
12. Safiullah H, Yabushita R, Nagae M, Hirabayashi M, Uenoyama Y, Tsukamura H, Inoue N.（2022. 10. 29）ATP-P2X2 receptor signaling is essential for the generation of GnRH/LH surge via activation of kisspeptin neurons in the anteroventral periventricular nucleus. 第 48 回日本神経内分泌学会学術集会（下野）
13. Yoshimura A, Matsuyama E, Watanabe T, Sakata M, Shirozu T, Kugita M, Kumamoto K, Takizawa A, Dwinell MR, Hirabayashi M, Yamaguchi T, Takahashi K,

Nagao S.（2022. 11. 4）Effect of Enalapril in a novel human orthologous rat model of autosomal recessive polycystic kidney disease with salt-sensitive hypertension. Kidney Week 2022（Orland, FL, USA）

14. 大塚 裕記，平林 真澄，井上 直子，束村 博子，上野山賀久.（2022. 11. 18）GPR75 ノックアウトラットは高脂肪食による過食・肥満・糖代謝異常を示さない. 第 17 回 GPCR 研究会（つくば）
15. 小林 俊寛.（2022. 11. 18）ラットにおける生殖細胞作製 -胚発生過程の利用とその試験管内再構築-. 第 10 回実験動物科学シンポジウム（鳥取）
16. Kobayashi T.（2022. 11. 23）Understanding and reconstitution of germline development in non-mouse animal models. The International Symposium “Totipotency and Germ Cell Development”（福岡）
17. Oikawa M, Kobayashi H, Saitou H, Kurimoto K, Hirabayashi M, Kobayashi T.（2022. 11. 23）Driving germline fate in rats via mesodermal and germ cell specifiers. The International Symposium “Totipotency and Germ Cell Development”（福岡）
18. Iwatsuki K, Oikawa M, Kobayashi H, Kurimoto K, Hirabayashi M, Kobayashi T.（2022. 11. 23）Evaluation of the molecular and functional characters of rat epiblast stem cells maintained in defined culture condition. The International Symposium “Totipotency and Germ Cell Development”（福岡）
19. Oikawa M, Hirabayashi M, Kobayashi T.（2022. 12. 6）Generation of functional primordial germ cells from embryonic stem cells in rats. Cell Bio 2022. The joint meeting of the American Society for Cell Biology and European Molecular Biology Organization（Washington DC, USA）
20. 小林 俊寛.（2022.12.18）種を越えた配偶子産生システムの in vitro 再構築. 第 27 回日本生殖内分泌学会学術集会 特別講演（広島）

多階層生理機能解析室

1. Yamagata Y, Yanagawa Y (2022.7.2) Calmodulin kinase IIα activity and emotional behavior. 第 45 回日本神経科学大会・第 65 回日本神経化学会大会・第 32 回日本神経回路学会大会, NEURO 2022（宜野湾）
2. 山肩葉子, 柳川右千夫 (2022.9.10) カルモジュリンキナーゼ II 活性と情動関連行動. 第 12 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（WEB 開催）
3. Yamagata Y, Yanagawa Y (2023.3.16) Emotional behavior affected by the absence of calmodulin kinase IIα activity. 日本生理学会 第 100 回記念大会（京都）

動物資源共同利用研究センター

1. 廣江猛，（2023 年 2 月 17 日）自然科学研究機構動物資源共同利用研究センターにおける新型コロナウイルス感染症対応事例報告について。第 45 回生理学技術研究会（オンライン開催）
2. 藤田涼太郎，乾守裕，安井真弓，廣江猛，窪田美津子，西島和俊，（2022 年 10 月 14 日）コロナ禍における危険予知トレーニング(KYT)の開催方法について。第 56 回日本実験動物技術者協会総会（長野県松本市　キッセイ文化ホール）

【一般共同研究報告】

一般共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. イオン輸送体の機能解析 …… 129
2. イソギンチャク近縁種から単離した新規神経毒の作用機構に関する研究 …… 129
3. 水生動物の環境適応を支える温度感受性 TRP チャネルの研究 …… 130
4. 海馬シナプス分子局在の制御における LGI1 の役割 …… 130
5. 腸管感染性および気道感染性ウイルスの高分解能構造解析 …… 131
6. タンパク質の超分子複合体形成の構造基盤 …… 132
7. タイトジャンクション分子の局在と機能 …… 132
8. 血液精巣関門を制御する仕組み …… 133
9. 血管内皮細胞間接着複合体関連分子 JCAD のヒト口腔がんにおける発現の確認 …… 133
10. 温度受容体の分子進化の解析 …… 134
11. 植物の化学防御戦略に対する昆虫の TRP チャネルの役割 …… 135
12. 温度感受性 TRP チャネルの細胞応答と調節メカニズムの解明 …… 135
13. TRP チャネルの温度感受性とアクトミオシン調節 …… 136
14. 拡張型心筋症様の形態異常を呈する *Hoatz* 変異マウス心臓の機能計測 …… 136
15. ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の成熟化過程における微弱電流の役割の解明 …… 137
16. マウス心筋前駆細胞 ACMs の起源および生理的意義の解明 …… 137
17. ダウン症モデルマウスの先天性心奇形の病態メカニズム解析 …… 138
18. カルシウムチャネル TRPC3/C6 を標的とした腎疾患の治療法確立 …… 139
19. ミトコンドリアダイナミクスに注目した重金属および金属含有薬物による 腎障害誘発機構の解析 …… 139
20. プリン作動性受容体 P2Y6R を標的とした慢性炎症の新規治療法の開発 …… 140
21. 嗅覚から消化器応答にいたる神経回路のマッピング …… 140
22. 末梢臓器支配の神経経路解析 …… 141
23. Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drug (DREADD 法)および Optogenetics を用いた脳排便中枢の局在および役割の解明 …… 141
24. Na ポンプ遺伝子変異を原因とする神経疾患の病態生理基盤 …… 142
25. 情動行動における電位依存性カリウムチャネル KCNQ2 の分子病態基盤の解明 …… 143
26. 神経積分器と小脳を結ぶ神経回路の解明 …… 143
27. マウス視覚野 2/3 層錐体細胞ーパルブアルブミン陽性細胞間シナプス形成における クラスター型プロカドヘリンの機能的役割の解明 …… 144
28. 発達期 DGL ノックアウトマウスにおける抑制性シナプス入力の測定 …… 144
29. 聴覚系の大脳皮質-大脳基底核ループの神経回路の解明 …… 145
30. がんの骨浸潤・骨破壊のイメージング解析 …… 145
31. 生体組織ー浸液間にフィットする高分子ナノ薄膜の物性制御とイメージングツールへの応用 …… 146
32. 掃引共焦点平面励起顕微鏡システムに関する共同研究 …… 147
33. 2 光子励起顕微鏡を用いた先進的生体がんイメージング法の開発 …… 147
34. 痛覚感受性の発達メカニズムの解明 …… 148
35. 神経回路機能を解明及び操作するための高性能ホログラフィック顕微鏡の開発 …… 148

36. 視線を手がかりとした他者の情動理解における上丘の役割の解明 149
37. サル局所電場電位の計算論的解析法による学習メカニズムの解明 149
38. 辺縁系大脳基底核の機能解析 150
39. AKT シグナルによる大脳基底核における随意運動の制御メカニズムの解明 150
40. 神経麻痺性角膜症に対する TRPA1 を標的とした治療 151
41. チック症の病態メカニズム解析 151
42. 脳内微量薬剤注入による新規パーキンソン病治療法の開発 152
43. 視覚的競合事態における注意選択に関わる律動的神経活動 153
44. 経頭蓋磁気刺激が大脳皮質広域神経活動に及ぼす影響の測定と解析 153
45. 脳波位相同期解析を用いた Paired associative stimulation 効果の個人差の解明 154
46. 数知覚に関する神経力学系モデリングと脳波計測実験の融合的研究 154
47. 読文機能における基礎的視覚情報処理の役割 155
48. 視覚障害発生時期，程度が与える脳視覚系への影響 156
49. ヒト空間認識の個人差に関わる神経機構の検討 156
50. MRI 画像を用いた聴覚路と連合野を含む各脳領域間の結合性の検討 157
51. 経頭蓋電気刺激による聴覚誘発脳磁界の変調 157
52. 聴覚情報処理基盤となる音響物理パラメータ特定のための聴覚誘発磁界の解析 158
53. 手指の運動制御時における感覚運動領域活動の解明 158
54. 感覚情報処理抑制系の機序解明と検査パラダイムの確立 159
55. 突然の聴覚情報変化に対する脳応答の多角的検討 159
56. 構成的アプローチによる最小神経細胞ネットワークを用いた 情報処理システム構築の試み 160
57. 視床下部腹内側核のグルコース感受性神経における in vivo imaging 解析 161
58. In vivo Mini-scope を用いた神経細胞の概日リズム可視化 162
59. 概日時計の分子機構に関する細胞内 Ca^{2+}の動態解析 162
60. 多光子顕微鏡のための超短光パルスファイバーレーザーの開発 163
61. 睡眠調節における星状膠細胞の役割 ： 視床下部におけるシナプスでの構造的可塑性の研究 163
62. 光-電子相関顕微鏡法による前頭皮質 6 層視床投射細胞のシナプス結合の解明 164
63. 皮質抑制性細胞の形態解析システムの構築 164
64. 大脳皮質運動野における視床投射神経終末の標的神経構造の電顕による解析 165
65. アルギン酸ゲル包埋したラット膵島のガラス化保存と糖尿病モデルへの移植 166
66. ラットにおける効率的な精子幹細胞移植法の確立 166
67. 古典的催眠・鎮静剤「ブロムワレリル尿素 (BU)」の新規抗炎症剤としての適応を目指した，同剤催眠・鎮静効果の電気生理学的作用機序の解析 167
68. 大脳基底核が制御する随意運動，情動における線条体の細胞内シグナル伝達の役割 167

1. イオン輸送体の機能解析

魚住信之（東北大学大学院工学研究科）
久保義弘（生理学研究所）

生物の種類に関係なく K は細胞内の主要な陽イオンである。膜電位形成，細胞の膨圧調節，酵素活性の調節など，細胞内の反応に深く関与している。植物の K チャネルの中で，膜電位センサーを有する K チャネルホモログ遺伝子の中で輸送活性などの機能解明がなされていないものが存在する。申請者はこの K チャネルの機能について検討したところ，K 輸送活性を示唆する結果を得ていた。しかし，その結果は，大腸菌や酵母の発現系を利用して K 輸送要求性を相補したが K 輸送を持つことはわかっていない。卵母細胞発現系における電気生理測定では，輸送活性の確証は得られなかった。これらの K チャネルの電気生理学手法による K 輸送活性を明らかにするために，久保教授との共同研究により検証を行う。久保教授はこれまでに数々の K チャネル輸送活性を新たに明らかにした実績を積まれており，他の研究者では検出できないレベルのイオン輸送活性に関しても報告している。久保研究室における世界最高レベルの測定技術と装置開発を用いて K 輸送測定の検出を試みた。

K チャネル遺伝子を動物発現ベクターに導入して，動物細胞の HEK293T 細胞および CHO 細胞に導入した。K チャネルに GFP 蛍光タンパク質を付与したコンストラクトを導入した細胞では，蛍光が観察されたことから，K チャネルが発現していることを確認した。イオン輸送活性に関しては CHO 細胞でイオン電流が計測できた。しかし，内因性の電流が見られたため誤認している可能性があると考えられた。そこで，類似の内因性電流が見られない COS-7 細胞においてイオンチャネル活性を測定した。発現は別途 YFP を共発現させることにより行った。この結果，イオン輸送活性を検出した K チャネルと輸送活性が認められない K チャネルが検出された。イオン輸送化成が検出されなかった K チャネルに関しては，何らかのタンパク質修飾が不足していることが考えられる。現在，活性化に必要な補助因子を見いだしており，その因子を同時発現させる検討を行い，K チャネルの活性化を検討する。

2. イソギンチャク近縁種から単離した新規神経毒の作用機構に関する研究

本間智寛（東海大学生物学部）
下村拓史，久保義弘（生理学研究所）

イソギンチャクの神経毒は Na^+ チャネルと K^+ チャネルに作用するペプチド毒に大別され，その独特な作用機構から，イオンチャネルの構造や機能解析のための研究用試薬や，多発性硬化症などの自己免疫疾患治療薬のリード化合物として応用されている。代表者はサワガニに対する神経毒性を指標にして，従来とは異なるアミノ酸配列を有した新規ペプチド毒を数多く単離してきた。しかしながら対象は花虫綱六放サンゴ亜綱のイソギンチャク目の種に限られ，他の目に属する「イソギンチャク近縁種」は対象外であった。イソギンチャクでの新規毒の分布状況から，近縁種にも多くの新規毒の存在が予想されるため，本研究ではその単離と構造解析，作用機構の解明を行い，有効利用に資することを目的とした。

過年，各種近縁種から調製した粗抽出液のサワガニに対する毒性スクリーニングで，ツノサンゴ目のウミカラマツとムチカラマツは強い毒性を示したので，これらの粗抽出液をアフリカツメガエルの卵母細胞に作用させ，二本刺し膜電位固定法による測定を行った結果，細胞膜にイオンチャネル様の電流を生じるポアを形成することが判明した。そこで本作用を指標に粗抽出液をゲルろ過クロマトグラフィー（Superdex 75），陰イオン交換クロマトラフィー（HiTrapQ HP）に順次供し，ウミカラマツで約 18kDa, ムチカラマツで約 16kDa の毒を同定した。プロテインシークエンサーで配列を解析した結果，いず

れもイソギンチャクのタンパク質性のアクチノポーリン（溶血毒）と相同性があり，現在 cDNA クローニングによる全配列の解明を進めている。

当初はサワガニに対する神経毒性の作用機構解明を目的として，卵母細胞を用いたアッセイを行っていたが，粗抽出液を直接作用させ，細胞膜での電気生理学的な変化を観察することで，ポア形成毒や膜電位に影響を及ぼす物質の探索が可能なことが分かった。ツノサンゴの仲間はポリプが非常に小さいことから，動物赤血球を用いた従来法での溶血アッセイでは量的な問題から毒の検出はできなかったと思われ，本法によるアッセイは微量に含まれるポア形成毒の探索に極めて有効なことが明らかとなった。

そこで現在，先述の各種近縁種から調製した粗抽出液を卵母細胞に作用させ，細胞膜で生じる電気生理学的な変化を観察するアッセイ系と，従来からのサワガニに対する神経毒性を指標にしたアッセイ系の二つから，イソギンチャク近縁種からの新規毒の単離を試みている。

3. 水生動物の環境適応を支える温度感受性 TRP チャネルの研究

齊藤　修，堀翔悟（長浜バイオ大学大学院バイオサイエンス研究科）
久保義弘（生理学研究所）

本研究では，様々な環境に棲む水生動物が，その環境適応や生存戦略を支えるどのような特徴を持つ温度感受性 TRP 群を発現しているかを解明する。

昨年までに，我々は，高温を嫌う有尾両生類の特に異なる温度ニッチを持つ 4 種（アホロートル，イベリアトゲイモリ，ヤマトサンショウウオ，ハコネサンショウウオ）が，その低温生息地選択と適応性を支えるためにどのように温度感受性が変化した侵害高温センサーTRPV1 を獲得しているのか検討してきた。TRPV1 は，哺乳類では 43 ℃以上の高温を感知する主要な侵害高温センサーであるが，TRPV1cDNA を単離し機能解析した結果，4 種の有尾両生類全ての TRPV1 が他の哺乳類などに比べ約 10 ℃低い温度から活性化される，閾値温度が低い非常に特徴的な高温センサーであることが判明した。この結果は有尾両生類の低温への適応に TRPV1 の機能が大きく関わる事を示唆する。そこで，今年度はこの有尾両生類 TRPV1 の閾値低下に TRPV1 分子上のどの部位が重要か，ラットとアホロートルの TRPV1 を用いてキメラ及び点変異体解析を行った。結果，まず N 端側に 6 個あるアンキリンリピート（ANKs）の初めの ANK1 が重要であること，更に特に ANK1 の 2 個のアミノ酸残基が有尾両生類間で保存されており，極めて重要であることを突き止めた。即ち，ラット TRPV1 ではこれらの部位が有尾両生類とは異なる残基であるが，アホロートルの TRPV1 を用いて，この２か所のアミノ酸をラット型に交換すると，活性化温度が 40 ℃近くまで大きく上昇しラット型温度特性に変化すること，その上，43 ℃以上で活性化するラット TRPV1 の同じ部位のアミノ酸を逆にアホロートル型に変換すると，今度は活性化温度が大きく降下しアホロートル型温度特性に変化したのである。よって，TRPV1 の大きな活性化閾値の変化が，ANK1 のたった２個のアミノ酸残基の違いで起こっていることが判明した。しかも，この特徴は，有尾両生類共通であった。そこで，現在，なぜこの２点のアミノ酸の変化が TRPV1 の大きな閾値変化を起こしうるのか，解明を進めている。

4. 海馬シナプス分子局在の制御における LGI1 の役割

重本隆一（IST Austria）
深田正紀，深田優子（生理学研究所）

leucine-rich glioma inactivated -1 (LGI1) は，シナプス前部および後部に局在する膜蛋白質を介してグルタミン酸受容体やイオンチャネルの機能や局在を調節していると考えられている。LGI1 自己抗体による脳炎はヒトでも epilepsy や dystonia などの特徴的な神経症状を引き起こし autoimmune encephalitis の中でも抗 NMDA 受容体抗体に次

いで 2 番目に症例数の多い疾患となっている。一昨年度は，LGI1 ノックアウトマウスにおけるシナプス前部のカルシウムチャネル VGCC subunit Cav2.1 の発現上昇を凍結割断レプリカ標識法によって検出したが，LGI1 脳炎患者の自己抗体のマウス脳内注入では，有意な Cav2.1 の変化は検出できなかった。そこで，昨年度 LGI1 と結合する膜蛋白質であるカリウムチャネルサブユニット Kv1.1 や Kv1.2 の神経終末における発現変化を蛍光標識によって調べたところ，軽微ではあるが有意な減少がみられた。Pre-embedding immunogold 法による電顕観察では Kv1.1 や Kv1.2 はシナプス内には少なく，97 - 98 %はシナプス外の神経終末細胞膜に分布していた。共同研究者の電気生理学的実験では反復刺激による反応性に相違により release probability の増加が認められ，神経終末におけるカリウムチャネルの減少によるとみられる action potential 幅の増加が VGCC からのカルシウム流入の増加と伝達物質放出確率の上昇をもたらしているものと考えられた。以上の結果は現在投稿中となっている。今後はさらに axon initial segment でのカリウムチャネルや ADAM22 の局在変化を凍結割断レプリカ標識法を用いて調べる。また LGI1 脳炎患者由来の anti-LGI1 monoclonal 抗体の海馬局所注入により epilepsy が引き起こされることが分かったので，このモデルを使ったチャネルや ADAM22 の発現変化を調べる予定である。

5. 腸管感染性および気道感染性ウイルスの高分解能構造解析

石山涼翔，戸高玲子，片山和彦（北里大学）
ソン・チホン，村田和義（生理学研究所）

ノロウイルスに代表される腸管感染性ウイルスによる下痢症は，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。また，気道感染性ウイルスである新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は，2019 年末より世界的名パンデミックとなり問題となっている。本研究では，上記の腸管感染性ウイルスとして，ヒトノロウイルス（HNV），マウスノロウイルス（MNV），サポウイルス，アストロウイルスを用い，気道感染性ウイルスとして SARS-CoV-2，RSV 等を用い，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，これらのウイルスのウイルス様中空粒子（VLP）を用いて同様に解析を行い，ウイルス感染の分子機構や中和抗体の結合部位を明らかにする。

MNV は，リバースジェネティクスの系を使って培養細胞で増殖させたのち，ウイルス粒子を単離精製して観察する。 HNV，アストロウイルス（HAstV），サポウイルス（HSaV）も同様に培養細胞で増殖させた後，分離精製した。ヒト腸管感染性ウイルスについては，培養細胞による増殖が困難な場合もある。そのようなウイルスは，バキュロウイルスの系を使ってウイルス様中空粒子（VLP）作製して解析した。SARS-CoV-2, RSV2 についていは，培養細胞で増殖させ，その後 PFA による不活性化を行い，感染性が完全に消失したことを確認した後に，自然科学研究機構に送付し，電子顕微鏡観察を実施した。親水化処理した Quantifoil 上で，Vitrobot (FEI company) を用いて急速凍結し，氷包埋した。凍結グリッドは液体窒素内でクライオ試料ホルダー（Gatan 626）に載せてクライオ電子顕微鏡 JEM2200FS（JEOL）にセットし，高分解能クライオ電子顕微鏡像をデジタルカメラで記録した。画像データはフリーの Relion Software を使って単粒子解析し，高分解能三次元構造を行った。また，中和抗体を反応させたウイルス粒子も同様の方法で構造解析し，抗体結合部位を解析した。

本年度は，高分解能構造解析に利用できる MNV, HNV, HAstV，HSaV の粒子を作製した。MNV については点突然変異のあるアルカリ耐性株以外の粒子精製には成功した。HNV，HSaV については，観察に十分な量のウイルス粒子作製はできなかった。HAstV, SARS-CoV-2 については，ウイルス粒子作製と形状を維持したまま不活性化することに成功した。SARS-CoV-2 については，PFA で完全に不活性化し，完全不活化を確認した後に電子顕微鏡観察を実施し，鮮明な画像を得ることに成功した。

今後さらにウイルスの増殖培養法を改良し，高分解能構造解析のためのウイルス粒子調製を試みる。

6. タンパク質の超分子複合体形成の構造基盤

矢木真穂（自然科学研究機構 生命創成探究センター）

タンパク質や糖鎖をはじめとする生命分子は, 様々な時空間スケールでのダイナミズムを発揮しており, 特異的な分子間相互作用を介した超分子複合体を構築することを通じて, 精緻な生体機能を発動している。生命現象の特質は, システムを構成する多数の分子素子がダイナミックな離合集散を通じて秩序構造を形成し, 外的環境との相互作用を行いつつ, 自律的に時間発展していくことにある。したがって, それらの生命素子が自律的に柔軟かつロバストな高次秩序を形成するメカニズムを理解することは, 生命科学の重要な課題である。

本研究課題では, タンパク質の超分子複合体を対象に精密構造解析を実施し, タンパク質の超分子複合体形成の構造基盤を明らかにすることを目的とする。アミロイド性タンパク質のアミロイド線維形成メカニズムに加え, プロテアソームなどの超分子複合体形成メカニズムに関して, 環境因子や変異の影響, 非対称性なども考慮の上, 透過型クライオ電子顕微鏡による体系的な構造解析を通じてタンパク質の超分子複合体形成の構造基盤の解明を目指す。

本年度は, 地上もしくは微小重力環境にて形成した野生型および各種家族性変異型アミロイド β を対象に, 透過型クライオ電子顕微鏡による立体構造解析を実施し, 構造精密化を進めた。

一方, プロテアソームを対象とした構造解析も実施した。プロテアソームの α7 サブユニットは自発的にホモ 14 量体の 2 重リング構造を形成することが知られている。我々は, これまでに X 線結晶構造解析とクライオ電子顕微鏡解析によってこの超分子集合体の立体構造を明らかにしてきた。最近我々は, 変異導入によって安定化したホモ 7 量体 α リングを作出することに成功した。そこで, α7 ホモ 7 量体を対象にクライオ電子顕微鏡解析を実施した結果, α7 ホモ 7 量体は一様にリング構造を形成しているものの, 対称性の観点からはいくつかの構造バリエーションを示すことが判明した。今後, α リング構造の動的構造揺らぎの詳細をキャラクタライズすることを目指す。

7. タイトジャンクション分子の局在と機能

東　智仁（福島県立医科大学）
古瀬幹夫（生理学研究所）
齋藤　明，東　淳子（福島県立医科大学）

タイトジャンクションは傍細胞経路の透過性を制御し，上皮のバリア機能を担っています。本研究では，クローディン９，CLMP，angulin-3 についてその局在と機能を免疫染色と免疫電顕を用いて検討しました。

クローディン９については脳下垂体において濾胞星状細胞のタイトジャンクションに局在することを前年度に報告（Higashi AY et al., Sci Rep, 2021）し，引き続き脳下垂体と内耳における機能について解析を行なっています。

CLMP は JAM ファミリーに属する分子で腸管や尿管の蠕動を制御することが示唆されていますが，発現細胞や局在，分子機能は全く分かっていませんでした。本研究では，腸管で免疫染色を行い，腸管神経叢の一部の細胞に特異的な発現が見られることを見出しました。さらに免疫電顕でこの細胞が菲薄な形状をしていること，周囲の細胞と細胞間接着を形成していること，CLMP が接着部位に局在していることを確かめました。しかし，この細胞の実態はまだ分からず，CLMP が局在する接着構造の精細な画像も取得できていないため，来年度も引き続き免疫電顕の質を改善し，CLMP が蠕動現象にどう関わるのか，その仕組みの解明を続けていきたいと考えています。

Angulin-3 は三細胞間タイトジャンクションの構成因子ですが，腎臓の糸球体にも発現していることが知られていました。本研究では，糸球体における angulin-3 発現細胞が蛸足細胞（ポドサイト）であることを見出しまし

た。angulin-3 は点状の染色パターンを示すため，蛸足細胞の三細胞間に局在している可能性があります実際，発生途中の蛸足細胞においては，angulin-3 は三細胞間に局在していました。また，蛸足細胞は通常，濾過機能を担うスリット膜という特殊な細胞間接着構造を形成していますが，この接着は障害を受けた腎臓においてはタイトジャンクションに類似した構造に変化することが知られています。私たちは，この時に angulin-3 が細胞間に線状の濃縮を示すことを見出し，蛸足細胞の障害の度合いやネフローゼ症候群の予後を示すマーカーとして活用できる可能性を示しました。現在，これらの結果をもとに論文投稿中です。

8. 血液精巣関門を制御する仕組み

高島誠司，則竹康佑，秋山かのん
（信州大学繊維学部）

背景・目的：血液精巣関門はその密着結合帯により領域を区分し，生殖細胞形成に必要な微小環境を創出する。形成された生殖細胞はこの関門を通過し体外に放出されるため，密着結合は形成と分解を繰り返すと考えられるが，その仕組みは不明である。本研究では，関門機能が変容した種々のマウスを解析し，血液精巣関門を構成する密着結合の形成と分解を制御する仕組みを解明することを目的とする。

方法：血液精巣関門機能が低下しているミュータントマウスの血液精巣関門の微細構造を，電子顕微鏡観察・蛍光免疫染色により観察し，血液精巣関門が正常な野生型成獣マウスと比較した。具体的には，成獣の Ugt8a 欠損マウス, Stx2 欠損マウスより作製した精巣標本を超薄切片法により観察し，密着結合の有無を検証した。また，蛍光免疫染色により，密着結合を形成する分子の特定とその局在の異常の有無を評価した。本研究の実験動物使用実験において発生する苦痛は安楽死によるものであり，その程度は低いものであった。

結果：蛍光免疫染色による血液精巣関門の形態を解析したところ, 野生型の成獣では CLDN11, OCLN からなる密着結合が『体細胞分裂を行う精原細胞』と『減数分裂を行う精母細胞』の間に形成され，その向きが精細管外側面と平行に配向していることが確認された。一方 Ugt8a 欠損・Stx2 欠損マウスでは同様に密着結合の形成が確認されたが，その向きが精細管外側面に垂直に配向していた。電子顕微鏡観察では野生型・ミュータント共に密着結合特有の細胞膜同士の“kissing”構造が確認され，密着結合構造そのものは形成されていることが確認された。

考察：我々は，セミノリピド合成遺伝子 Ugt8a, Stx2 の欠損が血液精巣関門の機能低下を招くことを見出し，今回の共同研究で，これらのマウスの血液精巣関門での密着結合形成の有無を，蛍光免疫染色及び電子顕微鏡観察で解析した。当初，密着結合分子の欠落や密着結合構造の形成不全を予想していたが，それらに目立った異常は確認できなかった。一方，密着結合の配向が変容していることから，セルトリ細胞の極性制御の異常が予想され，これがバリア機能の低下と因果を結ぶ可能性が示唆された。

9. 血管内皮細胞間接着複合体関連分子 JCAD のヒト口腔がんにおける発現の確認

明石昌也（神戸大学大学院医学研究科外科系講座口腔外科学分野）

口腔癌の 90 %以上が扁平上皮癌である。扁平上皮癌は上皮細胞に遺伝子変異を惹起する刺激が慢性的に加わり，上皮細胞の異型，上皮内癌を経て間質浸潤を伴う浸潤癌に進行する。浸潤癌がさらに進行すると頸部リンパ節に転移する。この癌化の進行や所属リンパ節転移の各ステップに関係する重要な現象の一つに病的血管新生が挙げられる。

JCAD は血管内皮細胞の新規構成分子として発見され，

その後 JCAD ノックアウトマウスを用いた研究で皮下移植された腫瘍が野生型マウスに比べ JCAD ノックアウトマウスにおいて有意に増大しないことが明らかになり，JCAD は腫瘍増大等に要する病的血管新生に必要なタンパクである可能性が示唆された。その後ヒトにおける JCAD の発現に関する報告はなかったが，2020 年にマウスのみならずヒトにおいても JCAD が血管内皮細胞に発現していることが明らかとなった。マウスと同様にヒトにおいて癌の発生や増大に血管新生は必須であり, JCAD が関与している可能性は考えられ得るものの，これまでヒト癌組織および癌周囲組織における JCAD の発現を病理学的に詳細に検討した報告はない。

JCAD は申請者らが発見し，ポリクローナル抗体を作成した。この抗体をヒトの組織でも使用可能かどうかを判定するため，本共同利用研究ではまず，申請者らが作成した抗 JCAD ウサギ血清による免疫染色が固定法の違いにより影響を受けるかどうかを確認した。条件検討を重ねた結果，ホルマリン固定でも抗体が反応できるよい染色条件を見出した。

研究代表者および大学院生らは本共同利用研究の経験をへて，切片作成から蛍光免疫染色の手順および蛍光顕微鏡を用いた観察までを学ぶことができた。この経験をもとに現在，ヒト口腔癌組織における JCAD の発現について，またマウスを用いた創傷治癒アッセイ等の炎症を惹起した環境下における JCAD の発現について解析を進めている。

10. 温度受容体の分子進化の解析

勝　義直（北海道大学大学院理学研究院）

まず，本共同研究の第一の目的は過去の共同研究による成果を論文として発表することである。軟骨魚類の TRP に関する一連の実験を行い，十分に議論を重ね論文を準備し投稿を行なった。しかしながら論文がリジェクトされてしまったことから現在は論文の体裁を整えて別雑誌に投稿する準備をしている。このために，大幅に研究計画が頓挫してしまった。軟骨魚類の TRP の解析が計画通り進まなかったことから，未だ解明されていない肉鰭類であるハイギョに着目し，TRP ファミリーの 1 つである TRPV4 の単離を試みた。ハイギョは水生から陸生へと動物の生活環境が変化していった動物進化の指標となる重要な動物である。そこで，ハイギョの一種であるアフリカハイギョ（Protopterus dolloi）を材料として実験を開始した。ヒト, ニワトリ, ワニ, ヒキガエルの TRPV4 配列のアライメント解析より保存されている領域のアミノ酸配列から縮重プライマーをデザインした。アフリカハイギョの肝臓から抽出した RNA を鋳型として cDNA を合成し，その cDNA とデザインした縮重プライマーを使って PCR を行うことで DNA 断片を得た。DNA 断片の塩基配列を基にして，PCR 用の新たなプライマーをデザインし, 5’ 側と 3’ 側の配列を増幅し配列を決定した後，最終的に全長のコーディング配列を含む cDNA を得ることに成功した。塩基配列からアフリカハイギョ TRPV4 は 860 個のアミノ酸からなることが判明した。ヒト・ニワトリ・ワニ・ヒキガエル，そしてシーラカンスの TRPV4 のアミノ酸配列と相同性を比較したところ, ヒト (73 %)・ニワトリ（72 %）・ワニ（73 %）・ヒキガエル（72 %）・シーラカンス (74 %) という比較的高い相同性を示した。さらに代表的な実験魚であるメダカとゼブラフィッシュの TRPV4 のアミノ酸との相同性を調べたところ，それぞれ 66 %と 67 %を示した。この結果は，アフリカハイギョの TRPV4 は魚類よりも四肢動物に似ていることを示しており，これまで研究室から報告しているステロイドホルモン受容体のアミノ酸配列は魚類よりも四肢動物に近い配列を持つことと矛盾はしていない。今回得られたアフリカハイギョの TRPV4 がどのような温度に応答するのかを今後調べることで，水中での生活から陸上に生活に適応する際の，TRPV4 の役割などが解明されることが期待される。今後，軟骨魚の TRP に関する論文を投稿し，さらに肉鰭類の TRP の解析を進めることで，温度受容体の分子進化の理解に大きく寄与すると考えている。

11. 植物の化学防御戦略に対する昆虫の TRP チャネルの役割

酒井　敦，尾崎まみこ，上尾達也（奈良女子大学）
富永真琴（生理学研究所）

アブラナ科植物が獲得した昆虫の食害を防ぐ化学防御システムの進化に注目して，シロイヌナズナの化学防御物質であるイソチオシアネートの受容分子候補として TRPA1 チャネルを考えた。そこで，シロイヌナズナに集まる昆虫の一つとして知られるクロキンバエのゲノム情報から TRPA1 と思われる遺伝子配列を得，哺乳類発現ベクターpcDNA3.1 にサブクローニングした。クロキンバエ TRPA1 の哺乳類 TRPA1 類似のタンパク質構造を持っているものと推定された。クロキンバエ TRPA1 をヒト胎児腎由来の培養細胞である HEK293T 細胞に強制発現させて，パッチクランプ法を用いて全細胞電流記録を行った。クロキンバエ TRPA1 は，アブラナ科植物が有する辛み成分アリルイソチオシアネートの投与によって濃度依存的に活性化し，TRPA1 に特徴的な外向き整流性の電流・電圧関係を示す電流を示した。よって，クロキンバエがアブラナ科植物を忌避する原因の一つは，TRPA1 の活性化によるものであろうと結論した。

12. 温度感受性 TRP チャネルの細胞応答と調節メカニズムの解明

太田利男，吉村綾乃，高橋賢次（鳥取大学･農学部）
齊藤　茂，富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

TRPV1 及び TRPA1 は，主に侵害受容を担う一次感覚神経に発現する非選択的陽イオンチャネルであり，温度センサーとして働く。これらの機能には種差があることが知られている。ゼブラフィッシュやアフリカツメガエルの TRPV1 活性化温度閾値は哺乳類に比べて低く，また TRPA1 では，齧歯類は冷温感受性を示すが，両生類では熱感受性を示す。しかしながら，それらの詳細な機能的役割は明らかになっていない。そこで，本研究では水棲脊椎動物における温度感受性 TRP チャネルの役割を明らかにするため，低水温環境に生息するアマゴ（*Oncorhynchus masou ishikawae*）を用いて TRPV1 の機能解析を行った。行動解析はビデオトラッキングシステムを用いて，TRPV1 チャネル活性は Xenopus 卵母細胞発現システムを用いた 2 電極電圧クランプ法を用いて行った。

アマゴを用いた行動実験において，TRPV1 作動薬であるカプサイシンは自発運動活性を引き起こした。水温上昇によりアマゴの自発運動は増大し，高温では行動異常が生じた。温度上昇による行動変化は，カプサイシンにより増強された。RT-PCR により，TRPV1 は脊髄に加えて鰓にも発現していた。アマゴ TRPV1 遺伝子を発現させた Xenopus 卵母細胞において，熱刺激は内向き電流を引き起こした。更に，アマゴ TRPV1 発現細胞ではカプサイシンにより内向き電流が生じたが，その感受性は哺乳類 TRPV1 に比べて著しく低下していた。アミノ酸比較により，第三及び第四膜貫通領域にある２つのカプサイシン感受性に関わるアミノ酸が哺乳類と異なっていることが分かった。

これらの結果から，アマゴ TRPV1 は熱および化学物質などの外環境の変化を感知していること，一方，カプサイシンによる感受性は哺乳類に比べて低下していることが明らかとなった。このことから水棲脊椎動物において，TRPV1 チャネルは温度および化学物質の感知により，生存に不利な環境を回避するために機能している可能性が示された。

13. TRP チャネルの温度感受性とアクトミオシン調節

城戸瑞穂，吉本怜子，澤田孟志
（佐賀大学医学部）

皮膚や粘膜は多様な刺激に曝され，その刺激に適応した機能を備えていると考えられているが，未だ不明な点が多い。私たちは口腔上皮に温度感受性 TRP チャネルが機能的に発現し，細胞の増殖や移動，細胞間の結合に関わることを示してきた。しかし，体温近傍の温度で活性化する TRPV チャネルがどのような機構で細胞移動や細胞間の結合を調整するのかは未だその理解の途上にある。本研究では，細胞骨格の中心的分子であり細胞移動の機動力を担うアクチンフィラメントとミオシンフィラメントと TRPV4 チャネルとの関連を明らかにすることとした。

実験には，マウスの口腔粘膜上皮由来の株化細胞あるいは野生型マウスおよび温度感受性 TRPV4 チャネル遺伝子改変マウスから採取した細胞を用いた。細胞移動モデルとして inside out assay あるいは scratch assay を用いて，TRPV4 チャネルの薬理学的刺激や温度刺激を行い細胞挙動を観察した。TRPV4 はアクチンフィラメントと密接な位置的関係を示した。TRPV4 遺伝子欠失マウスから採取した細胞ではアクチンフィラメントの構造は野生型から採取した細胞とは異なっていた。TRPV4 はミオシンフィラメントとより密接な位置的関係を示した。超解像顕微鏡による観察では，アクチンフィラメントの上で，TRPV4 が周期的な局在を示し，アクチンストレスファイバーのサブグループに特に関連した局在を示した。アクトミオシンの微細構造は，間葉系細胞を用いてよく報告されている。上皮細胞においても，間葉系細胞と類似の微細構造を示していること，さらに，アクトミオシンのフィラメント構造と TRPV4 との関連を明らかにすることができた。細胞の移動において，アクチンフィラメントの移動が重要な役割を果たしている。TRPV4 の薬理学的な刺激によりこのアクチンフィラメントの移動を担う構造が変化することが細胞の移動を制御していることを示唆する結果も得られた。

TRPV4 は上皮細胞間の結合を調節する。本研究の成果から，細胞内のアクチンフィラメント，ミオシンフィラメントと TRPV4 が密接な連携を果たすことにより上皮細胞間の結合が円滑に行われていることが示唆された。

14. 拡張型心筋症様の形態異常を呈する *Hoatz* 変異マウス心臓の機能計測

成田啓之（山梨大学）
西田基宏，西村明幸，Xiaokang Tang（生理学研究所）

Hoatzin は運動繊毛の形成と機能に関連する遺伝子である。その変異マウスを作出したところ，ホモ変異型の個体において運動繊毛の異常を原因とする造精機能障害および水頭症を認めたが，加えて拡張型心筋症様の心臓形態異常と，妊娠・分娩時に突然死するリスクが高くなるという予想外の予備的知見を得た。今回我々はその病態解明を目指して *Hoatz* 変異型マウス心臓の非侵襲的超音波イメージングをおこない生理機能を評価した。

動物資源共同利用研究センターに実験に用いるマウスを導入しホモ変異型を得るのに時間を要したため，今年度解析できた 9 週齢マウスの個体数は male *Hoatz*$^{+/+}$ 1 匹，male *Hoatz*$^{-/-}$ 1 匹，female *Hoatz*$^{+/+}$ 1 匹，female *Hoatz*$^{-/-}$ 2 匹であった。野生型とホモ変異型の心機能（左室内径短絡率, 左室駆出率, 僧帽弁レベルの左室流入血流速波形）について，ここまでの時点で顕著な違いは認めていないが，変異型では胸腔内に配置された心臓の軸の傾きが野生型と異なる傾向を認めた。今後は解析個体数を各群 4 匹とし，24 週齢まで経時的に心機能の解析を継続するとともに，心臓の配置に異常が生じる原因を検討する。

15. ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の成熟化過程における微弱電流の役割の解明

黒川洵子，渡邉　倫，加地憲武，坂本多穂（静岡県公立大学法人静岡県立大学薬学部）
石原博美，西村明幸（大学共同利用機関法人自然科学研究機構 生理学研究所）
西田基宏（国立大学法人九州大学／大学共同利用機関法人自然科学研究機構 生理学研究所）

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞は，T 管構造が未発達な未熟型心筋の特性を有し，微弱電流を持続的に印加すると電気的性質や細胞内イオン動態が成熟化する。本研究では，ヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞に微弱電流を印加することによる細胞構造の変化を調べるため，電子顕微鏡で膜やオルガネラの微細構造を観察する。

本研究では，市販ヒト iPS 細胞由来心筋細胞（iCell-cardiomyocyte^2 (iCell-CM^2), Fujifilm Japan）を標本として，ウェルプレート用カーボン電極（内田電子）を用いて微弱電流を持続的に印加したときの分化心筋の成熟化機構を明らかにするため, 細胞レベルの形態機能を解析した。

2022 年度には，iPS 由来心筋高密度培養シートに 3 V/cm の定頻度刺激（1 Hz）を 1 週間行い，刺激なしの細胞と形態機能を比較検討した。

機能解析は, シートの拍動動画からの動きベクトル解析およびシングルセルに再播種した細胞を用いたパッチクランプ解析を行った。自動発火頻度が低下することを拍動解析により示し, 活動電位幅が有意に延長することをパッチクランプ解析により示した。また，10-30 nM のイソプロテレノールを細胞外から添加し, 活動電位波形および L 型 Ca^{2+}チャネル電流の変化を調べた。これまでに，げっ歯類の成体心室筋細胞にある β アドレナリン受容体が刺激されると, L 型 Ca^{2+}チャネルの電位感受性が亢進し電流密度が増大することが示されてきた。一方，ヒト iPS 細胞由来心筋細胞では，β アドレナリン受容体による調節が未発達であり, L 型 Ca^{2+}チャネル機能変化が小さいことが知られている。今回，1 週間の定頻度刺激を行うことにより，イソプロテレノールの添加により L 型 Ca^{2+}チャネルの電位依存性が低電圧側にシフトし電流密度が増大した。この結果は，微弱電流の印加によって，β アドレナリン受容体による調節の成熟化を示唆した。

次に，電子顕微鏡画像により電気刺激の影響があるかどうかを調べた。ミトコンドリアの巨大化および筋小胞体形成の徴候が認められた。しかしながら，1 週間刺激では形態的変化が安定しない傾向があった。

以上の細胞レベルの形態機能的解析により，持続的定頻度刺激の印加によるヒト iPS 細胞由来心筋細胞の成熟化機構の一端を明らかにした。

16. マウス心筋前駆細胞 ACMs の起源および生理的意義の解明

尾松万里子（滋賀医科大学生理学講座細胞生理学部門）
西田基宏（心循環シグナル研究部門）

心臓は血液を循環させるポンプとして働く臓器であり，筋収縮に係る心筋細胞がその主役である。一方，心臓を構成する細胞には心筋細胞以外にも種々の細胞が含まれることが知られている。申請者らは，マウスの心臓を酵素処理して得られた細胞群の中に拍動する新規の細胞を見出し，「非定型心筋細胞（Atypically-shaped cardiomyocytes, ACMs）」と命名した。この細胞の機能解析を進めてきた結果，ACMs は，心室筋，心房筋および洞房結節細胞の特徴を併せ持つ心筋前駆細胞の一種として, 胎生期心筋の特徴を維持しながら終生にわたって心臓に存在すること, 幹細胞ではなく，既に心筋細胞への分化過程を経ている“心筋細胞の一種”あるいは，“心筋細胞の亜集団に属する細胞”であることが明らかになった。

ACMs は心筋間質細胞群を培養し，その中から特徴的な形態と自発的拍動によって顕微鏡下で同定しており，この細胞を特異的に標識する手法を確率することは大きな課題の一つであった。心筋細胞では細胞膜に有用で特異的なマーカータンパク質が知られていないこともあり，ほとんどの場合，転写因子や収縮タンパク質の発現によって心筋細胞の同定が行われている。ACMs も同様で，

これまで，細胞膜に発現するプリオンタンパク質および心筋特異的収縮タンパク質の両方を共発現し，かつ心筋細胞の間隙に局在する小型細胞を ACMs とする方法を用いてきたが, 煩雑であり, 生細胞には応用できなかった。

今回，ACMs が心室筋組織から発見されたにも関わらず心房筋細胞に特異的に発現する心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）を常に発現していることに注目した。ANP のプロモータ下で GFP を発現するコンストラクト（pANP-GFP）を作製し，アデノウイルスベクターを用いてマウスに発現させることによって，心臓に局在する ACMs を同定することに成功した。固定した心臓組織標本における GFP の蛍光を可視化することにより, 心臓に ACMs が存在することを確認し，さらに肥大心において GFP シグナルを持つ細胞数が増加傾向にあることが明らかになった。これらの結果は，病態心において ACMs が既存の心筋細胞と融合する可能性を示唆するものである。今後の課題は，実験数を増やすことによって統計的に意義のあるデータを得ることである。

17. ダウン症モデルマウスの先天性心奇形の病態メカニズム解析

石原慶一（京都薬科大学・薬学部・病態生化学分野）
西村明幸，西田基宏（生理学研究所・心循環シグナル研究部門）

ダウン症候群（DS）は，通常 2 本の 21 番染色体が 3 本となり発症する先天性の染色体異常症である。DS 患者ほぼ全てにおいて扁平な顔貌といった特徴的顔貌や知的障害，また筋緊張の低下といった症状がみられる。これに対し，白血病の発症などはその発生頻度の亢進が認められる。DS 患者においてよく見られる循環器系異常としては，心内膜欠損症，房室中隔欠損症，心房中隔欠損症，および心室中隔欠損症などを代表とする先天性心奇形の発生が高いことが挙げられるが，全ての患者で認められるわけではない。心奇形を伴わない患者の心機能についての研究は限定的ではあるが，最近，正常ではないとの報告もあり，本研究では，DS モデルマウスを用いて，心奇形を伴わない心機能低下について検証した。

マウスの 10 番，16 番および 17 番染色体の一部は，ヒト 21 番染色体と相同の領域を含んでおり, なかでもマウス 16 番染色体はヒト 21 番染色体の大部分と相同であることからマウス 16 番染色体を 3 コピーもつマウスが DS モデルマウスとして広く使用されている。我々は，この相同領域（約 110 遺伝子をコード）の全てを 3 コピーもつ Dp(16)1Yey マウスとより短い領域をトリソミー領域（約 70 遺伝子をコード）として 3 コピーもつ Ts1Cje マウスを用いて解析を行った。まず，生理学研究所において Dp(16)1Yey マウスの繁殖を行い, 5 週齢マウスの心拍解析を超音波高解像度イメージングシステム（Vevo 3100 Imaging system）により行った。その結果，Dp(16)1Yey マウスの弱い左室収縮機能が示唆された。また，Ts1Cje マウスは 1 匹の解析しかできていないが，弱い左室収縮機能が認められたので, さらに解析個体数を増やしている。

西田らのグループは心機能における亜鉛を代表とする生命金属の役割を示唆しており，また，石原らは DS モデルマウス脳で生命金属である銅の蓄積を見いだしていることから，本研究でみられた 5 週齢の Dp(16)1Yey マウスの心機能低下において生命金属の異常の関与を考えた。そこで，5 週齢の Dp(16)1Yey マウスの心臓に含まれる元素を ICP-MS にて定量したが，有意な量的変動がみられる元素は検出されなかった。今後は，発現遺伝子の変動を解析し, DS での心機能低下関連分子の同定を行う予定である。

18. カルシウムチャネル TRPC3/C6 を標的とした腎疾患の治療法確立

山本毅士（大阪大学大学院医学系研究科腎臓内科学）
西田基宏（生理学研究所心循環シグナル研究部門）
森　誠之（産業医科大学医学部生体物質化学）
西村明幸，石原博美（生理学研究所心循環シグナル研究部門）

高齢化や生活習慣病増加に伴い，慢性腎臓病（CKD）および透析患者数は年々増加し医療的にも社会的にも問題となっている。近年，腎臓病学の新たな領域としてがんとの関わりを捉えた「Onconephrology」が注目を集めている。日本だけでも抗がん薬としてプラチナ製剤の処方箋数は年間 100 万件を超える。抗がん薬使用時には高頻度に急性腎障害（AKI）を発症するが AKI が CKD に移行し腎機能が十分回復しなければ治療継続が困難になり生命予後が悪化する。

オートファジーはリソソームにおける細胞質成分分解の総称であり，研究代表者らはこれまで腎疾患におけるオートファジーを研究し，虚血再灌流障害・シスプラチン腎症など AKI，老化・肥満といった CKD における保護的役割を報告してきた。

AKI は腎および生命予後を規定する重篤な病態であり，近年, 腎近位尿細管の脂質代謝異常の病的意義が注目されている。研究代表者は以前，オートファジーによる脂肪滴分解（リポファジー）が飢餓時の近位尿細管で脂肪滴軽減と脂質代謝に寄与することを報告した（Autophagy 2017）。一方，Transient Receptor Potential（TRP）チャネルは脂質膜上に存在する膜蛋白で, TRPC3/6 はヘテロテトラマーを形成し Ca を流入させ，種々の腎疾患に関与する。

本研究では新規 TRPC3/6 阻害薬 L862 の AKI に対する有効性を検討した。シスプラチン投与は近位尿細管 TRPC6 の発現を増加させた。一方，L862 は DNA 損傷・酸化ストレス・フェロトーシス・炎症を含むシスプラチン腎障害を軽減した。脂質に着目した評価では，L862 は脂質代謝異常を改善し脂肪滴蓄積を軽減した。L862 はシスプラチンによるリソソーム障害とオートファジー停滞を解消し，電子顕微鏡では障害時の近位尿細管でもリポファジーが観察された。

以上より L-862 は，オートファジー停滞を解消し一部リポファジーを介した脂質代謝により AKI 病態を改善させることがわかった。

19. ミトコンドリアダイナミクスに注目した重金属および金属含有薬物による腎障害誘発機構の解析

藤代　瞳（徳島文理大学）

カドミウム（Cd）は, 腎障害を引き起こし, リン酸（Pi）やカルシウムなどの再吸収障害を起こすことが知られているが，その機構は不明な点が多く残されている。私たちは，これまでに Cd-Metallothionein (MT) 複合体投与により，腎障害を誘発し，再吸収障害を引き起こすことができる条件を明らかにしている。本モデルは Cd-MT 投与によって腎臓内に短時間に free Cd ion が発生し，腎臓皮質の近位尿細管に障害が生じるモデルであると考えられる。Cd-MT 投与後に，ミトコンドリアの分裂・融合を制御する Sirtuin 3 や OPA1 などのタンパク質の発現変化を見出したため，Cd-MT 投与による腎臓のミトコンドリアの形態変化を調べることにした。ICR 雌マウスに Cd-MT を 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 mg Cd/kg 投与マウスの腎臓を摘出し，ミトコンドリア形態異常が起こるかどうか，電子顕微鏡で解析した。

Cd-MT 投与により腎臓のミトコンドリアは，細胞によって障害の程度が異なっており，著しい障害が見られるミトコンドリアとあまり障害されていないミトコンドリアがヘテロに混在していた。また，Cd-MT 投与濃度依存的に障害を受けているミトコンドリアの割合が増加していた。Cd-MT 投与によりミトコンドリアの密度が減少し，ミトコンドリア膜は障害を受け，脱落が認められ，

形態がいびつになっていることが観察された。Cd-MT 0.2 mg/kg 投与群以上の濃度では，クリステが崩壊しているミトコンドリアも観察された。最も高い投与濃度である 0.3 mg/kg 投与群では細胞の空砲化も観察された。

以上の結果より，マウス腎臓で見られたミトコンドリア形態制御に関わる因子の発現変化が起こっていたが，電子顕微鏡による解析により，マウスへの Cd-MT 投与腎臓ではミトコンドリアの形態および膜の障害が観察された。今後，Cd によるミトコンドリア障害機構と Cd による再吸収障害発症との関係を明らかにしていきたい。

20. プリン作動性受容体 P2Y6R を標的とした慢性炎症の新規治療法の開発

西山和宏（九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野）

[目的]

これまで，我々はプリン作動性受容体である P2Y6R が心臓や消化管の恒常性維持に重要であることや，機能性食品成分の中のイベリンやスルフォラファンなどのイソチオシアネート（ITC）が Cys の修飾を介して P2Y6R を内在化，分解することで消化管の炎症が制御されることを見出した。加えて，活性硫黄分子種（RSS）が心筋の虚血再灌流傷害を抑制することや腸粘膜上皮では RSS の産生が多く，RSS により P2Y6R のシグナルが抑制されることも明らかにしており，タンパク質の超硫黄化が腸および心臓の恒常性維持に重要なシグナル伝達機構である可能性を示しつつある。本研究では，まず，腸内環境恒常性維持における超硫黄の役割を明らかにする。さらに，超硫黄を介したシグナル伝達を軸に心臓の恒常性維持における腸内環境の役割を検証する。

[方法] C57BL/6J マウスから腸管を取り出し，SSip1 を用いた超硫黄イジージングを実施し，腸管における超硫黄の分布を確認する。また，デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘発大腸炎モデルにおける超硫黄の産生酵素である CARS2 の発現量を qPCR にて検討した。

[結果]

腸管においては上皮から筋層まで，超硫黄のシグナルが確認された。中でも腸粘膜上皮や腸管神経叢においてより強く確認された。一方で，DSS 誘発大腸炎では CARS2 の発現が減少することが明らかとなった。

[結論]

本研究の結果より，腸管において超硫黄が存在していることが明らかとなった。さらに，炎症時にも影響を与える可能性が考えられた。今後は，野生型マウス（WT）および超硫黄の産生酵素である CARS2 のノックアウトマウスに対してデキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎モデルを用いて，慢性炎症における超硫黄の役割を明らかにする。

21. 嗅覚から消化器応答にいたる神経回路のマッピング

村田航志（福井大学学術研究院医学系部門 脳形態機能学分野）

本研究では食べ物の匂い感覚で胃液および唾液が分泌される神経機構の解明を目指す。シナプス接続に沿ってニューロン群を多段階逆行性標識する仮性狂犬病ウイルス（pseudorabies virus, 以下 PRV）を用いて，嗅覚中枢から胃および唾液腺を支配する自律神経の脳内出力核に至る神経回路の全体像をマッピングする。

前年度に引き続き，蛍光タンパク質を発現誘導する PRV を成体マウスの胃壁もしくは顎下腺に注入し，感染・標識された脳内ニューロン群の分布を評価した。注入から 2-3 日後の標本を観察すると，標識されたニューロン群は迷走神経背側運動核または上唾液核に限局する場合が多く見られた。注入から 3-4 日後では標識ニューロン群の分布は視床下部，扁桃体領域へと広がりを見せた。注入から 4-5 日後では，大脳皮質嗅覚野および島皮質，内側前頭前皮質で標識ニューロン群が観察された。視床下部および扁桃体では，胃壁注入 PRV と顎下腺注入 PRV の両方に感染したニューロン群も観察された。本研究で見出された胃壁・唾液腺の上位に位置すると考えられるニューロン群の操作実験を実施し，胃液および唾液分泌の制御に関わる神経回路と嗅覚野の関与を明らかにすることを今後の課題とする。

22. 末梢臓器支配の神経経路解析

檜山武史（鳥取大学）

自律神経は様々な末梢臓器を支配しているが，その信号が一様なのか，臓器ごとに異なる信号を送っているのか，結論は出ていない。もしも，臓器ごとに異なる信号を送っているのであれば，中枢から臓器に至る伝達経路も臓器ごとに独立している可能性がある。本研究は，軽シナプス性に逆行性に伝播する仮性狂犬病ウイルス（PRV）を用いて臓器から上位中枢に至る経路を標識し，由来臓器ごとの経路を比較することを目的に実施した。

前腕骨と胸骨の骨髄にそれぞれ GFP と RFP を発現する PRV を注入し，神経節や上流の中枢神経回路を観察した。さらに，骨髄に遺伝子導入したマウスの交感神経節のうち，上頸神経節を取り出し，酵素処理によって細胞を単離した後，シングルセル RNASeq 解析を実施した。

また，腹腔神経節から投射する臓器の中から複数の臓器を選び，PRV を投与して GFP や RFP の腹腔神経節における発現分布を解析した。

次年度以降，PRV を用いて，さらなる解析を進める予定である。

23. Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drug (DREADD 法) および Optogenetics を用いた脳排便中枢の局在および役割の解明

田中義将（九州大学病院 肝臓・膵臓・胆道内科）

【背景・目的】直腸平滑筋や肛門括約筋の収縮・弛緩には神経系の関与が報告されている。それらの中枢としては，動物においては橋排便中枢の重要性が報告されている。一方で橋排便中枢の中でいずれの神経が運動を支配しているのか，また，更なる上位中枢の局在や役割など未だ不明な部分が多い。本研究は排便中枢の局在および役割を明らかにするとともに，新たな便秘治療選択肢を創造する研究である。

【方法・結果】

（1）肛門への仮性狂犬病ウイルス(PRV)注射による排便中枢候補の同定

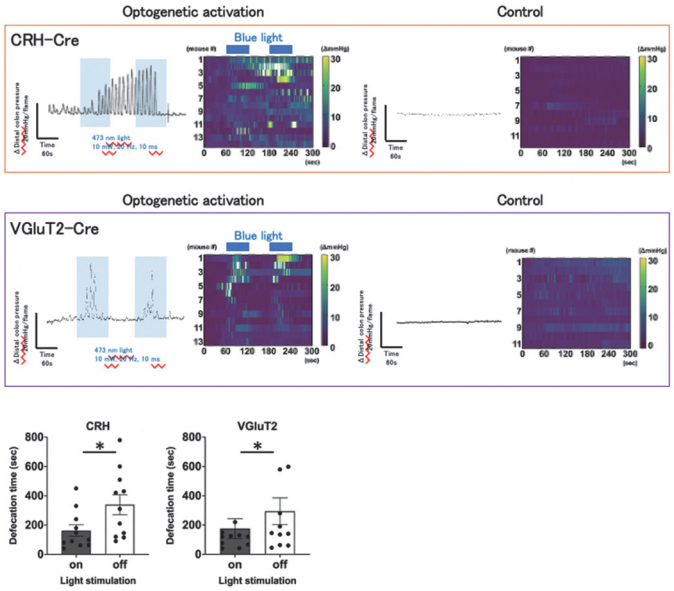
逆行性感染を引き起こす PRV を肛門に注射したところ感染は多領域において確認され，既報においては Bar, LC が排便中枢として機能するとした報告が散見されるが今回の実験においても同様に多数確認された。そこで，まずは Bar, LC に対して光遺伝学的手法を用いて排便に対する機能的意義の解明することとした。

（2）排便中枢への ChR2 発現および光照射による肛門内圧の測定および排便状況の確認

Bar, LC を標的として遺伝子改変マウス（VGluT2-cre, CRH-cre, TH-cre）を準備したのちに光遺伝学的手法を用いた。評価方法としては内圧測定プローブを挿肛し，遠位結腸内圧を測定するとともに肛門よりビーズを挿入しその排泄時間を測定することとした。下図のように CRH/VGluT2 cre マウスに対する光刺激は遠位結腸内圧上昇・排便時間短縮を認め，CRH/VGluT2 活性化が排便に関与することが示唆された。一方，同様に TH-cre マウスに対する光刺激をしたところ遠位結腸内圧不変・排便時間不変であり，TH 活性化は排便に影響しないことが示唆された。以上より排便中枢として機能するのは LC ではなく，Bar であり，その CRH と VGluT2 発現ニューロンが排便に関与すると考えられた。

さらに光刺激後の内圧上昇までの時間や内圧上昇回数等にて比較すると，Bar-CRH の刺激では遅延型かつ持続性の腸管収縮が認められ，排便開始後の持続的な蠕動に関与していることが示唆される一方で，Bar-VGluT2 の刺激では即時型かつ非持続性の腸管収縮が認められ，排便開始時の蠕動に関与していることが示唆された。

【今後の方針】現在排便上位中枢の探索および Fibar photometry 法を用いた排便中枢評価を進めている。



24. Na ポンプ遺伝子変異を原因とする神経疾患の病態生理基盤

池田啓子（東京工業大学・科学技術創成院・生体恒常性ユニット）
佐竹伸一郎（生理学研究所・時系列細胞現象解析室）

Na ポンプ α サブユニット遺伝子の変異は，様々な神経症状（ジストニア，片麻痺，痙攣等）を引き起こす。こうした症状が身体的･精神的ストレスを引き金として誘起される点は，他の神経疾患には見られない「Na ポンプ遺伝子関連神経疾患」の特徴である。私たちが作製した α サブユニット遺伝子ノックアウトマウスは，熱刺激など身体ストレスの付加により脳内アスコルビン酸濃度が有意に低下すること，運動障害・痙攣等の神経症状が発現することを報告してきた。また同マウスでは，ストレス負荷の無い条件においても，基底核や小脳の神経回路の動作異常があることを見出している。身体的・精神的ストレスに伴う神経回路動作の変容とその分子的背景を明らかにすることを目的として，熱ストレス付加後に小脳と扁桃体において電気生理学的・組織学的解析を行い，α サブユニット遺伝子欠損ヘテロマウスと野生型を比較した。週齢や体重の違いによって，個体毎に熱ストレスの影響（運動障害のおこりやすさ）が異なっていたため，熱への暴露方法を調整した。小脳と扁桃体よりスライス標本を作製し，パッチクランプ法を用いてシナプス伝達特性を観察している。また，抗痙攣薬やカルシウム拮抗薬がニューロンの電気的特性におよぼす影響を調べている。現時点では，ヘテロ欠損マウスと野生型の間で有意な差異は認められていない。引き続き，週齢を変えるとともに，例数を増やして実験を行う予定である。一方，α サブユニット遺伝子欠損ヘテロマウスでは，野生型と異なり，軽微なストレス付加で血圧が上昇することを新たに見出した。今後は，血圧や脈拍数の上昇をストレス反応の指標として，自律神経系に焦点を当てて免疫組織学的に観察することを計画している。

25. 情動行動における電位依存性カリウムチャネル KCNQ2 の分子病態基盤の解明

坪井大輔，貝淵弘三（藤田医科大学 総合医科学研究所）
大塚　岳（生理学研究所 脳機能計測・支援センター）

うつ病や統合失調症などの報酬回路の障害は，ドーパミンのシグナル伝達の機能障害と関連していることが知られている。これまでに我々は，ドーパミンが PKA/Rap1/ERK 経路を介して側坐核（NAc）の D1 受容体（D1R）発現中棘ニューロン（MSN）の興奮性と発火率を高め，報酬行動を促進させることを報告した。本研究では，D1R アゴニストである SKF81297 が，マウス NAc スライスにおいて KCNQ を介した電流を阻害し，D1R-MSN の発火率を上昇させることを示し，その効果は ERK 阻害により消失することを明らかにした。In vitro の ERK は KCNQ2 を Ser414 と Ser476 でリン酸化し，in vivo では NAc スライスのドーパミンシグナル下流で KCNQ2 がリン酸化された。D1R-MSN における Kcnq2 の条件付き欠失は，KCNQ チャネル活性に対する SKF81297 の抑制効果を減少させる一方で，神経細胞の興奮性とコカイン誘発性報酬行動を増強した。これらの効果は，リン酸化欠損 KCNQ2 ではなく野生型によって回復された。これらの結果は，D1R-ERK シグナルが KCNQ2 リン酸化を介して MSN の興奮性と報酬行動を制御していることを示唆しており，KCNQ2 は報酬回路の機能障害と神経細胞膜興奮性の変化を伴う精神疾患の治療標的となる可能性を。本シグナル伝達経路や KCNQ チャネルの活性を調節する薬物が，うつ病を含む気分障害に対して治療候補薬となることが期待される。コカインのような中枢神経刺激薬は強い薬物依存性を持つことから，薬物乱用に対する社会問題も大きな課題となっている。今後，ドーパミン−KCNQ2 シグナル伝達経路が薬物による強迫的欲求に関与するかについて明らかにすることで，薬物依存に対する新たな治療戦略としても期待される。

26. 神経積分器と小脳を結ぶ神経回路の解明

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）

視覚を適切に働かせるには視線を保持することで視覚対象を網膜上で静止させる必要がある。視線の保持には脳幹の神経積分器が主とした役割を担うが，それに加えて神経積分器と前庭小脳との神経回路もその機能に重要である。水平系の神経積分器である舌下神経前位核（PHN）から前庭小脳（VC）へは直接投射していることが明らかにされているが，垂直系の神経積分器であるカハール間質核（INC）からの投射経路は調べられていない。これまでの我々の研究より INC は VC に直接投射していないことを示唆するデータを得ているので，本研究では間接的な INC-VC 経路の解剖学的な知見を得ることを目的とした。狂犬病ウイルスを使用したトランスシナプス標識法を用いて，INC から VC への経路は PHN または内側前庭神経核（MVN）を経由している可能性について調べた。狂犬病ウイルスの糖タンパク質（G）を発現する AAV2retro ウイルス，TVA と GFP を発現する AAV2retro ウイルスをラットの片側の小脳片葉に注入した。3 週間後に，EnvA で偽型した RFP を発現する G 欠損狂犬病ウイルスを同じラットの PHN と MVN の片側に注入した。5 日の生存期間後灌流固定し，脳組織標本を観察した。その結果，PHN と MVN において片葉に投射するスターターニューロンが観察され，スターターニューロンから狂犬病ウイルスの逆行性経シナプス感染を受けた RFP 陽性細胞が INC の両側に観察された。RFP 陽性細胞の分布を調べたところ，INC における左右差はなかったが，INC の尾側よりも吻側に RFP 陽性細胞が多く存在した。本研究の結果とこれまでの我々の結果より，INC から VC への直接投射の可能性は低いこと，INC から VC への神経接続は PHN と MVN を経由して間接的に行われていることが強く示唆された。

27. マウス視覚野 2/3 層錐体細胞ーパルブアルブミン陽性細胞間シナプス形成における クラスター型プロカドヘリンの機能的役割の解明

足澤悦子（大阪大学大学院生命機能研究科）

大脳皮質視覚野 2/3 層のパルブアルブミン陽性抑制性細胞（PV 陽性細胞）は近傍にある錐体細胞と比較的高い割合で双方向性結合することが知られている。本課題では，これらの細胞間の結合関係を詳細に解析した。野生型マウス視覚野よりスライス標本を作成し，同時ホールセル記録法を用いて, PV 陽性細胞と錐体細胞間のシナプス結合を解析した結果，１）近傍の錐体細胞と双方向性結合を高い割合で形成する PV 陽性細胞と，２）錐体細胞と一方向性の抑制性結合を形成する PV 陽性細胞が存在することを見出した。この２種類の結合タイプ形成に関与する分子メカニズムを明らかにする目的で，細胞接着分子の一つであるクラスター型プロトカドヘリンに着目した解析を行った。クラスター型プロトカドヘリンサブユニットの一つである cPcdhγを PV 陽性細胞特異的に欠損させたところ, PV 陽性細胞由来の抑制性シナプスは形成されていたものの，高い割合で双方向性結合あるいは一方向性の抑制性結合を形成する PV 陽性細胞はみられず, PV 陽性細胞が上述の２種類の結合タイプには分かれない結果を得た。これらの結果は，PV 陽性細胞に発現するクラスター型プロトカドヘリンが抑制性シナプス結合特異性の規定に関与することを示唆する。

28. 発達期 DGL ノックアウトマウスにおける抑制性シナプス入力の測定

亀山克朗，畠　義郎（鳥取大学医学部）
米田泰輔，吉村由美子（生理学研究所）

内因性カンナビノイドは脳内においてシナプス伝達の調整に関わっていると考えられており，内因性カンナビノイドとしては anandamide, 2-arachidonoylglycerol (2-AG), N-arachidonoyldopamine などさまざまな種類が知られている。これらのうち，2-AG の合成酵素 diacylglycerol lipase-α (DGLα) をノックアウトしたマウスにおいて，我々は大脳皮質視覚野でみられる臨界期可塑性が通常マウスとは異なるふるまいを示すことを *in vivo* 実験で明らかにしている。

そこで本研究では，この *in vivo* でみられる可塑的変化が, 本当に内因性カンナビノイドによるシナプス伝達の調整に起因するものかを検証するため，*in vitro* でシナプス入力の測定を行った。内因性カンナビノイドの働きとしては, シナプス後細胞が興奮したときに後細胞から内因性カンナビノイドが放出され, シナプス前細胞にあるカンナビノイド受容体と結合し, 前細胞からの神経伝達物質の放出を抑える働きがあることが知られている。また，カンナビノイド受容体は抑制性シナプス前終末に比較的多く存在していることから, 本研究では興奮性ニューロンに対する抑制性シナプス入力を測定することとした。

マウス大脳皮質視覚野のスライス標本を作製し, 2/3 層ならびに 4 層興奮性ニューロンからホールセルパッチ記録を行い，微小抑制性シナプス後電流（mIPSC）を計測した。その結果，mIPSC の発生頻度が通常マウスと比べ DGLα ノックアウトマウスでは，2/3 層において生後 17 日齢で上昇，21 日齢で差はなく，26 日齢では減少していた。一方 4 層においては，生後 17，21 日齢で上昇，26 日齢では差がなかった。さらに通常マウスのスライス標本にカンナビノイド受容体の inverse agonist である AM251 を投与すると，生後 17 日齢の 2/3 層, および生後 21 日齢の４層で，mIPSC 発生頻度の上昇が観察された。これらの結果から，カンナビノイドによる抑制性シナプス伝達の調整機能の発達は，大脳皮質の層によって時期が異なることが明らかとなった。これらの結果は第 45 回日本神経科学大会，ならびにシンポジウム“Development and Plasticity of the Brain”にて報告した。

29. 聴覚系の大脳皮質-大脳基底核ループの神経回路の解明

冨岡良平（熊本大学大学院生命科学研究部）
宮下俊雄（帝京大学医学部）

大脳皮質と大脳基底核の神経回路においては，主に運動系システムが研究されてきた。ところで，教科書・学術論文において，『線条体は様々な大脳皮質領野から入力を受けている』と記載されているように，感覚系システムも大脳基底核と関係している事が類推される。大脳皮質聴覚野も線条体に投射しているが，聴覚システムの大脳基底核の神経回路とその機能は未だ明らかでない。そこで，聴覚野関連の大脳基底核回路の解明を試みたところ，淡蒼球外節 GABA ニューロンが聴覚野に投射している事が分かった。本課題では，この淡蒼球外節 GABA ニューロンへのシナプス入力を持つニューロン（シナプス前ニューロン）を同定することで，聴覚システムの大脳基底核回路を明らかにすることを目標とした。

シナプス前ニューロンの同定は，淡蒼球外節 GABA ニューロンに感染させた膜タンパク（RG）欠損偽型狂犬病ウィルス（PRV）の越シナプス感染により行った。これまでの実験では，Cre 依存的に TVA-mCherry 及び RG を発現する AAV ウィルスを VGAT-Cre マウスの淡蒼球外節へ微量注入し，淡蒼球外節に TVA-mCherry と RG を発現させた。3 週間後に PRV を大脳皮質聴覚野へ注入し，淡蒼球外節 GABA ニューロンの軸索に発現している TVA 経由で PRV を感染させ，淡蒼球外節 GABA ニューロンのシナプス前ニューロンを越シナプス的に GFP で標識した。これまで 3 個体の淡蒼球外節においてスター細胞を確認しており，以下に述べるように，シナプス前ニューロンを解析が可能になった。

これまで約 9 割のシナプス前ニューロンが線状体に分布していることが確認できた。ところで，線条体の投射ニューロンは直接路・間接路に分かれているので，淡蒼球外節 GABA ニューロンがどちらから特異的に入力を受けているのかを検証した。直接路のマーカーとしてプレプロダイノルフィン，間接路のマーカーとしてプレプロエンケファリンを用いて，GFP 標識されたシナプス前ニューロンの神経化学的特性を調べた。淡蒼球外節は間接路の神経核として知られているため，主にプレプロエンケファリン陽性であろうと予想していたのだが，結果は両者から入力を受けていた。以上の結果から，聴覚システムの皮質-大脳基底核ループは，運動系システムのループと異なる神経回路であることを示唆している。

本課題により，聴覚システムの大脳基底核の神経回路を明らかにし，聴覚システムにおける大脳基底核の役割を解明する基盤を構築する。

30. がんの骨浸潤・骨破壊のイメージング解析

谷村明彦[1]，根本知己[3]，根津顕弘[1]，島谷真梨[2]，仙葉慎吾[1]，大友康平[3]
（[1]北海道医療大学 歯学部 薬理学分野，[2]北海道医療大学 歯学部 組織再建口腔外科学分野
[3]生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門）

がんは成長過程において周囲の正常細胞を取り込んで増殖・転移のサポートに利用することが知られている。また口腔悪性腫瘍においてしばしば認められる骨浸潤や骨破壊では，がん細胞が放出する因子による破骨細胞への直接作用や，骨芽細胞を介する作用によって骨吸収が促進する。

本研究は，蛍光物質を使って細胞および骨基質の石灰化部位をラベルし，硬組織透明化技術や in vivo ライブイメージング技術を用いて，がん微小環境と骨浸潤の過程を 3 次元的に明らかにし，骨浸潤におけるがん細胞と宿主細胞の相互作用の明らかにする研究を計画した。

この研究では，まずがんによる骨破壊･浸潤の課程を 3 次元的に明らかにするために，骨形成部位に沈着するカルセインとアリザリンレッドを腹腔内に投与したマウスの頭部に，マウス扁平上皮がん細胞（SCC7）を移植した。その 2 日から 20 日後にテトラサイクリンを投与し，その

翌日に頭頂骨を摘出してパラホルムアルデヒドで固定した。

これらのサンプルを SCALEVIEW-S4 で透明化して，共焦点レーザー顕微鏡あるいは多光子レーザー顕微鏡で立体構造を観察した。

共焦点レーザー顕微鏡で立体構造を観察すると，骨成長に伴うカルセイン（緑），アリザリンレッド（赤），テトラサイクリン（青緑）の層が観察され，がんの浸潤に伴って，これらの蛍光の消失が観察された。また自家蛍光を使って細胞を可視化すると，これらの蛍光消失部位に細胞の浸潤が確認された。

これらの観察では，骨の深部に沈着したカルセインよりも，表層に近いアリザリンレッドの蛍光消失が大きい事から，表層から深部に向かって骨破壊が起こることが示唆された。また，がん組織に接する部分においてテトラサイクリンの蛍光が大きく消失していたことから，がん細胞による骨形成抑制作用が示唆された。

さらに多光子レーザー顕微鏡を使った第 2 高調波発生で骨のコラーゲンを可視化すると，骨破壊部位におけるコラーゲンの消失が確認された。脱灰がコラーゲンの消失に先行することが示唆された。

このがん浸潤における宿主細胞とがん細胞の相互作用を明らかにするために，GFP マウスおよび td-Tomato 発現 SCC7 細胞を使った実験を行った。この実験では，宿主に由来する GFP 陽性細胞による血管形成が観察され，骨破壊部位に血管や破骨細胞様細胞を含む GFP 陽性細胞が多数観察された。

今後，多光子レーザー顕微鏡を使って，骨組織の培養条件でのがんによる骨破壊と細胞間相互作用を計画している。

31. 生体組織－浸液間にフィットする高分子ナノ薄膜の物性制御とイメージングツールへの応用

岡村陽介（東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター／工学部応用化学科）
高橋泰伽，根本知己（生理学研究所・バイオフォトニクス部門）

生体組織をイメージングする際, カバーガラスを介して観察するのが常套手段であるが, 多くの課題（乾燥・炎症・観察窓サイズの限定等）も残されている。他方，高分子ナノ薄膜は，ナノ厚特有の高い接着力が発現し，接着剤なしで生体組織に貼付できる。これまで，フッ素系高分子（CYTOP®, AGC 社製）からなる撥水性ナノ薄膜で組織をラッピングすると組織の乾燥を抑制できること（*Adv. Mater.* **29**, 1703139 (2017)），ナノ薄膜表面に生体適合性を有するポリエチレングリコール（PEO）で親水化すると，生体脳に密着するためソフトな観察窓となり, 神経細胞を広範囲にイメージングできることを実証してきた（*iScience* **20**, 101579 (2020)）。本研究では，生体組織により密着する撥水性ナノ薄膜の表面改質法を検証し, ソフト観察窓への応用の可能性を探る。具体的には，親水界面に対して優れた接着性を発現するポリドーパミン（PDA）に着目し，撥水性ナノ薄膜に被覆した。

シリコン基板上に水溶性犠牲層（ポリビニルアルコール: PVA, 10 mg/mL），CYTOP 溶液の順にスピンコートした。次いでドーパミン水溶液（2 mg/mL, pH 8.5）に基板を浸漬させた。純水に浸漬したところ，犠牲層の PVA が瞬時に溶解し，PDA-CYTOP ナノ薄膜が回収できた（膜厚: 133 ± 7 nm）。得られたナノ薄膜の水接触角を測定したところ，未改質体（114 ± 1 º）と比較して顕著に減少し親水化されたことから（44 ± 2 º）, CYTOP ナノ薄膜表面に PDA が確実に修飾されたと判断した。また，湿潤界面に対する接着性試験を行ったところ，従来の PEO 修飾体と比較して，PDA 修飾体は 25 倍程度向上していた。最後に，PDA-CYTOP ナノ薄膜をマウス生体脳に貼付した。この時, PDA 層の修飾により親水化されているため, 脳表に密着していた。また，ナノ薄膜自体は撥水性を示すため，浸液を透過させないバリア層として機能することも確認した。PDA 由来の可視光吸収特性により, 画像が暗くなることは確認されたが，神経細胞のイメージングは可能であった。従って，PDA-CYTOP ナノ薄膜はイメージングツールに応用できる可能性を実証した。現在，浸液側にもフィットするナノ薄膜の表面改質法を検証している。

32. 掃引共焦点平面励起顕微鏡システムに関する共同研究

木村幸太郎（名古屋市立大学大学院理学研究科）
根本知己（生理学研究）

申請者・木村は線虫 C. エレガンスを対象として，自動追跡型ロボット顕微鏡（Tanimoto et al., eLife, 2017）や全脳神経活動計測のための人工知能技術（Wen et al., eLife, 2021）を世界に先駆けて開発し，また多色蛍光による神経回路解明技術（Yemini et al., Cell 2021）など最先端の技術を導入することで，独創的な立場から「刺激～神経活動～行動」の関連を明らかにしてきた。

本研究では，生体活動イメージングの世界的第一人者である根本知己教授の協力の元に，超高速三次元イメージング顕微鏡システム SCAPE 2.0（Voleti at al., Nat Meth, 2019）をこれまでに開発した自動追跡顕微鏡ステージと統合することで，脳全ての神経細胞活動と行動を網羅的かつ自動的に計測する世界で唯一の統合型顕微鏡システムを開発する。これにより，線虫の刺激応答や学習に関わる重要な神経細胞活動の伝達経路と行動との関連を完全に解明し，高等動物などの脳情報処理の理解へ発展させることを目指している。

本年度は，SCAPE2.0 の開発者である米国コロンビア大学の Elizabeth Hillman 教授の研究室を訪問して，未発表の最新バージョンを何台か見学し，また未発表バージョンの 1 つのシステム確立用マニュアルを入手した。現在，パーツの購入を始めている。

また，本システムで観察するための線虫株を新たに確立した。Yemini らによって報告された線虫株では我々が行っている化学刺激への応答が悪いことが判明したので，新たな株を作成し，この株の化学走性応答行動および感覚ニューロンの応答性に関して，従来の株よりも大きく改善していることを明らかにした。

33. 2 光子励起顕微鏡を用いた先進的生体がんイメージング法の開発

今村健志（愛媛大学 大学院医学研究科）

蛍光イメージング技術をがん研究領域に応用した先進的研究を行ってきた研究代表者今村健志が，生理研において先進的生体２光子励起蛍光顕微鏡システムを構築している共同研究受入教員根本知己と共同で，がんにおける革新的蛍光イメージングを実現するために，生理研に設置されている２光子励起蛍光顕微鏡を用い，がんの発症・転移過程を生体で観察・解析する新たなテクノロジーの開発を目指した。

2022 年度前半までは，新型コロナ感染症蔓延のために研究代表者の生理研訪問が困難であったので，生理研と愛媛大学のそれぞれで，基礎検討や材料の準備を行なった。2022 年度後半は，研究代表者今村健志が，1 月 18 日と 3 月 7 日の 2 回，生理研を訪問し，蓄積した基礎検討や準備した材料をもとに，共同研究の実験と打ち合わせを行った。

具体的には，まず生理研で，生体蛍光観察の条件の検索・検討として，マウス大脳新皮質の観察を行い，特に対物レンズの特性や収差補正を中心に生体深部観察における光学的条件検討を行った。

次に，愛媛大学では，生理研と密に連絡をとりながら，生理研での条件検討の結果を参考に，担がんマウスにおける深部観察の最適化を行った。動物実験中は吸入麻酔薬による麻酔を行い，実験後は国際的なガイドラインにそって安楽死を行った。

さらに，将来的に移植がん組織内の単一がん細胞追跡を実現するために，生体深部における高精細イメージングシステムの構築の基礎データを蓄積した。

新規前立腺がん移植モデル開発に関しては，LNCaP 細胞株を用いた前立腺がん移植モデルの開発を行ったが，LNCaP 細胞株に単一がん細胞追跡に必要な遺伝子導入した後で，細胞株の増殖能が低下する現象が続いたので，培養条件と遺伝子導入条件の検討を行った。

34. 痛覚感受性の発達メカニズムの解明

榎本和生（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）

動物の発達過程では, 個体の発達段階や経験に応じて, 痛覚感受性が過疎的に変化することが知られているが, その神経メカニズムは十分に理解されていない。申請者らは，ショウジョウバエ痛覚回路の構造と機能に関する研究を, 独自の技術を開発することにより推進してきた。本研究では，ショウジョウバエ痛覚神経回路の情報処理の発達制御メカニズムを理解するために，和氣弘明教授（生理研）との共同研究により，ショウジョウバエ用のホログラフィック刺激装置を開発することを目指している。2022 年度は，まず，和氣研究室（生理研）に設置されているマウス用ホログラフィック刺激装置をプロトタイプとして，LED レーザー装置とビームラインの設計を行い，それを榎本研究室に設置されている二光子顕微鏡にアドオンする議論を，光学設計の専門家でありホログラフィック刺激装置の開発に携わった的場教授（神戸大学）を交えて，生理研で行なった。次に，その議論を踏まえて，特注 LED レーザーと光学機器の調達を行い，それを榎本研究室において組み立てて，2023 年 3 月の段階では，最終的なビームラインとレーザー出力の調整段階にまで至っている。今後，完成したホログラフィック刺激装置を用いて，ショウジョウバエの発達に伴う痛覚神経回路の作動原理の変動について共同研究を継続する予定である。

35. 神経回路機能を解明及び操作するための高性能ホログラフィック顕微鏡の開発

的場　修，全　香玉，Manoj Kumar
（神戸大学 大学院システム情報学研究科）

脳神経科学研究における革新的光細胞操作及び観察ツールとして，３次元に分布する多数の細胞を同時かつ高速に光刺激する２光子励起ホログラフィック光照明技術と，神経細胞等の活動を高速観察する画像取得型３次元蛍光イメージング技術を兼ね備えた一体型ホログラフィック顕微鏡の開発を進めている。本研究では，ホログラフィック顕微鏡を高性能化するとともに，和氣教授と共同して，マウスを用いた擬似感覚創成に応用することを目的としている。

生きたままの状態で，複数ある神経細胞等を自在に光刺激し，細胞集団の機能応答を観察する上で，ホログラフィーによる同時光スポット形成による細胞刺激技術と，時空間４次元観察を可能にする蛍光イメージング技術の高速化と高性能化が必須である。特にイメージング系では 100 Hz から 1 kHz のイメージング速度の実現が細胞応答を観察する上で重要である。

本年度は，モジュール化されたホログラフィック光刺激系を導入し，イメージングは２光子スキャニング系で観察する系を構築した。また，マウスへの３次元映像提示システムの構築に向けて，ライトフィールド３次元ディスプレイシステムを導入した。さらに，ホログラフィック顕微鏡の高性能化に向けて，２台の位相変調型空間光変調素子を用いて，ホログラフィック光刺激と，刺激後の細胞等の応答を観察するイメージング時にも計算機合成ホログラムによる多点スポット照射により観察する系を神戸大学にて構築した。これにより 100 Hz 以上の高速観察を可能にし，構築した系の有効性を確認した後，生理学研究所のシステムにホログラフィックイメージング系を導入し，和氣教授と共同して，脳機能解明に向けた研究に取り組む。

36. 視線を手がかりとした他者の情動理解における上丘の役割の解明

高橋真有（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）
磯田昌岐（生理学研究所システム脳科学認知行動発達機構）

社会的コミュニケーションにおいて，視覚情報が重要な入力であり，相手の表情や視線の動きによって態度や感情を認知することができる。なかでも視線は自己のメッセージを強めたり，修正する感情表出機能があるとされ，心的状態を強く反映していることが示唆されている。

中脳の上丘は，下等な動物から霊長類に至るまで，視覚を中心とした聴覚・体性感覚などの情報処理と Orienting response の中枢として機能し，眼球・頭部運動制御に関する多くの研究がなされている。一方で，侵害刺激などに対する avoidance reflex の中枢としても機能し，両者は上丘出力細胞の標的が異なる系であることが知られる。また，Blind Sight として知られる，大脳両側一次視覚野の障害後に，視標の存在が認識できないにもかかわらず，無意識下に視線あるいは手をかなり正確に視標に向けることが出来る現象にも上丘が関与していることが示唆されており，視覚入力が網膜-上丘-視床枕を経由して，大脳背側系の空間識の経路に達すると言われている。それに加え上丘は，顔の低空間周波数成分を手がかりに，他者の情動理解にも関与することが示唆されているが，その神経機構は明らかにされていない。

本研究では，視標に意味を持たせる（様々な表情の写真や異なる顔方向，視線方向の顔写真を呈示する）ことにより，生態学的な価値判断（表情及び視線方向の識別を行わせる）ののちの，サッケードがどの脳部位を介するか，その神経回路を明らかにすることを目的とする。

従来の研究では，スポット光などの比較的単純な視覚刺激を用いて，上丘ニューロンの応答特性を解析する方法が主流であったが，今回は様々な自然な視覚刺激を用いる。具体的には，自分や他人の顔，様々な表情の顔，顔以外，さらに，アイコンタクトのある顔（正面向きの視線），アイコンタクトのない顔（横向きの視線）等，種々の視標に対するサッケードを訓練し，通常サッケードと比較して潜時の違いを計測する。さらに，上丘，視床枕，大脳前頭眼野，辺縁系（扁桃体や黒質緻密部）での神経活動の記録を行い，信号の流れを明らかにする。他者の情動理解の神経機構に関する入力が，具体的に脳のどこからあるのかを見出し，特に他者の視線に関する情報が脳内でどのように処理され，サッケードにどのような影響を与えるのかについて解析を行うことで，他者の情動理解における，上丘を中心とした神経機構を明らかにしたい。

37. サル局所電場電位の計算論的解析法による学習メカニズムの解明

田中宏和（東京都市大学･情報工学部）
則武　厚，磯田昌岐（生理学研究所･認知行動発達機構研究部門）

本研究は，サルの複数の脳部位から同時記録された神経集団活動データに対し，計算論的信号解析法を用いることによって，単一脳部位における神経活動解析だけではわからない，連合学習における情報変換の脳内メカニズムをネットワークの観点から解明することを目的として実施された。

使用したデータは，社会的条件づけと呼ばれる 2 頭のサルを同時に用いた報酬課題状況において，サル前頭前野内側部の神経細胞，視床下部外側野の神経細胞，そしてドパミン作動性中脳核のドパミン細胞から記録された神経活動（スパイクおよび局所電場電位）データを対象とした。本年度は，ドパミン細胞と視床下部外側野の神経細胞の集団活動が前頭前野内側部の神経細胞の集団活動から再構成が可能であったという結果を中心に，学会報告（第 100 回生理学会大会･招待講演）をおこなった。これらの結果を現在，論文として投稿準備中である。

また，昨年度から引き続き，提案代表者が開発した課題関連成分分析とその拡張手法を用いて明らかにした脳部位間の伝播電位成分の結果を基に，因果性解析・ネットワーク解析・テンソル分解といった手法を適用するこ

とによって，これら部位の神経活動の指標と動物の連合学習との対応づけることを目指した。テンソル分解分析の結果，これまで則武・二宮・磯田らが報告した神経活動と同様の神経活動パターンを見出したことに成功した。今後，これらの解析方法をさらに応用し，抽出された活動パターンが連合学習においてどのような機能を持ちうるのかについて議論する。

38. 辺縁系大脳基底核の機能解析

佐藤澄人（北里大学 医学部 脳神経外科）
知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム）

大脳基底核の構成核の１つである視床下核（STN）は運動制御において重要な役割を果たし，障害されるとヘミバリズムと呼ばれる不随意運動が生じる。一方，大脳基底核疾患における定位脳手術のターゲットであり，破壊術や脳深部刺激療法を施すと，パーキンソン病などの症状が改善する。大脳基底核は視床を介して大脳皮質との間で回路を形成している。大脳皮質－基底核ループのうち運動系ループの情報伝達における STN の機能については比較的研究が進んでいるが，辺縁系ループについては不明な点が多い。本研究では辺縁系ループにおける情報処理機構を解析することにより，情動の発現と制御の神経基盤を明らかにすることを目指している。

覚醒下のニホンザルにおいて，STN の神経細胞の活動を記録し，大脳皮質の前辺縁皮質（Limbic），一次運動野(M1)，補足運動野(SMA)に電気刺激を加えて応答を調べることにより，Limbic-STN 細胞を同定し，M1-STN および SMA-STN 細胞との比較を行った。

Limbic-STN 細胞は STN の最内側に，M1-STN 細胞は外側部に，SMA-STN 細胞はその中間に位置していた。自発発火頻度は，３つのグループ間で差が観察されなかったが，Limbic-STN 細胞では発火のタイミングのばらつきが小さいことがわかった。M1-STN や SMA-STN などの運動系 STN 細胞は大脳皮質の電気刺激に対して「早い興奮－遅い興奮」という２相性の応答様式を示し，早い興奮は大脳皮質－STN 路を，遅い興奮は大脳皮質－線条体－淡蒼球外節－視床下核路を介して伝達されることが明らかにされているが，本研究により Limbic-STN 細胞も同様の２相性応答を示すことがわかった。この結果は，辺縁系 STN も運動系 STN と同様の情報伝達路を介して大脳皮質から情報を受け取っていることを示す。

また，応答の潜時を調べたところ，早い興奮，遅い興奮ともに Limbic-STN で最も長く，M1-STN で最も短かった。また，応答の持続時間は早い興奮，遅い興奮ともに Limbic-STN で有意に長かった。この応答の潜時と持続時間の違いから，運動の発現や制御を担う運動系ループに比べ，情動の発現や制御に関わる辺縁系ループでは，情報伝達の速度が遅いことが示唆された。

39. AKT シグナルによる大脳基底核における随意運動の制御メカニズムの解明

阪上起世（長浜バイオ大学）
佐野裕美（藤田医科大学）
知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム）

AKT（プロテインカイネース B）は，細胞外分泌因子と PI3K により活性化され，細胞死抑制，代謝活性化などさまざまな生体作用を制御する。大脳基底核は随意運動を司り，パーキンソン病やハンチントン病はその変性が起因する。本研究では，大脳基底核における随意運動制御の分子メカニズムを，AKT シグナルに着目して解明することを目的とする。活性型 AKT は PH ドメインを欠き，かつミリストイル化シグナルが付加されていることで，強制的に細胞膜にアンカリングされてシグナルを下流に伝える。神経系では，活性型 AKT が神経軸索の再伸

長を促すことが報告されている（Namikawa, 2000）。また，パーキンソン病モデルマウスを用いた研究では，6-hydroxydopamine (6-OHDA) により誘導されたモデルマウスに対し，AAV2-CMV-活性型 AKT を黒質緻密部に注入すると，ドパミン作動性ニューロンの細胞死を抑制し，行動が正常になることからシナプス形成も維持されていると推察されている（Ries et al., 2006）。

AKT は脊椎動物では AKT1，AKT2，AKT3 の 3 アイソフォームが報告されており，神経系では AKT1 と AKT3 の発現が多いことが報告されている。まず，ベクター開発支援室の協力を得てアデノ随伴ウイルスベクターを用いて，human AKT1 野生型，hAKT1 活性化型，hAKT1 不活性型，hAKT2，hAKT3 を発現する AAV-DJ ウイルスベクターを作製し，C57B/L6J 野生型マウスの線条体に発現させた。

40. 神経麻痺性角膜症に対する TRPA1 を標的とした治療

岡田由香（和歌山県立医科大学 紀北分院 眼科）
知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム）

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た症例で角膜上皮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した。

神経麻痺性角膜症モデルマウスを三叉神経第 1 枝をバイポーラ電極で熱凝固することで作成した。神経麻痺作製 3 ヶ月後に障害三叉神経に TRPA1 AAV またはコントロール AAV を注入した。

その 1 ヶ月後に直径 2 mm の角膜上皮欠損を作成し，上皮創傷治癒を比較した。神経麻痺性角膜症モデルは正常マウスと比べ角膜上皮創傷治癒は遅延するが，コントロール AAV を注入したものに比べ，TRPA1 AAV を注入した方が，角膜上皮欠損の修復が改善した。またこの時角膜上皮の BrdU 陽性細胞が増加していた。神経麻痺性角膜症モデルの障害三叉神経で TRPA1 を強制発現することで角膜上皮細胞の増殖が増加し，上皮欠損の修復が改善されたと考える。

41. チック症の病態メカニズム解析

橘　吉寿（神戸大学大学院医学研究科）
兎田幸司（慶應義塾大学文学部）
吉田　篤（大阪大学大学院歯学研究科・宝塚医療大学）
堤　友美（大阪大学大学院歯学研究科）
南部　篤，知見聡美（生理学研究所・生体システム）

チックとは，反復性の動作を示す運動チックと奇声・汚言を発する音声チックから成るが，その病態生理に関しては未だ明らかでない。本研究では，大脳基底核の線条体における異常興奮がチックの本態であるという仮説のもと，線条体への GABA 受容体拮抗薬局所注入により，マウスチックモデルを作製し，神経科学的手法を用いて，その病態生理を解き明かす。これまでに明らかにしてきた研究結果として，マウス線条体運動領域に，GABA 受容体拮抗薬である Bicuculline を少量注入することで，線条体における体部位局在に一致した一過性の筋収縮を示すチック症状を誘発することに成功した。また，アデノ随伴ウイルス注入により GCaMP6f を大脳皮質一次運動野に発現させたマウスを用いて，線条体への Bicuculline 投与前後での 2 光子顕微鏡神経活動イメージングを行っ

た結果，運動野神経細胞間の同期発火は，Bicuculline 投与後のチック症発現時において亢進した。さらに，チック症モデルマウスの全脳において，c-Fos タンパクの免疫染色を行うことで，症状発現時の活性化脳部位を検討した結果，一次運動野に加えて，扁桃体，帯状皮質，島皮質，梨状皮質といった情動機能に関与する辺縁系脳領域の活性化を観察することができた。線条体運動領域から，これら辺縁系脳領域への直接投射は無いので，どの脳部位を経由して辺縁系脳領域に線維連絡するかを明らかにする目的で，アデノ随伴ウイルスを神経トレーサーとして用いた解剖実験を行った。その結果，線条体運動領域から淡蒼球・黒質網様部を経て，さらに，視床髄板内核を経由して，辺縁系脳領域に至ることが明らかになった。トゥレット症候群患者の脳外科治療において，視床髄板内核が脳深部刺激療法の標的脳部位となることが，これまで臨床的に知られていたが，その正当性に対する科学的エビデンスを本研究により得ることが出来た。最後に，島皮質の神経活動を，化学遺伝学的手法により一時的に抑制すると，線条体 Bicuculline 注入マウスにおいて，チック症状の減弱が観察された。以上の知見を基に，今後はチック症患者における新たな治療法を考案していきたいと考えている。

42. 脳内微量薬剤注入による新規パーキンソン病治療法の開発

島津秀紀（武庫川女子大学 薬学部）
後藤　惠（立命館大学 総合科学技術研究機構）
畑中伸彦，知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム）

パーキンソン病モデルマウスを用いた先行研究から白血病の分子標的治療薬イマチニブを脳内（線条体内）に直接注入する方法により，症状の改善に加えてドーパミン神経細胞の変性・脱落を予防できる可能性があることが分かってきた。本研究は同薬剤をパーキンソン病モデルサルの線条体内に微量注入することにより，霊長類での治療及び予防効果を確認し，脳内注入療法の確立と将来のヒトへの臨床応用を目指している。

2021 年度に一頭のサルに行動課題の訓練を開始し，2022 年度の初旬に馴致を完了した。モンキーチェアに頭部固定したサルの正面に約 40 cm の距離で，マトリックス（幅 1.5 cm，長さ 3 cm の溝 : 5 X 3）を配置したクリューバーボードを設置した。マトリックスの各溝の内部にはイモなどの報酬が置かれ，馴致されたサルは片方の手で溝に指を入れ，つまんで報酬を取り出し，口元に運び食べる運動課題を支障なく遂行することができる。ボードには行動課題における運動を精密に評価・検討するためレーザーによる通過センサーを各溝の手前に設置し，サルが指を挿入したタイミング，場所，溝から口元までの移動時間，口元から次のターゲットへの移動時間がそれぞれ記録できるようになっている。本課題の遂行には精密把持が必要であり，パーキンソン病モデルサルにおける運動障害，とくに拇指と指示を用いた巧緻運動障害の有無を正確に評価することができる。

これらの計測システムの完成後，訓練を完了したサルに対して，注入用カニューレを被験個体の線条体に刺入し，微量注入ポンプを片側の頭部上に設置する定位脳手術を行った。術後脳浮腫の改善を待って，片側の線条体にイマチニブメシル酸塩水溶液を持続注入するとともに，ドーパミン神経毒である MPTP の全身投与を開始した。MPTP は一定の間隔をあけて（0.2 mg/kg × 2/week）筋注し，被験個体に緩々にパーキンソン病症状を発現させるとともに，イマチニブ注入側でドーパミン神経細胞が保護され，対側上肢の運動機能が温存されるかどうかについて，経時的な評価・検討を行ってる。被験個体は 2022 年度末までに軽度のパーキンソニズムを発症しつつあるが，まだ有意な症状の左右差や保護効果は得られていない。イマチニブを用いない場合の MPTP 注入に比べて，全般に症状の発現速度が緩やかで，イマチニブメシル酸塩の片側注入による両側性の脳保護効果の可能性も考慮に入れて，薬物投与とデータの収集・解析を継続中である。

43. 視覚的競合事態における注意選択に関わる律動的神経活動

河西哲子（北海道大学大学院教育学研究院）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

ヒトを始めとする生物の脳は，莫大な数のニューロンが結合した結合振動子系であると捉えられ，そこで生じる振動同期は複数の神経部位で処理された情報を機能的に統合することに寄与すると考えられる（北城・山口, 2007, Vision）。本研究は，空間的に離れた複数の視覚刺激の神経表象間の競合と，知覚的群化により競合が減少する過程の神経基盤を同定することを目的とした。

方法として，まず，学生を生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門での研修に派遣し（オンライン），時間周波数解析の基本理論と技術を学習した。次に，実験プログラムを作成した。左右視野に同時に生じた視覚刺激に対して，注意を向けた視野の対側半球の神経活動が同側半球におけるよりも増強することに基づく実験パラダイム（Heinz et al., 1994, Nature）を応用した。知覚的群化の天井効果を最小限にするために，左右の刺激の表面特徴(輝度極性)と横幅を変えた上で, 図形の境界特徴(形)の類似性を操作した。課題中の健常成人を対象に脳波を測定し，早期の視覚誘発電位 P1 の振幅が，注意する視野の同側半球より対側半球で増大する片側性の注意効果を確認した。

上記のように注意の基本的現象が確認された脳波データに対して，次年度には，後方部各電極のパワースペクトルの時間変化を ERSP (Event-Related Spectral Perturbation) を用いて定量化し，さらに左右半球間の位相同期の時間変化を PLV (Phase Locking Value) を用いて定量化する予定である。

このような試みは，ヒトの高次認知活動の基礎となる情報処理単位の形成過程の神経基盤と，発達障害を含む知覚認知機能の脆弱性に関するバイオマーカーの開発につながる点で意義がある。

44. 経頭蓋磁気刺激が大脳皮質広域神経活動に及ぼす影響の測定と解析

筒井健一郎，中村晋也（東北大学･大学院生命科学研究科）
北城圭一（自然科学研究機構･生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

経頭蓋磁気刺激（TMS）は，頭皮上に置いたコイルに電流を流すことで生じる急速な磁場の変化を利用して脳内に微弱な電流を誘起する非侵襲的な脳刺激法であるが，その作用機序についてはまだ十分な知見が得られていない。本研究課題では，単発あるいは反復 TMS が局所および広域の神経活動に与える影響を明らかにすることを目的として，サルの大脳皮質背側部の硬膜下に記録電極を広範囲・高密度に配置することで高精度の皮質表面電位（electrocorticogram: ECoG）を記録する。そして，最新の信号処理，時系列解析，時間周波数解析等の手法を駆使しながら，単発および反復 TMS によって引き起こされる神経活動の変化を詳細に解析する。

これまでに，東北大学にて ECoG 電極をインプラントした 2 頭のニホンザルから単発あるいは反復 TMS を施した時の神経活動を記録し，その解析を行った。その結果，刺激直下の電極における安静時 ECoG の周波数解析によって，低頻度（1 Hz）の反復 TMS と高頻度（10 Hz）の反復 TMS では異なるパターンの神経活動の変化が生じていることが明らかになってきている。また，2022 年度は生理学研究所を訪問し，北城教授と実験デザインやデータ解析に関する打ち合わせを行った。記録した ECoG データの解析に関して，神経活動の同期現象に着目した様々な解析手法の適用について議論・検討中である。今後は，これらの解析手法を駆使ししながら解析を進めるとともに，上記とは異なる刺激頻度を用いた場合のデータも加えながら，単発または反復 TMS が局所あるいは広域の神経活動に与える影響を解析していく予定である。

45. 脳波位相同期解析を用いた Paired associative stimulation 効果の個人差の解明

鹿内友美（東京大学大学院総合文化研究科）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

末梢神経電気刺激と一次運動野(M1)への経頭蓋磁気刺激(TMS)を 25 ms 間隔で 200 回程度繰り返す Paired associative stimulation (PAS)は脳の可塑性変化を引き起こす手法として知られる。効果には個人差があり，７割で M1-TMS への筋電応答を強めるが，２割では弱まる [Player et al., *Clin Neurophysiol.*, 2012]，加齢により筋電応答の増強が低減する [Fathi et al., *Clin Neurophysiol.*, 2010]，ことが報告されてきた。本研究では，PAS 中の脳波を特定周波数成分の持続性や位相同期の観点で解析し，筋電応答に個人差を生む脳状態を明らかにすることを目指す。

2022 年度は，理化学研究所にて計測した PAS 中と PAS 前後の脳波データの解析を進めた。PAS 中の脳波データは，刺激由来のさまざまなアーチファクトを含む。周波数や位相同期の解析の前に，既存手法を用いたアートファクト除去を行なった。アーチファクトの現れ方は計測条件によって大きく異なるので，目的の皮質応答を取り出せたことを確認するために，事象関連電位と特徴的なピークでのトポグラフィを用いた。それらの解析により，PAS 中刺激が累積することにより TMS 関連電位に変化が生じることがわかった。具体的には，150 回以降の刺激に対して，TMS オンセットから 350 ms 後に電位の上昇が見られた。これは 50 回以前やシャム条件では見られない PAS 特有の変化であり，TMS 応答として通常着目される成分より遅いためこれまで知られてこなかったものと考えられる。この成果を国際会議にて発表した（6th International Brain Stimulation Conference, 2023 年 2 月，リスボン）。

PAS 特有の脳波応答を観察できたことから，実験データおよびアーチファクト除去のクオリティが脳活動を議論するに足るものと考え，データ公開に向けて Data descriptor の執筆を進めている。PAS 中の脳活動計測の公開データセットの前例はない。

今後は，ここまでの解析を踏まえて，個人差に着目した解析を進める。刺激前の特定周波数成分の位相同期，刺激後の特定周波数成分の持続性が PAS の効果の個人差へ寄与するかを検証する。

46. 数知覚に関する神経力学系モデリングと脳波計測実験の融合的研究

末谷大道（大分大学理工学部），北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

2022 年度は，異なる感覚を統合するニューラルネット（**Cross-modal AutoEncoder**）を提案した（図１）。このニューラルネットでは，例えば，縦横比や面積がまちまちの複数の長方形がランダムに配置されている画像（例えば５個の長方形が置かれている画像）を一方の入力とし，数字画像（例えばアラビア数字の“5”）をもう片方の入力とし各々元の画像を出力する様に学習が行われる（$\alpha X, \alpha Y$ 重み調整）。このとき中間層の次元が絞られることとその中間層を互いに共有していることから，この２つの異なる感覚に共通する特徴（ここでは数としての“5”）が抽出されると期待される。この学習器の意図は明示的な教師（明確に記号化された正解情報）を与えずとも感覚モダリティ間の連想から離散構造=整数が表現されるかという問いに対するものである。さらに正解のラベルを与える場合もコスト関数に与えて（β で重み調整）数値実験を行った。

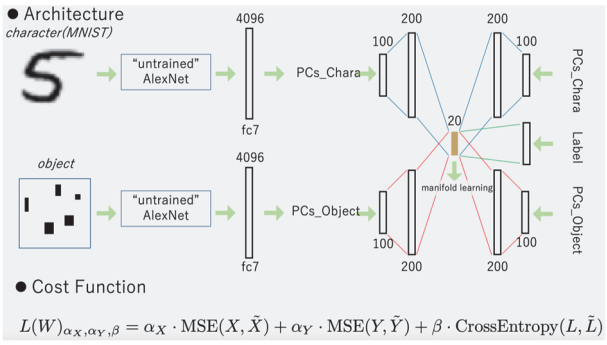
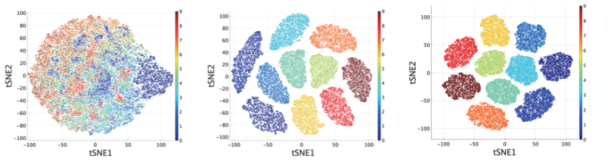


図 1

その結果の一つが図 2 である。ここでは 6 x 10^4 個の訓練サンプルの複数物体の画像と MNIST 画像について，20 次元の中間層をさらに t-SNE で 2 次元平面に射影したもので，各色の点が 0,1,2,…,9 のサンプル対応している。当初は手書き数字画像という半記号的な情報が数的な構造を誘導すると期待したが，現れなかった。一方，教師を僅かでも与えると離散構造が抽出されたが，数の順序性（7 は 9 と近く，1 とは遠いなど）を反映した構造は明確ではなかった。

$\alpha_X = \alpha_Y = 1, \beta = 0$　$\alpha_X = \alpha_Y = 1, \beta = 10^{-5}$　$\alpha_X = \alpha_Y = \beta = 1$



また，複数物体の画像と，物体の個数は一つだが面積がある基準に対して拡大する画像を提示した場合の結果が図 3 である。教師を与えても離散性はあまり現れないが（ただし数の区別は明瞭につく），数の順序性について明確な構造が現れた。無論，図 1 の神経回路が実際の脳に直接ある訳ではないが，本研究は，連想を通じて数概念を獲得していく上でどのようなモダリティ間の比較が必要かということに関する示唆を与える。

$\alpha_X = \alpha_Y = 1, \beta = 0$　$\alpha_X = \alpha_Y = 1, \beta = 10^{-5}$　$\alpha_X = \alpha_Y = \beta = 1$

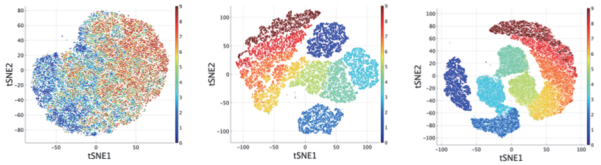


図 3

脳波計測実験については，昨年度に検討した数知覚の脳波実験の予備実験を開始した。実験は北城教授および大学院生の後藤氏が実施した。得られたデータには筋電や装置の物理的ノイズの影響が大きかったため，ICA による前処理を行ったが，それらの影響を取り切るには至ってない。来年度にこれらの問題を解決し本格的な解析を行う予定である。

47. 読文機能における基礎的視覚情報処理の役割

中山遼平（東京大学大学院人文社会系研究科）
竹村浩昌（自然科学研究機構生理学研究所）

文章を滑らかに読み正しく理解すること（読文）は人間特有の能力であり，ヒトが社会生活を送る上で重要な認知機能の一つである．これまでの研究で失読症などの読文障がいの存在や，健常者における読文機能の個人差が明らかになってきた．また英語圏においては，こうした読文機能と基礎的な視覚情報処理の関係が報告されているが，こうした研究結果が日本語話者にも当てはまるのかは明らかでない．そこで本研究では，基礎的な視覚情報処理と日本語の読文能力の関係を検証し，読文機能の心理学的基盤について深く理解することを目的とした．

はじめに予備実験を実施し，視覚情報処理や日本語の読文能力の測定方法について検討した．具体的には，厳密に制御された心理物理学実験を通じて，視覚運動の検出や速度弁別などの多様な視覚課題成績における指標を推定した．この指標が(被験者内で)試行間及び日程間で安定した水準で得られるようになるまで，視覚刺激や測定手続きを最適化した．また，音読や校正読みなどの異なる読文課題成績の間にどのような関係があるかを検討し，読文機能の統合的な指標を得るためのテストバッテリーを構築した．

その後，大規模データ収集のための本実験を開始し，現在も実施中である．次年度の継続課題のため，実験を完了次第，上記の過程で確立されたプロトコルにより各指標を推定し，視覚課題と読文課題の成績の関連を調べる予定である．

48. 視覚障害発生時期，程度が与える脳視覚系への影響

小川俊平（東京慈恵会医科大学眼科学講座）

概要;先天緑内障により 7〜8 歳で両眼失明した 46 歳男性を対象とし，玉川大学の 3T MRI を用いて取得された拡散強調画像の分析を行った。確率論的トラクトグラフィーにより視索および視放線を同定し，その組織特性を算出した。本症例の組織特性のうち Fractional Anisotropy (FA) を，過去の報告（Ogawa et al., 2022）から 60 歳以上の症例を除外した健常眼群 25 例（48.1±7.1 歳）および緑内障群 10 例（49.0±10.2 歳）と比較した。先天緑内障症例の FA は，健常眼群（視索: d = 5.26，p = 0.005; 視放線: d = 7.68，p < 0.001），緑内障群（視索: d = 3.75，p = 0.03; 視放線: d = 5.40，p = 0.001）と比較し有意に低下していた。この結果から臨界期中の両眼失明は，臨界期後に発症する視野障害と比較して大きな白質微細構造変化をもたらす可能性が示唆された。加えて，片眼先天無眼球症の 32 歳女性から同様に取得された拡散強調画像に対し，確率論的トラクトグラフィーによる解析を試みている。新たな知見が得られれば今後学会，論文で発表を検討している。

学会発表，論文発表等；

学会発表

1）Masanobu Iida, Shumpei Ogawa, Hiromasa Takemura, Hiroshi Horiguchi, Atsushi Miyazaki, Mika Osawa, Takuji Kinjo, Kenji Matsumoto, Satoshi Nakadomari, Yoichiro Masuda, Keiji Yoshikawa, Tadashi Nakano. The effect of binocular blindness in critical period on visual white matter pathways: a single case study. 2022 Annual Meeting of Association for Research in Vision and Ophthalmology. Denver USA. May 2022. (Poster Presentation)

2）飯田将展，小川俊平，竹村浩昌，堀口浩史，宮崎淳，松元健二，仲泊聡，増田洋一郎，吉川啓司，中野 匡. 臨界期失明が視覚白質線維束に及ぼす影響(症例報告). 第 11 回日本視野画像学会学術集会. 横浜. 7 月.（一般講演）

49. ヒト空間認識の個人差に関わる神経機構の検討

細田千尋 [1]，竹村浩昌 [2]，細川研知 [1]，松橋拓努 [1]
（[1] 国立大学法人 東北大学，[2] 自然科学研究機構 生理学研究所）

今年度の研究報告は以下の通りである。はじめに，竹村教授と共同で，dMRI データの前処理のパイプラインを構築した（東北大学細田研究室内のパソコン内）。このパイプラインでは，静磁場の不均一による歪み補正，渦電流の補正，dMRI と T1w データの位置合せ，テンソルの推定とそれに基づく Fractional Anisotropy (FA) 画像や Principal diffusion direction (PDD) 画像の生成，MRtrix3 ツールを用いたトラクトグラフィの生成（Multi-tissue constrained spherical deconvolution(msmt-csd)アルゴリズム）などの処理を実施した。

次に，竹村教授と共同で，上縦束を求めるための関心領域の設定を行い，上縦束の 3 つのブランチを求めた。具体的には，superior frontal gyrus (SFg), middle frontal gyrus (MFg)，prefrontal gyrus (Prg) をカバーする関心領域（SFgL/SFgR，MFgL/MFgR，PrgL/PrgR，前交連を基準とする冠状面スライス）と，頭頂白質領域をカバーする関心領域（PaL/PaR，後交連を基準とする冠状面スライス）を，それぞれ手動で描画した。また，弓状束と脳梁のトラクトグラフィを除外するための関心領域（TeL/TeR，MidSag）を設定し，手動で描画した。これら 11 個の関心領域の設定に基づき，約 70 名のデータから上縦束のブランチを求めた。

さらに，次年度以降の研究方針についても議論した。当初の研究計画の通り，空間認知能力と白質線維束の微細構造の関係の検証を進めていくことで合意している。具体的には，Vistasoft, Matlab brain anatomy (MBA), Automated Fiber Quantification (AFQ) などを用いて，白質上縦束の微細構造を算出し，その白質上縦束の微細構造と，空間認知能力（細田研究室内で実施している課題成績）の関係を検証する予定である。

50. MRI 画像を用いた聴覚路と連合野を含む各脳領域間の結合性の検討

金田大太（医療法人さわらび会 福祉村病院 神経病理研究所）

難聴を有する症例の高次・心理機能検査は，感覚器である内耳の問題あるいは言語理解を含む高次機能の問題であるかの判別がときに困難であり，神経変性疾患や認知症疾患の誤診につながる恐れがある。このため 本研究では MRI 画像を対象に聴覚路と連合野を含む各脳領域間の結合性を検討し，ヒトの聴覚・言語処理特性などを脳画像から検討する。対象は倫理委員会の承認に基づき福祉村病院の MRI 装置において撮像された被験者の MR 画像である。データは構造 T1 画像に加え，拡散テンソル画像として b=1,000 30 軸 b=2,000 30 軸 b=0 画像は AP,PA の対方向で撮像の上，匿名化を施した。健常コントロールならび先天性聾の症例につき解析ソフトウェア（fsl, MRtrix3）を用いて whole brain tractography を取得，良好なクオリティを確認した。しかしながら，一次聴覚野である Transverse temporal gyrus(Heschl 回)からの徒手的なトラクトグラフィは，解剖学的差異により再現性に乏しい可能性が示唆された。一方，本プロトコルにて撮像後に剖検を得られた症例は 16 例となった。次年度は AFQ (Automating Fiber-tract Quantification) を用いた側頭葉―頭頂連合野の MLF (Middle long fasciculate) を標的に定量的解析を行い。臨床的な聴力の障害の程度・言語機能に関する高次機能検査との相関ならび，病理学的な検討として髄鞘染色ならび軸索の免疫染色を行い定量的測定を試みる予定である。

51. 経頭蓋電気刺激による聴覚誘発脳磁界の変調

岡本秀彦（国際医療福祉大学医学部）

本研究では経頭蓋電気刺激装置をもちいて，両側の聴覚野をターゲットにして，非侵襲的に特定のパターンを有する電気刺激を与えて，その後に電気信号と似たパターンを有する聴覚刺激を呈示し，聴覚誘発脳磁界反応に変化があるかを調べる実験を行った。先行研究により，音に対する注意や直前に聞いた音の影響により，聴性誘発脳磁界反応が大きく変化することは知られているが，音を発生させない電気刺激で聴覚野を刺激した場合に，聴性誘発脳磁界反応が変化するか否かは明らかではない。

今回の研究では，まず 0.75 秒の持続時間を有する 200 種類のランダムな波形をサンプリング周波数 48000 で作成した。次に，これに言語と同様の振幅変調を生じさせるため，500 Hz を中心に狭帯域フィルターを適応した。このように作成したランダム波形をそれぞれ 6 回ずつ経頭蓋電気刺激にて聴覚野を中心に電気刺激を与えた。被験者は座位で楽な姿勢をとってもらい，本を読んだり，インターネットを閲覧したり，音刺激を与えない条件下で眠らないよう自由に過ごしてもらった。経頭蓋電気刺激は日本臨床神経生理学会のガイドラインに沿って行った。電気刺激終了後は，速やかに脳磁計のシールドルーム内に移動してもらい，聴覚刺激を行った。聴覚刺激としては，経頭蓋電気刺激の波形と合致する刺激音（target）を 200 回と，経頭蓋電気刺激と合致しない刺激音（control）を 200 回ランダムで提示した。そして，target 音及び control 音によって惹起される聴性誘発反応をそれぞれ計測した。

すでに脳磁図データの計測は終了しており，様々な解析を行っている。経頭蓋電気刺激では頭皮の刺激部位に痒みや痛みが出現することが報告されているが，今回の実験において，経頭蓋電気刺激開始直後にかすかにピリピリした刺激や痒みを感じると報告した実験参加者はいたが，すぐにその感覚は消失した。その他の副反応は認められなかった。また脳磁計にて聴性誘発脳磁界反応を計測する際も，1 名磁気ノイズが大きくてデータを収集できなかったが，副作用など被験者にとって不利益な事象は全く発生しなかった。今後さらに解析を進めて，論文として公表する予定である。

52. 聴覚情報処理基盤となる音響物理パラメータ特定のための聴覚誘発磁界の解析

林　実（明星大学 理工学部）

時々刻々と連続的に変化する音声の音響信号をヒトは容易に離散的な言葉の記号系列として聞き分けることができる。このヒトの優れた情報抽出機能を明らかにするために，周波数，音圧，持続時間など各種音響物理パラメータを正確にコントロールした各連続音声それぞれに対応する神経活動を, 高時間分解能を有する MEG 計測，聴覚誘発磁界 AEF 実験により捉え, 聴覚情報処理基盤となる音響物理パラメータを特定すべく実験データ解析を進めた。

データ解析では，各種音響物理パラメータに対応する AEF を MATLAB，BESA 等による波形解析と位置推定，および, SPSS による統計分析を行い, 以下の結果を得た。

AEF の波形解析を行った結果，有意味連続音声において，各音節ユニットそれぞれに対応する AEFM100 成分が観測された。本成分は，連続音声の各音節を正確に聴き取れた際，音声の話速に応じて，各音節ユニットの音響変化構造それぞれに対応する AEFM100 成分が見られ，各音節を正確に聴き取れなかった際，そのような対応が見られなかった。

また，相関分析の結果，聴き取りできた音のユニット数と AEFM100 成分の数との間に有意な相関（$r = 0.857$, $p < 0.001$）が得られた。

さらに, AEF の神経活動位置の推定と判別分析の結果，連続音声の最初の音（語頭音）は，途中の音（語中音）や最後の音（語尾音）それぞれに対して違いが見られ（$p < 0.001$），その他の組み合わせに対しては違いが見られず，語頭音に対する神経活動位置はその他の音よりも前方正中寄りに推定された。実験データ解析の結果を原著論文にまとめ，国際誌に投稿予定である。

今後，連続音声の基本構造を模した連続音の変化構造に対応する AEF の解析，および，有意味連続音声と無意味連続音声それぞれ対する AEF の解析を進め, 各音響物理パラメータと AEF の対応関係を明らかにし, 聴覚情報処理機能の理解を深めていく。

53. 手指の運動制御時における感覚運動領域活動の解明

和坂俊昭（名古屋工業大学）

感覚情報が運動制御にどのような役割を果たすのかは，長年にわたり重要な問題であり，現在でも解明されていない点が多く残されている。これまで，巧みな運動制御の神経基盤の解明を目指す研究では，運動領域に注目した研究が盛んに行われてきたが，本研究は運動制御時の体性感覚情報の活動特性に焦点を当て，巧緻な運動のメカニズムを解明することを目的とするものである。

手指の運動における体性感覚情報処理は，一次体性感覚野における活動が抑制されることが報告されている。しかしながら，これまでの研究で使用された運動は，手指を協調して動かすものではなく，把握などの単純な運動に限られたものであった。これまで申請者は，複数の手指を協調させて 2 個のボールを手掌内で回転させる課題や，指先を用いて物体を操作する際に，一次体性感覚野の初期応答の抑制に続いて促進がみられることを報告した。この現象は，手指の単純な運動では現れず，手指の巧緻な運動における体性感覚情報の特異的な処理過程が存在することを示唆するものである。そこで，本年度の研究では，この一次体性感覚野における活動の増加と手指の巧緻な運動の関連性について検討を行った。

被験者は右手の拇指，示指，中指を用いて，積み木を回転させる課題（Fast 条件）と半分のスピードで回転させる課題（Slow 条件），硬度の異なるシリコン製のボールを 3 本の指で摘まむ課題（Strong 課題と Weak 課題）を行った。これらの課題中に正中神経を刺激し，脳磁図記録を行った。

体性感覚誘発脳磁場の初期応答である M20 と M30 は運動課題中に有意な振幅の減少を示すが，M38 は手指の運動中に有意な振幅増大を示した。続いて運動スピードと筋出力強度の違いについて比較を行うと，M20 は Fast

条件と Slow 条件の間に有意差がみられた。これに続く M30 は Fast 条件と Slow 条件，Strong 条件と Weak 条件において有意差がみられ，M38 は Strong 条件と Weak 条件の間のみに有意差がみられた。運動に関して変化した成分は，一次体性感覚野近辺が発生源であると考えられるが，手指の運動のスピードと筋収縮強度に対する応答は異なるものであった。一次体性感覚野に情報が到達した後の短時間における処理過程が運動による異なる影響を受ける点は興味深いものであり，これらの情報処理過程が手指の巧緻性に関与することが示唆された。

54. 感覚情報処理抑制系の機序解明と検査パラダイムの確立

杉山俊介（岐阜大学大学院医学系研究科 精神医学）
西原真理（愛知医科大学　疼痛緩和外科・いたみセンター）
竹内伸行（愛知医科大学大学院医学系研究科 精神科学）
絹川友章，谷口智哉（名古屋大学大学院医学系研究科　麻酔・蘇生医学）
乾　幸二（生理学研究所 生体機能情報解析室）

我々はこれまでに，持続する感覚刺激が変化する際に特異的に生じる脳活動（変化関連脳活動）について研究を行ってきた。変化刺激に先立って，弱い変化刺激を提示することで明瞭なプレパルス抑制がみられることを発見した。その後，機序の解明，最適なパラダイムの確立，再現性の確認，臨床研究を進めてきた。2021 年度で脳磁計（MEG）の使用が終了したため，本年度は，MEG サーバーから生データのバックアップを行い，それらを用いて解析を行い，論文を作成した。短潜時と長潜時のプレパルス抑制を組み合わせることで，抑制のメカニズムが興奮性経路とは独立した特定の回路に由来することを示した（Takeuchi et al., 2023）。また，神経振動の研究において，新たな抑制系メカニズムを見出し（Sugiyama et al., 2022），別の神経振動の高調波の性質を用いた研究においても，同様の抑制系メカニズムが存在することが示された（Sugiyama et al., 2023）。さらに，筋電図を用いて三叉神経性瞬目反射のプレパルス抑制を検討し，R1 プレパルス抑制の標的部位が三叉神経主知覚核であることを報告した（Inui et al., 2023）。

抑制系の機序解明と同時に，痛みに関する MEG 研究も行った。ワインドアップ現象に関連した脳活動を初めて報告した（Taniguchi et al., 2023）。

研究グループ全体として，本年度は 5 本の論文を国際誌に掲載した。生理学研究所との共同研究において，成果を上げることができたと考えている。

55. 突然の聴覚情報変化に対する脳応答の多角的検討

元村英史（三重大学医学部附属病院精神科神経科）

我々は，音特性変化に基づく自動脳応答について研究を進めている。今年度は，これまでの共同利用実験で記録した健常者の脳磁図データを用いて以下のことを明らかにした。

連続音の音特性を変化させると，変化関連脳活動の Change-N1m が明瞭に観察される。その振幅は音特性変化の物理的変化量に影響を受け，変化前の先行音の刺激呈示が長いほど活動強度は強くなることからなんらかの感覚記憶が関連すると考えられる（Inui et al., 2010）。同一の刺激パラダイムのなかで先行音の呈示時間と音圧増加量が異なる複数のテスト刺激を呈示し，誘発された Change-N1m 振幅と先行音の呈示時間および音圧増加量との関連を linear regression line の slope を用いて検討した。これらの slope は感覚記憶や音圧変化への鋭敏性を示唆する指標と考えるが，健常者においては各 slope ともに Change-N1m 振幅と強い正の相関を示した。健常者

と比較して統合失調症患者では Chage-N1 振幅が低い（personal data）ことは何を意味するのか？今回の slope 指標を用いることで，感覚記憶と変化検出感度のどちらにあるいは両者に異常があるのかを明らかにできるかもしれない。

γ 帯域, 特に 40 Hz の神経振動は知覚情報処理を含め，幅広く認知に関わることが知られており，統合失調症においてその異常が報告されている。40 Hz の周期的音刺激を呈示すると，聴覚野における 40 Hz 神経振動が観察される。時間周波数解析を用いて，突然の音圧変化の 40 Hz 神経振動に対する影響を検討した。40 Hz の click 連発音の途中で音圧を変化（増加/減少）させると変化関連脳活動が誘発されるが，40 Hz 神経振動の振幅は一過性に減弱し，その後に回復した。取り巻く感覚情報の突然の変化を速やかに察知することは極めて基本的かつ重要な感覚情報処理戦略である。40 Hz 神経振動は変化応答にも重要な役割を果たすことを示唆するものと考えられる。症例数を増やして更に検証したい。音特性変化によって誘発される変化関連脳活動と 40 Hz 神経振動の挙動を組み合わせることで，新たな視点から精神疾患の神経認知に迫れるのではないかと考える。

56. 構成的アプローチによる最小神経細胞ネットワークを用いた情報処理システム構築の試み

安田賢二（早稲田大学）
曽我部隆彰（生理学研究所）

実際に神経細胞を用いた演算回路を創るには, 神経突起の伸長方向を制御して，神経細胞の配置だけでなく，神経突起の自在なパターンを構築することが必要となってくる。さらに，軸索や樹状突起を特定の隣接する神経細胞に結合させることで初めて神経回路パターンを構成的に構築できるようになる。本共同研究では，細胞培養中であっても微細構造を追加工できる独自技術であるアガロース微細加工技術を利用し, 結合方向を完全に制御した軸索と樹状突起によって繋がれた神経細胞最小ネットワークを構築し，この神経細胞ネットワークの演算，記憶などの回路機能の動作を確認することを目標としている。

今年度は，昨年度開発に成功したアガロース加工技術の課題を解決する２つの改良型アガロース微細加工技術を活用して，実際に異なる神経細胞から伸長した神経突起を回路化するために 1 本ずつ自在に配線（配置）する技術の開発検討を進めた。また，コロナによる研究制約のため遅れていた生理研内でのパッチクランプ法を用いた細胞電位の計測の基礎的な準備を共同で推進した。

まず改良アガロース加工技術で用いた十字形クロスパターンを用いて，２つの神経細胞から伸長した各神経突起が直交して交差した時の応答を比較解析した（図１）。その結果，２本の神経突起点の相互作用には３つの種類があることが観察された。１つは別の神経細胞に向けて伸長する場合（図 1(a)），2 つ目は互いに干渉せずにそのまま直交する場合（図 1 (b)），そして 3 つ目は，先に伸長した神経突起に接触して伸長を停止させる場合（図 1 (c)）であった。特に，通路幅を 1 神経突起の幅程度まで狭くすると（a）のような現象は見られず（b）のような直交して交差することが確認された。

また，図 1（c）の結果から，神経突起の先端が互いに斥力を持つ可能性も示唆されたことから，Y 字型通路を用いて強制的に合流させた 2 つの神経突起の振る舞いを特に合流後に逆 Y 字型で分岐させた時の振る舞いとして観察した（図２）。その結果，強制的に合流させられた 2 つの神経突起は同じ通路を進行するが，逆 Y 字の分岐ができる形状に達すると 2 つの通路にそれぞれの神経突起が分離して進むことが確認された。

来年度は，これらの神経突起の配置特性を利用して神経突起の空間パターン配置を行なった神経回路の刺激応答計測を共同研究として継続して進める予定である。

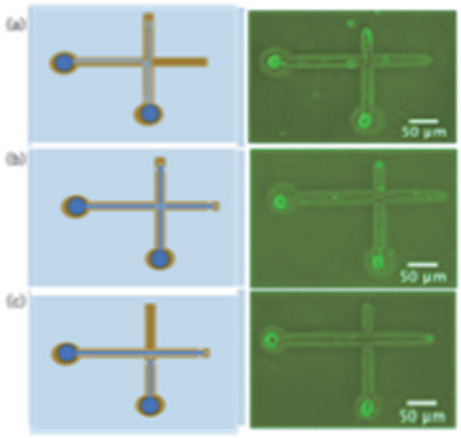


図１. 十字形パターンにおける異なる神経細胞から伸長した交差する２本の軸索の相互作用の比較。

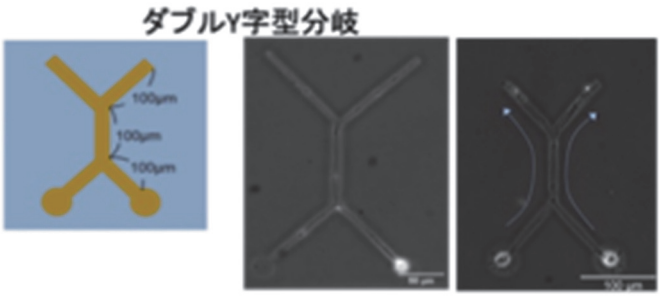


図2. 異なる神経細胞から伸長した２本の神経突起のダブルY字型分岐での合流点と分岐点での応答の比較解析。

57. 視床下部腹内側核のグルコース感受性神経における in vivo imaging 解析

戸田知得（北海道大学 大学院獣医学研究科 獣医学部 生化学教室
2022 年 12 月より，熊本大学 生命科学研究部 中枢性代謝制御学講座）

【目的】

視床下部腹内側核には血糖値の増減を感知し末梢組織の代謝を調節して血糖値を一定に保つグルコース感受性神経がある。肥満はこの神経の機能を破綻させ，糖尿病を発症させる。しかし，グルコース感受性神経が血糖値の変化に応じてどのような神経活動を示すかは十分に研究されていない。本研究は Miniscope を用いて，自由行動下のマウスにおける腹内側核の神経活動を測定し，血糖値または肥満による変化を観察する。

【方法】

視床下部腹内側核にウイルスを投与し GCaMP6 を発現させ，Miniscope のレンズを腹内側核に留置する。通常食または高脂肪食でマウスを飼育した後，腹腔内にグルコースを投与し，腹内側核神経の活動および血糖値を測定する。また，両群とも脳内に R spondin 1 (RSPO1) の組み換えタンパク質を投与し，同様の実験を行う。これにより，血糖値の変化とグルコース感受性神経の活動の関係および肥満によるグルコース感受性の低下を in vivo で明らかにし，RSPO1 の作用を解明する。

【進捗】

視床下部にアデノ随伴ウイルスを投与して GCaMP6 を発現させたが，GRIN レンズの高さや挿入方法などに問題があった。榎木先生，李研究員に助言をいただき，①アデノ随伴ウイルスを数 nL/min の流速で投与する，②投与後のシリンジを抜く時の速さを遅くする，③GRIN レンズを挿入するときの速度を遅くするなどを変更した。しかし，北海道大学の学部学生に実験を行ってもらったため，十分な結果が出ているとは言えない。また 12 月に熊本大学への異動があり，十分な実験ができなかった。2023 年度はコロナウイルス感染症対策のための移動制限などがほとんどなくなったため，生理学研究所との連携をこれまで以上に密に取りながら，実験を進めたい。

58. In vivo Mini-scope を用いた神経細胞の概日リズム可視化

田原　優（早稲田大学 理工学術院）
ライアン 弧音，Lyndah Lovell（早稲田大学大学院 先進理工学研究科）
榎木亮介（生理学研究所）

概日時計は様々な生理機能に日内リズムをもたらすことで，生体の恒常性維持を担っている。老化や疾患は，概日時計の乱れを招き，乱れた概日時計はさらに病態の悪化に繋がる。しかし，老化や疾患における中枢の概日時計変化のメカニズムは，未解明な部分が多い。本研究では，ミニチュア蛍光顕微鏡を用いて，概日時計，特に神経活動の日内リズムの可視化プロトコルを新たに確立し，これらの謎に迫ることを目的とする。

特に本研究課題では，早稲田大学でミニチュア蛍光顕微鏡イメージング技術を確立するために，生理学研究所の榎木亮介先生がすでに立ち上げている実験系を習うことがメインであった。研究参画者である，ライアン 弧音（当時修士２年生）は２回，Lyndah Lovell（当時修士２年生）は１回，生理学研究所に訪問し，榎木先生の元で研究を行っている LEE Ming-Liang 研究員，CHANG Ching-pu 研究員から，Mini-scope (UCLA Mini-scope V3, V4) について，装着手術，イメージング技術，そして解技術まで，指導を頂いた。ライアン 弧音の渡航費は，本研究費から支援を頂いた。また，研究代表者である田原も，22 年 8 月に榎木ラボに訪問し，研究室見学（居室，顕微鏡施設，動物飼育室，動物手術室，動物行動解析室，冬眠実験室など），研究ディスカッションを 2 時間行った（別件での名古屋訪問であったため，渡航費は別の予算から執行）。その後早稲田大学では，ライアン 弧音が中心となって，線条体や大脳皮質をターゲットに，AAV 濃度の検討，感染方法の検討，感染期間の検討，レンズ挿入方法の検討などを指導頂いた通りに実施し，イメージングを試みた。最終的に，線条体にてシングルセルカルシウムイメージングを成功することができた。一方で，概日時計中枢である SCN へのイメージングは，ウイルス注入技術のトレーニング期間が足りず，まだ未達成であり，現在進行中である。

59. 概日時計の分子機構に関する細胞内 Ca^{2+} の動態解析

金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所・生命農学研究科）

概日時計は約 24 時間の生理リズムを駆動する生物時計であり，Rat-1 繊維芽細胞などの不死化した培養細胞株においても存在する。共同利用研究者は，細胞を用いた薬理学的なスクリーニングを行い，新規の時計因子の同定を試みた。その結果，Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体（NCX）と Ca^{2+}/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II （CaMKII）という 2 つの Ca^{2+} シグナル制御因子が概日時計の発振に重要な役割を示すことを見出した。また概日時計は，生理的な温度範囲において，外界の温度が変化しても約 24 時間周期を保つという温度補償性を示す。概日リズムの多くは時計遺伝子による転写リズムによって生み出される。そして，その転写リズムの温度補償性は，NCX による低温での細胞内 Ca^{2+} 流入によって担われていることが明らかとなった。そこで，生理学研究所の榎木 亮介准教授との共同研究により，哺乳類のペースメーカー神経である視交叉上核の培養スライスにおける，細胞内 Ca^{2+} リズムにおける NCX の役割を解析した。その結果，視交叉上核の細胞内 Ca^{2+} リズムの温度補償性は，NCX 阻害剤によって著しく阻害されることが分かった。現在，この作用が一細胞レベルでも観察されるのかを解析している。

60. 多光子顕微鏡のための超短光パルスファイバーレーザーの開発

藤　貴夫（豊田工業大学）
村越秀治（生理学研究所）

多光子顕微鏡の光源としては，高いピーク出力をもったチタンサファイアレーザーを使うことがほとんどであるが，波長は 650-1000 nm 程度に限定されている。3 光子顕微鏡で有用な波長である 1300 nm と 1800 nm の波長で発振し，十分なピーク出力と平均出力をもったファイバーレーザーを開発して，それらを多光子顕微鏡に応用することを本研究の目的とする。豊田工業大学において開発したファイバーレーザーを生理学研究所の多光子顕微鏡室に持ち込み，実際に生きた動物を対象とした実験を行うことを目標としていた。

前年度に引き続き，豊田工業大学で開発し，生理学研究所に設置した 1800 nm のファイバーレーザーシステムを用いて，個体マウスにおける神経細胞観察を試みた。赤色蛍光タンパク質を導入し，3 光子励起によって，大脳皮質深部 800 μm 程度における神経細胞体の観察に成功したのに加え，緑色蛍光タンパク質を導入して，4 光子励起による観察に挑戦した。生後 9 週齢マウスのアストロサイトに Clover をコードするアデノ随伴ウイルス導入して，ウイルス導入から 14 日後に観察を行った。この結果，大脳皮質深部 150 μm 程度において，アストロサイトの観察に成功した。ファイバー増幅器出力で 3 光子および 4 光子励起で in vivo の観測ができたのは世界ではじめての成果であり，Biomedical Optics Express の論文として発表した。

また，1300 nm のファイバーレーザーシステムの開発においては，プラセオジム添加フッ化物ファイバー(Pr:ZBLAN)を増幅媒質とした増幅器を構築した。イッテルビウム添加ファイバーレーザー発振器からの出力(1030 nm)をフォトニック結晶ファイバーに入射して，ラマンシフトによって 1300 nm のソリトン波を発生し，それを種光とした。種光は回折格子パルス伸長器によって 150 ps 程度まで伸長し，2 段の Pr:ZBLAN 増幅器によって 100mW 程度まで増幅した。増幅したパルスを回折格子対で圧縮し，パルス幅を測定したところ，数十ピコ秒の範囲で裾を引く成分があった。これは，位相がランダムになってしまった成分である。増幅器における励起光強度を小さくすることによってパルス幅が大きく変わる様子が観測されたことから，これは，ファイバーによる増幅において，光強度が高すぎて非線形効果が蓄積され，位相がランダムになってしまったことが原因と考えられる。増幅器において強度が高くなりすぎないように，大きいコア径の Pr:ZBLAN ファイバーを使用する計画を立てている。

61. 睡眠調節における星状膠細胞の役割 ： 視床下部におけるシナプスでの構造的可塑性の研究

仙波和惠，Tatjana Golovin，Samuel Deurveilher（Dalhousie 大学, Department of Medical Neuroscience，カナダ）
窪田芳之（生理学研究所･電子顕微鏡室･窪田グループ）

睡眠覚醒のサイクルの維持には，視床下部の神経細胞が重要な役割を演じているが，我々は，星状膠細胞（astrocyte）が，視床下部の覚醒促進細胞（オレキシン(OX) 細胞）への興奮性入力の強度を，睡眠状況（断眠/安眠）によってダイナミックに調節している事を明らかにした（Briggs, Hirasawa & Semba, J Neurosci 2018）。本研究では，この調節は，星状膠細胞突起が ORX 細胞上の興奮性シナプスから離脱，または接近することによっておこるという作業仮説を，光顕-電顕相関解析法と連続超薄切片３次元再構築法で検証する。６時間の断眠もしくは安眠させたラット（各グループ３匹）を灌流固定した後，視床下部の切片を作成済みである。

2022 年度は, 4 匹目のラットからの 1 つの OX 細胞について，さらに連続電顕画像データを獲得する一方，こ

れまでに 4 匹から獲得した 11 個の OX 細胞からの大容量電顕データセットを用いて，OX 細胞への興奮性と抑制性のシナプスに関して，シナプスを星状膠細胞突起が取り囲む程度について，３次元再構築と定量解析を進めた。

星状膠細胞突起とシナプスの距離関係については，三種類の数量的な指標を開発導入して解析を進め，断眠の後は，睡眠の場合に比べて，ORX 細胞のシナプスにおいて，星状膠細胞突起がクレフト近辺に存在する確率が，30 %近く減ることを確認した。さらに，睡眠条件の違いにより，三者間シナプス構造の変化に関して，興奮性，抑制性シナプスを区別した分析を開始し，安眠条件では，違いがないことを確認した。また，本研究の結果得られたアストロサイト突起を含む三者間シナプス構造の変化をモデル化して，シナプス前抑制効果を説明するために，グルタミン酸拡散シミュレーション解析を開始した。

オレキシン細胞の表面の 50-70 % は，大変に薄い（約 100 nm）星状膠細胞突起シートに覆われており，シナプスに接近している星状膠細胞突起の多くは，この薄いシートの延長であった。これは，三者間シナプスの形成についての理解を助けると考えられる。

これらの観察は，星状膠細胞が OX 細胞への入力の調節に重要な役割を演じていることを示唆する。今後，さらに定量解析を進め，また，ラットと細胞の数を増やし，睡眠条件の違いがもたらす OX 細胞上の興奮性と抑制性シナプスと星状膠細胞突起との関係を質的また数量的に調べる予定である。

62. 光-電子相関顕微鏡法による前頭皮質 6 層視床投射細胞のシナプス結合の解明

苅部冬紀，平井康治，角野風子（北海道大学）
窪田芳之（生理学研究所･電子顕微鏡室･窪田グループ）

二次運動野第 6 層の錐体細胞には，大きく二種類の投射様式がある。一群は視床腹側核や髄板内核に投射し，もう一群は対側大脳皮質に軸索を伸ばす。異なる出力特性を持つこれらの 6 層錐体細胞の局所回路シナプス結合の詳細を，形態学的に検討した。

逆行性色素により視床投射細胞を蛍光標識したラット脳から 300 μm 厚の *in vitro* スライス標本を作製し，ホールセル記録の後，biocytin により記録細胞を蛍光標識した。以後の組織処理は，Kubota et al., 2018 の開発した改変 ATUM 法に則った。固定後，50 μm 厚の切片とし，3 個の視床投射細胞の共焦点顕微鏡画像を撮影した。樹脂包埋後，600×150 μm の範囲を切り出し，35 nm 厚の連続超薄切片を作成し，ウエハー上に張り付け，約 200 枚の超薄切片を走査電子顕微鏡を用いて撮影した。共焦点蛍光顕微鏡画像と SEM 画像を対応させ，３個の視床投射細胞の細胞体を同定し，その樹状突起と軸索を追跡し，三次元再構築を行った。

軸索神経終末の一部は，棘突起の頭部に興奮性シナプスを形成している様子が観察された。この棘突起を持つ樹状突起を部分的に再構築したところ，樹状突起 1 μm あたりに約 1 個の棘突起を持っていたことから，錐体細胞の樹状突起であると推定された。また，一部の軸索終末は，明瞭な棘突起を持たない樹状突起へシナプスを形成していた。現在，信頼性を持つ定量的な結果を得るために，観察シナプス数を増やしている。

63. 皮質抑制性細胞の形態解析システムの構築

森島美絵子（東京慈恵会医科大学 臨床医学研究所）
窪田芳之（生理学研究所･電子顕微鏡室･窪田グループ）

神経回路を構成する神経細胞は興奮性細胞 80 %，抑制性細胞 20 % からなり，様々な細胞サブタイプに分類されている。抑制性細胞は，分子マーカー，電気的性質，形態的性質の 3 つ性質を組み合わせることで分類される

（Kawaguchi and Kubota, 1996; Kawaguchi and Kubota, 1997; Markram et al., 2004）。さらに次世代シークエンサーを用いて遺伝子発現情報を組み合わせる手法も報告され（Gouwens et al., 2020; Scala et al., 2021），さらに細分化されている。細分化された分類の中で，形態的要素が重要であることが報告されているが，2000 年代までの基本的な分類を超える発見には至っていない。形態的解析は客観的な指標に乏しく，基準は研究グループによってばらつきがある。このため，本研究課題では，これまでに大脳神経回路論部門で蓄積されてきた形態データリソースに着目し，機械学習技術のアプローチを用いて抑制性細胞の形態解析システムの構築を目標とする。特に大脳皮質の抑制性細胞サブタイプの中で 2 番目に大きいポピュレーションであるソマトスタチン陽性細胞は，様々な特徴的な軸索形態をしており，局所回路の機能解明の観点からも興奮性細胞の制御と関連させた分類が可能になると考えられる。2022 年度は，機械学習による形態解析システム構築のために，抑制性細胞の細胞体，樹状突起，軸索の 3 次元情報を含む形態データの収集をさらに行った。Neurolucida によってトレースしたデータからサポートベクトルマシーン（SVM）に学習させるための特徴データを解析し，また，ディープラーニング用に画像データを取得した。2023 年度は，この解析の予備的結果に基づいて，ソマトスタチン陽性細胞のサブタイプについてより統合的な解析を行う予定である。

64. 大脳皮質運動野における視床投射神経終末の標的神経構造の電顕による解析

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）
窪田芳之（生理学研究所･電子顕微鏡室･窪田グループ）

大脳皮質運動野は，運動性視床核の ventral anterior-ventral lateral nuclei (VA-VL), ventromedial nucleus (VM) を介して，大脳基底核と小脳からの情報を受け，統合することで適切な運動司令を脊髄へ出力する。大脳基底核の情報を伝える視床投射細胞の軸索は皮質 1 層に，一方，小脳の情報は中間層に主に分布することが明らかになっているが，そのシナプス結合の相手は不明である。本研究では，各視床核からの視床−皮質投射軸索終末が，大脳皮質でどの神経組織にシナプス結合するかを，レーザー共焦点顕微鏡（LSM）と電子顕微鏡（EM）の相関解析法により検討した。

ペントバルビタールの腹腔内投与によりラットを麻酔し，膜移行性シグナル付きの緑色蛍光タンパク（palGFP）を発現するアデノ随伴ウイルスベクター（AAV-palGFP）溶液を詰めたガラス針を視床核に刺入し，AAV を電気的に注入した。手術から 1 週間後にラットを灌流固定して脳を取り出し，ビブラトームにて厚さ 100 ミクロンの切片を作製した。蛍光顕微鏡下で，AAV に感染して GFP を発現している神経細胞を含む切片を選出した。グルタミン酸脱炭酸酵素 67kD (GAD67) に対する抗体を用いて脳切片を蛍光免疫染色し，運動性視床核の亜核 VA・VL・VM を区別し，GFP 陽性のニューロンが分布する亜核を同定した。一方，大脳皮質の切片で GFP 陽性の視床皮質神経線維を見つけるために，血管壁を赤色蛍光標識されたレクチンで，細胞核を DAPI (青色蛍光標識)で対比染色した。LSM を用いて高倍率で連続フォーカス画像を撮影した。その後，大脳皮質の切片を EM 観察用に組織処理し，連続超薄切片を作成し，走査型 EM で広範囲撮影を行い，連続 EM 画像データセットを作製した。LSM 画像データセットと EM 画像データセットの相関観察解析により，GFP 陽性の視床−皮質投射軸索を同定し三次元再構築によりシナプスターゲット構造解析を行った。VL 視床核からの皮質投射線維の再構築解析を実施した結果，その大半が大脳皮質の錐体ニューロンのスパインに特異的にシナプス結合することが明らかになった。引き続き，VL ニューロンについて形態解析を行い，シナプス結合則の違いを解明したい。また，来年度は VM ニューロンを標識し，同様の検討を進めたい。

65. アルギン酸ゲル包埋したラット膵島のガラス化保存と糖尿病モデルへの移植

保地眞一（信州大学繊維学部）
平林真澄（生理学研究所）

1 型糖尿病への膵島移植の適用において，ドナー膵島の絶対的不足や移植膵島の生着率の低さなど，改善すべき問題が多く残されている。膵島サイズには直径 50 μm から 500 μm まで大きな変動幅があり，直径 250 μm 以上の膵島になると中心部に近い細胞に酸素や栄養分が行き渡りにくくなる。そのため，体外培養系での生存率やインスリン分泌能のみならず移植後の生着率も劣ってしまう。本実験では，ラットにおいて単一細胞化した膵島構成細胞がマイクロウェル中で再凝集する性質を利用して偽膵島を作製した。8〜12 週齢の F1 雄ラットからコラゲナーゼ消化とヒストパック密度勾配遠心を併用して膵島を単離した。37 ℃ で 24 時間培養後，トリプシン EDTA 液で 5 分間処理することによって膵島を単一細胞化し，低接着性 U ボトムマイクロプレートの各ウェルあたりに 1,500 個の細胞が入るよう細胞懸濁液を播種して 7 日間培養した。未処理の新鮮膵島を対照区とし，培養 1，3，7 日目に再構築された偽膵島のサイズ，生存率，インスリン分泌量 (刺激指標 SI＝20 mM グルコース刺激時の値÷3 mM グルコース刺激時の値) を比較した。新鮮ラット膵島を単一細胞化することなく 1 週間まで培養を継続すると，そのサイズは元の 3/4 にまで減少した。これに対し，培養 3 日目で明瞭な偽膵島として視認できるようになるそのサイズは培養を 7 日目まで継続してもほとんど変化せず，生存率についても培養期間を通して 85 %以上の高水準を保っていた。インスリン分泌能力については，培養 1 日目の新鮮膵島と比較しても遜色ない SI 値が培養 3 日目および培養 7 日目の偽膵島から得られた。インスリン及びグルカゴン抗体を用いて偽膵島を免疫染色したところ，β 細胞：α 細胞比（約 8：2）や配置（β 細胞コア，α 細胞マントル）は新鮮対照膵島のそれと極めて近かった。以上，ラット偽膵島は 7 日間にわたって膵島移植に耐えうる生存率とインスリン分泌能を保持していた。作製サイズを制御された偽膵島は低酸素環境や低栄養状態に晒されにくく，再凝集行程で死細胞が排除された高品質な偽膵島が調製されたと考察できる。

66. ラットにおける効率的な精子幹細胞移植法の確立

中村隼明，堀内拓海（広島大学 大学院統合生命科学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

精子幹細胞は予め生殖細胞を除去した宿主の精巣内に移植すると，生着して精子形成のコロニーを形成することができる。本研究では，現状では精子幹細胞移植後のコロニー形成効率が低いラットにおいて，その効率の改善を図ることを目的とした。マウス生殖細胞の除去に効果的なアルキル化剤（ブスルファン）の投与時期と投与量を検討した結果，生後 2 週令のラットに 12 mg/kg の投与量で処理することで内在性生殖細胞を最も効果的に除去することができた。しかし，この方法では，内在性の精子幹細胞が残存しており（投与 4 週間後における精子幹細胞の数はコントロールの約 65 %），時間の経過に伴って内在性の精子形成が再生した。一方，*Prdm14* 機能破壊ラットでは，支持細胞であるセルトリ細胞の数は変化することなく，内在性生殖細胞を完全に欠損することが明らかとなった。続いて，全身で赤色蛍光タンパク質を発現する *Rosa26-tdTomato* ラット成獣の精巣から調整した細胞懸濁液を，予めブスルファンを投与したラットならびに *Prdm14* 機能破壊ラットの精巣内に移植した。その結果，ブスルファン投与ラットの精巣では，精巣細胞 1×10^6 個あたり約 25 個のコロニーが形成されることが明らかとなった。一方，胎児期の生殖細胞だけで発現する *Prdm14* 遺伝子の機能破壊ラットについては定量的な解析は完了していないものの，コロニー数がブスルファン投与ラットと比較して増加する傾向があるという予備的データが得られつつある。しかし，種親の繁殖障害によって *Prdm14* 機能破壊ラットの個体を予定通り得られ

ることができず，マウスの精子幹細胞移植後のコロニー形成効率の改善に有効な精巣特異的に作用する可逆的なレチノイン酸合成阻害剤（WIN18,446）の効果については検討することができなかった。このため，本共同利用研究の期間を超えるが，更なる検討を継続してラットの精子幹細胞移植後のコロニー形成の効率化を目指す。本研究における実験動物の取扱い等は，生理学研究所ならびに広島大学の動物実験指針に従って適切に実施した。

67. 古典的催眠・鎮静剤「ブロムワレリル尿素 (BU)」の新規抗炎症剤としての適応を目指した，同剤催眠・鎮静効果の電気生理学的作用機序の解析

矢野　元（愛媛大学大学院医学系研究科 分子細胞生理学講座）
吉村由美子（脳機能計測支援センター 時系列細胞現象解析室）

研究背景・目的

「ブロムワレリル尿素（BU）」は，100 余年の医薬品としての歴史を持ちながら，現在ではほとんど顧みられない古典的催眠・鎮静剤である。申請代表者らは，比較的低濃度のこの化合物に抗炎症効果があることを見出し，抗炎症薬としての新規適応を目指している。しかしながら，この化合物には自殺に繁用された負の歴史的側面があることから作用機序解析がほとんど行われてきておらず，抗炎症効果の実体のみならず，催眠・鎮静効果すらどのようにしてもたらされるのか不明なままで，このことが新規薬剤としての開発を阻んできていた。このためわれわれは，抗炎症効果の実体を追求する一方で，催眠・鎮静効果の実体についても明らかにし，作用機序の異同を明らかにする必要に迫られており，本共同研究において催眠・鎮静効果の機序解明を目指し，同剤が大脳皮質の抑制性シナプス伝達に影響するという仮説の検証を行った。

研究成果

催眠・鎮静薬として主流の一つをなすバルビツール酸系の化合物は $GABA_A$ 受容体シグナルを動員する。BU が同様であるか否か検証したところ，BU が $GABA_A$ 受容体阻害剤 SR95531 によって消失する mIPSC を惹起したことから，$GABA_A$ 受容体シグナルを動員していると考えられた。濃度依存性を検討したところ，明らかな効果（定常状態の 2 倍以上とすると）は，50 μg/ml 以上といった比較的高濃度において観察された。抗炎症効果の実体と目される転写因子 NRF2 の動員は，4〜5 分の 1 程度の濃度域から観察され，また最大用量における効果の最大量も $GABA_A$ 受容体シグナル動員の数倍におよんでおり，抗炎症効果に要する用量は催眠・鎮静効果のそれよりも数分の 1 と低いと推測された。

これらの解析は，*Biochem. Biophys. Res. Commun*. 誌，2023 Jan 1;638:176-183.€doi: 10.1016/j.bbrc.2022.11.062. に掲載された。ドラッグリポジショニングの観点から BU の新規抗炎症薬としての“再”実用化を目指す申請者にとって，本共同研究が大変重要な成果をもたらしくれたことを，吉村 由美子 教授はじめ，生理学研究所に深謝したい。

68. 大脳基底核が制御する随意運動，情動における線条体の細胞内シグナル伝達の役割

佐野裕美（藤田医科大学・精神・神経病態解明センター）

線条体は大脳基底核の入力核の一つであり，大脳皮質からグルタミン酸作動性，黒質緻密部からドパミン作動性入力を受ける。線条体にはドパミン D1 受容体を発現する D1-medium spiny neurons (MSNs) と D2 受容体を発現する D2-MSNs がある。ドパミンは Protein Kinase A (PKA) を介して D1-MSNs の興奮性を高め，D2-MSNs の興奮性を抑制すると考えられてきた。

PKA の constitutive active (CA) をマウスの D1-MSNs に発現させたときの D1-MSNs の神経活動をスライスパッチクランプ法により解析するため，今年度は MSNs からスライスパッチクランプ法により神経活動を記録するトレーニングを行った。

【計画共同研究報告（生理学研究所）】

計画共同研究報告
（生理学研究所）

〔　目　　次　〕

1. 先端電子顕微鏡による海底微生物の細胞構造解析……173
2. B 型肝炎ウイルス逆転写酵素のクライオ電顕……173
3. クライオ電子顕微鏡によるメドゥーサウイルスヌクレオソーム構造の解析……174
4. バクテリア DNA 凝集構造の三次元立体像の構築……174
5. 生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析……175
6. 肥満・糖尿病に伴う自律神経障害の病態形成メカニズムの解明と新規治療法の開発……176
7. 社会ストレスによる脳組織の超微細な細胞生物学的変化とその機序・役割の解明……176
8. Three-dimensional ultrastructural analysis of intercellular nuclear migration in wheat male meiocytes……177
9. ヒト副腎皮質疾患における副腎組織及び腎組織の細胞内小器官の超微形態学的変化に関する検討……178
10. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析……178
11. マウス大脳皮質ニューロン及び視神経の微細構造の解析……179
12. 小胞放出を抑制した海馬シナプスの 3 次元微細形態解析……179
13. 家族性中枢性尿崩症のバソプレシンニューロンにおける小胞体内凝集体形成機序の解明……180
14. 神経幹細胞からニューロン，グリア細胞への分化過程の形態学的解析……180
15. Serial block-face 走査型電子顕微鏡を用いた腸管粘膜固有層内細胞集団の発生学的解析……181
16. 末梢神経微細構造の立体解析……182
17. 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グリア細胞及び血管の機能解析……182
18. 求心性迷走神経活動による延髄孤束核神経活動変化の in vivo イメージング……183
19. 脳虚血再灌流におけるペリサイトのカルシウムイメージング……183
20. 光操作による大脳皮質神経回路網の発振現象の解明……184
21. 海馬シナプスにおける入力側依存性左右差の形成機構……184
22. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究……185
23. 変異型ウイルスベクターを用いた新規長鎖遺伝子の機能解明……185
24. 広視野 2 光子顕微鏡によるマウス大脳皮質広域 Ca^{2+}イメージングに向けたウイルスベクター開発と導入法の確立‥186
25. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究……186
26. 体液恒常性を制御する神経機構の解明……187
27. 大脳皮質運動野から脊髄および大脳基底核へ投射する神経経路の機能解明……188
28. 視床網様核の機能解明……188
29. アデノ随伴ウイルスベクターを用いた神経発生・変性の分子メカニズム解析……189
30. AAV を用いた疾患遺伝子ゲノム編集による DRPLA 治療法の前臨床試験研究……189
31. 新規緑内障治療薬の開発研究……190
32. ウイルスベクターを用いた嗅覚中枢神経回路の構造と機能の解析……190
33. 霊長類脳におけるウイルスベクターを用いた光遺伝学・化学遺伝学技術による細胞種特異的機能操作法の開発‥191
34　報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発……191
35. 光・薬理遺伝学的手法と in vivo パッチクランプ法による疼痛中枢性制御機構の解明……192

36. ウィルスベクターを用いた末梢-中枢神経回路ネットワークの解明……192
37. 自己免疫性小脳性運動失調症に関連する抗神経抗体の標的抗原蛋白の同定……193
38. 下垂体後葉ホルモンの分子・機能進化に関する研究……193
39. 動物の光受容タンパク質オプシンのダイナミックな機能変換を利用した光遺伝学ツールの開発……194
40. 「新規骨格を有する 2 光子励起色素」創製を目指した設計・合成・構造解析・機能評価研究……195
41. 超低侵襲３D イメージングによる先祖返り細胞質分裂機構の解析……195
42. Neural Mass model により同定されたモデルパラメータに基づくヒト脳波の興奮/抑制性バランスの定量化手法の開発……196
43. 経頭蓋静磁場刺激によるヒト脳可塑性の神経生理学的探索……196
44. 安静時脳内ネットワークのダイナミズムの臨床応用……197
45. 脳波ダイナミクスに着目した脳卒中機能回復原理の解明……198
46. 運動異常症の脳内電位の同期現象……198
47. 頭蓋内電極を用いたてんかん病態下の脳内ネットワーク機構とてんかん病態の解明……199
48. 円口類ヤツメウナギを用いた頭部中胚葉および神経堤細胞の分布および特徴の理解……200
49. 黄斑円孔における黄斑部網膜回路の SBFSEM を用いた可塑性検討……200
50. 関心脳波律動を増幅させる非侵襲的脳刺激法の開発－律動周期の変化をアルタイムに予測して刺激タイミングを決定するアルゴリズムの開発……201
51. 神経細胞間認識分子である PcdhgC4 と相互作用する新規分子の同定 ……203
52. 非線形ダイナミクス解析を用いたヒトてんかんネットワークの時系列変容の解明
〜定位的頭蓋内脳波記録を用いた検討〜……204

1. 先端電子顕微鏡による海底微生物の細胞構造解析

井町寛之，酒井早苗，小河原美幸（海洋研究開発機構）
村田和義，ソン･チホン（生理学研究所）

提案代表者の井町は独自の培養手法を使うことによって，これまで培養が困難とされていた海底下に優占化して存在するアーキアやバクテリアの培養に成功している。これら培養されたアーキアやバクテリアは生態学，進化学および分類学的な観点から重要であり，その細胞や生理学的特徴の解明を行うことは生物学の基礎的知見を大きく拡充することに繋がる。これら培養に成功している微生物の中には光学顕微鏡，走査型電子顕微鏡あるいは薄片化サンプルを使った透過型電子顕微鏡による観察において特徴的な細胞構造を有するものが存在している。本共同研究では特徴的な細胞形態を有する海底微生物の詳細な細胞構造を解明するために，低温位相差電子顕微鏡を用いることで生きた状態に近い状況の細胞を高分解能で観察を行うことを目的とする。今年度は，ダークマター微生物の 1 つとして知られる OP1 門の初めての培養株について，低温位相差電子顕微鏡を用いた観察を行った。その結果, (1) 他の顕微鏡観察では明らかにできなかった細胞膜構造を明瞭に観察できたこと，(2) 細胞両端から長く伸びる特徴的な prosthecate 様の構造は外膜が延長したものであることを確定させることができたこと，そして (3) 今のところ全くその機能は不明だが，細胞質が部分的に分解しているような不思議な細胞内構造物が観察された。今後は，この OP1 門バクテリアが持つとユニークな細胞構造や分裂機構を明らかにしていく予定である。加えて，培養できている他のアーキアやバクテリアについても順次，低温位相差電子顕微鏡を用いた観察を進めていく予定である。

2. B 型肝炎ウイルス逆転写酵素のクライオ電顕

豊田哲也（医療法人さわらび会福祉村病院，長寿医学研究所）
村田和義（生理学研究所脳機能計測・支援センター）

B 型肝炎ウイルス（HBV）は，hepadnavirus に属する DNA ウイルスであり，逆転写酵素(RT)を持ち，C 型肝炎ウイルスとともに，肝臓がんの原因としてわが国で問題となっている感染性慢性肝炎の主な原因である。現在，RT 阻害剤が開発され，治療が可能となったが，RT 阻害剤のみではウイルスの排除は不可能，かつ，薬剤耐性ウイルスの出現の問題があり，根本的な治療法の確立，つまり，効率のよい RT 阻害剤の開発が望まれている。そのため，HBV RT の構造解明に取り組んできたが，精製が困難であり，結晶化に何度も失敗してきた。そこで，cryo 電顕による構造解明を行うことを目的として，資料の作成を行った。

1. HBV RT domain のみを大腸菌で発現し，8 M 塩酸グアニジンによる変性条件下で精製し，NV10 による再生を行ったもの
   これは，電顕にて様々は形態を示したため，cryo 電顕は不可能と判断した。
2. HBV RT domain を NusA 融合タンパクとして大腸菌で発現し，非変性条件で精製したもの
   この精製画分には GroEL が 50%コンタミするためさらに精製が必要と判断した。
3. HBV RT domain を NusA 融合タンパクとして大腸菌で発現し，ATP 処理により GroEL を除去したもの
   GroEL のコンタミネーションは減少したが，電顕にて様々な形態を示したため，核酸との複合体を形成していると考えた。
4. NusA 融合 HBV RT domain を ATP 処理により GroEL を除去した後，micrococcal nuclease で処理し，さらにゲルろ過にて精製したもの
   Micrococcal nuclease で処理した後も，処理前と同様のゲルろ過のパターンを示し，電顕にても多型を示したため，これも cryo 電顕による解析には適さないと判断した。

結論

HBV RT domain の大腸菌で発現精製した資料で cryo 電顕を実施することはかなり厳しいと考え，同類のアヒル B 型肝炎ウイルス（DHBV）の polymerase 全長の解析にチャレンジすることにして，来年度に持ち越すこととした。

3. クライオ電子顕微鏡によるメドゥーサウイルスヌクレオソーム構造の解析

武村政春（東京理科大学）
村田和義（生理学研究所）

【背景・目的】メドゥーサウイルスは，2019 年に我々が日本の温泉水から分離した核細胞質性ウイルスの一種であり，新しい科（Family *Mamonoviridae*）を提唱している新規巨大ウイルスである。メドゥーサウイルスは，そのゲノムに真核生物と同じ５種類（フルセット）のヒストン遺伝子をコードしており，プロテオーム解析によりウイルス粒子内に存在すると共に，トランスクリプトーム解析により感染したアカントアメーバ細胞内で発現することが明らかとなっており，ウイルス粒子内ならびに感染アカントアメーバ細胞内で，独自のヌクレオソームを形成する可能性が指摘されている。そこで本研究では，クライオ電子顕微鏡を用いてメドゥーサウイルスのヒストンのヌクレオソーム構造を明らかにすることを目的とした。

【方法】２種のメドゥーサウイルス株（*Acanthamoeba castellanii medusavirus* ならびに *Medusavirus stheno*）のコアヒストン遺伝子（H2A, H2B, H3, H4, stheno 株では H2A, H2B, ならびに H3-H4 融合遺伝子）をクローニング後，His-tag が付与される大腸菌発現系を用いて発現させ，Ni-NTA アフィニティークロマトグラフィーによる精製を行った。精製したコアヒストンタンパク質を，真核生物のヌクレオソーム形成に用いられる nucleosome 601 DNA と混合し，透析により in vitro でヌクレオソーム構造を再構築し，ゲルろ過クロマトグラフィーによりヌクレオソーム画分を精製した。このヌクレオソーム画分を，クライオ電子顕微鏡により解析し，その立体構造を明らかにするとともに，真核生物のヌクレオソーム構造と比較することとした。

【結果】これらメドゥーサウイルスヒストンタンパク質のうち，*Acanthamoeba castellanii medusavirus* のヒストン H4 が大腸菌における発現効率が著しく悪かったため，*Medusavirus stheno* のヒストンを用いてヌクレオソーム再構築を行うこととした。*Medusavirus stheno* H2A, H2B, H3-H4 は，いずれも大腸菌において高発現を示し，6M urea 存在下で可溶化することができた。これを Ni-NTA resin を用いたクロマトグラフィー（バッチ法）により精製すること，さらに TEV protease により His-tag 部分を除去することに成功した。これらヒストンタンパク質と nucleosome 601 DNA を混合し，透析で NaCl 濃度を下げることにより複合体形成を起こさせた。現在，ゲルろ過クロマトグラフィーにより，複合体が形成されていることが確認できているが，ヌクレオソーム構造を形成しているかどうかは確認できていない。

今後，ヌクレオソーム構造の確認を，ネガティブ染色電子顕微鏡，クライオ電子顕微鏡により行い，メドゥーサウイルスヌクレオソーム構造の解明を行っていく予定である。

4. バクテリア DNA 凝集構造の三次元立体像の構築

金子康子，アベイナヤカ･ダミタ（埼玉大学教育学部）
村田和義（生理学研究所）

桿状のシアノバクテリア（*Synechococcus elongatus*）は，明暗周期下で定期的に植え継ぎを繰り返すことにより細胞分裂周期が同調する。この系を用いてこれまでに，細胞分裂に先駆けて DNA が太いひも状の凝集構造をとること，ポリリン酸体が対になって配置し，チラコイド膜が波打つように変形すること，さらに，細胞中央にカル

ボキシソームが棒状に集積し，それを取り囲むようにDNA の凝集構造が形成されること, など特徴的な構造を明らかにしてきた。

細胞分裂時の DNA の凝集構造をさらに詳細に解析するために，凝集期の DNA を DRAQ5 と DAB で処理した後オスミウムブラックの形成を促すことにより，高コントラストを付与することも可能となった。凝集期の DNA は一定の太さのひも様構造がコイル状に配置して段階的に太いひも様構造を形成することが示唆された。

さらに，DNA の凝集構造は，一定濃度以上の亜鉛イオンの存在下でも誘起されることが明らかになったため，この条件下における DNA 凝集構造の詳細を観察することを試みた。亜鉛イオンの存在下で DNA が凝集したシアノバクテリアを高圧凍結・凍結置換後，樹脂包埋し超薄切片を作製して TEM 観察したところ，凝集した DNA 部分の電子密度が高くなっており，STEM-EDX により亜鉛が局在することが示された。次に，この樹脂包埋試料から 200-300 nm の厚さの切片を作製し，電子線トモグラフィーにより DNA 凝集構造の三次元立体像を構築することを試みた。亜鉛の存在により DNA の凝集構造を可視化することは容易になったが，より微細な構造を観察するためには DNA 繊維を電子染色することによりコントラストを付与することが必要であると考えられた。そこで，より厚い 500 nm 程度の切片を作製し，グリッドで両側から挟んだ状態で 50 ℃ に加熱した酢酸ウラニウムで 30 分間染色した後，カーボン蒸着を施してから TEM 観察を試みた。しかしこの方法でも凝集した DNA を含む微細な構造を鮮明に観察することは難しかった。

今後は，高圧凍結後，凍結置換時にブロック染色を行う方法を検討し，FIB-SEM を用いて FIB によって露出した断面を連続的に撮影した画像を元に三次元立体像を構築する方法を試みる。DNA を含む凝集構造を構成する微細構造を明らかにし, DNA を含む凝集構造形成の意義について考察していきたい。

5. 生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析

澤本和延，澤田雅人，久保山和哉，松本真実
（名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経科学研究所神経発達・再生医学分野）
大野伸彦（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門・生理学研究所超微形態研究部門）
古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）

側脳室に面した脳室下帯では，生後から成体に至るまで，神経幹細胞が存在しており，持続的に新たなニューロンを産生している。この「幹細胞ニッチ」において産生された幼若な新生ニューロンは移動能が高く，発達を終えた成体脳組織内においても移動経路を形成し，高速度で移動することができる。これらの新生ニューロンは移動経路を通過し，目的地である嗅球内に到達した後，成熟することで嗅覚神経回路の可塑性に寄与している。一方で，脳傷害後には，傷害に応答し，幹細胞ニッチにおける細胞増殖が増加する。さらに，一部の新生ニューロンが傷害部へと移動し，ニューロン再生に寄与する。しかし，新生ニューロンと周囲組織や細胞群との相互作用の詳細は未だ不明である。本研究では，連続ブロック表面走査型電子顕微（SBF-SEM）と 3 次元再構築法を用いて，新生ニューロンの周囲組織との接触・接着形態を網羅的に解析し，生後脳での新生ニューロン移動に関わる微小環境との相互作用の形態学的特徴を明らかにすることを目的とし，以下の解析を行った。

① 成体脳内を移動する新生ニューロンの解析

成体脳内を移動する新生ニューロンは, 鎖状に連なり, 周囲の細胞群と相互作用しながら移動している。SBF-SEM および 3 次元再構築法により, 正常脳および傷害脳内を集団移動する新生ニューロンの接着状態を定量的に解析した。また，特に移動の効率が高い正常脳内の新生ニューロン移動の詳細を大規模に解析するために，AI による機械学習を用いたオートセグメンテーションや細胞分画を行った。

② 新生仔脳内を移動する新生ニューロンと足場の解析

新生仔期においても脳傷害が生じると，新生ニューロンが傷害部へと移動する。SBF-SEM および 3 次元再構築法により，移動する新生ニューロンと周囲細胞群との相互作用について解析した。

③　出生イベントによる幹細胞ニッチの構造への影響

出生時イベントが，生後の脳室下帯の構造に与える影響を SBF-SEM および 3 次元再構築法により解析した。

6. 肥満・糖尿病に伴う自律神経障害の病態形成メカニズムの解明と新規治療法の開発

志茂　聡（健康科学大学健康科学部作業療法学科）
大野伸彦（生理学研究所超微形態研究部門）
村松　憲（杏林大学保健学部理学療法学科）
坂本祐太，甘利貴志（健康科学大学健康科学部理学療法学科）

糖尿病では全身の代謝異常とともに，自律神経障害に起因する下痢や便秘などの重篤な消化管運動障害を引き起こすことが知られている。これらの発症機序として，高血糖やインスリン抵抗性にともなう酸化ストレスなどにより，小腸筋間神経叢や粘膜下神経叢に障害が引き起こされていることが示唆されているが，その病態や成因については未だ不明な点が多い。我々は，これまで連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いた解析により，前糖尿病期において腸管筋層間神経叢の軸索 Varicosity の減少，ミトコンドリア体積の増加を明らかにした。さらに，糖吸収阻害薬フロリジン投与が軸索に保護的に作用する可能性を明らかにした。本年度は，ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病モデルマウスを用いて，腸管筋層間神経叢の 3 次元的再構築を行った。

6 週齢マウス（C57BL/6J, 雄）に STZ 投与（60mg/kg/day, 5 日間投与）し，20 週齢まで飼育された糖尿病モデルマウス（STZ 群）を用いた。対照群として，6 週齢に Vehicle 投与し, 20 週齢まで飼育されたマウス（コントロール群）を用いた。一部は，フロリジンを試料採取の前日および当日に皮下投与した。麻酔下で小腸を採取し，OTO 法によるブロック染色を行い樹脂包埋した。その後，SBF-SEM を用いて連続断層像を取得し，小腸筋層間神経叢内の軸索 Varicosity 数，表面積，体積およびグリア細胞の形態を解析した。

STZ 群では，小腸筋層間神経叢内で断片化している軸索を著明に認めた。また，コントロール群と比較して Varicosity 数の減少を認めた。一方, Varicosity 形態では，STZ 群において表面積および体積ともにコントロール群と比較して有意な増加を認めた。さらに，小腸筋層間神経叢内のグリア細胞の形態比較では，STZ 群において核の扁平化を認めた。本研究結果から，糖尿病期では小腸筋層間神経叢内の軸索の断片化とともに軸索 Varicosity の減少を引き起こし，自律神経障害を惹起している可能性が示唆された。今後は，フロリジン投与後の小腸筋層間神経叢内の軸索 Varicosity 数，表面積および体積を解析する予定である。

これらの結果は，複数の学会においてポスターと口頭による発表を行い，現在国際誌へ投稿準備中である。

7. 社会ストレスによる脳組織の超微細な細胞生物学的変化とその機序・役割の解明

永井裕崇，古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野）
大野伸彦（自治医科大学医学部組織学部門）
古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）

社会や環境から受ける慢性ストレスは，抑うつや不安を招き精神疾患の発症リスクとなる。これまで，慢性ストレスによる認知情動変容の細胞生物学的基盤として神経細胞の形態的萎縮が重要と考えられてきた。その要因としてミクログリアの活性化を伴う脳内炎症やストレスホルモンである副腎皮質ホルモンの重要性が指摘されてきたが，神経細胞内のメカニズムは殆ど不明である。本研究は三次元電子顕微鏡（SBEM）を用いて神経細胞の形

態と細胞内小器官を同時に可視化し，ストレス病態における組織細胞生物学的変化の実態解明を目的とする。

慢性ストレスには観察対象の C57BL/6 マウスをより体格の大きく攻撃性の高い ICR マウスに 1 日 10 分間，10 日間連続曝露する社会挫折ストレスモデルを用いる。これまで，SBEM を用いて前頭前皮質の連続電顕画像を取得し，樹状突起とスパイン，シナプス並びにシナプス周囲のグリア細胞，スパインや軸索付属の細胞内小器官の三次元再構成を行い，ストレスによるシナプス構造退縮にミトコンドリアが関連することを見出した。この知見を端緒に発現プロテオミクス解析を実施し，中央代謝系分子の発現変動が生じることを明らかにした。今年度は中央代謝系を担う分子の発現を操作することで，ストレスによる前頭前皮質のシナプス構造退縮とうつ様行動を抑制できた。また，並行して実施した SBEM 解析により，慢性ストレス後にポストシナプスとアストロサイトの間の相互作用が減弱することで三者間シナプスが破綻すること，及び急性ストレス後にプレシナプスとミクログリアの間の相互作用が亢進することを見出した。これらの知見は，ストレスのタイムコースに応じて神経グリア相互作用が経時的に変化すること，そしてストレスによる代謝変容が神経細胞の構造萎縮とうつ様行動を担うことを示唆する。

また，慢性ストレス病態と加齢病態には類似性がある。加齢後に認知機能変化を調べるための非侵襲的な行動課題を確立し，今年度は SBEM を用いて神経細胞樹状突起の三次元再構成解析を実施した。その結果，サンプル数は未だ小数ながらも，加齢後に認知機能低下を示す個体特異的に樹状突起スパインの密度低下が生じることを見出しつつある。今後解析を進め，加齢による認知機能低下を担う超微細細胞生物学的変化を同定する。

8. Three-dimensional ultrastructural analysis of intercellular nuclear migration in wheat male meiocytes

Sergey Mursalimov（Institute of Cytology and Genetics）
Nobuhiko Ohno（National Institute for Physiological Sciences）

The aim of the project was to study intercellular nuclear migration (cytomixis) in male meiocytes of wild-type wheat using serial block-face scanning electron microscopy (SBF-SEM). The project utilized protocol for wheat meiocyte preparation for SBF-SEM that we previously developed. Wheat (*Triticum aestivum* L.) anthers were fixed and stained at the Institute of Cytology and Genetics in Novosibirsk, Russia. Samples were embedded in epoxy resin and transferred to the National Institute for Physiological Sciences (NIPS) in Japan, where they were prepared for three-dimensional ultrastructural analysis and scanned on the Gatan 3view - Zeiss ΣIGMA/VP microscope.

7 wheat samples, each containing dozens of meiocytes, were scanned by SBF-SEM. The observed cytological picture of cytomixis in wheat meiosis was quite similar to the rye male meiosis that we observed previously. Most wheat male meiocytes were involved in cytomixis at strictly limited timed period at the leptotene-zygotene stage. Wheat meiocytes had fewer cytomictic channels (dozens vs hundreds in rye), which disappeared quickly. Wheat callose deposition was observed to be faster than in rye, and meiocytes became isolated more quickly. At the zygotene-pachytene stage, nuclear protuberances that extended to the cell wall but did not cross it were more prominent in wheat meiocytes than in rye.

This project was the first to study cytomixis in wheat meiosis by SBF-SEM, and wheat is only the third species where male meiosis has been studied by three-dimensional electron microscopy. Based on the results, we tend to conclude that cytomixis is a natural part of male meiosis of cereals that can be significantly impacted by external factors. The project's methodology, including the development of protocols for plant meiocyte preparation for SBF-SEM, can also be used in future studies on other plant species.

9.　ヒト副腎皮質疾患における副腎組織及び腎組織の細胞内小器官の超微形態学的変化に関する検討

山﨑有人[1]，高木孝士[2]，笹野公伸[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野，[2]昭和大学電子顕微鏡室）

本研究計画ではヒト副腎皮質細胞においてステロイド合成能に重要な役割を持つミトコンドリア等の細胞内小器官に現れる細胞老化に伴う変化（mtDNA damage や mitophagy）及び，ステロイドホルモン過剰に伴う臓器障害機構を検討し，ヒト副腎皮質疾患における病態病理を解明する事を目的とするものであり，東北大学病院にて上記症例の臨床診断にて手術施行時に採取された副腎手術検体ないしは腎生検組織の一部より 3 次元的超微形態学的解析用の試料を採取し，生理学研究所のミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて連続切片画像取得と 3 次元再構築を行い, ステロイド過剰，特にアルドステロン過剰状態に伴う特異的な腎障害をヒトの検体を用いて三次元的超微形態像で観察するものである。

今年度は昨年度に 3D SBF-SEM にて撮像した原発性アルドステロン症の腎組織 1 例について画像解析ソフトを用いて，三次元的構築を行い，血管極部分の細小動脈の壁構造，走行について解析を行った。原発性アルドステロン症のヒトにおける腎障害はあまり検討されておらず, 電顕を用いた報告は非常に限られる。本例では糸球体の血管極部分を三次元的に観察した初めての研究であり，今後，本解析データを用いて症例報告を執筆予定である。

10. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析

岩﨑広英（群馬大学 大学院医学系研究科）
大野伸彦（生理学研究所 生体機能調節研究領域 超微形態研究部門）
西野敦雄（弘前大学 農学生命科学研究科 生物学科）

本研究は電子顕微鏡を用いて原索動物マボヤ幼生の神経回路を網羅的に三次元再構築することで，個体における神経ネットワークの全貌の解明を目指している。

本年度は生理学研究所のミクロトーム組み込み式走査型電子顕微鏡(SBF-SEM）を用いてホヤ幼生の頭部から尾部にわたる連続画像を取得した。

試料作製においては，rOTO 法を一部改変したオスミウム処理の後，酢酸ウランおよびクエン酸鉛処理の後に Durcupan 樹脂へと包埋した。とくに昨年度の観察では膜のコントラストが低く，シナプスの同定が困難であったことを踏まえ，試料作製法の改善を試みた。具体的にはパラホルムアルデヒドおよびグルタールアルデヒドでの固定後ただちに四酸化オスミウムによる固定を施すことで，膜のコントラストが改善された。

そこで, 膜のコントラストが改善された試料を用いてマボヤ幼生の眼点・平衡器を含む頭部から頸部にかけて約 4 千枚，および頸部から尾部にかけて約 4 千枚の連続画像にわたる大規模なデータを取得することに成功した。ただし, 今回用いた幼生では脳室にあたる部分が一部破壊されていることが判明した。これは試料作製時において使用した緩衝液の浸透圧が原因である可能性が考えられる。また各データセットにおいて, 観察終了付近の画像では焦点が合いにくくなりシナプスの判別がやや困難である。これは長時間にわたる観察であったことに加え，試料の形状上，生物試料の周囲に樹脂のみの部分が多く含まれ, この部分がチャージアップしたことが原因と考えられる。今後は脳室の形態が保持されるような試料作製条件の検討に加え，試料のトリミングや注目する部分にしぼった観察について検討する。

しかし，本年度の研究により得られたデータは，今後，時間をかけて解析するに充分値する質と量を備えたものであり，今後，セグメンテーションを進め，マボヤ幼生における神経回路の詳細な解析を進める。

11. マウス大脳皮質ニューロン及び視神経の微細構造の解析

平林祐介（東京大学工学系研究科）
大野伸彦（生理学研究所 生体機能調節研究領域 超微形態研究部門）

ニューロン間のシナプス結合は様々な情報が中枢神経系を伝わり, それを脳が統合的に判断する上で非常に重要な役割を果たす。したがって，シナプスの結合パターンや特性を明らかにすることは我々の中枢神経系の機能を理解する上で必須である。しかし，それぞれのシナプスの性質の違いを決める分子基盤や細胞内小器官の違いについては多くが不明なままである。そこで本研究では個々のプレシナプスの投射先とプレシナプス内の微細構造や, 視神経内の微細構造を明らかにすることを目的とした。近年の連続切片電子顕微鏡技術の急速な発達により, 高速でかつ定量的にシナプスを検出する事が可能になってきた。一方で, 電子顕微鏡観察では全ての膜構造が網羅的に観察されるため, 特定のニューロンのシナプスを観察するためには細胞体からシナプスまで軸索をトレースしシナプスを同定しなくてはならないが, このプロセスは非常に困難であった。そこで本研究計画においては目的のニューロンに peroxidase (dAPEX2 など) を発現し，その peroxidase により触媒される 3, 3’ -diaminobenzidine (DAB) 染色を手掛かりとして目的ニューロンが形成するシナプスや遠距離に投射する軸索を SBF-SEM を用いて同定することを目指した。これまでの共同研究の結果，DAB 染色の条件についての最適化，および電顕サンプル作成，データ取得が終了したので，本年度は再現性の確認，および統計的処理が可能になるレベルのサンプルを取得し, その画像解析を行なった。これまで SBF-SEM によって得られる大量のデータを定量的に解析することはこれまで困難であったが, 本年度は深層学習を用いる手法を発展させることによって, 解析速度を飛躍的に高めることに成功し, 実際に非常に多くのニューロンの形状を明らかにした。今後はさらに解析を進めることによって初期の目的を達成する。

12. 小胞放出を抑制した海馬シナプスの３次元微細形態解析

林　周一（川崎医科大学解剖学）
大野伸彦（生理学研究所 超微細形態研究部門）

海馬は記憶の形成や空間学習に重要である。海馬の歯状回は大脳皮質の嗅内野からの入力を受け，苔状線維を通してアンモン角 CA3 へ強力な出力をする。この強力な出力を生み出すのは, 苔状線維が CA3 につくる巨大シナプス終末であり, 各巨大終末が CA3 ニューロンの樹状突起上から伸びるスパイン様突起（棘状瘤）を包み込むという特徴的な形態をもつ。この苔状線維-CA3 巨大シナプス終末が記憶形成に重要であることが示唆されているが，その形態基盤となるシナプス終末の形成機構については未解明のままである。そこで本研究は，海馬の歯状回で特異的に小胞放出を抑制したマウスを用いて，海馬の苔状線維のシナプス終末形成機構を明らかにし，記憶形成の形態的・分子的基盤を解明することを目的とした。

本年度の研究では, まず昨年度に作製した標本の SBF-SEM 観察を行った。材料として，歯状回のニューロンのシナプスからの小胞放出が抑制され，同時にそのニューロンが蛍光タンパク質 tdTomato で標識されるように遺伝子改変したトランスジェニックマウスを用いた。上記マウスの成獣のホモ接合型と同腹のヘテロ接合型の各 1 匹を灌流固定し，取り出した脳をスライスした。その後，光学顕微鏡を用いて CA3 領域の低倍率から高倍率の明視野像を取得し，目印となる血管や細胞を撮影した。さらに，蛍光標識された苔状線維のシナプス終末の共焦点顕微鏡像を取得した。その後，生理学研究所において，スライスを電子顕微鏡観察用に染色し，樹脂包埋を行った。

SBF-SEM 観察では, 血管や細胞体の位置を目印にして, 事前に取得した蛍光顕微鏡像の領域を探し，30 nm ごとの連続電子顕微鏡画像を取得した。本年度はさらにヘテロ接合型とホモ接合型の各一匹の標本を作製し，SBF-

SEM 観察により良好な 3 次元連続電子顕微鏡像が得られた。現在，得られた画像のセグメンテーションや３次元再構築モデルの解析を進めている。

13. 家族性中枢性尿崩症のバソプレシンニューロンにおける小胞体内凝集体形成機序の解明

宮田　崇，萩原大輔，有馬　寛（名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病･内分泌内科学）
大野伸彦（生理学研究所超微形態研究部門･自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門）

家族性中枢性尿崩症（FNDI）は緩徐に進行する尿崩症症状を呈する常染色体顕性遺伝性疾患である。我々は FNDI モデルマウスを作出し，バソプレシン（AVP）ニューロンの小胞体の一部に変異タンパク凝集体が封じ込められた区画（ERAC: Endoplasmic reticulum-associated compartment）が形成されることを見出した。さらには SBF-SEM を用いた解析により，ERAC は正常小胞体の内腔との連絡を保ったまま，ライソソームと突起性構造物を介して融合していることを明らかにした。FNDI マウスの AVP ニューロンにおいて，変異タンパクを ERAC に封じ込めてライソソームにより分解する機構が存在すると考えられた。

一方で，FNDI マウスに対して AVP 産生刺激として間歇脱水負荷を繰り返すと尿量が進行性に増加し，形態学的には ERAC 形成が破綻して変異タンパク凝集体が小胞体内腔全体に広がり，病的に拡張した小胞体を標的としてオートファジーが誘導され，やがては AVP ニューロンがオートファジー関連細胞死に至る。ERAC 形成が破綻する機序，あるいは小胞体内凝集体を標的としたオートファジー誘導の機序の詳細は未だ不明であり，本研究ではこれらを形態学的に解析することを目的とした。

48 時間の間歇脱水負荷を繰り返した FNDI マウスにおいて，AVP ニューロンが局在する視床下部の視索上核を対象に SBF-SEM を用いて得られた連続画像を 3 次元再構築することにより，凝集体，小胞体膜，および隔離膜の構造的関係性を解析した。

自由飲水下の FNDI マウスで認められた ERAC 形成は間歇脱水負荷により破綻しており，ERAC 内に封じ込められていた変異タンパク凝集体が小胞体内腔へ拡散していくことで，比較的大きな不整形を呈する凝集体の像や，小胞体内腔全体に進展する凝集体の像が観察され，これらの凝集体を含む小胞体膜に隣接するように隔離膜の発生が認められた。3 次元再構築像では細胞質全体に広がる小胞体内凝集体に対して隔離膜が広範囲に誘導されていることが明らかとなった。

隔離膜は小胞体膜を起源として新生することが報告されており，今後も引き続き本モデルにおいて多様な phase の小胞体内凝集体と隔離膜との構造的関係性を解析することでオートファジーにおける隔離膜新生の動態を経時的に示すことが可能となると考えられる。

14. 神経幹細胞からニューロン，グリア細胞への分化過程の形態学的解析

後藤仁志，小野勝彦（京都府立医科大学大学院　神経発生生物学）
大野伸彦（自然科学研究機構　生理学研究所　超微形態研究部門）

本研究では，発生期の神経幹細胞やグリア細胞に着目して，その微細形態を Serial Block Face Scanning Electron Microscopy (SBF-SEM) を使用して三次元的に解析し，構造的･空間的特徴を抽出することを目的としている。具体的には，胎仔期の大脳皮質におけるグリコーゲン顆粒や新生仔期の視神経のオリゴデンドロイト前駆細胞･アストロサイト･ミクログリアなどに着目して SBF-SEM による撮像と，三次元再構築による構造的な特徴の解析を行った。

後藤は，発生期の大脳皮質神経幹細胞におけるグリコーゲン顆粒の解析をおこない，発生期の大脳皮質では表層部分にグリコーゲン顆粒が多く，細胞体の位置する脳室層よりもその割合が高いことを見出している。また，

グリコーゲン顆粒とおなじ細胞内代謝経路に関与する細胞内小器官であるミトコンドリアは，表層や脳室層に関わらず細長い発達した形態をしていること見出してきた。本年は，これらのデータの再構築や Amira 解析ソフトを用いた三次元パラメータの解析や，データ発表のための動画作製などを行った。得られた結果は，第 45 回神経科学会大会・神経化学会合同大会（沖縄）にて口頭発表を行った（後藤，大野，小野ら）。現在，本計画共同研究で得られた結果とその他のデータをあわせて投稿論文を作成中である。

小野は，生後発達期の視神経をモデルにグリア細胞の微細形態を SBF-SEM を使用して解析し，発達期の視神経に含まれるグリア細胞の三次元微細構造の特徴を解析した。本計画共同研究の結果から，オリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）は比較的少数の突起を持つ細胞であり，核の周囲に特徴的なゴルジ装置を持つことを見出した。また，視神経におけるアストロサイトはより発達した突起を持ち，細胞内に陥入した特徴的な繊毛構造（ciliary pocket）を持つことを明らかとした。両者の形態を比較すると，OPC では表面の凹凸が少なく，またゴルジ装置も比較的単純な形をしていた。すべてのアストロサイトは繊毛を持つのに対して，OPC では基底小体のみ存在して繊毛を持たないものが半数あることも明らかにした。得られたデータを共同研究グループ内で議論・精査して論文として発表した（Ono, Gotoh, and Ohno et al., PLOS One, 17: e0278118, 2022）。

15. Serial block-face 走査型電子顕微鏡を用いた腸管粘膜固有層内細胞集団の発生学的解析

万谷洋平 [1]，大野伸彦 [2]，中西怜稀 [1]

（[1] 神戸大学大学院・農学研究科・組織生理学教育研究分野，[2] 生理学研究所・超微形態研究部門）

腸管粘膜固有層内には，間葉系細胞，免疫担当細胞を含めた種々の細胞が多数存在している。我々はこれまで Serial block-face 走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて，ラット腸管粘膜固有層内の細胞の三次元的解析を行い，線維芽細胞様細胞（FBLC），マクロファージ，好酸球の観察・分類（Arai *et al.*, 2020; Mantani *et al.*, 2019; 2021; Tamura *et al.,* 2022）や小腸粘膜内神経ネットワークの解析（Nakanishi *et al.*, 2020）への SBF-SEM の有用性を示してきた。今年度も引き続き SBF-SEM を用いることにより，ラット成獣における腸管ネットワーク構造の腸管内の部位差を明らかにすると共に，各胎齢マウスの小腸粘膜における神経ネットワークの三次元的観察を実施し，小腸粘膜内神経ネットワークの発生過程を明らかにすることを目的とした。その結果，以下の成果を得ている。

1) ラット大腸粘膜における神経ネットワークの部位差に関する研究

前年度に明らかにしたラットの大腸粘膜における神経ネットワークの部位差に関する研究について，*J. Vet. Med. Sci.*誌に投稿し，公表された（Nakanishi *et al.,* 2023, *J. Vet. Med. Sci.,* 85(2):123-134.）。

2) マウス小腸粘膜における神経ネットワーク形成過程に関する研究

胎子期マウスの小腸粘膜における神経ネットワークの形成過程を明らかにするため，前年度に引き続き E17.5 のマウス小腸の断層データを取得した。それらのデータを現在三次元構築中であり，得られた成果は来年度以降，各種学術雑誌に投稿・公表予定である。

3) ラット腸管各部位の粘膜における粘膜内グリア細胞に関する研究

ラットの腸管各部位における粘膜内グリア細胞（mEGC）の局在部位や被鞘構造について，免疫組織化学的手法および SBF-SEM による解析を行った。その結果，mEGC の数や局在には腸管の部位ごとに明瞭な特徴があることが示され，従来明らかではなかった被鞘構造の超微形態学的特徴についても明らかにすることができた。本成果については論文執筆を進めており，来年度学術雑誌に投稿予定である。

16. 末梢神経微細構造の立体解析

檜山武史（鳥取大学）

末梢神経の状態を正確に知るには，共焦点顕微鏡や２光子顕微鏡によるおおよその構造情報に加えて，電子顕微鏡を用いて微細な形態やミエリン膜の状態などを知る必要がある。本研究は，生理学研究所に設置されている連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて末梢神経の微細構造を解析することを目的として実施した。

まず，交感神経節の解析を行った。交感神経節には，節後ニューロンやシュワン細胞が含まれることは知られてきたが，それ以外にも細胞が含まれている。交感神経節の細胞をフローサイトメーターや 2 光子顕微鏡を用いて解析した結果，シュワン細胞以外に非神経系の免疫系細胞が存在することを確認した。そこで，当該細胞で蛍光タンパク質を発現するマウスを用い，２光子顕微鏡によって観察し，おおまかな立体構造情報を得た後，同じサンプルを SBF-SEM によって観察することをめざし，条件検討を行った。次年度に，解析を進める予定である。

次に，坐骨神経の軸索について解析を実施した。糖尿病モデルマウス及び野生型マウスから坐骨神経を取り出し，固定後に透過型電子顕微鏡で観察したが，明らかな違いは見られなかった。しかし，SBF-SEM で観察した結果，違いがあることがわかり SBF-SEM による観察の有用性が確認された。

17. 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グリア細胞及び血管の機能解析

澤本和延，澤田雅人，荻野　崇
（名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経科学研究所神経発達・再生医学分野）
鍋倉淳一，鳴島　円，揚妻正和
（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

成体哺乳類の脳室下帯には，神経幹細胞が存在し，生涯にわたって新生ニューロンを産生し続ける。これらの新生ニューロンは，嗅覚の一次中枢である嗅球へ移動し，嗅球の抑制性ニューロンとして成熟する。一方，嗅球ではニューロンが細胞死を起こして失われており，ニューロンのターンオーバーが活発に生じている。このようなニューロン再生によって，嗅球の神経回路の構造や機能が維持されている。

我々は，生理学研究所生体恒常性発達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内の生体イメージング法を確立した。その技術を用いることによって，嗅球ニューロンを長期間追跡して観察することが可能となり，ニューロンのターンオーバーが嗅覚入力の影響を受けて時間的・空間的に制御されることを明らかにした（Sawada et al., ***J. Neurosci.***, 2011）。しかし，ニューロンのターンオーバーを制御する仕組みはいまだ明らかになっていない。我々は，周囲の微小環境が新生ニューロンの定着過程に影響を与えていると考え，新生ニューロンの周囲に存在する，グリア細胞や血管の役割に着目し，ニューロンのターンオーバーを制御する仕組みを詳細に解析することを目的とした。

本年度は，新生ニューロンが血管の近傍に分布することに着目して，血管が長期にわたるニューロン再生にどのような影響を及ぼすかを研究した。嗅球で移動を停止して成熟する新生ニューロンを観察するために，時間間隔を空けて嗅球内のイメージングを行なうとともに，多光子顕微鏡下での高速ラインスキャン法によって血流を記録した。血管近傍での新生ニューロンの成熟と血流の関係を解析したところ，新生ニューロンの成熟が血流の豊富な血管で高頻度に生じることが明らかとなった。以上の結果から，嗅球における新生ニューロンの移動・成熟過程が周囲環境によって制御されることが示唆された。

18. 求心性迷走神経活動による延髄孤束核神経活動変化の in vivo イメージング

山田大輔，斎藤顕宜（東京理科大学 薬学部 薬学科 薬理学研究室）
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４部）
鍋倉淳一，揚妻正和（生理学研究所 生体恒常性発達研究部門）

体内の情報を脳がモニターする，いわゆる内環境受容は，代謝などの内科的機能だけでなく，恐怖や不安などの精神的機能にも影響を与えることが知られている。内環境受容では，末梢臓器から発する求心性迷走神経が重要な役割を担うことが近年注目を集めている。求心性迷走神経は，全身から延髄の孤束核に集約して入力したのち，より上位の各脳領域へと広く投射する。すなわち，孤束核は末梢臓器から脳への情報伝達の中継地点であり，求心性迷走神経と孤束核神経細胞間のシナプス伝達の詳細を明らかにすることは，内環境受容の神経回路基盤を理解するために重要であると考えられる。しかし，孤束核は小脳直下に位置することから，in vivo での検討が困難であった。そこで本研究では，この課題を二光子顕微鏡による in vivo イメージングを用いて解決することを目的として検討を行った。

C57BL/6J マウスの孤束核に，AAV を用いてカルシウムセンサータンパク質（GCaMP6 等）を発現させた。その後，プリズム２個を連結して小脳と延髄の隙間に挿入し，観察窓とともに頭部に固定することにより，小脳を避けて二光子顕微鏡観察が可能な新規システムを構築した。

迷走神経活動に応答する孤束核神経活動を検出するために，頸部の迷走神経束を露出し，電気刺激用電極を装着，装着部位を速硬化シリコンで固定保護した。以上の処置を施したマウスを用いて，麻酔下（マウスの苦痛軽減のため）にて孤束核での Ca^{2+} シグナルを観察しながら迷走神経の電気刺激を行った。さらに，迷走神経活動を刺激することが知られている摂食抑制ペプチド CCK-8 の静脈内投与を行い，同様な Ca^{2+} シグナルの観察を行った。

その結果，頸部迷走神経束の電気刺激，CCK-8 の静脈内投与に同期した孤束核内神経細胞の Ca^{2+}シグナルが観察された。また，一部の観察においては迷走神経刺激とは同期しない Ca^{2+} シグナルも検出された。

現在，観察された上記 Ca^{2+} シグナルの解析に必要なプログラミングを行なっており，孤束核の神経迷走神経刺激への応答性や活動パターンの違いなどを単一神経レベルで検出することに成功している。また，本研究の成果に関する論文を執筆中である。

19. 脳虚血再灌流におけるペリサイトのカルシウムイメージング

城　愛理（順天堂大学 大学院医学研究科）

申請者は脳虚血再灌流障害における血管細胞応答の時空間ダイナミクスを解明するため，ペリサイト特異的にカルシウムセンサーの発現が誘導されるマウスを樹立し，これを用いて脳虚血再灌流時のカルシウムイメージング を行うことで，虚血再灌流時の脳内微小環境のシグナルを解明することを目的とした。

1) 細胞特異的 GCaMP 発現マウスの樹立とカルシウム応答性の確認

2021 年度に，CRISPR/Cas9 システムによりペリサイト特異的に Cre を恒常的に発現するノックインマウスを作製した。2022 年度は，このマウスを CAG-loxP-stop-loxP-GCaMP-F2A-mCherry 配列を持つマウス（RIKEN BRC より入手）と交配させ，ペリサイトで GCaMP を発現するマウスを作製した。更にこのマウスからペリサイトを単離し，顕微鏡下で刺激して蛍光強度の変化を観察することで，GCaMP のカルシウム応答性を ex vivo で確認した。

2) 虚血再灌流時のカルシウムイメージングの予備検討

2021 年度に，生体カルシウムイメージングのための予備検討として，2 次元レーザードップラー血流計を用いて虚血処置後の虚血に陥る範囲，および再開通処置によって血流が戻る範囲を特定し，イメージングの際に頭蓋骨を削る範囲を決めた。更に，頭蓋骨に窓を開けてヘッ

ドプレートをつけた状態で虚血および再開通処置を行い，窓内に虚血・再灌流範囲が入ることを確認した。2022 年度は，1)で得られたマウスを用いて定常状態での in vivo カルシウムイメージングを行い，観察に十分な蛍光量が得られること，また観察時間内に一部の細胞で輝度変化が見られることを確認した。今後は，このマウスを用いて虚血再灌流モデルにおける生体カルシウムイメージングを行う予定である。

20. 光操作による大脳皮質神経回路網の発振現象の解明

渡辺秀典，虫明　元（東北大学･医学系研究科）
Nicholas G. Hatsopoulos（The University of Chicago･Organismal Biology and Anatomy）
知見聡美（生理学研究所･システム脳科学研究領域）
佐野裕美（藤田医科大学・精神・神経病態解明センター）
小林憲太（生理学研究所・行動・代謝分子解析センター）
南部　篤（生理学研究所・システム脳科学研究領域）

非ヒト霊長類を動物モデルとして中枢神経ネットワークの発振的活動現象の発現機構の解明を目指す。光刺激による神経活動の変調を調べることは，神経活動間の機能的なつながりを解読し，その生理的な意味を理解するために重要である。上肢到達課題を訓練したマカクザルの大脳皮質一次運動野にアデノ随伴ウィルスベクターを用いて光感受性タンパク（チャネルロドプシン）を発現させた。課題中においてベータ脳波が発生している運動準備期間に光刺激（2 ms duration, 10 ms interval, 11 train）を与えた。皮質所電位についての光刺激応答において 34 %の記録電極から光刺激応答が観測された(43/128 channels)。これら刺激応答チャネルにおける刺激応答振幅について光刺激部位からの距離依存性はなかった(刺激箇所-記録電極間距離:〜1-8 mm)。光刺激に対する振動的神経活動の変調として試行間のベータ波の位相変化を評価した。多くのチャンネルについて試行間コヒーレンスは有意な増加を示した（t-test, p<0.01; 刺激応答性チャネル(29)について増加 23; 減少 6,刺激非応答性チャネル(24)について増加 22; 減少 2）。以上の結果は (1) 本実験における光刺激はサル一次運動野において広範囲な神経活動を誘発し，(2) ベータ波位相を操作可能であることを示した。脳波に代表される神経活動の振動現象の機能解明は睡眠・記憶機構の解明やパーキンソン病治療など社会的な期待を受けてる。霊長類モデルとしてのサルに光遺伝学手法を使用した脳波の修飾は世界的に希少であり，認知行動に直接関係する大脳皮質において振動的神経活動の操作可能性を示した本研究の社会・医学的意義は大である。

21. 海馬シナプスにおける入力側依存性左右差の形成機構

重本隆一（IST Austria）

我々は海馬錐体細胞シナプスにおける左右非対称性が MHCclassI 輸送に必須の b2m 欠損マウスおよび MHCclassI 分子の受容体である PirB 欠損マウスで消失することを明らかにした。また，CA1-CA3 シナプスにおいて，PirB をウィルスベクターによってプレ側あるいはポスト側の細胞でノックアウトする事により，シナプス結合の両側の PirB 発現が MHCclassI-PirB による認識と左右差の維持に必要であることを明らかにした。しかし，この結果は共同研究者によって得られている，PirB null KO を使ったレスキュー実験と一見矛盾する。この電気生理学による結果では，postsynaptic 側で PirB をレスキューした場合にのみ左右差が正常に戻ることが分かっている。そこで昨年度は PirB のシナプス発現を可視化するために spot および ALFA タグを付加した tagged PirB knock-in mouse を作成した。その途中に，免疫染色によって良好な標識が得られる抗 PirB 抗体も見出すことが

できた。海馬の CA1 領域に特に強い陽性像が得られている。その後に spot および ALFA による tagged PirB knock-in mouse のヘテロマウスが得られたので，今後はこれらを用いた免疫電子顕微鏡法によって直接 PirB がプレシナプスとポストシナプスのどちらに発現しているのかをはっきりさせ，プレシナプス側で発現している PirB がどのように機能しているのかをさらに調べる予定である。

22. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究

藤山文乃（北海道大学大学院 医学研究院）

パーキンソン病の原因は黒質緻密部のドーパミン神経細胞の変性脱落であるが，黒質緻密部のどのドーパミン神経細胞サブセットの変性脱落がパーキンソン病のどの症状を引き起こすのかはわかっていない。これまでの研究で，黒質緻密部のドーパミン神経細胞には共発現する遺伝子の違いなどにより，複数のグループに分類されることが知られている。また，応募者らを含む複数のグループの研究により，黒質緻密部のドーパミン神経細胞は，その領域ごとに不明瞭ながら近接した線条体領域へ投射するトポグラフィーを示すことがわかっているが，このような投射様式の違いと遺伝子発現の違いとを結びつける要因が何であるかはわかっていない。言い換えれば，多様性をもつ個々の神経細胞が機能的回路を形成する原理が解明されていない。本研究課題では，ドーパミン神経細胞の投射様式および電気生理学的特性と，遺伝子発現プロファイリングとの相関を明らかにし，機能的ドーパミン神経細胞サブセットを同定することで，大脳基底核回路の機能的解明と，パーキンソン病の病態解明，治療アプローチの可能性を探る。今年度は，中脳黒質のドーパミン神経細胞に経シナプスかつ順行性に運ばれるウイルスベクタとそれを注入するための条件検討を行なった。具体的には中脳の黒質緻密部に AAV1-hSyn1-EBFP-Cre を注入し，線条体のどのニューロンに Cre が運ばれたのかを検証した。AAV1 ウイルスは当然順行性のみならず逆行性に運ばれうるため，線条体の投射ニューロンが標識された場合は，順行性に標識されたものか逆行性に標識されたものかの区別がつかない。しかし今回線条体のインターニューロンが標識されており，ドーパミン神経細胞の経シナプス標識が成功したことを確認できた。これまで世界的にもドーパミン神経細胞の経シナプス標識の報告はなく，この所見の更なる検証を重ねる予定である。

23. 変異型ウイルスベクターを用いた新規長鎖遺伝子の機能解明

増田知之（筑波大学 医学医療系）
小林憲太（自然科学研究機構 生理学研究所）

神経回路の形成において中心的な役割を果たす分子は，神経の軸索を伸長促進・誘引する分子と伸長抑制・反発する分子であり，これまでの研究から実際にさまざまな分子が軸索を誘引・反発することが明らかとなってきた。しかしながら，神経回路の多くでは，未だその実体が不明につき，それぞれの神経回路における分子基盤の解明が待たれている。私たちはマイクロアレイとバイオインフォマティクスを併用した解析を推し進め，2 つの新規長鎖遺伝子がコードする分泌型蛋白質（mF1 と mF2）が高等脊椎動物の神経発生に重要な役割を果たしていることを見出した。新規に開発した遺伝子機能予測法によって，各遺伝子がどのような生命事象と相関性が高いか調べた結果，*mF1* が神経軸索ガイダンス事象に対して高い相関性を示すことが明らかとなった。

今年度は，血清型が DJ/8 型および 2 型のアデノ随伴ウイルス（AAV）を用い，分泌型タンパク質である mF1 と mF2 を非分泌型（膜結合型）にした場合の神経系への影響と効果をニワトリ胚で調べた。しかしながら，SARS-Cov-2 のパンデミックのため，出張等における移動制限だけでなく，研究責任者・技師・学生の感染もあり，研究の進行

に大幅な遅れが生じた。そこで，来年度も引き続き変異型タンパク質の解析を進める予定である。

24. 広視野 2 光子顕微鏡によるマウス大脳皮質広域 Ca^{2+}イメージングに向けたウイルスベクター開発と導入法の確立

上森寛元（理化学研究所 脳神経科学研究センター）
小林憲太（生理学研究所 ウィルスベクター開発室）

理化学研究所脳神経科学研究センター触知覚生理学研究チーム（チームリーダー：村山正宜）では，マウス大脳皮質を広域（3mm*3mm）に Ca^{2+} イメージングすることが可能な 2 光子顕微鏡を開発している。広域イメージングでの神経活動の記録の場合，高速でのレーザースキャニングが必須である。このとき，単位面積当たりの励起光滞在期間が短くなるため，像の SN 比の低下につながる。この問題を解決するためには，明るい蛍光を発する Ca^{2+} センサー（GCaMP）を広範囲に発現させることが重要となる。

本計画共同研究では，マウス大脳皮質に広範囲に GCaMP を発現させるウイルスベクターを開発し，その導入法や最適なウイルス濃度を検討・確立することを目的とした。今年度は，AAV（アデノ随伴ウイルス）によるセロタイプ DJ の G-CaMP7.09 または jGCaMP7f を組み込んだウイルスベクター等の作製を小林先生に行っていただいた。WT マウスに対して P1 インジェクションを行うことにより，大脳皮質の広範囲において 2/3 層や 5 層での GCaMP の発現が可能となる。インジェクションから 2 光子観察に至るまでの一連のプロトコールは既に論文として報告済である。今年度の研究の実施項目は主に大脳皮質深部（5 層）での安定した広域イメージング法の確立を目指した検討と，広域イメージングと光遺伝学的手法との併用を目指した検討である。結果として，深部イメージングはまだ検討段階であるが，光遺伝学的手法との併用に関しては，少なくとも 2/3 層の広域での任意の神経細胞に対して光刺激を行った際の応答が SN 比良く検出できることを確認した。今後の展開としては，まず 5 層での安定したイメージング手法を確立する。この際には GCaMP だけでなく深部観察に有利である RCaMP（赤色の Ca^{2+} センサー）の使用も今後検討する。さらに，広域イメージングと光遺伝学的手法の併用に関しては，ウイルス条件を最適化する。以上の遂行により，大脳皮質広域で表層深層のイメージングを可能にし，かつ光遺伝学が可能な新規 2 光子顕微鏡に関する論文の投稿に向けてデータを取得していく。

25. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究

松崎政紀，寺田晋一郎（東京大学大学院医学系研究科）
小林憲太（生理学研究所・ウィルスベクター開発室）

本研究課題では霊長類マーモセットと齧歯類マウスを用いて，脳の作動原理の解明を目的とする。このために，光計測して行動時の神経細胞の活動を明らかにし，かつその活動を制御することによる行動・細胞活動変化を調べ，その経路を同定し，活動と行動の因果関係を明らかにする必要がある。光計測には蛍光カルシウムセンサー等を，活動制御にはチャネルロドプシン等を用いる。遺伝子を導入のために，アデノ随伴ウィルスベクターを用いる。

2022 年度は，本研究で作製したアデノ随伴ウィルスベクターを用いた研究で，自発的もしくは外発的に運動を開始した際の前頭葉における神経活動を，情報の経路に沿い密に計測し，各開始信号が運動へと変換される過程の詳細を明らかにし，論文報告を行った（Terada et al., Cell Reports, 41(3), 111494, 2022）。具体的には，頭部固定を行ったマウスに自発的もしくは外発的に運動を遂行する課題を構築し，その情報処理過程を光遺伝学およびカルシウムイメー

ジングによって調べた。アデノ随伴ウィルスによってアニオン透過型のチャネルロドプシンを二次運動野（M2）および一次運動野（M1）へと発現させ，運動実行過程の詳細な時間枠で各々の必要性を調べた結果，M2 も M1 も課題の遂行に必要であるものの，運動を開始した後では M1 へと運動実行機能は移行しており，本課題において２領野が階層的に情報処理を担っている事を明らかとした。さらに詳細な情報処理過程を明らかにするため，M2 と M1 を対象とした領野間カルシウムイメージング，M2 から M1 へと投射する軸索，M1 深層部に位置する皮質脊髄路細胞のカルシウムイメージングを行い，M2 から M1 の出力までの網羅的な計測を実施した。その結果，M2 浅層部の神経細胞は文脈情報という抽象度の高い活動を，M1 深層部の神経細胞は具体的な動作と一致した抽象度の低い活動を安定して示すのに対し，その中間に位置する M1 浅層部の神経細胞や M2 から M1 へと入力する神経細胞では，個体の運動成績の向上に伴い，抽象度の低い活動から高い活動へと動的に変化することを発見し，これら内容について論文にて報告した。

26. 体液恒常性を制御する神経機構の解明

松田隆志（国立大学法人 東京工業大学）
小林憲太（自然科学研究機構 生理学研究所）

【研究の背景】

ヒトを含む脊椎動物において体液状態を一定に保つこと(体液恒常性)は，生命維持のための重要な生理機能である。脳の中でも例外的に血液脳関門が欠損している感覚性脳室周囲器官（sCVOs）では，神経細胞やグリア細胞が体液中の Na^+濃度やアンジオテンシン II（Ang II）などの液性因子を感知しており，その情報をもとに神経活動やホルモン分泌量を調節することによって，水分/塩分摂取や排尿，血圧などの生理機能を制御している。

しかしながら，この生理機能を制御する神経回路や分子制御機構の全容はいまだ明らかになっていない。そこで本共同研究は，小林先生に調製して頂いたウイルスベクターを用いて，脳において特定の細胞集団に遺伝子導入を行い，それらの細胞集団の活動を制御あるいは観察することによって，体液恒常性を担う神経機構を解明することを目的としている。

【研究成果】

我々はこれまでに，sCVOs の一つである脳弓下器官(SFO)において水分欲求を誘導するニューロン（水ニューロン）および塩分欲求を誘導するニューロン（塩ニューロン）を同定するとともに，それらの活動調節機構を明らかにしている（Matsuda et al., Nature Neuroscience, 2017）。2020 年度には，SFO 内において体液状態に応じて活性化するコレシストキニン（CCK）陽性ニューロンと飲水行動に応じて活性化する CCK ニューロンを同定し，それぞれが水ニューロンの活動を抑制することを明らかにした（Matsuda et al., Nature Communications, 2020）。また，もう一つの sCVOs である終板脈管器官(OVLT)において Na^+/H^+交換輸送体 SLC9a4 が体液 Na^+濃度を感知するセンサー分子として働き，水分摂取行動を制御していることを明らかにしている（Sakuta et al., Pflugers Arch., 2020）。

2021 年度から 2022 年度にかけて，sCVOs と異なる神経核において，CCK ニューロンが水分および塩分摂取に応じて予測的に一過性の欲求抑制を行う神経機構の解析を行った。現在，その研究成果をまとめた論文を投稿している。また，これまでの研究成果をまとめた総説を発表した（Noda M. and Matsuda T., Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2022）。

【本共同研究における発表論文】

Noda M. and Matsuda T., Central regulation of body fluid homeostasis. *Proceedings of the Japan Academy, Series B, Physical and Biological Sciences.* 98, 283–324, (2022)

Matsuda, T., et al. Distinct CCK-positive SFO neurons are involved in persistent or transient suppression of water intake. *Nature Communications*. 11, 5692 (2020)

Sakuta, H., et al. SLC9A4 in the organum vasculosum of the lamina terminalis is a [Na^+] sensor for the control of water intake. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology.* 472, 609–624, (2020)

27. 大脳皮質運動野から脊髄および大脳基底核へ投射する神経経路の機能解明

西村幸男，鈴木迪諒（東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）
小林憲太（ウイルスベクター開発室）

本研究ではウイルスベクターを利用した遺伝子導入技術を用いて, 脊髄へ収束的入力を持つ神経細胞群の神経活動操作を行い, 随意運動制御のメカニズムを明らかにすることを目的にする。昨年度末に興奮性 DREADD（改変型ヒトムスカリン性アセチルコリン受容体 hM3Dq）を実装した逆行性ウイルスベクター（AAV2 retro-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry）を下位頚髄（C7-8）に注入した 2 頭のマカクサルを用いて, 電気整理実験と行動実験を行なった。吸入麻酔中下で人工リガンドの投与前後での一次運動野神経細胞の活動と筋活動を同時記録した。人工リガンド（DCZ）投与後には，一次運動野神経細胞の活動と筋活動が高くなった。このような神経活動と筋活動の上昇が運動パフォーマンスの改善につながるかを検討するために, 到達把握運動課題中に DCZ を投与した。すると，Vehicle 投与時と比較して，リーチングタイムと把持力が改善し，運動パフォーマンスの増大につながった。また，本実験で用いた逆行性ウイルスベクターは脊髄反射回路を構成する神経細胞群にも hM3Dq を発現する。そこで，感覚入力に対する感度が上昇していることを明らかにするため, 温痛覚刺激に対する引っ込み反射の潜時を計測したところ，DCZ 投与時には温痛覚刺激時に引っ込み反射の潜時が短縮した。Vehicle 投与時では潜時の短縮は認めなかった。このような結果から脊髄へ収束する神経細胞群の科学遺伝学的賦活は運動パフォーマンスと体性感覚機能を向上させることが可能であることを明らかにした。

また, 昨年度末に上記と同様のウイルスベクターを注入した別の 2 頭では, 感覚入力に対する脳活動の亢進が DCZ 投与によって観られるかを fMRI 実験によって検証中である。

28. 視床網様核の機能解明

田中謙二（慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所）

視床網様核は GABA 神経だけから構成される神経核である。マウスにおいて視床網様核の長期間の機能不全が，意識消失を伴うてんかんを起こすことが分かってきた。秒単位，分単位の視床網様核の機能抑制で何がおこるのか分かっていないので，まずこの急性，単回の機能抑制によって何が起こっているのか明らかにする。そのツールとして光遺伝学，薬理遺伝学があり得るが，たとえば抑制性オプシンである ArchT を視床網様核神経細胞に発現させるだけでてんかん発作が生じることを経験している（Brain Commun 2022）。本共同研究では，抑制性オプシン（iOpsin）である KR2, ACR2 を視床網様核に発現させ，抑制性光遺伝学操作ツールとして利用可能かどうか調べた。PV-Cre マウスの視床網様核に AAV DIO-iOpsin を感染させ，同時に脳波電極を大脳に留置した。ACR2 は視床網様核神経細胞に発現するだけで, ArchT 同様にてんかん脳波が誘導されることがわかった。KR2 については検討中である。神経活動操作ツールを発現させるだけで好ましくない表現型が出現する可能性があるという注意喚起をコミュニティー内で共有する必要がある。

29. アデノ随伴ウイルスベクターを用いた神経発生・変性の分子メカニズム解析

吉岡　望[1]，備前典久[1]，チャン ミン ダン[1]，益子洋樹[1]，小林憲太[2]，竹林浩秀[1]
（[1]新潟大学 大学院医歯学総合研究科，[2]生理学研究所）

当研究室では，Cre 依存的に神経系の発生と変性に関わる *Dst* 遺伝子の発現を抑制または回復できる条件付き *Dst* 遺伝子トラップマウス（Dst^{Gt} マウス）を所有している。今回，Cre 組み換え酵素と蛍光タンパク質を発現するアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを Dst^{Gt} マウスに感染させて，神経組織における遺伝子機能回復実験を実施した。Dst^{Gt} マウスは四肢の協調運動障害を呈しながら生後 1 ヵ月程度で致死となる。AAV-Cre の感染により *Dst* 遺伝子発現回復を試みたマウスでは，末梢神経系において *Dst* mRNA の発現回復が *In situ* ハイブリダイゼーション法で確認された。さらに行動解析によって，*Dst* 発現を回復したマウスにおける後肢運動機能が統計的な有意差をもって回復するとともに，寿命が延長することを示した。今後，後肢運動機能回復に寄与する神経メカニズムを解析していく計画である。

30. AAV を用いた疾患遺伝子ゲノム編集による DRPLA 治療法の前臨床試験研究

加藤泰介（新潟大学脳研究所 分子神経疾患資源解析学分野）
小林憲太（生理学研究所 行動･代謝分子解析センター）

歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（dentatorubural pallidoluysian atrophy, DRPLA）は，原因遺伝子である Atrophin-1 (ATN1) 内の CAG リピートの異常伸長によって産生されるポリグルタミンタンパク質の細胞毒性を原因とする，ポリグルタミン病の一種である。本症に対する治療法は存在しない。本研究の目的は，遺伝性の難治性てんかん性脳症である，DRPLA を CRISPR Cas9 システムゲノム編集による遺伝子サイレンシング法を用いて治療するという新しいコンセプトの前臨床試験を行うものである。DRPLA は原因遺伝子 Atrophin-1 (ATN1) ノックアウトマウスに表現型が見られないことから，アリル非得意的な遺伝子サイレンシングが臨床応用可能と考えられている疾患である。この目的の達成のため，モデルマウスである DRPLA Tg マウスにヒト ATN1 ゲノム編集用アデノ随伴ベクター（AAV）を投与し，てんかん症状の抑制を含めた病態の進行への治療効果の評価を進めてきた。AAV の投与は，Tg マウスの疾患表現型を確認したのち，7 週齢で実施した。疾患表現型の進行は，運動機能障害・活動性異常の試験としてローターロッド試験とオープンフィールド試験を実施した。非治療 Tg マウス群では，加齢とともに運動機能障害，活動性の低下が顕著に進行した一方で，AAV 投与群では，有意に両行動学的スコア低下の進行が抑制された。また，顕著な寿命延長効果に関するデータも得られつつある。また，Tg マウスの脳波異常に関する解析の結果，Tg マウスでは欠神性てんかんで見られる spike-and-wave discharges と呼ばれる脳波異常が観察されることを突き止めた。

また病理学的評価の結果，AAV 非投与群の死亡後の脳内では，全ての神経細胞にポリグルタミン伸長タンパク質の核内封入体を認めたが，治療群では 20～25 %程度の神経細胞において封入体陰性の神経細胞を認めた。AAV 投与によるゲノム編集率が 30～40 %であったので，このうち 1/3 がインフレーム変異でポリグルタミンの発現が続くタイプ，2/3 がフレームシフト変異でサイレンシングが起こっているとする理論値にほぼ一致していた。

31. 新規緑内障治療薬の開発研究

東田千尋（富山大学・和漢医薬学総合研究所･神経機能学領域）

マウス（ddY）の視神経を圧迫することで，網膜神経節細胞（Retinal ganglion cell; RGC）死と視神経断裂を呈するマウスを正常眼圧緑内障モデルとして用いた。本研究は, RGC 保護作用や視神経再伸長作用によって，視野回復を可能にする薬物を探索し，さらにはそのメカニズムを明らかにすることを目指している。視神経圧迫によって，視神経から外側膝状体への投射，そして外側膝状体から一次視覚野への投射が減少することで視野が欠損する。RGC➡外側膝状体➡一次視覚野の繋がりを機能的に検出するために，2 種類の逆行性 AAV ベクターを用いることを計画した。AAV2retro-CAG-LL-EGFP-rev-tdTomato と AAV2retro-cfos-Cre-ERT2 を一次視覚野に注入すると定常状態では一次視覚野に投射している外側膝状体神経細胞が緑色を呈するが, 外側膝状体神経細胞が興奮し（＝c-fos promoter が活性化し），かつ tamoxifen 投与下であれば，Cre recombinase が働きその神経細胞は赤色を呈するように変化する。この外側膝状体神経細胞の色の変化により，RGC が外側膝状体へ投射してシナプス形成をする量的変化を精緻に捉えられると予想した。まずプラン通りに蛍光色の変化が検出できるかを検討した。Naive マウスの一次視覚野に前述 2 種類の AAV ベクターを注入し 10 日後と 11 日後の 2 回，tamoxifen を腹腔内投与した。2 回目の投与時から 24 時間暗室下に飼育し照明光下に戻し（RGC を刺激する目的），その後さらに 10 日おいてから脳を摘出した。一次視覚野への注入は観察でき，また tamoxifen 投与の前後で，注入部位で観察された蛍光色が緑から赤に変化することも確認できたが，蛍光色が外側膝状体では観察されず，すなわち一次視覚野から外側膝状体への逆行性輸送が見られなかった。これは注入ウィルス量の不足か，注入位置の不正確性に起因するものと考え, 現在, 基礎検討を続けている。一方，視野回復を可能にしうる候補薬自体は 3 つに絞っており，それらの作用機序については別途，培養 RGC を用いた実験で進めている。トレーシング手技が確立し次第早急に，候補薬の効果をこの系で検討する。

32. ウイルスベクターを用いた嗅覚中枢神経回路の構造と機能の解析

村田航志（福井大学学術研究院医学系部門 脳形態機能学分野）

食べ物の匂いは食物の探査や胃液分泌など多様な生理・行動反応を引き起こす。鼻粘膜嗅部の嗅細胞が匂い物質を受容すると，その情報は嗅球を介して嗅皮質と総称される広大な脳領野に送られるが，嗅皮質の機能と神経接続はまだよくわかっていない。本研究では嗅皮質を構成する亜領域のうち，腹側線条体領域としての性質をもつ嗅結節と，視床下部外側野に軸索投射する腹嗅核に着目し，その神経回路の構造と機能の解明を目指している。また本年度は嗅覚の自律神経を介した胃液分泌への作用の神経機構に迫るため，自律神経の脳内中枢と嗅覚神経回路の接続様式の解明を試みた。

胃壁を支配する副交感神経の節前ニューロンは迷走神経背側運動核に位置する。胃壁上位の節前ニューロン群に遺伝子発現誘導をするために種々のアデノ随伴ウイルスセロタイプおよび逆行性感染型レンチウイルスを胃壁に注入した。しかし，実験に用いたウイルスベクターでは迷走神経背側運動核ニューロン群の遺伝子発現は誘導されなかった。フルオロゴールドおよびコレラ毒素 B サブユニットの胃壁注入では迷走神経背側運動核ニューロン群は標識された。引き続き，遺伝子発現に有効なウイルスベクターを探査する。

並行して，迷走神経背側運動核に逆行性感染型アデノ随伴ウイルスを直接注入するアプローチを試みた。これにより，視床下部の亜領域が高効率に標識された。ウイルスベクター注入部位が迷走神経背側運動核の周囲領域へと漏れる点が現在の課題である。注入条件を改善するとともに，視床下部亜領域の胃液分泌への関与と嗅覚入力への応答性について今後検討する。

33. 霊長類脳におけるウイルスベクターを用いた光遺伝学・化学遺伝学技術による細胞種特異的機能操作法の開発

伊佐　正（京都大学大学院医学研究科）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

脳や脊髄に損傷を受けた後の機能回復過程では，大規模な神経回路の機能シフトが起きるが，その機構の解明には，神経回路機能を操作する研究手法が重要な役割を持つ。我々は，ウイルスベクターによる経路選択的な機能操作法を用いて，マカクザルを用いた頸髄部分損傷後の手指の機能回復機構や一次視覚野損傷後の眼球運動の視覚運動変換機構の回復過程を研究してきた。本研究では，このようなウイルスベクターを用いた霊長類での回路操作技術を改良するため，ウイルスベクター開発室と共同して様々な経路選択的ベクターツールを開発し，それをげっ歯類や非ヒト霊長類に遺伝子導入して効果を検証する研究の推進を目的とした。

昨年度は，共同研究で作成されたウイルスベクターを用いた I 本の論文が発表され，さらにこれまでの共同研究の成果である経路選択的遺伝子操作について２本の review を発表した。

それ以外の成果として，

１. ニホンザルの VTA にクリムゾン R を搭載する AAV ベクターを注入し，皮質前頭葉を LED で光刺激して経路特異的な刺激を与えることにより，サルの意思決定が変化し報酬の選択が変わることを示した。この研究結果を再投稿するため，解析やコントロール実験を加えた。

２. サルの脊髄損傷からの回復過程における大規模な回路再編とその際に生じる大脳間の脱抑制の機能回復に対する寄与を皮質へのウイルス注入により，解剖学的，あるいは化学遺伝学的な技術を導入して解析を行い，論文を投稿した。

３．２.で述べた脊髄損傷からの回復過程における大規模な回路再編の際に起きている遺伝子レベルでの機能を明らかにするため，まずラットを用いて，脊損時に皮質脊髄路で発現している遺伝子の変化を研究するため，頚髄に逆行性ウイルスベクターを投与し，sn-RNA sequence 解析を行う実験に着手した。

４. マウス上丘から同側脳幹への投射経路が恐怖行動を引き起こす際の神経回路学的研究において，恐怖行動を引き起すために必要な部位を新たに同定して学会発表した。その後この内容の論文化に向け，心拍測定や瞳孔サイズの測定などの実験を開始した。

５. マーモセットの上丘への入力経路を全脳レベルで明らかにするため，上丘に以前から逆行性 AAV ウイルスを注入してきたが，この全脳レベルでの解析方法が困難で研究がなかなか進まなかったが，新たに脳をブロックにした後に透明化する技術を組み合わせることで全脳レベルでの解析を可能とする方向で実験を進めている。

34. 報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発

小川正晃（京都大学）

（目的）報酬学習を担ういわゆる報酬系と呼ばれる脳領域は，条件刺激と報酬の間の関係の学習に対応して活動するが，それらの活動が，実際に学習に果たす役割は，未解明である。そのような役割を解明するための鍵となるのは，時空間特異的に神経活動を操作し記録する手法の開発である。そこで本研究は，この目的に資する新規ウイルスベクターを開発する。

（計画）麻酔下のラットの報酬系脳領域（中脳―基底核領域など）に，本共同研究によって作製する光感受性チャネル・ポンプ・カルシウムセンサー・モノアミンセンサーなどを発現する AAV ベクターを注入し，さらに活動計測・操作を行うための光を導入するための光ファイバーやレンズ，または神経活動記録用の電極を埋め込み，条件刺激と報酬の間の関係を学習する行動中の神経活動の計測や操作を行う。

（結果）本共同研究によって作成した AAV ベクター

をラット脳に注入し，行動中ラットの特定の神経細胞や神経回路活動イメージングを行い，複数のラットからデータ取得を行った。さらに，光遺伝学法による行動制御に及ぼす影響を検討し，その効果に関するデータを取得した。以上の結果を論文として発表した（Ishino et al., & Ogawa, Science Advances, 2023）。

35. 光・薬理遺伝学的手法と in vivo パッチクランプ法による疼痛中枢性制御機構の解明

古江秀昌，古賀啓祐（兵庫医科大学 医学部 神経生理部門）
小林憲太（生理学研究所 行動･代謝分子解析センター ウイルスベクター開発室）

意識や精神などの脳機能が如何に疼痛と密接に関わっているかを解明する事は，疼痛の慢性化の機構や痛みを主訴とする複雑な病態を理解する上で重要である。そこで本研究は情動など本能に関わる辺縁系の痛みに着目し，前帯状回やそれを制御する神経系（青斑核や縫線核）をウイルスベクターを用いて光・薬理遺伝学的に活動操作する動物を作出する。これらの回路を作動させた際の疼痛の調節機構を in vivo シナプスレベルで詳細に解析することを目的とした。

前帯状回にウイルスベクターを微量注入し，錐体ニューロン特異的に蛍光タンパク質を発現させた。それを指標に活動操作する為の条件検討を行った。複数のセロタイプ，タイタを変えて蛍光発現した細胞の広がりを観察し，錐体ニューロン特異的に，且つ，活動操作する細胞の広がりをある程度調節できる条件を得ることができた。次いで，チャネルロドプシンと蛍光タンパク質を発現させた動物を作出し，脳切片を作製しパッチクランプ法により蛍光タンパク発現ニューロンから記録を行った。光依存性に錐体ニューロンに内向き電流が発生し，光強度に応じてその発火頻度が増加した。更に，錐体ニューロンの投射部位から逆行性にチャネルロドプシンを発現させることや，青斑核特異的に発現させることも可能となった。また，PSAM を前帯状回錐体ニューロンに発現させ，薬理遺伝学的に前帯状回の活動を制御し，疼痛行動の変化を解析した。前帯状回ニューロンの活動を低下させると，疼痛行動が減弱するなど，神経機能を単一神経レベルから個体レベルの行動まで統合的に解析することが可能となった。今後，更に in vivo 標本からの記録・解析を行い，光遺伝学的活動操作により記録細胞を同定する手法を開発する予定である。同定したニューロンの皮膚への生理的刺激に対する感覚応答を解析する上で，十分な基礎的データも蓄積することができた。

36. ウィルスベクターを用いた末梢-中枢神経回路ネットワークの解明

檜山武史（鳥取大学）

遠心性の末梢神経は脳の中枢から制御されている。しかし, その制御に関わる神経経路の詳細は明らかになっていない。本研究では，神経細胞を逆行性に輸送されるがシナプスを超えない逆行性レンチウィルスベクター（HiRet）や逆行性輸送型アデノ随伴ウィルス（AAVrg）を用いて，自律神経制御に関わる神経経路を解析した。

前年度の予備的実験の結果に基づき，中枢においては HiRet, 末梢においては AAVrg を使用して逆行性標識を行った。今年度，大腿骨及び脛骨の髄腔内に AAVrg を投与し, 骨髄内に投射する交感神経及び感覚神経を標識することに成功した。

また, 上頸神経節と腹腔神経節から細胞を単離して回収し，シングルセル RNASeq 解析を実施した。その結果，腹腔神経節ニューロンにおいて発現していることが明らかになった分子について免疫染色を行って発現を確認した。膵臓から AAVrg によって逆行性標識し，免疫染色像と重ねたところ，逆行性標識されたニューロンにおいて，解析対象の分子が発現していることを確認した。

さらに, 中枢において HiRet を用いて内分泌にかかわる神経回路の解析と神経細胞における遺伝子発現の解析を実施した。

今後, さらに様々な臓器について逆行性標識による解析

を進めると共に, オプトジェネティクスやケモジェネティクスと組み合わせて機能解析を進めて行く予定である。

37. 自己免疫性小脳性運動失調症に関連する抗神経抗体の標的抗原蛋白の同定

吉倉延亮（岐阜大学医学部附属病院 脳神経内科）
横井紀彦，深田優子，深田正紀（生理学研究所）

自己免疫性小脳性運動失調症は, 自己免疫学的機序を背景として発症する自己免疫性中枢神経疾患である。急性・亜急性に進行する起立歩行障害, 上肢巧緻運動障害, 構音・嚥下障害をきたす神経疾患であり, 発症早期の免疫療法が奏功する。患者の血清・脳脊髄液中において疾患特異的な自己抗体（抗神経抗体）が検出されることがあり，診断マーカーとして重要であるとともに病態に直接関与することが報告されている（Balint B, et al. Brain 2018）。

本研究は，この自己免疫性小脳性運動失調症患者の血清・脳脊髄液を用いて，病態に関連する抗神経抗体を新たに検出し, その標的となる神経細胞膜表面抗原蛋白を同定することを目的とした研究である。

本年度，新たに 94 例の小脳性運動失調症を呈した患者の血清を用いて，抗神経抗体の同定を試みた。まずスクリーニングとしてラット小脳凍結切片を用いた免疫組織染色を行い抗神経抗体の検出を行った。その結果，15 例の患者血清中の IgG が小脳分子層の neuropil に染色性を示し, 神経細胞膜表面抗原を標的とする抗神経抗体の存在が予想された。その後，この 15 例の血清と過去の免疫組織染色で神経細胞膜表面抗原を標的とする抗神経抗体の存在が予想された小脳性運動失調症患者の血清を用い, ラット海馬初代培養神経細胞を用いた免疫細胞染色を行った。その結果，16 例の患者の血清中の IgG が神経細胞膜表面抗原を認識することを確認した。次にこれら IgG の標的抗原を同定するために，免疫細胞染色で陽性であった 16 例の患者の血清 IgG とラット海馬初代培養神経細胞を抗原とする免疫沈降を行い，標的抗原蛋白の分離を試みた。その結果，臨床診断名が亜急性小脳失調症,オプソクローヌス・ミオクローヌス症候群，特発性小脳失調症であった 3 例の患者の血清 IgG が，それぞれ標的とする特異的な抗原蛋白の分離に成功した。

現在この標的抗原蛋白を質量分析により同定中である。

38. 下垂体後葉ホルモンの分子・機能進化に関する研究

山口陽子（島根大学学術研究院 農生命科学系）
久保義弘，立山充博（生理学研究所）

脊椎動物の後葉ホルモンは，複数の G タンパク質共役型受容体（GPCR）を介して多彩な機能を発揮する。中でも，腎臓に発現する V2a 型受容体（V2aR）は強力な抗利尿作用を媒介することから，乾燥した陸上環境での生存に必要不可欠である。V2aR は二次情報伝達物質として cAMP を利用するが，V2aR の祖先型受容体である V2bR を含め, 他の後葉ホルモン受容体は Ca^{2+} を用いた情報伝達を行う。本研究は，V2aR と V2bR の配列を一部入れ替えたキメラ受容体ならびに遺伝子組換えメダカを作成することで，V2aR 特異的な cAMP シグナリングの分子基盤を解明し，それが後葉ホルモン系の機能進化に果たした役割を検証することを目的とする。昨年度までに，メダカの野生型 V2aR と V2bR ならびにキメラ受容体の G タンパク質選択性評価を実施した。先行研究と予備実験から，V2aR は G_s と，V2bR は G_q とそれぞれ共役すると考えられていたが，予想に反して，野生型 V2aR/V2bR 間で明確な差が見られなかった。そこで本年度は野生型 V2aR/V2bR の機能特性を再検証することを最優先とし，①典型的な G_q 選択性分子として知られる V1a 型受容体（V1aR），および②両生類のネッタイツメガエルを新たに解析対象に加え，G_s および G_q との共役能を比較検証した。

G_s 共役能については V2aR と V2bR の間で差が見られ，「V2aR 特異的な cAMP シグナリング」を裏付ける結果と

なった。一方で，V2bR は G_s/G_q 双方に対して低い共役能を示した。すなわち，V2bR の Ca^{2+} シグナリングは，従来考えられていた G_q ではなく，別の G タンパク質を介する可能性が示唆された。V1aR については，メダカの分子が G_q 選択性であるのに対し，ネッタイツメガエルの分子は G_q/G_s の両方と同程度に共役することも明らかになった。

今後は「V2bR から V2aR への分子・機能進化を人為的に再現する」という当初の目的を達成すべく，野生型 V2bR より高い G_s 共役能をもつキメラ V2bR の作成を目指す。これと並行して，「V2bR の G タンパク質選択性の解明」を新たな目標に設定する。先行研究で，G_q 以外にも G_i や G_s が細胞内 Ca^{2+} の亢進を引き起こす例が報告されている。V2bR の G_q/G_s 共役能は低い（上記参照）ことから，今後は G_i との共役能をメインに検証する。

39. 動物の光受容タンパク質オプシンのダイナミックな機能変換を利用した光遺伝学ツールの開発

塚本寿夫（神戸大学大学院 理学研究科）
久保義弘（生理学研究所）

この 20 年間近くの間に，種々の光受容タンパク質（をコードする遺伝子）を光に応答しない「普通の」細胞・組織に人為的に発現させて，その細胞応答を光でコントロールする光遺伝学（optogenetics）解析が爆発的に発展してきた。これまでの光遺伝学解析の多くでは，緑藻類から見いだされた光駆動型イオンチャネルのチャネルロドプシンおよびその類縁体が光操作ツールとして利用されてきた。最近，チャネルロドプシンに加えて光感受性 G タンパク質共役受容体（GPCR）としてはたらく動物由来の光受容タンパク質オプシンも有力な光操作ツールとして活用されている。動物オプシンは，光シグナルを三量体 G タンパク質および下流の細胞内シグナル伝達経路を介して増幅するため，チャネルロドプシンと比べて数百〜数千倍弱い光でも細胞応答を誘起できる。すなわち動物オプシンは，刺激光が届きにくい深部組織や色のついた組織の光遺伝学解析に適していると考えられている。一方で，動物オプシンは G タンパク質やアレスチンなどのシグナルタンパク質を介して複数の細胞応答を同時に駆動するため，具体的にどの細胞応答を光操作しているのか不明確になる難点もあった。本研究では，動物の進化の過程でオプシンの機能特性がダイナミックに多様化（変化）してきたことを利用して，数ある動物のオプシンの中から，G タンパク質が関わるシグナル経路のうち特定の経路のみを選択的に駆動することのできるものを選抜し，それを新しい光操作ツールとして提案することを目的とした。

4 年間にわたる計画共同利用研究の結果，環形動物ゴカイから見いだされたオプシンが，光受容後すみやかに不活性化する特性を示すことを見出し，この特性を利用して，GPCR が関わる細胞応答のうち最速である G タンパク質 βγ サブユニットによるイオンチャネル（GIRK チャネル）の開閉制御を「狙いうち」して制御できることを発見した。さらに G タンパク質の活性化・不活性化を加速する RGS8 タンパク質を人工的に融合させることで，この選択性を強化することにも成功した。この成果をまとめた論文はアメリカ科学アカデミー紀要（PNAS）に受理され，2023 年度中に出版される予定となっている。

40.「新規骨格を有する２光子励起色素」創製を目指した設計・合成・構造解析・機能評価研究

和田祐希，張　光均，有澤光弘（大阪大学）
石井宏和，渡我部ゆき，根本知己（生理学研究所）

生きた動物の内部で起きている現象をサブミクロンの解像度でとらえることは困難である。 2 光子顕微鏡はこのような生体現象を捉えることができる強力なツールとして注目を集めているが，本法実施上鍵となる 2 光子励起色素骨格が限られていることから，新しい色素骨格の開発が求められている。

既に我々は数年前に共同研究を開始し，新規多環性含窒素複素環化合物を与える新しい反応や合成法を開発すると共に，これら新規化合物の光学特性について解析して来た。その結果，つい最近，新規２光子励起色素骨格 isoindolo[2,1-a]quinolone を見いだすことに成功している。

昨年度は 5-phenyl-13-aryl-isoindolo[2,1-a] quinolone 誘導体を種々合成すると共に，それらの吸光・蛍光・２光子励起光特性についてまとめ，誌上発表した（Avena Francisco Ramon, Yuki Wada, Hirokazu Ishii, Yuki Watakabe, Motosuke Tsutsumi, Kwangkyun Jang, Kohei Otomo, Lin Qiao, Yuki Fujii, Hirofumi Tsujino, Yasuo Tsutsumi, Tomomi Nemoto, Mitsuhiro Arisawa, *Dyes and Pigments* **2023**, *212*, 111118. ）。この研究の結果，本新規骨格を有する化合物の中には，従来型色素よりも高い GM 値を有する２光子励起色素が含まれていることがわかった。

具体的には，新たな isoindolo[2,1-a]quinolone 誘導体を 10 種類，設計・合成した。合成した化合物の化学構造は NMR，質量分析及び X 線結晶構造解析により確定した。また，これら色素の光学特性（二光子励起色素スペクトルは生理学研究所において，吸光・蛍光スペクトルは大阪大学において取得）について解析した。今後，この解析結果から，構造活性相関の考察を深め，新たな誘導体の設計・合成を進める予定である。

41. 超低侵襲３D イメージングによる先祖返り細胞質分裂機構の解析

村田　隆（神奈川工科大学）

植物やその近縁の藻類は細胞板で分裂するが，ミカヅキモなどの接合藻類は例外的にくびれて分裂する。接合藻類は一度失ったくびれの分子装置を回復させたのか，新規のくびれ機構を獲得したのかを調べるため，我々はミカヅキモのモデル生物であるヒメミカヅキモを用いてアクチン可視化を進めている。前年度までに Lifeact-mCitrine 発現株を作製したが（村田ら未発表データ），ヒメミカヅキモは光障害に弱いため，共焦点顕微鏡下の観察では細胞分裂が停止してしまい，くびれ形成時のアクチン動態を時間を追って観察することには成功していない。そこで，低侵襲であることが期待される多点走査型共焦点・二光子顕微鏡法で細胞分裂時のくびれとアクチンの動態を調べることを計画した。本年度は特に蛍光標識マーカーの検討を重点的に行った。

ヒメミカヅキモのエタノール抽出物の吸収スペクトルを測定したところ，クロロフィルの吸収（450 nm, 660 nm 付近）に加え，480 nm 付近に吸収が見られた。これはカロテノイドの吸収と考えられる。このことから，ヒメミカヅキモはカロテノイドを多く含むため，488 nm の励起光は吸収されてしまい光障害につながることを推測した。

次に生理学研究所の CSU-MP を用いて，細胞核に mCitrine が局在する組替えヒメミカヅキモの観察を行った。960 nm の Ti-Sa レーザで励起した場合，急速に葉緑体が自家蛍光を発するようになり，ヒメミカヅキモが死んだ。これは葉緑体内のカロテノイドのためと考えられた。そこで，励起光を 1040 nm の Yb レーザに切り替えて観察したが，標識の蛍光が弱く，タイムラプス観察は難しかった。

1040 nm レーザで mCitrine よりも高効率で励起できる蛍光タンパク質の検討を行った。mPapaya は mCitrine と

赤色系蛍光タンパク質の中間である 530 nm に吸収ピークを持つ（Hoi et al. 2013）。そこで予備実験としてタバコ培養細胞で細胞核に mPapaya を発現する細胞 H2B-mPapaya を作製し，CSU-MP の Yb レーザで励起できるか検討した。また，細胞核の対比染色として Kakshine（Uno et al. 2021）が使用可能かも検討した。mPapaya が 1040 nm で励起可能なことはわかったが，Kakshine とは励起効率が大きく異なったため，同時励起は難しいと考えられた。

赤色蛍光タンパク質 mScarlet-i は，従来使用の mCitrine や, 今回検討した mPapaya よりも高効率で Yb レーザで励起できると考えられる。現在，従来使用の LIfeact-mCitrine 標識プラスミドの蛍光タンパク質遺伝子を mScarlet-i に切り替えるため，ベクター構築を進めている。

42. Neural Mass model により同定されたモデルパラメータに基づくヒト脳波の興奮/抑制性バランスの定量化手法の開発

野田賀大，和田真孝，髙野万由子（慶應義塾大学 医学部 精神神経学教室）
北城圭一，横山　寛（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

本申請研究では，ヒト脳波から皮質内興奮/抑制性（E/I）バランスの変化を予測し，うつ病疾患患者の病態評価を可能とするようなデータ駆動解析手法の確立し，病態治療効果定量への応用を目指している。具体的なアプローチとしては，横山と北城が提案する脳波データ同化手法をヒト脳皮質内の E/I バランス推定へ活用し，野田らが計測した臨床脳波データの解析への適用および，うつ病特異的な皮質内 E/I バランス変化の同定を行う。これより, うつ病疾患患者の治療前後での介入効果を皮質内 E/I バランスから定量する手法の開発を目指す。 本年度は，提案手法の妥当性検証や，臨床脳波データへの適用や皮質内 E/I 推定の経頭蓋磁気刺激−脳波（TMS-EEG）同時計測による TMS 誘発電位評価法，具体的には短間隔皮質内抑制 Short-interval intracortical inhibition (SICI) 皮質内促通 Intracortical facilitation (ICF) の結果との比較を進めた。

臨床脳波データの計測，及び，SICI と ICF パラダイムでの TMS 誘発電位（TEP）に基づく皮質内 E/I 推定については，去年に引き続き慶應義塾大学・野田グループで進めた。健常群の実験参加者より計測された安静時脳波の観測データや SICI と ICF による TMS 誘発電位でみた皮質内 E/I の解析結果については，生理学研究所・北城グループへ共有され，同グループが開発を進める E/I 推定新規手法の妥当性検証に活用された。北城グループでは，去年に引き続き，提案手法の実装とデバッグに関して，脳波オープンデータを使って進めるとともに，野田らのグループから共有された安静時脳波データの解析と TMS 誘発電位の結果より得られた E/I の結果との比較に基づき，提案手法の妥当性評価を進めた。本提案手法にて評価した皮質内 E/I の傾向が野田グループにて評価した SICI と ICF での皮質内 E/I の結果と類似する傾向を確認している。

今後の予定としては，臨床脳波への適用との比較検証を詳細に進めるとともに，うつ病疾患群の脳波解析から病態特異的な皮質内 E/I 変化の同定を目指すことを計画している。

43. 経頭蓋静磁場刺激によるヒト脳可塑性の神経生理学的探索

芝田純也（新潟医療福祉大学）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

経頭蓋静磁場刺激（tSMS, transcranial static magnetic field stimulation）は、小型で強力な永久磁石を頭表に留置する新しい非侵襲的脳刺激法である。磁石がもたらす静磁場により、磁石直下の脳皮質の機能が抑制される。従来の非侵襲的脳刺激法と異なり、けいれん誘発のリスクがなく皮膚刺激感ももたらさない。安価・簡便・安全な

神経調節技術であり、難治性脳疾患の治療やリハビリテーションへの臨床応用が行われつつある。

静磁場の強さは距離に応じて減衰するため、tSMS の主要な刺激ターゲットは磁石直下の脳皮質表面である。しかし、脳は機能的神経ネットワークを形成しているため、単独部位の脳機能変化が複数部位あるいは脳全体の機能変化をもたらしうる。近年、tSMS においても、磁石直下の脳機能の変化が機能的神経ネットワークを介して、磁石から離れた部位の脳機能も変化させることが報告された。tSMS がもたらす脳可塑性を数理的に理解する研究基盤を構築する本研究において、tSMS により誘導される機能的神経ネットワークの可塑性を調べることは不可欠である。

経頭蓋磁気刺激－脳波同時記録法（TMS-EEG 法）は、多チャンネル脳波記録を持続的に行いながら脳に TMS を与え、脳内に誘導される神経活動の応答を全脳で記録解析する手法である。外的刺激に対する神経応答の時間的空間的広がりを探索することができ、脳内の機能的神経ネットワークの理解につながる。このように TMS-EEG 法は非常に有効な解析方法であるが、TMS によるアーチファクトに対応できる脳波アンプと、データからそのアーチファクトを取り除くなど複雑な前処理が必要であった。TMS 対応の脳波アンプ（BrainAmp）と解析ソフトウェア（TESA[1),2)]）を用いて、健常成人を被験者として TMS への神経応答を再現性をもって記録・解析することに成功した。

本年度は TMS-EEG 記録・解析システムを構築することができた。次年度は tSMS により誘導される機能的神経ネットワークの可塑性を TMS-EEG 法で解析する。

参考文献

1) Rogasch NC, Sullivan C, Thomson RH, Rose NS, Bailey NW, Fitzgerald PB, Farzan F, Hernandez-Pavon JC. Analysing concurrent transcranial magnetic stimulation and electroencephalographic data: a review and introduction to the open-source TESA software. NeuroImage. 2017; 147: 934-951.

2) Mutanen TP, Biabani M, Sarvas J, Ilmoniemi RJ, Rogasch NC. Source-based artifact-rejection techniques available in TESA, an open-source TMS-EEG toolbox. Brain Stimulation. 2020; 13:1349-1351.

44. 安静時脳内ネットワークのダイナミズムの臨床応用

服部憲明，岩間雄大（富山大学）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

本研究の目的は，脳神経疾患で活用できる dynamic functional connectivity (DFC) 指標を見出すことである。これまでの安静時脳波，機能的 MRI 研究は，一部の精神疾患を除き，static FC (SFC) 解析が主であった。脳神経疾患において，認知機能や運動機能の低下には減弱した，また，脱抑制的な症状などには過剰な FC の揺らぎがあり，DFC が病態や治療効果を反映する可能性がある。

本研究では，富山大学附属病院に設置されている脳波計，MRI 装置を用いて，成人（65 歳以上を含む）健常者および脳卒中，重度内頚動脈狭窄，水頭症，パーキンソン病などを有する患者について，安静時脳波，MRI データを収集する。そして，匿名化したデータについ生理学研究所のワークステーションで SFC，DFC 解析を行い，認知機能，運動機能などの臨床データと DFC，SFC 指標との関連，治療前後での指標の変化を検討し，バイオマーカーとして有用なネットワーク，脳波周波数帯域を見出す。

初年度の 21 年度に健常者のデータ収集を開始したが，22 年度はさらに 20 歳台から 80 歳台まで広い世代の被験者のデータを収集し，36 名からなる健常データベースを構築した。また，脳卒中患者やパーキンソン病患者のデータの収集も開始している。解析に関しては，アーチファクト・ノイズ除去について独立成分分析を用いた手法の至適化について検討をおこない，また，FC 解析に関しては，phase synchrony index と phase Lag Index を求め，平均値や分散などの基本的な指標についてのトポグラフィー表示やマトリックス表示での検討をおこなった。

45. 脳波ダイナミクスに着目した脳卒中機能回復原理の解明

河野悌司[1]，北城圭一[2]，宮井一郎[1]，服部憲明[3]，畠中めぐみ[1]，矢倉　一[1]，藤本宏明[1]
([1]森之宮病院 神経リハビリテーション研究部
[2]生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門
[3]富山大学 学術研究部 医学系）

安静時にも脳は活動しており，安静時に測定した脳波から非侵襲的に活動時の脳賦活を予測することができる。我々は同期的脳活動の指標として phase synchrony index （PSI）を用い，亜急性期脳卒中患者の脳ネットワーク機能変化を評価してきた。その結果運動機能障害を呈する患者群において，１）左右運動野間 PSI が上肢麻痺の重症度と相関し，２）非病変側半球内の運動野を中心とする PSI 値が上肢麻痺の回復と相関することを見出した。更に言語機能障害を呈する患者群において，３）言語関連領域間の PSI 値が失語症の重症度と相関することを見出した。これらの知見を踏まえ，本研究においては PSI が失語症回復の指標たりうるかを検討した。

対象は書面により同意を得た回復期リハビリテーション目的で入院中の脳卒中患者であり，日本光電社製脳波計（19ch）を使用し脳波検査を実施した。左前頭葉に脳梗塞病変を有する失語症患者において，PSI 値と発話に関する失語症回復との関連を評価した。脳梗塞患者 24 名（平均年齢 67.9 歳）を対象とし，脳波測定は発症後 37.0 日後，治療期間は 58.0 日間，治療前の失語症スコアは 31.8/70 点，治療後の利得は 7.8 点（いずれも中央値）であった。左右の言語関連領域（前頭葉，側頭葉）間 PSI（δ 帯～γ 帯）と失語症回復（治療による利得）間の関連を評価し，左右側頭葉間 PSI 値が γ 帯において失語症回復と正の相関を示すことを見出した（$\rho = 0.642$; 95 %信頼区間 0.311–0.834; $P = 0.017$）。また，Receiver operating characteristic 曲線解析により，感度 91.7 %, 特異度 75.0 %, Area Under the Curve 0.83 で中央値を超える良好な回復を示した患者を判定することが可能であった。更に重回帰分析により，PSI 値と臨床指標を組み合わせることで失語症回復スコアを予測することが可能であった（決定係数 0.545）。この結果は，前方言語領域の損傷後に，後方言語領域である側頭葉間の賦活が失語症回復に関係している可能性を示している。これまでの報告とあわせ，安静時 PSI が脳卒中後の運動，言語の両分野において機能障害とその回復の指標となりうることが示された。現在上記研究結果を論文化し投稿準備中である。

46. 運動異常症の脳内電位の同期現象

村瀬永子（独立行政法人　国立病院機構 奈良医療センター 脳神経内科）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）
南部　篤（生理学研究所･生体システム研究部門）
上原一将（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

本態性振戦・パーキンソン病・ジストニアにたいしておこなわれる定位脳手術において，ターゲットは視床の亜核である Vop や Vim が選択され，電気凝固あるいは深部脳刺激にて治療効果がえられる（村瀬　永子他，機能的脳神経外科 2018; 57: 70-77）。我々の施設では Vop（淡蒼球内節からの入力がはいる）と Vim(小脳歯状核からの入力がはいる)それぞれをターゲットにして微小針電極を同時に進め記録（microelectrode recording: MER）し，さらに頭皮脳波や手足の筋電図も同時記録している。治療効果が得られた場所がわかっているので，病態に直接結びついている部位の Vop や Vim の spike 活動の解析がオフラインで可能である。

近年 MER の spike を解析に Cross-frequency analysis を用いることで，パーキンソン病では大脳基底核の神経活動やその同期ダイナミクスは病態と深く関係していることが報告されている。しかしパーキンソン病・ジスト

ニア・本態性振戦といった疾患の病態機序の違いの解析はほとんどなく，さらに視床の解析はわずかである。我々は非線形動力学的手法で疾患ごとに視床の神経活動を解析することを目的としている。

2022 年度はジストニアにて，2 列の MER のデータの一つを局所場電位（local field potential: LFP）として扱い，もうひとつの MER の spike との PAC (phase amplitude coupling) の解析を試みた。しかし術中 MER では適切な部位同定のために低い周波数のフィルターが，LFP で通常用いられるフィルターより高く設定されているため，PAC の解析が困難であった。またフィルターを LFP 用にかえて記録しようとしたが，手術時間が長くなり不可能であった。次の解析として，脳波と spike との関係を PAC を用いておこなっていく予定である。

2023 年度はさらに異なった振動子どうしの引き込みの相互作用を非線形的に解析し，疾患に特徴的なパターンがないかどうかも検討していくことを目的としている。

これまでのデータの扱いであるが，自然科学研究機構・生理学研究所　システム脳科学研究領域の研究室にデータを送り，サーバー適切に保存されている。

47. 頭蓋内電極を用いたてんかん病態下の脳内ネットワーク機構とてんかん病態の解明

松橋眞生，池田昭夫，宇佐美清英，下竹昭寛，小林勝哉，山中治郎，梶川駿介
（国立大学法人京都大学大学院医学研究科）
横山　寛，北城圭一
（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門）

本研究ではてんかん患者の ECoG データを対象として，非線形動力学と情報理論的観点で解析手法を提案し，振動，同期ダイナミクスの詳細の解析を行う。具体的には，京都大学にて既に計測済みのてんかん患者の発作時，発作直前時，発作間欠期における ECoG データに対し，位相同期，位相―振幅カップリング等の解析を行うことで，てんかん発作時特異的な皮質脳波のダイナミクスを明らかにする。また，トランスファーエントロピー等の情報理論解析により，動的な情報流の定量化を行うことで，てんかん発作時特異的な皮質脳波の位相同期及び位相ー振幅カップリン背後にある神経情報流とてんかん発作の機序解明を目指す。

本年度は，前年度から引き続き，1 Hz 以下の Slow な脳波振幅 (infra-slow)に見られるてんかん予兆とてんかん時の脳波判読に用いられる Conventional な Oscillation（1~3 Hz:δ 帯域，100~300 Hz: HFO）との関係解明を進めた。今年度は，我々が提唱する Active/Passive slow shift の概念との関連を議論するため，infra-slow signal の onset time を起点としたトランスファーエントロピー解析を進めた。その結果，てんかんコア電極上の ECoG 信号にて Infra-slow から HFO 帯域にかけての神経情報流を多くの患者データにて確認し，当該情報流が統計的に有意な患者群は Active slow shift の傾向を示し，そうでない患者群は Passive slow shift の傾向を示していた。本結果は，我々が提唱する発作時 DC shift の成因による分類 (Active と Passive)を裏付ける重要な示唆であるとともに，Infra-slow から HFO 帯域にかけての神経情報流がてんかん発作の発生機序に重要な役割を担っている可能性を示唆した。これまでの先行研究では，てんかん発作時において Infra-slow や HFO などの病態特異的な脳波の存在は多く報告があるもののそれらの間の関係や発生機序をデータ駆動的に議論する結果は，我々が知る限りない。そのため，本研究の成果は，Infra-slow shift がてんかん発作の予兆としての神経活動を反映しているという従来の仮説をサポートすると同時に，Infra-slow shift がてんかん発作による HFO の発生を促すトリガーとしての役割を担っている可能性を示唆している。これらの結果は，現在，査読付き国際雑誌への投稿を目指し，準備を進めている。

48. 円口類ヤツメウナギを用いた頭部中胚葉および神経堤細胞の分布および特徴の理解

尾内隆行（福井大学 学術研究院医学系部門 形態機能医科学講座 解剖学部門）
大野信彦（生理学研究所 超微形態研究部門）

脊椎動物の頭部は，脊椎動物の最も際立った特徴である。特に頭蓋は，解剖学的に脊椎動物の頭部の代表的存在である。頭蓋は，脳を包む神経頭蓋と，捕食に関わる内臓頭蓋とに分かれ，脊索動物の祖先には，内臓頭蓋のみがみられる。神経頭蓋の進化においては，顎の発達や，感覚器の登場及び脳の肥大といったイベントが合い重なって，捕食者としての才能を持った脊椎御動物が各々の脳を守るために登場するに至ったと考えられている。しかしながら，初期の脊椎動物において，神経頭蓋がどのような形態であったのかは，不明な点が多い。

円口類は，顎口類と共に脊椎動物の主要なグループを構成する。現存する円口類は，ヤツメウナギとヌタウナギからなる。円口類は，顎を持つ前の段階の脊椎動物の状態を反映していると考えられることから，初期の脊椎動物の進化を理解する上で，最も重要な現存する動物である。これらのことから，我々は，ヤツメウナギの頭蓋の発生過程を調べ，顎口類の頭蓋の発生過程と比較することで，初期脊椎動物の神経頭蓋の状態を推測することにした。我々は，初めに顎口類に共通してみられ，古くから進化したとされる神経頭蓋の一部である梁軟骨の細胞型の研究に焦点を当てることとした。その理由としては，この軟骨が顎口類における新規形質であるとされ，脳の肥大化の進化と連動していることが想定されている一方で，ヤツメウナギにおいて梁軟骨が存在するかについて，大いなる問題となっていることから，先端技術を用いた解析が再び必要であると判断したからだ。

(1)　具体的な解析方法

ヤツメウナギ咽頭胚において，軟骨を構成する細胞は，中胚葉と神経堤細胞である。これまでの研究では，古典的な DiI 色素の微量注入によって，これらの細胞の系譜を探索する手法があったが，解像度に関しては，改善の余地があった。そこで，SBF-SEM を用いて，あらたに細胞型の分類法を開発することにした。具体的には，細胞を構成する要素を定量し，その差異と細胞型との関係性を調べている。

(2)　得られた結果

目的の細胞構成要素の定量を SBF-SEM を用いたのちに，人工知能を用いたセグメンテーションなどの技法を導入しつつ，三次元再構築ソフトを用いて行ったところ，中胚葉と神経堤細胞で優位に差がみられた。今後は，軟骨細胞を構成する細胞が，中胚葉と神経堤細胞のどちらに由来するかを目的に発生時期において明らかにする。

49. 黄斑円孔における黄斑部網膜回路の SBFSEM を用いた可塑性検討

秋葉龍太朗（千葉大学大学院医学研究院眼科学）

霊長類には網膜中心に黄斑という構造が存在し，1-3 次ニューロンが 1:1:1 で接続する Midget Pathway という回路構造により高精度の視力を司っている。黄斑部に円孔が生じる“黄斑円孔”では重篤な視力低下を引き起こす。今回，我々は黄斑円孔下で Midget Pathway がリモデリングを起こすかをシリアルブロックフェイス走査型電子顕微鏡(SBFSEM)を用い超微形態レベルで明らかにし，細胞移植治療を行う際に重要な網膜回路の可塑性を検討する。我々は 1 匹の 6 歳 10 ヶ月齢のニホンザルの自然発生黄斑円孔例にケタミンおよびキシラジンによる全身麻酔下で眼球摘出を行い，取り出した眼球をグルタルアルデヒドで固定，網膜の黄斑部組織を採取した。固定後の組織を生理学研究所にて電子顕微鏡撮影の前処理・樹脂包埋を行い，SBFSEM を用いて画像撮影を行った。取得した画像からは，黄斑円孔が開存している像を確認できた。しかし，サンプルの固定状態が細胞の三次元再構築に適していないサンプルであったため，我々は反対眼も同様の黄斑円孔眼であったことから，そちらも同様の処理をして今後解析予定である。

50. 関心脳波律動を増幅させる非侵襲的脳刺激法の開発ー律動周期の変化をアルタイムに予測して刺激タイミングを決定するアルゴリズムの開発

阿部十也，Aqsa Shakeel
（国立精神神経医療研究センター 脳病態統合イメージングセンター）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

Objective:

To develop a Closed-Loop brain state-dependent TMS-EEG setup (as depicted in Figure 1) having the capability of analyzing EEG signals in real-time and triggering TMS pulses depending on the instantaneous oscillatory phase of the recorded EEG signal.

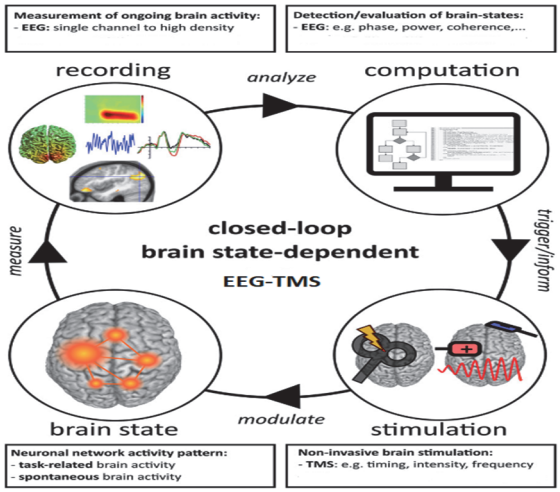


Figure 1 Closed-Loop brain state-dependent EEG-TMS

TMS-EEG:

Transcranial magnetic stimulation combined with electroencephalography (TMS-EEG) is a powerful technique for non-invasive investigation of brain activity. TMS is conventionally delivered without synchronizing stimulation pulses to the phase of the ongoing brain oscillations, despite potentially important differences in the neurophysiological response to TMS depending on the underlying state of the cortex. Although it is not possible to access the true state of brain, EEG can provide insight into the spontaneous oscillatory activity of neuronal populations. Instantaneous phase and amplitude can be considered as prominent characteristics of brain state. Oscillatory activity within neuronal networks is characterized by time-varying changes in phase and power.

However, TMS-EEG data is often contaminated with various types of artifacts, including TMS-related artifacts, muscle artifacts, and other non-TMS-related artifacts. These artifacts can severely affect the quality of the recorded data and may lead to false conclusions. Therefore, it is essential to properly remove these artifacts from TMS-EEG data before analyzing the data for offline analysis.

While setting up the closed-loop system, we utilized the NIPS data to gain practical experience in handling TMS-EEG data using MATLAB and the fieldtrip toolbox. It's worth noting that this step may not be required for performing time-series forward prediction and phase estimation in an online setup.

Closed-Loop TMS-EEG Setup:

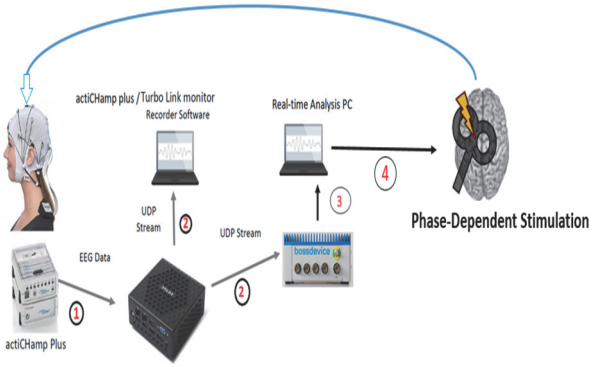


Figure 2 Actual Closed-Loop TMS-EEG Setup

Figure 2 illustrates the actual Closed-Loop TMS-EEG setup, which includes the actiCHamp Plus, Turbolink, and BossDevice. The setup comprises the following steps:

1. Signal Extraction

The EEG signal will be recorded with 64 channel EEG cap and using actiCHamp Plus (24-bit EEG amplifier).

2. TurboLink & BossDevice

An increasing number of research applications require online access to EEG data streams. For example, when signal features

of the EEG are used to trigger TMS pulses, or where algorithms in BCI (Brain Computer Interface) applications are used to provide immediate response. For these applications, minimum latency and high accuracy become increasingly important.

TurboLink integrates with actiCHamp (Plus) setup. It streams EEG data from the amplifier via a User Datagram Protocol (UDP) to the preferred data client (BossDevice), which is doing the data processing. The Recorder PC is used to configure actiCHamp (Plus) through TurboLink and to monitor and/or record the data in the Brain Vision File Format for validation or offline analysis.

Bossdevice is a real-time digital signal processor consisting of hardware and software algorithms. It is designed to read-in a real-time raw data stream from a bio- signal amplifier (EEG), to continuously analyze this data and to detect patterns based on oscillations in different frequencies. When such a specific bio-signal pattern is detected, the device indicates this through a standard output port. This enables a connected device to know with millisecond accuracy when a specific bio-signal pattern occurs.

3. Signal/ State Estimation

This step will focus when we have the signal and to estimate as accurately as possible which features of the EEG signal will be used for example phase (peak or trough), amplitude (high power or low power), signal to noise ratio (SNR) etc. The oscillation amplitude should be sufficiently large to enable our already developed algorithm (conventional Autoregressive model (AR) and Least means square based AR model (ARLMS)) to estimate instantaneous phase of the trigger signal with sufficient accuracy (Figure 3).

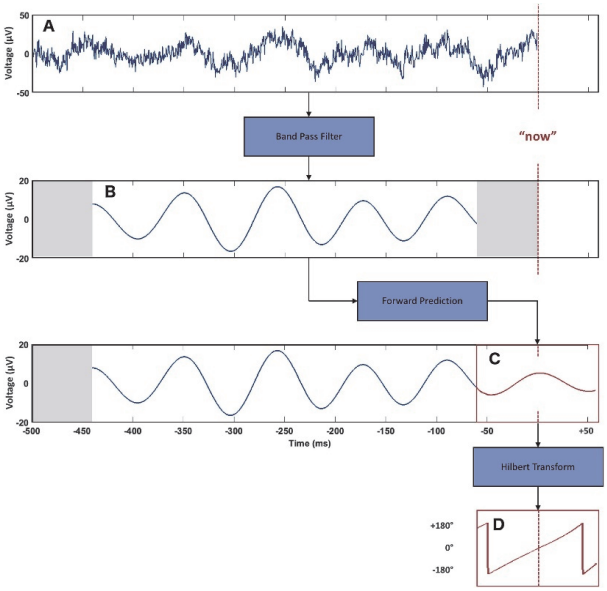


Figure 3 Forward Prediction Method for Phase Estimation. A. Raw data was filtered using band pass filtering. B. The filtered data was trimmed from both sides to reduce edge effects in later steps. C. The data was forward predicted, "now" meaning current time point. D. Hilbert transform was applied on the predicted data to estimate instantaneous phase.

4. Real-time phase dependent stimulation

A digital output (TTL) signal will be generated to trigger the magnetic stimulator when the Hilbert Transform crossed the target phase and a predetermined power threshold is also exceeded.

Progress So far:

The actiCHamp Plus, Turbolink, and BossDevice setup has been successfully tested, and we are currently focused on recording resting state EEG data using all three equipment while finalizing our research question that will utilize a Real-time Closed-Loop Setup.

Our immediate next step is to test the phase estimation algorithm using resting state EEG data (using all three equipments) and subsequently using sp TMS-EEG data for the same. After confirming the efficacy of the phase estimation algorithm with sp TMS-EEG data, we will proceed to test the entire closed-loop environment before finally testing our research question.

51. 神経細胞間認識分子である PcdhgC4 と相互作用する新規分子の同定

八木　健，樋口流音（大阪大学･大学院生命機能研究科）
横井紀彦，深田優子，深田正紀（自然科学研究機構･生理学研究所）

58 種類の分子種をもつクラスター型プロトカドヘリン遺伝子群（cPcdh）は個々の神経細胞で複数種が確率的に発現することで，神経細胞に個性を与える。本研究では，cPcdh のうち唯一マウス個体の生存に必須である PcdhgC4 分子に特異的に結合する分子の探索をおこない，新たな相互作用メカニズムの解明を目的とする。

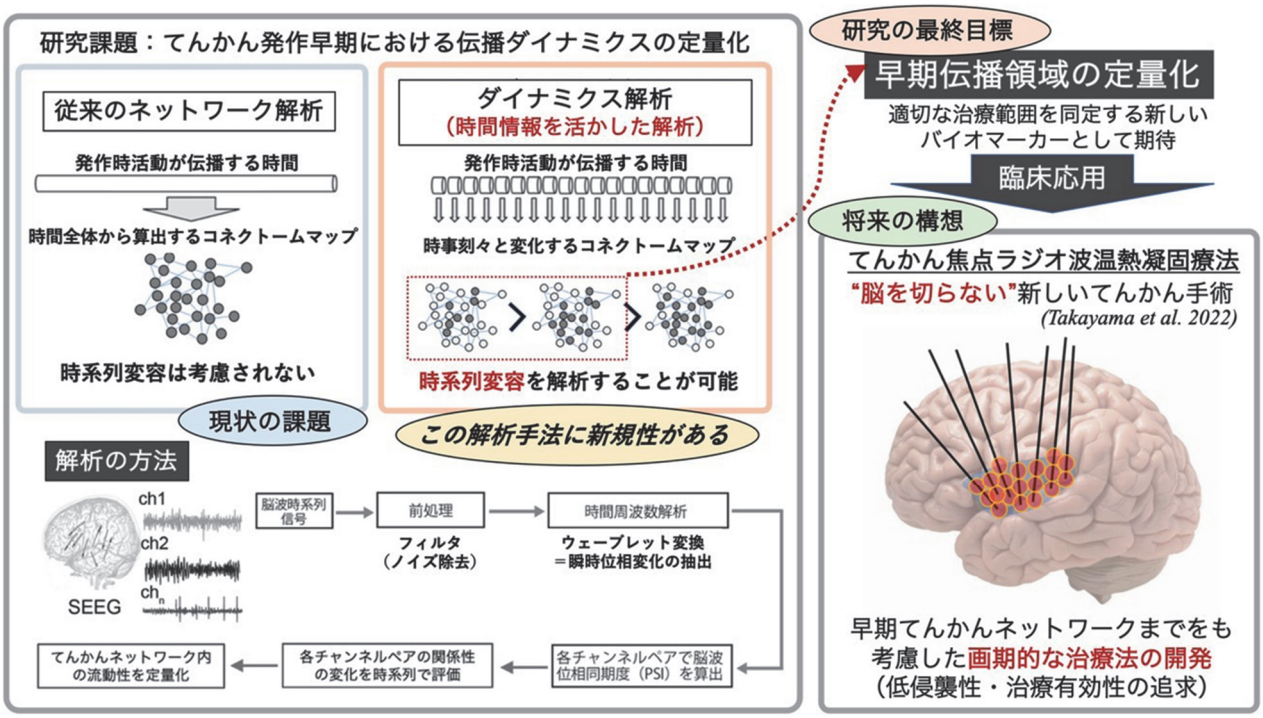
22 分子種の Pcdhg 遺伝子群のうち PcdhgC4 遺伝子を欠損するとマウスは死亡することから，PcdhgC4 タンパク質が機能的神経回路形成に必須であることが明らかとなった。しかし，この PcdhgC4 タンパク質による神経細胞間相互作用を介した機能的神経回路形成メカニズムについてはほとんど明らかにされていない。本計画共同研究では，免疫沈降法と質量分析法を用いてこれまで未知であった PcdhgC4 タンパク質特異的に結合する新規分子の探索・同定をおこなう。

本年度は，実際に生理研を訪問し，生体試料（マウス脳，生後 7 日齢）を用いて Pcdh タンパク質可溶化条件と抗体の特異性検定をおこない最適な条件決定をおこなった。決定した実験条件をもとに免疫沈降，SDS-PAGE，銀染色，および質量分析を進め結合タンパク質の同定を試みた。質量分析の結果から，PcdhgC4 タンパク質のペプチドが確認されると共に，他 Pcdh アイソフォームなどの既知の結合分子を同定することができた。加えて，シナプス関連タンパク質や細胞死制御関連タンパク質，オルガネラ関連タンパク質など，多数の新規結合候補分子をペプチド断片として得ることができた。これらのタンパク質は Pcdh との関連性は知られておらず，新たな機能を持つ可能性がある。現在，得られた候補分子と PcdhgC4 タンパク質が直接相互作用しているか，*in vitro* での解析を開始している。今後は，本解析で得られた分子と PcdhgC4 の相互作用を介したシナプス形成メカニズム・細胞内外輸送・細胞死制御といった様々な細胞間相互作用に関する実験を進めていく予定である。

遺伝子組換えマウスからの試料採取は，大阪大学の実験動物倫理および遺伝子組換え実験規定に基づき，大阪大学でおこなった。

52. 非線形ダイナミクス解析を用いたヒトてんかんネットワークの時系列変容の解明 ～定位的頭蓋内脳波記録を用いた検討～

高山　裕太郎（国立精神･神経医療研究センター病院，横浜市立大学 脳神経外科）
北城圭一，上原一将（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）



1. 研究目的

本研究では（Network Flexibility: NF）に着目し，神経伝播のダイナミクスを可視化し，てんかんネットワーク内において発作時早期に伝播する脳領域（早期伝播領域）を定量化することが目的である。

2. 研究方法

SEEG によって得られる頭蓋内脳波データを短い時間データにエポック化し，それぞれのデータから２電極間の関係性を算出し，全電極間の関係性を示すネットワークマトリクスを作成する。マトリクスから定量化される NF の経時データを算出することで，脳内てんかんネットワークダイナミクスの情報を得る。具体的には，薬剤抵抗性てんかん患者を対象に SEEG を施行し，得られた発作時の頭蓋内脳波データを解析対象として，位相同期度: PSI を計算することで２電極間の関係性を算出する。この計算を 5000 ペア程度繰り返すことで，全電極間のネットワーク内流動性(NF)を評価する。

3. 結果，考察

現時点で PSI を計算するアルゴリズムが完成しており，SEEG を行ったサンプルにおいて，アルゴリズムの検証を開始している。図１はその一例であり，記録開始から 700 msec までの PSI を各電極ペアで調べたものである。それぞれの周波数帯域で経時的な変化を算出し，PSI の強さはパワー値としてカラーマップで表示した。全体的に Alpha 帯域での PSI が高いことがわかるが，その他の周波数帯域では電極ペアによって PSI の高いペアと低いペアが存在することがわかった。現時点では予備解析としてアルゴリズムが問題なく使用できるかを調べた段階であるが，今後電極ペア同士の関係性の時系列変化を算出する段階へ移行する予定である。神経伝播のネットワーク解析には，グラフ理論がよく用いられるが，この手法を用いて得られるコネクトームマップは時間の概念を含んでいないため，脳内ネットワーク可視化において重要なミリ秒レベルの情報が欠落する。そのためミリ秒単位で変化する発作時のてんかんネットワークを扱うことは難しい。この課題を克服するためには，時間情報を活かした状態でネットワーク内の神経伝播ダイナミクスを定量化する必要がある。今後の追加解析を通じて原著論文の発表を目指している。

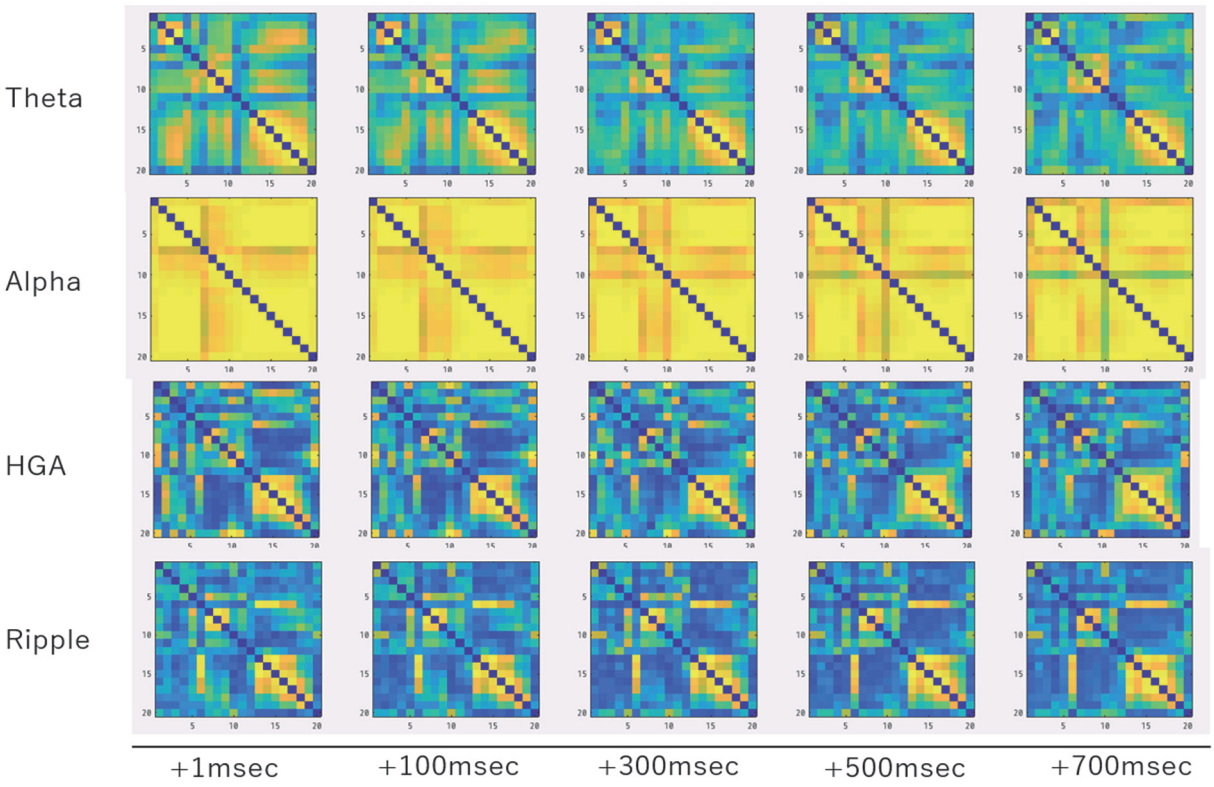


図 1 ：PSI 解析（予備的検討）の一例

【計画共同研究報告（動物資源共同利用研究センター）】

計画共同研究報告
（動物資源共同利用研究センター）

〔　目　　次　〕

1. 新規 TRP チャネル病の発症メカニズム解明……210
2. 多能性幹細胞の未分化状態もしくはエピゲノムの安定性を可視化できる遺伝子可変ラットの作製……210
3. CRISPR/Cas9 system による受容体特異的 Cre ノックインマウスの作製と in vivo imaging による虚血再灌流障害機構の解明……211
4. 神経傷害に対する PACAP の神経細胞死抑制機構の解析 ……211
5. 心臓特異的遅延整流性カリウムチャネル発現マウスを用いた心臓代償機構の解析……212
6. RNA 顆粒の動的性質と学習・記憶との関連の解析……212
7. 哺乳類の生殖機能を制御する中枢メカニズム解明のための遺伝子改変ラットの作製とその解析……213
8. TRPC6 KYD 変異体マウスの作製……213
9. 脳の左右を決定する新規遺伝子変異……214
10. 神経細胞の個性がつくる機能的回路形成メカニズム……214
11. 選択的シナプス形成の制御メカニズム……215
12. 脳の構造形成，機能化に関わる遺伝子の解析……215
13. 生理活性脂質が TRPV に与える影響の評価……216
14. 温度感受性 TRP チャネル活性化における細胞膜脂質の役割……216
15. Piezo チャネル活性化による運動効果獲得増強法および加齢性筋肉減弱症（サルコペニア）に対する新規治療戦略確立に向けた基礎的研究……217
16. 低温 Ca^{2+}シグナルを担う分子メカニズムの研究 ……218
17. 嗅覚刺激による脳-末梢臓器間ネットワークの機能形態解析……218
18. GLP-1 の<求心性迷走神経→視床下部→遠心性交感神経>軸を介した代謝調節機構の解明 ……219
19. セピアプテリン還元酵素遺伝子改変マウスを用いたジストニア・パーキンソニズム発症機構の解析……219
20. 線条体障害からの再生過程における大脳基底核の直接路および間接路の機能……220
21. ドーパミン受容体及び NMDA 受容体改変マウスを用いた運動制御と記憶学習機能の解析 ……220
22. 不随意運動モデルマウスの行動解析および電気生理学解析……221
23. 新規アルツハイマー病モデルマウス表現型の網羅的解析……222

1. 新規 TRP チャネル病の発症メカニズム解明

鈴木喜郎（岩手医科大学生理学講座統合生理学分野）
平林真澄，三竇　誠（生理学研究所）

胎盤における母子間 Ca^{2+} 輸送は，脳や心臓などの胎児組織の正常な発達にとって必須であるとともに，胎児の骨形成のために重要な役割を果たしている。我々は Ca^{2+} 選択性チャネル TRPV6 遺伝子変異によって母子間 Ca^{2+} 輸送低下による新生児期副甲状腺機能亢進症を発症することを報告した。本研究の目的は，本疾患の原因変異をゲノム編集によってマウスに導入し，疾患の発症メカニズムを個体レベルで明らかにすることである。

本年度は，細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を起こす G450E 変異体と細胞膜に移行できない R424Q 変異体を掛け合わせ，ヘテロ接合体の仔において新生児副甲状腺機能亢進症を発症するかどうかを解析した。通常のカルシウム条件で飼育した結果，個体数がまだ少ないものの，血中 PTH 値はいずれの仔においても顕著な上昇は示さなかった。興味深いことに，２つの変異が重複することによってむしろ PTH 値は減少した。

今後は引き続き解析を続けるとともに，別のタイプの変異（アンキリンリピートドメイン変異）についても作成・解析を行う。さらに母体ビタミンＤ欠乏が疾患の発症にどの程度関与しているのかを明らかにし，疾患発症には遺伝子変異だけでなく環境因子も重要であることを証明したい。

2. 多能性幹細胞の未分化状態もしくはエピゲノムの安定性を可視化できる遺伝子可変ラットの作製

小林俊寛，岩月研祐（東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター 再生発生学分野）
及川真実（東京薬科大学 生命科学部 再生医科学研究室）

多能性幹細胞は無限の増殖能とあらゆる細胞に分化できる多分化能を兼ね備えた細胞で，遺伝子改変動物作製および，発生・再生研究のツールとして使われている。本計画共同研究では，多能性幹細胞の未分化状態およびエピゲノムの安定性を培養中に可視化・定量するため，*Dazl* と *Snrpn* という遺伝子に着目し，それぞれの遺伝子座に蛍光遺伝子をノックインした新規レポーターラットを作製することを目的とした。

まず未分化細胞および始原生殖細胞で発現が認められる *Dazl* では，その遺伝子座に緑色蛍光遺伝子である *Venus* を挿入するため，エレクトロポレーション法による CRISPR/Cas9 システムの導入と，ターゲティング配列を含むアデノ随伴ウイルスベクターの感染を介し，ラット受精卵へ直接ノックインを行った。改変受精卵は仮親子宮に移植し，出産後に遺伝子型を判定した。その結果 1 匹，目的 *Dazl* 遺伝子座に正確に *Venus* が挿入されたラットを得ることができた。

もう一方の遺伝子である *Snrpn* はエピゲノム，特にゲノムインプリンティングの安定性を評価するために用いる。将来的に *Dazl* との 2 重レポーターラットを作製することを想定し，赤色蛍光遺伝子である *mScarlet* を挿入した。未分化細胞における *Snrpn* の発現を評価するため，ラット ES 細胞への遺伝子ターゲティング法を用いノックイン ES 細胞を作製した。蛍光顕微鏡およびフローサイトメーターを用いて観察・解析したところ *mScarlet* の十分な発現が確認できた。そこで次にこの ES 細胞を胚盤胞注入し，キメラ形成および germline transmission により目的個体を得た。こちらも ES 細胞の germline transmission が確認され，目的の改変ラットを得ることができた。

よって当初の計画通り，2 種類の新規レポーターラットの F0 世代を得ることに成功した。今後これらを野生型ラットと交配し次世代個体における解析を進める予定である。

3. CRISPR/Cas9 system による受容体特異的 Cre ノックインマウスの作製と in vivo imaging による虚血再灌流障害機構の解明

城　愛理（順天堂大学 大学院医学研究科）

申請者は脳虚血再灌流障害における血管細胞応答の時空間ダイナミクスを解明するため，ペリサイト特異的にカルシウムセンサーの発現が誘導されるマウスを作製することを目的とした。2022 年度は，2021 年度に作製したペリサイト特異的に Cre を恒常的に発現するノックインマウスを GCaMP-KI マウスと掛け合わせ，ペリサイトで GCaMP を発現するマウスを作製した。免疫染色により，ペリサイトにおける GCaMP の発現を確認し，更にペリサイトを単離して GCaMP のカルシウム応答性を ex vivo で評価した。

1) 細胞特異的 GCaMP 発現マウスの樹立

2021 年度に，CRISPR/Cas9 システムによりペリサイト特異的に Cre を恒常的に発現するノックインマウスを複数ライン作製した。2022 年度は，このうち 2 ラインのマウスを CAG-loxP-stop-loxP-GCaMP-F2A-mCherry 配列を持つマウス（RIKEN BRC より入手）と交配させ，1 ラインで，ペリサイトに GCaMP が発現することを免疫染色で確認した。更にこのマウスからペリサイトを単離し，顕微鏡下で刺激して蛍光強度の変化を観察することで，GCaMP のカルシウム応答性を ex vivo で確認した。今後は，まずこのマウスでペリサイトのカルシウム応答を評価できることを確認した上で，CRISPR/Cas9 システムによりペリサイト特異的に Cre-ERT2 を発現するマウスを作製し，誘導型の GCaMP ノックインマウスを用いたカルシウムイメージングを行う予定である。

2) 虚血再灌流時のカルシウムイメージングの予備検討

2021 年度に，生体カルシウムイメージングのための予備検討として，2 次元レーザードップラー血流計を用いて虚血処置後の虚血に陥る範囲，および再開通処置によって血流が戻る範囲を特定し，イメージングの際に頭蓋骨を削る範囲を決めた。更に，頭蓋骨に窓を開けてヘッドプレートをつけた状態で虚血および再開通処置を行い，窓内に虚血・再灌流範囲が入ることを確認した。2022 年度は，1)で得られたマウスを用いて定常状態での in vivo カルシウムイメージングを行い，観察に十分な蛍光量が得られること，また観察時間内に一部の細胞で輝度変化が見られることを確認した。今後は，このマウスを用いて虚血再灌流モデルにおける生体カルシウムイメージングを行う予定である。

4. 神経傷害に対する PACAP の神経細胞死抑制機構の解析

平林敬浩（湘南医療大学 臨床医学研究所）
塩田清二（湘南医療大学 薬学部）
山下道生（星薬科大学 薬学部）
平林真澄（生理学研究所 遺伝子改変動物作製室）

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, PACAP）は主に神経組織で発現しており，生体内では下垂体ホルモン分泌のほか，アドレナリン分泌，インシュリン分泌，涙液・汗・唾液分泌促進作用などの多様な機能を担っている。近年，我々は脳虚血・脳梗塞モデル，脊髄損傷モデルといった神経傷害モデル動物を用いた研究結果から，PACAP はその 3 種の受容体（PAC1-R, VPAC1-R, VPAC2-R）を介して神経細胞死抑制作用を有することを明らかにしてきた。本研究では PACAP の神経細胞死抑制作用における分子機構を明らかにすることを目的として培養細胞，および PACAP 受容体遺伝子改変マウスを用いた解析を行った。

まず，*in vitro* で動物個体での虚血による神経細胞死を再現できるニューロン・グリア共培養系を用いた予備実験を行った。マウス脳より単離したニューロン・グリア

共培養細胞に対し，低酸素低グルコース負荷（Oxygen Glucose. Deprivation : OGD）処置を行ったところ，生細胞数は大きく減少した。この OGD 処置の際に PACAP を添加すると生細胞数は回復したが，PACAP と共に PACAP 受容体の 1 種である PAC1-R のアンタゴニストを添加した際には，PACAP による細胞死の抑制は認められなくなった。また, 野生型マウス, および PAC1-R 遺伝子ノックアウト（PAC1-R KO）マウスから単離した神経前駆細胞に対して同様の処置を行った。その結果，野生型マウス由来神経前駆細胞では PACAP 添加により OGD 処置による細胞死が抑制されたが, PAC1-R KO マウス由来神経前駆細胞では PACAP を添加しても OGD 処置による細胞死は抑制できなかった。これらの結果から，PACAP の神経細胞死抑制作用には PAC1-R が関与していることが明らかになった。

5. 心臓特異的遅延整流性カリウムチャネル発現マウスを用いた心臓代償機構の解析

黒川洵子, 須藤優香, 坂本多穂（静岡県立大学 薬学部 生体情報分子解析学分野）
三宝　誠, 平林真澄（生理学研究所 遺伝子改変動物作製室）
西村明幸, 西田基宏（生理学研究所 循環器シグナル研究部門）

緩徐脱分極型遅延整流性カリウムチャネル（I_{Ks} チャネル）は，中動物以上のサイズの大きい哺乳類の心室筋活動電位の再分極相に寄与し, 細胞内 Ca^{2+} の上昇により活性化する。本研究では，I_{Ks} チャネルの心臓における病態生理学的な役割を調べるために，心臓特異的に発現した遺伝子改変マウスを作製して，敗血症による病的な細胞内 Ca^{2+} 上昇に対する代償的反応を調べた。マウスは心筋に I_{Ks} チャネルを持たないので，ヒト I_{Ks} チャネルを心臓特異的発現させた。

令和 4 年度には，マウス心臓特異的発現 αMHC プロモーターの下流に，心筋 I_{Ks} チャネルを構成するヒト KCNQ1 とヒト KCNE1 を連結した合成遺伝子を組み込んだプラスミドを作製した。敗血症病態と関連するシグナル（Ca 感受性・交感神経調節）に重要な部位を欠落させた KCNQ1 変異を有するクローン 2 種および野生型の計 3 系統のコンストラクトを作製した。生理学研究所にて遺伝子導入を開始しており，１つの変異クローンについては 48 匹の産仔を得, ジェノタイピングを開始した。

また，敗血症マウスモデルの実験条件を最適化する目的で，野生型マウスを用いた予備試験を行い，糞便懸濁液（CS）腹腔内注射による手法を選択し，CS の作製法・保存法および飼育条件を最適化した。

令和 5 年度は，残りの 2 系統について受精卵への遺伝子導入実験を行うと共に，先の変異体 IKs チャネル変異マウスの機能を解析し，分子機構を理解することを目指す。

6. RNA 顆粒の動的性質と学習・記憶との関連の解析

椎名伸之（基礎生物学研究所）

真核生物の翻訳開始因子 eIF3a は，C 末端に天然変性領域（intrinsically disordered region, IDR）を持ち，この IDR は生物の複雑化に伴って伸長している。脊椎動物特有の IDR を vertebrate IDR (vIDR) と呼び，その中でも特徴的なリピート配列を RP と名付けた。これまでの研究から，これらの領域がマウス神経細胞の RNA 顆粒内において神経活動依存的な eIF3a のダイナミクス変換に必要であることが示されている。この変換は，vIDR や RP が RNA 顆粒における局所的翻訳制御に重要な役割を担い，さらには学習・記憶にも関与する可能性を示唆している。

そこで, 本研究では eIF3a の vIDR や RP を欠損したマウス（ΔvIDR, ΔRP マウス）を CRISPR/Cas9 法を用いて作製することを目的とした。具体的には，C57BL/6J マウスを用いて人工授精を行い，得られた受精卵に対して Cas9 タンパク質，gRNA，及び相同組換え用 ssODN をマイクロインジェクション法で導入した。マイクロイン

ジェクション後，受精卵を仮親の子宮に移植し，何度かの試行を重ねた結果，現在，ΔvIDR, ΔRP マウスともに妊娠した仮親を得ている。今後，得られた産仔の遺伝子型を確認し，目的のマウスが得られた場合は，学習・記憶行動解析および海馬急性スライスにおける翻訳活性制御の解析を進める予定である。

7. 哺乳類の生殖機能を制御する中枢メカニズム解明のための遺伝子改変ラットの作製とその解析

束村博子，上野山賀久，井上直子，長江麻佑子，山田晃熙，滝沢麻里奈（名古屋大学大学院生命農学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

本研究では，神経内分泌学研究に重要な実験動物モデルとして遺伝子改変ラットを作製し，生殖中枢キスペプチンニューロンやそれに関連するニューロンの機能解析を通じて，キスペプチンニューロンを中心とした哺乳類の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) 分泌を制御する神経ペプチドであり，卵胞発育と排卵という生殖のふたつの重要なイベントを制御する。これまでに，本研究で作出した遺伝子改変ラットを用いて，視床下部の弓状核に位置するキスペプチンニューロン群が卵胞発育を制御し，前腹側室周囲核に位置するキスペプチンニューロン群が排卵を制御することを明らかにしてきた。

本年度は，本研究で作製した *Kiss1*-Cre ラットと，Cre リコンビナーゼ依存的に赤色蛍光を発現するレポーターラット (NBRP-Rat より供与) を交配して得たキスペプチンニューロン常時可視化ラットを用いて，出生直後から成熟期までのキスペプチンニューロンの発達を継時的に解析した。その結果を原著論文にまとめ，現在投稿中である。

また，キスペプチンニューロン常時可視化ラットより，弓状核および前腹側室周囲核の細胞を単離し，蛍光活性化セルソーティングによる赤色蛍光陽性のキスペプチンニューロンを分取し，RNA-seq により弓状核および前腹側室周囲核キスペプチンニューロンに発現する遺伝子の解析を進めた。

また，本研究で作製した κ オピオイド受容体遺伝子 (*Oprk1*)-Cre ラットを評価するため，本研究ですでに作製した *Kiss1*-floxed ラットと交配して得られた *Oprk1*-Cre; *Kiss1*-floxed ラットの生殖機能を解析した。その結果を原著論文にまとめ現在投稿中である。

さらに，2 群のキスペプチンニューロンの生理的役割を明らかにする目的で，小胞グルタミン酸トランスポーターVGLUT2，エストロジェン受容体 α を標的とし，各遺伝子の前後に loxP 配列を挿入した floxed ラットの作製に進めた。

8. TRPC6 KYD 変異体マウスの作製

西山和宏（九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野）

［目的］

我々は, 細胞膜電位に依存しない受容体作動性／メカノ作動性の Ca^{2+} 流入を担うチャネル群の心臓における役割解析を進める中で，Zn^{2+} と Fe^{2+} 透過性を有する transient receptor potential canonical (TRPC) 6 チャネルが β アドレナリン受容体刺激による心臓の収縮力（陽性変力作用）を増加することをマウスで見出した。さらに，TRPC6 の亜鉛透過性が減少する変異体(KYD 変異体)も見出している。そこで, 本共同研究を通じて KYD 変異体マウスを作製し，解析を行うことにより，心臓の恒常性における TRPC6 の亜鉛流入の役割を生体レベルで明らかにする。

［方法］

本年度は，Crisper/Cas9 システムを応用し TRPC6 KYD 変異体マウスの作製を行った。さらに作成した TRPC6

KYD 変異体と野生型マウスより成熟心筋細胞を単離し，イソプロテレノールに対する反応性を比較した。また，心不全モデルマウスに TRPC6 活性化作用をもつ小分子化合物 PPZ2 を慢性投与した。

[結果]

平林研究室との共同研究により，C57BL/6J と 129sv をバックグラウンドとした TRPC6 KYD マウスを作製することができた。TRPC6 KYD 変異体と野生型マウスより成熟心筋細胞を単離し，イソプロテレノールを投与したところ，TRPC6 KYD 変異体では野生型と比較して，イソプロテレノールによる cAMP の産生が減少していることが明らかになった。心不全モデルマウスに PPZ2 を慢性投与したところ，PPZ2 投与群では，非投与群と比較して心臓の収縮機能のみならず，組織リモデリング（心肥大や間質の線維化）も強く改善されることが示された。

[結論]

本年度の成果から，心室筋細胞の TRPC6 チャネル活性化が，Zn2+流入を介して心臓の収縮力を増強させることが明らかになった。今後，TRPC6 チャネルの Zn2+透過性のみを強める化合物を探索・同定することで，画期的な強心薬の開発につながることが期待される。

9. 脳の左右を決定する新規遺伝子変異

重本隆一（IST Austria）

我々は，マウスの海馬において入力側依存的な左右非対称性が存在することを発見し，さらに脳の両側が右のフェノタイプ，逆に両側が左のフェノタイプを示す変異マウスを発見した。一昨年度までの基生研共同利用研究によってこの左右のフェノタイプを決めると思われる遺伝子変異を同定したので，この変異を導入したノックインマウスを作成し，予想通りの右および左のフェノタイプを示すことを証明することを試みた。得られた産仔の遺伝子解析で期待された変異を持つ個体が見つかったものの，周辺に off target とみられる InDel 変異が存在するものばかりで，目的変異のみの個体は得られなかった。そこで昨年度は，conventional な方法に戻って目的遺伝子変異のみが挿入されたマウスの作成を試み野生型バックグランドのマウスを得ることには成功した。脳の両側が右のフェノタイプを示す iv 変異のマウスがこの変異によって左のフェノタイプに変換されることを示すには iv 変異も導入する必要があるが，これらはゲノム上で近接しているために交配によって目的のマウスを得ることが困難である。そこで，今後は iv 変異マウスに再び同じ方法で新たな変異を導入する予定である。これら２種類の変異マウスを使って，左右入力 CA3-CA1 シナプスのサイズを測定することによって，フェノタイプを確認する。

10. 神経細胞の個性がつくる機能的回路形成メカニズム

八木　健，足澤悦子，金子涼輔（大阪大学・大学院生命機能研究科）
平林真澄（自然科学研究機構・生理学研究所）

マウスにおいて 58 種類の遺伝子からなる細胞接着分子クラスター型プロトカドヘリン（Pcdh）は個々の神経細胞で複数種類のアイソフォームを確率的に発現することで神経細胞の個性化に働くと考えられている。本研究では，Pcdh の多様性を遺伝子操作により改変した様々なマウスを作製，解析することにより，機能的神経回路の形成における神経細胞の個性化と神経回路形成における役割を明らかにすることを目的とする。

興味深いことに 58 種類の Pcdh のうち，PcdhγC3, γC4, γC5 以外の 53 種のアイソフォームを欠損させたマウスは，誕生後に死亡することが明らかになった（Kobayashi et al iScience 2023）。しかし，Pcdhγ のみ存在する Pcdhα と Pcdhβ を欠損させたマウスは生存する。よって，γC3，γC4，γC5 以外の Pcdhγ アイソフォームがマウス生存に必須である

ことが明らかとなった。本年度は，この Pcdhγ のどの領域の機能がマウス生存に必要なのかを明らかにするために，Pcdhα/Pcdhβ 欠損マウスから CRISPR/Cas9 を用いて種々の Pcdhγ 領域を欠損させた変異マウスの作製を行った。CRISPR/Cas9 を Pcdhα/Pcdhβ ヘテロ欠損卵に注入し，遺伝子変異マウスを得た後に，PCR 法を用いて，Pcdhα/Pcdhβ 欠損アレルに対して Pcdhγ 領域の欠損がおこっている変異マウスを選別し，γC3，γC4，γC5 を含む Pcdhγ が 13，8，4 種類残っている変異マウスの作製に成功した。現在これらの変異ヘテロマウス同士を掛け合わせることにより，変異ホモマウスを作製し，マウス生存に必要な γC3, γC4, γC5 を含む Pcdhγ 数を明らかにしたいと考えている。

本研究での組換え動物の作製にあたり，実験動物の取り扱い等は生理学研究所および大阪大学の動物実験指針に従い，安楽死法（頸椎脱臼）や麻酔法（イソフルラン吸入）を適切に用いて苦痛の軽減に努めている。

11. 選択的シナプス形成の制御メカニズム

金子涼輔（大阪大学大学院生命機能研究科）
平林真澄（生理学研究所）

ニューロンは適切な相手を選択してシナプス形成する。例えば，小脳プルキンエ細胞は 1 本のみの登上線維と結合するが，シナプス結合パートナーの選択メカニズムには不明な点が多い。

本研究では申請者らの知見「個々のニューロンごとに異なるクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）の発現パターン」（Kaneko et al, J Biol Chem, 2006; Hirano, Kaneko et al, Front Mol Neurosci, 2012）を足がかりとして，選択的シナプス形成の制御メカニズムを解明する。

具体的には，マウス小脳の登上線維-プルキンエ細胞シナプスをモデルとし，仮説「同じ cPcdh を発現するニューロン同士が結合する」を検証する。そのため，以下２課題を行う。[1] cPcdh 遺伝子改変マウスの作製 : 58 種類の cPcdh のうち S-type cPcdh に分類される 53 種類が選択的シナプス形成への関与が想定される。本研究では計３段階のゲノム編集法を用いて，この S-type cPcdh の遺伝子数を減少させる。その後，本マウスの登上線維-プルキンエ細胞シナプスの結合状態を調べる。[2] cPcdh 発現パターンと選択的シナプス形成との関係解明: 個々の S-type cPcdh は成熟した小脳プルキンエ細胞において単一細胞レベルで確率論的に発現する。しかし，登上線維での発現様式やシナプス形成期の発現様式は不明である。さらに，シナプス結合している登上線維-プルキンエ細胞での cPcdh 発現様式の解析はこれら神経の細胞体が 2 mm 以上離れて存在するため解析困難である。そこで，単一 cPcdh 発現を蛍光タンパク質にて可視化できるマウスを作製し，これら困難を克服する。

今年度は以下の如く進展した。[1] cPcdh 遺伝子改変マウスの作製 : 53 種類の S-type cPcdh の遺伝子数を 1 種類に減少させたマウス作製を行った。３段階のうちの１段階目に成功した。現時点での S-type cPcdh の遺伝子数は 40 種類である。[2] cPcdh 発現パターンと選択的シナプス形成との関係解明: 53 種類の S-type cPcdh のうち, Pcdhβ3 発現細胞を赤色蛍光タンパク質にて標識可能なマウスが得られた。今後は赤色蛍光発現パターンと内在性 Pcdhβ3 の発現パターンを比較する。

12. 脳の構造形成，機能化に関わる遺伝子の解析

平山晃斉，梅嶋宏樹，冨田江一（徳島大学）
三宝　誠，平林真澄（生理学研究所）

DNA に結合するタンパク質で高次染色体構造形成に関与する CCCTC（CTCF）結合因子の神経系における役割の解析を進めてきた。免疫組織科学的解析から CTCF は，成体マウスの小脳プルキンエ細胞（PC）で強い発現を示すことがわかった。PC で発現する Grid2-Cre 依存的に CTCF を欠損したマウス（CTCF-cKO を作製し，運動機能や PC の

形状に与える影響を解析した。フットプリントによる歩行解析やロータロッドテストによる協調運動の解析などから CTCF-cKO マウスは運動障害を示すことがわかった。PC の樹状突起の形状を詳細に調べた結果，同じ PC から伸びた樹状突起同士が交差する自己回避の異常が見られることがわかった。同様の異常はクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）の欠損マウスでも報告されている。CTCF-cKO の PC で cPcdh の発現を解析した結果，顕著に低下していることがわかった。また，PC 樹状突起上の登上線維終末の分布を調べた結果，PC の細胞体側にシフトしていることが control 群との比較から明らかとなった。生後 3 週間目と比較して，生後 60 日目には PC 樹状突起の分岐部位が著しく膨らんだ形状が認められた。電子顕微鏡による観察から，PC 樹状突起の膨張部位には扁平な小胞体が層状に集積した Giant Lamellar Body (GLB) が形成されていることがわかった。GLB の経時変化を観察した結果，徐々に巨大化していくことが明らかとなった。一方，細胞核周辺の小胞体は減少していき，最終的に PC が小脳から消失することがわかった。細胞死が起きる時期を調べたところ，生後 90 日目から 120 日目にかけて PC が消失していくことがわかった。細胞死の種類を同定するため，アポトーシスのマーカーである活性化型 caspase-3 に対する抗体で染色した結果，陰性であることがわかった。また，電子顕微鏡による観察の結果，細胞膜は破壊されている細胞でも細胞核の形状が保たれていることがわかった。以上の結果は，GLB を伴った細胞死がアポトーシスでは無いことを示す。現在，細胞死の種類としてアポトーシス以外の分子メカニズムについて解析を進めている。

13. 生理活性脂質が TRPV に与える影響の評価

村田幸久（東京大学大学院農学生命科学研究科）

我々はこれまでに，5,6-DiHETE や 15-HEDE, 12-HETE, 15-HETrE といった脂質代謝産物が，組織血管の平滑筋や内皮細胞の活性を変化させること，これによって花粉症などのアレルギー病態を悪化させることを発見してきた。本研究ではこの機構を明らかにする目的で，脂質代謝産物が非選択的カチオンチャネルである TRPV の活性に与える影響を評価した。

富永研究室にて，TRPV1 や TRPV 4 を強制発現させた HEK293 細胞を用いて，蛍光指示薬である Fura-2 を用いて，細胞内カルシウム濃度を測定した。TRPV1 強制発現細胞に対し，TRPV4 アゴニスト活性を持つ GSK101 を投与すると，細胞内カルシウム濃度の上昇が確認された。これに対し，5,6-DiHETE を前処置すると，GSK101 による細胞内カルシウム濃度の上昇が抑制されることが確認された。また TRPV1 強制発現細胞に，TRPV1 アゴニスト活性をもつ，カプサイシンを投与すると細胞内カルシウム濃度が上昇した。これに対し，5,6-DiHETE を投与すると，このカルシウム濃度上昇が抑制される傾向がみられた。

単離血管を利用した実験から，15-HETrE の投与が，マウスの大動脈を弛緩させることが分かった。この反応は血管内皮に非依存的に起こるものであった。さらに，この脂質は PGE2 受容体である EP や PGD2 受容体である DP を刺激する働きがあることも発見した。カルシウム濃度測定を行ったところ，15-HETrE は TRPV1 や TRPV4 の活性に影響を及ぼさないことが分かった。

今後これらの結果の再現性を確認するとともに，in vivo での生理反応の探索を進めていく。

14. 温度感受性 TRP チャネル活性化における細胞膜脂質の役割

内田邦敏（静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科）
富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

機械刺激感受性イオンチャネルは感覚神経や膀胱，血管内皮，筋肉などに発現し，触感覚，膀胱伸展などを受容することが知られている。一方で機械刺激感受性イオンチャネルは脂肪組織にも発現が認められるものの，そ

の生理的役割には不明な点も多い。本研究の目的は，脂肪組織に発現する機械刺激感受性イオンチャネルのエネルギー代謝調節への関与を明らかにすることである。

まず，機械刺激感受性イオンチャネルの１つである Piezo1 の培養褐色脂肪細胞における発現の検討を行った。その結果，Piezo1 は未分化の褐色脂肪細胞に強く発現しており，その発現は分化の過程で低下した。未分化の細胞においては，Piezo1 の活性化は Pparγ 発現を低下させた。また, Piezo1 の活性化による分化抑制はカルシニューリン阻害剤，Piezo1 のノックダウンによって回復した。Piezo1 の活性化はカルシニューリン経路を介して Pparγ などの脂肪細胞の分化に関わる遺伝子発現を低下させることで分化を抑制することが示唆された。

Piezo1 の発現はマウス褐色脂肪組織においても認められ，免疫組織染色による Piezo1 タンパク質のシグナルは脂肪滴を有する成熟褐色脂肪細胞にも確認された。この Piezo1 の褐色脂肪組織における発現は，寒冷曝露によって有意に上昇した。その一方で，分化した培養褐色脂肪細胞においてはアドレナリンβ受容体作動薬を処置しても Piezo1 の発現は変化しなかった。寒冷曝露による Piezo1 発現の上昇は，アドレナリンβ受容体活性化を介さないと考えられた。Piezo1 の発現は，寒冷曝露によって熱産生能を有し，白色脂肪組織内に誘導されるベージュ細胞においても認められた。Piezo1 は未分化の褐色脂肪細胞のみならず成熟した褐色脂肪細胞においても熱産生など何らかの役割を担っている可能性が示唆される。

15. Piezo チャネル活性化による運動効果獲得増強法および加齢性筋肉減弱症（サルコペニア）に対する新規治療戦略確立に向けた基礎的研究

後藤勝正（豊橋創造大学大学院健康科学研究科）
富永真琴（生理学研究所）
横山真吾，大橋和也，萩原ありさ（豊橋創造大学保健医療学部）

骨格筋は機械的刺激を受容し，機能的かつ形態的に適応を示すことが知られている。しかし，骨格筋の量と機能の制御における機械的刺激受容機構の本態はもちろん，その生理的役割は不明である。そこで本研究では，骨格筋細胞における機械的刺激受容チャネルとしての Piezo チャネルおよび筋固有受容器感覚に着目して, 運動刺激に対する骨格筋の適応における機械的刺激受容機構を解明し，骨格筋への機械的刺激および Piezo チャネル活性化による運動効果獲得増強法および加齢性筋肉減弱症（サルコペニア）に対する新規治療戦略確立ための知的基盤を形成することを目的として行った。

骨格筋組織幹細胞であるマウスより単離した筋衛星細胞およびマウス筋芽細胞由来細胞核 C2C12 を用いた細胞内 Ca^{2+} イメージング分析により，筋細胞の分化（筋芽細胞から筋管細胞への分化）ならびに筋管細胞の成長に Piezo1 が関与していることが示された。また，筋細胞（筋芽細胞ならびに筋管細胞）に伸展刺激を与えると Piezo1 を介して細胞内に Ca^{2+} が流入すること, Piezo1 のノックダウンおよび阻害剤でチャネル機能を抑制することで細胞内への Ca^{2+} 流入が抑制されることから，Piezo1 は筋細胞の機械的刺激受容チャネルであることが示された。現在，Piezo1 活性化剤ならびに阻害剤を用いてチャネル機能を修飾し，骨格筋細胞の収縮・代謝特性に及ぼす長期的な影響について継続して追究中である。さらに，マウス骨格筋を用いて，機能的かつ形態的に適応変化した際の Piezo1 機能についても解析を進めている。

また，骨格筋への機械的刺激の情報は，求心性感覚神経を経て中枢神経系に伝達されていると考えられる。こうした骨格筋由来求心性感覚情報が骨格筋細胞の可塑性発現に関与している可能性がある。そこで，骨格筋由来求心性感覚神経遮断による骨格筋収縮・代謝特性の適応について，マウス骨格筋由来の求心性感覚神経を遮断モデルの作成を試みた。まず，外科的手法により脊髄後根神経節にアプローチし，神経細胞トレーサーなどを含む薬液を注入する技術を確立することができた。現在，この求心性感覚神経遮断モデルを用いて，骨格筋の可塑性変化を追究すべく準備を進めている。

16. 低温 Ca^{2+}シグナルを担う分子メカニズムの研究

金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所・生命農学研究科）

概日時計は約 24 時間の生理リズムを駆動する生物時計であり, Rat-1 繊維芽細胞などの不死化した培養細胞株においても存在する。共同利用研究者は，概日時計の温度補償性という温度特性の解析を進めている。温度補償性とは，概日時計の周期が，さまざまな環境温度下でも約 24 時間に保たれる性質のことである。細胞を用いた薬理学的なスクリーニングを行ったところ，Na^{+}/Ca^{2+}交換輸送体（NCX）による低温性 Ca^{2+} シグナルが概日時計の温度補償性に重要な役割を示すことを見出した。すなわち，概日性の転写リズムの温度補償性は，低温で活性化する Ca^{2+}-CaMKII シグナルによって, 転写因子 CLOCK の活性化を介して振動速度が補償されることが分かった。そこで次に，生理学研究所の富永 真琴教授との共同研究により, 低温性 Ca^{2+} シグナルを媒介する分子メカニズムの解析を進めている。NCX は Ca^{2+} の流入および流出を媒介し, 静止膜電位の脱分極に応じて Ca^{2+} の流入を促進する。そこで，培養細胞を用いた電気生理学的な解析を進めたところ，いくつかの細胞株において，温度低下に応じて静止膜電位が脱分極側へと変化することが観察された。今後，この脱分極応答を担うイオンや分子種の探索を行う予定である。

17. 嗅覚刺激による脳-末梢臓器間ネットワークの機能形態解析

塩田清二（湘南医療大学 薬学部）
平林敬浩，柴藤淳子（湘南医療大学 臨床医学研究所）
竹ノ谷文子（星薬科大学 薬学部）
平子哲史（人間総合科学大学 人間科学部）
箕越靖彦（生理学研究所 生殖・内分泌系発達機構研究部門）

精油の芳香成分は鎮静作用や抗ストレス作用などの多様な薬理的作用を持つことが知られており，近年ではアロマセラピーとして広く用いられている。また，これら芳香成分の作用として，ラベンダー精油芳香成分による摂食量・体重の増加やグレープフルーツ精油芳香成分による摂食量・体重の減少など摂食調節への関与も報告されている。嗅覚刺激は，嗅球から大脳皮質や海馬などに伝達された後，視床下部に伝えられ最終的に摂食調節およびエネルギー代謝に関与しているがその詳細な経路については不明な点が多い。そこで本研究ではラットを用いて，精油による嗅覚刺激に対する視床下部摂食ニューロンの機能形態学的解析を行った。

まず，アロマセラピーで頻用されている様々な精油の嗅覚刺激による脳の応答部位について機能的核磁気共鳴法 (fMRI) を用いて解析したところ，ジンジャー精油およびペパーミント精油の嗅覚刺激により外側視床下部（Lateral hypothalamus, LH）と腹内側核（Ventromedial hypothalamus, VMH）領域において強い活動応答が見られた。そこで，ニューロン活動の指標となる c-Fos の発現を視床下部で解析したところ，ジンジャー精油およびペパーミント精油のいずれの嗅覚刺激も LH 領域において強い発現が認められた。視床下部 LH 領域は摂食促進系ニューロンである Melanin-concentrating hormone (MCH) ニューロン，およびオレキシンニューロンが存在することから，これらの c-Fos 発現ニューロンの同定を抗オレキシン抗体，抗 MCH 抗体を用いた免疫二重染色により解析したところ，ジンジャー精油による嗅覚刺激では c-Fos と MCH の共発現が観察されたが，オレキシンとの共発現は観察されなかった。また，ジンジャー精油による嗅覚刺激では MCH, オレキシン共に c-Fos との共発現は認められなかった。

以上の結果から，ジンジャー精油による嗅覚刺激は視床下部 LH 領域に存在する MCH ニューロンを活性化し，摂食を亢進する可能性が示唆された。

18. GLP-1 の <求心性迷走神経→視床下部→遠心性交感神経> 軸を介した代謝調節機構の解明

岩﨑有作（京都府立大学大学院 生命環境科学研究科）
近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦（自然科学研究機構 生理学研究所）

食事は，生命活動に必要なエネルギーを供給するだけでなく，満腹感を誘導し，代謝を亢進させ，体熱産生を誘導し，そして幸福感のような精神機能にも影響を与える。しかし，このような食後生理作用の駆動原理は未だ完全には理解されていない。食後に分泌される消化管ホルモンの１つに glucagon-like peptide-1 (GLP-1) がある。GLP-1 は生体内で不安定なホルモンである故，その生理機能には不明な点が多かった。我々は，ゼロカロリーの希少糖アルロースが腸 GLP-1 を強く分泌誘導させる因子であることを発見し，そして，この腸 GLP-1 分泌促進が満腹感を誘導し，糖代謝を向上させ，そして，体熱産生を誘導することを見出した。そして，これら腸 GLP-1 が誘導する複数の生理機能には，求心性迷走神経から中枢神経への神経情報入力が必須であることを見出している。本研究では，GLP-1 の <求心性迷走神経→視床下部→遠心性交感神経> 軸を介した代謝調節機構の解明を長期的な研究テーマとし，今年度は GLP-1 の体熱産生作用における中枢神経から代謝末梢臓器までの解析を進めた。

アルロースをマウスへ単回胃内投与すると，視床下部 Y 神経の c-Fos 発現を誘導した。Y 神経の神経活動をリアルタイムで計測するために，ウイルスベクターを用いて Y 神経特異的に GCaMP6 を発現させ, ファイバーフォトメトリー法で神経活動の記録を試みた。例数は少ないが，アルロース投与数分より，Y 神経の活性化を捉えることができた。再現性の観点からも今後も検討を続ける。Y 神経から放出される神経ペプチドの受容体阻害剤を脳室内に投与すると，アルロースによる直腸温上昇作用は著明に減弱した。

アルロースの体熱産生作用を担う末梢臓器と交感神経活動の関与を検証するために，各末梢代謝臓器のノルアドレナリン代謝回転を測定した。しかし，大きな変化は認められなかった。副腎交感神経はノルアドレナリン代謝回転で評価できない臓器であり，以前にアルロースが血中アドレナリン濃度を上昇させることを見出していた。そこで，両側副腎交感神経を切断したアドレナリン分泌不全マウスを作出した。このマウスではアルロースによる直腸温上昇作用が著明に減弱した。

以上の結果より，アルロースの腸 GLP-1 放出を介した体熱産生作用には，視床下部 Y 神経と副腎アドレナリンが深く関与することが示された。

19. セピアプテリン還元酵素遺伝子改変マウスを用いたジストニア・パーキンソニズム発症機構の解析

豊田　亮，一瀬　宏（東京工業大学 生命理工学院）
知見聡美，南部　篤（自然科学研究機構 生理学研究所）

パーキンソン病は黒質線条体系ドーパミンニューロンの変性による機能低下が原因となり，無動・固縮・振戦などパーキンソニズムと呼ばれる一連の運動障害が現れると考えられている。そのため，神経毒や遺伝子改変などを用いて選択的に黒質線条体系ドーパミンニューロンを破壊または機能低下させた動物が，パーキンソン病の動物モデルとして使われている。しかし，マウス・ラットなどの齧歯類のパーキンソン病モデルでは，運動量の低下や無動などの表現系は認められても，手足が震える振戦の表現型はほとんどのパーキンソン病モデルで認められていない。

ドーパミン生合成に必須なテトラヒドロビオプテリンの生合成酵素であるセピアプテリン還元酵素（SPR）の KO マウス（*Spr*-KO マウス）では，ドーパミンだけで

なくセロトニン，ノルアドレナリンも低下したマウスモデルである。成獣の *Spr*-KO マウスでは，運動量の低下だけでなく，他のマウスパーキンソン病モデルでは観察されない前肢や体躯の震えが観察される。

本研究では，*Spr*-KO マウスを用いて振戦の発症機構を解明するために，脳内淡蒼球外節および内節におけるユニット記録の解析を行い，前肢の震えとの関連を明らかにすることを目的として実験を行っている。*Spr*-KO マウスは通常エサによる飼育では，体長が野生型の半分から 3 分の２程度しかなく，ユニット記録の装置を頭部に取り付けることが難しいので，高カロリー餌を与えて成長させる必要がある。また，筋電図と同時にユニット記録を取ることができるように，マウスの繁殖と測定方法の準備を進めている。

これまでに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観察している。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ワースペクトル分析から，低周波数領域で異常な神経活動が増加していることを見出している。今後，マウスの数を増やして詳細な解析を行い，筋電図との相関や L-DOPA 投与の効果を解析していくことを予定している。

20. 線条体障害からの再生過程における大脳基底核の直接路および間接路の機能

籾山俊彦，鈴木江津子（東京慈恵会医科大学 医学部薬理学講座）
峯　裕（独立行政法人国立病院機構 東京医療センター）
知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム）

線条体 medium spiny neuron (MSN) は，D1 受容体を発現する直接路 MSN と，D2 受容体を発現する間接路 MSN に分類される。従来は直接路 MSN と間接路 MSN のどちらが線条体の抑制性シナプス伝達の起源となるのか不明であった。本研究では，いずれかの MSN に光感受性色素を発現する遺伝子改変マウスを用い，線条体障害からの回復過程における各 MSN の機能を探求することを目的とした。

パーキンソン病モデルマウスを作製し，ヒト由来 iPS 細胞の移植による回復過程における各 MSN のシナプス伝達について検討した。6-OHDA を右半球黒質内に注入し，術後 3 週間の時点にてアンフェタミンによる左方向への異常回転数を測定した。規定の回転数を示したマウスをパーキンソン病モデルマウスとし，mCherry を発現するヒト由来 iPS 細胞を線条体内に移植した。移植から 2 週間ごとにアンフェタミン誘発回転行動の改善を観察した。その結果，ヒト由来 iPS 細胞の移植 3 か月の時点で回転行動の改善は認められなかった。またヒト由来 iPS 細胞移植マウスの脳スライス切片を作製し，移植細胞を観察したところ，線条体内に mCherry 陽性細胞が認められたが，その形態は未熟であることが示唆された。サルにヒト由来 iPS 細胞を移植した例では，パーキンソン病様症状の改善に数か月要することが報告されていることから，引き続きパーキンソン病モデルマウスの異常行動の改善の有無を検討する。

21. ドーパミン受容体及び NMDA 受容体改変マウスを用いた運動制御と記憶学習機能の解析

齊藤奈英，福田七穂，小田佳奈子，阿部　学，﨑村建司，笹岡俊邦（新潟大学脳研究所）
知見聡美，南部　篤（自然科学研究機構 生理学研究所）

私たちは，ドーパミン D1 受容体（D1R）発現を可逆的に制御する D1R ノックダウン（D1RcKD）マウスを解析し，D1R 欠損状態で運動量の減少，大脳基底核出力部で「興奮−抑制−興奮」の 3 相性神経活動の「抑制」の消失

を発見した。D1R シグナルは「直接路」の情報伝達と運動発現に必須であり，運動制御の「ダイナミック活動説」を支持することを報告した（Chiken *et al*. 2015）。また，D1R を介する情報伝達が忌避学習に重要であると報告した（Saito *et al*. 2020, 2022）。同様にドーパミン D2 受容体（D2R）を介するシグナル抑制により運動制御と神経活動の解析のため，D2RcKD マウスを作製した。試行錯誤の後，D2RcKD マウスが完成し，D2R の発現制御の動作確認と運動量変化を解析した。

D2RcKD マウスにドキシサイクリン（Dox）を 17 日間投与し, 線条体の D2R 発現量をウエスタンブロットで解析したところ，Dox 投与前の D2R 発現量は，野生型より高く，Dox 投与後に D2R 発現はほぼ欠失した。ホームケージ内の運動量を 24 時間連続で観察したところ，Dox 投与 13 日目以降，運動量低下が観察された。結果の再現性確認が必要であるが，D2R 発現制御ができていると考えられる。現在，大脳基底核における神経活動の解析を進めている。D1RcKD マウスと同様，D2RcKD マウスを解析し，D2R シグナルの運動制御の役割を明らかにする。さらに，D2RcKD マウスを用いて，報酬学習・忌避学習における D2R シグナルの役割を明らかにする。

研究発表

1. 論文発表

① 齊藤奈英 他: D1 および D2 ドーパミン受容体を介する神経伝達による運動制御と学習記憶の仕組みの理解. 日本生物学的精神医学会誌 33 巻 3 号(2022)

2. 学会発表

① 齊藤奈英 他: ドーパミン D1 受容体を介した神経伝達は，文脈的恐怖条件付けの遠隔記憶を促進する Neuro2022 日本神経科学学会 2022 年 7 月 2 日 沖縄

② 笹岡俊邦 他: 回避記憶の形成と大脳皮質の Arc の活性化にはドーパミン D1 受容体を介した神経伝達が必要である Neuro2022 日本神経科学学会 2022 年 7 月 2 日 沖縄

③ 笹岡俊邦 他：遺伝子操作マウスの行動解析による運動制御と記憶学習におけるドーパミン情報伝達の役割の解明研究 第 56 回日本実験動物技術者協会総会 2022 年 10 月 15 日 松本

22. 不随意運動モデルマウスの行動解析および電気生理学解析

竹林浩秀，吉岡　望，Tran Minh Dang（新潟大学）
黒瀬雅之（岩手医科大学），佐野裕美（藤田医科大学）
知見聡美，南部　篤，山肩葉子（生理学研究所）

本研究提案は，不随意運動などの神経症状を示す複数の遺伝子改変マウスについて，神経症状の原因となる脳領域や神経細胞種について，遺伝子改変マウス作製，組織学的解析，行動解析および電気生理学的解析により明らかにするものである。

まず，末梢神経系にてジストニン（*Dst*）の変異を導入した *Dst* 遺伝子トラップマウス，さらに，末梢神経系にてジストニンの発現を回復した *Dst* 遺伝子レスキューマウスを用いて，主動筋と拮抗筋の筋電図解析を行った。また，これらマウスについて，ホフマン反射の解析を行った。これらの解析から，*Dst* 遺伝子変異によって起こる dystonia musculorum マウスの運動異常は，末梢神経系異常の寄与が大きいことが示唆された。

続いて，ホスホイノシタイド代謝酵素（inositol polyphosphate-4-phosphatase type IA）をコードする *Inpp4a* の変異マウス（N 末欠損型と C 末欠損型の 2 系統）を用いて，それらの神経症状出現の違い，特に小脳における神経変性の有無を生み出すメカニズムについて解析を行った。さらに，大脳皮質，大脳基底核，または，小脳における *Inpp4a* コンディショナルノックアウト（cKO）マウスを，それぞれの脳領域特異的な Cre マウスと掛け合わせることにより作製し，それらの運動異常を観察した。今後，それぞれの脳領域の運動神経症状への貢献度を詳細に解析するための準備が整ったと考えている。

23. 新規アルツハイマー病モデルマウス表現型の網羅的解析

歌　大介（富山大学学術研究部薬学・和漢系応用薬理学教室）
山肩葉子，西島和俊（生理学研究所）

アルツハイマー病（AD）は，超高齢社会の進行とともに患者数が増加している。AD は認知機能障害が症状として現れる数十年も前から AD 主病因であるアミロイド β の蓄積が起こることが分かっているが，発症機序は未だ十分に解明されておらず，根本的な AD 治療薬は存在しない。そこで，我々は AD の発症機序の解明と AD 治療薬開発を目指し，新規アルツハイマー病モデルマウスを作出し表現型の網羅的解析を行うこととした。

我々は，AD 主病因であるアミロイド β（Aβ）に注目し，Aβ の毒性発現に重要であるターン構造の探索と毒性 Aβ の神経細胞やグリア細胞に対する影響について研究を行ってきた。これまでに，毒性 Aβ を過剰発現する新規 AD モデルマウスを作出したが解析が出来ていない。そこで，本研究では，動物資源共同利用研究センター（行動・代謝分子解析センター）の山肩助教と共同で，ロータロッド試験や Y 字型迷路試験，恐怖条件づけ試験，Morris 水迷路試験，受動的回避反応試験を用いた記憶・学習に関わる行動解析，オープンフィールド試験，高架式十字迷路試験，強制水泳試験を用いた情動に関わる行動解析により，新規 AD モデルマウスの表現型の網羅的解析を行うこととした。その結果，新規 AD モデルマウスではロータロッド試験，Y 字型迷路試験，新奇物体認識試験において，野生型に比べ有意に記憶・学習能力が低下していることが明らかとなった。さらに，新規 AD モデルマウスは，従来の AD モデルマウスよりも若い週齢で記憶・学習能力の低下が見られることも分かった。今後は，より多くの行動薬理学的試験を行うことで網羅的な解析を進めると同時に，シナプス伝達の可塑的な変化の解析などを共同研究にて進めていく予定である。

【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. DREADD-fMRIによるマカクサル神経ネットワークの可視化 …… 227
2. ブタ脳の発達生理学の研究…… 227
3. 遠隔診療における効果的な情報伝達のための神経基盤の解明…… 228
4. 共同行為の神経基盤：三名同時脳活動計測によるアプローチ…… 229
5. 相互模倣による行為・意図の共有に関与する神経基盤の解明…… 230
6. 語用論的解釈の神経基盤 ― 認知要素と情動要素の協働機制の探索…… 230
7. ぬれ感覚の脳内形成機序の探索…… 231
8. 運動記憶形成における社会的促進の神経基盤…… 232
9. 意図的な立毛生成の神経基盤および情動機能との相互作用の解明…… 232
10. ハイパースキャンMRIを用いた相互作用する二者の言葉のやりとりによる共創的学習と共有イメージの神経基盤の解明）…… 233
11. 磁気共鳴画像を用いた第二言語習得メカニズムの探求…… 234
12. 統語的・意味的依存関係を構築する際に用いられるキューに関連する神経基盤の解明…… 234
13. 運動イメージの脳内表象の解明…… 235
14. 認知的負荷の時間割引の行動・神経機構の解明および先延ばし・アパシーの横断的説明…… 235
15. 自立神経系の変動特性の安静時脳ネットワークへの影響評価）…… 236
16. 高磁場MRIによる認知機能に関連する脳機能マーカーの探索…… 236
17. Concept of a minimal RF shield PET insert for 7T whole-body MRI system …… 237
18. Development of 8-channel parallel transmission technology in 7 Tesla MRI system and its application to research of functional architectures in human association cortices …… 238
19. 視覚認知に関わる眼球運動制御の全脳メカニズムの解明…… 238
20. 骨格筋代謝物質における7T MRS/CSIの最適化と計測法の確立 …… 239
21. 意欲と運動を繋ぐ神経機構の解明…… 240
22. 7T MR装置を用いた血管壁イメージングによる脳血管壁性状と3次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法による脳血管血流動態の検討…… 240
23. Personalizing Brain Stimulation Dosage by New Neurostimulation Computational Model …… 241
24. 7T-MRI対応non-pTx頭部RFコイルシステムの開発 …… 242
25. 計算負荷による唾液アミラーゼ変動と脳機能結合および内側前頭前野の神経アミノ酸分布の関係…… 242
26. 呼吸活動と課題遂行に伴う青斑核活動の解明…… 243
27. 7TレイヤーfMRIによるヒト大脳皮質層別の情報処理機構の解明 …… 244
28. 意味の創発に関わる内的表象形成メカニズムの解明…… 244
29. 将来の報酬を期待するヒト脳の価値表象の動的特徴と選択形成の解析…… 245
30. 機械学習とfMRIを用いた抒情の生じるメカニズムの解明 …… 245
31. 美学的体験や創造的体験とその心理的効果に関する認知神経科学的研究…… 246
32. 超高磁場機能的磁気共鳴画像法を用いたヒト脳活動の高分解能計測および解析法の研究…… 247
33. 情動的影響の計量経済学的構造モデル推定…… 247

34. 期待外れを乗り越える心理の神経基盤…… 248
35. 脳機能画像法を用いたヒト味覚野神経基盤の解明…… 248
36. 機能的MRIによる両価的価値情報の統合処理過程の解明…… 248
37. 自己運動関連脳領域の応答特性に関する研究…… 249

1. DREADD-fMRI によるマカクサル神経ネットワークの可視化

西村幸男，鈴木迪諒，菅原　翔，臼田　升，中山義久，横山　修
（東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）
郷田直一，福永雅喜，定藤規弘（心理生理学研究部門）

中枢神経障害後の機能回復には残存した神経経路の活動が重要であることを我々は見出してきた。これらの経路を活性化させることで機能回復促進が期待されるが, 活性化により賦活される神経ネットワークは明らかではない。本研究では, 上記の標的領域を活性化させる化学遺伝学的手法（DREADD）を用いて，賦活される脳内ネットワークを fMRI で明らかにすることを目的としている。

本年度は逆行性のウイルスベクター（AAV2 retro-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry）を下位頚髄（C7-8）に注入し, 脊髄運動ニューロンへ収束的な入力を持つ神経細胞群に興奮性 DREADD（改変型ヒトムスカリン性アセチルコリン受容体 hM3Dq）を発現させた 2 頭のマカクサルを用いて, 手首への他動運動による感覚入力時の脳活動の計測（task fMRI）および安静時機能的神経結合の計測（resting-state fMRI）を行った。DREADD のアゴニストである DCZ（デスクロロクロザピン）の投与濃度（筋注）1 μg/kg から実験を開始した。これまで 3 セッションを実施したが，task および resting-state fMRI ともに，全脳解析で Vehicle 投与とのはっきりとした差異は見出せていない。そこで，DCZ の濃度を 5 μg/kg へ上げて，再度実験を開始した。現在までに DCZ 5 μg/kg での task fMRI 計測を 2 セッション実施し, 感覚入力に対する大脳皮質体性感覚関連領域の活動が投与前よりも上昇する傾向が認められている。引き続き，再現性の確認と DCZ 5 μg/kg での resting-state fMRI 実験を行う予定である。また，DCZ 1 μg/kg での実験データに関しても解析方法を再考し，興奮性 DREADD の効果を検証していく。

2. ブタ脳の発達生理学の研究

高垣堅太郎（山梨大学）
畑中伸彦，知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム研究部門）
郷田直一，福永雅喜，定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

脳生理学ではサルやイヌ・ネコなどが伝統的には最も重要な哺乳類モデルであったが，繁殖・飼育や遺伝子改変の容易性から，齧歯類が多用されるようになった。本研究は, イヌ・ネコに代わりうる中大動物モデルとして, 実験ミニブタの脳生理学研究について端緒をひらくことを大目標とした。

ブタは生理学研究の対象として適している特質がいくつかある。たとえば睡眠サイクルや食生活などの行動が，ヒトとの共進化によりヒト化しており，臓器大も猿と比べて大きい。また実験倫理の側面では，家畜動物として特殊な共生関係性を築いてきたため，その実験利用にあたっては通常の実験動物とは違った位置付けが可能である。こういった事情により現在，ブタはヒト疾患モデルやデバイス開発のプラットフォームとして注目されるのみならず，異種臓器移植のドナー候補ともなっている。

さらにブタはライフスパン全体の研究にも適している。周産期については家畜動物として進化しているため多産で，それなりに晩成性（ltricial）未熟出産であり，特に最初の 1 週間はヒトに類似する哺乳行動などを示すが，生命力はとても強く，増体学（uxology）的には各臓器の成長速度が著しい。脳と行動に関していうと 4〜6 ヶ月で性成熟を迎え，1 歳前にすでに成獣行動を示す。ブタの生物学的な寿命は 10 年以上であるが，代謝異常や過体重に伴う疲労性の骨格異常を引き起こしやすく，生活習慣病や老年医学の非臨床研究モデルとしても着

目される。

本研究では初めて超高磁場 MRI での *in vivo* 撮像を確立した。DTI，fMRI などといった指標についてはさらなるパラメータ至適化や，高磁場での S/N 比向上のための検討が必要であるが，基本的な撮像（T1w，T2w など）については今後，幼獣期における発達試験などへの直接応用が可能となった。

また，実験繁殖したマイクロミニピッグを利用し，移動式施設で農場から運搬し飼養することで，実験動物供給の難しいブタ初期発達期を対象とすることができ，離乳直後から 4.5 歳齢までの発達につき経時的に追った。移動式実験施設については 3 ヶ月間の運用で，施設の実証・検証を行った。

試験終了にあたっては昨年度につづき環流固定を行い，*ex vivo* イメージングの検討を進めた。今後解析結果をリソースとして発表してゆくとともに，母子関係などの発達脳生理学，生活習慣病の脳生理学，そして老化脳生理学のモデルとして推進してゆきたい。

3. 遠隔診療における効果的な情報伝達のための神経基盤の解明

上田彩子（学校法人 日本女子大学）
下田真吾（国立研究開発法人 理化学研究所）
北城圭一，上原一将（大学共同利用機関法人自然科学研究機構 生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門）

遠隔診療において伝達すべき情報はどのようなものなのか。COVID-19 のパンデミック以降，Zoom 等の On-line システムを利用し，遠隔でコミュニケーションをとることは我々の日常生活の一部となっている。その際，主に画像と音声を利用してコミュニケーションを図るが，必要な情報を伝達するには十分なモダリティを活性化できているにもかかわらず，多くの人が対面でのコミュニケーションに比べ，現状の On-line システムに不満が残ると感じているのではないであろうか。そして，その不満は，環境共有値などと呼ばれる無意識のうちに共有されるものの少なさに起因するとも言われる。

しかし我々は COVID-19 以前であっても，対面でのコミュニケーションだけを利用してきたわけではなく，電話で連絡を取るなどは，日常茶飯事であった。そのうえ，「電話であれば長く話せる。」「手紙であれば，直接は言えないことも，伝えることができる。」など，共有するモダリティや時間応答の違いゆえに，それぞれに適したコミュニケーションを実現してきたことは事実である。

そのコミュニケーションが病気の診察となった場合，どのような情報交換が優れているか。さらにはそれを遠隔で実現する際，対面よりも優れたコミュニケーションへ発展させることは可能なのであろうか。人が生得的に持つ感覚は，五感に代表されるような限られた情報しか取得できない。CT や MRI などの近年の医療デバイスの進歩は，そのような生得的な感覚器では見ることのできない生体情報を可視化することができるが，本来見えないものが見えるようになることで，診察におけるコミュニケーションは変化するのか。

本研究では初めに，医師が普段の診察で行う触診と対象として，触診が診察に果たす役割を脳神経系内の経路として解明しするとともに，人間の五感では直接感じることのできない情報を付加することで，対面と同等以上の診察効果を目指している。2022 年度は図 1 に示すような触診のための神経経路を明らかにし，健常者実験を通じてその有効性の検証を始めた。

2023 年度は fMRI 実験を進めることで，触診コミュニケーションにおける脳内処理基盤を検証する。健常者を対象として，視覚拡張表現手法の有無で観察者の主観的評価の変化とその際の脳活動を特定し，コミュニケーションに重要な役割を果たす脳内メカニズムの基盤を検証する。

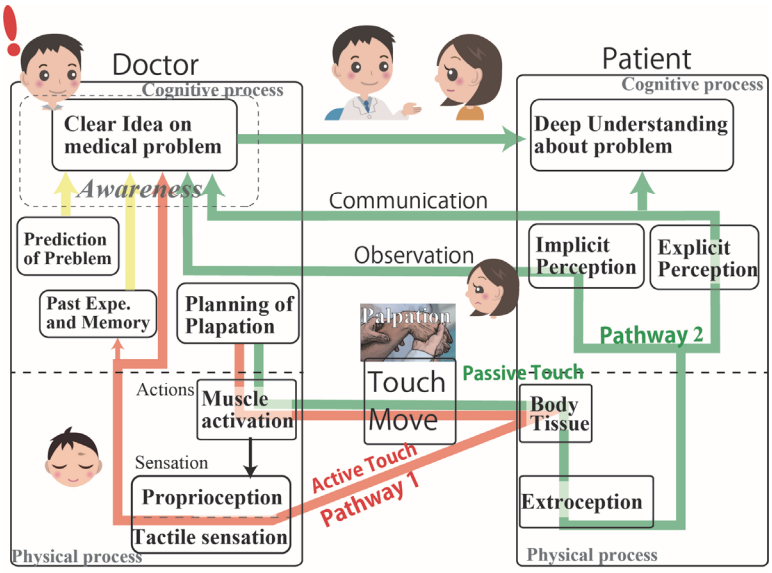


図 1．触診を行うための脳神経系の信号の流れ

4.　共同行為の神経基盤：三名同時脳活動計測によるアプローチ

阿部匡樹（北海道大学大学院教育学研究院健康体育学分野）
高橋康介（中京大学心理学部実験心理学領域）
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）

二人以上の集団が一つのゴールを目指してお互いの行為を統合する共同運動課題は，身体を介した直接的な個人間コミュニケーションの典型例である。そこでは，巧みな協応により個々の能力以上のパフォーマンスが生成されうる一方，理論的には決して効率的とはいえない社会的相互作用も生じる。これらの現象は心理物理実験やゲーム理論において示されてきたが，その神経的基盤はいまだ明らかにされていない。特に，社会性の影響が顕著になることが示唆されている 3 名以上での共同課題時における神経活動の研究例はほぼ皆無である。本研究では，3 名の共同課題時の脳活動を同時に記録・解析することにより，共同課題時特有の脳内情報処理過程を明らかにすることを目的とした。

これまで，我々は 2 人の把持力の合計を標的力に合わせるという共同把持力調整課題を用い，その際の脳活動を調べることで，共同行為の組織化に関わる神経基盤を検討してきた。その結果，単純な力調整課題においてもメンタライジングシステムと呼ばれる脳領域の賦活が生じること，その中でも右の側頭-頭頂接合部（TPJ）が他者との協調に大きな役割を示すことを明らかにした（Abe et al., NeuroImage 2019）。また，これに VBM 解析を加え，メンタライジングシステムに属する左前頭極・縁上回付近の領域が他者協調の度合と関連していることが示唆された。

この力調整課題にさらに 1 名加えて 3 名とした場合，より複雑かつ高次の社会性が要求され，その神経基盤の詳細を検討することが可能となると考えられる。本年度は，これまで進めてきた 2 台の 3T-fMRI スキャナと 1 台の 7T-fMRI スキャナを同時に用いた 3 人組による実験環境を確立し，本実験によるデータの取得を進めた。

3 台の fMRI スキャナおよび視覚刺激の同時使用に関しては，延長ケーブルによって異なる研究棟にあるスキャナ間を直接接続する実験系を確立し，視覚刺激の適用および fMRI データの取得，ともに問題なく可能であることを確認した。本年度は予備実験も含めて 30 名以上のデータを取得したものの，三台同時使用という制約もあり，年度内での十分な組数のデータ取得には至らなかった。来年度以降も引き続き実験を進め，15 組前後を対象に共同課題時の脳活動同時計測を行う予定である。

5. 相互模倣による行為・意図の共有に関与する神経基盤の解明

宮田紘平，工藤和俊（京大学大学院総合文化研究科）

対面模倣は，行為意図（action intention）と事前意図（prior intention）を 2 者間で共有する社会的相互作用であり，対人関係の円滑化また社会的学習の重要な要因の一つである。模倣にはミラーシステムが関与することが知られている。しかし，対面模倣における行為・事前意図の共有において，ミラーシステムの各領域がどのような役割を持っているかは未だ不明である。先行研究では，対面模倣時に頭頂ミラーシステムの活動が 2 個体でシンクロすることが確認されている。本研究では，行為・事前意図の共有がミラーシステムの異なる部分で表現され，2 個体の脳活動のシンクロとして観察されるという仮説を立て，書字模倣課題中の 2 人の fMRI データを解析した。

脳活動のシンクロ解析には，beta-map 相関解析を用いた。まず，各試行を個別にモデル化し，得られた beta-map を条件ごとに連結し，beta-map 配列の相関をペアで計算し，疑似ペアと比較した。

その結果，オンライン模倣は，共有する内容に応じて，視覚的運動情報処理に関与する MT や，ミラーシステムを含む運動関連領域である後上側頭回（pSTG）や運動前野（PM）においてシンクロが高いことが示された。行為意図を共有する場合は右の PM で，事前意図を共有する場合は両側の pSTG と左の MT でシンクロが観察された。そのため，対面模倣において右 PM と左 MT を含む両側 pSTG がそれぞれ行為と事前意思の共有に重要な領域であることが示唆された。

6. 語用論的解釈の神経基盤 — 認知要素と情動要素の協働機制の探索

中村太戯留（武蔵野大学データサイエンス学部(教養教育)）
松井智子（現：中央大学文学部／元：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）

文字通りの意味ではない意味の構成が，語用論的解釈には関与する。その意味の構成に際して，言語理解などの認知要素に加え，価値判断などの情動要素が協働的に関与すると考えられている（Vrticka 他, 2013）。本研究は，皮肉や比喩という語用論的な現象に着目し，認知要素と情動要素がどのように協働するかを検討する試みである。具体的には，(A)「皮肉における刺激の複雑性制御による認知要素と情動要素の協働を探る」と(B)「面白さを誘発する比喩的表現における刺激の複雑性制御による認知要素と情動要素の協働を探る」を進めている。本年度は，これまでに得られた知見をもとに総合的な検討を試みた。

(A) 皮肉に関して，これまでに，認知要素としての文脈の制御と，情動要素としての韻律の制御により，両者の協働を検討した（Nakamura 他, 2022）。この検討を通して，認知要素としては，内側前頭前野の前方や側頭極や小脳の賦活が観測されている。情動要素としては，扁桃体の賦活が観測されている。両者の協働としては，内側前頭前野の後方や前頭前野や島皮質の賦活が観測されている。

(B) 比喩に関して，これまでに，認知要素としての言語理解の効果を相殺し，情動要素としての面白さの効果の抽出を検討した（Nakamura 他, 2018）。この検討を通して，情動要素としては，扁桃体の賦活が観測されている。

そのため，情動要素としての扁桃体の賦活が (A) と (B) の共通点であり，語用論的解釈において重要な役割を担うと考えられる。そこで，関連性の感知（Sander 他, 2003）という扁桃体の役割に注目した言語理論の構築を試みた（中村, 2022a）。この理論では，関連性を感知したうえで，面白さを生じるためには，保護フレーム（Apter, 2007）という概念装置の必要性を提案している。保護フレームは，文脈情報の一種で，語用論的解釈の枠組み要因として機能する。総合すると，言語的な刺激を通じた関連性感知（Sander 他, 2003）が語用論的解釈の重要な役割のひとつで，その際に保護フレーム（Apter, 2007）が機能すると面白さが生じる可能性が示唆される。保護フレームの神経基

盤の候補としては，メタ分析から側頭葉前部，尾状核，前帯状回などが挙がっているが（中村, 2022b），イメージング研究による検証は残された課題である。

引用文献

Apter, M. J. (2007). *Danger: our quest for excitement.* Oxford: Oneworld.

Nakamura, T., Matsui, T., Utsumi, A., Yamazaki, M., Makita, K., Harada, T., Tanabe, H. C., & Sadato, N. (2018). The role of the amygdala in incongruity resolution: the case of humor comprehension. *Social neuroscience*, **13**(5), 553–565.

Nakamura, T., Matsui, T., Utsumi, A., Sumiya, M., Nakagawa, E., & Sadato, N. (2022). Context-prosody interaction in sarcasm comprehension: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuropsychologia*, **170**(108213), 1–11.

中村太戯留. (2022a). ユーモア理解の「見いだし」理論. *語用論研究*, **23**, 34–50.

中村太戯留. (2022b). ユーモア理解における「保護されている」という認識の枠組みの神経基盤に関するメタ分析. *第 39 回日本認知科学会大会予稿集*, 420–423.

Vrticka 他. (2013). The neural basis of humour processing. *Nature reviews. Neuroscience*, **14**(12), 860–868.

Sander, D., Grafman, J., & Zalla, T. (2003). The human amygdala: an evolved system for relevance detection. *Reviews in the neurosciences*, **14**(4), 303–316.

7. ぬれ感覚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）
中田大貴（奈良女子大学，工学部）
定藤規弘（生理学研究所，心理生理学研究部門）

湿度や皮膚表面の濡れは，“蒸れ感”，“濡れ感”として我々の意識にのぼる。研究は，①濡れ感や蒸れ感に関わる脳部位を同定し，②これらの感覚の形成機序を脳内情報伝達解析により明らかにすることを目指した。本年度は行動実験による指先の温度感覚，全身温冷負荷時の温熱的快適感の形成機序を探索した。今年度の実験においては行動実験および脳波を用いた実験を行い，MRI 装置内で再現可能な実験のパラダイムの作成で終了した。

方法

本研究は，温覚・冷覚に関連する脳領域を脳波解析より同定することを目的とした。右利きの男女 20 名は，室温 26 ℃・相対湿度 50 % 環境下で閉眼座位となり，右手の示指および中指腹部をペルチェ素子に当てた。温冷感は，ペルチェ素子の温度を変化させることで調節した。具体的には，15 秒間の基準刺激（32 ℃）後に，10 秒間の条件刺激［①40 ℃（温条件）・②24 ℃（冷条件）］を与えるペア刺激を，各条件 40 試行ずつ実施した。その際，脳波を，前頭（Fp1・Fp2・F3・F4・Fz・F7・F8）・頭頂（C3・Cz・C4・P3・Pz・P4）・後頭（O1・O2）領域より連続測定した。温感および冷感に関連する脳領域は，計測した脳波データに，独立成分分析（ICA）を適用し，各対象者より 15 個の独立成分（計 300 個）を取得した後，各独立成分の等価電流双極子（ダイポール）の位置を推定し，その残差分散から最終的に残った独立成分に対して ICA クラスタリングを適用することで解析した。そして，生成されたクラスタのうち，全対象者の 75%以上（15 名以上）が，寄与したクラスタを関連脳領域とした。温・冷条件間の脳活動の差異は，当該クラスタにおいて時間周波数解析を行い，事象関連スペクトル摂動（ERSP）を両条件間で比較し，評価した。

結果と結論

ICA クラスタリングにより，6 個のクラスタが同定された。当該クラスタの 3 次元座標を Talairach 座標系に当てはめた結果，同定された脳領域は，前頭回・中前頭回・後帯状皮質・内側前頭回・中心前回・楔前部であった。一方，当該クラスタの ERSP は，全て条件間で差がなかった（all $P \geq 0.05$）。本結果より，ヒトの温感および冷感は，前頭回・中前頭回・後帯状皮質・内側前頭回・中心前回・楔前部の同領域において形成されている可能性が示唆された。

8. 運動記憶形成における社会的促進の神経基盤

渡邊克巳（早稲田大学基幹理工学部）
濱野友希（早稲田大学理工学術院・特別研究員）
菅原　翔（東京都医学総合研究所 主席研究員）
定藤規弘（立命館大学 総合科学技術研究機構）
福永雅喜（生理学研究所 生体機能情報解析室）

本研究の目的は，観衆が運動学習に与える社会的促進の神経基盤を解明することである。我々の日常は，スポーツや発話，書字など多様な運動技能から成り立っている。これらの運動技能は，他者との交流の中で獲得され，他者の存在下で実行される。パフォーマンスを下げる社会的圧力として観衆を扱う研究が多いが，本研究では観衆の存在がむしろ糧となってパフォーマンスを促進する状況に注目している。観衆がパフォーマンスを抑制するか促進するかは観衆の態度に依存すると考え，異なる態度の観衆の下で系列運動を練習する実験を計画した。具体的には，打鍵速度が速くなると観衆が拍手と声援を送る応援条件，打鍵速度が遅くなると観衆がブーイングする批判条件，観衆からの反応を得ない統制条件の三条件で，学習速度と最終技能成績を比較する。次年度には行動実験を経て fMRI 計測を行い，運動学習への社会的促進効果を媒介する神経基盤を明らかにすることを目指している。

本年度は行動実験の準備と並行して，社会的促通効果のターゲットとなる運動学習そのものの神経基盤の解析を進めた。7 テスラ装置を用いて計測した両手系列運動学習を対象とした。両手の系列運動学習には，系列運動と両手協調運動という 2 つの運動要素の学習が不可欠である。結果として，左一次運動野の活動変化は系列運動と両手協調のいずれの学習も反映することを示した。この結果は，一次運動野が片手の系列運動だけでなく，両手の系列運動学習でも中心的役割を担うことを示唆する。本成果を国際誌へ投稿するため，現在原稿作成を進めている。

9. 意図的な立毛生成の神経基盤および情動機能との相互作用の解明

片平建史（早稲田大学文学学術院）
川上　愛（早稲田大学人文科学総合研究センター）

今年度は当初の予定通り，意図的な立毛生成に関わる神経基盤を解明するための脳機能イメージング研究を実施した。主な実施項目は，1) fMRI と立毛の同時計測を行うための実験系の精緻化, 2) 意図的な立毛生成能力を持つ被験者を対象とした脳機能・脳構造データの取得, 3) 意図的な立毛生成能力を保有する被験者プールの拡充であった。

1) の実験系の精緻化については，昨年度に引き続き，生理学研究所で保有する高磁場対応 CCD カメラ（フィジオテック 12M）を用いた立毛計測系の精度向上に取り組んだ。今年度の変更点として当該機材の設置方法が変更され，ノイズ低減を目的として MRI 検査室への組み込みが行われている。そこで実験環境の予備的な確認として，当該機材を自作のカメラマウントおよび光ファイバーを用いた導光装置と組み合わせ，MRI スキャナ（Siemens 社製 3T MRI MAGNETOM Verio）のボア内に設置した上で，MRI 撮像と同時に立毛の映像記録試験を実施した。この結果，カメラの設置方式の変更により，従来よりも高品質な立毛の映像データが得られることを確認した。

2) の意図的な立毛生成能力を持つ被験者を対象とした脳機能・脳構造データの取得については，意図的な立毛生成能力を保有する被験者プールから選出した 7 名の被験者を対象に，MRI スキャン中に意図的な立毛を求める脳計測実験を行った。当該実験は，立毛を意図的に生成するタスクブロックと安静状態を維持するレストブ

ロックを 30 秒ずつ交互に繰り返すブロックデザインの実験課題を用いて，機能画像の撮像と立毛の映像記録を同時に行ったものである。立毛の映像記録の解析により，7 名中 5 名については程度の差が見られるものの，意図的な立毛の生成が確認された。残る 2 名の被験者においては，スキャン中の十分な立毛生成が確認できなかった。今後は意図的な立毛の生成に成功した 5 名について，脳機能データの解析を行う予定である。

3) 意図的な立毛生成能力を保有する被験者プールの拡充については，この能力を持った個人の特定を引き続き進めており，意図的な立毛生成に関わる神経基盤を解明するための脳機能イメージング研究を実施するのに十分な人数の被験者が確保される体制の構築を進めている。

来年度の計画としては，脳計測実験のデータをさらに拡充するとともに集団レベルの解析を進め，意図的な立毛生成に関わる神経基盤の検討を行う。

10. ハイパースキャン MRI を用いた相互作用する二者の言葉のやりとりによる共創的学習と共有イメージの神経基盤の解明）

田邊宏樹，沈　鈺蕾（名古屋大学）

経験を共有することは人間の社会的認知の基本であり，言語を介したコミュニケーションはその中核をなすものである。そして私たちは，相互のやりとりの中で，視覚情報を言語化して相手に伝えたり，受け取った言語情報から視覚イメージを生成することができる。これまで個人の脳を対象とした単一感覚による心的イメージの神経基盤の検討は行われてきたが，音声と視覚のモダリティ変換を伴う二者の情報伝達コミュニケーションの神経メカニズムについてはほとんど研究されてこなかった。そこで本研究では，ハイパースキャン fMRI を用いて，言語による視覚イメージを伝達する際の二者の神経基盤について検討を行った。昨年度の終わりに実験課題が完成し，今年度は初対面の同性 23 ペア 46 名のデータを取得することができた。実験はペアで行い，情報の送り手となった際には，16 秒以内に情報の受け手に口頭で顔のイメージを伝えた。その際情報量の操作として受け手には 2 つあるいは 5 つの情報が与えられた。受け手はその情報を基に具体的な顔を 6 秒間想像するよう指示された。最後に，情報の送り手と受け手の双方が与えられた 4 枚の画像から自分が見た/想像した画像に一番近いものを選ぶよう指示された。対象条件では顔画像の代わりにモザイク画像が使われた。得られた EPI 画像データに対し，今年度はまず個人の脳活動を中心に一般線型モデルによる解析を行った。解析の結果，情報の送り手が情報を相手に伝えている時には，意味処理領域と考えられる左 IFG や MTG，視覚イメージ処理に関与する SFG/MFG や SPL，視覚顔領域である FFA や OFA に活動が見られ，さらにこれらの領域は相手に伝える情報が多いほど活動も強いことが示された。一方情報の受け手では，聴覚的に顔の情報を受け取った際に，意味処理領域と考えられる左 IFG と視覚顔領域である FFA, OFA に加え aSTS にも活動が確認された。また受け取る言語情報の増加に伴い，意味処理領域や視覚イメージ処理領域の活動が高まったが，顔処理領域には差が見られないことも明らかとなった。さらに，右 MFG・SFG・IPS の活動の強さは，言語化-視覚化傾向質問紙（VVQ）における視覚化傾向の強さと正の相関を示した。今後は，さらに解析を進めるとともに，情報伝達を行う二者の脳活動の空間・時間パタンの類似性についても検討する予定である。

11. 磁気共鳴画像を用いた第二言語習得メカニズムの探求

笠井千勢（岐阜大学）
定藤規弘，小池耕彦（生理学研究所）

本研究は，第二言語処理のメカニズムを脳画像を用いて可視化することを目的とする。日本人の多くが英語を第二言語として学んでいるが，習得がうまくいく学習者とそうでない学習者に分かれる。様々な原因が究明されている中，代表者は第一言語である母語を保持した上で二つ目の言語を処理することに何らかの原因があると推察する。

本研究の前段階として，日本国内で日本語を学ぶ外国人被験者が日本語の助詞を産出する実験を行なった。調査の結果，学習者の正答率は母語話者に比べ低く，解答速度も遅かった。つまり，日本語母語話者にとって「てにをは」と呼ばれる助詞の産出が簡単である一方，学習者にとっては，平仮名一文字を産出することが非常に困難であることが明らかになった。神経基盤は，両グループとも left Inferior Frontal Gyrus (LIFG) の関与が認められ母語話者も学習者も同じ領域を使って処理を行うことが明らかになった。一方，学習者グループに特化して活動する領域は Left Inferior Frontal Sulcus (LIFS) であり Verbal Working Memory (VWM) を使って記憶リソースを駆使して助詞を産出していることが明らかになった。これらの発見により，母語話者も学習者も同じ神経基盤を使って統語処理を行うが，学習者は文法ルールを見い出したり，すでに学習した内容に参照しながら答えを見つけ出す作業を行っていることが明らかになった。

本研究ではこの現象が一過性のものではなく，第二言語学習者一般に当てはまる現象であることを検証する。被験者に英語を学習する日本人学習者と英語母語話者を募り，日本人が英語を学ぶ上で最も習得が難しいとされる冠詞（a, the, φ）を刺激に用いる。文脈に合った正しい冠詞を産出するタスクにおいて，学習者グループに LIFS の活動が見られるのであれば，第二言語処理には VWM が大きな役割を担うことが再検証できる。本年度は実験刺激の選定と課題構築を中心に行い，心理実験，及び fMRI 実験の準備を行なった。

12. 統語的・意味的依存関係を構築する際に用いられるキューに関連する神経基盤の解明

祐伯敦史（立命館大学スポーツ健康科学部）
中野陽子（関西学院大学言語コミュニケーション文化研究科）
水口暢章（立命館大学総合科学技術研究機構）

文を理解する際には，作業記憶に入力された主語や述語などを呼び出しながら，それらの依存関係を処理していく必要がある。その際にどのような手がかり（キュー）を基に依存関係が構築されるかについて, 反応時間, ERP, 視線計測など様々な計測方法で確かめられてきたが，脳部位については明らかとなっていない。今回の研究では，統語的・意味的依存関係構築に関係する脳部位を明らかにすることを目的とする。

今年度は，刺激提示プログラムを作成し，予備実験を実施した。その結果に基づき，刺激プログラムの修正と本実験の実施に向けた刺激文の選定を実施している。

13. 運動イメージの脳内表象の解明

水口暢章（立命館大学総合科学技術研究機構）
菅原　翔（公益財団法人東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）
濱野友希（早稲田大学理工学術院総合研究所）
加藤健治（国立研究開発法人国立長寿医療研究センター健康長寿支援ロボットセンター）
土元翔平，定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所心理生理学研究部門）

運動イメージはリハビリテーションやブレイン・コンピュータ・インターフェイス(BCI)を操作する際によく用いられ，その能力は運動イメージを用いたトレーニングの効果やBCI操作能と関連がある可能性が示されている。たとえ若年健常者であっても運動イメージ能力に個人差があることは広く受け入れられている事実であるが，運動イメージは主観的な体験であるため運動イメージ能力の定量方法は未だ確立していない。したがって，運動イメージ能力と関連する神経基盤を明らかにすることは意義があると考えられる。

先行研究でよく用いられる経頭蓋磁気刺激法（TMS）により誘発した運動誘発電位，および，fMRI による脳機能イメージングはそれぞれ確立された方法であり，各手法を用いた研究では再現性の高い結果が得られている。しかしながら，これまでの運動イメージ研究の多くは質問紙に主観的に答える方法を用いて，質問紙のスコアと運動誘発電位もしくは脳機能イメージング結果と比較しているため，定量的な指標である運動誘発電位と脳機能イメージング結果の関係性は調べられていない。そこで本研究では，同一被験者を対象として，先行研究により運動イメージ能力と関連することが示唆されている運動誘発電位の振幅増大と脳機能イメージングで評価した脳内表象類似性（representation similarity）の程度との関連性を明らかにすることを目的とした。

これまでに 30 名の一般健常者が実験に参加した。運動課題は指タッピングとし，指タッピングの実行および運動イメージを行った。課題開始および終了は視覚および聴覚キューによって呈示され，筋電図によって課題中の筋活動を手指および前腕から記録した。

現時点までの解析の結果，運動イメージによって運動誘発電位の振幅が増大すること，および，運動イメージ関連領域が賦活することを確認しており，これらは先行研究の結果と一致している。今後は運動誘発電位の振幅増大と脳内表象類似性の関連を調べる予定である。

14. 認知的負荷の時間割引の行動・神経機構の解明および先延ばし・アパシーの横断的説明

永瀬麻子（鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経内科学分野）

大変な課題をすぐに始めるのか，あとで始めるのか。我々が日常的に行う課題は，社会人であれば報告書を作成したり，プレゼンテーションの準備をしたり，学生であれば試験勉強をしたり，認知的な負荷を伴う課題が大半を占める。これらの課題に取り掛からず，先延ばしし，提出締め切りやプレゼンテーションの本番，試験日に間に合わない場合，面接に落ちたり，入学試験に落ちたり，深刻な事態に陥る。先延ばし行動は「望まない結果になると分かっていながらすべきことを遅延する行動」と定義され，成人の 20%，学生の 80%が先延ばし行動を示す[Lay, 1986; Fernie et al., 2017; Harriott and Ferrari, 1996]。この研究では，この問題を，負荷を伴う課題をいつ遂行するかの遅延負荷に基づく意思決定の問題として捉え，負荷と時間に基づく意思決定・学習の行動原理と神経機構を明らかにし，これらが私たちの日常の意欲障害傾向，先延ばし行動傾向を説明するかを調べることを目的とする。

2022 年度は，fMRI 実験の実施を開始した。心理生理学研究部門の先生方に，fMRI 実験実施時の安全管理方法について意識を改めさせられる場面もあり，高い水準で安全に fMRI 実験を進める方法について勉強させていただいた。計画していたよりも，撮像人数が少なかった

点は残念だったが，確実に研究が前進している点はよかった。

2023 年度は，fMRI 実験のデータを取り終えるのが目標である。

15. 自立神経系の変動特性の安静時脳ネットワークへの影響評価）

成　烈完（東北福祉大学 感性福祉研究所）
福永雅喜（自然科学研究機構 生理学研究所）

安静時機能的 MRI (rs-fMRI) 信号の収集には多くの場合１０分前後の時間がかかり，その間に生理的変化が生じる可能性があり，睡眠を含む自律神経系の変化の rs-fMRI 脳機能ネットワークへの影響を調べることを目的で研究を行っている。前年度までの研究は次のとおりである。１）３テスラ MRI 装置により得た T1 画像データから脳下垂体のマスクを作成し，同装置での EPI データ（voxel size 3.4x3.4x3.4mm）から rs-fMRI の信号を抽出して信号特性を調べた。２）繰り返し測定を含むデータから信号を調べた結果，不連続的な変化と再現性の乏しさが確認された。それは脳下垂体特有のロケーションとサイズに起因すると判断された。３）改めて３テスラ装置でより高分解度のデータ（2x2x2 mm）を得た。EPI 画像上で脳下垂体内の voxel を同定して信号を調べた結果，不連続的な変化は見られなかった。４）その voxel と他の脳部位との相関を調べたが通常の DMN などで観察されるブロードなマップは見られなかった。今年度は再度 voxel のサイズを（3.4x3.4x3.4mm）にした上で，EPI 画像から脳下垂体を正確に同定するため, echo time を 7 ms にし，さらに multi-echo で測定を行った。EPI 画像の脳下垂体の位置情報をもとに信号を抽出して voxel 間の相関を調べた。正確な位置情報にもかかわらず脳下垂体内の voxel 間の相関は低かった。また，７テスラでの信号特性を比較するために，３テスラでのものとほぼ同様なパラメータで脳下垂体の測定を行い，データを収集し分析を行った。同様に voxel 間の相関は低かった。次年度も Multi-echo 信号の情報を用いて信号分離方法を考案するなどで脳下垂体固有の信号検出を継続する予定である。

16. 高磁場 MRI による認知機能に関連する脳機能マーカーの探索

釣木澤朋和（産業技術総合研究所）

本研究では，7T および 3T MRI を用いて，健常な被験者（20 歳～60 歳）の脳計測を行う。撮像は，① multi-echo multi-slice 法による T2 マッピング，② gradient echo もしくは spin echo EPI による functional MRI，そして③ MR スペクトロスコピー（MRS）といった複数の計測法を用いる。安静時においてこれらの ①～③ の計測を行い，続いてワーキングメモリータスク遂行時に② functional MRI および③ MRS 計測を行う。これらの撮像データから計算されたパラメータ（T2 値，グルタミン酸などの代謝物，脳機能ネットワーク等）を抽出し，タスク遂行時における脳活動を特徴づけるパラメータを，機械学習を用いて見出す。

今年度は 7T MRI 装置の不具合等により研究開始が遅れ，2022 年 12 月から条件検討を始めた。そのため，2022 年度は 2 月に 2 人の被験者の予備検討データを得るにとどまった。ワーキングメモリータスクには，2-back タスクを採用した。fMRI 計測には，グラジエントエコーEPI（TR = 1s）を用いた。タスク遂行中に MRS 計測を行うため，MRS には STEAM を用い，撮像パラメータを，TR = 8 s, average = 8 とし，7-8 回の計測を行った。結果次第で，実験条件および撮像シーケンスを変更し，本測定を開始する。

17. Concept of a minimal RF shield PET insert for 7T whole-body MRI system

[1]Md Shahadat Hossain Akram, Ph.D., [1]Sodai Takyu, Ph.D., [1]Fumihiko Nishikido, Ph.D.,
[2]Takayuki Obata, Ph.D., [1]Taiga Yamaya, Ph.D.
（量子科学技術研究開発機構 量子医科学研究所 [1]イメージング物理研究グループ 先進核医学基盤研究部
[2]医工連携画像研究グループ 分子イメージング診断治療研究部）
Masaki Fukunaga, Ph.D.
（大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 生理学研究所 システム脳科学研究領域 心理生理学研究部門）

In this project, we are studying on the development of a positron emission tomography (PET) insert for a 7 Tesla magnetic resonance imaging (MRI) system at the National Institutes for Physiological Sciences (NIPS). We have developed a microstrip transmission line (MS) radio frequency (RF) coil that integrates PET detector modules. The PET detector module includes scintillation crystal block, silicon photo multiplier (SiPM) and front-end readout electronics board, which can generate noise in the MRI images. For this reason, the detector modules are RF shielded. On the other hand, the MS RF coil requires an RF shield conductor as its basic coil element. In this project, we implemented the RF shield of the PET detector module as the ground conductor of an MS RF coil. This makes the multimodal system compact with reduced amount of RF shield. Both PET and MRI basic feasibility study was conducted with the novel PET integrated RF coil. In 2021, we submitted the study findings to a scientific journal for publication. In the subsequent review, the reviewer asked for new results. In 2022, we conducted another study to respond to the reviewer's concern. The study was conducted with a gel phantom that mimics human tissue properties, such as conductivity. The MRI study result is shown in Fig. 1 below. We succeeded to image for both gradient echo (GRE) and turbo spin echo (TSE) MRI sequences. Thank you very much.

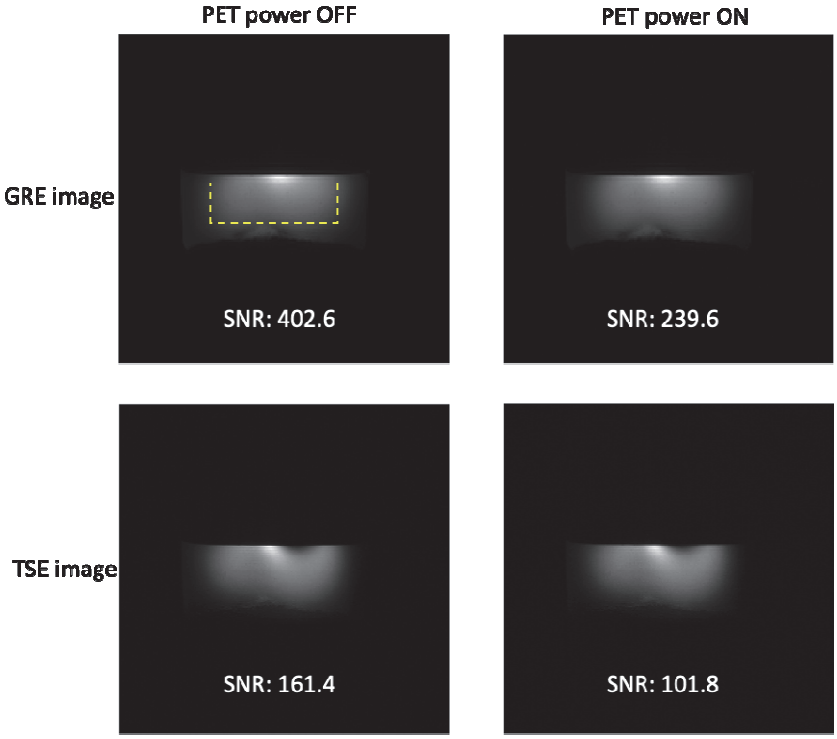


Fig. 1. MRI images for an agar gel phantom for the central transverse slice. SNR was measured for the dotted rantangular region. GRE sequence parameters: Slice thickness: 10 mm, Slices = 7, TR = 500 ms, TE = 5.5 ms, Flip angle = 30 degree, Image matrix = 192 x 192, FOV = 192 mm x 192 mm. TSE sequence parameters: Slice thickness: 10 mm, Slices = 7, TR = 1000 ms, TE = 8.8 ms, Flip angle = 120 degree, Echo train = 6, Image matrix = 256 x 256, FOV = 192 mm x 192 mm.

18. Development of 8-channel parallel transmission technology in 7 Tesla MRI system and its application to research of functional architectures in human association

Masako Tamaki，Kenichi Ueno，Chisato Suzuki，R. Allen Waggoner
(RIKEN Center for Brain Science)

The work on the project in FY202 cortices 2 focused on preliminary experiments for measuring MRS from subcortical regions and combining MRS / fMRI and EEG at 7T.

We investigated the quality of MRS data obtained from the subcortical region (hippocampus) mainly by modulating parameters specifically for water suppression, i.e. water bandwidth and water suppression delta position. We used ultra-short TE STEAM (TR=8s) for MRS sequence using 7T MRI (without EEG). Two subjects' data were collected. MRS data were preprocessed using MRspa (www. cmrr.umn.edu/ downloads/mrspa) and concentrations of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) and Glutamate were estimated using LCModel (Provencher, 1993). We found that water bandwidth needs to be around 250 Hz. Water suppression was not effective when using lower bandwidth (e.g. 135Hz), making it difficult to successfully estimate GABA or Glutamate. We also found that delta position can be adjusted based on debug loop function or a default value of +0.08 could also work. We plan to conduct similar experiments to confirm these findings. We also conducted safety tests for simultaneous MRS+EEG and fMRI+EEG measurements. We found no temperature increase around the electrodes by using fMRI / MRS simultaneously with EEG, confirming that it would be safe to conduct simultaneous measurements on human subjects as long as we adhere to basic safety rules (e.g. no loops are created, impedances are low). We went on to test simultaneous MRS+EEG and fMRI+EEG on 2 subjects. MRI-related artifacts on EEG were considerately larger in 7T than those in 3T. We plan to continue to work on simultaneous measurements using 7T.

These results form the groundwork for the planned MRS-EEG-fMRI studies.

19. 視覚認知に関わる眼球運動制御の全脳メカニズムの解明

三浦健一郎（国立精神・神経医療研究センター）
福永雅喜，山本哲也，定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所）

興味を惹いた対象物を見ようとする際には，その対象物の動きに合わせて何気なく眼を動かして，それを詳細に見ようとする。また，絵や写真を眺める際にも，何気なく自由に視線を動かしながら見る。このように半ば無意識的に眼を動かすことによって情報を獲得しようとする行動は，我々の認知機能の礎となる重要な脳の機能である。眼球運動の神経機構は古くからの神経科学の研究対象で，動物を対象とした研究で詳細に解析されてきた。ヒトでは，種々の神経・精神疾患に関連して異常が起こることが知られており，近年では疾患の客観的指標として注目されている。しかしこの機能に関わる脳領域とその役割についての理解は未だ断片的である。本研究では，最新の高解像度 MRI 計測・解析技術を用いて，視覚認知に関わるヒト眼球運動制御システムの全貌について詳細に明らかにする。

本年度は，これまでの研究で確立した機能的 MRI と眼の画像の同時記録方法を用いて計測された脳画像データについて，Human Connectome Project (HCP) consortium に準拠した脳画像解析法を用いて，健常被験者が視覚誘導性サッケード課題，追跡眼球運動課題，フリービューイング課題を行う際の脳活動の解析を行った。マルチバンド技術を用いた高い時空間解像度で計測した機能的 MRI 画像に対し，HCP パイプラインを用いた画像の前処理を行い，MultiRunFIX を用いたノイズ除去，Multimodal Surface Matching を用いたレジストレーションを行った。健常被験者 27 名の全脳解析によって，視覚誘導性サッ

ケードと追跡眼球運動を行う際の脳活動について，既報の知見に比べてより精緻に賦活領域を表出できることや，いくつかの既存研究においてそれぞれに報告されてきた賦活領域のほとんどを，一度に可視化できることを示した。さらに，賦活する大脳皮質の場所が統計的有意性を持って高髄鞘化領域に多く分布することを示した。フリービューイング課題では，被験者の眼前のスクリーン上に提示される写真を自由に見るブロックと，写真と共に提示される中央のクロスを見るブロックを交互に行うパラダイムを用いて調べた。健常被験者 21 名の脳活動の全脳解析の結果，頭頂連合野 LIP 野，前頭眼野，補足眼野，運動前眼野から下前頭回，下前頭溝にわたる領域において，写真を自由に見るブロックでの信号強度の増加が認められた。この結果は，この認知行動に関わる神経ネットワークを示唆している。脳領域間の構造・機能的結合性について詳細に検討することが今後の課題である。

20. 骨格筋代謝物質における 7T MRS/CSI の最適化と計測法の確立

日置麻也（帝京平成大学 健康医療スポーツ学部）
梅田雅宏（明治国際医療大学 基礎教養講座）
福永雅喜（生理学研究所 心理生理学研究部門）

【背景・目的】

骨格筋代謝物質は, 重要なエネルギー源として日常生活の身体活動や運動時に利用される。我々は，これまで筋細胞内脂質を含めた様々な骨格筋代謝物質を同定し定量化を試みてきた。しかし, 従来の 3T 装置による MRS では，同定が困難な骨格筋代謝物質がある。本研究は，7T MRS を用いて, 骨格筋代謝物質（筋細胞内・外脂質, タウリン, トリメチルアンモニウム, アセチルカルニチン, カルニチン, 総クレアチン, カルノシン）の計測法を確立することを目的に実験を行った。

【方法】

1) 骨格筋代謝物質のケミカルシフトと分裂をより正確に得るため，シーケンス（シム調整，磁場均一度評価），コイルの種類・位置，測定のタイミング等を検討した。本年度は，健常な男性・女性（8 名）を対象に，ヒト骨格筋・下腿部筋群（前脛骨筋, 長趾伸筋）の ^{1}H-MRS を実行した。2) ヒト骨格筋と同等の脂肪酸試薬を 600 MHz NMR スペクトルから収集し，リファレンスを作成した。このリファレンスを基準スペクトルとし，1)で検出した筋細胞内・外脂質から脂肪酸（3 種類 : Oleic acid，Palmitic acid，Linoleic acid）同定を試みた。

【結果】

1) 前脛骨筋の代謝物質（筋細胞内・外脂質，タウリン，トリメチルアンモニウム，総クレアチン）のスペクトルピーク分裂が正確に得られた。2) リファレンスから得た基準スペクトルから，3 種脂肪酸スペクトルが同定できた。また, 筋細胞内と筋細胞外の脂肪酸に分けて同定することができた。一方，7T は 3T と比較して，感度周波数領域が狭く，それが信号強度に影響していることがわかった。

【今後の方向性】

前脛骨筋の代謝物質スペクトルでは, 正確なケミカルシフトと分裂を得ることができた。被験筋は前脛骨筋にターゲットを絞り, シム調整, 磁場均一度の評価の検討を行い，さらなる精度上昇を目指す。引き続き，対象者を増やし，ヒト骨格筋代謝物質の MRS を収集，計測法を確立し，2 次元 CSI 法の応用へ進める。今後は，足関節底背屈運動負荷の介入による, 骨格筋代謝物質の経時的変化を検証する応用研究へ進める。申請者らが所属する大学の倫理委員会は承認され，3T MRS による予備実験の準備を進めている。

21. 意欲と運動を繋ぐ神経機構の解明

菅原　翔，中山義久，臼田　升，西村幸男（東京都医学総合研究所）
定藤規弘，福永雅喜（生理学研究所）

運動競技の場面で，「勝ちたい」という意欲に満ち溢れている時には高いパフォーマンスを出すことができ，よい結果を得られるということを多くの人が経験している。これまで，中脳や大脳基底核の神経核が意欲を司る脳部位であることがわかってきており，これらの神経核が運動を生み出す運動野に直接的に働きかけ，この系が運動の生成に重要であると考えられる。しかし，意欲と運動パフォーマンスとの間の因果関係を説明する神経科学的根拠については未だ不明である。そこで本研究では，意欲に基づく身体運動制御機構の神経基盤を解明するため，意欲に関連する神経核と運動関連領域と結びつける機能的結合と解剖学的結合を明らかにすることを目的とする。

これまでの共同利用研究の成果として，外的報酬の有無に関わらず，運動準備時の腹側中脳活動が後の運動出力と関連することを明らかにしてきた。これらの知見に基づき，昨年度より「腹側中脳を随意的に賦活させることで，後の運動出力を自発的に促進できる」という仮説の立証に取り組んでいる。研究１として，目標を達成するという情動イメージによって腹側中脳を賦活させる効果を検証した。7 テスラ MRI 装置を用いた実験により，情動イメージは非情動イメージに比べて腹側中脳をより強く賦活させ，直後の運動出力を促進することを確認した。現在は研究２として，腹側中脳をより選択的に賦活させることを目的に，腹側中脳の活動をリアルタイムに計測する計測系を準備している。次年度はリアルタイムに計測される腹側中脳の活動情報を利用することで，腹側中脳が運動出力を修飾するという因果関係を立証しようと考えている。

22. 7T MR 装置を用いた血管壁イメージングによる脳血管壁性状と 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法による脳血管血流動態の検討

礒田治夫（名古屋大学脳とこころの研究センター）
福永雅喜（自然科学研究機構生理学研究所）
小森芳秋，市場義人（シーメンスヘルスケア㈱）
鈴木啓太（名古屋大学大学院医学系研究科）

血流動態により血管壁リモデリングが生じ，血管壁の厚みや形状が変化する。また，3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法により血管内の血流速度が空間 3 次元で経時的に取得でき，血流動態が分かるようになった。さらに，血管壁イメージングと言われる血管壁の厚みや性状を検出する MR 撮影法が開発されている。本研究の目的は，高空間分解能，高 SNR の 7T MR 装置を用い，血管壁性状と血流動態の関連を検討することである。

2021/2/8 と 2021/3/22 に生理研で行った 7T MR 装置による血管壁イメージング撮像法の予備実験における血管壁の描出不良の問題点に対し，2022/7/19 に Zoom 会議を関係者で開催し，この問題点に対する対策，今後の方針その他を議論した。その結果，撮影パラメータ変更，撮影断面変更などを行い，血管壁描出向上を目指すこととなった。また，若年健常男性 10 名，高齢健常男性 10 名の検査を予定していたが，各々15 名にすること，被験者の動脈硬化性変化の程度を知るための脳 MR 検査（T2 FLAIR, SWI など）の追加，研究対象者の動脈硬化危険因子の調査の追加を行うこととなった。このため，名古屋大学 生命倫理審査委員会に研究計画変更を申請し，承認された。さらに，高齢健常男性被検者のリクルートのため，岡崎市シルバー人材センターと打合せを行った。また，血管壁の厚みの計測方法について，画像解析ソフトウエア会社との打合せも行った。

上記のように, ボランティア 1〜2 名を対象にした血管壁イメージング撮影法の再検討の後，本実験に移行するように準備を進めていたが，7T MR 装置の故障のため，予定通りに実験を進められない見込みとなるとともに，研究提案代表者の礒田の今年度末での退職などが重なり，今年度の研究は中止となった。

なお，今までの生理研で行った研究の一部は Magnetic Resonance in Medical Sciences に投稿中である。

23. Personalizing Brain Stimulation Dosage by New Neurostimulation Computational Model

Jose Gomez-Tames（currently Chiba University, previously Nagoya Institute of Technology）

1. Introduction. Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) is a non-invasive neuromodulation scheme that induces an electric current (i.e., electric field or E-field) in the brain below the stimulating coil. Computational methods have been adopted for estimating the stimulation intensity level and location, particularly for the hand motor area of the brain. However, no previous studies have investigated high-resolution TMS mapping of multiple sites based on individualized computation. In this fiscal year, we performed individualized computational analysis of the induced E-fields in each participant and implemented a post-processing method for high-resolution mapping of two neighboring muscles in the cortical motor [1-2].

2. Methods. MRI data were collected to construct individual anatomical head models to estimate individualized electric fields and determine the cortical representation location of two fingers activated by TMS. In the experiment, the coil was oriented to ensure that the direction of the current was perpendicular to the central sulcus (the optimal angle for the maximum E-field), which permitted reducing the number of required stimuli samples. Then, electromagnetic field analysis was conducted to determine the stimulation hotspots of two muscles (FDI and ADM). Our proposal was based on the multiplication of the individualized induced E-fields strength and its normal component to the wall in the brain cortex, corresponding to stimuli with higher motor evoked potentials (MEPs).

3. Results and Discussion. Figure 1 shows the mapping results of the two muscles in the hand motor cortex. It can be seen that the FDI location is lateral to the ADM, which is consistent with a previous study [3]. Five samples with more than 50 % of the maximum MEP amplitude in suprathreshold conditions would be needed to estimate the target muscle with high accuracy. Assuming that we do not have any prior knowledge of the maximum MEP, by choosing five samples randomly, the average localization error was 5.2 mm, which is still better than MRI-navigated systems.

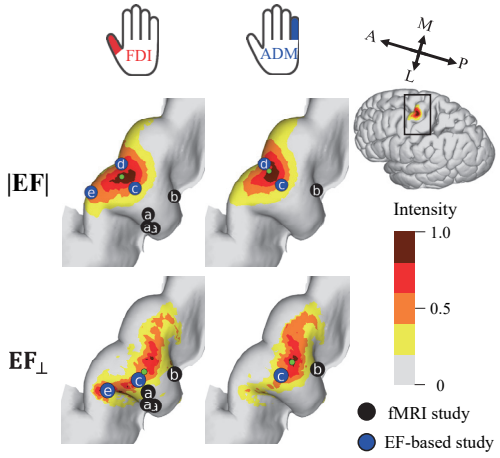


Figure 1. Group-level hotspot (n = 11) of the FDI and ADM muscles based on the electric field strength (|EF|) and normal component to the wall (EF⊥). The center of gravity is marked with a green dot. Hotspots of fMRI and EF-based studies are shown for comparison.

4. Conclusion. A simple and quick method for estimating the hotspot of two fingers was proposed based on the combination of individualized E-fields. The method reduces the number of required stimuli samples, and the brain mappings were in good agreement with the putative locations of the target muscles.

Reference

[1] K. Hikita, J. Gomez-Tames, A. Hirata. (2023). Mapping Brain Motor Functions Using Transcranial Magnetic Stimulation with a Volume Conductor Model and

Electrophysiological Experiments. Brain Sciences, 13(1), 116.

[2] Hikita, K., Gomez-Tames, J., & Hirata, A. (2022). Brain Function Mapping by TMS Combining Computational Dosimetry and Experiments, BioEM 2022, Nagoya, (Poster Presentation).

[3] A. Bungert, A. Antunes, S. Espenhahn, and A. Thielscher (2019). Where does TMS Stimulate the Motor Cortex? Combining Electrophysiological Measurements and Realistic Field Estimates to Reveal the Affected Cortex Position, Cereb. Cortex, vol. 27, no. 11, pp. 5083-5094,

24. 7T-MRI 対応 non-pTx 頭部 RF コイルシステムの開発

浦山慎一（京都大学･医学研究科附属･脳機能総合研究センター）
Martijn Cloos（Centre for Advanced Imaging, University of Queensland）

臨床用 MRI の数倍の磁場強度を有する 7 テスラ MRI は，送信波強度が体内で不均一になり，画質を大きく低下させることが問題となっている。その解決には，非常に高価で技術的に困難なパラレル送信システムによるのが一般的であるが，我々は，「RF モードスイッチング」と呼ばれる新しいコンセプトに基づいた専用 RF コイルシステムを設計・開発，安全性評価などを経て評価実験を行うことにより，この B1 不均一問題の解決に取り組む。特に 2022 年度は，生理学研究所・福永准教授との綿密な連携の下，送信経路選択スイッチ（Tx スイッチ）に関する基礎開発を行った。

まず最初は，3 層ループコイルを有する Tx スイッチの開発を行った。Tx スイッチは，MRI 装置の送信波電源アンプから出力された送信波電流を，MRI シーケンス制御コンピュータからの TTL 信号を受けて，2 つの出力ポートの内のどちらかに振り分けるための回路である。しかし完成した Tx スイッチは入力したパワーの 40 から 50%程度をロスするという低効率のものであった。そこで次に，1/4 波長の同軸ケーブルを用いたブロッキング回路を持つものを新たに設計，開発を行った。その結果，Tx スイッチのパワーロスは 20%程度と，まずは使用可能なレベルまで抑えることが出来た。そのため，新たに 2 チャンネルのループコイルをアクリル円筒に設置した送受信コイルシステムを開発し，ブロッキング性能の評価を行ったところ，TTL 信号により明確に 2 つの出力ポートの内の片方の送信波電流をブロックできていることが確認された。

以上の結果を受け，今後，更なる Tx スイッチの効率向上を目指すと共に，初代プロトタイプ機となる 4ch 送受信コイルを有するシステムの開発を行う予定である。

25. 計算負荷による唾液アミラーゼ変動と脳機能結合および内側前頭前野の神経アミノ酸分布の関係

梅田雅宏 [1]，福永雅喜 [2]，河合裕子 [1]，村瀬智一 [1]（[1] 明治国際医療大学，[2] 生理学研究所）

【目的】

現代社会においては，情報が過剰にあるために我々に過度のストレスを与えている。そのため，内側前頭前野がストレスの処理に関連していることが注目され，その領域における GABA やグルタミン酸レベルの検討が報告されている。また，計算作業によって唾液アミラーゼや心拍周波数に変動が生じることが報告されている。そこで，これらの変動と，これまでに開発された CSI 法による内側前頭前野の代謝物濃度及び安静時 fMRI による DMN との関連性を明らかにすることを目的としている。

【計画】

生理学研究所に設置されている 7T-MRI 装置を使用して，脳の 3D-MRI データを取得し，内側前頭前野を中心に関心領域を設定して 1H-MRS を CSI 法で計測して神経代謝物質マップを作成し，併せて安静時 fMRI 計測を行い，脳内ネットワーク結合を抽出する。MRI および MRS の計

測後に, 計算課題によるストレス負荷による影響を評価する。計算課題は，一桁の数字に加減算を行い，その結果にさらに一桁の加減算を行う計算課題を 3 回続けて行う計算課題を 40 課題(行)，数字と符号を乱数で作成した。その計算表を 3 パターン準備し, 被験者に 1 分間でできる限りの速度で行ってもらい，1 分後に停止し，その後 15 秒休憩する。これを 3 回繰り返す。また，計算課題前後での唾液アミラーゼおよび心拍変動を計測した。

【結果】

3 例の計測を行い，2 例では計算課題前の唾液アミラーゼ計測と計算課題遂行前後での唾液アミラーゼ計測の結果に違いが見られなかった。全ての例で脳全体の fMRI を計測でき，1 例では前頭前野の MRS で神経アミノ酸が十分な分解能で確認できた。本年度は心拍変動を準備できなかったため次年度の課題としたい。

【課題】

唾液アミラーゼ計測による結果で, どの例でも負荷を示す値が計測できなかったため, 計算課題による負荷の適正量を検討する必要がある。また，唾液アミラーゼに加えて心拍変動を解析しその結果を合わせて評価することが望まれる。さらに例を増やし，脳内ネットワークおよび代謝物質と生理データとの相関について検討する。

26. 呼吸活動と課題遂行に伴う青斑核活動の解明

中村　望，越久仁敬（兵庫医科大学 生理学生体機能部門）
福永雅喜，定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所 システム脳科学研究領域 心理生理学研究部門）

これまで我々は，呼吸活動が認知機能に直接影響を与えることを明らかにしてきた。心理生理学的手法を用いて，息吸う瞬間（EI 転移期）というタイミングが，記憶課題の想起を行っている最中に入り込むと，課題の識別の反応時間が約 0.5 秒延長し，正答率が 21 %低下することを 2018 年科学誌に報告した。

記憶想起は，脳内ネットワーク活動が関与しているが，これらの現象が，実際に脳の中でどのような形で起こっているのだろうか。この EI 転移期とは，延髄の吸息中枢である呼吸リズムジェネレータ PreBötzinger Complex が活動を開始するタイミングと一致することが知られている。また，近年の研究から，呼吸は，嗅覚，触覚，視覚などの感覚情報を獲得する際に，脳活動に合わせて同期することが報告されている。自発的なボタン押しに関しても，ボタン押しのタイミングは，呼吸と同期していることがわかっている。

このような背景から，我々は，同じ心理生理的手法による記憶課題を fMRI 撮像下で行った。健常被験者に見本合わせ再認記憶課題を行ってもらい，同時に鼻カニューレを用いて呼吸活動をモニターした。認知課題の成績については，前回の論文と同様，息吸う瞬間が想起時に出現すると課題の正答率が低下することが示された。

fMRI 画像データ解析については，Multirun ICA-FIX 法と AFNI RetroTS プログラムを用い，呼吸アーチファクトを含めたノイズを除去し，fMRI 画像データを解析した。その結果，EI 転移期を含んだ想起プロセスは，それ以外の想起プロセスと比較して，右 temporoparietal junction の anterior cluster (TPJa) での活動低下が認められた。TPJa は，ventral attention network の node の一つであり，最近の研究では，salience network への投射も確認されている。重要なこととして，TPJa 活動は，記憶課題の EI 転移期を含めた想起プロセスで見られ，記憶獲得プロセスや delay プロセスでは活動が見られなかった。これにより，想起プロセスへの呼吸作用は，TPJa 活動に伴って，課題のパフォーマンスを促進させることが明らかになり，その成果は，2022 年の Cerebral Cortex Communication に掲載された。

TPJa 活動は，近年の研究では，青斑核を介して生じることが示唆されている。また，呼吸リズムジェネレータ PreBötzinger Complex は，青斑核への遠心性投射を有し，その投射を遺伝学的に損傷させると，呼吸活動には問題ないが，注意レベル・覚醒レベルが低下することがわかっている。今後，高磁場 fMRI を用いて，脳幹に存在する青斑核の活動を検討し，呼吸活動から TPJa に至る活動経路を明らかにしていく予定である。

27. 7T レイヤーfMRI によるヒト大脳皮質層別の情報処理機構の解明

楊　家家，于　英花（岡山大学 学術研究院ヘルスシステム統合科学学域）
福永雅喜，定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所 システム脳科学研究領域）

本研究は，７テスラ超高磁場レイヤーfMRI 技術を用いて，ヒトの触覚予測過程を大脳皮質レイヤーレベルで解明することを目指している。触覚情報は，脊椎や視床などを経由して大脳皮質の中心後回にある一次体性感覚皮質（S1）に到達した後，より高次脳領域へ伝達されることが知られている。その後，S1 と高次脳領域間の皮質レイヤーレベルで構成されるミクロな神経回路を通じて，双方向の情報処理を実現にし，触覚予測を可能にしていると考えられる。これまでの研究では，主に S1 における予測と予測誤差処理をレイヤーレベルで検証してきた。その結果，触覚感覚情報は S1 の中間層に送られ，高次脳領域からの予測などのバックワード信号は，S1 の表層と深層へ投射されることが示唆された。本年度は，予測信号生成に関わる帯状回皮質レイヤー別の活動の記録を中心的に行ったと同時に，触覚予測に関する全脳処理ネットワークの同定も進めてきた。今後，これまでの研究で得られた知見をまとめ，S１と高次脳領域間のレイヤー情報処理機構を明らかにし，その成果を関連学会に発表する予定である。

28. 意味の創発に関わる内的表象形成メカニズムの解明

寺井あすか（公立はこだて未来大学）
地村弘二（群馬大学）
吉本隆明（立命館大学）
近添淳一（㈱アラヤ）
定藤規弘（生理学研究所生体機能情報解析室・立命館大学）

本研究課題では, 比喩生成時において内的表象が形成される神経メカニズムを解明することを目的とし, 提示された視覚イメージを口頭で説明する画像説明実験とともに, 聴覚刺激を伴う映像鑑賞課題・画像説明実験で頻出した 8 種類の概念（回答）を用いた one-back 課題を用いた MRI 実験を実施し, 意味認識に関わる神経メカニズムの解明を目指している。 具体的には，映像鑑賞課題において得られたデータに対し searchlight hyperalignment 法を用いて，各被験者の神経パターンを共通表象スペースへと変換するモデルを学習し, 画像説明実験における比喩生成過程の神経パターンと one-back 課題において対象とした 8 種類の概念に関する神経パターンを共通表象スペース内のベクトルに変換し, 比喩生成時に形成される内的表象について検討を行う予定である。

2020 年度は Covid-19 の影響により実験実施ができず，2019，2021 年度に合計 12 名の被験者にて実験を実施した。2022 年度は 4 名の被験者での追加実験を実施し，これまでに 16 名のデータ収集を行った。

また，今年度はこれまでに実施した画像説明実験において生成された比喩を対象とし，既存の物体認識モデルに基づく計算機実験を実施し，抽象画像の形態特徴が比喩生成に与える影響について検討を行った。既存の物体認識モデル（Convolutional Neural Network）に対し，エッジ検出・ぼかし処理を行った画像データを用いた再学習を行うことにより，エッジ特徴の認識を促成・抑制した物体認識モデルを作成し，抽象画像を用いたシミュレーションを行うことで，抽象画像の説明において比喩として用いられた物体の認識にエッジ促進・抑制が与える影響を確認した。

29. 将来の報酬を期待するヒト脳の価値表象の動的特徴と選択形成の解析

地村弘二（群馬大学情報学部）

未来の報酬の予期は，報酬を求める行動を導く重要な心理的機能である。異時的選択パラダイムは，将来の報酬に関する意思決定を検討するための一般的な枠組みであり，行動主体は，大量で後になって得られる報酬と，少量ですぐに得られる報酬のどちらかを選択する。この行動パラダイムでは，行動主体は一度選択をすると，ずっと待ち続ける必要がある。しかし，最初の選択で待つことを選んだとしても，将来の報酬をずっと待ち続けたいと思うのだろうか？

この疑問に答えるために，自然環境における採食行動に着想を得た行動課題をヒトの fMRI 実験に適用した。この課題では，ヒト被験者は，異時的選択と同様に，将来届けられる本物のジュースの報酬を待つが，異時的選択とは異なり，好きなときに待つのをやめて新しい環境に移ることができる。そのため，被験者は，現在の待機状況に留まるか，そこから離れて別の環境を探すかのトレードオフに常に直面していた。

被験者は，より長い遅延と，より少ない報酬を経験すると，その環境ではより頻繁に，より早く待つことをやめた。そして，前頭前野頭極部で将来の報酬の予期を反映する動的活動が高まったとき，被験者は現在の環境にとどまっていたが，この活動が小さくなると，被験者は現在の環境で待つのをやめ，新しい環境へ移動した。また，前頭前野頭極部と海馬の予測活動は，異なる意思決定戦略と関連していた。すなわち，前頭前野頭極部の活動は，離脱戦略を用いる被験者で増強され，一方，留まる戦略を用いる被験者は海馬の活動が増強されていた。以上の結果は，海馬前頭葉の予測ダイナミクスが，将来の報酬を予測しながら継続的に意思決定を行っていることを示唆している。

30. 機械学習と fMRI を用いた抒情の生じるメカニズムの解明

研究代表者：持橋大地（統計数理研究所）

本共同利用実験では，生理学研究所の fMRI 実験施設を用いて，短歌の惹起する抒情についての実験と分析を行った。特に本年度は，同じ 31 文字からなる短歌および平文について，その脳活動の fMRI 計測結果と，BERT の内部状態を対応づける研究を進めた。これには二通りの方法によって研究を行った。

発表文献 1 の研究）　短歌のテキストから得られた BERT の内部状態の分散表現を，血流動体応答関数(HRF)を畳み込むことで fMRI の観測値に回帰する。入力として BERT の様々な層を用いることで，抒情に関わる入力は，BERT の深い層であることが明らかになった。平文および短歌の判別タスクにおいて，脳活動において差異が大きい領域は，腹内側前頭前皮質（vmPFC）および楔前部（precuneus）などであることを明らかにしており，それらの領域において，BERT の入力層の深さと脳活動の相関を示したのが図 1 である。これにより，vmPFC および precuneus において深い層と対応している領域があることが明らかになった。この結果は，BERT の層の深さと脳活動の principal gradient score を比較することによっても検証している。

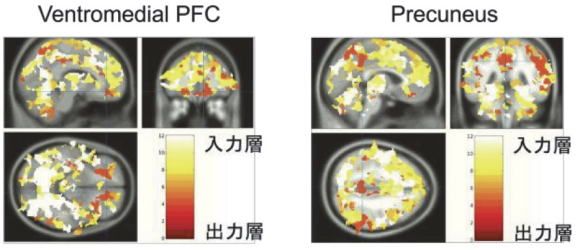


図 1：BERT の入力層の深さと fMRI 脳活動の相関.

発表文献 2 の研究）　この研究では，BERT の中間層から脳活動への予測をリッジ回帰によって行う。さらに，言語的入力を BERT で処理した入力層から回帰された脳活動を，テキストが平文の場合と短歌の場合に分けて考え，表象類似度解析によって比較を行う。さらに，このときの脳活動のハブとなっている脳領域を発見するために，PageRank アルゴリズムによる解析を行って，BERT

の様々な入力層の深さに対して，どの脳領域が中心的となっているかについて分析を行った(図 2)。分析結果の詳細は論文に譲るが，島皮質や帯状回がこうした領域として抽出され，人間が短歌を，平文と異なる情動的なものとして理解し，反応していることが示唆されている。これらの研究は，2023 年度に国際会議にも発表する予定で準備中である。

これらと同時に，大学短歌会に所属する学生を対象にして，短歌の良さ-悪さおよび好き-嫌いを評価する実験も継続しており，2022 年度は多次元の IRT（項目反応理論）による分析を進めた。論文は 2023 年度に発表しており，国際会議での発表を検討中である。

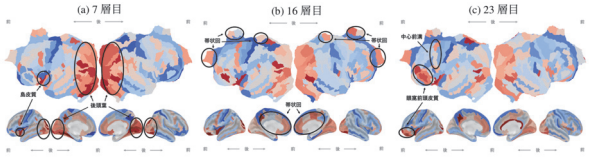


図 2：GPT 各階層における詩的反応の違い(赤／青).

発表文献

1.「人間の脳と人工知能における短歌の鑑賞に関する神経活動の比較」．船井正太郎，近添淳一，持橋大地，浅原正幸，松井鉄平，鹿野豊，川島寛乃，磯暁．言語処理学会第 29 回年次大会 B5-2, 2023.

2.「短歌を読む際の情動に関する脳活動の解析」．佐藤杏奈，近添淳一，船井正太郎，持橋大地，鹿野豊，浅原正幸，磯暁，小林一郎．言語処理学会第 29 回年次大会 H10-4, 2023.

31. 美学的体験や創造的体験とその心理的効果に関する認知神経科学的研究

石津智大（関西大学）
大黒達也（東京大学）

ヒトは快不快を超えて他者に資する行動に自分を動機づけられる利他性や共感性を備えている。悲哀と美の混合感情とされる「悲哀美」には利他性を促進させる効果があり，現在認知科学で注目される美学的概念である。本研究では，美的悲哀を構成する情動を明らかにし，さらに美的悲哀が利他自己犠牲行為へ与える影響について，行動特性と脳内機構の解明を目的とする。そのため行動実験と fMRI による脳機能測定実験を行う。 本研究は，これまで定性的に議論されてきた美的悲哀について脳情報学の視座から定量的に理解し，負の感情価をもつ美学的概念と不快を超える人間性の理解の進展に寄与するものである。

本年度では，新型コロナ感染症の拡大を考慮して対面での実験を避け Cowen & Keltner (2017) の公開データを利用して以下の分析を行った。350 個以上の動画刺激を，参加者が 34 の感情項目それぞれにリッカート尺度によって評価したデータを用いた。まず全動画を A：歓喜，B：悲哀，C：審美，D：歓喜美，E：悲哀美，という 5 群に動画を分類した。つまり，「悲哀美」「歓喜美」という概念の導入や直接的な評価なしに動画の評価を行わせ，事後的に各美的概念に群分けした。その後 34 感情データを主成分分析した。PC1 を感情価の軸と前提し分布を考察すると，A-C 群が感情価軸で分離できるのは当然だが，興味深いのは D（歓喜美）と E（悲哀美）の分布である。歓喜美群はおおよそ歓喜と審美の群の間に表現されたが，これは経験的にも理解しやすい。一方で悲哀美も歓喜と審美の群の間に，つまり PC1 の感情価軸上ではポジティブと考えられる位置に分布するという結果となった。このことは，言語的にはネガティブな感情価をともなうと直観・表現される悲哀美であるが，多変量解析で検証すると最終的な経験としてはポジティブな感情価として受容している可能性を示している（Daikoku, Myojin, Ishizu, under review）。芸術美学の議論では，美的悲哀の悲哀は真にネガティブな感情価をもつ現実の悲哀ではなく，仮想の悲しみとされていた。本結果からは，さらにそれが最終的には快（ポジティブ感情価）をもつ可能性を示した。

32. 超高磁場機能的磁気共鳴画像法を用いたヒト脳活動の高分解能計測および解析法の研究

宮脇陽一，高原　唯，上田大智，浅見徳哉（電気通信大学大学院情報理工学研究科）
安田　玲（電気通信大学情報理工学域）
荒井　謙（東京大学大学院工学系研究科）
山下宙人（ATR 計算脳イメージング研究室）
福永雅喜（生理学研究所心理生理学研究部門）

ヒトの外界認識では，複数脳部位が逐次的かつ階層的に関与する神経活動が重要である。そのメカニズムを理解するには高時空間分解能でのヒト脳活動計測と解析が必要である。しかしながら，こうした目的のために十分な時空間分解能でヒト脳活動を計測し，解析可能な手法は現存しない。本研究では超高磁場 MRI の性質を活用し，ヒト脳活動の高時空間分解能計測ならびに計測データからの高精度な情報抽出を行い，脳内での外界情報表現を研究することを目的とする。

2022 年度は，昨年度に引き続き，運動感覚野における詳細な情報表現抽出を目指し，手指を用いたタッピングタスク時における手指の身体表象図式のマッピングが人工身体部位の付加前後でどのように変容するかを超高磁場 7T fMRI 装置を用いて計測する実験を中心的に実施した。今年度は，昨年度とは異なる体部位に人工身体部位を装着することで，脳活動の変化が人工身体部位を装着する体部位に依存するのかどうかを検証した。計測条件は昨年度と同じで，空間分解能にして 1.2×1.2×1.2 mm の高解像度ヒト脳活動撮像を行い，運動感覚野における手指運動に対応する脳活動を得ることに成功した。ここまでの結果は実験が妥当に進んでいること示すものであったが，昨年度までのデータと統計的に比較するにはデータ数がまだ不足しているため，現在も同様の実験を継続中である。

運動感覚野における脳活動計測と同時に，視覚刺激に対する皮質及び皮質下の同時脳活動計測も，同じく超高磁場 7T fMRI 装置を用いて継続している。今年度は，皮質下脳活動の信号を計測するための実験パラダイムおよび計測手法の改良を中心に実施した結果，高次視覚野と有意に相関する信号を計測することに成功した。今後は得られた信号からさらなる詳細な情報を引き出す解析の適用を進める予定である。

33. 情動的影響の計量経済学的構造モデル推定

渡辺安虎（東京大学大学院経済学研究科）
近添淳一（生理学研究所･生体機能情報解析室）

本研究では，経済学で主に考慮される意思決定状況での情動的反応の影響とその脳内のメカニズムを解明し，これらが動学的に次の意思決定に与える影響を分析することを目的とする。本研究では実験課題をおこなっている最中の脳波計測または機能的 MRI 計測をおこない，この計測結果を脳活動を変数として取り込んだ経済学的構造モデルを構築・推定し，推定したモデルを用い神経基盤における情動的反応を操作した場合についての反実仮想分析を行い，情動が意思決定に及ぼす影響を計量経済学的に分析する。2022 年度の実験では①不完備モニタリング下の囚人のジレンマゲーム，および②インフレ期待の形成に関して実験を行った。現在，実験データを解析するとともに，2023 年度に実施予定のナッジに関する実験の準備を進めている。

被験者数 78 名（8 月 31 日～12 月 9 日）

34. 期待外れを乗り越える心理の神経基盤

小川正晃（京都大学）

（目的）ヒトや動物は，結果が期待に沿わずに「期待外れ」が生じても，それを乗り越えようとすることで，将来の成功に繋げる。しかし期待外れを乗り越える心理を担う神経基盤は不明である。申請者はラットを用いて，その基盤神経回路を明らかにした。本研究は，その知見を基に，ヒトでの神経基盤を全脳レベルで検討することを希望していた。そのため fMRI による脳機能画像を用いて，期待外れを乗り越える心理を誘導する行動課題遂行中のヒトの脳活動を検討する。

（結果）予定した研究を担当する予定であった大学院生がコロナ禍の影響で体調を崩してしまい，予定した研究を遂行することが困難となってしまったため，研究を実施できなかった。

35. 脳機能画像法を用いたヒト味覚野神経基盤の解明

近添淳一（㈱アラヤ･研究開発部）
定藤規弘（生理学研究所･心理生理学部門）

哺乳類の視覚野の神経細胞は retinotopy や orientation column といった，機能を反映した構造を持つことが知られている。一方で，味覚や嗅覚においては，機能地図状構造の存在は長年議論されてきたが, 未だに結論が出ていない。味覚においては，近年，島皮質における味覚マップの存在を示唆する結果が, げっ歯類を用いた二光子イメージングおよび光遺伝学的研究によって示されているが, ヒトにおいて, 味覚マップが存在することを支持する証拠は得られていない。生理学研究所には国内で数台，世界中でも数十台しか導入されていない超高磁場 MRI（７テスラ）が設置されている。共同利用研究者は既にこのシステムを使用して高解像画像を用いた機能的 MRI 実験を行う系を確立しており，その結果を論文出版した実績がある（Chikazoe et al., Nature Communications, 2019）。さらに，共同利用研究者のグループでは 1 mm 以下の解像度で機能的 MRI 画像を取得することで，皮質内の階層構造を明らかにする研究を進めている。本研究計画では超高磁場 MRI の特長を生かした撮像法（3DGradient-and-Spin-Echo (3D-GRASE) ）と解析法（表層レイヤーのマスキング）を組み合わせることで, 島皮質の正確な機能地図を作成する。本年度は，領域間活動推定法を応用することで，ヒト味覚野である島皮質の活動から，視覚野や頭頂葉など，味覚情報処理とは関連の乏しい脳領域の活動により説明できる成分を解析的に除去することで, 島皮質の活動パターンの内, 味覚情報に関連する情報を強調する手法の開発を進めた。次年度は，この手法を超高磁場 MRI で計測した味覚刺激提示時の機能的 MRI 画像に適用することにより，島皮質におけるヒト味覚マップの存在を検証する。

36. 機能的 MRI による両価的価値情報の統合処理過程の解明

近添淳一（㈱アラヤ･研究開発部）
定藤規弘（生理学研究所･心理生理学部門）

アダム・スミスが「国富論」において提示したように，古典的経済学においては，経済合理的な個人（homo economicus）の行動が仮定されてきた。経済学と心理学の融合領域である行動経済学においては, 心理実験や経済学実験の結果から, 個人の経済行動は経済合理的な振る舞いから大きく逸脱していることが示されているが（Ariely 2008），これがどのようなメカニズムに起因するものかは未だ明らかにされていない。貨幣を介した経済活動は人間

固有のものであり,進化的にはごく最近現れたものであることから，経済行動に関与する神経基盤は，進化的により古いシステムを異なる目的に転用する働き,いわゆる外適応の一種であると考えることができる。本研究計画においては,「個人の経済的判断が非合理的であることの起源は,神経基盤の外適応に求められる」との仮説をおき，これを検証する。特に，ポジティブな刺激とネガティブな刺激が異なる神経基盤で処理されるのみでなく,これらを統合する神経基盤が別個に存在すると仮定し，機能的 MRI 実験によって，快・不快・統合的価値の３種類の情動的価値の神経基盤の同定を行う。2022 年度は，経済的価値判断と倫理的価値判断を行う際の脳活動を計測する機能的 MRI 実験を行い，それぞれ 40 名以上の被験者のデータを取得した。経済的価値判断実験においては，被験者は当選確率と当選時の報酬,落選時のコストの情報がそれぞれに設定された，2 種類のくじを与えられ，どちらがより好ましいかを選択する。この際，期待値はどちらのくじも等しくなるように設定しているが，被験者の選択は，リスク選好性向（回避性向）を反映して，一定の傾向を示すことが明らかになっている。くじの結果提示時の脳活動から，利得と損失を表象する脳領域を同定し，これらの脳活動から，被験者が主観的に表象している利得と損失のモデルを作成する。

このモデルにより，利得と損失が潜在的に混在しているくじ選択時の脳活動に基づいて，主観的利得と主観的損失の推定を行う。リスク選好的被験者は，実際に与えられている利得よりも大きな額の利得を表象し，実際に与えられている損失よりも小さな額の損失を表象する，というパターンを予想している。

さらに，このモデルを用いることで，トロッコ問題のような快・不快の混在する状況における倫理的判断を脳活動から予測することを目指している。

37. 自己運動関連脳領域の応答特性に関する研究

蘆田　宏（京都大学大学院文学研究科）
竹村浩昌，羅　俊翔（生理学研究所）

本研究は，大脳自己運動関連領域の視覚速度応答特性を調べることを目的としている。2022 年度後半からに共同研究として採択されたため，本年度は次年度に本格的に実施する実験研究の準備を行なった。

動物にとって，環境中での自己身体の移動を把握することが生存のために必要不可欠となる。そのため前庭器官を始め複数の感覚が利用されるが，ヒトにおいては中でも視覚の影響が大きく，身体運動を模した視覚運動刺激を観察することにより強い自己運動感覚が誘発される（ベクションと称される）。これまでの研究で，視覚運動情報処理を支える後頭から頭頂，側頭に拡がる大脳皮質のネットワークが明らかになってきたが，各部位の働きについては不明な点が多い。本研究は，7T fMRI を用いて関連部位の視覚速度応答特性を詳細に調べることにより，視覚運動ネットワークの機能と自己運動情報処理のメカニズムを解明することを目指している。

今年度はオンラインミーティングと研究所訪問により，視覚刺激の予備的検討のための心理物理実験の準備と，fMRI 実験のデザイン策定を行なった。心理物理実験では，拡大・縮小オプティックフロー刺激を用いて速度への感度を調べる予備的実験を実施した。今後，さらに参加者を増やして fMRI 実験における刺激パラメータを調整する予定である。また，大脳自己運動関連領域の fMRI ローカライザ刺激を検討し，分割フローパラダイムによる実験デザインを決定した。また，自身の 7T MRI 実験参加の準備として 3T MRI 装置による構造画像等の撮像を行なった。

検討の結果，7T MRI スキャナ内で十分に自己運動感覚を誘発するには，ヘッドコイルによる干渉など，視覚刺激の提示法に課題があることが明らかになった。現在,竹村教授・羅研究員による刺激提示系の改善策が進められており，7T MRI 装置を用いた実験が実施できる目処がたった状況である。なお，本課題は 2023 年度の継続が認められており，引き続き準備を進めている。

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔　目　　次　〕

1. 構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて
（代表・世話人：中條浩一　2022 年 9 月 5 日－6 日）…… 255
2. 細胞の局所コミュニティ研究会
（代表・世話人：珠玖　仁　2022 年 12 月 19 日－20 日）…… 264
3. ナノ・メゾスケールから捉えるシナプス制御機構の新展開
（代表・世話人：大塚稔久 2023 年 2 月 3 日）…… 275
4. クライオ電子顕微鏡の応用拡大
（代表・世話人：岩崎憲治　2022 年 11 月 1 日）…… 282
5. 上皮膜輸送と細胞極性形成機構の統合的理解を目指して
（代表・世話人：清水貴浩　2022 年 7 月 14 日－7 月 15 日）…… 287
6. 温度生理学研究会：温度の計測・制御から生理的意義を再考する
（代表世話人：内田邦敏　2022 年 9 月 30 日）…… 299
7. 痛み研究会 2022 ～痛みの統合的理解とその制御に向けて
（代表世話人：中川貴之　2023 年 1 月 19 日－1 月 20 日）…… 305
8. TRP チャネル研究会（―TRP チャネルのダイバーシティ―）
（代表・世話人：城戸瑞穂　2022 年 5 月 26 日－5 月 27 日）…… 317
9. 2022 年度生理研心血管研究会 ―比較統合生理学的観点からの循環生理の解析－
（代表・世話人：山田充彦　2022 年 10 月 13 日－10 月 14 日）…… 326
10. 食欲・食嗜好を形成する感覚・内分泌・神経基盤研究会 2022（食欲･食嗜好研究会）
（代表・岩崎有作　2022 年 10 月 1 日）…… 345
11. 臓器連関による生体恒常性維持機構と生体活動の統合的理解
（代表・世話人：岩部美紀　2022 年 11 月 26 日－11 月 27 日）…… 355
12. 機能と構造の視覚科学研究会
（代表・世話人：鯉田孝和　2022 年 9 月 20 日－9 月 21 日）…… 366
13. 次世代シナプス生理学による脳神経機能の理解
（代表・世話人：山下貴之　2022 年 12 月 8 日－12 月 9 日）…… 374
14. 細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線
（代表・世話人：日比野　浩　2022 年 9 月 15 日－9 月 16 日）…… 383
15. 心的状態の理解に向けた行動・生理的指標の計測と解析
（代表・世話人：網田英敏　2022 年 9 月 26 日－9 月 27 日）…… 397
16. 行動制御の脳内基盤理解へのマルチディシプリナリーアプローチ
（代表・世話人：橘　吉寿　2023 年 3 月 18 日－3 月 19 日）…… 404
17. 力学系の視点からの脳・神経回路の理解
（代表・世話人：青柳富誌生　2022 年 12 月 2 日－12 月 3 日）…… 406
18. 人工知能技術と科学の協調と展開
（代表・世話人：山下祐一　2022 年 7 月 14 日－7 月 15 日）…… 411
19. 第１２回社会神経科学研究会　「社会神経科学研究の今後の展開に向けて」
（提案代表者：松田哲也　2022 年 10 月 27 日－10 月 28 日）…… 416

20. 脳神経倫理研究会
（代表・世話人：中澤栄輔　2023 年 1 月 27 日）…… 424
21. 多次元脳形態研究会
（代表・世話人：一戸紀孝　2022 年 11 月 24 日－11 月 25 日）…… 426
22. 記憶・学習の包括的理解に向けたアプローチ
（代表・世話人：北村貴司　2022 年 9 月 7 日）…… 432
23. 自発活動と形態形成から紐解く胎児脳発達メカニズムの解明
（代表・世話人：多賀厳太郎　2022 年 10 月 21 日－10 月 22 日）…… 442
24. 情動の本質を捉える最先端アプローチ
（代表・世話人：佐々木拓哉　2022 年 9 月 8 日）…… 446
25. 極限環境適応
（代表・世話人：金　尚宏　2022 年 11 月 10 日－11 月 11 日）…… 452
26. 大脳皮質を中心とした神経回路：構造と機能，その作動原理
（代表・世話人：田中康裕　2022 年 12 月 1 日－12 月 2 日）…… 458
27. 病気につながる血管周囲の微小炎症を標的とする量子技術，ニューロモデュレーション医療による
未病時治療法の開発
（代表・世話人：　田井中一貴　2022 年 10 月 21 日）…… 462
28. コミュニケーション研究の展望：双方向コミュニケーションを駆動する神経・行動因子
（代表・世話人：岡本悠子　2022 年 9 月 5 日）…… 467

1. 構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて

2022 年 9 月 5 日－6 日

代表・世話人：中條浩一（自治医科大学・医学部統合生理学部門）
所内対応者：久保義弘（生理学研究所・神経機能素子部門）

（1）Two-pore channel のゲーティングにおける PIP_2 結合および電位感受性の寄与はリピート 2 の S4 ヘリックスの状態に依存する

下村拓史，平澤輝一，久保義弘（生理学研究所・神経機能素子研究部門）

（2）KCNQ1-KCNE3 チャネル複合体が常に開状態になるメカニズム

糟谷　豪，中條浩一（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

（3）電位依存性ホスファターゼ VSP は電位センサー・酵素両ドメイン間の直接相互作用により分子内で電位情報を酵素活性に変換する

水谷夏希[1]，川鍋　陽[1,3]，神野有香[1,4]，成田宏隆[2,5]，米澤智子[1,6]，中川敦史[2]，岡村康司[1]
([1]大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]大阪大学蛋白質研究所
[3]現所属：香川大学医学部分子生理学，[4]現所属：大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学
[5]現所属：国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構，
[6]現所属：大阪大学大学院医学系研究科附属共同研究実習センター）

（4）ATP は電位依存性プロトンチャネル Hv1 に直接結合して活性を制御する

川鍋　陽[1]，竹下浩平[2]，高田麻紀[1]，藤原祐一郎[1]
([1]香川大学大学医学部分子生理学講座
[2]理化学研究所・放射光化学研究センター・生物系ビームライン基盤）

（5）チラコイド局在電位依存性アニオンチャネル VCCN1 のクライオ電子顕微鏡を用いた立体構造解析

萩野達也（東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻）

（6）藻類の光受容型巨大イオンチャネル複合体 －ベストロドプシン－

井上圭一（東京大学物性研究所）

（7）膜張力感知イオンチャネル PIEZO1 の筋再生における役割

平野航太郎[1,2]，原　雄二[2]（[1]京都大学大学院工学研究科，[2]静岡県立大学薬学部）

（8）2 型リアノジン受容体の Ca^{2+} 結合による開口機構の構造的解明

小川治夫（京都大学大学院薬学研究科）

（9）脂質ナノディスクを利用したギャップ結合ファミリータンパク質の構造と膜透過機構

大嶋篤典（名古屋大学細胞生理学研究センター・大学院創薬科学研究科）

（10）四量体型イオンチャネルにおける二価カチオンによる阻害機構の構造基盤の解析

入江克雅（和歌山県立医科大学薬学部・薬品物理化学研究室）

（11）遺伝性疾患に関連する変異 GIRK チャネルのイオン選択性の新規制御機構

陳　以珊[1,2]，久保義弘[2]
([1]和歌山県立医科大学・医学部薬理学講座，[2]生理学研究所・神経機能素子研究部門）

（12）hERG Kv チャネル制御の機能構造的理解

古谷和春（徳島文理大学薬学部薬理学）

（13）カリウムチャネル KcsA とイノシトールリン脂質の分子間相互作用と機能修飾

紀谷拓音[1]，竹下浩平[2]，川鍋　陽[1]，藤原祐一郎[1]
([1]香川大学・医学部・分子生理学，[2]理化学研究所・放射光化学研究センター・生物系ビームライン基盤）

（14）カリウムイオンチャネルにおける trans-leaflet 情報伝達

岩本真幸（福井大学 学術研究院医学系部門 分子神経科学分野）

（15）1 分子動態・構造解析による新しい K^+チャネルゲーティングモデルの提案

清水啓史（福井大学 学術研究院 医学系部門 医学領域形態機能医科学講座 統合生理学分野）

（16）１回膜貫通型受容体はどのようにして細胞内へ情報を伝えるか

佐甲靖志（理化学研究所 開拓研究本部 佐甲細胞情報研究室）

【参加者名】

井上圭一（東京大学），塚本寿夫（神戸大学），岡村康司（大阪大学），藤原祐一郎（香川大学），古谷和春（徳島文理大学），陳　以珊（和歌山県立医科大学），河合喬文（大阪大学），水谷夏希（大阪大学），真木孝尚（福井大学），岩本真幸（福井大学），萩野達也（東京大学），中條浩一（自治医科大学），黒川竜紀（大分大学），糟谷　豪（自治医科大学），原　雄二（静岡県立大学），老木成稔（福井大学），佐々木真理（大阪医科薬科大学），入江克雅（和歌山県立医科大学），高橋正紀（大阪大学），Andriani Rizki Tsari（大阪大学），竹内裕子（大阪大学），森　泰生（京都大学），川鍋　陽（香川大学），大嶋篤典（名古屋大学），紀谷拓音（香川大学），小川治夫（京都大学），清水啓史（福井大学），佐甲靖志（理化学研究所），鈴木美希（静岡県立大学），中西　陸（静岡県立大学），森　梨沙（大阪大学），西谷（中村）友重（和歌山県立医科大学），倉智嘉久（大阪大学），沼田朋大（秋田大学），田頭秀章（秋田大学），村田喜理（東北大学），中川敦史（大阪大学），横川真梨子（慶應義塾大学），真栄田有紀（鳥取大学），石田英子（京慶應義塾大学），米澤康滋（近畿大学），粂　慎一郎（大分大学），好岡大輔（大阪大学），中尾章人（京都大学），森　誠之（産業医科大学），大森美ずき（京都大学），柳　圭子（久留米大学），織田祥徳（大阪大学），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），平澤輝一（生理学研究所），Liu Chang（生理学研究所）

【概要】

本研究会は，「構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて」と題し，2022 年 9 月 5 日（月）～6 日（火）の２日間にわたって開催された。当初は生理学研究所で開催される予定であったが，８月の時点での COVID-19 の感染状況を鑑み，昨年度に引き続き zoom を利用した web 開催とした。現地開催できなかったことは残念であったが，web 開催にしたことで事前登録による参加者数が 16 名増えて 56 名となり，盛会となった。

プログラムの内容は，昨今爆発的に増えている構造情報をベースに，いかに膜タンパク質の機能を理解していくか，ということをテーマに，医学部学生や大学院生を若手～中堅の研究者が，イオンチャネル等に関する講演を行った。Nature Communications や PNAS 等に論文として発表されたばかりの演題をはじめ，最新の研究内容が発表された。一日目の最後には名古屋大学の大嶋篤典教授がギャップ結合タンパク質の構造解析について，二日目の最後には理研の佐甲靖志先生が 1 回膜貫通受容体のシグナル伝達機構についての特別講演をそれぞれ行った。

講演時間は基本的に 20 分で，討論時間は 10 分に設定した。比較的討論時間に余裕を持たせたこともあり，十分に議論を行うことができた。web 開催ではあったが，今回もオンサイトでの開催に引けを取らない活気ある研究会を開催することができた。

（１）Two-pore channel のゲーティングにおける PIP_2 結合および電位感受性の寄与はリピート 2 の S4 ヘリックスの状態に依存する

下村拓史，平澤輝一，久保義弘（生理学研究所・神経機能素子研究部門）

Two-pore channel（TPC）は，膜電位感受性カチオンチャネル・スーパーファミリーに属する Na^+ channel である。TPC はこのファミリーに共通する基本単位を 1 サブユニット中に 2 つ含むというユニークな特徴を持つ。ドメ

インⅠ（DI）は PIP_2 結合に，DII は膜電位感知に主要な役割を担う。また，各 TPC サブタイプは 2 つの刺激に対してそれぞれ異なる応答性を有している。

TPC3 を用いた膜電位固定下蛍光測定法により，電位依存的活性化に重要な DII の S4 ヘリックス（DII-S4）の動きを測定しチャネル電流と比較したところ，DII-S4 は脱活性化状態と活性化状態の他に中間状態をとることがわかった。変異によりこの中間状態を安定化すると，より PIP_2 依存性の強いチャネルに変化した。この結果と一致して，電位非感受性・PIP_2 依存性のサブタイプである TPC2 の立体構造をもとにした機能解析からは，TPC2 は，TPC3 の中間状態に相当する構造を取ることでその高い PIP_2 依存性を実現していることが示唆された。これらの結果は，TPC ファミリーにおける PIP_2 結合と膜電位刺激とを統合する共通メカニズム，および各サブタイプの特異性についての示唆を与えるものである。

（２）KCNQ1-KCNE3 チャネル複合体が常に開状態になるメカニズム

糟谷　豪，中條浩一（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

膜タンパク質の中には，複数種類のサブユニットからなる複合体を形成して機能するものが多数存在する。電位依存性 K^+ チャネルの KCNQ1 チャネルは，5 種類ある 1 回膜貫通型タンパク質 KCNE (KCNE1-5) と複合体を形成すると，その機能が大きく変化する。このうち，KCNE3 は KCNQ1 と複合体を形成すると，電位依存性を大きく過分極側にシフトした生理条件下では常に開状態の K^+ チャネルとなる。KCNQ1-KCNE3 チャネル複合体は，肺や腸の上皮細胞における K^+ リサイクルを担っており，トランスポーターと機能的に共役することで Cl^- の輸送に関与する。一昨年発表された KCNQ1-KCNE3 チャネル複合体の立体構造から，KCNQ1 の電位センサーに KCNE3 が直接結合することが明らかとなった。しかしながら，KCNQ1 と KCNE3 の相互作用が KCNQ1 の電位感受性にどのような影響を与えるのかについては，よくわかっていない。今回，我々は立体構造で見られた KCNQ1 の電位センサーの S1 セグメントと KCNE3 の相互作用に着目し，関与するアミノ酸残基の側鎖の大きさを網羅的に変化させた。その結果，S1 セグメントと KCNE3 の適切な距離が恒常的なチャネル活性に重要であることを見出した。さらに，KCNQ1 と KCNE3 の変異体をそれぞれ発現させることで，恒常的なチャネル活性を部分的に回復する例を 2 つ見出した。

（３）電位依存性ホスファターゼ VSP は電位センサー・酵素両ドメイン間の直接相互作用により分子内で電位情報を酵素活性に変換する

水谷夏希[1]，川鍋　陽[1,3]，神野有香[1,4]，成田宏隆[2,5]，米澤智子[1,6]，中川敦史[2]，岡村康司[1]
([1]大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]大阪大学蛋白質研究所
[3]現所属：香川大学医学部分子生理学，[4]現所属：大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学
[5]現所属：国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構
[6]現所属：大阪大学大学院医学系研究科附属共同研究実習センター)

電位依存性イオンチャネルを例に，細胞膜電位の変化を感知する電位センサードメインはその下流のポアドメインの構造変化を介しイオンの透過を制御することが知られてきた。一方，電位依存性ホスファターゼ VSP (Voltage-sensing phosphatase) は電位センサードメインの下流に酵素が位置するユニークな膜タンパク質であり，膜電位の脱分極に伴ってイノシトールリン脂質 $PI(4,5)P_2$ を脱リン酸化する酵素活性を示す。VSP の生理的役割は精子において理解が進んできたものの，電位センサードメインと酵素の共役機構，すなわち膜電位情報が酵素活性に変換される根本的な分子メカニズムは長らく明らかにされてこなかった。

我々は共役機構の理解に向け，電位センサードメイン S4C 末端に保存される疎水性アミノ酸に着目し，この部位が酵素との共役に必須であることをカタユウレイボヤ由来 VSP (Ci-VSP)を用いて明らかにした。非天然蛍光アミノ酸 Anap を S4C 末端部位に導入し，電位センサードメインとの共役に重要な酵素領域の疎水性部位（Hydrophobic spine）をトリプトファンに置換すると，Voltage clamp fluorometry 実験にて電位依存的な Anap 蛍光の quenching が観察された。また両部位にシステインを導入すると，架橋形成により S4 の可動性が制限されることも電気生理学的に確認された。さらに AlphaFold2 による Ci-VSP の予測構造において，両部位は相互作用し得る距離に位置していた。以上より，S4C 末端と Hydrophobic spine との直接相互作用が共役機構のエッセンスであることが明らかになった。

（４）ATP は電位依存性プロトンチャネル Hv1 に直接結合して活性を制御する

川鍋　陽[1]，竹下浩平[2]，高田麻紀[1]，藤原祐一郎[1]
([1]香川大学大学医学部分子生理学講座，
[2]理化学研究所・放射光化学研究センター・生物系ビームライン基盤)

電位依存性プロトンチャネル Hv1 は膜電位変化に応答してプロトンを透過する機能をもち，好中球などに発現して活性酸素産生を助ける生理的役割を担っている。われわれは，従来制御因子として考えられていなかった細胞内 ATP が Hv1 のプロトン電流を増強する活性化因子となる可能性を示してきた(第９９回日本生理学会大会発表)。さらに，ATP アナログを使った実験から，ATP は Hv1 に直接作用して機能を制御することを明らかにした。

本研究では，ATP が Hv1 へ直接結合するのかを検討し，さらに結合サイトを探索するために変異体実験を行った。直接結合を評価するために，Hv1 を大腸菌にて発現・精製し，マイクロスケール熱泳動法を用いて ATP との親和性を評価した。その結果, Hv1 との結合力は ATP > ADP > AMP > Adenosine であり，これは電気生理学実験における結果と一致した。以上のことから，ATP は直接 Hv1 と結合し活性を制御している可能性が高いことが明らかとなった。また，結合サイトを明らかにするために, N 末端および C 末端を欠失した Hv1 や点変異を導入した Hv1 に対する ATP の効果を電気生理学的に解析した。

（５）チラコイド局在電位依存性アニオンチャネル VCCN1 のクライオ電子顕微鏡を用いた立体構造解析

萩野達也（東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻）

植物の光合成において，光エネルギーは葉緑体のチラコイドにてプロトン駆動力 (PMF) を用いた ATP 合成という形で化学エネルギーに変換される。PMF はチラコイド膜を隔てた電位勾配 (ΔΨ) と pH 差 (ΔpH) から成り，チラコイドでは複数のイオンチャネルやトランスポーターによって ΔpH の寄与が大きく占めるように調節されている。光化学系はチラコイド内腔の低 pH に依存的な光防御反応を有しているため, ΔpH の保持は光合成効率の維持に重要である。

本研究では，チラコイド膜にて電位依存性アニオンチャネルとして働き，膜電位の変化に応答したアニオンの透過による ΔΨ の解消と ΔpH の維持を担うタンパク質である VCCN1 について，クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により立体構造を決定した。 VCCN1 は動物の持つカルシウムイオン依存性アニオンチャネルのホモログであるもののカルシウムイオン結合モチーフが保存されておらず，一方で動物ホモログには保存されていない N 末端領域に荷電性アミノ酸に富んだヘリックスを有していた。構造情報に基づいた電気生理学的解析から, この N 末端の荷電性ヘリックスが VCCN1 の機能

に重要であることが明らかになり，動物ホモログとは異なる特徴を有する VCCN1 の電位依存的な活性化メカニズムに関する示唆が得られた。

（６）藻類の光受容型巨大イオンチャネル複合体 －ベストロドプシン－

井上圭一（東京大学物性研究所）

ロドプシンはレチナールを発色団とし，７回膜貫通構造を持つ光受容型の膜タンパク質である。このうち動物が持つ動物ロドプシンは，光依存的な G タンパク質共役型受容体として，視覚など光依存的な生理現象に関わる。一方，主に単細胞微生物が持つ微生物ロドプシンは，イオンポンプやイオンチャネルなど多様な機能を示す。

その中で我々は最近，日本―イスラエル―ドイツの国際共同研究により１～２個の微生物ロドプシンに，５量体型のイオンチャネルであるベストロフィンが融合した分子を藻類のゲノムから見出した。そしてこの分子に光を照射したところ陰イオンの透過が見られ，光依存的な陰イオンチャネルであることが明らかとなった。さらにクライオ電子顕微鏡を用いた構造解析により，５個のベストロフィンドメインからなるチャネルの周辺に，10 個のロドプシンドメインが配置された巨大な複合体構造が得られ，この分子をベストロドプシン（BestRh）と名付けた。BestRh は 670 nm と既知のイオン輸送型ロドプシンを大きく上回る長波長吸収を持ち，また光照射後レチナールが 11-*cis* 型へ異性化するという動物ロドプシン型の光反応を示すなど，光化学的にも興味深い特徴を有している。今回の BestRh の発見は，よりイオン輸送能が高く，組織による散乱を受けにくい長波長光で操作可能なオプトジェネティクスツールの開発などへの発展が期待される。

（７）膜張力感知イオンチャネル PIEZO1 の筋再生における役割

平野航太郎[1,2]，原　雄二[2]（[1]京都大学大学院工学研究科，[2]静岡県立大学薬学部）

細胞膜に掛かる物理的な刺激を感知する「細胞力覚」は，細胞，組織，生体レベルで重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。我々は，骨格筋を構成する筋線維の恒常性維持機構をモデル系として，細胞力覚の中心分子である「機械受容イオンチャネル」の役割解明を目指してきた。

骨格筋を構成する筋線維は高い再生能を有しており，筋活動に応じて発生するダメージに対して筋線維を再生することで筋恒常性を維持している。骨格筋に内在する幹細胞（筋衛星細胞）が筋線維再生をもたらすが，その分子機構は未だ明らかでない。我々はこれまでの予備検討のもと，膜張力を感知して活性化されるイオンチャネル PIEZO1 に着目し，筋幹細胞にて細胞力覚が担う役割解明を目指した。筋衛星細胞特異的 *Piezo1* 欠損マウスにて筋線維の変性を誘導したところ，野生型と比較して筋再生の著しい低下を呈した。また，同欠損マウスより単離した筋衛星細胞の挙動を観察した結果，遊走能・増殖能の低下がそれぞれ認められた。さらに *Piezo1-tdTomato* マウスを用いて PIEZO1 の局在解析を行ったところ，細胞質分裂過程にて PIEZO1 は中央体に強く集積した。以上，機械受容チャネル PIEZO1 は，筋衛星細胞の細胞分裂にて重要な役割を果たすことが示された。

（８）２型リアノジン受容体の Ca^{2+} 結合による開口機構の構造的解明

小川治夫（京都大学大学院薬学研究科）

２型リアノジン受容体（RyR2）は，心筋の筋小胞体に局在し心筋の収縮に重要な役割を果たす小胞体の Ca^{2+} チャネルである。ホモ４量体で機能し，総分子量が 2.2M Da の巨大な分子である。活動電位によって細胞外から流入した Ca^{2+} が RyR2 に結合することで RyR2 が開口し，筋小胞体に蓄えられた Ca^{2+} が瞬時に大量に放出され心筋の収縮が起こる。RyR2 の遺伝子変異（300 箇所以上）は重度の不整脈源性疾患にも関連することから，RyR2 は不整脈疾患の標的分子としても注目を集めている。RyR2 は Ca^{2+} が結合することで開口するが，「Ca^{2+} のような小さな分子が 6 万倍も大きな超巨大分子 RyR2 を制御し開口する機構」や，「疾患変異がチャネルの活性異常を引き起こす構造基盤」については不明であった。我々はクライオ電子顕微鏡により決定された高分解能の立体構造と徹底的な機能解析実験とを組み合わせることで，RyR2 の Ca^{2+} 結合による開口機構と疾患変異がチャネル異常を引き起こす機構を原子レベルで明らかにすることに初めて成功した。

（９）脂質ナノディスクを利用したギャップ結合ファミリータンパク質の構造と膜透過機構

大嶋篤典（名古屋大学細胞生理学研究センター・大学院創薬科学研究科）

多細胞生物の多くは，細胞間シグナル伝達の一つの手段としてギャップ結合チャネルを持つ。これは隣接細胞の細胞質を直接連絡して電気的，化学的にカップリングさせる機能を果たし，イオンのほかに，核酸やアミノ酸などの代謝産物を通すような大きな通路を持つことから，近年は large pore channel とも呼ばれる。脊椎動物ではコネキシンが，無脊椎動物ではイネキシンがその役割を担う遺伝子ファミリーとして知られているが，その両者にアミノ酸配列の相同性は見られない。脊椎動物には，イネキシンのホモログが見つかっており，これはパネキシンと名付けられている。これは単一膜チャネルとして機能し，ギャップ結合とは本質的に機能が異なるが，ATP を放出することが示されており，これもチャネル通路のサイズの大きさから large pore channel に分類される。こうした代謝産物を通すほどの通路を持つチャネルの開閉機構に関して，その構造基盤は理解が進んでいない。

我々は線虫の持つ innexin-6 ギャップ結合チャネルとヒト pannexin-1 チャネルを脂質ナノディスクに再構成し，クライオ電子顕微鏡によって高分解能構造を報告した。構造解析と合わせて，チャネルの機能解析，MD シミュレーションを共同研究で行い，脂質がチャネルの開閉の制御に関与する可能性を提示した。

（10）四量体型イオンチャネルにおける二価カチオンによる阻害機構の構造基盤の解析

入江克雅（和歌山県立医科大学薬学部・薬品物理化学研究室）

様々な四量体型イオンチャネルにおいて，二価カチオンによる機能阻害が観察されている。この機能阻害はチャネルのイオン透過経路に二価カチオンが留まるためだと考えられるが，詳細な分子機構は不明である。そこで，二価カチオンによる活性阻害を受けない四量体型ナトリウムチャネルである NavAb にこの阻害効果を付加することができれば，この阻害機構の成り立ちを解明できると考えた。

マグネシウムイオンによる活性阻害を受ける NMDA 受容体では，選択性フィルターのアミノ酸残基がこの阻害に重要である。対応する位置の NavAb のアミノ酸を NMDR 受容体のアミノ酸に変異したところ，NavAb でも二価カチオンによる阻害効果が再現された。チャネル内腔の親水性を高める変異導入が NavAb の二価カチオン

による活性阻害を引き起こすことが分かり，これらの変異体の結晶構造を解析したところ，カルシウムイオン存在下でイオン透過経路内の電子密度が増強していた。分子動力学シミュレーションにおいても，阻害を受ける変異体ではカルシウムイオンの選択性フィルター下部の内腔入口付近での滞留が観察された。これにより，ナトリウムイオンがチャネル内腔に入りにくくなることがわかった。

これらの結果は，生物学的に重要なチャネルにおける二価カチオンによる活性阻害の基本となる分子機構を示しており，イオンチャネル進化においての機能獲得の過程も示唆している。

（11）遺伝性疾患に関連する変異 GIRK チャネルのイオン選択性の新規制御機構

陳　以珊 [1,2]，久保義弘 [2]
（[1] 和歌山県立医科大学・医学部薬理学講座，[2] 生理学研究所・神経機能素子研究部門）

G タンパク質結合型内向き整流性 K^+チャネル（GIRK1～GIRK4）は神経・心筋興奮性や膵島ホルモン分泌の調節において重要な役割を果たす分子である。GIRK チャネルの遺伝子変異による異常なイオン選択性は，過剰な Na^+ と Ca^{2+} 流入により細胞死や細胞機能異常を引き起こし，Keppen-Lubinsky 症候群や原発性アルドステロン症等遺伝性疾患の原因であることが報告された。本研究では，これらの疾患に関連する GIRK 変異体のイオン選択性を，アフリカツメガエル卵母細胞を発現系として用い，電気生理学的に解析した。その結果，GIRK2 の選択性フィルター（SF）に位置する G156S 変異体は，K^+ に比して，Li^+ と Na^+ とに対する選択性が高く，その他の変異体は Rb^+ と Cs^+ に対する選択性が高いことが明らかとなった。また，SF の構築するイオン透過路のブロッカーの投与により，G156S 変異体の Li^+ と Na^+ に対する選択性が増加することが観察された。また，single-channel recording の解析においても，TPN-Q 感受性 K^+ 電流と TPN-Q 非感受性 Li^+ 電流が観察された。これらの結果から，G156S の変異により，通常の SF の構築するイオン透過路とは異なるイオン選択性を持つ，第二のイオン透過路が新たに形成された可能性が示唆された。

（12）hERG Kv チャネル制御の機能構造的理解

古谷和春（徳島文理大学薬学部薬理学）

hERG チャネルは，心室筋細胞の活動電位の再分極に重要な IKr を担う電位依存性カリウムチャネルである。hERG チャネルは，脱分極による活性化（開口）後，急速に不活性化される。この hERG チャネルの不活性化機構は，いわゆるカリウムチャネルの C 型不活性化機構であると考えられているが，その機構は十分明らかとなっていない。また，hERG チャネルは様々な薬物と相互作用することが知られているが，薬物によるゲート機構の変化の構造基盤は理解されていない。我々は，hERG チャネルの 3 次元構造モデルを作成し，MD シミュレーションを行うことによって，開状態からの構造変化を予測した。その結果，開状態の hERG チャネルの細胞外領域の構造には柔軟性があり，複数の構造をとった。その領域における構造変化は hERG チャネルの選択性フィルターの構造変化を伴った。この一連の構造変化はイオン透過を制御し，不活性化ゲート機構の構造基盤である可能性がある。さらに，構造変化はポア領域にまで及んでおり，不活性化状態における高い薬物感受性を説明した。また，開状態と不活性化状態の hERG チャネルのポア領域には，閉状態には見られない疎水性ポケットが存在した。疎水性ポケットに相互作用する薬物は，我々が以前報告したファシリテーション作用を発揮する薬物であった。薬物は楔のように疎水性ポケットに作用し，ゲート機構に影響すると考えられた。

（13）カリウムチャネル KcsA とイノシトールリン脂質の分子間相互作用と機能修飾

紀谷拓音[1]，竹下浩平[2]，川鍋　陽[1]，藤原祐一郎[1]
（[1]香川大学・医学部・分子生理学，[2]理化学研究所・放射光化学研究センター・生物系ビームライン基盤）

イノシトールリン脂質（PIPns）は細胞膜内葉にわずかに存在するリン脂質であり，膜タンパク質の機能制御や細胞内情報伝達において重要な役割を担っている。一方 KcsA は放線菌由来のカリウムチャネルであり，その安定性から結晶構造学，電気生理学，計算科学などの幅広い手法により解析が進んでおり，代表的なカリウムチャネルのモデルとして用いられている。本研究では，PIPns が KcsA の機能に与える効果を評価するために，Contact Bubble Bilayer (CBB) 法を用いて，膜組成の異なる脂質二重膜に埋め込まれた KcsA の K^+ 電流を計測した。その結果，細胞膜内葉に PIPns が含まれている際に KcsA の開確率が上昇した。加えて PIPns と KcsA の分子間相互作用をマイクロスケール熱泳動法（MST 法）により分析し，両者の結合と機能制御に相関があることを明らかにした（Kiya et al. (2022) J. Biol. Chem.）。KcsA が脂質と相互作用する部位を明らかにするために，正電荷が多く存在する M0 ヘリックスを欠失した KcsA を用いて同様の解析を行なったところ，開確率が減少し，膜脂質との相互作用も低下した。これらの実験結果から KcsA と膜脂質は互いの静電作用によって，結合が維持され機能制御機構が働いていることが考察される。

（14）カリウムイオンチャネルにおける trans-leaflet 情報伝達

岩本真幸（福井大学 学術研究院医学系部門 分子神経科学分野）

膜タンパクでは，脂質二重層の一方の層からの入力が他方の層側で効果を現す，trans-leaflet な情報伝達が存在する。この機構は様々な膜タンパクの機能制御に関連しており，分子内あるいは膜構造を介した伝達機序が予想される。我々は再構成膜実験法・CBB 法を用い，２つの K^+ チャネル（KcsA, TRAAK）において，異なる trans-leaflet 情報伝達を明らかにした。KcsA では，活性化ゲートが接する内葉の陰イオン性脂質がゲート開口を補助している。この作用に加え，カルジオリピンの場合は外葉からもゲートを開口させることがわかり，リン脂質の電荷と構造に依存した trans-leaflet 伝達が明らかになった。また，膜張力依存的に開口する TRAAK では，細胞質側のイオン透過路入口は常時開いているとされ，選択性フィルターや中心腔でのゲート機構が考えられている。我々は内，外葉の張力をそれぞれ選択的に操作し，TRAAK のゲート機構が内葉の張力で作動することを明らかにした。以上の様なリン脂質層の化学的，力学的情報の伝達は，K^+ チャネルのみならず膜タンパクに共通した性質と考えられる。その本質を担う分子機序に，操作可能な再構成膜とシンプルな構造のモデル K^+ チャネルを用いてアプローチできる可能性がある。

（15）1 分子動態・構造解析による新しい K^+ チャネルゲーティングモデルの提案

清水啓史（福井大学 学術研究院 医学系部門 医学領域形態機能医科学講座 統合生理学分野）

K^+チャネルは 1998 年に KcsA チャネルの結晶構造が報告されて以来，様々な分子種で立体構造研究が進んだチャネルである。KcsA チャネル自身についても，中性条件での閉構造，変異体を用いた疑似的な開構造を始め，不活性化状態に関連する構造などが報告されており，ゲーティング機構に関する立体構造研究は飽和しているように見える。

私達は，チャネル分子が機能する際の動的な構造変化

を明らかにするため，金ナノ結晶を観測プローブとして構造変化を捉える X 線 1 分子動態計測に取り組んできた。2008 年に一報を報告した後，手法の改良を行い，サブミリ秒の時間分解能と広い観測範囲を持つ観測手法とし，KcsA チャネルが開閉する酸性条件で大きなねじれ運動を計測した。X 線結晶構造解析で報告されている立体構造との比較により，動きの解釈を試みたが，報告されている立体構造では，1 分子動態計測で得られる大きな構造変化は説明できなかった。

そこで，2016 年より結晶構造解析より溶液条件に制約のない，クライオ電子顕微鏡単粒子解析に安永卓夫先生（九州工業大学），髙﨑寛子先生（大阪大学）との共同研究で取り組んできた。単粒子解析の対象としては分子量が小さいため，困難も多かったが，中性，酸性条件で KcsA チャネルの初期構造を得た。本発表では，得られた立体構造と 1 分子動態計測の結果から，新たなゲーティングモデルを提案する。

（16）１回膜貫通型受容体はどのようにして細胞内へ情報を伝えるか

佐甲靖志（理化学研究所　開拓研究本部　佐甲細胞情報研究室）

イオンチャネルや GPCR などの複数回膜貫通型蛋白質の活性制御には，膜貫通領域間の配向変化が使われているが，チロシンキナーゼ型受容体 (RTK) のような１回膜貫通型蛋白質では２量体・多量体形成が重要である。おそらく RTK の中で最も研究が進んでいる EGF 受容体においては，リガンド結合によって細胞外領域が特定の２量体構造を形成し，それが細胞内のキナーゼ領域間の非対称相互作用に依存した酵素活性上昇をもたらすことが明らかとなり，活性型構造と想定される膜貫通-細胞内膜近傍部位の２量体構造が解かれている。しかし RTK の働きはキナーゼ酵素活性上昇で終わるのではなく，自己・相互リン酸化後の細胞質蛋白質との相互作用が情報伝達機能の実体である。EGF 受容体の酵素活性を制御するには２量体で十分であるが，十全な情報伝達には高次多量体を必要とする。我々は２量体と多量体の間に働く動的構造制御を研究してきた。生細胞膜での１分子運動・会合計測，ナノディスクに再構成した膜貫通-膜近傍領域ペプチドの１分子対 FRET 計測，脂質と受容体の超解像共局在計測などの結果は，リガンド結合が引き金となる細胞内蛋白質・周辺脂質との相互作用変化によって，２量体内と多量体内で受容体が異なった分子配向・構造を持つことを示している。受容体と近傍脂質の動的な自己組織化過程を利用して，受容体は酵素から足場へ機能変化する。

2. 細胞の局所コミュニティ研究会

2022 年 12 月 19 日－20 日

代表・世話人：珠玖　仁（東北大学・大学院工学研究科）
所内対応者：久保義弘（生理学研究所・神経機能素子部門）

（１）脂質二重膜張力の非対称制御によるカリウムチャネル開閉機構の探究

真木孝尚[1]，植木美鈴[1]，宮腰雅美[1]，松木悠佳[2]，老木成稔[3]，○岩本真幸[1]
（[1]福井大・医・分子神経科学，[2]福井大・医・麻酔・蘇生学，[3]福井大・高エネ研）

（２）脂質 2 重膜の新しい静電容量特性

○老木成稔（福井大学・高エネ研）

（３）A prototype of the microsensing system for real-time drug monitoring in the skin of live animal with diamond electrode

○Norzahirah Binti Ahmad[1]，Seishiro Sawamura[1]，Genki Ogata[2]，Daisuke Ino[1]，Yasuaki Einaga[2]，Hiroshi Hibino[1]
([1]Department of Pharmacology, Graduate School of Medicine, Osaka University
[2]Department of Chemistry, Keio University)

（４）High-performance Redox Zwitterionic Hydrogel Platform towards Continuous Electrochemical Monitoring of Interstitial Fluid

○Shicheng Zhou[1]，Takehiro Sato[1]，Shigenobu Mitsuzawa[2]，Yutaro Chino[3]，Madoka Takai[1]
([1]Department of Bioengineering, The University of Tokyo，[2] Honda R&D Co., Ltd.
[3]Sanyo Chemical Industries, Ltd.)

（５）[特別講演 1] 新たな神経伝達様式であるチャネルシナプスの構造と機能

○樽野陽幸[1,2]（[1]京都府医大・医・細胞生理，[2] JST-CREST）

（６）リソソームにおけるカチオンポンプの新規生理機能

○藤井拓人[1]，永森収志[2]，wiriyasermkul Pattama[2]，田渕圭章[3]，清水貴浩[1]，竹島　浩[4]，酒井秀紀[1]
([1]富山大・薬・薬物生理学，[2]東京慈恵医大・医・臨床検査医学
[3]富山大・生命科学・ゲノム解析学，[4]京都大学・薬・生体分子認識学)

（７）テトラゾリウム塩の電気化学に基づいた細胞活性評価

○池田　光[1]，床並　朗[2]，定永靖宗[1]，椎木　弘[1]（[1]阪公大院・工・物質化学生命系専攻，[2]阪府大・工）

（８）ダイヤモンド電極を用いた緑内障点眼薬ブリモニジンの電気化学測定

○小川梨紗[1]，緒方元気[1]，山岸麗子[2]，本庄　惠[2]，相原　一[2]，栄長泰明[1]
([1]慶應義塾大学理工学部，[2]東京大学医学部)

（９）置換基修飾位置の異なるポルフィリンのがん細胞集積挙動の解明

○新内綾乃，東條敏史，近藤剛史，湯浅　真（東理大・理工・先端化学）

(10) マイクロ流路による巨大脂質膜小胞の製造

○鈴木宏明（中央大学・理工学部・精密機械工学科）

(11) 誘電スペクトロスコピーにおける微生物の誘電率計測

○影山湧二[1]，木村　暁[1]，伊東　章[2]，堀江哲郎[3]，緒方元気[4]，栄長泰明[4]，鈴木宏明[2]，村上慎吾[1]
([1]中央大・理工・電気電子情報通信工学専攻，[2]中央大・理工・精密工学専攻
[3]日本歯科大・生命歯・共同利用研究センター，[4]慶應大・理工・化学)

(12) 脂質二分子膜を介したイオン透過－イオノフォアの役割-

○白井　理，宋和慶盛，北隅優希（京大院・農・応用生命科学専攻）

（13）脂質二分子膜へのイオン分配と膜透過性に関する理論的考察と実験的検証

○吉田裕美，大松照政，石田尚人，鎌田和希，山﨑　毅（京工繊大・分子化学系）

（14）機械学習を利用した細胞の自動回収技術の開発

○高橋康史，河邉佑典，服部和馬，安立瑞生，井田大貴

（名古屋大学工学研究科・電子工学専攻・ナノバイオ研究室）

（15）ロドプシンと脂質代謝物を介した光受容と温度受容の情報伝達経路

○曽我部隆彰[1,2]，Craig Montell[3]

（[1]生命創成探究センター・温度生物学研究グループ，[2]生理学研究所・細胞生理研究部門

[3]Dept of Molecular, Cellular, & Developmental Biology･University of California, Santa Barbara）

（16）［特別講演 2］生体を模倣する人工トンネリングナノナノチューブの開発 －新しい細胞情報伝達プラットフォームの構築－

○三宅丈雄（早稲田大学・大学院情報生産システム研究科）

（17）埋もれた界面の機械的性質が細胞接着挙動に及ぼす影響

○Afzali Zahra，増田　造，○高井まどか（東大・工・バイオエンジニアリング専攻）

（18）皮膚における湿度センシング制御機構の検討

○竹馬真理子，田中愛美（應義塾大学医学部薬理学）

（19）電気化学発光を用いる液滴フリーのデジタル ELISA

○伊藤健太郎[1]，井上(安田）久美[1,2]，伊野浩介[3]，珠玖　仁[3]

（[1]東北大・環境，[2]山梨大・工，[3]東北大・工）

【参加者名】

藤井拓人（富山大学），鈴木宏明（中央大学），岩本真幸（福井大学），樽野陽幸（京都府立医科大学），椎木　弘（大阪公立大学），伊藤健太郎（東北大学），池田　光（大阪公立大学），曽我部隆彰（自然科学研究機構生命創成探究センター），竹馬真理子（慶應義塾大学），珠玖　仁（東北大学），日比野　浩（大阪大学），Ahmad Norzahirah Binti（大阪大学），影山湧二（中央大学），新内綾乃（東京理科大学），白井　理（京都大学），東條敏史（東京理科大学），三宅丈雄（早稲田大学），栄長泰明（慶應義塾大学），谷澤祐太（中央大学），村上慎吾（中央大学），末岡悠奈（中央大学），吉田裕美（京都工芸繊維大学），小川梨紗（慶應義塾大学），真木孝尚（福井大学），緒方元気（慶應義塾大学），高橋康史（名古屋大学），永森收志（東京慈恵会医科大学），高井まどか（東京大学），老木成稔（福井大学），檜山武史（鳥取大学），Afzali Zahra（東京大学），周　诗承（東京大学），栗原綾子（AMED），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），平澤輝一（生理学研究所）

【概要】

本研究会では，理工学技術で局所を解析する研究者，in vitro や in silico で細胞の局所の反応をモデル化・解析する生物学・理論科学者，およびこれらの科学者と協働して細胞から組織，臓器への連携を研究する医・薬・生物学者を集めて議論し，細胞の局所コミュニティにおける新しい知見から生命現象を理解することに挑戦している。近年，細胞集団に隣接する細胞外空間の新奇な輸送現象が同定され，基礎生物学的観点および疾病の原因究明の観点から注目されている。本研究会では，極めて限られた空間で行われる，細胞コミュニケーションの現場を観測する先端技術を結集し，in vitro や in silico で生体界面現象をモデル化・解析する生物学・理論科学者を巻き込んで学際的議論を重ね，様々な形体での共同研究を推進して世界初の学際領域を開拓することを目標とする。

今年度の研究会は万全の感染対策の下，2 日間対面の形態で実施された。イオンチャネルや輸送体，感覚受容体，生体膜，人工脂質二重膜，細胞や動物モデルにおける計測・解析システム，デバイスおよび界面デザインなど 6 部構成，特別講演 2 件を含む合計 19 件の発表があった。初日の最後には研究グループごとに参加者の研究紹介を行った。

（１）脂質二重膜張力の非対称制御によるカリウムチャネル開閉機構の探究

真木孝尚[1]，植木美鈴[1]，宮腰雅美[1]，松木悠佳[2]，老木成稔[3]，○岩本真幸[1]
（[1]福井大・医・分子神経科学，[2]福井大・医・麻酔・蘇生学，[3]福井大・高エネ研）

生体膜に発生する膜張力は細胞活動に応じて時空間的に変動する。その張力を感知して活性を変化させる仕組みが，様々な膜タンパク質に備わっていることが明らかになりつつある。近年我々は，pH 依存性 KcsA カリウム（K）チャネルにおいて，酸性下で活性化状態にあるときにのみ，膜張力がゲート開閉に作用することを明らかにした。こうした膜張力の作用は，活性に対して補助的に働くものである。同様の作用は広く膜タンパク質に及んでいると予想され，背後にある分子機構解明が待たれる。本研究では，2 種類の K チャネル（KcsA，TRAAK）に対して Contact Bubble Bilayer 法を適用し，脂質二重層各リーフレットの張力を独立に操作してゲート開閉の変化を調べた。興味深いことに，どちらのチャネルでも細胞質側リーフレット（内葉）の張力のみがゲート開閉に作用することが明らかになった。この結果は，内葉には活性化ゲートを含む可動部位が接し，細胞外側リーフレット（外葉）には選択性フィルターを囲む比較的硬い構造が接する，という膜内構造の特徴を反映したものと考えられる。K チャネルは共通の膜貫通構造を持つことから，内葉張力によるゲート開閉修飾は，K チャネルに固有の性質の可能性がある。

（２）脂質 2 重膜の新しい静電容量特性

○老木成稔（福井大学・高エネ研）

電気生理学者は生体膜の fluid-mosaic 性を静電容量と抵抗の並列回路からなる膜等価回路として捉える。等価回路の可変抵抗である電位依存性チャネルが電気生理学では主たる研究対象であるが，静電容量である脂質 2 重膜も，細胞生理学ではサイトーシスに伴う膜面積変化の評価に使われる。さらに脂質平面膜実験では膜の力学特性についても検討されてきた。脂質平面膜法の一つ，contact bubble bilayer (CBB) 法では従来の方法に比べて実験の融通性が高く，脂質 2 重膜の動的物性を見直す機会となった。静電膜容量を測定するためにランプ波を適用すると電流波形は 0 mV 付近では予想されるように矩形波であるが，膜電位の絶対値が高くなるとスロー成分が出現した。この成分はどんな組成の膜でも，また solvent-containing や-free 膜にかかわらず観察された。この電流波形を再現するために等価回路をデザインした。従来の等価回路に並列に，容量と抵抗が直列に繋がったものである。この回路はどんな膜にも適用できることが明らかになった。CBB の脂質 2 重膜面積から特性静電容量（*C*sp）を求めると，その絶対値，電位依存性ともに従来の報告に一致した。一方，新しい容量成分（*C*core）は 0 電位ではほとんど見えないが，電位が高くなると *C*sp よりも鋭い電位依存性を示した。*C*sp の実体について検討した。

（３）A prototype of the microsensing system for real-time drug monitoring in the skin of live animal with diamond electrode

○Norzahirah Binti Ahmad[1]，Seishiro Sawamura[1]，Genki Ogata[2]，Daisuke Ino[1]，Yasuaki Einaga[2]，Hiroshi Hibino[1]
（[1]Department of Pharmacology, Graduate School of Medicine, Osaka University
[2]Department of Chemistry, Keio University）

Timely capture of a drug concentration is crucial for effective pharmacotherapy. The current standard for monitoring plasma drug concentration involves repetitive blood collection and lengthy laboratory analysis that delays representation of decisive results. Examination of the dermal interstitial fluid could resolve this issue because of the easy accessibility of the skin. A compound's pharmacokinetics (PK) in this fluid possibly mirror the plasma PK. We recently developed a microsensing system with a needle-type boron-doped diamond (BDD) electrode that detects chemical compounds by redox reaction in real time. In the present study we tested if this system could access such a local dermal space with an anticancer drug, doxorubicin, and an antibiotic, vancomycin. In vitro experiments showed that the tested drugs elicited cathodic current when negative potentials were provided with the electrode. In the skin of anesthetized live rats, the local PK of either drug was continuously tracked for ≥1 hour. In the case of doxorubicin (n=7) the Cmax at 3.1 ± 1.4 nM and Tmax at 33.6 ± 20.6 mins were observed. The microsensing system was also applied to local skin real time monitoring of vancomycin (n=5) reporting the Cmax and Tmax to be 1.8 ± 0.74 μM and 29.2 ± 16.9 mins, respectively. These results demonstrate the feasibility of skin real time monitoring. By applying appropriate formulas, the locally monitored PK could provide insights linking it to the plasma drug concentration.

（４）High-performance Redox Zwitterionic Hydrogel Platform towards Continuous Electrochemical Monitoring of Interstitial Fluid

○Shicheng Zhou[1]，Takehiro Sato[1]，Shigenobu Mitsuzawa[2]，Yutaro Chino[3]，Madoka Takai[1]
（[1]Department of Bioengineering, The University of Tokyo，[2] Honda R&D Co.,Ltd.
[3] Sanyo Chemical Industries, Ltd.）

Emerging peripheral biochemical monitoring involves wearable devices for minimally invasive or noninvasive continuous detection of biofluids such as interstitial fluid (ISF), saliva, tears, and sweat. Among all the biofluids, ISF, with a rich source of clinical indicators in high correlation with blood, provides the possibility for precisely collecting real-time physiological information. For this purpose, electrochemical sensors with low cost, simple, widely used, quantitative, and ease of miniaturization nature are in a prime position to synergize the significant advantages of ISF into wearable and portable devices. However, serious biofouling during long-term service, restricted penetration of biomarkers in the dense sensing coating, and uncontrolled leakage of enzyme or redox medium significantly obstruct continuous electrochemical monitors for further development. Herein, we designed an intrinsically antifouling zwitterionic redox hydrogel platform for protecting electrodes from continuous interference of pollutants, maintaining high-efficient catalytical reaction via covalent-bonded redox mediator, and realizing long-term activity preservation by mildly stabilizing enzyme. 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) and N-hydroxysuccinimide (NHS) are free radical polymerized into poly (MPC-MNHS) (PMS) copolymer, in which the redox regent (i.e., Aminoferrocene (AFc)) and enzyme can be easily loaded into polymer framework via rapid NHS-NH_2

reaction in a facile procedure. Strong physical interaction in self-gelling PMS endures hydrogel with the ability to provide the furthest enzymatic activity preservation of various enzymes or even multi-enzyme system. Here, we employed two typical enzyme systems (glucose oxidase and glucose dehydrogenase/ diaphorase) to prove the successful load of enzyme and stabilization of enzymatic performance into PMS-AFc hydrogel. The amperometric sensors decorated by the hydrogel are proven with prominent antifouling properties, rapid signal response and high glucose sensitivity, which is applicable to the monitoring of ISF in an actual body environment. Therefore, the redox hydrogel platform developed in the study can be easily assembled on various electrodes with cost-effective, stable and excellent electrocatalytic activity. This facile method shows great promise for clinical physiological monitoring and enlarges the scope of next-generation noninvasive sensing systems.

（５）[特別講演 1] 新たな神経伝達様式であるチャネルシナプスの構造と機能

○樽野陽幸 [1,2]（[1] 京都府医大・医・細胞生理，[2] JST-CREST）

感覚系を含む神経機能を司る重要な生命機能である神経細胞間の情報連絡については，シナプス小胞の開口分泌による化学シナプスとギャップ結合による電気シナプスの２つの機構が知られている。一方，舌で味覚受容を担う味蕾感覚細胞（以下，味細胞）は，シナプス小胞やギャップ結合を持たないにもかかわらず ATP を伝達物質として活動電位に依存した化学神経伝達を行うが，そのシナプス機構は長らく謎だった。近年，CALHM1 と CALHM3 のヘテロ多量体で構成される速い電位依存性ゲート機構と大きなイオン透過ポアを有する電位依存性 ATP チャネル CALHM1/3 が発見された。さらに，味細胞は求心性神経とのシナプス部位に CALHM1/3 チャネルを発現しており，CALHM1 や CALHM3 を欠損したマウスでは味覚受容が消失することなどから，味細胞では味刺激で惹起される活動電位によって開く CALHM1/3 のイオン透過ポアを通して神経伝達物質が求心性神経へ向けて放出されることが明らかとなった。我々は味覚受容を担うこの特殊な神経伝達機構を従来の小胞性シナプスに対して「チャネルシナプス」と命名し，第２の化学シナプス様式として提唱し研究を進めている。最近我々は，チャネルシナプスにおける CALHM1/3, ミトコンドリア，神経の厳密な近接配置による固有のシナプス構造を明らかにするとともに，CALHM チャネルの３次元構造から ATP 透過機構の構造基盤を解明するなど，チャネルシナプスの構造や機能，さらには味覚以外の感覚における生理機能を明らかにしつつある。

（６）リソソームにおけるカチオンポンプの新規生理機能

○藤井拓人 [1]，永森収志 [2]，wiriyasermkul Pattama[2]，田渕圭章 [3]，清水貴浩 [1]，竹島　浩 [4]，酒井秀紀 [1]
([1] 富山大・薬・薬物生理学，[2] 東京慈恵医大・医・臨床検査医学，
[3] 富山大・生命科学・ゲノム解析学，[4] 京都大学・薬・生体分子認識学)

リソソームは細胞内の分解・消化の場としての機能を担う酸性の細胞内小器官であり，その異常はパーキンソン病などの神経変性疾患に関連している。最近我々は，リソソームにおいて，カチオンポンプとして機能する膜タンパク質（lyso-K^+-ATPase）を見出した。ATP 加水分解活性の測定や K^+ の代替イオンである Rb^+ の放射性同位体 ($^{86}Rb^+$) を用いた輸送解析により, lyso-K^+-ATPase は，リソソーム内から細胞質に K^+ を排出することが示唆された。興味深いことに，lyso-K^+-ATPase は μM レベルの高濃度の SERCA 阻害剤（thapsigargin）および nM レベルの低濃度の液胞型 H^+ポンプ阻害剤（bafilomycin　A1）により阻害されるユニークな薬理学特性を有していた。lyso-K^+-ATPase の機能阻害により，リソソーム内 pH の上昇およびパーキンソン病の病因変性タンパク質である α-synuclein のリソソーム内での異常な蓄積が引き起こされた。本研究より，lyso-K^+-ATPase によるリソソーム内

からの K^+ 排出は，これまで報告されている K^+ チャネル（BK チャネル，TMEM175）と機能連関をしてリソソーム機能の制御に関与する可能性が示唆された。

（７）テトラゾリウム塩の電気化学に基づいた細胞活性評価

○池田　光[1]，床並　朗[2]，定永靖宗[1]，椎木　弘[1]（[1]阪公大院・工・物質化学生命系専攻，[2]阪府大・工）

テトラゾリウム塩の一つである 3-(4,5-di-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) は呈色反応に基づいた細胞の活性評価に広く用いられている。黄色の MTT は水溶性で あり，細胞膜を透過して細胞内に拡散する。その際電子伝達体から電子を受け取り MTT formazan に還元される。 MTT formazan は不溶性であり細胞内に沈着して紫色を呈色する。電子伝達系は様々な生物の代謝の一環としてとらえることができ MTT を用いたアッセイは様々なサイズの細胞の増殖能や毒性評価などに利用されている 。本研究では MTT の電気化学特性に着目し，細菌の活性評価に適用した。MTT を大腸菌懸濁液に添加してインキュベートした後，懸濁液を電極上に滴下熱乾燥により固相化して電気化学測定したところ，MTT formazan の酸化に伴う電流応答が得られた。この酸化電流は，懸濁液中の菌数に応じて変化した。サルモネラ菌，緑膿菌，黄色ブドウ球菌についても同様の結果が得られた。以上のことから，MTT の電気化学特性に着目した生菌計測が可能であることが期待される。

（８）ダイヤモンド電極を用いた緑内障点眼薬ブリモニジンの電気化学測定

○小川梨紗[1]，緒方元気[1]，山岸麗子[2]，本庄　惠[2]，相原　一[2]，栄長泰明[1]
（[1]慶應義塾大学理工学部，[2]東京大学医学部）

緑内障は日本人の途中失明原因の第一位の疾患である。点眼薬による治療が一般的だが，滴下から薬理作用が惹起されるまでの時間やそのときの濃度など，眼内における薬物動態には未だ不明な点が多く，眼内の薬物濃度の移り変わりを経時的に観測する手法が求められる。一方，ホウ素ドープダイヤモンド（BDD）電極は，絶縁体であるダイヤモンドにホウ素を添加することで電極としての機能を持たせた材料であり，優れた電気化学特性や生体適合性を有することが知られている。そこで本研究では，現在広く用いられている緑内障点眼薬の一種であるブリモニジン酒石酸塩（BRM）をターゲットとし，BDD 電極による電気化学的測定をした。まず，シリコン基板上に BDD を成膜した平板 BDD 電極を用いて，BRM の基礎的な電気化学特性を評価した。さらに，生体内測定を指向し，先端直径約 20 μm のタングステン針上に BDD を製膜した，微小 BDD 電極を作製した。この微小電極を用いて，豚の摘出眼から採取した体液中にて BRM 濃度を段階的に上昇させると，それに伴った電流値の上昇が観測され，BDD 電極を用いた BRM の生体内測定が可能なことが示唆された。

（９）置換基修飾位置の異なるポルフィリンのがん細胞集積挙動の解明

○新内綾乃，東條敏史，近藤剛史，湯浅　真（東理大・理工・先端化学）

がん治療において抗がん剤は有効な治療効果を示すが，がん細胞以外の正常な細胞への作用に起因する様々な副作用の発現が問題視されている。抗がん剤の副作用低減において，がん細胞集積性を有する「ポルフィリン」という

大環状物質が注目を集めている。ポルフィリンは豊富なπ共役系の存在による脂質タンパク質との強い親和性を起因として, がん細胞選択的な集積性を示すことが知られている。当研究室では，ポルフィリンをキャリアとした抗がん剤の創製による副作用の低減を最終目標としている。このような複合体を創製する上で, ポルフィリンに対する置換基の結合位置とがん細胞集積性の相関関係を明らかにすることを本研究の目的としている。初めに，ポルフィリンの各修飾位置（meso 位，β 位）にアミド結合を介しフェニル基を修飾した meso-Ph1 及び β-Ph1 を合成し，ヒト乳がん細胞（MCF-7）に添加して集積量を評価した。定量の結果から, 先行研究で評価されたメチル基置換のポルフィリンは meso 位誘導体が高い集積量を示すのに対し，フェニル基置換では β 位誘導体が高い集積量を示した。得られた集積挙動を示す要因を解明するため, 各ポルフィリン誘導体の細胞内局在・タンパク質との結合定数・細胞取り込み機構の評価を行った。その結果，ポルフィリンに対する置換基の修飾位置や構造が変化することで, タンパク質との親和性や細胞膜透過機構が変化し, がん細胞集積性に影響を与えることが示唆された。

（10）マイクロ流路による巨大脂質膜小胞の製造

○鈴木宏明（中央大学・理工学部・精密機械工学科）

生命体はソフトマテリアルで構成されている。生命の基本単位である細胞は，ヘテロな高分子の複雑かつ秩序と階層性を持った混合体である。私たちは，細胞の特徴を持つ物質を再構成する試みにおいて，そのコンパートメントである巨大脂質膜小胞（GUV）の力学的特性や製造方法を研究している。さらに，細胞模倣型バイオリアクターの基本プラットフォームとしての GUV の特性も調べてきた[1, 2]。最近，人工細胞研究を定量的に進めるために，簡便で再現性の高い GUV 製造法の確立に成功した[3]。

脂質二重層は非常に薄く（～5 nm），柔らかく，壊れやすいため，制御された方法で均一な GUV を製造することは非常に困難であった。最近の 5 年間で，マイクロ流体技術に基づく均一な GUV の製造法が急速に発展してきた。本技術はその一翼を担い，簡便かつ再現性の高い結果を得ることに成功した。バイオマーカーの検出や生体物質の生産などへの応用が期待される。

[1] M. Tsugane and H. Suzuki “Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction in Giant Unilamellar Vesicles,” Sci. Rep., 8, 9214, 2018.

[2] T. Okano，K. Inoue，K. Koseki，H. Suzuki “Deformation Modes of Giant Unilamellar Vesicles Encapsulating Biopolymers,” ACS Synth. Biol., 7(2), 739-747, 2018.

[3] R. Ushiyama，K. Koiwai，H. Suzuki, “Plug-and-Play Microfluidic Production of Monodisperse Giant Unilamellar Vesicles Using Droplet Transfer across Water-Oil Interface,” Sens. Act. B: Chemical, 355, 131281, 2021.

（11）誘電スペクトロスコピーにおける微生物の誘電率計測

○影山湧二[1]，木村　暁[1]，伊東　章[2]，堀江哲郎[3]，緒方元気[4]，栄長泰明[4]，鈴木宏明[2]，村上慎吾[1]
（[1]中央大・理工・電気電子情報通信工学専攻，[2]中央大・理工・精密工学専攻
[3]日本歯科大・生命歯・共同利用研究センター，[4]慶應大・理工・化学）

微生物が持つ脂質二重層膜はその電流を通さない性質による静電容量を持つため，脂質二重層膜の誘電率を計測することで微生物の増減や状態変化が評価できる。この評価手法が抗ウイルス薬開発の初期スクリーニングにおける新たなアッセイ手法になることが期待される。従来の初期スクリーニングではウイルスに対する候補化合物の薬理作用を培養細胞の細胞変性効果で評価するため，培養細胞を介した間接的な薬理効果の評価している。我々は脂質二重層膜に起因する誘電率を計測することで培養細胞を介することなく化合物の薬理効果を直接的に

評価する手法を開発した。手法の有効性を確認しウイルスでの誘電率計測を実現するため，本研究では初期段階として脂質二重層を持ち実験的に取り扱いが容易なイースト菌を用いた誘電率計測を行った。また，白金黒電極及びダイヤモンド電極での誘電率計測の比較も行った。KCl 水溶液とイースト菌を懸濁した KCl 水溶液の誘電率を計測すると，KCl 水溶液と比較し細胞懸濁液では 104-107 Hz の周波数帯域においてイースト菌の脂質二重層膜に起因した誘電率の増加を確認できた。また，KCl 水溶液に懸濁するイースト菌を減少させると誘電率も同様に減少することを計測できた。本手法は培養細胞を介せずウイルスに対する化合物の薬理効果の評価が可能なため，ドラッグスクリーニングにおける新たなアッセイ手法になることが期待できる。

（12）脂質二分子膜を介したイオン透過－イオノフォアの役割-

○白井　理，宋和慶盛，北隅優希（京大院・農・応用生命科学専攻）

細胞膜の基本構造を形成する脂質二分子膜（BLM）は，内部が疎水性であり，親水性イオンに対して透過障壁として働く。BLM を介した 2 水相に NaCl や KCl のような親水性電解質のみが存在する場合，2 水相間で測定したサイクリックボルタモグラム（CV）には BLM 界面での充電電流が生じ，方形波に近い波形を示す。BLM が Valinomycin (Val) などのイオノフォアを含む場合は，イオン透過による電流が明確に生じ，従来はイオノフォアと錯形成しやすい K^+ 等のみが透過するとされてきた，しかし，共存アニオンにも依存し，K^+ 等と共にアニオンが BLM 内に分配し，対向輸送していることが判った。Gramicidin A のようなチャネル形成剤でも同様であった。また，Tetraphenylborate ($TPhB^-$) のような疎水性イオンが微量でも共存する場合，ピークを伴った CV が得られる。このピーク状の電流は $TPhB^-$ 自体の BLM への吸脱着と膜透過に由来するとされてきた。しかし，我々は放射性元素を用いた電解移動実験の結果から親水性カチオンの透過の関与を実証した。さらに，クロノアンペロメトリーの解析結果より，$TPhB^-$ と共に親水性のカチオンが BLM 内へ分配し，BLM 表面での $TPhB^-$ の吸脱着，$TPhB^-$ と共に K^+ 等が逆向きに透過することを明らかにした。なお，疎水性イオンは低濃度の際はキャリアとして働く。

（13）脂質二分子膜へのイオン分配と膜透過性に関する理論的考察と実験的検証

○吉田裕美，大松照政，石田尚人，鎌田和希，山﨑　毅（京工繊大・分子化学系）

細胞膜を構成する脂質二分子膜は，イオン性分子に対する障壁として考えられているが，疎水性イオンであれば直接膜透過することが知られている。このイオン性分子の直接膜透過は，反対電荷を有する対イオンの種類や濃度によって著しく影響され，それを統一的に説明する理論が求められている。本研究では，脂質二分子膜を介したイオン性蛍光分子の直接膜透過を，蛍光測定を融合した電気化学測定法で解析し，対イオンの影響について調査した。その結果，イオン性分子の膜透過速度は，対イオンともに存在する脂質二分子膜内のイオン性分子の数および膜電位で説明できることを実験的に見出し，同知見に基づいて膜透過理論を構築した。従来の膜透過理論では，イオン性分子の特異的な膜透過性を説明するために，脂質二分子膜表面に unstirred layer などの親水層が存在すると仮定されていたが，本膜透過理論では親水層を仮定しなくてもイオン性分子の特異的な膜透過性を説明することができる。さらに，同理論の妥当性を評価するため，脂質二分子膜からなるジャイアントベシクルを用いた実験を行った. 理論から予測されるとおり，対イオンの濃度差によって，イオン性分子はベシクル内部水相に濃度勾配に逆らって濃縮した。

（14）機械学習を利用した細胞の自動回収技術の開発

○高橋康史，河邉佑典，服部和馬，安立瑞生，井田大貴
（名古屋大学工学研究科・電子工学専攻・ナノバイオ研究室）

細胞内には，ミトコンドリア，ゴルジ，小胞体など様々なオルガネラが存在しており，その相互作用や機能を理解するには，オルガネラレベルの計測技術が不可欠である。近接依存性標識法などの分子生物学的な手法開発が活発に行われている。一方で，量的な問題から現在の分析技術では，PCR が困難なタンパク質，代謝物や脂質などを網羅的に分析することは困難である。そこで，細胞内での位置を流動的に変化させるオルガネラを直接かつ自動で回収する技術の開発に取り組んだ。走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）は，ナノピペットを用いて，液中で細胞の凹凸をナノスケールで計測することができる。得られる形状イメージを利用して，ナノピペットを任意の位置に配置し，細胞に対して化学物質を投与することで，刺激やラベルを行うことが可能である。また，ナノピペットを用いて細胞質の回収を行うことも可能である。本研究では，SCMOS カメラにより取得される細胞の位置情報に対して，Yolov5 による機械学習を行うことで，細胞位置の自動認識を行い，さらにその情報を活用して，ピペットを一度自動で動かし，陰圧を加えて細胞を自動回収する技術を開発した。現在，この技術をオルガネラレベルの回収へ適用を検討している。

（15）ロドプシンと脂質代謝物を介した光受容と温度受容の情報伝達経路

○曽我部隆彰 [1,2]，Craig Montell [3]
（[1] 生命創成探究センター・温度生物学研究グループ，[2] 生理学研究所・細胞生理研究部門
[3]Dept of Molecular, Cellular, & Developmental Biology･University of California, Santa Barbara）

生物の感覚受容は生体恒常性維持に欠かせない機能であり，感覚神経や上皮細胞などの細胞膜に発現した受容体が環境情報を受け取る最初の役割を担う。特定の環境刺激に対応する受容体が多く知られているが，最近では一つの受容体が複数の刺激を感知する多刺激受容体（ポリモーダルレセプター）として働く事例が多く報告されるようになってきた。我々はこれまでにショウジョウバエを用いて，ロドプシンと脂質代謝物を介した光刺激の情報伝達経路を示した。エフェクターである TRP と TRPL チャネルを活性化する脂質分子は長らく不明であったが，それが内因性カンナビノイドであることを突き止めた。また一方で，同じロドプシンと脂質代謝物を介した情報伝達経路はハエの温度受容にも存在することを明らかにしている。この場合のエフェクターは TRPA1 チャネルで，ハエ幼虫の温度走性を制御する。これらの異なる感覚受容プロセスで働く相似の情報伝達経路において，寄与するシグナル因子の機能を評価した。

（16）[特別講演 2] 生体を模倣する人工トンネリングナノナノチューブの開発 －新しい細胞情報伝達プラットフォームの構築－

○三宅丈雄（早稲田大学・大学院情報生産システム研究科）

自然界においては，これまで低分子(イオンやペプチドなど)が細胞外を介して輸送されることで膜電位の変化として情報が伝達される機構が一般的であったのに対し，2004 年複数の研究グループ(Rustom 教授と Gerdes 教授)が細胞間を直接つなぐトンネリングナノチューブ(TNT)を発見したことで，これまで不可能とされた高分子(タン

パク質や小器官)が細胞間のシグナル伝達キャリアに成り得ることが明らかとなった。特筆すべき点として，これら高分子の物質輸送は，単なる情報伝達に留まらず，老化に関わる皮膚細胞機能の改善，癌や HIV 感染などの疾病の進行に深く関与することである。ただし，自然界における TNT 形成は，短時間(概ね数分程度)かつタイミング制御が困難であるため，効率良く情報伝達物質を細胞内に届ける手法が求められてきた。そこで我々は，これまで効率よく細胞に物質を届けるための新技術(新しい材料(複合ナノチューブ)・デバイス(ナノ注射器)・システム(細胞内刺入制御))の開発に取り組んできた。具体的には，無電解メッキと微細加工技術を組み合わせた金属製ナノチューブ薄膜を開発し，本ナノチューブ膜を用いたナノ注射器によって効率よく細胞に物質を届けることに成功した。

（17）埋もれた界面の機械的性質が細胞接着挙動に及ぼす影響

○Afzali Zahra，増田　造，○高井まどか（東大・工・バイオエンジニアリング専攻）

In the native tissue, cells are embedded in ECM or are in direct physical contact with other cells. However, most cell studies are on cultured cells in 2D monolayer. This is not considered the natural microenvironment of the cells in vivo. Alternatively, cells are cultured in 3D as cell aggregates. Conventional methods of cell aggregate formation are included culturing cells in suspension, round-bottom nonadherent plates, and hanging drops. New methods are based on microfabrication and microfluidics. To be widely applied and practical, such methods must be easy and rapid to use, cost-effective, and compatible with machines. However, there are still many difficulties in the way of development of a simple method for spheroid formation. The spheroid microenvironment consists of complex chemical and mechanical cues that affect the cell-cell and cell-ECM interactions. New approaches for forming spheroids must be flexible in tuning the microenvironment and performing physical, and mechanical stimuli on cells. Here we report a method for controlling the culture of fibroblast and HepG2 spheroids that are grown in the double-layer cell culture dish made of an underlayer of polymeric materials covered by crosslinking phosphorylcholine copolymer composed of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC), 3-methacryloxypropyl trimethoxysilane (MPTMSi), and 3-(methacryloyloxy) propyl-tris(trimethylsilyloxy) silane (MPTSSi) as an antiadhesive upper-layer. To understand the effect of mechanical properties of the underlayer of tissue culture material we presented 2 different common cell culture polymers, tissue culture polystyrene (TCPS) and poly(dimethylsiloxane) (PDMS). We also presented 5 different thicknesses of the antiadhesive coating layer, to understand the effect of the mechanical properties of the upper layer on cell behavior and spheroid formation. The results showed that the cell adhesion and migration behavior and spheroid formation depend on mechanical properties of both upper and underlayer of culture substrates. These easy and scalable spheroid culture devices can facilitate the spheroid culture for understanding the formation mechanism of spheroids, and they can be widely used in drug development and tissue engineering.

（18）皮膚における湿度センシング制御機構の検討

○竹馬真理子，田中愛美（應義塾大学医学部薬理学）

皮膚は外界との接点として，生体がさらされる様々なストレス(温度，紫外線など)や刺激（光，圧力，音，化学物質など）に対する応答・制御機構を備えていると考えられる。外界からの刺激で全身症状に影響を与える要因の１つに環境湿度の変動があるが，皮膚が湿度変動に対してどのように応答しているかは不明な点が多く，また

湿度センシング制御機構も明らかになっていない。本研究では，マウス個体，および，ヒト由来の表皮細胞から構築された 3 次元培養皮膚モデル（3D 皮膚）を用い，高湿度および低湿度に対する皮膚の応答性を調べた。マウスを低湿度に暴露すると，短時間で表皮細胞の遺伝子発現変動が示された。また２４時間後には皮膚に浸潤する免疫細胞が増加し，同時にリンパ節の免疫細胞プロファイルが変動した。３D 皮膚では，低湿度暴露により，MAPK シグナル関連および炎症関連遺伝子群を含む多くの遺伝子発現変動が確認された。特に，免疫細胞の浸潤を誘発する炎症性ケモカイン発現の顕著な増加を認めた。これらの結果から，皮膚では表皮細胞が低湿度を感知していると考えられた。表皮細胞での湿度ストレス感知が，個体の免疫系に影響を与えている可能性が示唆された。

（19）電気化学発光を用いる液滴フリーのデジタル ELISA

○伊藤健太郎 [1]，井上（安田）久美 [1,2]，伊野浩介 [3]，珠玖　仁 [3]
（[1] 東北大・環境，[2] 山梨大・工，[3] 東北大・工）

デジタル enzyme-linked immunosorbent assa (ELISA) は単分子検出レベルの感度を有する最も高感度なイムノアッセイ系の 1 つであるが，fL レベルの微小液滴アレイを作製する必要があるため実験操作が複雑である。そこで本研究では簡便なデジタル ELISA 系の開発を目的とし，電気化学発光を用いる液滴不要のデジタル ELISA 系を確立した。粒子上で，ヤギ immunoglobulin G (IgG) を測定モデルとし，400 分子の horseradish peroxidase (HRP) モノマーから成る poly-HRP を標識として抗原抗体反応後，バルク溶液中で過酸化水素とチラミド結合 $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ を基質とする HRP の酵素反応を誘導した。この酵素反応により，チラミド結合 $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ のチラミド部が酸化されチラミドラジカルが生成する。チラミドラジカルは HRP 近傍のタンパク質のチロシン残基と結合する性質があるため，ブロッキング剤として用いた粒子上のウシ血清アルブミンなど，粒子上のタンパク質にチラミド結合 $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ が結合し，粒子が $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ 標識される。$[Ru(bpy)_3]^{2+}$ は tri-n-propylamine (TPA) との共反応により電気化学発光を誘導可能なルミノフォアである。 $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ 標識後の粒子を，TPA を含むリン酸緩衝液中に分散し電極上に滴下した。電極に 1.3 V vs. Ag/AgCl を印加し電気化学発光を確認できた粒子をカウントすることでヤギ IgG の定量を行った。従来のデジタル ELISA はシグナルとなる酵素反応生成物が濃縮した微小液滴をカウントすることで定量を行ったが，本研究では $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ で標識した粒子をカウントすることで液滴不要を実現した。ヤギ IgG 濃度の上昇とともに発光が確認できた粒子の割合は増加し，ヤギ IgG の検出限界は 0.7 pg/mL (4.7 fmol/L) であった。これは市販 ELISA キットよりも 4300 倍優れた検出限界であった。本デジタル ELISA 系の，高感度検出が求められる疾患の早期診断等への応用が期待される。

3. ナノ・メゾスケールから捉えるシナプス制御機構の新展開

2023 年 2 月 3 日

代表・世話人：大塚稔久（山梨大学 大学院総合研究部 医学域）
所内対応者：深田正紀（生理学研究所生体膜研究部門）

（１）記憶固定化の新たなシナプス制御機構の解明
上田(石原）奈津実（東邦大学 理学部）

（２）近位依存性ビオチン標識法を応用した空間的シナプトミクス
髙野哲也（慶應義塾大学 大学院医学部）

（３）組織透明化法を用いた神経ネットワーク構造のマルチスケール解析
日置寛之（順天堂大学 医学研究科）

（４）マウス体性感覚視床における神経回路の機能的・形態的成熟過程
緑川光春（東京女子医科大学 医学部）

（５）シナプスを介した神経回路を維持するための分子機構解明
杉江　淳（新潟大学 脳研究所）

（６）Synapse heterogeneity among the compartments of axon terminals
単一神経細胞内のシナプスの多様性とその制御
谷本　拓（東北大学 大学院生命科学研究科）

（７）神経科学研究における超解像 STED 顕微鏡の有用性と課題
川辺浩志（群馬大学 大学院医学系研究科）

（８）神経筋接合部のアクティブゾーンタンパク質構成の超解像顕微鏡解析
西宗裕史（東京都健康長寿医療センター研究所）

（９）恐怖による摂食抑制を担う腕傍核–視床下部経路の制御メカニズム
永嶋　宇（東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 臨床医学研究所）

(10) 精神疾患発症リスクバリアントがもたらす共通の分子・細胞病理
有岡祐子（名古屋大学 大学院医学系研究科）

【参加者名】

上田(石原）奈津実（東邦大学），有岡祐子（名古屋大学），大塚稔久（山梨大学），川辺浩志（群馬大学），杉江　淳（新潟大学），髙野哲也（慶應義塾大学），谷本　拓（東北大学），永嶋　宇（東京慈恵会医科大学），西宗裕史（東京都健康長寿医療センター研究所），日置寛之（順天堂大学），緑川光春（東京女子医科大学），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）宮崎裕理（生理学研究所），稲橋宏樹（生理学研究所），江川孝彦（生理学研究所），Teh Zhi Hui（生理学研究所），石井宏和（生理学研究所），植田大海（生理学研究所），江野彩花（東北大学），越智翔平（東北大学大学院），小西克侑（大阪大学），小松英彦（生理学研究所），佐野俊春（理化学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），トオヤマ スグル（東京慈恵会医科大学），長澤裕太郎（生理学研究所），中島健一朗（生理学研究所），中島由希（東京大学先端科学技術研究センター），永瀬将志（東京慈恵会医科大学），中村行宏（東京慈恵会医科大学），浜田　駿（山梨大学大学院），飛田耶馬人（山梨大学），日吉加菜映（東京慈恵会医科大学），伏見駿亮（京都大学大学院），Hongyang Wu（東北大学），村田和義（生理学研究所），森　靖典（山梨大学医学部），森島美絵子（東京慈恵会医科大学），山下愛美（大阪医科薬科大学），Kazutoshi Yamada（東京大学），渡部文子（東京慈恵会医科大学）

【概要】

学習や記憶，情動，認知行動など，脳の高次機能の発現には，シナプス伝達が時空間的に厳密に制御される必要がある。シナプス研究の歴史は古く，シナプス小胞の放出機構，シナプス可塑性，神経伝達物質受容体の動作原理など，多くの研究者がそのメカニズムの解明に取り組んできた。その一方で，放出確率の異なるシナプス回路の分子基盤や，興奮性・抑制性のプレシナプス構造，さらにはシナプス機能を修飾するモジュレーター分子の放出機構など，未解明の分野が数多く残されている。そこで，本研究会では，著しい発展を遂げている超解像顕微鏡やクライオ電子顕微鏡，さらには液－液相分離といった新しい概念をもとに，シナプス研究分野で活躍する第一線の研究者を招聘し，最新の研究成果を発表していただく。そして，ナノ・メゾスケールから捉えるシナプス制御機構の新展開を模索したい。また，情報交換に加え，共同研究などへの発展の場を提供したい。

（１）記憶固定化の新たなシナプス制御機構の解明

上田（石原）奈津実[1,2,3]，木下　専[2]

（[1]東邦大学 理学部 生物分子科学，[2]名古屋大学大学院 理学研究科，[3]JST さきがけ）

Transient memories are converted to persistent memories through protein synthesis-dependent consolidation processes at synapse and circuit/systems levels. Synaptic consolidation parallels electrophysiological transition from early- to late-phase long-term potentiation of synaptic transmission (E-/L-LTP). While glutamate signaling upregulations coupled with dendritic spine enlargement are common underpinnings of E-LTP and L-LTP, synaptic mechanisms conferring persistence on L-LTP remain unclear. Here we show that electrophysiological stimuli that induce L-LTP in the perforant path-hippocampal dentate gyrus (pp-DG) synapses elicit remodeling of F-actin and a septin subunit SEPT3. Memories on spatial contexts and objects decay prematurely by 24h in *Sept3*$^{-/-}$ mice, whose hippocampal synapses are morphologically normal except for a scarcity of smooth endoplasmic reticulum (sER)-containing spines in the responsible DG neurons. L-LTP-inducing chemical stimuli to cultured rat DG neurons trigger fast spine enlargement, and slow sER extension from dendritic shaft into enlarged spines. Ca^{2+}-dependent association between SEPT3 and an unconventional myosin MYO5A allows sER extension, which augments spine Ca^{2+} response, and prolongs synaptic facilitation. Together, these findings point to a concept that activity-triggered sER extension into active spines serves as a synaptic basis of memory consolidation.

（２）近位依存性ビオチン標識法を応用した空間的シナプトミクス

髙野哲也[1,2]

（[1]慶應義塾大学 医学部 生理学（神経生理）教室，[2]科学技術振興機構・さきがけ）

星の輝きのような多数の微細突起を有するアストロサイト（星状膠細胞）は，神経細胞のシナプスとの間に三者間シナプス（Tripartite synapse）と呼ばれる細胞接着構造を形成する。これまでに，アストロサイトがこの三者間シナプスを介して神経回路網の再構築，シナプス伝達や可塑性を制御していることが明らかになってきている。しかしながら，これまでのプロテオーム技術では脳内のアストロサイト－神経細胞間という特定の細胞間相互作用を構成するタンパク質成分を解析することは困難とされていた。その為に，アストロサイトがどのようにしてシナプスの形成や機能を制御しているのか，これまで未解明な点が多かった。近年，プロテオーム技術の中でも特に注目が集まっているのが近依存性ビオチン標識（BioID）法である。この方法は，ビオチン化酵素を用いて標的タンパク質の周囲 10 nm 範囲内に存在するタンパク質をビオチン標識する手法である。ビオチン標識され

たタンパク質は，アビジン-ビオチン結合を利用することで容易にタンパク質成分の解析が可能である。この BioID 技術を応用して，私達は新たな空間的シナプトミクス技術として Split-TurboID 法を開発してきた（Takano et al.，Nature，2020）。この方法は，高活性型ビオチン化酵素 TurboID を N 末端と C 末端に分割し，特定の細胞間接着部位でのみビオチン活性を再構成させることで細胞間隙に存在するタンパク質成分を網羅的に同定する技術である。実際に，この Split-TurboID 法を用いて脳内の三者間シナプスを構成するタンパク質成分を同定し，アストロサイトが神経回路の活動を直接的に制御する全く新しい分子機序を明らかにしてきた。さらに，最近ではこれらの技術に加えて，私達は新たなシナプトミクス技術の開発も行っている。そこで，本講演では，これらの空間的シナプトミクス技術について紹介し，脳内のシナプス特異的な分子制御機構について議論したい。

（３）組織透明化法を用いた神経ネットワーク構造のマルチスケール解析

日置寛之（順天堂大学 大学院医学研究科 脳回路形態学）

国内外で続々と開発されている組織透明化技術は，大規模な三次元構造解析を可能にする革新的技術であり，神経回路解析に新たなブレイクスルーをもたらすと期待される。その中でも Sca*l*eS 法は，高い透明化能力と共に超微細構造を保持する能力も有することから，光学顕微鏡観察だけでなく電子顕微鏡観察への応用も可能である。そこで我々は，マクロレベルからナノレベルまでのマルチスケールイメージングに最適化したパイプラインを構築する目的で，Sca*l*eS 法の改良版である Sca*l*eSF 法を開発した（Furuta，Yamauchi et al., 2022）。Sca*l*eSF 法は，脳スライス標本（1 mm 厚）を半日程度で透明化することができ，またグルタールアルデヒド（GA）を含む固定液にも耐性があるという特徴を持つ。透過型電子顕微鏡（TEM）で観察した結果，GA 添加によって超微細構造の保持が向上することが分かった。そして, EGFP とペルオキシダーゼ活性をもつ APEX2 の融合タンパクを発現するアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを作製し，マウス脳に注入した。Sca*l*eSF 法で透明化処理した脳スライス標本を光学顕微鏡で観察した後に, TEM や集束イオンビーム走査電子顕微鏡（FIB-SEM）観察でシナプス部位にズームインすることに成功した。マクロレベルからナノレベルまでの全階層に対応する本イメージング技術は，脳構造解析の進展に貢献することが期待される。本シンポジウムでは, Sca*l*eSF 法を中心として透明化技術を紹介すると共に，我々が最近報告した応用例「前障 GABA 細胞の神経突起の三次元構造解析（Takahashi et al., 2022）」についても紹介したい。

（４）マウス体性感覚視床における神経回路の機能的・形態的成熟過程

緑川光春（東京女子医科大学 医学部 生理学（神経生理学））

生後発達期での中枢神経系の回路形成過程では，最初期にシナプスが過剰に形成された後，必要なシナプスが強化されていき，不必要なシナプスが除去されていく。この現象は発達・経験依存的に進行するが，その過程において強化・あるいは除去される対象である前シナプス側が機能的・形態的にどのように成熟していくのかはよく分かっていなかった。

脳の複雑な神経回路の中でこの疑問に応えるために，我々はマウス視床のヒゲ体性感覚野（VPm）のシナプスに着目した。ここでは，発達初期では単一の VPm ニューロンに対してヒゲ由来，それ以外の部位（異所性）由来共に複数の線維がシナプスを形成している（多重支配）が，成熟した VPm ニューロンは一本のヒゲ由来線維に支配される（一本支配）（Takeuchi et al.，2012，2014，*J Neurosci*.; Takeuchi et al., 2017, *eNeuro*）。つまり，強化されるシナプス（ヒゲ由来）と除去されるシナプス（異所性由来）が既知である。また，マウスがヒゲを使った探索行動を開始する時期にヒゲを抜去すると多重支配が継

続することから，シナプスの選択的強化・除去に感覚経験依存性があることが分かっている（Takeuchi et al., 2014, *J Neurosci.*）。

このシナプスにおいて我々は，マウス遺伝学・ウイルス学を併用してヒゲ由来・異所性由来のシナプスに対して特異的に蛍光タンパク質を発現させ，強化・除去されるシナプスの発達に伴う機能・形態の成熟過程を詳細に調べることが可能な実験系を構築した。

プレシナプス部に対して直接ホールセルクランプ法を適用した機能解析の結果，発達初期に未熟であるシナプス前部の開口放出能は，強化されるヒゲ由来のプレシナプス部において顕著な発達・経験依存的な成熟を示すのに対し，除去される異所性由来のプレシナプス部においてはほとんど成熟しないことが明らかになった。次に，強化されるヒゲ由来の入力線維の投射形態をプレシナプス部からのトレーサー注入によって調べた結果，投射様式も顕著な発達・経験依存的な変化を示すことが明らかになった。さらに，強化されるヒゲ由来のプレシナプス部における，開口放出関連分子の超分子複合体を超解像イメージング（STORM）によって解析した結果，機能変化の基盤となるような分子配置の変化を観察することができた。これらの知見により，マウス体性感覚視床における神経回路の発達・経験依存的な成熟過程がマルチスケールで明らかになりつつある。

（５）シナプスを介した神経回路を維持するための分子機構解明

杉江　淳（新潟大学脳研究所 脳病態解析分野）

Active Zone (AZ) は，神経伝達物質の放出に重要なシナプス前細胞膜の領域であり，さまざまな生物種で保存されたシナプスタンパク質が集まって構成されている。これまでに私たちは，光刺激に長時間曝露されたショウジョウバエ視神経において，AZ に局在する分子群がその構成を変化させることを発見した。光ストレスの状態では, CAST/ELKS ファミリータンパク質 Bruchpilot を含む AZ の数が視神経軸索で減少する。この AZ 分子局在の調節はシナプス後ニューロンやグリア細胞を介して The divergent canonical WNT 経路の働きが必要であった。この分子メカニズムは可逆的であるが，光ストレスが長引くと視神経の軸索変性につながることを私たちは見出した。このことから，AZ 分子の減少がシナプスの喪失を引き起こし，神経変性に至るのではないかと考えた。

シナプス喪失はアルツハイマー病などの神経変性疾患の初期症状であり，認知機能低下と強い病理学的相関があることが知られている。しかしながら，一組のシナプス前後細胞間のシナプス結合とその変性に至る経過をモニタリングすることは困難である。私たちは, ショウジョウバエの視神経をモデルとして，神経変性疾患の初期段階のシナプス結合の喪失から引き起こされる軸索変性を観察できる実験モデルの樹立を試みた。そして，視神経の一つのタイプである R7 ニューロンとそのシナプス後パートナーである Dm8 ニューロンの間のシナプス接続が最初に失われ，その後に R7 の軸索変性が起こることを発見した。

このシナプス喪失を起点とした軸索変性の分子機構について進めている解析結果を基に本発表で議論したい。

（６）Synapse heterogeneity among the compartments of axon terminals
単一神経細胞内のシナプスの多様性とその制御

谷本　拓（東北大学 生命科学研究科）

Structures of synapses should be accurately tuned for synaptic transmission and plasticity in each cell type. Especially, the cytomatrix of active zones is critical in efficiency and precision of vesicle release. Past studies using model synapses have revealed molecular compositions of the active zone scaffold complex, while their diversity within and among cell types in the brain are largely unknown. As synapses in the central nervous system are highly intermingled and

therefore difficult to unambiguously identify the contributing cells. By applying the splitGFP approach, we visualized the main active zone component Bruchpilot (Brp) in different cell types constituting the mushroom body of the fly brain, and found a striking diversity of the aggregates and density of Brp-mediated active zone scaffold. Furthermore, we show the stereotyped heterogeneity of Brp aggregates among the different compartments of Kenyon cell terminals in the mushroom body and identified different signals that regulate this heterogeneity. Our results suggest that multiple layers of modulatory signals spatially regulate the size of active zones.

（７）神経科学研究における超解像 STED 顕微鏡の有用性と課題

川辺浩志（群馬大学大学院 医学系研究科 薬理学講座）

記憶や学習などの脳高次機能の遂行には，神経ネットワーク内での正常なシナプスを介した情報のやり取りが重要である。シナプスの形態や機能の異常が自閉スペクトラム症や認知症などの疾患の発症につながるとも考えられている。シナプスの形態と機能の制御機構に注目して電気生理学的手法と生化学的手法，そして形態学的手法を用いて疾患モデルマウスをはじめとした遺伝子改変動物の解析が長年行われてきた。形態学的手法については，コンフォーカル顕微鏡が主に使われてきた。コンフォーカル顕微鏡の空間分解能が 250 nm から 600 nm 程度であるのに対して，シナプスの大きさが 100 nm から 500 nm 程度である。そのため，広い視野で個々のシナプスを分離して観察することが非常に困難であった。最近発達してきた超解像蛍光顕微鏡法によって，脳組織内のシナプスの形態とシナプス構成タンパク質の分布をより正確に観察することが可能になってきている。具体的には，この目的で，超解像蛍光顕微鏡法として STED 顕微鏡や STORM，または膨張顕微鏡法などが活用され始めてきた。

本講演では，これまで研究対象としてきた特異的ユビキチン化によるシナプスの形態と機能の制御機構について，STED 顕微鏡と生化学的手法を組み合わせることで何が明らかになるかを説明する。そして，脳組織内でシナプス構成タンパク質を STED 顕微鏡で観察する際の注意点と STED 顕微鏡を使った研究の今後の課題を解説する。

（８）神経筋接合部のアクティブゾーンタンパク質構成の超解像顕微鏡解析

西宗裕史（東京都健康長寿医療センター研究所）

神経筋接合部（NMJ）のアクティブゾーン形成の分子メカニズムとして，ラミニン β2―P/Q 型電位依存性カルシウムチャネル（VGCC）―アクティブゾーン・サイトマトリックス（CAZ）タンパク質の相互作用を我々は見出してきました。シナプス形成因子ラミニン β2 は，マウス NMJ のシナプス間隙に蓄積し，シナプス前膜の P/Q-VGCC に結合し，その位置に固定する細胞外リガンドとして機能します。P/Q-VGCC の細胞質領域は CAZ タンパク質に直接結合してアクティブゾーンを形成します。マウス NMJ のラミニン β2 の分布パターンを超解像 STED 顕微鏡で解析したところ，ラミニン β2 はアクティブゾーンと対峙するように筋のヒダ状陥没構造 （junctional fold）の上部に蓄積していました。これらのラミニン β2 蓄積場所は，先述のアクティブゾーン形成の分子メカニズムと一致しています。

P/Q-VGCC は，NMJ シナプス前終末内に離散的な小さな斑点として，均一な密度で分布しています。P/Q-VGCC の細胞質側には CAZ タンパク質である Bassoon が共局在し，その斑点状 Bassoon の両側には CAZ タンパク質の Piccolo が斑点状に 2 つ局在します。これら P/Q-VGCC，Bassoon，Piccolo がアクティブゾーンのユニット構造を形成しているように見受けられます。他の CAZ タンパク質（ELKS，Munc13-1,2，RIM2，RIM-BP1）は，このアクティブゾーンユニット構造内および周囲に小さな斑点と

して局在します。Piccolo 斑点ペアにより位置が同定できるアクティブゾーンのほとんどには CAZ タンパク質が含まれており，これらの CAZ タンパク質を欠いているアクティブゾーンの方が少数でした。よって，NMJ アクティブゾーンの半分以上は，シナプス小胞分泌に関わる CAZ タンパク質を持ち，機能的ユニットとして離散分布していると考えられます。

（９）恐怖による摂食抑制を担う腕傍核-視床下部経路の制御メカニズム

永嶋　宇，渡部文子（東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 臨床医学研究所）

ヒトを含む動物において摂食行動は生命維持に直結する。摂食行動は個体の栄養状態などによって駆動される一方で，食物の味による味覚情動や，危険な環境下での恐怖情動などによっても大きく左右される。しかしながら摂食行動と情動との相互作用を担う神経回路メカニズムには未だ不明な点が多い。

本研究では，摂食行動と情動との相互作用のハブとして，脳幹の橋にある腕傍核に着目した。腕傍核は痛みシグナルや飢餓シグナルを中継することが知られており（Nagase et al., 2019，Current Opinion in Behavioral Sciences），生体に危険が迫っていることを知らせる警報信号を担う。そこで我々は，大阪大学の橋本均教授らとの共同研究により，全脳高速イメージング技術（FAST）を用いてマウス腕傍核の投射パターンの網羅的な解析を行ったところ，外側視床下核（PSTN）への強い投射が認められた。腕傍核-PSTN 経路の機能を明らかにするために，光遺伝学的手法を用いて腕傍核-PSTN 経路を活性化したところ，場所嫌悪学習の誘導と摂食行動の抑制が観察された。また，薬理遺伝学的解析などから，摂食行動や情動と関係する神経修飾ペプチド（下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（PACAP））が腕傍核-PSTN 経路による場所嫌悪記憶に関与することが明らかになった。さらに，恐怖条件下での摂食抑制行動試験において，光・薬理遺伝学的解析を行ったところ，腕傍核-PSTN 経路の抑制が摂食抑制作用を顕著に減弱させ，腕傍核-PSTN 経路が恐怖による摂食抑制に必要であることが示唆された。

以上の結果から，腕傍核-PSTN 経路は摂食行動と嫌悪情動を担う回路であることが示唆された。今後は，腕傍核-PSTN 経路の可塑性メカニズムや腕傍核を介した他経路との役割の違いを解析することで，摂食行動と様々な情動との相互作用を担う回路基盤を明らかにしていきたい。これらの研究によって，多様な疾患で見られる摂食行動異常や情動制御障害などのメカニズム解明や治療法の開発に繋がることも期待出来る。

（10）精神疾患発症リスクバリアントがもたらす共通の分子・細胞病理

有岡祐子[1,2]（[1]名古屋大学医学部附属病院，[2]名古屋大学大学院医学系研究科精神疾患病態解明学）

近年の国内外における大規模なヒトゲノム研究によって，統合失調症や自閉スペクトラム症などの精神疾患発症に強く関与するゲノムバリアントが数多く明らかになってきた。しかし，これらゲノムバリアントをもつ患者の脳でどのような変化が生じているかは，解析の限界もあり明らかになっていない。さらに，患者で認められるリスクバリアントと当該患者の精神症状は一対一対応していないこと，同じリスクバリアントでも異なる症状を呈することもあれば，異なるリスクバリアントでも同じ症状を呈することもある。こういった背景の中，我々は，リスクバリアント横断的な分子・細胞機構を理解することが，精神疾患のルーツとなる分子・細胞機構の理解につながるのではないかと考えている。患者から樹立した iPS 細胞は，当該患者の遺伝的性質を反映する有用な解析ツールとなり，リスクバリアントを有する患者の生きた細胞での解析，特に中枢神経系では神経発達期の分子・細胞変化について，継時的捕捉が可能になると期待される。つまり，リスクバリアントをもつ患者脳における分子・細胞病理の糸口が得られると考えられる。これまでに，リスクバリアントの種類に関係なく，患者で

認められる共通の分子パスウェイや表現型を見出してきている。本研究会では，リスクバリアント保有患者 iPS 細胞を用いた我々の研究成果を紹介するとともに，精神疾患の理解に向けた議論を深めたい。

4. 新世代のクライオ電子顕微鏡解析 ～クライオ電子顕微鏡の応用拡大～

2022 年 11 月 1 日
代表・世話人：岩崎憲治（筑波大学）
所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（1）多剤排出トランスポーターP 糖タンパク質の単粒子構造解析
濱口紀江（千葉大学）

（2）フィロウイルスの単粒子解析
藤田陽子（京都大）

（3）転写におけるヌクレオソーム構造変換のクライオ EM 構造解析
鯨井智也（東京大・定量研）

（4）KEK でのクライオ電顕の運用と実績
池田聡人（高エネ研）

（5）電子線照射に極めて弱い補酵素のクライオ EM 単粒子構造解析
浜口　祐（東北大・多元研）

（6）効率的なデータ収集を目指した修飾グラフェングリッド（EG-grid）の開発と応用
藤田純三（大阪大・生命機能）

（7）多数結晶のハイスループット測定による高多重度 MicroED
中根崇智（大阪大・蛋白研）

【参加者名】

講演者を含め　オンサイト参加登録　32 名　　オンライン参加登録　190 名

【概要】

2017 年度からクライオ電子顕微鏡解析に関する本研究会を継続開催している中で，ついに 2021 年度に ExCELLS にアジアでもトップクラスの仕様を備えたクライオ電子顕微鏡が導入された。その間，高度な単粒子解析が徐々に一般ユーザーに普及してきた。国内における施設の増強拡大，解析ソフトウェアの充実などから単粒子解析手法で原子モデルを得ることがより身近になりつつある一方で，より小さな試料への応用，電子線トモグラフィーや MicroED など，応用が拡大しつつあり，今までの研究会で扱ってきた内容よりも一歩進んだ展開が散見されるようになってきた。本研究会では，現在こうした技術を取り入れ最前線にいる研究者，これから使いたいと考えている研究者・学生が集い，活発な情報交換を行うことでモザイク状になりつつあるクライオ電子顕微鏡の技術情報を包括的に理解していくことを目的とする。

昨今では，クライオ電子顕微鏡施設の充実は，その手法の普及を加速し，我が国でも日を追うごとにその成果が増えている。一方で，加速する高効率化されたオペレーション技術，新しい試料作製方法から，さらに進化する高度な単粒子解析技術を習得し自在に使える人材は非常に少ない。アカデミアから産業界への人材引き抜きも多い。次世代のクライオ電子顕微鏡技術を使いこなす若手の継続的な育成は直面している課題である。今回，このような視点から，最先端でクライオ電子顕微鏡技術を使いこなし，めざましい成果を挙げている若手を講師に迎え，クライオ電子顕微鏡の研究会を企画した。多くの若手，そしてこれまでクライオ電子顕微鏡に触れたことのない研究者の本領域への新規参入を促すことができれば本研究会の最大の成果となる。

（１）多剤排出トランスポーターP 糖タンパク質の単粒子構造解析

濱口紀江（千葉大学）

P 糖タンパク質（P-gp）は ABC トランスポーターの一種で，生体内では主に小腸や肝臓，血液脳関門の細胞膜に存在しており，細胞毒性を持つ疎水性化合物を細胞外に排出する働きを担っている。P-gp は，多くの医薬化合物を基質と認識して輸送することが知られており，特にがん細胞においては抗がん剤を細胞外へ排出することで薬剤耐性を付与し，治療の妨げとなっている。P-gp の基質認識機構を詳細に理解することができれば，P-gp に認識されない医薬化合物の設計が可能となると期待される。近年，クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析によりヒト P-gp と基質・阻害剤それぞれとの複合体構造が報告されており，基質と阻害剤の結合ポケットの違いや阻害機構の大枠が明らかとなった。しかし P-gp がどのように化合物を基質または阻害剤として識別できるのかの詳細な理解には至っていない。そこで本研究では，P-gp と化合物の複合体構造を複数解明し比較することで詳細な基質認識機構の解明を目指す。まず，動物細胞を用いたヒト P-gp の大量発現・精製系を確立し，ATP 活性測定などで性状評価をした。また脂質環境を再現するために，簡便なナノディスクへの再構成システムを構築した。現在，新規条件下でクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子構造解析を行い，2.93 Åの分解能で立体構造が得られている。本発表では，P-gp の発現・精製・ナノディスク化技術と得られた立体構造について紹介する。

（２）フィロウイルスの単粒子解析

藤田陽子（京都大学）

本邦の感染症法において最も危険度が高い一類感染症には，現在 7 種類の感染症が指定されている。そのうち 2 種類は，フィロウイルス科に属するエボラウイルスとマールブルグウイルスが病原体となる致命的な急性熱性疾患である。このエボラウイルス病やマールブルグ病はアフリカを中心に散発的な流行が繰り返されているが，未だ十分な予防法・治療法は確立されていない。また，ヨーロッパやアジアに生息する様々な野生動物由来の検体から，新規フィロウイルスのゲノム配列が次々と検出されている。

フィロ“filo”はラテン語で「糸」を意味する語であり，その名の通りフィロウイルスはフィラメント状の粒子を持つ。フィラメント状粒子の内部には，核タンパク質とゲノム RNA からなる螺旋状の複合体を骨格として，VP24 や VP35 といった他のウイルスタンパク質が結合したヌクレオカプシドが取り込まれている。しかしながら，巨大で柔軟な複合体の結晶化は難しく，螺旋状複合体の立体構造やヌクレオカプシドの形成機構は未解明であった。我々はクライオ電子顕微鏡 単粒子解析法を用いて，核タンパク質–ゲノム RNA 複合体を中心にさまざまなフィロウイルスのタンパク質立体構造解析に取り組んでいる。これらの構造解析から，ゲノム転写・複製や螺旋構造の形成に必要な相互作用領域がフィロウイルスに広く保存されていることを明らかにした。

本講演では，フィロウイルスタンパク質の構造解析を例に，螺旋複合体をターゲットとした単粒子解析の詳細をご紹介したい。

（３）転写におけるヌクレオソーム構造変換のクライオ EM 構造解析

鯨井智也[1,2]，江原晴彦[2]，白水美香子[2]，関根俊一[2]，胡桃坂仁志[1,2]
（[1]東京大学定量生命科学研究所，[2]理化学研究所　生命機能科学研究センター）

In eukaryotic cells, the genomic DNA is packaged into a chromatin structure. The basic unit of chromatin is the nucleosome, in which approximately 150 base-pairs of DNA are wrapped around a histone octamer consisting of H2A, H2B, H3, and H4. The first step of gene expression is the transcription by RNA polymerase II. However, the mechanism of how RNA polymerase II transcribes the nucleosomal DNA is unknown.

To elucidate the mechanism, we have established an in vitro transcription system using a nucleosome as a template. The template nucleosome was prepared by ligating a DNA fragment with an RNA polymerase II-loading site to a nucleosome. In this study, the transcription reaction was conducted in the presence of transcription elongation factors, Paf1 complex, Spt6, Spn1, Spt4/5, and Elf1, and a histone chaperone FACT. We prepared the transcribing RNA polymerase II elongation complex (EC)-nucleosome complexes in which EC was paused at various positions on the nucleosome and analyzed their structures by cryo-EM single particle analysis. We determined six structures, EC42, EC49, EC49B, EC58hex, EC58oct, and EC115. While the EC42 and EC49s represent the downstream nucleosome disassembly processes, the EC58s and EC115 represent the upstream nucleosome reassembly processes.

In this conference, I will discuss the mechanism of how RNA polymerase II traverses the nucleosome while maintaining the nucleosome structure during transcription.

（４）KEK クライオ電顕施設における自動逐次処理システムの運用と microED への取り組み

池田聡人，守屋俊夫，山田悠介，川崎政人，安達成彦，千田俊哉
（高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 構造生物学研究センター）

高エネルギー加速器研究機構（KEK）・構造生物学研究センター（SBRC）では，創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）のユーザー支援の一環として，クライオ電子顕微鏡（クライオ電顕）によるタンパク質の立体構造解析支援に取り組んでいる。2018 年 10 月以降, 200kV クライオ電顕 Talos Arctica（Thermo Fisher Scientific 社）を運用し, 年間 200 日以上のマシンタイムを外部ユーザーに提供し，70 種類以上のタンパク質の立体構造を決定してきた。昨年度より RELION4.0 の Schemes 機能を用いて，KEK のユーザー支援体制に合わせた独自の On-the-Fly 処理を行う「GoToFly」を開発し, その運用を始めた。GoToFly では, 取得したマイクログラフを逐次的に解析用計算機に転送し，crYOLO による粒子ピッキング，２次元平均像の生成までを行っている。スクリーニング測定時には，GoToFly で出力された２次元平均像を確認し，グリッドの良し悪しを判定している。特に良好なグリッドが２枚以上あってどのグリッドを overnight 測定するか迷った場合，preferred orientation の有無を知りたい場合，複合体の形成の状況を確認したい場合など, マイクログラフを見ただけでは判断が難しい時に有用である。また，overnight 測定の際にも GoToFly ではそのデータセットに最適な mask diameter の探索を行い，overnight 測定完了後に行う解析処理を簡略化している。GoToFly の運用を通して crYOLO のピッキングの特徴などの知見が得られたので合わせて紹介する。また, KEK-SBRC が高度化の一環として取り組んでいる MicroED の進捗状況にも触れたい。MicroED は，微小結晶に電子線を照射して得られる回折から低分子化合物・タンパク質・核酸などの立体構造を解析する手法である。KEK-SBRC でも 200kV クライオ電顕を用いて技術的な検証を行い，他機関の研究者と協力しながら試料調製・測定・解析のワークフローの確立に向けて取り組んでいる。今回，MicroED については，試行錯誤の結果みえてきた天然低分子化合物の適切なグリッド作製方法とその測定について紹介したい。

（５）電子線照射に極めて弱い補酵素のクライオ EM 単粒子構造解析

浜口　祐（東北大学・多元物質科学研究所）

クライオ電子顕微鏡，特に単粒子構造解析は近年目覚ましい進歩を遂げており，タンパク質の構造をルーティンに，結晶化することなく決定することができる。単粒子構造解析による構造登録数は年々増加している。国内においてもハイエンド 300 kV クライオ電子顕微鏡の導入が続いており，クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析はますます身近なものになっている。データの取得・解析は氷に包埋したタンパク質粒子の Dose weighted movie で行われ，高分解能な構造解析を可能としている。しかし，この方法は電子線の影響を受けやすい金属イオンをもつ補酵素を含むタンパク質には不十分である。本研究では，クロロフィルやその他補酵素を含む膜タンパク質である光化学系 I の放射線損傷を最小にする条件を検討した。その結果，総照射線量を 5 e-/Å 以下まで下げることで，ほとんどの補酵素が損傷を抑えた状態で観察可能であることを見出した。また，金蒸着グリッドを使用した撮影の効率化や，多元物質科学研究所で新規導入したクライオ電子顕微鏡の運用についても併せて紹介する。

参考文献

Kato K，Miyazaki N，Hamaguchi T (equally contributions), Nakajima Y，Akita F，Yonekura K，Shen J-R. “High-resolution cryo-EM structure of photosystem II reveals damage from high-dose electron beams”，Communications Biology (2021) 4:382

（６）率的なデータ収集を目指した修飾グラフェングリッド（EG-grid）の開発と応用

藤田純三（大阪大学大学院生命機能研究科）

ホーリーカーボングリッドを用いた氷包埋法による cryo-EM 試料調製では，気液界面における試料の変性や粒子の局在，配向の偏り，ブロッティングによる粒子密度の減少といった現象がしばしば問題となる。解決策の一つとして，グラフェン等のごく薄い支持膜をグリッド表面に張り付けたサポートグリッドを利用する方法が知られているが，その際にはグラフェンを親水化する必要がある。発表者は JST OPERA「酸化制御共創コンソーシアム」の一員として，グラフェングリッドを二酸化塩素を用いた光酸化法により酸化し，さらに化学修飾を行うことでタンパク質試料を効率よく吸着する新規な修飾グラフェングリッド(EG-gridTM)を開発する一方で，このグリッドを用いて AMED BINDS にて cryo-EM による構造解析支援にも携わってきた。本発表では EG-grid を用いた GroEL，GAPDH，V1-ATPase，β-galactosidase，apoferritin の構造解析例およびそこから見えてきたデータ収集の効率化や粒子の配向性の変化といったメリットを紹介する。また，EG-grid を用いて SARS-CoV-2 スパイクタンパク質と抗体との複合体やバクテリア由来の細胞分裂タンパク質 FtsZ フィラメントの構造解析を行った事例についても紹介する。cryo-EM のデータ収集および構造解析は飛躍的に高速化を遂げ，また新型コロナウイルスに対する薬剤開発が急がれる状況も相まって，素早い構造情報の取得に対する需要はますます高まっている。EG-grid 等の技術や我々の設備を駆使した構造解析支援が一助となれば幸いである。

（７）多数結晶のハイスループット測定による高多重度 MicroED

中根崇智（大阪大学蛋白質研究所）

MicroED measures electron diffraction patterns from continuously rotating nanocrystals with a thickness of less than several hundred nanometers. It enables single-crystal structure determination from powdery samples for which only powder

diffraction, not single-crystal diffraction, is possible with X-ray even at synchrotron microfocus beamlines. Thus, one can obtain accurate structures without problems typical in powder diffraction, such as peak overlaps.

In the institute for protein research, Osaka university, a semi-automated high-throughput MicroED data collection system was established on a Talos Arctica microscope equipped with a Ceta camera. The goniometer stage is controlled by SerialEM, while continuous (movie mode) image acquisition is performed by Velox and the beam stop is inserted and removed by TEM user interface (TUI). SerialEM controls Velox and TUI via AutoHotKeys. Given a grid with a suitable crystal density, this system allows unattended data collection from 300 to 400 crystals overnight. A similar automated data collection system was also set up on a CRYO ARM 300 II with a TVIPS XF416 camera at the Namba lab in the graduate school of frontier biosciences. Although the throughput was lower on this scope due to slower movie writing, the higher acceleration voltage at 300 kV and the omega filter make this more suitable for protein crystals.

Data collection from many crystals has several advantages. Using clustering algorithms, a subset with better-ordered, homogeneous crystals can be selected from a mixture of crystals with varying qualities. One can also obtain multiple structures from a mixture of different compounds (for example, products and reactants) and/or different crystal forms of a compound. When crystals are electron-beam sensitive and survive only a few degrees of rotation, it is essential to merge diffraction intensities from multiple crystals to improve the dataset completeness. When the crystals are preferentially oriented on a grid, the starting angle of the rotation should be randomized for each crystal.

Our MicroED setup and the high multiplicity strategy were evaluated on multiple known compounds, such as amino acids, sugars, an NSAID and antibiotics. We solved sodium glutamate monohydrate at 0.65 Å on a Talos Arctica and tetracycline hydrochloride at 0.55 Å on a CRYO ARM 300 II. We also solved hen egg white lysozyme from needle-shaped monoclinic crystals at 2.0 Å.

5. 上皮膜輸送と細胞極性形成機構の統合的理解を目指して

2022 年 7 月 14 日－7 月 15 日

代表・世話人：清水貴浩（富山大学）
所内対応者：古瀬幹夫（生理学研究所）

（１）上部小腸における短期絶食時のグルコース吸収調節機構

林　久由（静岡県立大学）

（２）小腸上皮膜は各種刺激に対してアニオン分泌（Isc 上昇）を惹起するとともに急速なイオン透過性（Gt）の減少を惹起する

唐木晋一郎（静岡県立大学）

（３）単分子測定法によるヒト TMEM16F の機能解析

影山哲平（富山大学）

（４）TRPV6 疾患変異体の細胞内局在の解析

鈴木喜郎（岩手医科大学）

（５）上皮細胞におけるスフィンゴミエリンの輸送に関わる分子機構の解析

池ノ内順一（九州大学）

（６）上皮細胞を用いた再生医療等製品の開発

井家益和（㈱ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング（J-TEC））

（７）クローディン-1 を標的としたバイオ医薬品の経皮吸収促進剤候補の探索

吉野雄太（岐阜薬科大学）

（８）がん細胞特異的小胞を標的としたグルコース輸送体の動態制御機構

藤井拓人（富山大学）

（９）Apical membrane trafficking of heterodimeric amino acid transporter rBAT-$b^{0,+}$AT requires Ca^{2+}-mediated higher-order assembly

Pattama Wiriyasermkul（東京慈恵会医科大学）

（10）上皮膜上の Mg^{2+} 排出分子 CNNM の阻害を介した腫瘍内酸性環境への適応機構

船戸洋佑（大阪大学）

（11）腎臓尿細管膜タンパク質の性ホルモン，性染色体を区別した網羅的性差解析

清水聡史（静岡県立大学）

（12）マウス単離膵管 $HCO3^{-}/H^{+}$ 輸送の数理モデルにおける上皮膜コンプライアンスの役割

山口　誠（名古屋大学）

（13）CFTR 発現および機能に対する COPD 関連因子の影響

日向大智（関西学院大学）

（14）CFTR 発現機能を改善するユビキチンリガーゼ阻害剤の探索

沖米田　司（関西学院大学）

（15）日本人型嚢胞線維症病因 CFTR 変異体に対する白人型変異体治療薬の効果とメカニズムについて

相馬義郎（国際医療福祉大学）

（16）気道線毛の形態形成および運動調節における Ezrin の役割の検討

川口高徳（立命館大学）

（17）可聴域外超音波による骨導刺激が惹起するモルモットの蝸牛マイクロフォン電位

小川博史（岐阜大学）

（18）光干渉断層撮影装置（OCT）を用いたモルモット Hook region の感覚上皮帯の断層画像とナノ振動計測
堀井和広（岐阜大学）

（19）ビタミン類が有する抗アレルギー作用についての電気生理学的検討
風間逸郎（宮城大学）

（20）アレルギー性鼻炎モデルにおける神経ペプチド Gastrin-releasing peptide (GRP) と Galanin (GAL) の関与
木村　徹（杏林大学）

【参加者名】

清水貴浩（富山大学），酒井秀紀（富山大学），藤井拓人（富山大学），加藤瑞希（富山大学），影山哲平（富山大学），竹内唯登（富山大学），丸中良典（一財）京都工場保健会），河原克雅（北里大学），池ノ内順一（九州大学），井家益和（㈱ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング），浅野真司（立命館大学），中張隆司（立命館大学），川口高徳（立命館大学），安岡加紗音（立命館大学），平尾拓也（立命館大学），石黒　洋（名古屋大学），山本明子（名古屋大学），山口　誠（名古屋大学），相馬義郎（国際医療福祉大学），安西尚彦（千葉大学），風間逸郎（宮城大学），五十里　彰（岐阜薬科大学），吉野雄太（岐阜薬科大学），沖米田司（関西学院大学），福田亮介（関西学院大学），日向大智（関西学院大学），任　書晃（岐阜大学），堀井和広（岐阜大学），小川博史（岐阜大学），永森收志（東京慈恵会医科大学), Pattama Wiriyasermkul（東京慈恵会医科大学），清水聡史（静岡県立大学），林　久由（静岡県立大学），石塚典子（静岡県立大学），Hempstock Wendy（静岡県立大学），長田望実（静岡県立大学），鈴木喜郎（岩手医科大学），唐木晋一郎（静岡県立大学），船戸洋佑（大阪大学），木村　徹（杏林大学），城所研吾（川崎医科大学），立川理絵（川崎医科大学），稲場　愛（サンスター㈱），近藤江里（佐藤製薬㈱），古瀬幹夫（生理学研究所），泉　裕士（生理学研究所），大谷哲久（生理学研究所），藤原佐知子（生理学研究所）

【概要】

生体の恒常性維持を担う上皮機能の破綻は，器官の奇形，癌，炎症など様々な疾患の発症につながることから，近年，上皮機能の制御機構を基盤とした研究がさらに進化・深化してきている。この上皮機能を制御するためには，タイトジャンクションなど特殊な細胞結合による細胞極性形成機構と膜輸送蛋白質の局在および機能の解明が必要となる。

本研究会は，「上皮膜輸送と細胞極性形成機構の統合的理解を目指して」と題して，7 月 14 日～15 日に対面を主体としたオンラインとのハイブリット形式で開催した。上皮膜輸送機構あるいは上皮細胞間接着の分子メカニズムを探究している上皮研究者の方々に研究成果を発表していただき，上皮組織における吸収，分泌，バリア機能について，多角的視点から活発な討論が行われた。また九州大学・理学部の池ノ内先生には，上皮細胞におけるリン脂質輸送メカニズムに関する特別講演を，㈱ジャパン・ティッシュ・エンジニアリングの井家先生には，表皮や上皮の再生医療に関する特別講演をしていただいた。コロナ禍であったが，オンサイトでの異分野研究者の活発的な交流もなされ，多様な上皮機能について議論が深まる研究会を開催することができた。

（１）上部小腸における短期絶食時のグルコース吸収調節機構

林　久由，中村千紗都，Wendy Hempstock，石塚典子（静岡県立大学 食品栄養科学部 生理学）

カロリー制限や短期的な絶食は，様々な臓器の機能に影響を与え，糖代謝を変化させ，老化を遅らせることなどが知られている。しかし，短期的な絶食が小腸の糖吸収機能にどのように影響するかは明らかにされていない。マウスから摘出した小腸を用い Ussing チャンバー法で SGLT1 によるグルコース吸収活性(ΔIsc)を評価した。ΔIsc

は，自由摂取マウスの回腸では観察されたが，空腸ではほとんど観察されなかった。しかし，48 時間絶食させたマウスでは，回腸に加え空腸でも大きな ΔIsc が観察された。また，絶食マウスの空腸では，上皮細胞間の Na^+ 透過性の増大が同時に観察された。これはクローディン 15 欠損マウスでは観察されず，Na^+ 透過性の増加はクローディン 15 に起因することが示唆された。経上皮グルコースフラックスを，^{14}C-methyl α-D-glucopyranoside glucose（MDG）を用いて評価した。摂食状態にかかわらず，グルコースの拡散機構は観察されなかった。絶食マウス空腸では，SGLT1 を介した MDG フラックスが増加した。以上より，絶食に対する上部小腸のグルコース吸収機能亢進は，再摂食時の効率的なグルコース吸収に重要であることが示唆された。

（２）小腸上皮膜は各種刺激に対してアニオン分泌（Isc 上昇）を惹起するとともに急速なイオン透過性（Gt）の減少を惹起する

唐木晋一郎 [1,2]，塚本滉太 [1]，池谷舞桜 [1]，鈴木裕一 [3]
（[1] 静岡県立大学 大学院 薬食生命科学総合学府，[2] 食品栄養科学部 環境生命科学科 環境生理学
[3] 仙台青葉学院短期大学 言語聴覚学科）

ヒトやマウス・ラットなどの実験動物の腸上皮膜は，神経伝達物質や消化管ホルモンなどの多くの生理活性シグナル分子や，食物由来の刺激物質，短鎖脂肪酸などの腸内細菌の代謝産物などに応答して，管腔側への水分泌の駆動力となる起電性のアニオン分泌が惹起され，イオン透過性の指標となる膜コンダクタンス（Gt）も上昇することが報告されている。これらの多くのデータは，摘出された大腸組織から作製された粘膜上皮標本や粘膜－粘膜下組織標本を Ussing chamber に装着し，短絡電流（Isc）を起電性経上皮イオン輸送，Gt を経上皮イオン透過性の指標として得られている。一方，小腸に関しては，ヒト検体の入手が困難性や，実験動物でも標本の安定性に問題がある等の理由や，大腸と基本的な差はないと考えられているためか，ほとんど報告がないように思われる。しかし最近，私たちは，マウス小腸粘膜上皮－粘膜下組織標本において，腸管神経系を電気刺激することによって TTX 耐性の Isc 上昇と Gt 減少が惹起されることを発見した。さらに，マウス空腸の管腔側に短鎖脂肪酸の一種であるプロピオン酸や病原性大腸菌の産生する熱耐性エンテロトキシン STb の管腔側投与によっても Gt 減少が惹起されることを発見した。本演題では，マウス小腸粘膜－粘膜下組織標本に対する各種刺激によって惹起される Gt 減少作用について紹介したい。

（３）単分子測定法によるヒト TMEM16F の機能解析

影山哲平 [1]，櫻井大雅 [1]，清水貴浩 [1]，中尾裕之 [2]，岩本真幸 [3]
藤井拓人 [1]，永森収志 [4]，中野　実 [2]，老木成稔 [3]，酒井秀紀 [1]
（[1] 富山大学 薬学部 薬物生理学，[2] 生体界面化学，[3] 福井大学 医学部，[4] 東京慈恵会医科大学）

Transmembrane protein 16F (TMEM16F) は，細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度上昇により，細胞膜リン脂質の非対称性を崩壊させるスクランブラーゼとして同定されたが，近年，TMEM16F の過剰発現がリン脂質輸送だけでなく，イオンチャネル電流も生じることが報告されている。これにより，TMEM16F はリン脂質とイオンを輸送する特異な蛋白質であると考えられているが，内在性蛋白質が発現する細胞系では，TMEM16F が単体で両機能を有するのかを明らかにすることが困難である。とりわけ，TMEM16F のイオンチャネル機能に関しては異なる性質が報告されており，議論の余地がある。

本研究では，精製ヒト TMEM16F 蛋白質を人工二重膜に再構成し，単分子でのスクランブラーゼ機能およびイオンチャネル機能を解析した。その結果，蛍光リン脂質

を用いた消光アッセイにより，ヒト TMEM16F による Ca^{2+} 依存的なリン脂質輸送が観測できた。また，液滴接触二重膜法を用いてシングルチャネル記録を行ったところ，ヒト TMEM16F の導入により，約 80 pS のシングルチャネルコンダクタンスを有し，電位依存的なゲーティングを示すアニオンチャネルが見出された。本研究結果は，ヒト TMEM16F の単分子レベルでの活動を初めて記録したものであり，ヒト TMEM16F が二つの機能を併せ持つ蛋白質であることが示唆された。

（４）TRPV6 疾患変異体の細胞内局在の解析

鈴木喜郎，齋藤紘帆，中﨑克己（岩手医大 生理学講座統合生理学分野）

TRPV6 は TRP チャネルファミリーに属する Ca^{2+} 選択性チャネルである。小腸や胎盤に発現し，全身の Ca^{2+} 恒常性維持のための上皮 Ca^{2+} 輸送を行っていると考えられている。一方，胎盤絨毛上皮細胞において絨毛の形成に関与するという報告もあり，ずり応力などの機械刺激に応じた細胞極性形成への関与が示唆されている。TRPV6 遺伝子変異によって母子間 Ca^{2+} 輸送障害による新生児期副甲状腺機能亢進症を発症するが，同様の変異群が成人において非アルコール性慢性膵炎のリスク因子であることが近年報告された。それらに共通する変異体の多くは細胞膜への移行が障害されるトラフィッキング変異であったが，その詳細は不明であった。私達は両疾患の発症メカニズムを明らかにするため，HEK293 細胞に強制発現させた際のトラフィッキング変異体の細胞内における分布を免疫細胞化学法および糖鎖切断前後の試料を用いたウエスタンブロット法によって解析した。野生型や細胞内アンキリンリピート変異体はゴルジ体まで進む一方，トラフィッキング変異体はゴルジ体へは進めずに小胞体に留まっているという preliminary な結果を得た。トラフィッキング変異では上皮 Ca^{2+} 輸送が障害されるだけでなく，小胞体ストレスを介した組織の炎症が惹起される可能性が示唆された。

（５）上皮細胞におけるスフィンゴミエリンの輸送に関わる分子機構の解析

池ノ内順一（九州大学 理学研究院）

上皮細胞の微絨毛には，スフィンゴミエリンが豊富に存在するが，その細胞内輸送を制御する分子機構は殆ど明らかになっていない。そこで私たちは最近，スフィンゴミエリンに特異的に結合するシマミミズ Eisenia foetida の体腔液由来タンパク質である Lysenin を改変して，アピカル膜へのスフィンゴミエリンの輸送過程を可視化するためのプローブを作出した。スフィンゴミエリンの極性輸送の制御に関わるシグナル伝達経路の同定を行う目的で，このプローブを安定発現する細胞に対して，輸送過程を障害する化合物のライブラリースクリーニングを行った。その結果，mTOR complex（mTORC）経路がスフィンゴミエリンの輸送に関与することが示唆された。mTOR 複合体のキナーゼ活性に必須の足場タンパク質である Rictor をノックダウン細胞が，mTOR に対する阻害剤で処理した細胞と同様の表現型を示したことから，mTORC2 経路がスフィンゴミエリンの細胞内輸送過程を制御すると結論した。さらに mTORC2 経路の下流において小胞輸送を制御する低分子量 G タンパク質 Rab35 が活性化され，スフィンゴミエリンの輸送を促進することを見出した。本発表では，上記のシグナル伝達経路が，上皮細胞の低浸透圧ストレスにおいて果たす役割についてもご紹介したい。

（６）上皮細胞を用いた再生医療等製品の開発

井家益和（㈱ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング（J-TEC）研究開発部）

再生医療による世界初の成果は，自家培養表皮を用いて重症熱傷を治療した 1981 年の臨床報告である。自家培養表皮は，3T3 細胞のフィーダーとウシ胎児血清含有培地を用いて患者自身の表皮細胞を培養し，コンフルエントを経て，dispase 処理によってフラスコから剥離する移植用の表皮細胞シートである。理論上，切手大の皮膚から，３週間程度の培養期間で全身を覆う面積の表皮細胞シートを作製することができ，そこに含まれる表皮幹細胞が永久生着して創傷治癒に至る。われわれは，この技術の製品化を目指し，日本で再生医療等製品の第 1 号となる自家培養表皮「ジェイス」が 2007 年に承認された。

3T3 細胞のフィーダーを用いたヒト表皮細胞の培養系では，血清を含有した高 Ca 濃度の培地中で細胞間結合が発達して重層化し，細胞分化と調和した細胞増殖が維持されており，表皮幹細胞を原動力とした創傷治癒過程がフラスコ上に再現されている。

この培養技術は扁平上皮細胞であれば応用できるため，口腔粘膜上皮，食道粘膜上皮，角膜上皮，鼻腔粘膜上皮から作製した上皮細胞シートを用いて，上皮欠損創に対する臨床使用が試みられている。われわれはこれまでに，自家培養角膜上皮「ネピック」と自家培養口腔粘膜上皮「オキュラル」を上市した。現在，国内で承認された再生医療等製品は 16 品目と少ないが，そのうち 4 品目が上皮細胞を用いた製品であり，上皮細胞は再生医療の発展の一翼を担っている。

（７）クローディン-1 を標的としたバイオ医薬品の経皮吸収促進剤候補の探索

吉野雄太[1]，照屋達己[1]，加藤由夏[1]，石川吉伸[2]，五十里彰[1]
（[1]岐阜薬科大学 生化学，[2]湘南医療大学 薬学部）

皮膚を介した薬剤の吸収は角質層バリアと表皮顆粒層のタイトジャンクション (TJ) バリアの二つによって厳密に制御されているため，一定以上の分子量の医薬品の経皮吸収製剤化は困難であると考えられている。本研究では，TJ の主要構成タンパク質クローディン-1 (CLDN1) に着目し，経皮吸収促進剤候補の探索およびその作用を行った。

FDA 承認済み化合物ライブラリーから CDLN1 と相互作用する化合物を選定し，CLDN1 発現低下作用をもつ化合物#5 を同定した。ヒト表皮由来 HaCaT 細胞を用いた検討の結果，化合物#5 処理により CLDN1 タンパク質発現量は減少したが，mRNA 発現量に変化は見られなかった。また，化合物#5 処理により TJ 領域の CLDN1 タンパク質局在量が減少した。上記作用は CLDN4 には見られなかったため，CLDN1 特異的な作用と考えられる。阻害剤による検討結果から，局在に対する作用はクラスリン依存性エンドサイトーシスを介することが示された。化合物#5 処理によって経表皮膜電気抵抗値が減少し，各種検討分子の細胞間透過性が亢進した。また，化合物#5 を培地から取り除くことで CLDN1 局在および細胞間透過性は元のレベルにまで回復した。以上より，化合物#5 は CLDN1 タンパク質特異的に作用し，その細胞内局在を変化させることで，表皮細胞間透過性を一過性に亢進させることが明らかになった。経皮吸収促進のためには表皮顆粒層 TJ の透過が不可欠であり，本研究の CLDN1 を標的とした技術は有用であると考えられる。

（８）がん細胞特異的小胞を標的としたグルコース輸送体の動態制御機構

藤井拓人[1]，加藤瑞希[1]，清水貴浩[1]，田渕圭章[2]，清水康晴[3]，竹島　浩[4]，酒井秀紀[1]
（[1]富山大学 薬学部 薬物生理学，[2]生命科学先端研究支援ユニット ゲノム機能解析学
[3]救心製薬㈱，[4]京都大学 薬学部 生体分子認識学）

これまでに我々は，各種のがん組織において Na^+,K^+-ATPase α3-isoform (α3NaK) が高いレベルで異常発現し，その発現はがん細胞内の小胞に見られることを明らかにした。この小胞には TPC1 Ca^{2+} チャネルや SERCA3 Ca^{2+} ポンプも発現しており，がん細胞剥離時に NAADP（TPC1 アゴニスト）依存的な Ca^{2+} シグナルを惹起する Ca^{2+} ストアとして機能する可能性が示唆された。本研究では，ヒトがん細胞に Na^+,K^+-ATPase 阻害剤の強心配糖体を処理することで，原形質膜のグルコース輸送体 GLUT1 の発現量が顕著に低下し，グルコース取り込みおよび解糖系が阻害されることを見出した。強心配糖体による GLUT1 の発現低下は，α3NaK のノックダウン，BAPTA-AM，NAADP および SERCA 阻害剤により抑制されたことから，α3NaK 発現小胞の関与が示唆された。また，PI3K およびエンドサイトーシス阻害剤処理においても GLUT1 の発現低下が抑制された。 以上の結果より，強心配糖体が α3NaK に作用すると，NAADP 依存性の Ca^{2+} シグナルが惹起され，PI3K の活性化を介して GLUT1 がエンドサイトーシスされ，がん細胞のグルコース取り込み能が著しく減少することが示唆された。本研究により α3NaK が発現するがん細胞特異的小胞が新規のがん治療標的となり得ることが示唆された。

（９）Apical membrane trafficking of heterodimeric amino acid transporter rBAT-$b^{0,+}$AT requires Ca^{2+}-mediated higher-order assembly

Pattama Wiriyasermkul[1]，Yongchan Lee[2]，Werner Kühlbrandt[2]，Shushi Nagamori[1]
（[1]Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine
[2]Department of Structural Biology, Max Planck Institute of Biophysics, Germany）

Heterodimeric amino acid transporters (HATs) comprise two subunits: 1) amino acid transporter, and 2) glycoprotein for plasma membrane trafficking. HATs can be mainly categorized into two groups, one has rBAT and another has CD98hc as glycoprotein subunits. In the polarized cells such as intestinal and renal epithelial cells, rBAT-complexes (e.g., rBAT-$b^{0,+}$AT) localize at the apical membrane. In this study, we aim to elucidate the molecular mechanism of rBAT-$b^{0,+}$AT trafficking. We solve the structure of rBAT-$b^{0,+}$AT and found a Ca^{2+}-binding site at the ectodomain of rBAT. Intensive biochemical assays reveal that the Ca^{2+}-binding in rBAT is important for its biogenesis in the ER. Ca^{2+} stabilizes rBAT interface and mediates super-dimerization, ensuring protein quality control acquisition. This process is obligatory for the protein maturation, and trafficking to the apical membrane where rBAT-$b^{0,+}$AT is functional. Our finding explores an important clue in the polarized sorting of HATs in epithelial cells.

（10）上皮膜上の Mg^{2+}排出分子 CNNM の阻害を介した腫瘍内酸性環境への適応機構

船戸洋佑[1]，橋爪脩[1]，三木裕明[1,2]
（[1]大阪大学 微生物病研究所 細胞制御分野，[2]大阪大学 感染症総合教育研究拠点）

Mg^{2+} 排出トランスポーターCNNM は経上皮輸送によるマグネシウムの吸収・再吸収に寄与する。一方がんではその働きが悪性がんで高発現する分子 PRL により阻害され，その結果細胞が最も効率よく増殖する環境 pH が通常環境の 7.4 前後から悪性がん組織内で見られる弱酸性の 6.5 前後へシフトする。またその原因として，リソソームが細胞膜と融合し内容物を放出する「lysosomal exocytosis」の活性化が重要と明らかにしてきた。

この PRL による環境 pH 応答性変化のさらなる機構解明のため，標的既知の低分子化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを行った。その結果，1639 個の化合物ライブラリーに 9 種含まれる TGF-β の I 型受容体 ALK5 に対する阻害剤が全て 40 個のヒット化合物に含まれていた。pH 応答性変化への TGF-β 経路の寄与が示唆され，実際 PRL 発現細胞では同経路の活性化が観察された。そして ALK5 の阻害剤投与だけでなくそのノックアウトにより PRL 依存的な pH 応答性変化や lysosomal exocytosis が抑制され，また逆に TGF-β リガンド処理によりこれらの現象が活性化された。これらの結果は腫瘍内酸性環境への適応という TGF-β 経路の新たな役割の解明につながると考えられ，本研究会ではさらにその詳細な仕組みについても最新の結果を紹介する。

（11）腎臓尿細管膜タンパク質の性ホルモン，性染色体を区別した網羅的性差解析

清水聡史[1,2]，橋口丈晃[1]，Pornparn Kongpracha[2]，杉本早穂[1]，水野　葵[1]，宮坂政紀[2]
Pattama Wiriyasermkul[2]，坂本多穂[1]，中井雄治[3]，永森収志[2]，黒川洵子[1]
（[1]静岡県立大学 薬学部 生体情報分子解析学分野，[2]東京慈恵会医科大学 医学部 臨床検査医学講座
[3]弘前大学 地域戦略研究所 食料科学研究部門）

薬物動態において腎臓における上皮膜輸送は重要なファクターであり，性差が顕著にみられる。腎臓のいくつかの分子は性ホルモンの影響により発現パターンを変化させることが知られているが，上皮膜輸送にどのように影響しているかは未だに不明である。そこで，上皮膜輸送の中心的な役割を担う膜輸送体に着目し，性ホルモン・性染色体を区別して性差を比較できる Four core genotypes (FCG) マウスを用い，腎臓刷子縁膜上の膜タンパク質について膜プロテオミクスとトランスクリプトミクスを合わせたマルチオミクスにより網羅的に解析した。

FCG マウスの腎臓刷子縁膜から膜タンパク質試料を調製し，nano LC-MS/MS (Thermo Q-Exactive) を用いて質量分析することで約 5000 分子のタンパク質を同定し，約 400 の性差による変動分子を見出した。また，RNA の抽出を行いマイクロアレイ解析にて発現変動遺伝子解析を行ったところ，膜プロテオミクスと一致する結果だけでなく，異なる結果を示す遺伝子も同定された。次に QIAGEN IPA を用いたパスウェイ検索を行うことで性ホルモン由来，性染色体由来の性差形成因子を明らかにした。転写レベルでは変化しておらず，タンパク質発現量が変化していたものはタンパク質の局在や安定性等の変化によると考えられ，現在詳細に検討を行っている。

（12）マウス単離膵管 $HCO3^-/H^+$輸送の数理モデルにおける上皮膜コンプライアンスの役割

山口　誠[1]，山本明子[1]，谷口いつか[1]，相馬義郎[2]，石黒　洋[1]
（[1]名古屋大学 大学院医学系研究科 健康栄養医学，[2]国際医療福祉大学 薬学部 基礎医学研究センター）

マウスの膵臓から単離した小葉間膵管（直径 100～150 μm）は数時間後に両端が自然に閉じる。当研究室では，正常マウスからの単離膵管を cAMP で刺激すると管腔容積の拡大と管腔内 pH の上昇（～7.8），嚢胞性線維症（cystic fibrosis：CF）のモデルマウス（ΔF マウス）からの単離膵管を cAMP で刺激すると管腔容積の縮小と管腔内 pH の低下（～6.8）が見られることを示した。本研究では，MATLAB/Simulink を用いて，マウス単離膵管の $HCO3^-/H^+$ 輸送の数理モデルを作成した。単離膵管は閉じた空間であり，分泌と吸収によって上皮が伸縮するため，コンプライアンスを設定した。

Bath（表層灌流液），Cell（細胞），Lumen（管腔）からなる 3 compartments model とし，apical membrane にコンプライアンス（ΔV/ΔP）を設定した。Wild-type の膵管では，cAMP 刺激により $HCO3^-$ を管腔内に分泌するが，コンプライアンスを 1（cm^3/atm）に設定すると，Cell と Lumen の静水圧差は 4.1 cmH_2O, 浸透圧差は 106.9 cmH_2O (4.0 mOsm)となった。ΔF/ΔF の膵管では，$HCO3^-$分泌が喪失する上に apical membrane の Na^+-H^+ exchange を介して H^+ が分泌され fluid absorption が起こるが，コンプライアンスを 1（cm^3/atm）に設定すると，Cell と Lumen の静水圧差は−0.6 cmH_2O，浸透圧差は−17.1 cmH_2O (−0.7 mOsm)となった。いずれも実験測定値を再現することができた。

（13）CFTR 発現および機能に対する COPD 関連因子の影響

日向大智，福田亮介，沖米田司（関西学院大学 理工学研究科 生命医化学専攻）

慢性閉塞性肺疾患 COPD は肺の生活習慣病として知られており，世界の死亡原因の第三位である。COPD 発症の最大の原因は喫煙であり，タバコ煙等に含まれる有害物質により，上皮細胞の形質膜に発現する塩素イオンチャネルである CFTR の膜発現やその機能が低下する。CFTR は気道において粘液の恒常性に重要な役割を果たしており，CFTR の機能低下は気道炎症の亢進に寄与することから，CFTR 機能低下の分子機構解析は COPD をはじめとした慢性気道炎症疾患の治療法開発に繋がるものと考える。

CFTR の遺伝子多型である R75Q 及び M470V は COPD 患者で多く見られる。上記の CFTR 多型は COPD 発症に関わる環境ストレスの感受性を高めるのではないかと考えた. そこで，CFTR 野生型と COPD 関連 CFTR 多型の間に環境ストレス感受性に違いがあるかを, タバコ煙に含まれる重金属 Cadmium (Cd) や，緑膿菌外毒素 pyocyanin (PYO) を用いて評価した。qPCR 法を用いて Cd，PYO 処理時における炎症性サイトカイン発現量を定量した結果，嚢胞性線維症（CF）ヒト気道上皮細胞株 CFBE 細胞において野生型 CFTR を発現させた場合, 炎症性サイトカインの遺伝子発現が抑制された。一方，COPD 関連 CFTR 多型を発現させた場合，炎症性サイトカインの発現は抑制されなかった。このことから，COPD 関連 CFTR 多型では野生型と比較して炎症応答に対する感受性が高い可能性が示唆された。

今後，COPD 関連 CFTR 多型の炎症応答高感受性の分子機構解明のため，CFTR 形質膜発現量やチャネル活性について評価する予定である。

（14）CFTR 発現機能を改善するユビキチンリガーゼ阻害剤の探索

沖米田司（関西学院大学 生命環境学部 生命医科学科）

嚢胞性線維症（Cystic Fibrosis，CF）は上皮細胞の形質膜に発現する塩素イオンチャネル CFTR の遺伝子変異に起因する難治性の単一遺伝病である。CF 患者で最も多い変異体 ΔF508-CFTR はフォールディング異常により，小胞体でユビキチン化を受け，小胞体関連分解（ERAD）される。また，CF 治療剤である CFTR modulators 存在下で ΔF508-CFTR は形質膜に発現し，塩素イオンチャネルとして機能するが，再びユビキチン化を受け，リソソーム経路で分解される。CFTR のユビキチン化阻害は機能的な ΔF508-CFTR の形質膜発現を改善するため，CFTR 選択的なユビキチン化阻害剤は，CF 治療剤として有効である可能性がある。我々は理研ケミカルバイオロジーグループとの共同研究により，CFTR 関連ユビキチンリガーゼに結合する化合物を見出した。これらの化合物中には，ユビキチンリガーゼ活性を阻害し，ΔF508-CFTR 分解を抑制する化合物が含まれていた。さらに，培養細胞モデルにおいて，これらの化合物は，CF 治療剤である CFTR modulators の有効性を増強した。従って，これらの化合物が CF 患者由来初代培養細胞（CF-HBE）で有効性が確認できれば，CF 治療剤のシード化合物として有用である可能性がある。

（15）日本人型嚢胞線維症病因 CFTR 変異体に対する白人型変異体治療薬の効果とメカニズムについて

小川亜美，小川未裕，石塚柊太，大塚悠花，黒澤歩実，小林可奈，齋藤佑香
髙橋柚妃，植松咲貴，中島乃愛，君島莉央，相馬光流，中尾香菜子，相馬義郎
（国際医療福祉大学 薬学部 分子病態治療学分野/基礎医学研究センター）

嚢胞線維症 Cystic Fibrosis (CF) は，白人種における代表的な遺伝性疾患のひとつである。日本人を含む他人種においては，CF 患者の数は少ないが，白人種とは異なるタイプの CFTR 変異がみられる。日本で同定された 21 種類の病因性 CFTR 変異のうち，最も高頻度に見られるΔ(G970-T1122) 変異（Wakabayashi-Nakao et al. JPS 2018）に加え，2 番および 3 番目に多い L441P 変異と H1085R 変異は，蛋白は合成されるが，ゴルジ体での糖鎖修飾等の成熟過程が正常に行われず，細胞膜上での発現が阻害されている class Ⅱ変異であることが明らかになった。

白人で最も多くみられるΔF508 変異も class Ⅱ変異であり，最近米国 Vertex 社によって，ΔF508-CFTR の細胞膜上での発現を促進する corrector 薬である lumacaftor，tezacaftor および elexacaftor，そして細胞膜上に発現した変異 CFTR のチャネル活性を増強する potentiator 薬である Ivacaftor が開発され，米 FDA によって認可された。

現在までに，我々は，H1085R 変異は Lumacaftor 単剤で，L441P 変異体は Lumacaftor＋elexacaftor の２剤併用で，細胞膜上の発現レベルが大きく改善されることを発見してきた。しかし，F508，L441 および H1085 の CFTR 分子上の位置は大きく離れており，何故これらの変異体が同じ薬剤によって細胞膜上での発現が改善されるのか，その理由は明らかではない。

現在，我々は，MD シミュレーションを用いて，これらの病因性 class Ⅱ変異体の細胞膜上への発現障害の発生と corrector による障害補正メカニズムを明らかにしようとしている。また，最近，臨床第三相試験中の lumacaftor 類似薬で，ΔF508 変異体では lumacaftor の 10 倍以上の potency で発現レベルを改善すると報告されている Abbvie 社 Galicaftor (ABBV-2222) の日本人変異体に対する効果を調べている。今回，我々はこれらの最新の研究成果について報告する。

（16）気道線毛の形態形成および運動調節における Ezrin の役割の検討

川口高徳[1]，齋藤大地[1]，安岡加紗音[1]，中張隆司[2]，浅野真司[1]
（[1]立命館大学 薬学部，[2]立命館大学 総合科学技術研究機構）

気道では運動線毛の作り出す液層の流れが，細菌やウィルスの排泄を促すことで感染防御の第一線を担っている。Ezrin は，apical 膜に局在する細胞骨格関連タンパク質であり，線毛形成に必要な apical 領域での Actin 細胞骨格および基底小体の集積や，線毛運動活性化に関わる β2 アドレナリン受容体（β2AR）の局在に重要な役割を担う可能性がある。本研究では，Ezrin の発現を 5% 以下に抑制した Ezrin ノックダウン (Vil2kd/kd) マウスを用いて, 気道線毛の形態や線毛運動制御における Ezrin の役割を解析した。

電子顕微鏡を用いて解析の結果, Vil2kd/kd マウスの気管組織において，線毛の形態に異常は認められなかった。しかし，蛍光ビーズの添加による気管の異物排除能を評価した結果，Vil2kd/kd マウスでは，β2AR 刺激薬であるプロカテロール刺激時の排除速度の上昇が抑制されていることが明らかとなった。また，Vil2kd/kd マウスの肺多線毛細胞では，プロカテロールによる線毛運動の周波数 (CBF) と振幅 (CBA) の増加率が低く, 反応性の低下が見られた。Vil2kd/kd マウスでは, β2AR および NHERF1 の subapical 領域での局在が破壊されていた。以上から，Ezrin は肺多線毛細胞において β2AR 刺激時の線毛運動の活性化に重要な役割を担うことが示唆された。

（17）光干渉断層撮影装置（OCT）を用いたモルモット Hook region の感覚上皮帯の断層画像とナノ振動計測

堀井和広，小川博史，安部　力，任　書晃
（岐阜大学 大学院医学系研究科 生命原理学講座 生理学分野）

ヒトは, 鼓膜から伝わってきた音の振動により, 20 kHz までの広い周波数の音を，高い周波数弁別能で感知する。この特性は, 内耳蝸牛に備わる「感覚上皮帯（コルチ器）」というシート様組織がナノスケールで振動することに依拠する。上皮帯に惹起されるこの振動は，そこに局在する有毛細胞を活性化し，神経を介して中枢へと音の情報が伝達される。20 kHz よりも高い周波数の音は「超音波」とされ, 鼓膜を通した入力では受容できないものの，頭部の骨に直接振動を与える「骨伝導」を用いれば，ヒトでも超音波を聴取できる。しかしながら，「超音波聴覚」と呼ばれるこの特徴に関して，蝸牛における超音波受容の有無については詳細な検討がなされていない。

本研究では，超音波受容領域として蝸牛の最も入り口にあたる Hook region に着目した。麻酔下のモルモットを対象に光干渉断層撮影法（OCT）を用いた感覚上皮帯の in vivo イメージングを行い, 断層撮像とナノ振動測定を行った。その結果，上皮帯の断層画像を Hook region と基底回転で比較したところ，組織の厚さは同じであった一方，幅は有意に小さかった。さらに，超音波刺激を与えて上皮帯振動を観測したところ，刺激に一致した超音波の周波数で振動していた。これらの結果から，Hook region の上皮帯が物理的に超音波を受容して超音波聴覚に寄与している可能性が示唆された。

（18）可聴域外超音波による骨導刺激が惹起するモルモットの蝸牛マイクロフォン電位

小川博史[1,2]，堀井和広[1]，安部　力[1]，任　書晃[1]
（[1]岐阜大学大学院医学系研究科 生命原理学講座 生理学分野
[2]岐阜大学大学院医学系研究科 耳鼻咽喉科 頭頸部外科学分野）

ヒトの可聴範囲は 20kHz 以下とされるが，骨導を介して音が入力されると超音波を聴取できることが知られている。しかし，その生理学的機構の詳細は長らく不明とされてきた。今回我々は，蝸牛における超音波受容の可能性を検討するため，刺激により惹起され，聴覚の一次受容細胞「有毛細胞」の脱分極を反映する蝸牛マイクロフォン電位（CM）に着目して計測を行った。全身麻酔下のモルモットの中耳粘膜上に電極を留置し，側頭骨から刺激を加えることで電位を測定した。刺激波形はモルモットの可聴域外の 127 kHz 130 dB の正弦波，持続時間が 200 msec の tone burst を用いた。
超音波刺激により得られた局所フィールド電位に対し，高速フーリエ変換により周波数解析を行った。その結果，刺激周波数とそれ以外の周波数の 3 箇所に信号のピークを認めた。3 種類の信号と振動刺激の関係を時間波形で検討すると，202.85 kHz と 245.85 kHz では振動刺激に同期せず，127 kHz でのみ同期していた。したがって，前者は測定回路の共鳴などによる電気的ノイズ，後者は CM と考えられた。さらに，127 kHz の刺激圧力を増加させると，CM 振幅も増加したが，その入出力関係は「非線形」であった。なお，無酸素負荷後に計測した振幅（LOD）との比較から，CM が好気性代謝に立脚して増幅されることも確認された。

（19）ビタミン類が有する抗アレルギー作用についての電気生理学的検討

風間逸郎（宮城大学 看護学群）

ビタミン類の中には，経験的にアレルギー性鼻炎や気管支喘息患者の症状を緩和するものがあることが知られる。ラットの腹膜より単離した肥満細胞に対し，ビタミン C(アスコルビン酸)とビタミン B6（ピリドキシン）それぞれ 1〜10 mM を単独投与，または低用量でアスコルビン酸とピリドキシンを併用投与したうえでエキソサイトーシスを誘発し，顕微鏡下で脱顆粒現象を観察した。脱顆粒した細胞数の割合をカウント，およびパッチクランプ法により電気的細胞膜容量を測定することにより，これらのビタミン類がエキソサイトーシスの過程に及ぼす作用を定量化し，濃度間での比較を行った。アスコルビン酸とピリドキシンはいずれも，比較的低濃度（1, 2 mM）では肥満細胞からの脱顆粒現象を十分には抑制しなかった。しかし高濃度（5, 10 mM）では，それを大きく抑制し，用量依存性の効果を発揮した。そこで，単独では十分な効果がみられなかった低濃度（1, 2 mM）のアスコルビン酸とピリドキシンを併用投与したところ，肥満細胞の脱顆粒現象を大きく抑制した。その場合，それぞれを単独投与した場合の相加効果以上に，相乗効果を発揮した。ビタミン C やビタミン B6 はアレルギー疾患の症状を緩和することが知られるが，本研究の結果より，これらのビタミン類は，エキソサイトーシスの過程そのものを直接的に抑えることによって，抗アレルギー作用を発揮すると考えられた。

（20）アレルギー性鼻炎モデルにおける神経ペプチド Gastrin-releasing peptide (GRP) と Galanin (GAL) の関与

木村　徹[1]，横井秀格[2]，松本祐磨[2]，川田往嗣[2]，齋藤康一郎[2]，櫻井裕之[1]
（[1]杏林大学 医学部 薬理学，[2]杏林大学 医学部 耳鼻咽喉科）

アレルギー性鼻炎は, 花粉やハウスダストなどのアレルゲンに対する，鼻粘膜上皮におけるアレルギー（AR）反応である。通常，抗ヒスタミン薬やロイコトリエン受容体拮抗薬が用いられるが, それらが反応しない患者も存在する。したがって，AR 患者にとって新たな薬剤の開発が求められている。本研究では，炎症に関与すると考えられている神経ペプチドである Gastrin-releasing peptide (GRP) と Galanin (GAL) に着目して研究を行った。

AR マウスは，１次感作としてオボアルブミン（抗原）を腹腔内投与（１週間おきに計３回投与）し，２次感作として７日間または１４日間連続で抗原を経鼻投与して作製した。AR 症状の評価は，鼻かきとくしゃみ回数，血中 IgE 量で行った。

GRP およびその受容体（GRPR）は鼻粘膜上皮に発現を認め，それらの発現は鼻粘膜のアレルギー炎症が進行すると共に増加した。また GRPR 拮抗薬は，AR 症状の改善を認めた。GAL の受容体のうち，2 型（GALR2）が B 細胞で発現し, その拮抗薬の投与により IgE 産生と 組織内の B 細胞数が減少していた。したがって, GRP/GRPR および GAL/GALR2 シグナル伝達系は，AR の症状の増悪を仲介する可能性が高く，その阻害が AR の新しい治療戦略になりうることが示唆された。

6. 温度生理学研究会：温度の計測・制御から生理的意義を再考する

2022 年 9 月 30 日

代表世話人：内田邦敏（静岡県立大学）
所内対応者：富永真琴（生命創成探究センター/生理学研究所）

（1）腸ホルモン GLP-1 の神経反射によるアドレナリン分泌促進を介した体熱産生作用

武藤明日香[1]，谷田　守[2]，安部　力[3]，矢田俊彦[4]，岩崎有作[1]
（[1]京都府立大学 生命環境科学研究科，[2]金沢医科大学 生理学 2
[3]岐阜大学 医学系研究科生理学分野，[4]関西電力医学研究所統合生理学研究センター）

（2）低温環境下における概日時計中枢のリズム発振機構

榎木亮介[1,2]，金　尚宏[3]，山口良文[4]，根本知己[1,2]
（[1]自然科学研究機構 生命創成探究センター，[2]自然科学研究機構 生理学研究所
[3]名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所，[4]北海道大学 低温科学研究所）

（3）生理的体温変動による概日時計時刻調律機構

三宅崇仁，井ノ上雄一，土居雅夫
（京都大学大学院　薬学研究科　システムバイオロジー分野）

（4）温度刺激はどのように認識されるのか？fMRI を用いた研究からの知見

永島　計[1]，中田大貴[2]，原田宗子[3]，加藤一聖[3]，定藤規弘[3]
（[1]早稲田大学 人間科学，[2]早稲田大学 工学，[3]生理学研究所 システム脳科学）

（5）衣服内換気とインナーの浸潤による蒸散性熱放散の亢進は深部体温の上昇と発汗量を半減させる

時澤　健（(独）労働安全衛生総合研究所 人間工学研究グループ）

（6）新たな評価軸を用いた温度嗜好性評価法の確立

内田邦敏[1]，石川翔理[1]，細岡哲也[2]，内田あずさ[1]
（[1] 静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科，[2] 静岡県立大学 食品栄養科学部 栄養生命科学科）

（7）脳出血発熱におよぼすミクログリア特異的 COX-1 ノックアウトの影響

石田駿斗[1]，北岡志保[2]，古屋敷智之[3]，成宮　周[4]，松村　潔[1]
（[1]大阪工業大学 工学研究科 生命工学，[2]兵庫医科大学 医学部薬理学，
[3]神戸大学 医学研究科 薬理学，[4]京都大学 医学研究科 創薬医学）

（8）サケ科の系統における高温センサーTRPV1 の機能的制約の緩みと再強化

齋藤　茂[1,2,3]，齋藤くれあ[1,2]，野澤昌文[4]，太田利男[5]，富永真琴[1,2,3]
（[1]生理学研究所 細胞生理，[2]生命創成探究センター 温度生物
[3]総合研究大学院大学 生理科学，[4]東京都立大学 理学研究科，[5]鳥取大学 農学部）

（9）Interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse keratinocytes and its physiological significance

Jing Lei[1,2,3]，Reiko Yoshimoto[4]，Takeshi Matsui[5,6]
Masayuki Amagai[5,7]，Mizuho Kido[4]，Makoto Tominaga[1,2,3]
（[1]生理学研究所 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，
[3]生命創成探究センター 温度生物学研究グループ，[4]佐賀大学 医学部，
[5]理研生命医科学研究センター 皮膚恒常性研究チーム，[6]東京工科大学 応用生物学部，
[7]慶應義塾大学医学部 皮膚科学）

【参加者名】

岡松優子（北海道大学），永島　計・加藤一聖・渡邊裕宣（早稲田大学），時澤　健（労働安全衛生総合研究所），内田有希（昭和大学），塚本大輔（北里大学），長谷川真優（東京理科大学），松田(中村）真由美（川崎市立看護大学），塩見邦博（信州大学），内田邦敏・髙木彩花・瀧澤咲月・今村聖月（静岡県立大学），椎名貴彦・堀井有希（岐阜大学），吉岡弘毅（岐阜医療科学大学），犬飼洋子（愛知医科大学），花井亮賢（名古屋大学），徳丸綾音（名古屋市立大学），三宅崇仁（京都大学)，岩崎有作・増田雄太・武藤明日香（京都府立大学），松村　潔・石田駿斗（大阪工業大学），渡邊正知・門田麻由子（福山大学），志内哲也（徳島大学），片野秀樹（㈱ベネクス），柴田諒祐（㈱ニップン），中島　英（味の素㈱），中村康平（トヨタ紡織㈱），田中美樹（本田技研工業㈱），長谷川穂乃歌（帝人ファーマ㈱），富永真琴・曽我部隆彰・榎木亮介・加塩麻紀子・丸山健太・齋藤　茂・石井宏和・佐藤翔馬・水藤拓人・高橋泰伽（生理学研究所／生命創成探究センター）

【概要】

2022 年度の温度生理学研究会（代表 静岡県立大学・内田邦敏（以下敬称略））は，当初９月２９日～３０日に対面にて開催する予定であったが，新型コロナ感染症の影響を考慮して遠隔会議システム（Zoom）を活用してオンラインにて実施した。移動時間の考慮する必要がなかったため，９月３０日に終日の開催とした。事務局によるきめ細かい準備と統制の取れた運営により，滞りなく進めることができた。例年とほぼ同数の９題の研究成果発表であったが，１演題の時間を長くすることで非常に活発な討論が行われ，充実した研究会となった。

第 1 セッションの座長は志内（徳島大学）が担当し，３名の演者が研究成果報告を行った。武藤は消化管から分泌されるホルモン GLP-1 が，副腎髄質からのアドレナリン放出促進を介して食事性熱産生を誘導することを示した。榎木は概日リズムを司る視床下部の視交叉上核の神経細胞における時計遺伝子転写と細胞内カルシウム濃度の振動が温度低下によって停止することを示した。また，温度を 35 度に戻すとリズムがリセットされて再開することを報告した。三宅は，マウス体温の日内変動が概日時計遺伝子発現の変動を調節しうること，並びにその調節は翻訳スピードの変化によるものであることを報告した。

第 2 セッションの座長は，内田（昭和大学）が務めた。永島は fMRI を用いた脳画像解析により，皮膚への温度刺激によって内側前頭前皮質/前帯状回，下前頭回，両側島，後頭頂皮質の活動がみられ，その活動領域は 22～40 度の範囲では温度に依存しないことを示した。時澤は，衣服内の換気とインナーの浸潤が深部体温上昇と発汗量を半減させることを示し，実用的で効果的な Cooling 方法を提唱した。内田は，構築したマウスの飲み水温度に対する嗜好性を評価する方法を紹介し，暑い環境ではマウスも冷たい水を嗜好することを示した。

第 3 セッションの座長は，椎名（岐阜大学）が担当した。石田は脳出血に伴う発熱には炎症時等に誘導される COX-2 ではなく COX-1 が関わること，ミクログリアではなく血小板に発現する COX1 が関わる可能性を報告した。齋藤はサケ科の高温センサーTRPV1 の活性化温度閾値の解析と分子進化学的解析から進化の過程でサケ亜科の祖先では TRPV1 の機能的制約が緩んでいたのだが，サケ属が分岐した後に再び強まったことにより TRPV1 の温度感受性が再調整され，逃避行動における役割が強化された可能性を示した。富永はケラチノサイトに発現する TRPV3 が TMEM79 との相互作用により発現調節をうけることで温感受容を調節することを報告した。

いずれの報告においても多くの質問，意見があり，有意義な議論がなされた。オンライン開催であることから，懇親会は実施できなかったが，質疑応答の時間を十分確保できたことから充実した研究会となった。

（１）腸ホルモン GLP-1 の神経反射によるアドレナリン分泌促進を介した体熱産生作用

武藤明日香[1]，谷田　守[2]，安部　力[3]，矢田俊彦[4]，岩崎有作[1]
（[1]京都府立大学 生命環境科学研究科，[2]金沢医科大学 生理学 2
[3]岐阜大学 医学系研究科生理学分野，[4]関西電力医学研究所統合生理学研究センター）

食後に分泌される腸ホルモンの glucagon-like peptide-1 (GLP-1)は，満腹感創出や血糖上昇抑制など，食後の生理作用に関与する。一方，重要な食後生理作用の一つである食事誘発性熱産生と GLP-1 の関与については未だ不明な点が多い。我々は非代謝性の希少糖アルロースを経口投与すると腸 GLP-1 分泌を促進させること（Y. Iwasaki et al. Nat. Commun. 2018），そして，アルロースによる腸 GLP-1 分泌促進は GLP-1 受容体を介して直腸温を上昇させることを見出した（未発表）。本研究では，アルロースの腸 GLP-1 分泌促進による体熱産生作用において，感覚神経，副腎交感神経，副腎由来アドレナリンの関与を検証した。

カプサイシンの皮下投与による感覚神経障害マウス，両側の副腎交感神経を外科的に切断したマウスを作出した。これらマウスへのアルロースの胃内単回投与は，血中 GLP-1 濃度の上昇は認められたものの，アドレナリン分泌促進，及び，直腸温上昇は認められなかった。さらに，アルロースによる直腸温上昇作用はアドレナリン β 受容体阻害剤の propranolol によって完全に消失した。

腸 GLP-1 の分泌促進は，＜GLP-1 受容体→感覚神経→脳→副腎交感神経→副腎アドレナリン＞軸を介して体熱産生を誘導することが示唆された。

（２）低温環境下における概日時計中枢のリズム発振機構

榎木亮介[1,2]，金　尚宏[3]，山口良文[4]，根本知己[1,2]
（[1]自然科学研究機構 生命創成探究センター，[2]自然科学研究機構 生理学研究所
[3]名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所，[4]北海道大学 低温科学研究所）

哺乳類の概日リズムは，視床下部の視交叉上核に局在する中枢時計により制御される。冬期の食糧不足のような厳しい環境下では，幾つかの哺乳類は休眠や冬眠に見られるような基礎代謝や熱産生能を低下させた低体温状態を引き起こすが，温度補償機構をもつ中枢時計がこうした低体温時にもリズムを維持するか否かについては，長年の議論があるものの決着がついていない。本研究では，マウス視交叉上核スライスの神経細胞において，様々な低温条件下で時計遺伝子の転写と細胞内 Ca^{2+} の長期イメージング計測を行った。その結果，時計遺伝子 Bmal1 の転写と Ca^{2+} の概日リズムは 22-28 ℃ で持続するが，15 ℃ では大きな Ca^{2+} 上昇を伴ってリズムが停止した。さらに 15 ℃ の低温から 35 ℃ に復温すると，Ca^{2+} リズムは直ちにリセットして再開するが，Bmal1 と Per2 のリズムは数日かけて Ca^{2+} リズムとの位相関係を回復した。これらの実験結果は，中枢時計は 22-28 ℃前後の低体温では機能を維持するが 15 ℃ では停止し，復温後にリズム位相がリセットして再開すること，さらには Ca^{2+} 振動が時計遺伝子の転写リズムを制御することを示している。

（３）生理的体温変動による概日時計時刻調律機構

三宅崇仁，井ノ上雄一，土居雅夫（京都大学大学院 薬学研究科 システムバイオロジー分野）

生物時計は，地球の自転に伴う昼夜の規則正しい環境変動に体内の代謝応答等を同調させる，生命にとって最も根源的な「時間」の仕組みであるが，この時計の「時刻」の決定メカニズムに関して，これまでの時間生物学

分野では，「明と暗」「寒と熱」のといったような二値化されたシグナルへの，転写を介した生物時計調律機構に着目した検討がなされてきた。しかし，ビデオサーモグラフィーを用いてマウスの体温を数日にわたり連続的に観察すると（Shimatani et al., Plos One 2021），マウスの体温は一日の中で連続的かつゆるやかに変化することがわかった。温度は臓器を越え全身に伝播することから，体温変化は全身の末梢細胞時計の位相合わせを司る重要な時刻情報であると考えられるが，このような微細で連続的な温度変化を介した体内時計制御機構の解明は進んでおらず，その根幹を担う体内時計角速度（パラメトリック）制御機構は現在でも全くわかっていなかった。そのような中我々は，生理的な微小温度変化が，体内時計遺伝子の mRNA 量だけではなくタンパク質の合成量も直接変化させるパスウェイを見出し，これが翻訳スピードの変化によるものである可能性を見出した。我々はこれまでに，一日の中の休眠前の生理的な体温低下が睡眠を誘導するだけでなく，代謝を下げることで無駄なエネルギー消費を抑えることを見出しており（Goda et al., Genes Dev 2018），概日体温変動の生理的意義の一端を明らかにすることができた。

（４）温度刺激はどのように認識されるのか？fMRI を用いた研究からの知見

永島　計[1]，中田大貴[2]，原田宗子[3]，加藤一聖[3]，定藤規弘[3]
（[1]早稲田大学 人間科学，[2]早稲田大学 工学，[3]生理学研究所 システム脳科学）

[背景と目的]さまざまな感覚情報と比較して温度感覚が特異的かつ，発表者らが興味深いと思うのは以下の点である。①温度センサーは体表，深部の多くの部分に分布しており，かつ情報が中枢に対して持続的に伝えられているであろうこと，②これらの温度情報は意識下，あるいは意識外に捉えられ，体温調節以外の目的にも用いられていること，である。いくつかの脳画像研究は，意識下の温度感覚に関与するネットワークの分析を試みている。これらの研究では，温度刺激を行いながら，ポイントスケールなどを用いて心理生理学的評価を行なっている。このため，温度感覚とその評価（あるいは注目）の両方のプロセスに関与する信号を反映したものを描出している可能性がある。研究では，機能的磁気共鳴画像法(fMRI)を使用して，2 つの異なるプロセスに関与するネットワークを識別することを目的とした。

[方法]ペルチェ装置を使用して，左前腕に 4 つの異なる熱刺激（40 ℃，36 ℃，27 ℃，22 ℃）を与えた。刺激後，温度感覚を評価･報告する試行，しない試行を行った。評価･報告する試行では，しない試行に比べて右前頭頂および前部島領域により強い脳活性化が見られた。全ての温度刺激で，内側前頭前皮質/前帯状回，下前頭回，両側島，後頭頂皮質の活動が見られた。これらの結果は，われわれが持続的かつ身体全体からうけとっている温度情報を取捨選択して意識に上げるメカニズムを示しているのかもしれない。

（５）衣服内換気とインナーの浸潤による蒸散性熱放散の亢進は深部体温の上昇と発汗量を半減させる

時澤　健
（(独)労働安全衛生総合研究所 人間工学研究グループ）

労働現場の熱中症による死傷者は近年減少する傾向にない。Cooling は暑熱負担を軽減させる対策の 1 つであるが，実用的な方法は限られている。その中で，衣服内換気を行う電動ファン付きジャケットは，機動性を確保しつつ軽量であるが，皮膚温を下げ温熱的不快感を和らげる効果に留まる。そこで，蒸散性熱放散を増大させるため，汗に頼らず予めジャケット内のインナーを浸潤させる方法を考案した。

健常成人男性 8 名を対象に，37 ℃（50 %RH）の環境において 1 時間の歩行運動を行った。その際，乾いたイ

ンナーを着用し衣服内換気を行わない試行（CON），乾いたインナーを着用し衣服内換気を行う試行（DRY），濡れたインナーを着用し衣服内換気を行う試行（WET）をランダムに行った。

直腸温の上昇は，CON (1.3 ± 0.3 ℃)，DRY (1.1 ± 0.2 ℃)，WET (0.7 ± 0.2 ℃)の順で有意に低くなった（$p<0.05$）。発汗量も，CON (1.0 ± 0.3 kg)，DRY (0.8 ± 0.3 kg)，WET (0.5 ± 0.2 kg)の順で有意に低くなった（$p<0.05$）。

衣服内換気とインナーの浸潤の組み合わせは，深部体温の上昇と発汗量を半減させる可能性があり，実用的で効果的な Cooling として活用が期待された。

（６）新たな評価軸を用いた温度嗜好性評価法の確立

内田邦敏[1]，石川翔理[1]，細岡哲也[2]，内田あずさ[1]
（[1]静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科，[2]静岡県立大学 食品栄養科学部 栄養生命科学科）

体温を維持するために生物は絶えず環境温度を感知し，産熱と放熱のバランスを不随意的並びに随意的に調節している。一般的な温度嗜好性評価法として 2 plate test や Thermal gradient test がある。いずれも温度の異なるプレート上の滞在時間を評価するが, これらの方法はプレートと空気層で温度勾配が生じている点や後肢底部で感知する温度情報のみを評価していることが問題点としてあげられる。実験に用いられるマウスのような小型動物は，特にプレートと空気層の温度勾配の影響を受けやすいと考えられる。特に環境温度に依存した温度嗜好性を明らかにするためには, これまでの方法とは異なる温度情報を評価軸とした評価方法を確立することが重要である。そこで，本研究はマウスの飲水行動に着目し, 新たな温度嗜好性評価法を確立することを目的とした。

2 瓶の飲水環境に馴化させたマウスを実験開始 17 時間前から絶水したのち，左右で温度の異なる飲み水を与え，30 分間の飲水行動の測定を行った。その結果, 23 ℃ の室温環境では 40 ℃，50 ℃ の飲み水を避けたが 10 ℃〜30 ℃ の飲み水の間には嗜好性の差はみられなかった。35 ℃ の暑熱環境において 10 ℃ と 30 ℃ の飲み水の嗜好性を比較した結果，10 ℃ の飲み水を有意に嗜好した。一方，10 ℃ の寒冷環境において 10 ℃ と 30 ℃ の飲み水の嗜好性を比較した結果，有意な差はみられなかった。本評価方法は環境温度に依存した温度嗜好性を評価することが可能な実験系であると考えられた。

（７）脳出血発熱におよぼすミクログリア特異的 COX-1 ノックアウトの影響

石田駿斗[1]，北岡志保[2]，古屋敷智之[3]．成宮　周[4],松村　潔[1]
（[1]大阪工業大学 工学研究科 生命工学，[2]兵庫医科大学 医学部薬理学
[3]神戸大学 医学研究科 薬理学，[4]京都大学 医学研究科 創薬医学）

感染や炎症による発熱には酵素シクロオキシゲナーゼ 2（COX-2）が関与している。一方，脳出血時の発熱の初期には COX-2 ではなく COX-1 が関与する，という結果を当研究室は得ている。出血時の脳において COX-1 はミクログリアと血小板に高発現している。本研究ではミクログリア特異的 COX-1 ノックアウトマウス（KO マウス）を用いて，その脳出血発熱への寄与を検討した。KO マウスと対照マウスの視索前野付近にコラゲナーゼを微量注入して脳出血を起こし，体温変化を 24 時間測定した。その後マウスの脳を摘出し，脳出血部位の確認と COX-1・ミクログリアマーカーIBA1 の免疫染色を行った。脳出血を起こした対照マウスでは，体温が上昇していき，4〜5 時間後にピークを迎える。KO マウスも同様の体温変化を示した。両マウス群で脳出血の部位・大きさに差はなく，KO マウスではミクログリアでの COX-1 発現がほぼ完全に抑制されていた。以上の結果よりミクログリア COX-1 の脳出血発熱への寄与は少ないと考えられる。血小板の COX-1 の寄与について現在検討中である。

（８）サケ科の系統における高温センサーTRPV1 の機能的制約の緩みと再強化

齋藤　茂[1,2,3]，齋藤くれあ[1,2]，野澤昌文[4]，太田利男[5]，富永真琴[1,2,3]
([1]生理学研究所 細胞生理，[2]生命創成探究センター 温度生物
[3]総合研究大学院大学 生理科学，[4]東京都立大学 理学研究科，[5]鳥取大学 農学部)

サケ科魚類は北半球の冷涼な地域に分布しているが，生息地において時に生存限界を超える高温に曝されることが知られている。そのような条件下では，高水温の場所を避け，水温の低い湧水や支流に移動する。そのため，高温忌避応答およびその基盤となる温度受容はサケ科魚類において生存に重要な役割を担ってきたと言える。本研究では，脊椎動物に広く保存される高温センサー分子である TRPV1 チャネルの温度応答特性をサケ亜科の複数種間で比較した。その結果，サケ属に含まれるアマゴ，ニジマスの TRPV1 は熱刺激で活性化され，その活性化温度閾値は約 29 ℃ であった。この温度はアマゴやニジマスが正常な遊泳行動をとれる最高温度（臨界最高温度）とほぼ一致していた。一方で，イワナ属に含まれる 2 種，およびタイセイヨウサケ属に含まれる 1 種では TRPV1 の活性化温度閾値は 35～37 ℃ であり，臨界最高温度より数度ほども高かった。TRPV1 の塩基配列を用いた分子進化学的な解析を行ったところ，サケ科の祖先，イワナ属，タイヘイヨウサケ属では機能的な制約が緩んでいる際に生じる塩基置換パターンが観察された。これらのことから，サケ亜科の祖先では TRPV1 の機能的制約が緩んでいたのだが，サケ属が分岐した後に再び強まったことにより TRPV1 の温度感受性が再調整され，逃避行動における役割が強化されたと推察される。

（９）Interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse keratinocytes and its physiological significance

Jing Lei[1,2,3]，Reiko Yoshimoto[4]，Takeshi Matsui[5,6]
Masayuki Amagai[5,7]，Mizuho Kido[4]，Makoto Tominaga[1,2,3]
([1]生理学研究所 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
[3]生命創成探究センター 温度生物学研究グループ，[4]佐賀大学 医学部
[5]理研生命医科学研究センター 皮膚恒常性研究チーム，[6]東京工科大学 応用生物学部，
[7]慶應義塾大学 医学部 皮膚科学)

TRPV3, a non-selective cation transient receptor potential (TRP) ion channel activated by warm temperature, is predominantly expressed in skin keratinocytes and participates in various somatic processes. Although TRPV3 was suggested to be required for thermosensation, it is still controversial about this topic because of the lack of direct evidence. Here we identified a transmembrane protein, TMEM79, as a regulator of TRPV3. First, heterologous expression of TMEM79 was capable of suppressing TRPV3-involved currents in HEK293 cells. Meanwhile, TMEM79 modulated TRPV3 translocalization and promoted its degradation in the lysosome. Consistently, TRPV3-related currents and Ca^{2+} influx were potentiated in primary mouse keratinocytes lacking TMEM79. Furthermore, TMEM79-deficient mice preferred a higher temperature than wild-type mice through elevated TRPV3 ion activates. Our study revealed a novel interaction between TRPV3 and TMEM79 in vitro and in vivo, which provided direct support underlying the involvement of TRPV3 in thermosensation.

7. 痛み研究会 2022 ～痛みの統合的理解とその制御に向けて

2023 年 1 月 19 日－1 月 20 日

代表世話人：中川貴之（京都大学）

所内対応者：富永真琴（生命創成探究センター/生理学研究所）

（1）線維筋痛症モデルラットを用いた脊髄シナプス機構変容の電気生理学的解析

歌　大介（富山大学 学術研究部薬学・和漢系 応用薬理学研究室)

（2）末梢神経損傷後の脊髄後角ニューロンの構造・機能特性はアストロサイトの活性化を介して経時的に変化する

倉部美起（新潟大学 医歯学総合研究科 麻酔科学教室）

（3）神経障害後のアロディニア発症に直結する脊髄後角神経とその変化

津田　誠（九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野）

（4）情動による痛み認知の修飾とその神経メカニズム

大澤匡弘，山﨑久朗，梅澤直樹，樋口恒彦，粂　和彦

（名古屋市立大学大学院 薬学研究科 神経薬理学分野）

（5）象牙芽細胞において Piezo1 活性化は TRPV1/TRPA1 活性化を調節する

倉島竜哉，黄地健仁，木村麻記，澁川義幸（東京歯科大学 生理学講座）

（6）マウス神経障害性疼痛モデルにおける TRPC3 の病態生理学的役割

戸堀翔太，山下志織，抱　将史，永安一樹，白川久志，金子周司

（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学分野）

（7）オキサリプラチン誘発性末梢神経傷害におけるバイオマーカー探索

坂井　敦[1]，山田岳史[2]，丸山基世[1,3]，吉田　寛[2]，鈴木秀典[1]

（[1]日本医科大学 薬理学，[2]日本医科大学 消化器外科，[3]日本医科大学 実験動物管理室）

（8）長期的な末梢神経の機能解析を可能とする新規３次元感覚神経オルガノイドの開発

荻堂亮甫[1]，今井哲司[2]，小柳円花[2]，守屋茜里[1]，西郷雅美子[2]，井樋田悟史[3]，寺西知子[3]，中川貴之[2]，松原和夫[4]，寺田智祐[2]

（[1]京都大学 薬学部 医療薬剤学分野，[2]京都大学 医学部附属病院 薬剤部

[3]シャープディスプレイテクノロジー㈱ 開発本部 新規事業推進部

[4]和歌山県立医科大学 薬学部）

（9）ストレス誘発性筋痛の末梢性メカニズムとコンドロイチン硫酸の鎮痛効果

那須輝顕[1]，堀　天[2]，堀田典生[3]，久保亜沙子[4]，片野坂公明[1]，水村和枝[4]

（[1]中部大学 生命健康科学部 生命医科学科，[2]中部大学 生命健康科学研究科，

[3]中部大学 生命健康科学部 スポーツ保健医療学科，[4]日本大学 歯学部 生理学講座）

(10) 遅発性筋痛モデルラットにおける糖鎖ヒアルロン酸による筋痛予防効果

太田大樹[1,2]，坪島功幸[3]，田口　徹[1,2]

（[1]新潟医療福祉大学 リハビリテーション学部 理学療法学科

[2]新潟医療福祉大学 運動機能医科学研究所

[3]帝京大学 医療技術学部 柔道整復学科）

（11）小胞型ヌクレオチドトランスポーターは神経障害性や炎症性疼痛治療のためのエイコサペンタエン酸の分子標的である

加藤百合[1]，大杉健剛[2]，福野雄斗[2]，岩槻　健[3]，原田結加[1]，宮地孝明[1,2]
（[1]岡山大学 自然生命科学研究支援センター，[2]岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科
[3]東京農業大学 応用生物科学部）

（12）痛覚変調性疼痛 nociplastic pain モデルが示す広汎性痛覚過敏におよぼす中枢性鎮痛薬の作用

矢島愛美[1,2]，高橋由香里[1]，加藤総夫[1]
（[1]東京慈恵会医科大学 医学部 神経科学研究部，[2]鶴見大学 歯学部 歯科麻酔学講座）

（13）【特別講演１】脊髄後角 1 層プロジェクションニューロンの多様性

蜂須賀淳一（University of Glasgow，School of Psychology and Neuroscience）

（14）Tmem45b は炎症や組織損傷により惹起される機械性痛覚過敏の形成に不可欠である

谷奥　匡[1]，西畑雅由[1]，時永泰行[1]，渡辺雅彦[2]，改正恒康[3]，古江秀昌[4]，川股知之[1]
（[1]和歌山県立医科大学大学 医学部 麻酔科学講座
[2]北海道大学大学院 医学研究院 解剖学分野　解剖発生学教室
[3]和歌山県立医科大学大学 医学部 生体調節機構研究部
[4]兵庫医科大学 生理学講座神経生理部門）

（15）データサイエンス×基礎による CIPN 支持療法薬の創出

相澤風花[1,2]，八木健太[2,3]，新村貴博[2,3]，合田光寛[1,2]，
座間味義人[4]，石澤有紀[5]，石澤啓介[1,2,3]
（[1]徳島大学病院 薬剤部，[2]徳島大学大学院医歯薬学研究部 臨床薬理学
[3]徳島大学病院 総合臨床研究センター,[4]岡山大学病院 薬剤部
[5]徳島大学大学院 医歯薬学研究部 薬理学）

（16）HMGB1 を標的とする化学療法誘発性末梢神経障害の予防

川畑篤史（近畿大学薬学部 病態薬理学研究室）

（17）低酸素応答による末梢神経ミエリン化制御

若月修二，氏家悠佳，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）

（18）新生児期の外傷経験による機械アロディニア長期化メカニズムの性差

尾辻　盛，林　良憲，篠田雅路（日本大学歯学部 生理学講座）

（19）脊髄後角神経に発現する α2δ-1 サブユニットの神経障害性疼痛における役割

古賀啓祐[1]，小林憲太[2]，津田　誠[3]，窪田一史[4]，北野　裕[4]，古江秀昌[1]
（[1]兵庫医科大学 医学部 生理学 神経生理部門，[2]生理学研究所 ウイルスベクター開発室
[3]九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野，[4]第一三共㈱ スペシャルティ第一研究所）

（20）【特別講演２】臨床診療記録から創薬標的を見出す新手法

金子周司（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学分野)

【参加者名】

現地参加者：

澁川義幸・倉島竜哉（東京歯科大学），坂井　敦・丸山基世（日本医科大学），太田大樹（新潟医療福祉大学），倉部美起（新潟大学医歯学総合病院），歌　大介・松田康佑・堀　圭汰（富山大学），堀　紀代美（金沢大学），内田邦敏（静岡県立大学），那須輝顕（中部大学），大澤匡弘（名古屋市立大学），金子周司・中川貴之・白川久志・今井哲司・荻堂亮甫・戸堀翔太（京都大学），田中達英（奈良県立医科大学），川畑篤史（近畿大学），川股知之（和歌山県立医科大学），古江秀昌（兵庫医科

大学），相澤風花（徳島大学病院），津田　誠（九州大学），長谷川穂乃歌（帝人ファーマ㈱），富永真琴・曽我部隆彰・加塩麻紀子・丸山健太・齋藤　茂・佐藤翔馬・水藤拓人・LEI Jing・DENG Xiangmei・ALIYU Mudassir Magaji（生理学研究所）

オンライン参加者：

蜂須賀淳一・小柳円花（University of Glasgow），半場道子（福島県立医科大学），前田仁士（植草学園大学），篠田雅路・尾辻　盛・飯田理人・井手唯李加・大島絵莉・小林真之・久保亜抄子・坪井美行・林　良憲・人見涼露・水村和枝（日本大学），渡辺　俊（北里大学）加藤総夫・矢島愛美・杉村弥恵・高橋由香里・佐藤奈保子・守屋正道（東京慈恵会医科大学），濱田祐輔・葛巻直子（星薬科大学），香西大輔・鈴木翔大・亀川亜希子（東京医科歯科大学），宮原優希（東京大学），若月修二（国立精神・神経医療研究センター），山本将大（国立国際医療研究センター），緒形雅則（北里大学），砂川正隆（昭和大学），須田千啓（横浜市立大学），掛田崇寛（川崎市立看護大学），田口　徹（新潟医療福祉大学），石橋直也・髙﨑 一朗・森　大志・山田果琳（富山大学），尾崎紀之（金沢大学），鈴木美希（静岡県立大学），片野坂公明（中部大学），西原真理・中楚友一朗・水谷みゆき（愛知医科大学），能瀬逸紀（名古屋市立大学），岩下成人・小山なつ（滋賀医科大学），山下志織（京都大学），片野泰代（関西医科大学），入江克雅・木口倫一・上　拓馬（和歌山県立医科大学），神田浩里・古賀 啓祐・藤原優香（兵庫医科大学），中本賀寿夫（神戸学院大学），野村有紀（神戸大学医学部附属病院），上　勝也（宝塚医療大学），宮地孝明・西村愛美（岡山大学），井上和秀・内山瑳和子（九州大学），城戸瑞穂（佐賀大学），脇坂貴大（熊本大学），岩井治樹（鹿児島大学），守口由紀子（ラクオリア創薬㈱），渡辺　紀（花王㈱），山崎奈穂（興和㈱）増井邦晴（丸石製薬㈱），篠塚直美・落合剛大（旭化成ファーマ㈱），中山恭章・増子寿弥（帝人ファーマ㈱），劉思丹（第一三共㈱），三宅真澄（あゆみ製薬㈱），光武和典（㈱ P・マインド），外園雄二（フリーランス）

【概要】

「痛み研究会 2022 ～痛みの統合的理解とその制御に向けて」はハイブリッド形式とはなったものの，3 年ぶりに 2 日間にわたり岡崎カンファレンスセンターで開催することができた。COVID-19 第８波の最中での開催となり，様々な制約もあったが，所内対応部門の適切な対応により，大きな問題もなく，現地参加者 36 名，オンライン参加者 78 名の計 114 名の参加を頂いた。プログラムは特別講演 2 題，シンポジウム 2 題（演者各 4 名），一般演題 10 題の合計 20 題からなり，末梢から中枢に至る幅広い領域を対象とし，様々な種類の疼痛モデルを用いた最新知見が報告された。特別講演 1（蜂須賀・グラスゴー大）では，脊髄後角第 1 層のプロジェクション神経の刺激の種類に応じた特性とその多様性について報告があった。シンポジウム 1 では，線維筋痛症モデルでの脊髄後角神経の変調（歌・富山大），神経障害性疼痛モデルでのアストロサイトによる脊髄後角神経の構造的・機能的変調（倉部・新潟大），神経損傷時の Aβ 線維刺激による脊髄後角 NpyP+神経活動の変調（津田・九州大），ストレス負荷時の痛みにおける前帯状回皮質のノルアドレナリン神経系の変調（大澤・名市大）が報告され，末梢神経系から脊髄後角，上位中枢に至るまでの神経ネットワークの変調について様々な角度から議論し理解が深まった。シンポジウム 2 では，IB4 結合神経に発現し炎症時の機械性痛覚過敏に関与する Tmem45b の発見（川股・和歌山医大），化学療法誘発性末梢神経障害における HMGB1 の関与とその由来（川畑・近畿大），低酸素による末梢神経ミエリン化制御の分子機構（若月・国立精神神経医療研究センター）などが報告され，末梢神経系の機能異常と痛みについて活発な議論が行われた。また，シンポジウム 2 の相澤（徳島大）および特別講演 2 の金子（京都大）から，医療情報ビッグデータから治療薬候補を探索し，生命科学データベースや AI を用いてそのメカニズムを推測するとともに基礎実験によってそれらを検証する次世代のアプローチが紹介され，化学療法誘発性末梢神経障害の予防/治療法の開発に向けた成果が報告された。

全体を通して，現地参加者およびオンライン参加者を交えて非常にディープな議論が交わされ，本研究会の開催が痛み研究の更なる飛躍に大変意義深いものとなった。

（１）繊維筋痛症モデルラットを用いた脊髄シナプス機構変容の電気生理学的解析

歌　大介（富山大学 学術研究部薬学・和漢系 応用薬理学研究室)

線維筋痛症(FM)は全身性の疼痛を主症状とし，多彩な随伴症状を呈する慢性難治性疾患である。現在, FM は末梢および中枢神経系が関与する複雑な病態であると解釈されているが，その詳細な機構は明らかでない。一般的に，痛覚情報は末梢侵害受容器から脊髄後角を経て大脳皮質で知覚され，痛覚過敏やアロディニアはそれら侵害受容経路における感受性増大の結果であると説明される。そのため，侵害受容ニューロン活動の変容を電気生理学的解析によりリアルタイムかつ体系的に記録・解析することは, FM の病態を理解する上で大変有用である。そこで本研究では，レセルピン投与による FM モデルラット（Nagakura et al. Pain 2009）の脊髄後角から in vivo 細胞外記録及びパッチクランプ記録を行いシナプス応答の詳細な解析を行った。その結果, FM 病態時の脊髄後角において興奮性及び抑制性シナプス機構に変容が起こっていることが明らかとなった。また，ニューロンのみならずグリア細胞も FM 病態に関与していることも分かった。本シンポジウムでは末梢での研究結果もお示しし，FM 病態時での末梢から脊髄での神経機構の変調について是非皆様からも広くご意見を頂戴しディスカッションさせて頂きたい。

（２）末梢神経損傷後の脊髄後角ニューロンの構造・機能特性は アストロサイトの活性化を介して経時的に変化する

倉部美起（新潟大学 医歯学総合研究科 麻酔科学教室）

慢性痛の病態の一つとして脊髄後角の可塑性変化が知られている。構造的な可塑性としてグリア細胞の増殖や神経細胞の変性・消失が示されているほか，近年では，制御された細胞死である necroptosis をもたらす経路と慢性痛の関係性についても報告がある。我々は末梢神経障害（Peripheral nerve injury: PNI）後のアストロサイト及びニューロンの構造的可塑性が機能的可塑性（主に脊髄後角のシナプス応答）とどのように関連して慢性痛に至るかを経時的に解析した。

慢性痛モデルとして坐骨神経結紮モデルを用いた。PNI 後早期から受容野の拡大とアロディニアが認められたが，シナプス応答は PNI 後早期と後期で有意に異なっていた。後期，つまり慢性疼痛確立時の病態は，シナプス前性の興奮性亢進よりもシナプス後性の受容体感受性変化が主であった。形態学的には PNI 後，アストロサイトの増殖に伴って興奮性及び抑制性ニューロンの減少が認められた。また, ニューロンの喪失は necoptosis を伴っていた。これらの PNI 後の機能的・構造的可塑性は PNI 後 1 週間のみのアストロサイトの増殖制御によって長期的に抑制された。臨床的にも痛みに対する早期介入が慢性痛の予防に繋がることがわかっており，我々の結果もそれを支持するものであった。PNI 後早期のアストロサイトの活性化制御が慢性痛を予防する一つの key であると考えられる。

（３）神経障害後のアロディニア発症に直結する脊髄後角神経とその変化

津田　誠（九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野）

神経障害後に発症するアロディニアは，触刺激で誘発される痛みであるため，一次求心性 Aβ 神経線維由来信号による痛覚伝達神経系の活性化メカニズムを理解することが必要である。我々は，光遺伝学アプローチを採用し，Aβ 線維刺激によるアロディニア評価法を確立した。この方法を用い，神経損傷後に Aβ 線維刺激によっ

て脊髄後角第 I 層神経が多シナプス性に興奮することを見いだした。さらに，AAV ベクターおよび低侵襲脊髄後角内微量注入法を用いた研究から，Aβ 線維と第 I 層神経をつなぐ神経の一つとして NPY プロモーターで制御されるサブセット（NpyP+神経）を特定した。この神経は脊髄後角第II層外側に局在する抑制性介在神経サブセットで，GABA を介して第 I 層神経を抑制する。しかし，神経損傷により NpyP+神経の静止膜電位は深くなり，刺激に対する同神経の応答性は低下した。そこで，Gq-DREADD により NpyP+神経を賦活したところ，神経損傷後のアロディニアは抑制された。さらに，正常動物の NpyP+神経を除去あるいは活動を低下させた結果，それだけでアロディニアが発症した。すなわち，神経障害性アロディニアのメカニズムを理解する上で，NpyP+神経とその活動低下が重要であることが示唆された。シンポジウムでは，上記の成果に加え，NpyP+神経とグリア細胞との相互作用や，疼痛治療薬の標的となりえる可能性についても紹介したい。

（４）情動による痛み認知の修飾とその神経メカニズム

大澤匡弘，山﨑久朗，梅澤直樹，樋口恒彦，粂　和彦
（名古屋市立大学大学院 薬学研究科 神経薬理学分野）

痛みを感じさせる刺激は，脳内のさまざまな領域の活動を変化させる。ヒトの機能的 MRI (fMRI) 技術を用いて痛みを感じている際に活動が変化する脳領域が明らかにされ，扁桃体や帯状回皮質などの情動に関わる領域が一次体性感覚野や外側視床などの体性感覚を処理する脳領域と同様に活性化していることが明らかになった。我々も，脊髄後角から外側腕傍核へ投射する神経が痛みの慢性化に関与することを明らかにしており，情動を調節する脳領域の活動変化が痛みの感受性へ影響を与えることを示唆している。そこで，本研究では，情動の変化が痛みの感受性に与える影響を検討した。

うつ病のモデルとして用いられる反復社会的敗北ストレス（cSDS）負荷の痛み閾値に対する影響を検討し，ストレス負荷を中止したあとも，痛み閾値の低下が持続することを確認した。また，うつ様行動がみられない短期間（5 日間）のストレス負荷によっても，持続的な痛み閾値の低下が認められた。この短期間の cSDS 負荷により，前帯状回皮質におけるノルアドレナリン神経系の機能が低下し，痛み閾値が低下することが明らかになった。また，前帯状回皮質へ投射する神経系のうち内側視床を起点とする神経を活性化すると痛み閾値の低下し，中帯状回皮質へ投射する神経の抑制により消失した。本研究の結果より，情動を調節する脳領域の活動変化，特に帯状回皮質の活動変化が痛みの閾値に対して影響を与えていることが示唆された。

（５）象牙芽細胞において Piezo1 活性化は TRPV1/TRPA1 活性化を調節する

倉島竜哉，黄地健仁，木村麻記，澁川義幸（東京歯科大学 生理学講座）

象牙質形成細胞である象牙芽細胞は，様々な象牙質刺激を機械刺激として受容し，歯痛（冷水などに伴う歯痛：象牙質痛）発生に関与する感覚受容細胞である。Piezo1/TRP チャネルは象牙質痛発生の感覚受容タンパク質として機能するだけではなく，象牙質形成調節因子としても機能する。一方，PIEZO1-ノックダウン象牙芽細胞では機械感受性 Ca^{2+} 流入が消失することから，我々は機械感受性応答のシグナル最上流に Piezo1 が存在し，TRP 活性をその下流で制御することで，歯痛発生と象牙質形成のスイッチングに働くと仮説した。そこで象牙芽細胞における Piezo1-TRP クロストークについて検討した。象牙芽細胞では Piezo1 と TRPV1 および Piezo1 と TRPA1 が共局在していたが，Piezo1 と TRPV4 は共局在を示さなかった。Piezo1 薬理学的活性薬 Yoda1 の持続投与は一過性増加に続く持続的な細胞内カルシウムイオン濃度（$[Ca^{2+}]i$）増加を活性化した。TRPV1 阻害薬は Yoda1 に

よる持続的[Ca^{2+}]i 増加成分を抑制し，TRPA1 阻害薬は持続的[Ca^{2+}]i 増加成分を一過性に抑制した。TRPV4 阻害薬は，これらに影響しなかった。象牙芽細胞では Piezo1 活性化が，細胞内シグナルクロストークを介して TRPV1 または TRPA1 の活性化を調節している可能性が示唆された。

（６）マウス神経障害性疼痛モデルにおける TRPC3 の病態生理学的役割

戸堀翔太，山下志織，抱　将史，永安一樹，白川久志，金子周司
（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学分野）

末梢神経損傷による神経障害性疼痛の病態形成過程では，神経損傷部位への免疫細胞の浸潤・活性化，および脊髄グリア細胞の活性化を介した末梢・中枢神経炎症応答が大きく寄与する。Transient receptor potential canonical 3 (TRPC3) は Ca^{2+} 透過性非選択的カチオンチャネルであり，中枢神経系・一次感覚神経・末梢免疫細胞に広く発現する。本研究では神経障害性疼痛の病態における TRPC3 の関与について検討した。TRPC3 欠損マウスでは坐骨神経部分結紮（pSNL）処置による機械的アロディニアおよび熱痛覚過敏の発症が抑制された。一方，TRPC3 の欠損は pSNL 処置後の脊髄（L3-L5）後角におけるミクログリア・アストロサイトの活性化，および坐骨神経に対するマクロファージ・好中球の浸潤に影響を与えなかった。続いて，末梢免疫細胞でのみ TRPC3 を欠損した骨髄キメラマウスでは，pSNL 処置により対照群と同程度に機械的アロディニアを発症した。さらに，野生型マウスに TRPC3 アゴニスト GSK1702934A を髄腔内投与することにより機械的アロディニアを発症した。以上の結果より，末梢神経損傷後の神経障害性疼痛発症において，中枢神経系または一次感覚神経に発現する TRPC3 が関与する可能性が示された。

（７）オキサリプラチン誘発性末梢神経傷害におけるバイオマーカー探索

坂井　敦[1]，山田岳史[2]，丸山基世[1,3]，吉田　寛[2]，鈴木秀典[1]
（[1]日本医科大学 薬理学，[2]日本医科大学 消化器外科，[3]日本医科大学 実験動物管理室）

大腸がんに対する標準治療薬の１つであるオキサリプラチンにより末梢神経障害が高頻度に生じるが，しばしば投薬後も長期にわたって神経障害が残存する。このような慢性神経障害を患者ごとに予測することは，がん患者の QOL を保つ助けとなることが期待される。そのため，本研究ではオキサリプラチン誘発性末梢神経障害に対する血中分子バイオマーカーとして細胞外長鎖非コード RNA（lncRNA）の探索を行った。ヒト iPS 細胞から一次感覚神経を分化誘導し，オキサリプラチン処理により細胞外への放出が増加する lncRNA を RNA シーケンスにより網羅的に捉えた。これらのうち，一次感覚神経に選択的に発現する lncRNA 群は，細胞外放出量と血中含有量が高い相関を示したことから，血中含有量は一次感覚神経からの放出を強く反映する可能性が考えられた。さらに，オキサリプラチン治療中の患者を対象として経時的に測定することにより，血中含有量が上昇する lncRNA が複数見出された。特に，治療開始初期における血中 lncRNA 含有量の増加が慢性の末梢神経障害を生じないことを予測する可能性が見出された。以上より，血中 lncRNA がオキサリプラチン誘発性の末梢神経障害に対するバイオマーカーとしてオキサリプラチンの投与量や投与期間などの治療判断の助けとなることが期待された。

（８）長期的な末梢神経の機能解析を可能とする新規３次元感覚神経オルガノイドの開発

荻堂亮甫[1]，今井哲司[2]，小柳円花[2]，守屋茜里[1]，西郷雅美子[2]，井樋田悟史[3]，
寺西知子[3]，中川貴之[2]，松原和夫[4]，寺田智祐[2]
（[1]京都大学 薬学部 医療薬剤学分野，[2]京都大学医学部附属病院 薬剤部
[3]シャープディスプレイテクノロジー㈱ 開発本部 新規事業推進部，[4]和歌山県立医科大学 薬学部）

【緒言】

従来の末梢感覚神経における *in vitro* 評価系は生体内環境を充分には反映していないと共に，長期的解析が困難であるため，研究推進の障壁となってきた。そこで本研究では，末梢神経研究のためにより最適化された新規 3 次元感覚神経オルガノイド（以下，オルガノイド）の開発を試みた。

【方法】

オルガノイドは胎生期ラットの脊髄後根神経節から作製した。オルガノイドの形態は電子顕微鏡法や免疫染色法により評価した。オルガノイドの軸索損傷あるいは終末部への化学刺激後の細胞体での疼痛関連分子の発現変化や Ca^{2+} 応答を qPCR 法や Ca^{2+} イメージング法にて検討した。

【結果および考察】

本オルガノイドは神経節と軸索構造を有し，CGRP あるいは IB4 陽性 C 線維，および NF200 陽性 A 線維から構成されていた。また，髄鞘マーカーMBP 陽性シュワン細胞による多層構造の髄鞘の形成，および長期培養可能であることを確認した。一方，神経終末部への KCl（30 mM）処置により神経細胞体で Ca2+応答が亢進することを認めた。また，軸索損傷 2 日後の細胞体において神経障害マーカー（ATF3），疼痛因子（CCL7，IL6）の mRNA 発現が増加した。

以上のことから，本オルガノイドは生体内の末梢神経に類似した構造的特徴，および軸索刺激への反応性を有しており，長期的な末梢感覚神経解析ツールとして有用であると考えられた。

（９）ストレス誘発性筋痛の末梢性メカニズムとコンドロイチン硫酸の鎮痛効果

那須輝顕[1]，堀　天[2]，堀田典生[3]，久保亜沙子[4]，片野坂公明[1]，水村和枝[4]
（[1]中部大学 生命健康科学部 生命医科学科，[2]中部大学 生命健康科学研究科
[3]中部大学 生命健康科学部 スポーツ保健医療学科，[4]日本大学 歯学部 生理学講座）

繰り返し寒冷ストレス（RCS）モデルは線維筋痛症モデルと考えられている。本モデルの持続性筋痛の発症・維持機構は中枢性機構を中心に解析され，下行性疼痛抑制系の機能不全によると考えられている。一方，末梢性機構の関与は示唆されていた物の，具体的機構は未解明であった。近年，我々は筋細径線維受容器の機械反応が亢進していることを明らかにした。しかしながらその機械反応亢進の機構は不明であった。

我々はこれに筋酸性化が関与していると考え，１）筋酸性化の有無，２）筋酸性化機構の解析，３）筋細径線維受容器の機械反応亢進機構，について調べた。さらにコンドロイチン硫酸の鎮痛効果についても調べた。

筋 pH は，無処置群に比べ RCS 群で有意に低下していた。RCS による筋痛覚過敏が bafilomycin A1（vacuolar-ATPase 特異的阻害薬）の皮下投与でほぼ完全に回復した。さらにこの投与により RCS による筋細径線維受容器の機械反応亢進が減弱し，筋 pH も回復した。

RCS 群における DRG の ASIC3 の mRNA は無処置群よりも有意に高く，APETX2（ASIC3 拮抗薬）により筋痛覚過敏が減弱した。更にコンドロイチン硫酸の自由飲水により筋痛覚過敏は用量依存的に減弱した。

上記の結果から，筋痛覚過敏に RCS による筋 V-ATPase 機能亢進による筋酸性化と末梢の ASIC3 発現増大による筋細径線維受容器の機械反応亢進が関与していることが示唆された。

（10）遅発性筋痛モデルラットにおける糖鎖ヒアルロン酸による筋痛予防効果

太田大樹[1,2]，坪島功幸[3]，田口　徹[1,2]
（[1]新潟医療福祉大学 リハビリテーション学部 理学療法学科，
[2]新潟医療福祉大学 運動機能医科学研究所，
[3]帝京大学 医療技術学部 柔道整復学科）

遅発性筋痛は運動の反復により軽減することが知られているが，この分子機構は十分に解明されていない。本研究では，運動後の遅発性筋痛の発症予防における糖鎖ヒアルロン酸（HA）の役割を調べた。イソフルラン麻酔下において，雄性 SD ラットの下腿伸筋群に伸張性収縮（LC）を負荷し，遅発性筋痛モデルを作製した。１）LC を負荷した前脛骨筋から横断切片を作製し，HA 結合蛋白質の免疫組織化学染色を行ったところ，LC24 時間後をピークに筋細胞膜周囲でその発現が増大していた。２）HA を LC 前日に筋内投与し，筋機械逃避閾値を測定したところ，LC 後の機械痛覚過敏の発症が減弱した。３）同様に，HA を LC 前日に筋内投与し，痛覚過敏がピークとなる 24 時間後に，運動負荷筋とその支配神経からなる摘出標本を作製し，筋 C 線維侵害受容器の活動を単一神経記録法により電気生理学的に記録・解析したところ，HA 投与群では溶媒投与対照群に比べ，機械反応閾値が有意に上昇し，機械反応の大きさ（活動電位数）が有意に低下することがわかった。以上の知見より，HA は運動により筋で発現増加し，運動による筋の力学的適応に関わり，遅発性筋痛の発症を予防する効果を示すと考えられた。

（11）小胞型ヌクレオチドトランスポーターは神経障害性や炎症性疼痛治療のための エイコサペンタエン酸の分子標的である

加藤百合[1]，大杉健剛[2]，福野雄斗[2]，岩槻　健[3]，原田結加[1]，宮地孝明[1,2]
（[1]岡山大学 自然生命科学研究支援センター，[2]岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科
[3]東京農業大学 応用生物科学部）

オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸のエイコサペンタエン酸（EPA）は魚油や亜麻仁油等に豊富に含まれ，抗炎症効果や神経保護効果，心血管保護効果等を発揮する必須脂肪酸である。EPA は医薬品やサプリメントとして広く利用され，ヒトへの有用性が実証されているが，その分子標的は十分に明らかになっていない。EPA の分子標的の同定を目指して，神経細胞等の分泌小胞に ATP を充填する小胞型ヌクレオチドトランスポーター（VNUT）に着目した。細胞外に放出された ATP はプリン受容体に結合することで，下流にシグナルを伝達する。プリン作動性化学伝達の異常は神経障害性や炎症性疼痛，炎症性疾患，糖尿病，脂質異常症，血液凝固等を引き起こし，VNUT 阻害と EPA の効果は類似していた。

そこで，全てのトランスポーターを定量的かつ高感度に測定できる独自の輸送活性評価技術を用いて，EPA が VNUT を IC_{50}=67 nM と極めて低濃度で阻害することを見出した。また，EPA が有するシクロオキシゲナーゼ阻害作用ではその効果が説明できない神経障害性疼痛に焦点を当て，EPA は VNUT 依存的に神経障害性疼痛や炎症性疼痛を抑制することを明らかにした。EPA の鎮痛効果は既存の鎮痛薬よりも有効であり，眠気やふらつき等の副作用も観察されなかった。以上より，本発見は VNUT を標的とした神経障害性疼痛等の新しい治療戦略に繋がると期待される。

（12）痛覚変調性疼痛 nociplastic pain モデルが示す広汎性痛覚過敏におよぼす中枢性鎮痛薬の作用

矢島愛美[1,2]，高橋由香里[1]，加藤総夫[1]
（[1]東京慈恵会医科大学 医学部 神経科学研究部，[2]鶴見大学 歯学部 歯科麻酔学講座）

痛覚変調性疼痛（nociplastic pain）は，侵害受容器活性化による「侵害受容性」あるいは，体性感覚系の障害による「神経障害性」のいずれの機構でもなく生じる痛みを示す新概念である。従来分類できなかった治療抵抗性の慢性の痛みの多くが痛覚変調性の機転を伴っていると考えられるため，その治療方策の開発は急務である。痛覚変調性疼痛の機序による痛覚過敏を示すモデルを２種開発し，中枢性鎮痛薬の影響を評価した。

１）扁桃体活性化モデル　右扁桃体中心核ニューロンに hM3Dq を導入したラットへの人工的アゴニストの投与によって生じる下肢痛覚過敏を評価した。炎症・傷害なしに脳内機構によって生じる痛覚過敏のモデルと考えられる。

２）口唇部一過性炎症モデル　ホルマリンによる口唇部炎症後生じる遷延性下肢痛覚過敏を評価した。右扁桃体中心核活性化を伴い, 両側下肢の過敏は離れた口唇部の炎症では説明できない (Miyazawa et al., 2018; Sugimoto et al., 2021) 。これらのモデルに, acetaminophen, gabapentinoids, duloxetine，および NSAIDS を投与したところ前者２薬物が顕著な過敏抑制結果を示した. 既存鎮痛薬の痛覚変調性疼痛への適応拡大や痛覚変調性疼痛治療薬の開発に有益な知見である。

（13）【特別講演１】脊髄後角１層プロジェクションニューロンの多様性

蜂須賀淳一（University of Glasgow，School of Psychology and Neuroscience）

脊髄は触，圧力，熱，冷，痛み，痒みといった多様な皮膚感覚の入力を受けている。これらの情報は脊髄内の様々な介在ニューロンにより修飾され，プロジェクションニューロンにより脳に出力される。しかし，プロジェクションニューロンがこの多様な皮膚感覚を，どのように区別して脳に情報伝達をしているかについてはまだよくわかっていない。私たちの研究室ではマウスの皮膚，末梢神経，脊髄を一塊にして取り出した標本を用いて，脊髄１層のプロジェクションニューロンから電気生理学的記録を行った。皮膚への機械的刺激や温度刺激などを行うことで少なくとも，機械刺激にのみ応答する細胞，機械刺激と温度刺激の両方に応答するポリモーダル細胞，冷刺激にのみ応答する細胞が存在することがわかった。これらの細胞は異なった樹状突起の形状を持ち，ユニークな分子マーカーを発現していた。脊髄１層のプロジェクションニューロンでは多様な皮膚感覚を区別する多様性があることがわかった。

（14）Tmem45b は炎症や組織損傷により惹起される機械性痛覚過敏の形成に不可欠である

谷奥　匡[1]，西畑雅由[1]，時永泰行[1]，渡辺雅彦[2]，改正恒康[3]，古江秀昌[4]，川股知之[1]
（[1]和歌山県立医科大学大学 医学部 麻酔科学講座
[2]北海道大学大学院 医学研究院 解剖学分野　解剖発生学教室
[3]和歌山県立医科大学大学 医学部 生体調節機構研究部
[4]兵庫医科大学 生理学講座神経生理部門）

痛みが「苦痛」を不可避的に伴う機構を解明することなしにその理解・克服は不可能である。痛みの苦痛を実現している生物学的機構の解明に取り組んできた。

扁桃体は, さまざまな情動関連の脳機能モジュールから

の入力を受けて，多様な情動関連機能実行神経モジュールに投射する情動関連情報処理の「ハブ」である。特に扁桃体中心核（CeA）は，脊髄後角浅層／三叉神経脊髄路尾側亜核から腕傍核（PB）を経て直接的に侵害受容情報を受けるとともに，最後野－PB 系を介して脳内で最も早く全身の炎症の情報を得る。ラット神経障害性疼痛モデルで PB–CeA シナプス伝達が下肢痛覚過敏に相関して増強する事実（Ikeda, Takahashi, Inoue, Kato, 2007）を見いだして以来，このシナプス可塑性の特性や分子機構，ネットワーク応答ダイナミクス，行動観察，全脳活動履歴可視化，条件付け学習獲得などを，持続性疼痛モデル，ノックアウト動物，FosTRAP 法，光・化学遺伝学法，恐怖／脅威条件付け，自発・オペラント行動評価，およびマンガン造影 MRI などのアプローチを駆使して示してきた。PB- CeA 系は，身体の傷害炎症状況を他の内感覚情報と併せてモニターするとともに，状況に連動させて，痛覚感度と自律・内分泌・行動などの痛覚関連応答の発現を能動的に制御する痛み苦痛コアシステムであると結論した。

（15）データサイエンス×基礎による CIPN 支持療法薬の創出

相澤風花 [1,2]，八木健太 [2,3]，新村貴博 [2,3]，合田光寛 [1,2]
座間味義人 [4]，石澤有紀 [5]，石澤啓介 [1,2,3]
（[1] 徳島大学病院　薬剤部，[2] 徳島大学大学院　医歯薬学研究部　臨床薬理学
[3] 徳島大学病院　総合臨床研究センター，[4] 岡山大学病院　薬剤部
[5] 徳島大学大学院　医歯薬学研究部　薬理学）

Chemotherapy induced-peripheral neuropathy (CIPN) は抗がん剤使用に伴う有害事象である。CIPN では，しびれ・痛みなどの感覚障害が認められ，悪心・嘔吐や下痢に続いて患者の苦痛度は高い。CIPN に対する有効な治療薬はなく，臨床で用いられる薬剤はいずれも有効性に乏しいため，症状の重篤化を避けるため治療の変更・中断をせざるを得ない患者も存在している。新薬開発にあたって，臨床試験における有効性をいかに予測できるかが重要であるが，基礎的実験で有効性が得られても，臨床における有効性が示されにくい事例も多い。昨今，生命科学データベースに加え，臨床で得られる医療データや，薬剤―疾患ネットワークのビッグデータを開発初期から取り入れることで，安全性・有効性を予測し，創薬プロセスの効率化を図る試みがなされている。近年，大規模医療情報データベースにおける症例蓄積が進んだことで，ヒトにおける効果予測が可能となった。我々は，生命科学データベースと大規模医療情報データを用いて HMG-CoA 還元酵素阻害剤に CIPN 抑制作用があることを見出すに至っている。

本講演では，CIPN に有効性を示す薬剤として，HMG-CoA 還元酵素阻害剤をデータサイエンスで予測し，基礎実験によって検証するアプローチによって得られた成果について紹介したい。また，本研究をさらにアカデミックに昇華するために進めている人工知能を用いたターゲット予測など最近の知見も踏まえて報告する。

（16）HMGB1 を標的とする化学療法誘発性末梢神経障害の予防

川畑篤史（近畿大学薬学部　病態薬理学研究室）

タキサン（TX），白金製剤（Pt），ビンカアルカロイド（VA），プロテアソーム阻害剤（PI）などの抗がん剤投与後に頻発する化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）は，患者の QOL を低下させ，抗がん剤治療の継続を困難にする重大な有害事象の１つである。我々は，CIPN の発症に，damage-associated molecular patterns の１つである核内蛋白 high mobility group box 1 (HMGB1) が関与し，この HMGB1 を thrombin 依存性に不活性化する DIC 治療薬トロンボモジュリン アルファ（TMα）が CIPN の発症を抑制することを見出した。TMα/thrombin 系を介する抗 CIPN 効果には，HMGB1 不活性化に加えて，protein C と thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) の活性化が関与して

おり，それらの活性体である activated protein C (APC) は proteinase-activated receptor 1 (PAR1) 活性化を介して，また TAFIa（別名 carboxypeptidase B）は補体アナフィラトキシン C5a 不活性化を介して CIPN 発症を抑制することが新たに示唆された。また，TX，VA，PI による CIPN にはマクロファージからの HMGB1 遊離が関与するのに対し，Pt による CIPN には血小板由来 HMGB1 がより重要な役割を果たしており，その上流シグナルには C5a 受容体活性化が関与する可能性が示唆された。以上，CIPN 発症に関与する HMGB1 を含む主要メカニズムが明らかとなり，CIPN を予防するための新たな戦略が示唆された。

（17）低酸素応答による末梢神経ミエリン化制御

若月修二，氏家悠佳，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）

ヒトを含む多細胞生物は酸素を利用してエネルギーを産生する。そのため，酸素は多細胞生物を構成する細胞の生存に不可欠であるが，生体局所の酸素分圧は常に変動しており，細胞はこの変動に適応する必要がある。低酸素誘導因子 1（hypoxia inducible factor 1，HIF1）は細胞への酸素供給が不足したときに誘導され，酸素濃度の変動への適応応答において中心的な役割を果たす。近年，低酸素への適応機構の異常や破綻は多くの疾患の症状形成や病態の進展と密接に関わることが明らかになりつつあり，HIF を介する低酸素応答機構を理解することは，病態生理学的な面からも極めて重要である。

このような背景のもと，我々は神経損傷などによる障害後の末梢神経再生に関わる分子を探索するなかで，HIF1 がシュワン細胞においてミエリン関連遺伝子を活性化し，ミエリン形成を促進することを見出した。本発表では，低酸素応答による末梢神経ミエリン化制御の分子機構に関する我々の研究成果を紹介し，ミエリン形成における低酸素応答の生理的意義について考察する。

（18）新生児期の外傷経験による機械アロディニア長期化メカニズムの性差

尾辻　盛，林　良憲，篠田雅路（日本大学歯学部 生理学講座）

成体期の外傷後に生じる機械アロディニアは新生児期の外傷経験により長期化するが，そのメカニズムに性差があるかは不明である。そこで，機械アロディニア長期化メカニズムの性差について検討した。

雌雄の SD ラットを用い，新生児期に口髭部皮膚を切開し成体期にも同部位を切開した。口髭部に機械刺激を与えた際の逃避閾値（HWT）を測定した。また，三叉神経脊髄路核尾側亜核（Vc）におけるミクログリア数および PPARγ 陽性細胞数を解析した。再切開後，ミノサイクリン（ミクログリア活性化阻害薬）またはピオグリタゾン（PPARγ アゴニスト）を大槽内に持続投与し，HWT の変化を解析した。ピオグリタゾン投与後の Vc における PPARγ 陽性細胞数と HO-1 および NMDA 受容体 NR1 サブユニットの発現量を解析した。

再切開後の HWT 低下期間およびミクログリア数の増加は雌雄で同程度であったが，これらに対するミノサイクリンによる抑制は雄でのみ認められた。雌における再切開後の HWT 低下は，ピオグリタゾンにより抑制された。雌のみで再切開後に PPARγ 陽性細胞数が減少し，ピオグリタゾンにより PPARγ 陽性細胞数が増加した。さらにピオグリタゾンにより Vc における HO-1 の発現増加および NR1 の発現減少が認められた。

以上より，口髭部再切開後の機械アロディニア長期化には，雄ではミクログリア，雌では PPARγ が関与することが示唆された

（19）脊髄後角神経に発現する α2δ-1 サブユニットの神経障害性疼痛における役割

古賀啓祐[1]，小林憲太[2]，津田　誠[3]，窪田一史[4]，北野　裕[4]，古江秀昌[1]
（[1]兵庫医科大学 医学部 生理学 神経生理部門
[2]生理学研究所 ウイルスベクター開発室
[3]九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野
[4]第一三共㈱ スペシャルティ第一研究所）

神経障害性疼痛は，がんや糖尿病，脳梗塞等に伴う神経系の障害により引き起こされ，多くの患者が耐え難い痛みに苦しんでいる。神経障害性疼痛治療薬として用いられるガバペンチノイドは，電位依存性カルシウムチャネルサブユニットの α2δ-1 に作用して，神経障害性疼痛時の脊髄後角での興奮性神経伝達を抑制して鎮痛効果を発揮する。これまで，神経障害後に一次求心性神経で発現上昇し中枢端に移行する α2δ-1 が注目され，その役割が精力的に研究されてきた。しかし，α2δ-1 は脊髄後角にも発現しており，その脊髄後角内での発現局在や疼痛調節における役割は依然として不明である。そこで，本研究ではマウスの脊髄後角神経に発現する α2δ-1 の疼痛制御における役割解明を目的に検討を行った。In situ hybridization の結果から，α2δ-1 の mRNA は脊髄後角の興奮性神経に限局して発現することが明らかとなった。そこで脊髄後角興奮性神経の α2δ-1 の役割解析を目的として，AAV ベクターと CRISPR-Cas9 システムによる脊髄後角神経特異的な α2δ-1 ノックダウンを行った。脊髄後角神経特異的ノックダウンは，神経障害性疼痛時の痛覚過敏を軽減し，神経障害性疼痛時に認められる脊髄後角における異常な興奮性神経伝達を抑制した。さらに，この効果は α2δ-1 の選択的リガンドであるミロガバリン処置でも認められた。以上の結果から，脊髄後角興奮性神経に特異的に発現する α2δ-1 は神経障害性疼痛時の脊髄後角内の異常な興奮性神経伝達と痛覚過敏に関与することが示唆された。

（20）【特別講演２】臨床診療記録から創薬標的を見出す新手法

金子周司（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学分野）

私が主宰した研究室では従来，痛みを伝達・制御する神経系やグリア細胞に発現する TRP チャネルを創薬標的として研究を重ねてきたが，今から 10 年ほど前にまったく異なる手法を用いて，疼痛に限らず様々な疾患の治療に繋がるドラッグリポジショニングと創薬標的の創出ができるのではないかと着想し，新たな研究を開始するに至った。

その手法とは，医薬品有害事象の自発報告，診療報酬明細書（レセプト）あるいは電子カルテなど医療行為（診断，処方など）とその結果として患者に生じた事実を収録した匿名化ビッグデータを用いて，医薬品によって生じた有害事象を検出し，さらにその有害事象を低減させる併用薬を見出すものであった。有害事象はしばしば実験動物において病態モデルを作出するために用いられており，実臨床で起こる有害事象を低減する併用薬は，類似する症状を起こす疾患の治療薬候補として高い臨床予測性が期待できる。実際このようにして得られた仮説を実験動物で再現し，さらに分子細胞レベルでの機序を精査することによって，当該の症状に対する治療標的を新たに見出すことができた。

これまでのところ約 10 種の有害事象を出発点として，低減効果のある併用薬とその作用点を創出したが，実はがん性疼痛を低減できる併用薬の発掘は難航を強いられ，満足ゆく研究にはならなかった。本講演ではなぜ疼痛が難しかったのかを含めてこれまでの経験を紹介し，医療情報化時代への展望を語りたい。

8. TRP チャネル研究会（—TRP チャネルのダイバーシティ—）

2022 年 5 月 26 日－5 月 27 日

代表・世話人：城戸瑞穂（佐賀大学・医学部）
所内対応者：富永真琴（生理学研究所・細胞生理研究部門）

（１）【特別講演】Into the third decade of TRPV4-focused research: time to translate

Wolfgang Liedtke
（Duke University, Dept. of Neurolog, Durham NC,
New York University College of Dentistry, New York NY,
Regeneron Pharmaceuticals, Global Development Scientific Council, Tarrytown NY, USA）

（２）【特別講演】Cellular，Molecular，and Physiological Adaptations of Hibernation

Elena Gracheva
（Department of Cellular and Molecular Physiology,
Department of Neuroscience and Program in Cellular Neuroscience,
Neurodegeneration and Repair, Yale University School of Medicine, USA）

（３）【特別講演】温度受容のメカニズムの解明～2021 年ノーベル生理学・医学賞 2021 によせて

富永真琴（生理学研究所 細胞生理研究部門）

（４）X 線 1 分子追跡法を用いた TRPV1 チャネルの細胞内ドメイン動態計測

大久保 達成[1, 2]，藤村章子[2]，三尾和弘[1, 2]，佐々木 裕次[2, 3]
（[1]横浜市立大学大学院 生命医科学研究科，[2]産総研 先端オペランド計測 OIL,
[3]東京大学大学院 新領域創成科学研究科）

（５）内皮細胞における Ca^{2+} と NO シグナルの協同を司る TRPC5-Caveolin-1-eNOS シグナル複合体の役割

坂口怜子[1,2,3]，髙橋重成[1,4]，吉田卓史[1,5]，小川　臨[1]，植田誉志史[1]，浜野　智[1]，
山口佳織[6]，澤村晴志朗[1]，山本伸一郎[1,5]，原　雄二[1]，川本倫也[1]，
森　誠之[1,3]，古川哲史[7]，清水俊一[5]，井上隆司[8]，森　泰生[1,2,6]
（[1]京都大学 工学研究科，[2]京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点
[3]産業医科大学 医学部，[4]京都大学 白眉センター，[5]帝京平成大学 薬学部
[6]京都大学 地球環境学堂，[7]東京医科歯科大学 難治疾患研究所，[8]福岡大学 医学部）

（６）Functional interaction between TRPM2 and IKCa1 ion channels in mouse microglia

[1,2,3]Aykut Deveci，[1,2]Sandra Derouiche，[1,2]Makiko Kashio，[1,2,3]Makoto Tominaga
（[1] Division of Cell Signaling，NIPS，[2] Thermal Biology Group，ExCELLS,
[3] Department of Physiological Sciences，SOKENDAI）

（７）慢性脳低灌流における TRPA1 の保護メカニズムの解明

抱　将史，中島弘貴，戸堀翔太，永安一樹，白川久志，金子周司
（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学）

（８）Orai2 チャネルは炎症制刺激を受けたアストロサイトにおけるプロスタグランジン E_2 産生を制御する

中島弘貴[1]，藤田沙也香[1]，抱　将史[1]，永安一樹[1]，大洞将嗣[2]，白川久志[1]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析学，[2]順天堂大学 医学研究科 生化学第一講座）

（９）腸内細菌，酪酸と TNFα による TRPV4 発現制御

三原　弘[1]，南條宗八[1]，元尾伊織[1]，安藤孝将[1]，安田一朗[1]，内田邦敏[2]
（[1]富山大学 第三内科，[2]静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科）

（10）急性の酸素センシングにおける TRPA1 の役割

中尾章人，森　泰生（京都大学大学院 工学研究科 合成・生物化学専攻）

（11）ショウジョウバエ視細胞の光応答を制御する脂質分子の同定

曽我部 隆彰[1,2]，Heather Bradshaw[3]，Craig Montell[4]，富永真琴[1,2]
（[1]生理学研究所 細胞生理研究部門，[2]生命創成探究センター 温度生物学研究グループ
[3]Dept. of Psychological and Brain Sciences，Indiana University
[4]The Neuroscience Research Institute，University of California，Santa Barbara）

（12）TRPM 7 チャネル-キナーゼ相互作用による活性制御と酸化ストレスによる調節

井上　華[1]，村山　尚[2]，小林琢也[2]，小西真人[1]，横山詩子[1]
（[1]東京医科大学 細胞生理学，[2]順天堂大学大学院 細胞・分子薬理学）

（13）社会的敗北ストレスによる過敏性腸症候群モデルの確立と TRPM8 の関与

松本健次郎[1]，富永真琴[2,] 加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 病態薬科学系 薬物治療学分野，[2]生理学研究所 細胞生理）

【参加者名】

現地参加者：

三尾和弘（産業技術総合研究所），大久保達成（横浜市立大学），内田邦敏，瀧澤咲月，髙木彩花，今村聖月（静岡県立大学），白川久志，抱　将史，中島弘貴，山下志織，植村　凪，川下綾香，谷山一修，中澤駿基，戸堀翔太，中尾章人（京都大学），坂口怜子（産業医科大学），城戸瑞穂，吉本怜子，澤田孟志（佐賀大学），富永真琴，曽我部隆彰，加塩麻紀子，丸山健太，榎木亮介，齋藤　茂，水藤拓人，佐藤翔馬，DENG Xiangmei，LEI Jing，DEVECI Aykut，ALIYU Mudassir Magaji（生理学研究所/生命創成探究センター）

オンライン参加者：

Wolfgang Liedtke（Duke University），Elena Gracheva（Yale University School of Medicine），山口陽平（旭川医科大学），輪島輝明，多田智美，木立由美（青森大学），沼田朋大，田頭秀章，佐藤かお理（秋田大学），佐藤主税（産業技術総合研究所），井上　華（東京医科大学），萩野達也（東京大学），岡田泰昌（村山医療センター），寺田祐子，金子龍成，山田喜之，黒羽子孝太，原　雄二，鈴木美希，中西　陸，河野佑哉，高林　豊，中林千華，佐野淳哉，渡邉　慧（静岡県立大学），三原　弘（富山大学），野中茂紀，餘家　博（基礎生物学研究所），齊藤　修，堀　翔悟，新谷祐生，沢尾忠宏，小林大樹（長浜バイオ大学），大橋佳奈，劉　可，大森美ずき（京都大学），松本健次郎（京都薬科大学），KURGANOV Erkin（京都工芸繊維大学），永田　龍，藤田郁尚，臼倉　淳，田辺勇輝，佐藤理央（大阪大学），岩田裕子（国立循環器病研究センター研究所），岡田由香（和歌山県立医科大学紀北分院），西方敬人，川内敬子，谷口慎也，矢倉舞，松岡美羽，清水千晶，石井大夢，勢田佳加，出川詩織，仮屋拓斗，川勝薫平（甲南大学），太田利男，真栄田有紀（鳥取大学），西田基宏，加藤百合（九州大学），森　誠之，岡田　亮（産業医科大学）岡部幸司，鍛治屋浩（福岡歯科大学），胡　耀鵬（福岡大学），高　瑋琦，福山哲平（佐賀大学），岡本浩明（小林製薬㈱），山野井 遊，河田仁史（㈱池田模範堂），友井隆司（フマキラー㈱），宍戸祐二（ラクオリア創薬），上野翔太（大塚製薬㈱）

【概要】

2022 年度の TRP チャネル研究会（代表 佐賀大学・城戸瑞穂）は，5 月 26 日-27 日にコンファレンスセンターと遠隔会議システム（Zoom）を活用したハイブリッド形式にて実施した。特別講演 3 題，一般講演 10 題の計 13 題が口頭で発表された。国内外から 106 名（会場 33 名。オンライン 73 名）の参加者があった。事務局の行き届いた準備と運営により，会場，オンラインの発表は円滑に進行し，またオンラインとオンサイトの参加者同士の活発な議論がなされた。ハイブリッド開催は初めての経験であったが，つつがなく進行できたことは大きな収穫であった。新型コロナウイルス感染者数等の社会情勢をみながら直前までオンラインのみか，ハイブリッドかの開催形式を検討し，研究者の交流という研究会の本来の大切な目的を実現すべく，ハイブリッド開催を選択した。感染対策を留意しな

がら, 限られてはいるものの会場で対面の交流が実現した。新型コロナウイルス感染症拡大以来, 異なる研究室同士の交流が制限されており, 研究の進展や研究者の精神面での影響が懸念されている。その交流が一部とはいえ実現し, 密な議論から他愛ない会話まで若手研究者の笑顔がみられる充実した会となった。

特別講演は，世話人の富永真琴教授から 2021 年のノーベル医学生理学賞の対象となった transient receptor potential channel vanilloid 1 (TRPV1)に関連する論文の内容, TRPV1 の発見当時の David Julius 博士の研究室の様子や発見に至るエピソードを交えての紹介された。また TRP チャネル研究の発展や現状, 残されている課題などに渡る話題が提供された。また，アメリカ合衆国からのさらに, TRPV4 研究の権威である Wolfgang Liedtke 教授から，TRPV4 研究の歴史と進展，疾患との関連，TRPV4 を標的とした薬剤開発の現状についての特別講演があった。また, Elena Gracheva 教授からは，体温が大きく変化する冬眠について，小型哺乳類の冬眠と TRP チャネルのチャネル活性との関連について特別公演がなされた。

10 題の一般講演では, TRP チャネルの三次元構造から活性化に関わる分子相互作用，調節を促す生理活性物質, 病態との関連などが発表された。

TRP チャネルが，多様な生理活性物質によりイオンチャネル活性が変化し，多様な生理作用や病態と関連することが議論された有意義な会となった。その多様性を多様なメンバーで異なる手法や多彩な理解を重ねることで新たな発展につながることが期待される

（１）【特別講演】Into the third decade of TRPV4-focused research: time to translate

Wolfgang Liedtke
（Duke University，Dept. of Neurology, Durham NC, USA
New York University College of Dentistry, New York NY, USA
Regeneron Pharmaceuticals, Global Development Scientific Council, Tarrytown NY, USA）

TRPV4 channels were first reported >20y ago and are recognized as Ca^{++}-permeable TRPV channels, with multiple modes of activation. TRPV4 has been found responsive to osmotic, mechanical, thermal cues, UVB; activation by chemical signaling down-stream of G-protein coupled receptors such as PAR-2 or angiotensin-receptor, or directly by lipids, e.g glycerophospholipids, also synthetic activators, such as GSK101 or 4αPDD. TRPV4 plays multiple roles in multiple systems and diseases, and is expressed in many cell lineages, with some expression potently regulated in pathology, such as expression in fibroblasts in tissue fibrosis, in skin keratinocytes in response to chronic UVB exposure, and many more. Particular areas-of-interest are the central and peripheral nervous system, skeletal, connective and vascular tissue biology, organ systems of skin, adipose tissue, liver, pancreas, gastrointestinal, kidney and bladder, uterus, airways and lung.

Here, I will focus on one particular pro-pathogenic role of TRPV4, arguing its translational relevance. The pro-injurious role of TRPV4 in cell-tissue injury to neurons will be highlighted, showcasing three recent findings, two from my former academic group (##1-2). 1) neural injury to peripheral sensory neurons sensitizing them for pain by intrathecally- applied lysophosphatidylcholine, using a mouse model, 2) neural injury to cultured peripheral sensory dorsal root ganglion neurons sensitizing them to cell death by exposure to lidocaine and paclitaxel, 3) neural injury to the brain in response to chemical warfare nerve agent, soman. Different mechanisms in each instance will be highlighted, but also the common final pathway of neural damage via TRPV4, presumably via Ca^{++}-influx and subsequent neuro-cellular Ca^{++}-toxicity.

Preventive and early-intervention therapeutic strategies will be discussed, including classic and non-classic small molecules, knockdown of gene expression and other gene-therapeutic approaches, antibody-based strategies, and designer-peptide modulators in the context of relevant human disease.

（２）【特別講演】Cellular，Molecular，and Physiological Adaptations of Hibernation

Elena Gracheva
（Department of Cellular and Molecular Physiology,
Department of Neuroscience and Program in Cellular Neuroscience,
Neurodegeneration and Repair, Yale University School of Medicine, USA）

Mammalian hibernation is fascinating. During a short period of time, hibernating animals undergo dramatic adaptive changes, including a reduction in heart and respiration rate and a decrease in core body temperature from 37 °C (98.6 °F) to 4 °C (39 °F), yet they do not experience cold-induced pain, and their organs continue to function despite being cold and deprived of oxygen for 8 month out of the year! Moreover, since these animals do not eat or drink during hibernation, they must rely solely on the management and utilization of their internal resources for long-term survival. How hibernators achieve such a remarkable physiological adaptation, remains unknown.

We use hibernating 13-lined Ground squirrels (an obligatory hibernator) and Syrian hamsters (a non-obligatory hibernator), to tackle fundamental biological questions from perspectives unachievable using the standard animal models alone. Specifically, we are interested in studying molecular evolution of mammalian hibernation and cellular adaptations that these animals evolve in order to survive prolonged periods of hypothermia, water deprivation and starvation. We are also trying to pinpoint the molecular and physiological basis of hibernation induction. Comparative analysis of three rodent species–such as ground squirrels, hamsters and mice (non-hibernator)– at the behavioral, cellular and molecular levels, will help us to delineate the multitude of adaptations that hibernators evolved in order to survive harsh environment and as a result came to inhabit a wide geographical range.

（３）【特別講演】温度受容のメカニズムの解明～2021 年ノーベル生理学・医学賞 2021 によせて

富永真琴（生理学研究所 細胞生理研究部門）

2021 年のノーベル生理学・医学賞が温度と触刺激の受容体を発見したそれぞれ David Julius 教授と Ardem Patapoutian 教授に授与されました。心からお祝い申し上げたいと思います。

Julius 教授のグループによってカプサイシンの受容体 TRPV1 が 1997 年に遺伝子クローニングされ，43 度以上の痛み熱刺激で活性化することが明らかになりました。その後，冷たい温度を感知するメントール受容体 TRPM8 も発見されました。Patapoutian 教授は，2010 年に機械刺激の受容体 Piezo 1 と Piezo 2 を報告しました。哺乳類では，物理刺激（温度刺激と機械刺激）の感知メカニズムは受容体分子が明らかでないためによく分かっていなかったのですが，温度感受性 TRP チャネルと Piezo チャネルの発見で研究は大きく進みました。

私は，1996 年から 1999 年までカリフォルニア大学サンフランシスコ校の Julius 研究室に博士研究員として在籍して，TRPV1 と TRPV2 の遺伝子クローニングと機能解析のプロジェクトに携わりました。カプサイシンによる辛みは痛みなので，新たな鎮痛薬開発につながると考えられて世界中でカプサイシン受容体の遺伝子クローニング競争が熾烈を極めました。論文が出てホッとしました。痛み（辛み）センサーとして明らかになった TRPV1 が熱センサーとしても機能することを見つけたときはとても興奮したのを覚えています。そのときの Julius 研究室は 10 人ほどの小さな研究室でしたが，世界の痛み研究をリードする大きな仕事をしている自負がありました。

TRPV1 の発見から 25 年，11 の TRP チャネルが温度によって活性化されることが明らかになっており，私のグループも TRPV4，TRPM2 の温度感受性を報告しています。温度感受性 TRP チャネル発見の経緯とその後の研究の進展をご紹介します。

（４）X 線 1 分子追跡法を用いた TRPV1 チャネルの細胞内ドメイン動態計測

大久保達成 [1,2]，藤村章子 [2]，三尾和弘 [1,2]，佐々木 裕次 [2,3]
（[1] 横浜市立大学大学院 生命医科学研究科，[2] 産総研 先端オペランド計測 OIL
[3] 東京大学大学院 新領域創成科学研究科）

Transient receptor potential (TRP) チャネルは細胞膜に存在し，化学的，物理的シグナルによって活性化する。神経細胞で強く発現している TRPV1 チャネルはカプサイシン，酸，熱刺激，痛みに応答する。分子メカニズムや動態を理解することで新たな鎮静剤等の開発に繋がると考えられている。

今回 TRPV1 のチャネル開口メカニズムを理解するために，X 線 1 分子追跡法(DXT: Diffracted X-ray Tracking)を用いて細胞内ドメインの分子動態を観察した。DXT は標的タンパク質に結合された金結晶から生じる X 線回折輝点を利用し，傾斜角 θ，回転角 χ の変化から分子動態を高い時空間分解能で測定する手法である。測定には SPring-8/BL40XU を用い，100 μs/frame の時分割でデータ取得を行なった。

細胞外ビオチン化によって基板に固定された TRPV1 は，C 末端と N 末端それぞれ異なるタグ抗体を介して金ナノ結晶をラベルし，分子運動を計測した。χ 方向の回転運動において，カプサイシンは C 末端と N 末端それぞれの運動性を上昇させた。一方，アンタゴニスト（AMG9810）はカプサイシンによる C 末端の運動性を抑制したが，N 末端の運動性は高いままであった。

また単色 X 線を用いる回折 X 線明滅法（DXB: Diffracted X-ray Blinking）を用いて，熱による細胞内ドメインの運動性変化も測定した。測定は KEK/NW14A で行い，100 ms/frame の時分割で測定した。温度上昇により，C 末端，N 末端それぞれにおける運動性の増大が確認された。

（５）内皮細胞における Ca^{2+} と NO シグナルの協同を司る TRPC5-Caveolin-1-eNOS シグナル複合体の役割

坂口怜子 [1,2,3]，髙橋重成 [1,4]，吉田卓史 [1,5]，小川　臨 [1]，植田誉志史 [1]，浜野　智 [1]
山口佳織 [6]，澤村晴志朗 [1]，山本伸一郎 [1,5]，原　雄二 [1]，川本倫也 [1]
森　誠之 [1,3]，古川哲史 [7]，清水俊一 [5]，井上隆司 [8]，森　泰生 [1,2,6]
（[1] 京都大学 工学研究科，[2] 京都大学 高等研究院物質-細胞統合システム拠点
[3] 産業医科大学 医学部，[4] 京都大学 白眉センター，[5] 帝京平成大学 薬学部
[6] 京都大学 地球環境学堂，[7] 東京医科歯科大学 難治疾患研究所，[8] 福岡大学 医学部）

本細胞内シグナル分子である一酸化窒素（NO）とカルシウムイオン（Ca^{2+}）は，密接に協同して様々な生物学的応答を引き起こす。しかし，NO と Ca^{2+} が協同するために必要な，シグナルタンパク質複合体のダイナミックな挙動は明らかにされていない。本研究では，血管内皮細胞において，ATP 刺激に伴い，TRPC5 を介して Ca^{2+} 流入が起こり，これが eNOS からの NO 産出を促し，NO が TRPC5 をニトロシル化することでさらに TRPC5 からの２次的な Ca^{2+} 流入を促すことを明らかにした。

TRPC5 の caveolin-1 結合部位に変異を入れると，Ca^{2+} 流入と NO 産出が低下したことから，TRPC5 と eNOS がシグナル複合体を形成する上で caveolin-1 が足場として働くことが示唆された。興味深いことに，ATP 受容体刺激によって eNOS は caveolin-1 から解離し，TRPC5 と直接相互作用することが分かった。このことによって，eNOS は caveolin-1 による阻害から解放され，近接した TRPC5 に効率よく NO を受け渡すことが出来ると考えられた。さらに，単離ラット動脈では，アセチルコリン誘導性の血管拡張が TRPC5 阻害剤によって抑制されることが確認できた。以上の結果から，TRPC5-caveolin-1-eNOS のシグナル複合体のダイナミックなリモデリングシステムが存在することが明らかになった。

（６）Functional interaction between TRPM2 and IK_{Ca1} ion channels in mouse microglia

[1,2,3]Aykut Deveci，[1,2]Sandra Derouiche，[1,2]Makiko Kashio，[1,2,3]Makoto Tominaga
（[1] Division of Cell Signaling, Nips，[2] Thermal Biology Group, ExCELLS
[3] Department of Physiological Sciences, SOKENDAI）

Divalent cation calcium (Ca^{2+}) is described as one of the most important biological cations. It is used by all living cells as an intracellular signaling messenger that controls many biological processes. It is also involved in the pathophysiology of the cells and cell fate. Ca^{2+} is maintained at low levels in the cytosol and is mainly concentrated outside the cell or in intracellular compartments, particularly in the endoplasmic reticulum (ER), mitochondria and Golgi apparatus. Fluxes of Ca^{2+} through the membranes are provided by transporters or ion channels present at the plasma membrane and the intracellular compartments. Among these, TRP Melastatin 2 (TRPM2) is a Ca^{2+}-permeable, non-selective cation channel highly expressed in several tissues and exhibits heat sensitivity. It acts as a biosensor of oxidative and osmotic stresses under physiological and pathological conditions. Moreover, Ca^{2+} influx induced by TRPM2 could activate other Ca^{2+}-activated channels like intermediate Ca^{2+}-activated potassium channel (IK_{Ca1}). Indeed, IK_{Ca1} is activated through calcium binding on calmodulin located on the C-Terminal of this channel. I will show the interaction between TRPM2 and IK_{Ca1} in both HEK293T cells and mouse microglia.

（７）慢性脳低灌流における TRPA1 の保護メカニズムの解明

抱　将史，中島弘貴，戸堀翔太，永安一樹，白川久志，金子周司
（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学）

慢性脳低灌流は，認知症など認知機能障害を伴う多くの中枢神経疾患で認められ，病態の発症・増悪に関わることが報告されているが，そのメカニズムには不明な点が多い。本研究では，微小金属コイル装着による両側総頸動脈狭窄 (BCAS) 処置により作製したマウス慢性脳低灌流モデルを用いて，脳内ではアストロサイトなどに機能的に発現する TRPA1 の関与を検討した。

BCAS 処置 14 日後において，野生型 (WT) マウスでは認められなかった白質傷害, 認知機能障害が TRPA1 遺伝子欠損 (TRPA1-KO) マウスでは認められた。また，アストロサイト特異的 TRPA1-KO マウスにおいても BCAS 処置 14 日後に白質傷害，認知機能障害が認められた。免疫組織化学的検討により BCAS 処置 14 日後の白質脳梁部で，WT マウスでは GFAP 陽性アストロサイト数およびアストロサイトでの LIF の発現が増加したが, TRPA1-KO マウスでは認められなかった。初代培養細胞を用いた検討では, H2O2 を処置した WT アストロサイトで LIF mRNA の発現が増加し，H2O2 を処置したアストロサイト培養上清のオリゴデンドロサイト前駆細胞への処置により分化が促進されたが TRPA1-KO アストロサイトでは認められなかった。以上の結果から，アストロサイトでの TRPA1 の活性化が，慢性脳低灌流に伴う病態に対して保護的に寄与する可能性が示された。

（８）Orai2 チャネルは炎症制刺激を受けたアストロサイトにおけるプロスタグランジン E_2 産生を制御する

中島弘貴[1]，藤田沙也香[1]，抱　将史[1]，永安一樹[1]，大洞将嗣[2]，白川久志[1]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析学，[2]順天堂大学 医学研究科 生化学第一講座）

アストロサイトは中枢神経系の恒常性維持に寄与するグリア細胞であるが，病態時には様々な刺激に応答して炎症の増悪あるいは抑制に寄与しており，その分子機構の解明が病態メカニズムを理解する上で重要となる。本研究では，代表的な炎症性サイトカインである TNFα と IL1α に対するアストロサイトの応答について分子レベルで検討した。

TNFα と IL1α を共処置したマウス初代培養アストロサイトにおいて，ストア作動性 Ca^{2+} 流入（SOCE）を担うチャネルである Orai および TRPC の遺伝子発現変化を調べたところ，Orai2 の遺伝子発現が増加した。Orai2 をノックダウンしたアストロサイトでは，TNFα / IL1α 刺激を受けた際に COX-2 の遺伝子発現およびプロスタグランジン E_2 (PGE_2) 産生量が野生型（WT）と比べて増加した。また Orai2 ノックアウト（Orai2-KO）マウス由来のアストロサイトにおいても，TNFα / IL1α 刺激を受けた際に COX-2 および mPGES-1 の遺伝子発現，PGE_2 産生量が WT と比べて増加した。さらに，このとき Orai2-KO アストロサイトでは Orai1 の遺伝子発現，SOCE による Ca^{2+} 流入が WT と比べて増加した。以上の結果から，TNFα / IL1α 刺激を受けたアストロサイトにおいて Orai2 は PGE_2 産生を抑制することが示唆された。

（９）腸内細菌，酪酸と TNFα による TRPV4 発現制御

三原　弘[1]，南條宗八[1]，元尾伊織[1]，安藤孝将[1]，安田一朗[1]，内田邦敏[2]
（[1]富山大学 第三内科，[2]静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科）

【目的】腸内細菌の変化が機能性消化管疾患や炎症性腸疾患の病態に関与している。TRPV4 (transient receptor potential channel vanilloid 4) は，機械刺激，低浸透圧，熱，epoxyeicosatrienoic acid によって活性化される非選択的カチオンチャネルであり，結腸上皮細胞にも発現している。各種腸内細菌，代謝物，各種炎症性サイトカインが結腸上皮の TRPV4 の発現に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】大腸上皮細胞株（CCD841）と各種腸内細菌（細菌，菌体成分および培養上清），葉酸，リポポリサッカライド，短鎖脂肪酸（酪酸，酢酸，プロピオン酸），炎症性サイトカイン（TNFα，IL-6）とを単独または併用で共培養した。関連遺伝子の発現量を定量的 PCR，発現アレイにより明らかにした。

【結果】*K. oxytoca*，*E. faecalis*，*E,coli* との共培養で，TRPV4 発現が増加し，菌体成分ではなく培養上清で増加した。大腸菌培養上清による TRPV4 発現増加は，酪酸と TNF-αR1 阻害剤で抑制された。発現アレイによるネットワーク解析では，TNF-α，サイトカイン，NOD の各シグナルの活性化が見られ，定量的 PCR にて確認された。

【結論】*K. oxytoca*，*E. faecalis*，および *E. coli* で結腸上皮細胞の TRPV4 発現が増加した。培養代謝物，TNFα シグナルが関与しており，酪酸が発現増加抑制に関与している可能性が示唆された。

（10）急性の酸素センシングにおける TRPA1 の役割

中尾章人，森　泰生（京都大学大学院 工学研究科 合成・生物化学専攻）

好気性生物にとって酸素は生存に必要不可欠であり，生体内でエネルギーを蓄積する物質である ATP の産生に必須である。しかし一方で，活性酸素種などの産生基質として生体に様々の障害も引き起こすといったように，酸素は生体にとって両義的に働く。したがって，生体内の酸素濃度の変化を感知し，それに適切に対応するためには，酸素センシング機構が極めて重要である。緩徐な低酸素応答である造血作用や血管形成などには，hypoxia-inducible factor（HIF : 低酸素誘導因子）が中心的な役割を果たすことが知られている（2019 年ノーベル生理学・医学賞受賞）。それに対し，急性の酸素センシングには Heymans による頸動脈小体の発見以降（1938 年ノーベル生理学・医学賞受賞），頸動脈小体による血中酸素濃度感知が圧倒的に重要であると考えられてきた。しかしながら，その分子メカニズムに関しては仮説が乱立しており混迷状態にある。本発表では，頸動脈小体 glomus 細胞による急性の酸素センシングにおける酸素感受性チャネル TRPA1 の役割について議論したい。

（11）ショウジョウバエ視細胞の光応答を制御する脂質分子の同定

曽我部隆彰 [1,2]，Heather Bradshaw[3]，Craig Montell[4]，富永真琴 [1,2]
（[1] 生理学研究所 細胞生理研究部門，[2] 生命創成探究センター 温度生物学研究グループ
[3]Dept. of Psychological and Brain Sciences, Indiana University
[4]The Neuroscience Research Institute, University of California, Santa Barbara）

ショウジョウバエは TRP チャネル遺伝子が初めて同定された実験動物であり，視細胞における TRP チャネルの制御はシグナル情報伝達のモデルとして過去 30 年に渡って研究されてきた。ロドプシンが光依存的に活性化されると Gq を介してホスホリパーゼ C（PLC）が活性化し，その下流で TRP および TRPL チャネルが開口する。しかしながら, PLC の下流で TRP チャネルどのように制御されるのかについては，未だ明確な回答は得られていない。

PLC が PIP2 を代謝することから，我々は光刺激にともなって視細胞の中で生じる脂質代謝物について解析した。その結果，不飽和脂肪酸であるリノール酸を含有する代謝物，特に内因性カンナビノイドである 2-linoleoyl glycerol (2LG) と Linoleoyl ethanolamide (LEA) が増加することを見出した。2LG や LEA は，培養細胞に強制発現させた TRPL チャネルを濃度依存的に活性化した。単離した視細胞においても，2LG と LEA は TRP/TRPL チャネルを介した Ca^{2+}流入を引き起こした。さらに，活性化モデルの一つとして提唱されている機械刺激が，2LG と協働して TRP チャネルに作用することを明らかにした。

（12）TRPM７チャネル-キナーゼ相互作用による活性制御と酸化ストレスによる調節

井上　華 [1]，村山　尚 [2]，小林琢也 [2]，小西真人 [1]，横山詩子 [1]
（[1] 東京医科大学 胞生理学，[2] 順天堂大学大学院 細胞・薬理学）

Transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) は非選択性陽イオンチャネルで，Ca^{2+} および Mg^{2+} を透過させることにより，細胞の生存・増殖や遊走に重要な役割を果たすと考えられている。我々は酸化ストレスが TRPM7 を抑制することを見出し，この分子メカニズムを明らかにするため, HEK293 細胞に野生型 TRPM7 および TRPM7 変異体を発現させて電流測定を行い, 以下の知見を得た。1）酸化ストレスは TRPM7 の細胞内 Mg^{2+} による抑制を

増強することにより電流を抑制する，2）キナーゼドメインに存在する zinc-binding motif 内のシステイン残基（C1809 と C1813）が酸化ストレスセンサーとなっている，3）C1809 と C1813 の酸化はキナーゼドメインの構造を変化させチャネル活性の Mg^{2+} による抑制を増強する，4）チャネルドメインとキナーゼドメインの構造的相互作用がチャネル活性の Mg^{2+} 感受性を制御する，5）チャネルドメインとキナーゼドメインの構造的相互作用は，酸化ストレスのみならずキナーゼドメインの切断によっても阻害される。これらの知見は TRPM7 の新たな活性調節機構を示唆する。

（13）社会的敗北ストレスによる過敏性腸症候群モデルの確立と TRPM8 の関与

松本健次郎[1]，富永真琴[2,] 加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 病態薬科学系 薬物治療学分野，[2]生理学研究所 細胞生理部門）

過敏性腸症候群（IBS）は，その病態の複雑さから有用な動物実験モデルが少ないことが，病態解析や治療法の探索において課題となっている。幼少期のトラウマが IBS の一因であることが知られている。本研究では，若齢期社会的敗北ストレス負荷による新たなマウス IBS モデルの有用性について検証し，さらに臨床で IBS に対する効果が示されているメントールの作用点の 1 つである TRPM8 の関与について検討した。

4 週齢雄性 C57BL/6 マウスに 1 日 1 回 10 分間攻撃マウス（12 週齢雄性 ICR）による接触と隣接飼育を行った。これを 10 日間繰り返し行い，その後 9 週齢まで通常環境で飼育した。若齢期社会的敗北ストレス負荷は，攻撃マウスに対するストレスが成熟期まで持続されることを確認した。若齢期ストレス負荷群では，大腸における 5-HT，CGRP 発現の増加，内臓痛覚過敏，不安・うつ様行動ならびに腸内細菌叢の変化が検出された。また，成熟後の拘束ストレス負荷は，若齢期ストレス群では対照群と比較して，排便数の増加，血中コルチコステロン，セロトニン，扁桃体ノルアドレナリンの有意な増加が検出された。TRPM8 欠損マウスでは，本モデルにおける内臓痛覚閾値の低下，腸内細菌叢の変化，拘束ストレス負荷時の排便数の亢進がより顕著に認められた。ゆえに，若齢期社会的敗北ストレスは新規 IBS モデルとして有用であり，さらに TRPM8 は IBS 症状の緩和に関与していることが示唆された。

9. 2022 年度生理研心血管研究会 ―比較統合生理学的観点からの循環生理の解析－

2022 年 10 月 13 日－10 月 14 日

代表・世話人：山田充彦（信州大学　医学部）
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）系統進化の観点から心・血管ホルモンの本質を探る
竹井祥郎（東京大学　大気海洋研究所）

（2）ナノスケールのカーボン構造と分子およびイオン
金子克美（信州大学　先鋭領域融合研究群　先鋭材料研究所）

（3）シンポジウム 1「生命，病態を明らかにする魅惑の電気生理学」のねらい
森　誠之（産業医科大学 医学部 生体物質化学）
竹内綾子（福井大学学術研究院医学系部門医学領域 形態機能医科学講座 統合生理学分野）

（4）電位依存性カリウムチャネル複合体研究の現在
中條浩一（自治医科大学　医学部　生理学講座　統合生理学部門）

（5）様々な変異 RyR2 が起こす不整脈の重症度判定と抗不整脈薬の評価・開発-モデルマウスおよび RyR2 発現細胞を用いた検討-
呉林なごみ（順天堂大学　医学部　薬理学教室）

（6）不整脈トリガーは如何にして発生するのか：数理モデル解析からの予測
津元国親（金沢医科大学　生理学 II）

（7）心臓イオンチャネル異常と自然適応 –活動電位とゲノムデータに魅せられて–
和田悠子（ヴァンダービルト大学　医学部附属病院　内科学講座　臨床薬理学部門）

（8）超低出生体重児の救命と薬剤，そして長期予後
中村友彦　（長野県立こども病院）

（9）シンポジウム 2（進化発生生物学で紐解く環境適応システムの変化）のねらい
木村　航（理化学研究所　生命機能科学研究センター　心臓再生研究チーム）
魚崎英毅（自治医科大学　再生医学研究部）

（10）古生物学と進化発生学の融合研究から探る脊椎動物の形態進化
平沢達矢（東京大学大学院理学系研究科 地球惑星科学専攻）

（11）細胞外環境の変化から読み解く真骨魚類心臓流出路の発生と進化
守山裕大（青山学院大学 理工学部 物理科学科）

（12）内温性獲得に伴う心臓のトレードオフ機構
廣瀬健太朗（国立循環器病研究センター研究所 心臓生理機能部）

（13）転写因子による心臓神経堤細胞の運命決定機構
松花(谷）沙織（神戸大学 大学院理学研究科生物学専攻）

（14）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割
加藤百合（九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野）

（15）微生物由来の ACE2 様酵素 B38-CAP による循環器及び呼吸器病態の治療効果
山口智和（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）

（16）肺動脈性肺高血圧症における Hippo シグナルの発現変動
山村　彩（愛知医科大学 医学部 生理学）

（17）Cav1.2/CaMKK2/CaMK1a 経路を介した興奮転写連関と血管リモデリング形成の関連

鈴木良明　（名古屋市立大学 大学院薬学研究科 細胞分子薬効解析学分野）

（18）心室筋細胞一次元配列モデルを用いた再分極伝播の可能性に関する検討

姫野友紀子（立命館大学 生命科学部 組織機能解析学研究室）

（19）糖尿病性心筋症早期ステージに認められる dyad 構成分子の局在異常

三上義礼　（東邦大学 医学部 生理学講座統合生理学分野）

（20）心筋細胞増殖制御の新規標的としての核酸代謝

齋藤祐一（理化学研究所 生命機能科学研究センター 心臓再生研究チーム）

（21）ムラサキイガイの循環動態の解析：Constant-Volume 仮説の検証

瀬尾芳輝（自然科学研究機構生理学研究所 細胞構造研究部門）

（22）ラットおよびヒト iPS 細胞由来心筋細胞に対するタバコ煙抽出液（従来式および加熱式タバコ）の影響

安田純平　（和歌山県立医科大学 医学部 薬理学講座）

（23）Oxidative glutathione rescues Drp1 depolysulfidation-mediated mitochondrial hyperfission and cardiac vulnerability by electrophilic glutathionylation at Cys624

Tang XiaoKang　（総合研究大学院大学 心循環シグナル研究部門）

（24）敗血症による心臓活動電位の異常に対する心筋 I_{Ks} チャネルの役割

黒川洵子（静岡県立大学 薬学部 生体情報分子解析学分野）

（25）心筋細胞におけるミトコンドリア Na^{+}-Ca^{2+} 交換輸送体 NCLX と筋小胞体 Ca^{2+} ポンプ SERCA の構造的連関とその生理的役割

竹内綾子（福井大学 学術研究院医学系部門 統合生理学分野）

（26）新規選択的 TRPC3/6 チャネル阻害剤によるラット PAN-誘導性蛋白尿の改善

坂口怜子（産業医科大学 医学部 生体物質化学）

（27）マウス，ラット，ヒトの心臓トランスクリプトームの比較研究

岡本洋介（秋田大学大学院 医学系研究科 細胞生理学講座）

（28）インスリン分泌小胞の動態に関する解析

大島大輔（東邦大学 医学部 生理学講座統合生理学分野）

（29）心腎循環における性差解明に向けた腎臓膜輸送体の網羅的性差解析

清水聡史（静岡県立大学 薬学部 生体情報分子解析学分野）

（30）Involvement of reactive sulfur species in myocardial vulnerability of CARS2 $^{(+/-)}$ mouse hearts

Mi Xinya（九州大学 薬学部 生理学）

（31）体格の小型化は心電図指標にいかなる変化をもたらすか：『マイクロミニピッグ』および『ミニブタ』での検討

後藤　愛（東邦大学 医学部 薬理学講座）

（32）インターロイキン-6/gp130 経路による出生後心筋細胞の分裂制御と心臓の機能的発達における意義

川岸裕幸（信州大学 先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所）

（33）交感神経除神経が新生児・乳児期心臓発達に与える影響の解析

冨田拓郎（信州大学 医学部 分子薬理学教室）

（34）TRPC6 チャネルを介した Zn^{2+} 流入による圧受容反射応答制御機構の解明

西山和宏（九州大学 薬学部 生理学）

【参加者名】

山田充彦（信州大学医学部）, 西田基宏（生理学研究所）, 赤羽悟美（東邦大学医学部）, 天野　晃（立命館大学生命科学部）, 天野泰樹（名古屋市立大学薬学研究科）, 鮎川皓一（九州大学大学院薬学府）, 有吉航平（九州大学薬学部）, 石井志奈（九州大学薬学部）, 石丸和佳（九州大学薬学府）, 猪木拓人（九州大学薬学部）, 岩﨑令真（九州大学大学院薬学府）, 岩本隆宏（福岡大学医学部）, 植松明子（生理学研究所）, 魚崎英毅（自治医科大学分子病態治療研究センター）, 内山瑳和子（九州大学大学院薬学府）, 大川ませ梨（九州大学薬学府）, 大久保礼真（九州大学薬学府）, 大島大輔（東邦大学医学部）, 大西晃央（九州大学大学院薬学府）, 岡野佑美（九州大学大学院薬学府創薬科学専攻）, 岡本洋介（秋田大学大学院医学系研究科）, 尾崎孝汰（九州大学大学院薬学府創薬科学専攻）, 尾高椋介（東邦大学薬学部）, 尾松万里子（滋賀医科大学医学部医学科）, 糟谷　豪（自治医科大学医学部）, 加藤百合（九州大学大学院薬学研究院）, 門田　真（信州大学）, 金子克美（信州大学　先鋭材料研究所）, 川岸裕幸（信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所）, 北折優衣（信州大学大学院医学研究科）, 喜多　知（福岡大学医学部）, 木村　航（理化学研究所生命機能科学研究センター）, 久場敬司（秋田大学大学院医学系研究科）, 倉智嘉久（大阪大学医学部）, 呉林なごみ（順天堂大学医学部）, 黒川洵子（静岡県立大学薬学部）, 黒川竜紀（大分大学医学部）, 児玉昌美（順天堂大学医学部）, 後藤　愛（東邦大学医学部）, 後藤理沙（九州大学大学院薬学府）, 近藤るびい（名古屋市立大学大学院薬学研究科）, 齋藤祐一（理化学研究所生命機能科学研究センター）, 坂口あかね（理化学研究所 BDR）, 坂口怜子（産業医科大学医学部）, 坂本多穂（静岡県立大学薬学部）, 佐藤元彦（愛知医科大学医学部）, 塩見敏生（九州大学薬学府）, 篠田康晴（福岡大学医学部）, 柴　直子（信州大学）, 柴　裕司（信州大学）, 清水聡史（静岡県立大学薬学部）, 下田翔（九州大学大学院薬学研究院）, ZHOU LIUCHENZI（総合研究大学院大学自然研究所）, 新藤隆行（信州大学）, 杉山　篤（東邦大学医学部）, 鈴木良明（名古屋市立大学大学院薬学研究科）, 瀬尾芳輝（自然科学研究機構生理学研究所生体機能調節研究領域）, 田頭秀章（秋田大学大学院医学系研究科）, 鷹野　誠（久留米大学医学部）, 竹井祥郎（東京大学大気海洋研究所海洋生命科学部門）, 竹内綾子（福井大学学術研究院医学系部門）, 立場川隼一（九州大学薬学部創薬科学科）, Tang XiaoKang（総合研究大学院大学生命科学研究科生理学専攻）, 張　娟（九州大学薬学府）, 陳　以珊（和歌山県立医科大学医学部）, 津元国親（金沢医科大学医学部）, 鶴留奈津子（鹿児島大学連合農学研究科）, 冨田拓郎（信州大学医学部）, 冨田太一郎（東邦大学医学部）, 富田剛志（九州大学大学院薬学府）, 中嶌岳郎（信州大学医学部）, 中條浩一（自治医科大学医学部）, 中田　勉（信州大学基盤研究支援センター）, 永田　龍（大阪大学薬学研究科）, 中浜光哉（名古屋市立大学大学院薬学研究科）, 中村友彦（長野県立こども病院）, 行方衣由紀（東邦大学薬学部）, 西谷（中村）友重（和歌山県立医科大学医学部）, 西村明幸（生理学研究所）, 西山和宏（九州大学薬学部）, 根本隆行（福岡大学医学部）, 納富拓也（和歌山県立医科大学医学部）, 馬場俊輔（東京慈恵会医科大学附属病院）, 姫野友紀子（立命館大学生命科学部）, 平沢達矢（東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻）, 平野勝也（香川大学医学部）, 廣瀬健太朗（国立循環器病研究センター）, 廣瀬恵大（九州大学大学院）, 藤生克仁（東京大学医学部）, 古谷和春（徳島文理大学薬学部）, 古本裕香（九州大学大学院薬学府）, 本田真梨奈（九州大学大学院薬学府）, 松岡　達（福井大学医学部）, 松島綾美（九州大学大学院理学研究院）, 松花沙織（神戸大学理学研究科生物学専攻）, Mi Xinya（九州大学薬学部）, 三上義礼（東邦大学医学部）, 南沢　享（東京慈恵会医科大学）, 村上慎吾（中央大学理工学部電気電子情報通信工学科）, 森　誠之（産業医科大学医学部）, 守山裕大（青山学院大学理工学部）, 安田純平（和歌山県立医科大学医学部）, 山口智和（秋田大学大学院医学系研究科）, 山﨑絢斗（九州大学薬学部）, 山村　彩（愛知医科大学　医学部）, 山村寿男（名古屋市立大学大学院薬学研究科）, Yang Xiao（信州大学大学院医学研究科）, 横山詩子（東京医科大学医学部）, 和田悠子（Vanderbilt University Medical CenterClinical Pharmacology）

【概要】

心血管系の主たる役割は，末梢臓器に必要十分な酸素を分配することである。恒温動物は変温動物より全身代謝が活発であり，多くの心拍出量を必要とする。そのため恒温動物は心拍数を速め，ヒス・プルキンエ線維による速い心室内興奮伝導を獲得した。また心拍数増加に必然的に伴う収縮・拡張期短縮を補うために，T 管と筋小胞体を備えた心筋細胞が重層緻密化して強い収縮力を生み出す心室壁の獲得し，この厚い壁に十分な酸素を分配するための冠血管を生み出した。さらに心拍出量増加に伴う血圧上昇に耐える堅牢な動脈も獲得した。ヒトは胎生期から離乳期までにこの系統発生を繰り返し，その後は各年齢での運動・摂食・睡眠に応じて自在に循環機能調節を行い 100 年近くも生存する。本研究会では，このような心血管系の生理病理の背景にある多層階メカニズムを比較統合生理学的観点から検討し，さらなる循環生理学の発展に貢献することを目的とする。具体的には本年度は，信州大学松本キャンパスを会場としたハイブリッド開催で 109 名（現地参加 41 名, オンライン参加 68 名）が参加し，上記テーマに関する特別講演 3 演題，シンポジウム 2 つ（各 4 演題），一般演題 10 演題，ポスター演題 11 演題を実施, 参加者との間で熱の入った有意義な討論を行った。

（１）系統進化の観点から心・血管ホルモンの本質を探る

竹井祥郎（東京大学大気海洋研究所）

脊椎動物は，ホヤの仲間である尾索動物からまず魚類が進化して, 一度淡水域に入った後に陸上へと進出した。したがって，ヒトのゲノムにも魚類の時代からの進化の痕跡が残っているはずである。陸に上がった動物は，体液を保持し，高い血圧を保つ機構を発達させた。一方，水生の魚類では，水による浮力のため重力が相殺され，その血圧は低い。循環調節ホルモンのうち，陸上動物ではアンジオテンシン II（Ang II），バソプレシン，アルドステロンなどの体液を保持する昇圧ホルモンが重要な役割を担っている。これらに異常が生じると様々な病気を引き起こすため，臨床内分泌学でも古くから主要な研究対象となっている。一方，体液を減らす降圧ホルモンであるナトリウム利尿ペプチド（NP）やアドレノメデュリン（AM）の循環調節における重要性は低く，異常が起こっても病気にならないためその発見は遅れた。しかし，心不全や高血圧になると分泌が上昇し症状を緩和する。一方，NP や AM は魚類で重要な役割を果たしており，それぞれ 8 種と 5 種に多様化している。また，魚類で NP はナトリウムに特化した作用をもち，ノックダウンすると海水適応能が損なわれる。このように，循環調節に関わるホルモンは水棲から陸棲への進化の過程で作用を適応進化させてきたが，本講演では Ang II と ANP の作用を中心に解説し，進化のストーリーを考える面白さと意義を紹介する。

（２）ナノスケールのカーボン構造と分子およびイオン

金子克美（信州大学先鋭材料研究所）

グラフェン様構造体から成るカーボンナノ細孔空間は分子およびイオンに対して非常に強い求引場を提供する。また，グラフェンは高い電気伝導性を示すために，カーボンナノ細孔体は他のナノ細孔体とは全く異なる効果を分子とイオンに及ぼす。本講演では次のトピックスを紹介する。900 万気圧を印加しないと生成しない金属的 1D 硫黄鎖が，カーボンナノチューブ 1 次元空間中では真空下で加熱してナノ空間に導入すると生成した。イオンと同程度のサイズのカーボンの細孔空間にイオンを導入すると，水溶液中のイオンは部分脱水和を起した。また，カーボン細孔壁に反対電荷を誘起して隣の同種イオンを安定化して，カチオン同士あるいはアニオン同士がナノ細孔空間中で集積する現象を見出した。これは見かけ上クーロンの法則が破れたかのような現象である。疎水性

のカーボンのナノ空間中で水分子同士が水素結合でクラスターを形成して安定化し，吸着量が 0.5 g/g を超えた。カーボンナノ空間中の水は液体よりも固体に近い構造をとるが，その構造は 40 ºC（313 K）付近で不安定になった。また，グラフェンに生じた分子スケールの欠陥（ナノ窓）は，開閉機能を有し，酸素，窒素，アルゴンを極めて効率的に分離できる可能性が示された。ナノ窓のあるグラフェンでゼオライト結晶を包接して膜化すると，水素対メタンの分離速度が従来の膜の約 1000 倍で，分離係数も 200 を超えた。これは全く新しい分離膜で応用性が高い。

（３）シンポジウム１「生命，病態を明らかにする魅惑の電気生理学」のねらい

森　誠之（産業医科大学 医学部 生体物質化学）
竹内綾子（福井大学学術研究院医学系部門医学領域　形態機能医科学講座　統合生理学分野）

電気生理学は生体のイオン動態を反映した電気的な現象を捉える優れた手法であり，此れから得られた膨大な知見は脳神経系，心循環器系等の生理的理解に多大な貢献をなしてきた。一方，病態におけるイオン動態は通常と異なる挙動を示し，他のイオン動態分子に協奏的な影響を与え，時により広範な異常シグナルの発生を促す。本シンポジウムでは，動的で精密な生理応答，病態時における微小な異常変化を検出する手法として，電気生理学の優れた汎用性，定量性，時間分解能の重要性を理解する機会を設けることにした。電気生理学に魅了され，独自の研究展開を図っている各シンポジストは，その魅力と，最新の知見を紹介した。電気生理学者のみならず，生理学研究の門をたたいたばかりの若手研究者にも活発な討論に参加していただき，今後の電気生理学研究の方向性，発展性を探った。

（４）電位依存性カリウムチャネル複合体研究の現在

中條浩一，糟谷　豪（自治医科大学 医学部 生理学講座 統合生理学部門）

電位依存性カリウムチャネルは，心筋活動電位生成において重要な役割を果たしている。心筋細胞においては，KCNQ1, hERG, Kv4.2 などが発現しており，それぞれ I_{Ks}，I_{Kr}，I_{to} と呼ばれる電流を担っている。またこれらのチャネルには機能を修飾するサブユニットが知られており，心筋細胞中では多くのチャネルが機能修飾サブユニットとの複合体を形成していると考えられる。したがって，これらのイオンチャネルの機能を理解するためには，複合体としての構造と機能を知ることが重要である。近年クライオ電子顕微鏡による構造解析により，イオンチャネルの複合体構造が次々と明らかになってきた。我々は，KCNQ1-KCNE3 の複合体構造をもとに，KCNE3 によって KCNQ1 の電位センサードメイン（VSD）の動きが修飾されるメカニズムについて検討を行った。KCNQ1 の VSD の一部である S1 セグメントと KCNE3 が膜貫通領域全長にわたって相互作用している点に注目し，相互作用に関わるアミノ酸１つ１つを大きさの異なる 5 種類程度の疎水性アミノ酸に置換，それぞれの変異体を電気生理学的測定と，蛍光強度測定により検討した。その結果，相互作用部位のアミノ酸の大きさが厳密に決まっており，両者がかなりタイトに相互作用していることが KCNE3 による KCNQ1 VSD の機能修飾に重要であることを見出した。

（５）様々な変異 RyR2 が起こす不整脈の重症度判定と抗不整脈薬の評価・開発-モデルマウスおよび RyR2 発現細胞を用いた検討-

呉林なごみ（順天堂大学 医学部 薬理学教室）

2 型リアノジン受容体（RyR2）の遺伝子変異は，カテコラミン誘発性多型性心室頻拍（CPVT）をはじめとした致死性不整脈の原因となり，現在 300 種類以上の疾患変異が報告されている。これらの不整脈に対し，抗不整脈薬として Na チャネル阻害薬，β 遮断薬，Ca 拮抗薬が使用されているが，効果が不十分な症例があり，また，除細動器の使用は不整脈を増悪させる危険も伴う。したがって RyR2 異常に起因する不整脈では治療法の改善が望まれ，その一つとして RyR2 を標的にした薬の開発の可能性が考えられる。我々はこれまでに，ヒトの不整脈重症度と変異 RyR2 の活性亢進の程度の間に相関がある事を, HEK293 細胞発現系を用いて示唆してきた。今回，これを証明するため，チャネル活性が異なる 4 種類の RyR2 変異を発現するマウスを用いて，それらの不整脈の種類や発生頻度を調べた。さらに，これらの RyR2 変異不整脈マウスを用いた不整脈評価法を確立し，既存抗不整脈薬および開発中の RyR2 阻害薬の効果を検討した。統合的な解析の結果，（１）RyR2 変異による不整脈の重症度は，日常的には起こらないが強い刺激によって初めて発生する軽度のものから，日常的に頻繁に出現する重症のものまで, RyR2 活性亢進に依存する事が示された。さらに（２）RyR2 阻害薬は，RyR2 変異が原因の不整脈に対する新規抗不整脈薬として有望である事が示された。

（６）不整脈トリガーは如何にして発生するのか：数理モデル解析からの予測

津元国親 [1]，島本貴史 [2]，青地悠馬 [2]，九田裕一 [1]，谷田　守 [1]，姫野友紀子 [2]，天野　晃 [2]，倉田康孝 [1]
（[1] 金沢医科大学 生理学 II，[2] 立命館大学 生命情報学科）

心室頻拍・細動といった致死性不整脈の電気的実体は，心室内を興奮波が旋回するリエントリー性興奮波, ならびにその興奮波の分裂・消滅がランダムに繰り返される興奮波であると考えられている。QT 延長症候群は心電図 QT 間隔が異常に延長する病態であり, 突然死の危険性が高い。多くの臨床的観察研究から，QT 延長症候群患者で度々観察される多形性心室頻拍（Torsades de Pointes: TdP）の発生に先行して早期後脱分極（early afterdepolarization: EAD）が発生することが報告されてきた。我々はこれまでに，非線形システムの分岐理論と呼ばれる数理的解析手法を用いて EAD の発生機序を検討してきた。いくつかの数理モデルを解析したところ, EAD 発生の主な要因が L 型 Ca^{2+} チャネルの再活性化にあることが明らかとなった。一方, EAD の発生をきっかけとしてどのように TdP が誘発されるのかについては未だ不明な点が多い。そこで，TdP の発生機序を理解する次のステップとして，複数の心筋細胞が協調的に EAD を伴う活動電位を発生することで創発される 2 次性脱分極波が，どのように旋回性興奮波の発生を引き起こすのかを検討した。Kurata ヒト心室筋細胞モデル（Kurata et al., Biophys J, 2005）からなる 2 次元シートモデルを構築し，その興奮伝播シミュレーションを実施した。一連の解析から，心室組織内に EAD を引き起こす心筋細胞領域が単独に存在するよりも，不連続に複数の EAD 誘発心筋細胞領域が存在するほうが，EAD により TdP が誘発される危険性が高まる可能性が示された。

（７）心臓イオンチャネル異常と自然適応 -活動電位とゲノムデータに魅せられて-

和田悠子（ヴァンダービルト大学 医学部附属病院 内科学講座 臨床薬理学部門）

薬剤性 QT 延長症候群のリスク因子として知られるイオンチャネル遺伝子多型は効果サイズが小さく単独では著名な QT 延長をきたさないが，薬剤がイオンチャネル電流を修飾し引き金となる。このリスク多型と共生するカギは何か。心臓ナトリウムチャネル遺伝子 *SCN5A* の S1103Y 多型は，異種発現系で遅延性 Na 電流を増加し，乳幼児突然死症例に頻度が高いことが繰り返し報告される一方，アフリカ系健常者の約 7 人に 1 人が自然保因する。当大学のバイオバンク BioVU では，アフリカ系米国人 1479 人の安静時 QT 時間と多型の有無は相関しなかった。欧米系健常非保因者と，アフリカ系健常自然保因者から多能性幹細胞を作成し，ゲノム編集で S1103Y 多型を導入または野生型に修飾した心筋では，多型の有無は安静時 APD に影響しなかった一方，遅延性 Na 電流は多型心筋で 2.5～17 倍増加した。遅延整流性 K チャネル電流 I_{Kr} は多型心筋で 1.5 倍増加し，多型由来の遅延性 Na 電流を相殺することを示唆した。さらに，薬剤性 QT 延長の高リスク薬である dofetilide を低～高濃度（1～300 nmol/L）で段階的に急性投与し，APD を延長する薬物濃度を定量すると，多型心筋では 20 分の 1 以下の低濃度で APD 延長がみられ，薬剤性 QT 延長のリスク因子となることを示した。同様の所見は，アジア人に一般的な R1193Q 多型にも観察された。遺伝的多様性に富むゲノムデータが新たな適応因子の発見に繋がることも改めて示された。

（８）超低出生体重児の救命と薬剤，そして長期予後

中村友彦（長野県立こども病院）

以下の 4 点につき，論述した。

1. 超早産児（在胎 24 週未満）の児の短期的予後
   長野県立こども病院の後方視的な検討では 2011-18 年に入院した在胎 22 週と 23 週の生存退院はそれぞれ 72 ，89 であった[1)]。
2. 超低出生体重児と薬剤
   新生児呼吸窮迫症候群に対する人工サーファクタント療法の有効性が日本の RCT で証明された[2)]。生後早期の吸入ステロイドの RCT では，重症化慢性肺疾患を予防する効果が証明できた[3)]。無呼吸発作に対するカフェインも EBM で評価されている[4)]。また，無呼吸発作に対するドキサプラム，未熟児貧血に対するエリスロポエチン，未熟児網膜症に対する抗 VEGF 抗体など，新生児投与が認められている薬剤もあるが，使用頻度の高い循環作動薬，抗けいれん剤などは未承認薬が多い。
3. 超低出生体重児の長期予後
   最近 2003 年-7 年出生の在胎 28 週未満の早産児を対象とした。青年期（14～18 歳）の呼吸器症状の有無，喘息罹患率，QOL に関するアンケート調査をおこなった。その結果によると青年期の呼吸器予後は悪くなく，家族，本人ともに QOL に満足している結果であった。
4. 今後の課題
   生存が厳しかった超早産児の救命率が上昇してきた。青年期・成人となっても QOL の高い生活がおくれるように，新生児医療は進歩していかねばならない。

【参考文献】

1. Yanagisawa T, et al. Am J Perinatol 2022 Feb 22. (DOI: 10.1055/a-1779-4032)
2. Fujiwara T, et al. Pediatrics 1990;86;753-64
3. Nakamura T, et al. Arch Dis Child Fetal neonatal Ed. 2016;101:F552-F556
4. Abushanab DAE, et al. Pediatr Drugs. 2020;22:399-408

（９）シンポジウム２「進化発生生物学で紐解く環境適応システムの変化」のねらい

木村　航（理化学研究所 生命機能科学研究センター 心臓再生研究チーム）
魚崎英毅（自治医科大学 再生医学研究部）

本シンポジウムでは新進気鋭の進化発生学研究者が集まり，動物が進化する過程で，どのように環境へと適応してきたか，それぞれの観点から議論を行った。進化発生学（EvoDevo）と一口で言っても，その対象は様々である。化石（古生物）と現世生物を比較することで，進化する前と後というその過程を理解することができる。同様に今生きている現世生物同士の比較を行うことでも，過去どのようにそれぞれの環境に適応してきたかを見て取ることもできる。例えば水棲と陸生の違い，恒温性の獲得など，形態学的な変化だけでなく，生理学的な機能がどのように獲得されてきたかについて，発生生物学や遺伝学的なアプローチにより読み解かれつつある。本シンポジウムではこうした心血管系を始めとした各種臓器の適応進化について最先端の研究が紹介・議論され，1990 年代に広がり始めた EvoDevo 研究が約 30 年を経て新たなフェーズに入りつつあることが明らかにされた。

（10）古生物学と進化発生学の融合研究から探る脊椎動物の形態進化

平沢達矢（東京大学大学院理学系研究科 地球惑星科学専攻）

およそ 5.2 億年前に現れた脊椎動物は，いくつもの新たな解剖学的構造を獲得し，現在見られる形態的多様性を進化させてきた。各解剖学的構造は発生を通じて作られることから，それらの進化過程を解明するための鍵の１つは発生機構の研究である。一方，現生種の比較のみでは形態進化過程の全貌を把握することは不可能であり，地層中の化石記録も手がかりとなる。私たちの研究グループでは，脊椎動物進化においてなお残されている未解明部分を明らかにするため，古生物学と進化発生学を両輪とした融合研究を展開している。最近の成果として，脊椎動物の基本的な形態的多様性が成立しつつあったデボン紀の化石種パレオスポンディルスの系統的位置を突き止めた。この化石種は非常に特殊な形態をしておりこれまでにさまざまな脊椎動物グループと比較されてきたが，私たちの研究により魚類から四肢動物へ移行する段階の系統に属することが分かり，特殊な形態は幼生型を示すものであったことが示唆された。これは，従来欠落していた魚類から四肢動物の移行段階に当たる動物の発生過程に関する手がかりとなる。また，別の研究として，哺乳類のみで獲得された横隔膜の進化的起源の謎について，現生種で分かっていた発生機構と化石種の形態を手がかりとしたことで，横隔膜は肩の筋から進化してきた可能性を見出し，その検証を進めてきた。本講演では，これらの成果と今後の展望を紹介する。

（11）細胞外環境の変化から読み解く真骨魚類心臓流出路の発生と進化

守山裕大（青山学院大学 理工学部 物理科学科）

生物の進化過程において，心臓はその形態と機能を大きく変化させてきた。代表的な変化は中隔の形成による心房・心室の区画化であるが，流出路もその形態，生理機能が真骨魚類の系統において大きく変化している。真骨魚類は水中環境に適応するようにその形態・生理機能を変化させてきた。その適応の鍵は心臓流出路を動脈球という新規形質に変化させていることである。真骨魚類以外の脊椎動物では心臓流出路は主に心筋で構成されている一方，真骨魚類にみられる動脈球は主に平滑筋で構成され，心室から拍出される血液の血圧・血流量を適切なものに調整する機能を担っている。胚発生過程における動脈球の形態形成過程を調べたところ，新骨魚類特異

的なゲノム重複によって獲得された *elastin b* という細胞外マトリックスをコードする遺伝子が動脈球予定領域において発現すること，またその機能が阻害された場合には動脈球を構成する細胞が平滑筋から心筋へと変化することを見出した。さらに，硬さなどといった細胞外環境の性質を細胞内に伝えるメカノトランスデューサーである *yap* の機能を阻害すると，*elastin b* の発現は変化しないものの動脈球において異所的に心筋が形成された。以上から，新骨魚類に至る進化の過程で *elastin b* が獲得され，動脈球構成細胞の細胞外環境が変化したことで進化的新規形質である動脈球が獲得されたという進化のシナリオが示唆された。

（12）内温性獲得に伴う心臓のトレードオフ機構

廣瀬健太朗（国立循環器病研究センター研究所 心臓生理機能部）

ゼブラフィッシュ等の脊椎動物は驚異的な再生能力を有しており，心臓の損傷も修復可能である。一方，マウスは心臓を再生できないが，新生児期に限定して高い再生能力を有している。では，種間及び成長段階で心臓再生能力の違いを決定付ける機構は何か？そのヒントを得るため, 我々は 41 種の脊椎動物から単離した心筋細胞を解析し, 動物種の「心臓再生能力」と「体温及び代謝率」の間に，負の相関関係があることを見出した。つまり，高い内温性を保持する動物ほど，心臓再生能力が低い傾向にある。内温性制御に中心的な役割を担う因子として，甲状腺ホルモン経路が知られる。そこで実際に，マウス心臓特異的に甲状腺ホルモン経路を抑制することで，成体マウスで高い心臓再生能力を保持できることを見出した。一方のゼブラフィッシュでは，甲状腺ホルモン経路の活性化が心臓再生を抑制する。本発表では，これらの研究成果を基に，我々ヒトやマウスが，進化や成長の過程で心臓再生能力を失った新たな仮説として，内温性獲得とのトレードオフ機構の可能性に関して議論した。

（13）転写因子による心臓神経堤細胞の運命決定機構

松花（谷）沙織，川田結雅，阪田悠世，井上邦夫（神戸大学 大学院理学研究科生物学専攻）

心臓神経堤細胞は，耳胞から第 3 体節に位置する神経堤領域から生じ，大動脈と肺動脈を分ける大動脈肺動脈中隔となる。心臓神経堤細胞の発生異常・欠損は，主に大動脈肺動脈中隔形成不全となり総動脈幹遺残症（PTA; Persistent Truncus Arteriosus）に至る。心臓神経堤を切除したニワトリ胚でも, この中隔を失った PTA の表現型を示す。さらに，心臓神経堤切除胚に，多分化能を有する他の神経堤を置換移植しても，この中隔欠損の表現型を免れることはできない。つまり，この中隔の形成は心臓神経堤細胞だけがもつ独自の性質であると考えられる。私達はこの独自の細胞分化能を明らかにするため，まず移動初期の心臓神経堤細胞を単離し，トランスクリプトーム解析を行なった。頭部神経堤細胞との比較から *MafB* 遺伝子が心臓神経堤細胞のみで発現することを見いだした。そして，ニワトリ胚を用いた MafB 機能欠失実験により MafB が心臓神経堤細胞の初期発生に必須な因子であることを明らかにした。また，*MafB* 遺伝子らを体幹部神経堤で発現させると，心臓神経堤細胞の移動制御因子である CXCR4 発現を異所的に引き起こすことを明らかにした。以上のことから，MafB は心臓神経堤細胞の特異性を生み出す重要な因子であると示唆される。小型魚類ゼブラフィッシュにおいても MafB は一部の神経堤細胞群で特異的に発現する。心臓形態と MafB の関連性の比較検討を通して，発生システムの変遷についての理解も目指している。

（14）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割

加藤百合[1]，冨田拓郎[2]，島内　司[1,2]，酒田康介[1]，西山和宏[1]，西村明幸[2]，西田基宏[1,2]
（[1]九州大学大学院薬学研究院　生理学分野
[2]自然科学研究機構生理学研究所（生命創成探究センター）心循環シグナル研究部門）

動脈硬化などにより末梢血管の閉塞が引き起こされ，血流が滞ることを末梢循環障害と呼ぶ。閉塞後，組織への血流を回復させるために側副血行路の形成や血管新生・血管成熟が促進される。我々は，細胞膜上の受容体作動性カチオンチャネル Transient receptor potential canonical (TRPC) 6 の活性化が虚血後の血管成熟に必要な血管平滑筋細胞の筋分化を負に制御することを報告してきた。本研究では，マウス個体を用いて末梢循環障害における TRPC6 チャネルの関与を明らかにすることを目的とした。TRPC6 全身欠損マウスでは，下肢虚血後の血流回復が促進し，血管成熟の指標である血管径の増大も観察された。虚血処置をした内皮機能障害モデルマウスにおいても，TRPC6 阻害剤を後投与することで，末梢循環障害の顕著な回復が観察された。以上の結果より，血管平滑筋細胞の TRPC6 チャネル活性阻害が，血管内皮機能に依存せず虚血後の末梢循環障害を改善させることをマウスで明らかにした。TRPC6 チャネル活性阻害は，末梢循環障害の新たな治療標的となるかもしれない。

（15）微生物由来の ACE2 様酵素 B38-CAP による循環器及び呼吸器病態の治療効果

山口智和[1]，星崎みどり[1,2]，湊　隆文[1]，　韮澤　悟[3]，浅賀正充[4]，安　健博[1]，永田諭志[5]
鎌田春彦[6]，神谷　亘[7]，　河岡義裕[8]，保富康宏[4]，今井由美子[2]，久場敬司[1]
（[1]秋田大・院医・分子機能学・代謝機能学，[2]医薬基盤・健康・栄養研・感染病態御，
[3]国際農研・生物資源・利用領域，[4]医薬基盤・健康・栄養研・霊長類，
[5]医薬基盤・健康・栄養研・抗体デザイン，[6]医薬基盤・健康・栄養研・バイオ創薬，
[7]群馬大・院医・生体防御学，[8]東大・医科研・ウイルス感染）

アンジオテンシン変換酵素 2（ACE2）はアンジオテンシン II（AngII）の分解作用によりレニンーアンジオテンシン系における負の調節因子として，心不全や急性呼吸窮迫症候群（ARDS）の病態改善に寄与する。私達は *Paenibacillus sp.* B38 由来のカルボキシペプチダーゼ B38-CAP が ACE2 様の活性をもつことを見出した。立体構造解析により，B38-CAP が哺乳類 ACE2 と構造的類似性を持つことがわかり，In vitro 解析において AngII を Ang 1-7 に変換する ACE2 様活性を認めた。また，AngII 投与マウスあるいは TAC 心不全マウスにおいて，B38-CAP は血漿 AngII 濃度を減少させ，循環器病態を改善することを明らかにした （Nat Commune 2020）。B38-CAP は生体内においても ACE2 様酵素活性を発揮することから，マウスにおいて SARS-CoV-2 感染，細菌性腹膜炎による敗血症，および塩酸吸引によって誘導される急性肺障害について B38-CAP の治療効果を検討した。その結果，B38-CAP の投与はいずれの呼吸器病態モデルにおいても肺水腫と肺損傷の病態を軽減した （Nat Commune 2021; PLoS One 2022）。以上の結果から，今後，心不全や ARDS の治療薬として，B38-CAP が応用されることが期待される。

（16）肺動脈性肺高血圧症における Hippo シグナルの発現変動

山村　彩，Alamgir Hossain，高橋理恵，佐藤元彦（愛知医大 医学部 生理学）

肺動脈性肺高血圧症（PAH）は，肺血管の攣縮（過収縮）やリモデリング（肥厚・線維化）によって起こる。これまでに，PAH リモデリングにはカルシウム感受性受容体（CaSR）が関与し，その発現制御に血小板由来成長因子（PDGF）受容体シグナルが寄与することを明らかにした。本研究では，特発性肺動脈性肺高血圧症（IPAH）由来の肺動脈平滑筋細胞（PASMCs）を用いた DNA マイクロアレイ解析の結果，PDGF 受容体の下流シグナル経路として Hippo シグナルを見出した。Hippo シグナルは，細胞の生死・増殖・分化などに関連することが知られている。IPAH-PASMCs において，Hippo シグナルの中心的分子 YAP および転写因子 TEAD の発現が増加していた。また，PDGF で 48 時間処理すると，YAP や TEAD，線維化マーカーCYR61 の発現が増加した。これらの発現増加は，PDGF 受容体（PDGFRβ）の siRNA ノックダウンによって抑制された。以上の結果より，PDGF 受容体の下流シグナル経路として見出した Hippo シグナルの活性化は，PAH リモデリングに関与していることが示唆された。

（17）Cav1.2/CaMKK2/CaMK1a 経路を介した興奮転写連関と血管リモデリング形成の関連

鈴木良明[1]，小澤拓海[1]，倉田　朋[1]，中島七海[1]，Zamponi Gerald[2]，Giles Wayne[2]，今泉祐治[1]，山村寿男[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]カルガリー大学 医学部）

電位依存性 Ca^{2+} チャネル（Cav1.2）を起点とした Ca^{2+} シグナルは，Ca^{2+}/CaM dependent kinase （CaMK）などを介して，遺伝子転写を引き起こす。この現象は興奮-転写連関（E-T coupling）と呼ばれる。血管平滑筋細胞（VSMC）では，カベオラ構造の構成分子カベオリン（cav）-1 が Cav1.2 とその下流分子を集積させる。本研究では，カベオラに形成される Cav1.2 分子複合体と E-T coupling の関連を解明することを目的とした。マウス腸間膜動脈に脱分極刺激を加えると，VSMC の核内で転写因子 CREB が活性化され，ケモカインや接着分子などの炎症促進遺伝子群が誘導された。一方，cav1-KO マウスの組織ではこれらの反応は見られなかった。検討を重ねた結果，Cav1.2-CaMKK2-CaMK1a のカベオラ内への局在化が上記の反応に必要であることが判明した。マウス腸間膜動脈に *in vivo* で圧負荷を加えたところ，マクロファージの遊走と血管壁の肥厚が検出されたが，cav1-KO および CaMKK2 阻害薬の投与により，これら変化は減弱した。以上より，カベオラを足場とした E-T coupling は，力学的負荷による持続的な細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を炎症促進遺伝子群の転写へ変換することで，血管リモデリングを引き起こすと考えられる。

（18）心室筋細胞一次元配列モデルを用いた再分極伝播の可能性に関する検討

姫野友紀子[1]，榎本玲佳[1]，原　亮介[1]，野間昭典[1, 2]，天野　晃[1]
（[1]立命館大学 生命科学部 生命情報学，[2]立命館大学 総合科学技術研究機構）

心室筋には，活動電位の立ち上がり相で，脱分極によって閾値を超えて一気に活性化が進行する I_{Na} によって，組織のなかで次々と隣り合う細胞に興奮が伝わるしくみがある。同様に再分極相でも，再分極によって自己再生的に活性化する I_{Kr} や I_{K1} チャネルがある閾値をもち，再分極を次々と隣り合う細胞へと伝播する可能性が考えられる。本研究では，この再分極伝播の可能性について，ヒト心室筋細胞数理モデル（HuVEC モデル，Himeno *et al.*, 2015）をギャップジャンクションにより電気的に結合して一列に配置した一次元モデルを構築して検討した。

HuVEC モデルは，再分極相で過分極パルスを与えると，各時点のある閾値電位を下回るか否かによって，再分極へ向かうかプラトー電位へ戻るかの全か無かの反応が見られたという，ケーブル様プルキンエ線維での電気生理学実験結果（Weidmann *et al.*, 1951）を忠実に再現した。再分極相でプラトーレベルを維持する特定の条件（I_{NaL} の不活性化遅延と I_{K1} のコンダクタンス増加）を与えて改変した HuVEC モデルを 200 個並べた一次元配列を電気刺激により脱分極させた後，配列の中心部より過分極パルスを与えると，配列全体に再分極が伝播する様子が観察された。実験では完全に単離することのできない純粋な再分極の伝播速度は，本モデルを用いたシミュレーション結果より約 3 cm/s と求められた。

（19）糖尿病性心筋症早期ステージに認められる dyad 構成分子の局在異常

三上義礼，冨田太一郎，大島大輔，赤羽悟美（東邦大学 医学部 生理学講座 統合生理学分野）

筋細胞の構造は進化を通して保存され，高度に発達した膜構造を有する。この構造基盤分子の発現低下や局在異常は機能的異常を引き起こす。糖尿病性心筋症早期に認められる拡張機能障害は心室筋細胞 Ca^{2+} シグナル制御の異常に起因すると考えられるが分子機序は不明な点が多い。我々は Ca^{2+} シグナル不全に寄与する T 管構造の破綻を引き起こす分子メカニズムの解明を目的として STZ 誘発 1 型糖尿病モデルマウスの解析を行った。STZ 投与 4 週後のマウスは左室駆出率は保たれていたものの左室拡張機能が低下していた。Dyad 構造分子の発現を解析したところ, STZ マウス心室では Jph2 の発現レベルがコントロールマウスに比べ有意に低下していた。T 管膜と筋小胞体膜の接合膜構造への蛋白局在を検証したところ，コントロールマウス心室筋細胞では Jph2 と Cav1.2 が高度に集積していたのに対し，STZ マウスでは集積性が低下し接合膜構造以外に散在していた。Jph2 と Cav1.2 の集積はインスリン投与によりコントロールマウスと同等レベルまで回復した。以上の結果から糖尿病性心筋では, 早期から Jph2 発現低下に伴う dyad 構造の破綻と Ca^{2+} シグナル分子の局在異常が生じることを明らかにした。さらに STZ マウス心室筋細胞の T 管膜と dyad 構造の維持におけるインスリン-PI3K/Akt シグナル経路の役割について考察した。

（20）心筋細胞増殖制御の新規標的としての核酸代謝

齋藤祐一，木村　航（理化学研究所 生命機能科学研究センター 心臓再生研究チーム）

成体哺乳類の心筋細胞はそのほとんどが増殖を停止しており，再生能力を持たない。マウスにおいては出生後数日程度で多くの心筋細胞が増殖を停止し，増殖の停止に伴って再生能力も喪失する。このような背景から，新生児期の心筋細胞増殖停止を制御する分子機構の解明は，成体における心筋再生誘導のための重要な知見となりうる。本研究において，われわれは心筋増殖が停止する前後の新生児マウスの心臓において，メタボロームとトランスクリプトームの統合比較解析を行うことにより，出生後の心臓で核酸代謝の急激な活性化が起こっていることを見出した。さらに，新生児マウスにおいて，出生後から薬剤を用いて核酸代謝を阻害すると，心筋細胞の酸化的 DNA 損傷が減少するとともに，心筋細胞の増殖期間が延長した。核酸代謝の阻害は，新生児マウスから単離した初代培養心筋細胞においても心筋増殖を促進し，心筋細胞における核酸代謝が増殖制御に重要であることが示された。これらの発見は核酸代謝が出生後の心筋増殖停止制御に関与する新規標的経路となりうることを示唆するものである。

（21）ムラサキイガイの循環動態の解析：Constant-Volume 仮説の検証

瀬尾芳輝[1]，瀬尾絵理子[2]（[1]生理学研究所 細胞構造研究部門，[2]海洋生物環境研究所 中央研究所）

閉鎖循環系の理解のために，開放循環系について二枚貝のムラサキイガイ（*Mytilus galloprovincialis*）をモデル動物として研究を行ってきた。安静状態のムラサキイガイの心拍動は，整脈，徐脈，不整脈，心停止（最長 2−3 時間）と脈絡なく変化することが知られている。Constant-volume (CV) 仮説により，これら多彩な心拍動が説明可能とされてきた。しかし，CV 仮説は部分的にしか実証されていないので，MRI，IR プレチスモグラフィー，HE 組織切片を用い，CV 仮説を検証した。23℃海水中における，整脈状態での心周期は約 1 Hz で，心体積は一定であった。拡張末期心室容積，収縮末期心室容積，１回拍出量は，各々心体積の 50 %，21 %，29 %であった。心房容積は収縮末期に 22 %，拡張末期に 12 %であった。従って，囲心腔容積は心周期中に 18 %変動した。鰓血管や心房内の血リンパは心室収縮時にパルス状に流れ，平均流速は約 10 mm/s であった。CV 仮説は，１）心周期を通して，心臓の全体積は一定である。２）心室の収縮は，大動脈への駆出だけで無く，囲心腔の内圧を低下させる。３）結果として，心房の内圧が低下し，静脈還流量を増加させる，と言うものであるが，本実験から，上記に加え，４）収縮期に心房から囲心腔へと血リンパが濾過される。５）拡張期に囲心腔から腎臓へと血液が駆出される，ことが判明した。

（22）ラットおよびヒト iPS 細胞由来心筋細胞に対するタバコ煙抽出液（従来式および加熱式タバコ）の影響

安田純平[1]，松村早季子[1]，納富拓也[1]，陳　以珊[1]，堀之内孝広[2]，西谷（中村）友重[1]
（[1]和歌山県立医科大学 医学部 薬理学講座，
[2]北海道大学 大学院医学研究院 薬理学分野 細胞薬理学教室）

喫煙は循環器疾患のリスク因子であるが，喫煙物質が心筋細胞の収縮や拍動数に及ぼす直接的な影響については不明な点が多い。また近年，日本で使用が増加している加熱式タバコの喫煙が生体に及ぼす影響に関してはほとんど検討されていない。本研究ではラット心筋細胞（培養および急性単離）およびヒト iPS 細胞由来培養心筋細胞を使用して，細胞生存率，自動拍動数，収縮率および細胞内 Ca^{2+} 動態に及ぼすタバコ煙抽出液（CSE）の影響を従来の紙巻きタバコと加熱式タバコで比較検討した。紙巻きタバコの銘柄は Hi-Lite および試験用タバコ，加熱式タバコは Ploom X および IQOS を使用した。培養心筋細胞に各種 CSE を添加すると，紙巻きタバコ＞加熱式タバコの順で細胞生存性が低下した。一方，自動拍動数は紙巻きタバコのみ有意に減少した。急性単離心筋細胞への各種 CSE 処置により収縮率が低下した。また Fluo-8 を用いた細胞内 Ca^{2+} 測光では，紙巻きタバコにより細胞内 Ca^{2+} 動態に異常が認められ Ca^{2+} リークも生じた。以上の結果から，紙巻きタバコは心筋細胞の心拍数を減少させ，さらに細胞内 Ca^{2+} 動態を変化させて収縮機能を減弱させることが分かった。それに対して加熱式タバコは紙巻きタバコよりも程度は低いものの心筋障害作用を有しており，喫煙には注意が必要であることが明らかとなった。

（23）Oxidative glutathione rescues Drp1 depolysulfidation-mediated mitochondrial hyperfission and cardiacvulnerability by electrophilic glutathionylation at Cys624

Xiaokang Tang[1,2]，西村明幸[2]，西田基宏[2,3]
（[1]総合研究大学院大学 生命科学研究科
[2]生理学研究所 心循環シグナル研究部門，[3]九州大学 生理学分野）

Mitochondria hyperfission caused by (pseudo) hypoxic stress is attracted attention as a new therapeutic target for chronic heart failure. Exposure to environmental electrophiles such as cigarette sidestream smoke (CSS) causes pseudohypoxia-like mitochondrial hyperfission through activating dynamin-related protein 1 (Drp1), leading to premature senescence of cardiomyocytes. Our group has previously reported that depolysulfidation of Drp1 at Cys624 triggers Drp1-mediated mitochondrial hyperfission in hearts. Therefore, we investigated whether electrophilic bulkination of Cys624 cancels pseudohypoxia-induced mitochondrial hyperfission and myocardial senescence in rodent hearts. Neonatal rat cardiomyocytes (NRCMs) were treated with CSS-containing medium with or without pre-incubation of oxidative glutathione (GSSG). Sulfide dynamics were assessed by confocal imaging using two fluorescent probes. Exposure of NRCM to low-dose CSS reduced intracellular polysulfide and increased H_2S production, mimicking the pseudohypoxic stress. Similar sulfide dynamic changes were observed in post-MI mouse hearts. Recombinant Drp1 protein bound with GSSG or GSNO, but not GSH. Drp1 glutathionylation was increased in GSSG-infused mouse hearts. To investigate whether GSSG improves myocardial dysfunction after myocardial infarction (MI), GSSG was administrated to MI-model mice and cardiac functions were monitored weekly using echocardiography and cardiac cell senescence was evaluated by senescence-associated β-galactosidase activity. GSSG treatment improved chronic heart failure, reducing myocardial hypertrophy, senescence and mitochondrial hyperfission after MI. These findings suggest the therapeutic potential of GSSG for the treatment of ischemic heart disease.

（24）敗血症による心臓活動電位の異常に対する心筋 I_{Ks} チャネルの役割

服部希海[1]，野間口財[1]，児玉昌美[2]，渡邉泰秀[1]，坂本多穂[1]，黒川洵子[1]
（[1]静岡県立大 薬学部 生体情報分子解析学分野，[2]順天堂大学 医学部 薬理学教室）

敗血症の急性症状の一つとして，心室再分極異常が生じる。しかしながら，その分子機構は依然として不明である。そこで，私たちは急性炎症時に上昇する Ca^{2+}，NO，cAMP により活性化調節を受ける緩徐活性型遅延整流性カリウム（I_{Ks}）チャネルの役割に着目した。マウスでは，I_{Ks} チャネル機能が欠損している。そこで，ヒト I_{Ks} チャネルを心臓特異的に発現させた遺伝子改変（I_{Ks}-Tg）マウスを用いて，敗血症病態における I_{Ks} チャネルの役割を検討した。敗血症は，糞便懸濁液（CS）を腹腔内投与して発症させ，全身症状および心室活動電位を野生型と比較検討した。

結果，I_{Ks}-Tg マウスは，野生型に比べて，急性期敗血症ショックによる死亡率およびスコアが減少した。また，野生型では CS 処置（２４時間）により再分極が顕著に遅延したが，I_{Ks}-Tg マウスではまったく変化しなかった（各 N = 3）。以上，心筋 I_{Ks} チャネルが，敗血症病態に対して保護的に作用したことから，炎症による心筋再分極異常に対する代償機構に関連することが示唆された。

（25）心筋細胞におけるミトコンドリア Na^+-Ca^{2+} 交換輸送体 NCLX と筋小胞体 Ca^{2+} ポンプ SERCA の構造的連関とその生理的役割

竹内綾子，松岡　達（福井大学学術研究院 医学系部門 統合生理学分野）

ミトコンドリア Na^+-Ca^{2+} 交換輸送体 NCLX は, 心筋細胞や B リンパ球細胞など様々な細胞に発現し，ミトコンドリアから筋小胞体・小胞体 Ca^{2+} ポンプ SERCA に Ca^{2+} を供給することで，細胞機能制御に関わる。しかし，NCLX と SERCA の細胞内位置関係は不明であった。本研究では，心筋細胞における NCLX と SERCA の構造的連関およびその役割を明らかにするために，マウス心室筋細胞および培養心筋細胞 HL-1 を用いた構造的・機能的解析と数理モデル解析を行った。HEK293 細胞を用いた二分子蛍光相補アッセイから，外から導入した NCLX と 4 種類の SERCA アイソフォームが近傍に局在することを確認した。単離心筋ミトコンドリアを用いた免疫染色では，内因性 NCLX 由来のシグナルが，ミトコンドリアに付着した筋小胞体上の SERCA2 やリアノジン受容体 RyR 由来のシグナルと重複していた。さらに，単離心室筋細胞を用いた超解像イメージング解析から，内因性の NCLX が RyR より SERCA2 の近傍に局在することが明らかとなった。数理モデル解析により，NCLX-SERCA の構造的連関の生理的役割を調べたところ, HL-1 細胞実験で得られたカフェイン添加による筋小胞体 Ca^{2+} 動態変動を再現するには, NCLX-SERCA の強固な共役の仮定が必須であることが示された。

（26）新規選択的 TRPC3/6 チャネル阻害剤によるラット PAN-誘導性蛋白尿の改善

坂口怜子[1]，松田由宗[1,2]，岡田　亮[3]，永田　龍[4]，森　誠之[1]
（[1]産業医科大学医学部生体物質化学，[2]北九州市立大学国際環境工学
[3]産業医科大学産業保健学部人間情報科学，[4]大阪大学薬学研究科）

ネフローゼ症候群は，濾過機能を担う腎糸球体上皮細胞（ポドサイト）の損傷による，蛋白尿と血中アルブミン濃度低下を呈する病態である。ステロイド抵抗性難治性ネフローゼ症候群の代表的病変，巣状分節性糸球体硬化症（FSGS）の原因遺伝子として，TRPC6 が知られている。我々は TRPC6 の Ca^{2+} 依存的不活性化欠損による機能亢進が，Ca^{2+} シグナル異常を引き起こし，ポドサイト細胞骨格損傷に関わることを報告した（Polat *et al,JASN*,2019）。このため，TRPC6 阻害はポドサイト保護作用があると考えられる。一方，TRPC6 欠損動物では，類似機能を持つ TRPC3 の発現亢進が報告されている。以上の知見から，TRPC3 と TRPC6 の両方を阻害することが，腎機能，ネフローゼ症候群の改善に有効であることが期待される。そこで本研究では，新規選択的 TRPC3/6 チャネル阻害剤（L862）を開発し，ピューロマイシンアミノヌクレオシド(PAN)誘導性のネフローゼモデルラットにて作用を検討した。阻害剤投与群は，非投与群と比較して有意に蛋白尿改善が見られた（$p<0.043$，$n=11$）。同時に, 病理組織学的にも病変改善が確認できた。一方，正常ラットに阻害剤を投与しても顕著な毒性や副作用は見られなかった。以上の結果から，蛋白尿阻害，ネフローゼ症候群治療薬としての TRPC3/6 同時阻害の有用性が示された。

（27）マウス，ラット，ヒトの心臓トランスクリプトームの比較研究

岡本洋介[1]，岡田大瑚[2]，小林大礎[1]，石井邦明[3]，尾野恭一[1]
（[1]秋田大学大学院 医学系研究科 細胞生理学講座
[2]京都大学大学院 医学研究科付属ゲノム医学センター，[3]山形大学 医学部 薬理学講座）

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

（28）インスリン分泌小胞の動態に関する解析

大島大輔，三上義礼，冨田太一郎，赤羽悟美（東邦大学 医学部 生理学講座 統合生理学分野）

膵 β 細胞のインスリン分泌には，電位依存性カルシウムチャネル（VDCC）を介したカルシウムシグナルが不可欠である。過剰なカルシウムシグナルはインスリン分泌を抑制するとされており，適切なインスリン分泌にはカルシウムシグナルの精緻な調節機構が必要である。本研究はカルシウムシグナルとインスリン分泌の関係を明らかにすることを目的として，インスリン分泌顆粒の動態を解析した。まず，mCherry 標識インスリンとカルシウムインジケーターGCamp7 を安定発現する MIN6 細胞株を作製した。高グルコース（25 mM）で細胞を刺激し，カルシウムシグナルとインスリン分泌を誘導した。全反射蛍光顕微鏡（TIRF）を用いてタイムラプスイメージングの画像を取得し，細胞膜直下のインスリン分泌顆粒の挙動をトラッキングした。インスリン分泌顆粒を検出・追跡するための新しいアプローチとしてイメージングデータの解析には機械学習アルゴリズムを用いた。その結果，インスリン分泌顆粒のカルシウム依存的な動態に新たな特徴量を見出した。以上より，本研究で構築したカルシウムシグナルとインスリン分泌顆粒動態の解析手法は，インスリン分泌調節機構の解明および薬効評価に有用であると考えられる。

（29）心腎循環における性差解明に向けた腎臓膜輸送体の網羅的性差解析

清水聡史[1,2]，Pornparn Kongpracha[2]，杉本早穂[1]，水野　葵[1]，宮坂政紀[2]，Pattama Wiriyasermkul[2]，
坂本多穂[1]，中井雄治[3]，永森収志[2]，黒川洵子[1]
（[1]静岡県立大学 薬学部 生体情報分子解析学分野，
[2]東京慈恵会医科大学 医学部 臨床検査医学講座・SI 医学応用研究センター
[3]弘前大学 地域戦略研究所 食料科学研究部門）

腎臓は血液の恒常性を担う組織として知られており，尿を産生する過程では膜輸送体が重要な役割を担う。心臓と腎臓は密接な関係があり，腎臓の膜輸送体である SGLT2 をターゲットとした糖尿病薬は心臓にも治療効果がある。腎臓の膜輸送体の一部では性ホルモンにより，発現量が変化することも報告されており，網羅的に性差を解析することは重要な知見をもたらす。そこで本研究では性ホルモン・性染色体を区別して性差を比較できる Four core genotypes (FCG) マウスを用い，腎臓刷子縁膜上の膜タンパク質について膜プロテオミクスとトランスクリプトミクスを行い，網羅的に解析した。FCG マウスの腎臓刷子縁膜から膜タンパク質試料を調製し，nano LC-MS/MS (Thermo Q-Exactive) を用いて質量分析することで約 5000 分子のタンパク質を同定し，約 1500 の性差による変動分子を見出した。また，RNA の抽出を行いマイクロアレイ解析にて発現変動遺伝子解析を行ったところ，タンパク質レベルでは変化しているものの，転写レベルでは変化しない遺伝子も多く発見された。さらにパスウェイ検索により性ホルモン，性染色体由来の性差形成分子，それらのタンパク質が重要な生理的役割を持つ複数のパスウェイを明らかにした。

（30）Involvement of reactive sulfur species in myocardial vulnerability of CARS2 $^{(+/-)}$ mouse hearts

Xinya Mi[1]，Kakeru Shimoda[1,2]，Kazuhiro Nishiyama[1]，Yuri Kato[1]，Akiyuki Nishimura[2]，Motohiro Nishida[1,2]
（[1] Graduate School of Pharmaceutical Sciences，Kyushu University，[2] National Institute for Physiological Sciences and Exploratory Research Center on Life and Living Systems, National Institutes of Natural Sciences）

Reactive sulfur species (RSS), formed by catenated sulfur atoms, have been attracted attention as a true redox-active biomolecule in the human body. In hearts, mitochondria-localized cysteinyl-tRNA synthetase (CARS2) is a major RSS producing enzyme and is involved in mitochondrial biogenesis and bioenergetics by producing Cys-SSH. We here investigated whether reduced expression of CARS2 causes cardiac vulnerability to ischemia/reperfusion (I/R) injury in mice. The basal mitochondrial membrane potential was depolarized, and intracellular RSS level was reduced in left ventricular myocytes isolated from CARS2$^{(+/-)}$ mice. Reductions of myocardial RSS level and contractility were exacerbated after reperfusion in CARS2$^{(+/-)}$ mice. The CARS2 knockdown promoted RSS decline and mitochondrial hyperfission in neonatal rat cardiomyocytes under hypoxic condition. Thus, CARS2-derived RSS may contribute to maintaining myocardial ischemic stress resistance by controlling mitochondrial quality.

（31）体格の小型化は心電図指標にいかなる変化をもたらすか：「マイクロミニピッグ」および「ミニブタ」での検討

後藤　愛[1]，神林隆一[1]，斉藤裕之[2]，秋江靖樹[2]，武井義則[1]，松本明郎[3]，中瀬古（泉）寛子[1]，杉山　篤[1,3]
（[1]東邦大学 医学部 薬理学講座，[2]シミックファーマサイエンス㈱
[3]東邦大学 医学部 加齢薬理学講座）

【背景・目的】ブタは実験動物として小型化が進められ，1960 年代に体重 100 kg 以下の「ミニブタ」系統が樹立された。2000 年代には更なる小型化を目指した交配が進められ，ビーグル犬と同程度の体重約 10 kg で取り扱いが容易な超小型ミニブタ「マイクロミニピッグ（μMP）」が樹立された。本研究では体格の小型化が体表面心電図指標にもたらす影響を μMP とミニブタで検討した。【方法・結果】μMP（10.8 kg，9.5 ヶ月齢，n=10，雄雌各 5）およびクラウン系ミニブタ（20.3 kg，8.5 ヶ月齢，n=8，雌）にホルター心電計を装着し，無麻酔下で体表面心電図を 24 時間記録し，3 時間間隔で心電図指標を計測した。μMP の PR 間隔および QRS 幅は，ミニブタよりも短縮していたが，JTcF および QTcF には両者間に有意な差を認めなかった。24 時間の平均 PR 間隔，QRS 幅，JTcF および QTcF は，μMP では 88 ms，50 ms，295 および 349，ミニブタでは 118 ms，64 ms，279 および 353 であった。μMP のミニブタに対する PR 間隔，QRS 幅および体重 3 乗根の比はいずれも 0.8 であった。【考察】心重量体重比は μMP とミニブタ間では類似すると考えられているので，房室伝導および心室内伝導時間の差異は主に心臓の大きさに依存し，心室再分極時間は心室筋活動電位持続時間で規定されると考えられた。

（32）インターロイキン-6/gp130 経路による出生後心筋細胞の分裂制御と心臓の機能的発達における意義

川岸裕幸[1,2]，中田　勉[3]，冨田（沼賀）拓郎[2]，山田充彦[2]
（[1]信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所バイオテクノロジー部門
[2]信州大学医学部分子薬理学教室，[3]信州大学基盤研究支援センター機器分析支援部門）

哺乳類の心筋細胞は出生後，離乳期までにその表現型が劇的に変化する。近年ではマウスの心筋細胞は出生後も一定回数分裂することも明らかになっている。しかし，その制御メカニズムについては完全には解明されておらず，特に心臓の発達における生理的な意義については不明な点が多い。我々は，細胞の生存や分裂に重要な細胞膜受容体 gp130 に焦点を当て，心筋細胞の表現型変化におけるその役割について研究を行った。gp130 を薬理学的，遺伝学的に阻害すると，離乳期のマウスにおいて顕著な左心室収縮率の低下が生じることを見出した。それらのマウスの心筋細胞の表現型を解析したところ，左心室の心筋細胞の分裂が有意に低下しており，左心室内心筋細胞の総数が減少していることが判明した。一方，心筋細胞の収縮に重要な興奮収縮連関やサルコメアタンパク質，ミトコンドリアの形態については大きな異常を認めなかった。gp130 のリガンドはインターロイキン-6（IL-6）ファミリーというサイトカイン群である。そこで，それらリガンドの心筋細胞分裂における作用を検討したところ，IL-6 が，JAK-STAT3 経路を介して，最も強く心筋細胞の分裂を誘導した。以上の結果から，IL-6/gp130/JAK-STAT3 経路は，出生後の心筋細胞の分裂を正に制御しており，心臓の正常な機能発達に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

（33）交感神経除神経が新生児・乳児期心臓発達に与える影響の解析

冨田拓郎，川岸裕幸，中田　勉，山田充彦（信州大学医学部分子薬理学教室）

交感神経は，全身の循環動態の恒常性維持に重要な役割を果たす。マウスやヒトでは交感神経は胎児期には心臓基部までしか到達しておらず，心室支配は出産後から離乳期（生下後約 20 日（P20））までの間に完了する。しかしながら，この交感神経の心臓支配と心臓発達との因果関係はほとんど明らかにされていなかった。本研究では，生下後 1 日の新生児マウスに 6-hydroxydopamine（6-OHDA）を投与することにより交感神経を除神経し，心臓への影響を解析した。心エコー解析から，P21 における心室の収縮力が 6-OHDA 投与により有意に抑制されることが明らかになった。単離心筋細胞を用いた電気生理学的解析から，電位依存性 L 型カルシウムチャネル活性は，6-OHDA 投与による影響が見られなかったが，6-OHDA が投与された細胞においては，有意な細胞膜容量の低下が観察された。そこで，生細胞の蛍光染色により細胞膜構造の解析を行った。その結果，6-OHDA は心筋細胞全体の大きさには影響を与えず，心筋細胞内の T 管構造の発達を抑制していた。さらに，冠血管発達のマーカーとなる□-SMA の発現が 6-OHDA 投与マウスにおいて抑制されていた。以上の結果から，交感神経支配は，心臓の離乳期までの発達において，心筋細胞の構造的成熟および冠血管発達に重要な役割を果たしていることが示唆された。

（34）TRPC6 チャネルを介した Zn^{2+} 流入による圧受容反射応答制御機構の解明

西山和宏[1]，大久保礼真[1]，小田紗矢香[2]，西村明幸[3]，加藤百合[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]九大院・薬，[2]総研大・生理科学，[3]自然科学研究機構・生理研）

交感神経刺激を介した心機能の増強は，全身の血液循環恒常性を維持するうえで極めて重要な役割を担っている。アドレナリン受容体（AR）は交感神経刺激応答を司る G タンパク質共役型受容体（GPCR）であり，心臓のポンプ機能亢進を司る GPCR として注目されている。当研究室は, Gq タンパク質型共役型の α アドレナリン受容体（αAR）刺激によって活性化される TRPC6 チャネルの活性化が β アドレナリン受容体（βAR）の脱感作を抑制し，マウス・ラットの心筋収縮応答を増強させることを最近明らかにした。マウス心臓および初代培養心筋細胞を用いて，一過性の血圧低下に対する心臓の圧受容反射応答に TRPC6 チャネルを介した Zn^{2+} 流入が関与するかどうか検討を行った。TRPC6 欠損マウスおよび TRPC6 阻害薬処置マウスでは，ヒドララジン（降圧薬）誘発性の心機能増強のうち，収縮力（陽性変力作用）のみが低下していた。一方，薬理学的に TRPC6 チャネルを活性化させることで心筋細胞内 Zn^{2+} 濃度が増加し，陽性変力作用も増強することが明らかとなった。以上より，TRPC6 チャネルを介する Zn^{2+} 流入が心筋の陽性変力作用を正に制御することが初めて明らかにされた。

10. 食欲・食嗜好を形成する感覚・内分泌・神経基盤研究会 2022
（食欲･食嗜好研究会）

2022 年 10 月 1 日

代表・岩崎有作（京都府立大学・大学院生命環境科学研究科）
所内対応者：箕越靖彦（生理学研究所）

（１）Regulation of glucoprivation-induced carbohydrate selection by NPY-CRH neural axis in the paraventricular nucleus of the hypothalamus

Rattanajearakul Nawarat（NIPS，生理学研究所）

（２）視床下部背内側核のプロダイノルフィン神経による食欲抑制作用

戸田知得（北海道大学）

（３）視床下部室傍核ドーパミンニューロンの摂食行動における役割

河野大輔（群馬大学）

（４）FGF21 分泌を誘導する食品は飲酒欲求を制御する

松居　翔（京都大学）

（５）Rare Sugar Modulation on Hepatic FGF21 Expression Controls Weight Gain in C57BL/6 Mice Fed with High-Fat High-Sucrose Diet (HFHSD)

Efendi Oulan G.H.N.B（Kyoto University）

（６）インポーチン α3（Kpna3）欠損マウスのスクロース報酬に対する動機づけ上昇とその脳内ネットワーク

青峰良淳（大阪大学）

（７）ショウジョウバエにおける循環フルクトースによる腸内分泌細胞からのホルモン分泌制御

丹羽隆介（筑波大学）

（８）低栄養による性成熟阻害の神経基盤

宮道和成（理化学研究所）

（９）脂肪利用の概日リズムを制御する視床下部神経細胞

近藤邦生（生理学研究所）

(10) 匂いに対する誘引行動の代謝シグナルによる調節機構

モハメッド・モンジュルル・アハサン（高知大学）

(11) 匂いの行動学習を担う嗅皮質の神経回路可塑性機構

エムディ ファズリ ラッビシャ（高知大学）

(12) かつおだし嗜好性増加に寄与する成分の探索

近藤高史（近畿大学）

(13) 飲料の苦味および飲用習慣が視覚探索課題の遂行に及ぼす影響

池田　維（京都府立大学）

(14) ビタミン C 欠乏は茸状乳頭味細胞における酸味受容体の mRNA 発現と酸味溶液に対する短時間摂取行動に影響するのか？

安尾敏明（朝日大学）

(15) Rybelsus at human clinical doses reduces food intake and body weight in diet-induced obese mice.

Yermek Rakhat（Kansai Electric Power Medical Research Institute）

(16) 食事性 GABA は食後求心性迷走神経活性化と飽満感を増強する

能美太一（京都府立大学）

（17）TRPA1 アゴニスト摂取による摂食亢進作用とその作用機序

豊岡真悠（京都府立大学）

【参加者名】

青峰良淳（大阪大学），荒川実穂（㈱ゼンショーホールディングス），五百蔵葉月（京都大学），池田花菜（東京海洋大学），池田　維（京都府立大学），池田弘子（星薬科大学），石川恵子（京都大学大学院），射場拳虎（京都府立大学），岩崎有作（京都府立大学），Winda Ariyani（群馬大学生体調節研究所），上田修平（名古屋大学），上原優子（生理学研究所），Udomsom Nirin（㈱ゼンショーホールディングス），江口紗也香（奈良女子大学大学院），EFENDI Oulan Gustav Hakim Nata Buana（京都大学），Md. Fazley Rabbi Sha（高知大学），大栗弾宏（サントリー食品インターナショナル㈱），大野雅貴（マルハニチロ㈱），大林健人（京都府立大学），岡田紫苑（京都大学大学院），岡松順子（味の素㈱），小澤貴明（大阪大学），鴨井享宏（ハウス食品グループ本社㈱），菊池真和（㈱ロッテ），北野里佳（京都府立大学），北原吉朗（農研機構），京美晴（京都府立大学），河野大輔（群馬大学），小杉夏実（奈良女子大学大学院），小山博之（名古屋市立大学大学院），近藤高史（近畿大学），近藤邦生（生理学研究所），嵯峨根里穂（㈱ファーマフーズ），酒寄信幸（広島大学），硲　哲崇（朝日大学），佐々木　　努（京都大学），佐藤優衣（大阪府立大学），志内哲也（徳島大学），芝崎真裕（星薬科大学），清水愼太郎（ハウス食品㈱），須山成朝（慶應義塾大学），高橋侑真（京都大学大学院），鷹股　亮（奈良女子大学），竹隈幸洋（ハウス食品グループ本社㈱），竹澤李奈（京都大学大学院），武田　理（名古屋大学），田髙悠晟（早稲田大学），田中　都（名古屋大学），田中まゆひ（東京大学大学院），塚本麻衣（京都大学），柘植杏菜（ライオン ㈱），戸田知得（北海道大学），豊岡真悠（京都府立大学），豊原良和（高砂香料工業（㈱），中木直子（京都光華女子大学），長阪玲子（東京海洋大学），中島健一朗（生理学研究所），中辻幸奈（ライオン㈱），新田貴大（ハウス食品グループ本社㈱），丹羽隆介（筑波大学），能美太一（京都府立大学），野尻健介（長谷川香料㈱），平田康朗（医療法人社団 珠泉会），傅　欧（中国 江南大学），深澤朋子（早稲田大学），藤川哲兵（UT Southwestern Medical Center），藤田真由（静岡大学），藤平杏子（東京工業大学），堀尾修平（生理学研究所），増田雄太（京都府立大学），増田貴宏（アサヒクオリティーアンドイノベーションズ㈱），松居　翔（京都大学），松原斎樹（京都府立大学），松本貴之（日本ハム㈱），丸山世倫（京都大学大学院），溝口博之（名古屋大学），箕越靖彦（生理学研究所），宮道和成（理研・生命機能科学研究センター），Md Monjurul Ahasan（高知大学），森　基（京都大学），森岡修平（京都大学大学院），森下紗帆（常葉大学），森本恵子（京都光華女子大学），安尾敏明（朝日大学），矢田俊彦（関西電力医学研究所統合生理学研究センター），矢野（梨本）沙織（北海道大学），山口正洋（高知大学），山田真実（京都大学大学院），吉川千遥（群馬大学生体調節研究所），吉田健人（京都大学大学院），吉野朱香（静岡大学大学院），Rattanajearakul Nawarat（生理学研究所），Rakhat Yermek（岐阜大学），力武江梨佳（京都大学）

【概要】

「食欲・食嗜好」をテーマに，多分野からの研究者を集めた学際的な研究会として，食欲・食嗜好を形成する感覚・内分泌・神経基盤研究会 2022 が 10/1（土） に zoom によるオンラインで開催された。本研究会は前身である「食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会」から数えて第 7 回目の開催となった。今年度も残念ながら新型コロナウイルス対策のためにオンサイトでの開催を断念し，オンラインのみの開催とした。しかし，例年通りの規模の参加者が集り（約 110 名。内訳はアカデミアで約 55 名，企業（産業界）で約 20 名，学生が約 35 名），unpublished data を中心とした 17 演題に対して様々な観点から議論を行った。

活発な議論ができるオンライン研究会とするために，２種類の口頭発表方法を準備した。まとまった研究発表として Oral 発表（発表 20 分 + 質疑 15 分，５演題）に加え，新規性の高いコンパクトな報告としての Short talk（発表 8 分 + 質疑 7 分，12 演題）を実施した。Oral 発表後の議論では学術領域の枠を超えた新しい視点のディスカッションがなされ，また，short talk 後の議論では早期段階の研究に対する建設的なディスカッション

も印象的であった。本研究会は５つのセクションに分けて実施し，各セクション後に参加者間が自由で活発な議論ができるよう，発表の間の休憩時間を長く取り，Web 上の交流ができる談話室（Spatial Chat）を解放した。この方法は好評であり，オンライン開催の時は有効に今後も活用していきたい。

本会は，質・量ともに学術領域の学際化と変革を担う研究会に発展してきた。食欲・食嗜好性にかかわる科学は生活科学，農学，医学，薬学，心理学，社会学など多くの学問分野をまたぐ研究分野であり，今後ますます学問交流が進む研究領域である。来年度も，研究会と学術領域を発展させるために，改善策を準備したい。

（１）Regulation of glucoprivation-induced carbohydrate selection by NPY-CRH neural axis in the paraventricular nucleus of the hypothalamus

Rattanajearakul Nawarat[1,2]，Nakajima Ken-ichiro[1,2],Minokoshi Yasuhiko[1,2]
（[1]Division of Endocrinology and Metabolism, National Institute for Physiological Sciences
[2]The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI) ）

Our lab previously reported the essential role of a subset of corticotropinreleasing hormone (CRH) neurons expressing fasting-responsive AMP-activated protein kinase (AMPK) in the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVH) in a high carbohydrate diet (HCD) selection over a high fat diet (HFD) during refeeding after fasting. Here, we investigated the role of neuropeptide Y (NPY) - CRH neural axis in the PVH in 2-deoxy-D-glucose (2-DG)-induced change in food selection in mice. Two-diet choice experiment revealed that intraperitoneal (IP) injection of 2-DG increased HCD intake while it decreased HFD intake. Intracerebroventricular (ICV) or intra-PVH NPY injection increased HCD intake along with a slow increase in HFD intake. Chemogenetic inhibition of PVH CRH neurons suppressed both 2DG and NPY-induced HCD intake but not HFD intake. Intra-PVH injection of antagonists for Y1R and Y5R blocked 2-DG-induced HCD intake preferentially. AMPK knockdown in PVH CRH neurons also suppressed both 2-DG and NPY-induced HCD intake but not HFD intake. By contrast, PVH injection of melanocortin-4 receptor (MC4R) agonist, Melanotan II (MTII), inhibited HFD intake but not HCD intake after the intra-PVH NPY injection. 2-DG activated PVH-projecting NPY neurons in several brain areas including the nucleus tractus solitarius (NTS). Optogenetic activation of PVH-projecting NPY neurons in the NTS increased c-fos expression in the PVH and increased HCD intake along with a slow increase in HFD intake. Collectively, these suggest that NPY-CRH neural axis in the PVH is necessary for 2-DG-induced HCD selection.

（２）視床下部背内側核のプロダイノルフィン神経による食欲抑制作用

戸田知得（北海道大学 大学院獣医学研究院 生化学教室）

視床下部には食欲に関わる様々な神経伝達因子や神経回路が存在する。しかし，生理的な条件で食欲を調節する神経が十分に解明されているとは言えない。本研究では食事中あるいは食後に活性化している神経を直接調べるために，活性化した神経細胞を蛍光タンパク質で標識し，その細胞の機能解明を行った。

活性化した神経に発現することが知られる遺伝子(Arg3.1)によってタモキシフェン誘導性に Cre を活性化する Arg3.1-Cre/ERT2:Ai14 マウスでは，タモキシフェンを投与した時点で活性化している神経細胞に蛍光タンパク質が発現する。このマウスを一晩絶食した後に餌を与え，0，0.5，1，2 時間後にタモキシフェンを投与した。脳切片を観察すると，絶食群に比べ 1 時間後に視床下部背内側核で蛍光タンパク質を発現する神経が有意に増加した。化学遺伝学的手法（DREADD）を用いて人工的にこの神経を活性化すると摂食量が有意に減少した。ま

た，DREADD による活性化は場所嗜好性を増加し，心地よさなどポジティブな感情にも関与することが示唆された。逆に DREADD でこの神経を抑制すると摂食量が増加した。蛍光タンパク質で標識された神経細胞を採取し RNA-Seq を行うと，プロダイノルフィンおよびコレシストキニンの発現量が高かった。

以上の結果から，食事に応答して，視床下部背内側核においてプロダイノルフィンなどを発現する神経が活性化し，摂食量を低下するとともに満足感などのポジティブな感情が増加することが示唆された。

（３）視床下部室傍核ドーパミンニューロンの摂食行動における役割

河野大輔[1]，アリヤニ ウィンダ[1]，常岡明加[1]，吉川千遥[1]，一瀬　宏[2]，北村忠弘[1]
（[1]群馬大学生体調節研究所代謝シグナル解析分野，[2]東京工業大学生命理工学院）

我々は，視床下部のエピジェネティクスに焦点を当てて研究を進めているが，視床下部室傍核において，ドーパミン合成の律速酵素のチロシン水酸化酵素（Th）遺伝子が DNA メチル化修飾の影響を受けやすく，また，肥満発症に関与することを示唆する結果を以前に得ている。そこで室傍核ドーパミンニューロンの摂食行動における役割を調べた。室傍核特異的 Th 欠損マウスは，24 時間絶食後の再摂食において，食事開始から少し経ってからの摂食量が減少していた。一方で，総摂食量や，脂肪やショ糖に対する嗜好性は変化していなかった。また，c-Fos 染色やファイバーフォトメトリーにより調べたところ，食事開始後に TH ニューロンが活性化していた。また，組織染色により TH ニューロンが AgRP ニューロンや POMC ニューロンの神経線維と結合していることが確認できた。また，AAV を用いて投射先を調べたところ，視床下部外の複数の神経核への投射が確認できた。これらの結果から，視床下部室傍核ドーパミンニューロンは，メラノコルチン経路により活性化されて，おもに視床下部外へ投射するニューロンであり，食事開始後にさらに食べたくさせる役割をしている可能性がある。

（４）FGF21 分泌を誘導する食品は飲酒欲求を制御する

松居　翔，森岡修平，高橋侑真，岩間大貴，小栗靖生，都築　巧，佐々木　努
（京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻栄養化学分野）

【背景】過剰飲酒は大きな社会問題である。FGF21 と OXT（oxytocin）は，飲酒欲求を抑制すると，個別に報告されている。また我々は，FGF21-OXT 系を発見し，報告した。【目的】FGF21-OXT 系が飲酒欲求を制御するのかを検証した。加えて，FGF21 誘導物質を探索し，その物質の飲酒欲求抑制効果を検証した。

【方法】OXT 神経特異的 FGF21 受容体欠損（KO）マウスを作製し，2 瓶選択試験により，飲酒欲求の指標となるアルコール嗜好性を評価した。次に野生型マウスの初代培養肝細胞に 46 種類の希少糖（25mM）を添加して，培地中の FGF21 の分泌量を測定した。FGF21 分泌を有意に促進する希少糖（5 g/kg）を野生型マウスにゾンデによる胃内投与を行い，血中 FGF21 濃度とアルコール嗜好性を評価した。

【結果】KO マウスはコントロールマウスと比較して有意に高い飲酒欲求を呈した。D-ソルビトール，D-キシリトール，D-タガトース，D-プシコースは初代培養肝細胞からの FGF21 分泌を有意に促進した。これらの希少糖の野生型マウスへの経口投与は血中 FGF21 濃度を有意に上昇させた。加えて，D-タガトース，D-プシコースの経口投与はアルコール嗜好性を低下させた。

【結論】FGF21-OXT 系は飲酒欲求を制御する。同系を刺激する希少糖D-タガトースおよびD-プシコースは，飲酒欲求を抑制する効果を示す。

（５）Rare Sugar Modulation on Hepatic FGF21 Expression Controls Weight Gain in C57BL/6 Mice Fed with High-Fat High-Sucrose Diet (HFHSD)

EFENDI Oulan G.H.N.B，Sho MATSUI，Yasuo OGURI，Satoshi TSUZUKI，Tsutomu SASAKI
（Division of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University）

Excessive intake of high-fat high-sucrose diet (HFHSD) promotes obesity and impairs glucose control. At the same time, sucrose could activate intake limitation by a negative feedback signaling (liver-brain axis), consisted of hepatic fibroblast growth factor 21 (FGF21) and hypothalamic oxytocin neurons. This activation could be alternatively activated by low-calorie ingredients, such as rare sugars. Their sweetness is comparable to simple sugar, making them suitable in the dietary intervention for obesity.

Here, we screened approximately 50 rare sugars using primary mouse hepatocytes, and identified D-tagatose, D-allulose, and D-sorbitol as FGF21 inducers. Oral administration of these sugars increased plasma FGF21 level in C57BL/6 mice, further confirming their potential in activating liver-brain axis. *Ad libitum* supplementation of 400 mM sugar solution as a drink for one month, reduced caloric intake and slowed down the weight gain significantly, compared to control group. Improvement of glucose tolerance and insulin sensitivity, as well as smaller adipocytes size were also observed. Among the sugars, D-allulose showed the most prominent effect.

Reporter assay using *Fgf21* promoter confirmed that the region at approximately -1050 bp relative to transcription start site is required by rare sugars for their modulation. The region contains interferon stimulated response element (ISRE) bound by interferon regulatory factor 5 (IRF5). Deletion and mutation of this region ablated rare sugar-induced *Fgf21* promoter activity. Taken together, our findings offer a new view on the extend of rare sugars effect in halting obesity, as well as novel unravelling of their mechanism in the negative feedback activation.

（６）インポーチン α3（*Kpna3*）欠損マウスのスクロース報酬に対する動機づけ上昇とその脳内ネットワーク

青峰良淳[1,2]，櫻井航輝[1]，Tom Macpherson[1,2]，小澤貴明[1,2]，宮本洋一[3]，米田悦啓[4]，岡　正啓[3]，疋田貴俊[1,2]
（[1]大阪大学 蛋白質研究所，[2]大阪大学 理学研究科 生物科学専攻，
[3]国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所，[4]一般財団法人 阪大微生物病研究会）

インポーチン α3（遺伝子名：*Kpna3*）は，インポーチン α ファミリーに属し，核タンパク質の核移行シグナルおよび核移行能を持つインポーチン β1 の両者と結合し，3 量体を形成することにより核-細胞質間輸送に関与している。また，ダイニンとも結合することでシナプスから核方向への軸索輸送にも関与している。現在，ヒト *KPNA3* 遺伝子の一塩基多型（SNP）は，統合失調症，大うつ病，物質依存症などの報酬関連行動の異常を伴ういくつかの精神疾患の発症に関連することが知られている。しかし，KPNA3 が報酬処理の制御に果たす正確な役割については，まだ明らかになっていない。そこで本研究では，*Kpna3* 欠損マウス（雄）の報酬関連行動を評価した。使用した試験はオペラント条件付けに基づく累進比率試験であり，報酬を得るためのオペラント反応回数が報酬を得るごとに増加する試験である。この試験では最後に得た報酬を受け取るために必要な反応数をブレイクポイントとし，1 回の報酬のためにどれだけの労力を費やすか（動機づけ）を評価することが可能である。KO マウスは野生型マウスに比べて，スクロースに対する動機づけが有意に増加した。さらに，試験後マウスの２０脳領域で神経活動の指標である c-Fos 陽性細胞数を測定し，その領域間相関係数を用いて機能的接続ネットワークを構築した。*Kpna3* 欠損は領域間の機能的接続を全体的に高めることが示唆された。また，中心性解析（ハブの特定）を行なったところ，中心性の高い領域が変化していることが明らかになった。これらの結果は，*Kpna3* が動機づけの制御に重要であることを示唆している。

（７）ショウジョウバエにおける循環フルクトースによる腸内分泌細胞からのホルモン分泌制御

星野　涼[1]，佐野浩子[2]，吉成祐人[3,4]，西村隆史[3]，丹羽隆介[4]
（[1]筑波大学 理工情報生命学術院，[2]久留米大学 分子生命科学研究所，
[3]群馬大学 生体調節研究所，[4]筑波大学 生存ダイナミクス研究センター）

本発表で我々は，ショウジョウバエにおいて，体液中のフルクトースが腸内分泌細胞からの消化管ホルモンの分泌に重要な役割を果たすことを報告する。

これまで我々は，ショウジョウバエのメスの生殖幹細胞（GSC）の増殖の調節に関与する神経内分泌システムの研究に従事してきた（Hoshino et al. *Front. Physiol.* 2021）。この研究の過程で我々は，交尾がメス GSC の増加に顕著な影響を与えること，またこの過程には交尾刺激によって腸内分泌細胞（EEC）から放出されるニューロペプチド F（NPF）が重要であることを明らかにした（Ameku & Niwa，*PLOS Genet.* 2016; Ameku et al. *PLOS Biol.* 2018; Yoshinari et al. *eLife* 2020）。一方，EEC は腸という栄養受容の場に存在することを考えると，交尾に伴う EEC からの NPF の放出には個体の栄養状態が影響を及ぼすことが容易に想定されるが，この予想はこれまで検証されてこなかった。

我々は今回，交尾に応じた EEC からの NPF の放出には，食餌中のグルコースが必須であることを明らかにした。すなわち，食餌からグルコースを除いた場合には，EEC からの NPF 放出は交尾刺激があったとしても促進されなかった。興味深いことに，交尾依存的な NPF 放出の制御において，グルコースは「ポリオール経路」と呼ばれる代謝経路を通じてフルクトースに変換されることが必須であった。これに一致して我々は，フルクトース依存的な EEC からの NPF 放出には，EEC で発現するフルクトース特異的味覚受容体 Gr43a が関与することを示した。

本研究は，EEC からの消化管ホルモンの分泌に，ポリオール経路およびフルクトース味覚受容体というこれまで注目されてこなかったシステムの関与を示すはじめての成果である。

（８）低栄養による性成熟阻害の神経基盤

後藤哲平，宮道和成
（理化学研究所生命機能学研究センター・比較コネクトミクス研究チーム）

哺乳類の雌は，食事から十分な栄養を摂取し体重が閾値を超えると性成熟を迎える。マウスにおいて，摂食制限は性成熟を阻害し，摂食制限を解除すると性成熟が回復することが知られる。しかしこの現象の背景にある神経回路基盤は十分に理解されていない。そこで我々は生殖中枢として機能する弓状核キスペプチンニューロンに特異的な Ca^{2+} イメージングを導入し，様々な食餌条件による活動動態を明らかにした。通常食の 70 %にカロリー制限された雌マウスでは正常食群と同様のキスペプチンニューロンの脈動的な活動が検出されたが，その活動頻度は有意に低かった。また食事制限を解除するとわずか 4 時間でキスペプチンニューロンの脈動的活動の頻度は正常食群と同レベルに回復した。さらに新規に作出した *Agrp-Flpo* マウスを用いて弓状核の空腹中枢 Agrp ニューロンを除去すると，食事制限群のキスペプチンニューロンの活動抑制や個体の性成熟阻害が部分的に解除されることが明らかになった。これらの結果から，キスペプチンニューロンの脈動的活動の神経基盤は食事制限下でも発達しているが，空腹時には Agrp ニューロンを介してキスペプチンニューロンの活動が抑制されていると考えられる。

（９）脂肪利用の概日リズムを制御する視床下部神経細胞

近藤邦生，箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

生物は「エネルギー恒常性」を備え，糖・脂質などエネルギー物質の産生・蓄積と消費・利用を，体内の生理状態に応じ適切に行っている。例えば，絶食などによりエネルギー摂取が無いと，体内のエネルギー消費物質は炭水化物から脂質へと変化する。また，摂食量が増える活動期では炭水化物の消費量が増加し，休息期では脂質の消費量が増加する，といったエネルギー消費物質ごとの概日リズムが存在する。

我々は，接続する神経細胞間を移動する経シナプス性ウイルストレーサーを用いて，末梢組織を制御する中枢神経細胞の網羅的同定を行ってきた。その結果，視床下部室傍核の Nos1（Nitric oxide synthase 1）を発現する神経細胞の多くがエネルギー代謝に重要な末梢組織に投射することを見出した。室傍核 Nos1 ニューロンを化学遺伝学的手法により活性化すると，脂質消費量が増加した。Nos1 ニューロンは明期に活性化し暗期に不活性化しており，Nos1 ニューロンを不活性化すると，明期において脂質代謝が抑制された。さらに，Nos1 ニューロンの活動を恒常的に抑制すると，明期に生じる脂質代謝の概日リズムが消失し，顕著な摂食量と体重の増加を示した。以上の結果から，Nos1 ニューロンが，明期（休息期）に生じる脂質の選択的代謝に関わること，そして脂質の選択的な代謝制御がエネルギー恒常性に重要であることが示された。

（10）匂いに対する誘引行動の代謝シグナルによる調節機構

モハメッド・モンジュルル・アハサン，村田芳博，谷口睦男，山口正洋
（高知大学医学部統合生理学講座）

食べ物の匂いに対する応答は空腹時と満腹時で大きく異なり，嗅覚機能は代謝状態の影響を受けることが知られている。我々は匂いに基づく誘引・忌避行動を制御するマウス嗅結節における神経調節性シグナル分子の発現を調べ，匂いの誘引行動を担う嗅結節の前内側ドメインに多くの分子が高発現していることを明らかにした。そこで摂食促進作用を持ち，この領域に高い発現を示すオレキシン受容体に着目し，この役割を薬理学的に検討した。特定の匂いとえさ報酬の連合学習を行って，匂いに誘引行動を示すマウスの嗅結節前内側ドメインにオレキシン受容体アンタゴニストを局所投与したところ，匂いに対する誘引行動が減弱し，更にこの匂いに対して忌避行動をとるようになった。一方，アンタゴニストを嗅結節の外側ドメインや側坐核に局所投与しても匂いの誘引行動に変化は見られなかった。以上のことから嗅結節前内側ドメインは代謝シグナルに応じて匂いに基づく摂食行動を制御する重要なスポット領域と考えられた。

（11）匂いの行動学習を担う嗅皮質の神経回路可塑性機構

エムディ ファズリ ラッビ シャ，古賀有里子，村田芳博，谷口睦男，山口正洋
（高知大学医学部統合生理学講座）

匂いに対する行動の多くは経験によって獲得される。マウス嗅皮質の一領域である嗅結節の前内側ドメインは匂いの誘引行動学習により活性化し，外側ドメインは匂いの忌避行動学習により活性化する。しかしなぜ学習によって嗅結節の特定ドメインが活性化するようになるかは分かっていない。嗅結節は様々な脳領域から軸索投射を受ける。嗅皮質の最大領域である梨状皮質から嗅結節への軸索投射に着目し，この軸索投射が匂い学習に

よって如何なる可塑的変化を示すかを検討した。遺伝子改変マウスとウイルスベクターを用いて梨状皮質ニューロンにチャネルロドプシン（ChR2）と赤色蛍光蛋白（mCherry）を発現させ，光刺激と共にえさを与える誘引行動学習と，光刺激と共に電気ショックを与える忌避行動学習を行った。これらのマウスの梨状皮質から嗅結節への軸索投射を組織学的に解析したところ，誘引行動学習マウスでは嗅結節前内側ドメインにおける ChR2-mCherry 陽性軸索末端が，忌避行動学習マウスでは嗅結節外側ドメインにおける ChR2-mCherry 陽性軸索末端が，特異的に大きなサイズに発達していた。光刺激のみを行ったマウスではこのような変化は観察されなかった。以上より，梨状皮質から嗅結節への軸索投射は学習に基づくドメイン特異的な可塑的変化を起こすポテンシャルを有しており，これがドメイン特異的活性化に関与している可能性が考えられた。

（12）かつおだし嗜好性増加に寄与する成分の探索

近藤高史（近畿大学農学部食品栄養学科）

ラット/マウスにおいて，かつおだしの食経験（摂取経験）があると，その後のかつおだし嗜好性が著しく増加する。しかし，どのような成分が摂取経験に基づく嗜好性増加に関与するかは不明である。そこで，本研究では，雄性 C57BL/6N マウスを用い，先行刺激として「かつおだし/再構成かつおだし/かつおだしに含まれる単一成分」のいずれかを 10 日間摂取させた後に，48 時間二瓶法（上昇濃度テスト）を用いて 0.01～100 %かつおだしに対する嗜好性を調べた。その結果，テスト期間におけるかつおだし嗜好性は，先行して摂取経験させたかつおだしの濃度に依存して増加した。かつおだしと同様の結果は，再構成だしの摂取経験によっても認められた。単一成分を用いた実験において，イノシン酸（IMP）の摂取経験はかつおだし嗜好性を有意に増加させたが，NaCl，グルタミン酸ナトリウム，ヒスチジン，乳酸，およびグルコースの摂取経験は影響しなかった。なお，IMP の作用は，かつおだし／再構成かつおだしの作用に比べると小さかった。以上の結果より，かつおだしの食経験に基づく嗜好性増加に関与するキー成分として，少なくとも IMP が寄与することが示唆された。

（13）飲料の苦味および飲用習慣が視覚探索課題の遂行に及ぼす影響

池田　維，森下正修，松原斎樹（京都府立大学）

苦味の強い飲料や飲み慣れていない飲料を飲むことが味覚以外のモダリティの処理に及ぼす影響について，視覚探索課題を用いて調べた。視覚探索課題は，複数の妨害刺激の中から標的刺激を見つける課題で，反応時間や正答率を分析し，視知覚や認知について調べるために用いられる。そのため，味覚刺激が視覚刺激の処理や反応形成に及ぼす影響を調べる実験課題として適している。

参加者は普段の飲用習慣によってコーヒー低飲用群と高飲用群に分けられた。実験では，苦味の強いコーヒーと緑茶，水，および飲用頻度が少ないルイボスティーを使用した。参加者は 12 試行に 1 回，約 15 ml の飲料を飲みながら視覚探索課題を遂行した。実験の結果，コーヒー高飲用群において標的刺激あり試行の正答率がコーヒー>緑茶・水となり，低飲用群において標的刺激なし試行の反応時間がコーヒー・ルイボスティー<緑茶となった。また，コーヒー飲用時の標的刺激あり試行の正答率は高飲用群>低飲用群であった。

低飲用群では，コーヒー飲用時に反応時間の短縮と正答率の低下がみられたことから，尚早な探索の打ち切りが生じたと考えられる。一方，高飲用群はコーヒー飲用時に正答率が向上したことから，苦味への忌避感がなく，普段の習慣と関連してより正確な課題遂行が可能であったと考えられる。これらの結果は，味覚刺激が他のモダリティの処理や課題遂行に影響を及ぼす可能性を示唆している。

（14）ビタミン C 欠乏は茸状乳頭味細胞における酸味受容体の mRNA 発現と酸味溶液に対する短時間摂取行動に影響するのか？

安尾敏明，中村文彦，諏訪部 武，髙橋慎平，硲　哲崇
（朝日大学 歯学部 口腔機能修復学講座 口腔生理学分野）

これまでに，ビタミン C（以下，VC）合成能が欠如した ODS/shiJcl-*od*/*od* ラットにおいて，VC 欠乏時に酸に対する鼓索神経応答が低下し，酸に対する嗜好率は増加することを我々は示してきた(Yasuo *et al.*，2019)。しかし，これらの現象の理由はまだ解明されていない。本研究では，これらのラットを用いて酸味溶液（VC，クエン酸，酢酸，酒石酸及び塩酸）に対する 10 秒間リック数を測定し，茸状乳頭味細胞における酸味受容体［ otopetrin-1, hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel (Hcn) 1，Hcn4，acid-sensing ion channel-2］の mRNA 発現量を解析した。リックテストは，VC 充足条件下（試験 1），VC 欠乏条件下（試験 2），VC 回復後（試験 3）で 3 回行った。また，これらのラットから VC 欠乏群と VC 充足群を作製し，両群の酸味受容体の発現量を比較解析した。その結果，これら全ての酸味溶液に対するリック率は，試験 2 が試験 1，試験 3 よりも有意に高かった。また，これら酸味受容体の mRNA 発現量には，両群間に有意差はなかった。これらの結果から，VC 欠乏は酸味溶液に対するリッキング応答を低下させるが，これは茸状乳頭味細胞に発現する酸味受容体に起因するものではない可能性が示唆された。

（15）Rybelsus at human clinical doses reduces food intake and body weight in diet-induced obese mice.

Yermek Rakhat[1,2,3]，Daisuke Yabe[2,4]，Yutaka Seino[4]，Toshihiko Yada[1,2,3]
（[1] Division of Integrative Physiology，Kansai Electric Power Medical Research Institute
[2] Department of Diabetes，Endocrinology and Metabolism/Rheumatology and Clinical Immunology,
Gifu University Graduate School of Medicine
[3] Kobe Biotechnology Research and Human Resource Development Center,
Kobe University Graduate School of Medicine
[4] Yutaka Seino Distinguished Center for Diabetes Research, Kansai Electric Power Medical Research Institute）

The first oral glucagon-like peptide-1 receptor agonist - semaglutide (Rybelsus) - ameliorates diabetes and obesity. However, underlying mechanisms remain elusive. This study explored the effect of per oral (p/o) injected Rybelsus on food intake and body weight in mice. P/o Rybelsus reduced cumulative food intake at 4 hours after injection in lean mice, and at 4~20 hours after injection in diet-induced obese (DIO) mice. Repeated once-daily administration of Rybelsus reduced food intake and body weight in DIO mice. These results demonstrate that Rybelsus at human clinical doses is effective in mice, in contrast with other anti-diabetes drugs that are less effective in mice. This study places mice as an experimental model suitable for analyzing the mechanism of action of Rybelsus.

（16）食事性 GABA は食後求心性迷走神経活性化と飽満感を増強する

能美太一[1]，中村唱乃[2]，嵯峨根里穂[2]，大林健人[1]，宮崎麻衣子[2]，山津敦史[2]，金　武祚[2]，岩﨑有作[1]
（[1]京都府立大・院・生命環境，[2]㈱ファーマフーズ）

【背景・目的】γ-アミノ酪酸（GABA）は抑制性神経伝達物質であり，食品中の機能成分でもある。食事性 GABA にはストレス緩和などの脳機能調節作用がある。しかし，血液脳関門を通過しない GABA がどのように脳機能を調節しているのかは不明である。本研究ではマウスを用いて，食事性 GABA による摂食行動（脳機能）調節作用と求心性迷走神経の関与を検討した。

【結果】一晩絶食したマウスの再摂食直前に GABA を単回胃内投与すると，嫌悪行動を起こさず短期的に摂食量を低減させた。一方，GABA の腹腔内投与は摂食量を変化させなかった。GABA 投与による摂食量低減作用は求心性迷走神経の障害により消失した。しかし，GABA 単独投与では求心性迷走神経は活性化しなかった。この予想外の結果から，GABA は単独でなく食事成分と協働して求心性迷走神経や中枢神経（摂食調節）に作用する機序を有する可能性を考えた。再摂食 30 分前の GABA 単独投与では摂食量に影響を与えず，GABA を添加した液体食を胃内投与すると強く飽満感が誘導された。そして，GABA を添加した液体食は，液体食単独より強く求心性迷走神経を活性化した。GABA 添加液体食による満腹感増強作用は求心性迷走神経の障害により消失した。

【結語】GABA は，脳へ直接作用するのではなく，食事との同時摂取にて食後求心性迷走神経活性化を増強して摂食行動（脳機能）を調節した。

（17）TRPA1 アゴニスト摂取による摂食亢進作用とその作用機序

豊岡真悠[1]，細野　崇[2]，河野大輔[3]，後藤仁志[4]，小野勝彦[4]，関泰一郎[2]，矢田俊彦[5]，岩崎有作[1]
（[1]京都府立大学・院・生命環境，[2]日本大学・生物資源
[3]群馬大・代謝調節研・代謝シグナル解析分野，[4]京府医大・神経発生生物学
[5]関西電力医学研究所・統合生理学研究センター）

【背景・目的】食欲不振の治療法は未だ確立されていない。食欲増進効果があると利用される香辛料の多くには，辛味受容体 TRPA1 (Transient receptor potential A1) のアゴニストが含まれている。ニンニク成分の Diallyl trisulfide (DATS) は強力な TRPA1 アゴニストである。他方，TRPA1 は摂食調節に重要な求心性迷走神経の一部サブクラスに発現する。本研究では，DATS の摂食亢進作用と求心性迷走神経・中枢神経の関与を，マウスを用いて検討した。

【結果】DATS は，マウスから単離・調製した単一求心性迷走神経の約 40 %の神経の細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させ，この作用は TRPA1 アンタゴニストにて抑制された。DATS 経口投与は，求心性迷走神経，延髄孤束核，視床下部 NPY 神経を活性化して摂食量を増加させ，これら作用は迷走神経切断にて消失した。DATS の摂食亢進作用は NPY Y1 受容体阻害剤の脳室内投与で消失した。

【結語】DATS は，TRPA1 を発現する一部の求心性迷走神経サブクラスを介して弓状核 NPY 神経を活性化し，摂食量を亢進させた。本研究成果は，TRPA1 活性化成分や TRPA1 発現求心性迷走神経が食欲不振の治療法開発の鍵となる可能性を示した。

11. 臓器連関による生体恒常性維持機構と生体活動の統合的理解

2022 年 11 月 26 日－11 月 27 日

代表・世話人：岩部美紀（東京大学大学院 医学系研究科 代謝･栄養病態学）
所内対応者：箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

（1）高特異性グルカゴンサンドイッチ ELISA の開発と臨床的有用性の検証
小林雅樹（群馬大学）

（2）マクロファージの脂質代謝変容に着目した NASH 発症機構の解明
伊藤美智子（名古屋大学）

（3）通気性のあるエレクトロニクスを用いた生体センシング
横田知之（東京大学）

（4）周産期における摂食リズムと DOHaD 仮説
志内哲也（徳島大学）

（5）イントラクライン機構の再活性による加齢性ドライアイ軽減―NAD+とサーカディアンリズムが鍵―
土居雅夫（京都大学）

（6）NAD+代謝を中心とした中枢-骨格筋連関とサルコペニア/フレイルの関係性
伊藤尚基（国立長寿医療研究センター）

（7）高齢者疾患・フレイルとホルモン
小川純人（東京大学）

（8）脂肪利用の概日リズムを制御する視床下部神経細胞
近藤邦生（生理学研究所）

（9）運動器恒常性と運動ベネフィットの制御法の開発
中島友紀（東京医科歯科大学）

(10) ZIP13 による新しい脂肪分解の制御機構
福中彩子（群馬大学）

(11) 寒冷曝露による褐色脂肪組織の活性化を介した腫瘍増殖抑制効果
関　孝弘（Karolinska Institute）

(12) 摂食エピソードをコードする海馬の報酬細胞
大村佳之（University of Texas Southwestern Medical Center）

(13) 菌体外多糖 EPS とエネルギー代謝調節
宮本潤基（東京農工大学）

(14) 肝臓-腎臓間クロストークを介した腎糖新生制御機構の解析
波多野　亮（千葉大学）

(15) モデルマウスを用いたサルコペニア治療戦略の探索
小山博之（名古屋市立大学）

(16) Oikawa-Nagao マウスの表現型解析による２型糖尿病の新規病理基盤の同定
長尾元嗣（日本医科大学）

(17) 腸 GLP-1 と膵インスリンの協働的な求心性迷走神経刺激が糖代謝に及ぼす影響
大林健人（京都府立大学）

(18) Dapagliflozin は脂質と食塩の過剰摂取によって生じる耐糖能異常を改善する
髙木博史（名古屋市立大学）

（19）精神疾患発症リスクゲノムバリアントがもたらす臓器横断的な病態

有岡祐子（名古屋大学）

【参加者名】

青谷大介（名古屋市立大学），有岡祐子（名古屋大学），池田弘子（星薬科大学），石川真由美（日本医科大学大学院），伊藤尚基（国立長寿医療研究センター），伊藤美智子（名古屋大学），稲葉有香（金沢大学），井上　啓（金沢大学），岩崎有作（京都府立大学），岩部真人（日本医科大学），岩部美紀（東京大学），大植隆司（京都大学），大林健人（京都府立大学），大村佳之（The University of Texas Southwestern Medical Center），小川純人（東京大学），久納光皓（名古屋大学），黒田雅士（徳島大学），小林雅樹（群馬大学），小山博之（名古屋市立大学），阪上　浩（徳島大学大学院），佐々木智之（名古屋大学），志内哲也（徳島大学），芝崎真裕（星薬科大学），杉山摩利子（名古屋大学医学部附属病院），鈴木佑治（名古屋大学），関　孝弘（カロリンスカ研究所），孫　子曰（東京大学），高木博史（名古屋市立大学大学院），滝啓吾（岡崎市民病院），田中智洋（名古屋市立大学），田中　都（名古屋大学），谷　崇（日本医科大学），土居雅夫（京都大学），富山敬子（日本医科大学千葉北総病院），長尾元嗣（日本医科大学大学院），中島友紀（東京医科歯科大学），野々山　葵（大塚製薬工場），橋内咲実（金沢大学），波多野　亮（千葉大学），浜田けい子（名古屋市立大学病院），坂東泰子（名古屋大学大学院），坂野僚一（名古屋大学），廣瀬友矩（名古屋大学医学部附属病院），付　友紀子（名古屋大学），福田いずみ（日本医科大学），福中彩子（群馬大学），二木寛之（東京大学），増田雄太（京都府立大学），三木隆司（千葉大学大学院），三島優奈（徳島大学），満島　勝（国立国際医療研究センター研究所），宮本潤基（東京農工大学），山内敏正（東京大学大学院），山口賀章（京都大学），横田知之（東京大学大学院），上原優子（生理学研究所），菊地晶裕（生理学研究所），近藤邦生（生理学研究所），武田　理（名古屋大学），田中まゆひ（東京大学），中島健一朗（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），三須宏武（生理学研究所），箕越靖彦（生理学研究所）

【概要】

運動は，筋骨格系の形態と機能を制御するだけでなく，代謝をはじめ，脳神経系や免疫制御など多彩な生命システムを制御し，老化をも制御する。運動器から分泌される分子が制御する生体恒常性維持機構としての俯瞰的理解は不十分である。さらに，運動によって生じるあらゆる生体活動をセンシングし，測定する技術構築も十分でないため，運動の統合的理解に至っていない。本研究会において筋骨格系，内分泌，神経，免疫，健康情報，生体医工学，生体情報工学等の専門家が一堂に会し，共同研究の推進により，生命現象の理解，生体活動の測定系技術開発に加え，運動を統合的に理解し，健康寿命の延伸への貢献を目指すことを目的とした。本研究会を通じ，多層的オミックス，栄養学，運動生理学，加齢・老化，生体医工学等を網羅する異分野連携共同研究のネットワーク拠点となるよう，シンポジウム形式で研究会を開催した。代表世話人を岩部美紀が担当し，臓器連関による生体恒常性維持機構に関連する生命科学研究者に加え，生体活動のセンシングに関わる工学研究者等，多分野の若手研究者の教育と人材育成にも取り組み，大学院生を含む若手研究者に加え，各分野のトップランナー 19 名の研究者に発表をお願いした。具体的な発表は，セッション 1（小林・伊藤・横田等），セッション 2（志内・土居・伊藤・小川等），セッション 3（近藤・中島・福中・関等），セッション 4（大村・宮本・波多野・小山等），セッション 5（長尾・大林・髙木・有岡等）として行った。また，女性研究者の割合が 30%を占めるだけでなく，国外からの参加もあり，ダイバーシティ推進にも貢献できる研究会となった。本研究会は，全世代活躍型研究会として ZOOM シンポジウム形式で行い，最新の技術とデータの共有，自由・活発な発表・議論が行われ，知見・研究技術・人的交流を深めることができ，有機的共同研究の推進に繋がるものとなった。

（１）高特異性グルカゴンサンドイッチ ELISA の開発と臨床的有用性の検証

小林雅樹，北村忠弘（群馬大学 生体調節研究所 代謝シグナル解析分野）

近年のグルカゴン研究の進歩に大きく貢献したこととして，グルカゴン測定系の信頼性向上であるサンドイッチ ELISA および質量分析による測定系の開発によるグルカゴン測定の信頼性向上が挙げられる。特にサンドイッチ ELISA は多検体を簡易な操作で測定が可能なため，臨床的な診断において有用な測定系であると期待される。しかし現行のサンドイッチ ELISA にて使用している抗体はグルカゴン以外のプログルカゴン由来ペプチド(グリセンチンなど)とも比較的高い交差性を示すため，これらのペプチドの血中濃度が増加する状況下(減量手術，膵切除など)では抗体の交差反応による偽高値を示すことが明らかになっている。そのため，サンドイッチ ELISA において高グルカゴン値が測定された場合，膵 α 細胞からのグルカゴン分泌亢進と同時に，消化管からのプログルカゴン由来ペプチドによる交差反応の可能性も考慮に入れる必要があった。そこで私たちはより高い反応特異性と感度を持つ高精度グルカゴンサンドイッチ ELISA を開発した。現在までの解析の結果，糖尿病患者内において，グルカゴン分泌調節の悪化が耐糖能の更なる低下に関連している可能性が示唆されている。糖尿病患者のグルカゴンの測定が，患者個人の病態診断と，それに基づいた個別化医療に貢献する可能性が期待される。

（２）マクロファージの脂質代謝変容に着目した NASH 発症機構の解明

伊藤美智子 [1,2]（[1] 名古屋大学 環境医学研究所 分子代謝医学分野，[2] 神奈川県立産業技術総合研究所）

非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）は慢性炎症と線維化を特徴とし，肝硬変・肝細胞癌に進展する重症型である。単純性脂肪肝では細胞保護的な中性脂肪が蓄積するのに対し，NASH ではコレステロールなどの脂肪毒性を有する脂質の蓄積増加が指摘されており，特に遊離コレステロールやコレステロール結晶といった質の変化が重要であると考えられる。一方で，臨床試験においてコレステロール合成酵素阻害剤であるスタチンの有効性は証明されていない。我々は，NASH の肝臓において細胞死に陥った肝細胞をマクロファージが取り囲む病理学的構造である CLS (crown-like structure) が形成され，CLS を構成する CD11c 陽性マクロファージは NASH に特異的なマクロファージ亜集団であることを提唱してきた（JCI Insight 2017）。最近，CLS 内部にはコレステロール結晶が存在し，マクロファージにコレステロールが蓄積することを見出した。コレステロール過負荷に伴うリソソームストレスの増大はマクロファージの炎症・線維化形質を誘導し，マクロファージの疾患特異性を誘導することで NASH の病態形成に深く関わっていると考えられる。細胞内のコレステロール排泄を促進する高分子化合物が NASH 病態を改善することから，マクロファージにおけるコレステロール代謝変容が新たな治療戦略となる可能性が示唆される。

（３）通気性のあるエレクトロニクスを用いた生体センシング

横田知之（東京大学 大学院工学系研究科総合研究機構）

現代社会の国際的な大きな社会問題の 1 つとして高齢化があげられる。高齢化社会においては，病院や介護施設のみで高齢者をケアすることは難しく，高齢者個人が自分自身の健康状態に責任をもって管理することが必要となってくる。このような在宅医療システムを構築するためには，高齢者でも簡便かつ安心して自分の健康状態へアクセスすることができる必要性がある。このような社会を実現するうえで，重要な技術としてあげられる

のがウェアラブルエレクトロニクスである。

ウェアラブルエレクトロニクスの最先端技術の１つに皮膚に貼り付けることができるスキンセンサがあげられる。スキンセンサは，センサ自体の柔らかさにより皮膚に直接デバイスを貼り付けることができる。さらに，装着感が少ないために，日常生活の中で様々な生体情報を長期間連続的に計測することができる。我々のグループでは，エレクトロスピニング法を用いて作製したナノファイバーを用いることで，生体表面へ高い追従性と通気性を実現することに成功した。作製したナノファイバー状のセンサは，高い通気性を有しているために，1 週間皮膚に貼り付けても炎症などが起こらずに生体情報をセンシングすることが可能である。本講演では，ナノファイバー状のセンサを用いた皮膚抵抗の連続計測や，圧力センシングに関する進捗について紹介する。

（４）周産期における摂食リズムと DOHaD 仮説

志内哲也，清水紀之，大塚愛理，近久幸子，勢井宏義
（徳島大学 大学院医歯薬学研究部 生理学分野）

妊娠期における栄養状態は，子の成長だけでなく，成長後の病態発症に影響を及ぼす可能性が指摘されている（DOHaD 仮説）。しかし，妊娠期における摂食リズムが子に与える影響については，不明な点が多い。本研究では，C57BL/6J マウスを交配させた後，妊娠 7.5 日目より摂食リズムを変化させた。暗期のみ自由摂食である Ad-lib 群，暗期前半のみ自由摂食である Morning 群，暗期後半のみ自由摂食である Evening 群の 3 群に分け，出産後の母親マウスは 24 時間自由摂食で飼育した。妊娠期における摂食量に有意差はなかった。その結果，Passive avoidance test や social-defeat 後の Social interaction test において，Evening 群の仔は他群の仔と比べて，恐怖記憶獲得後における恐怖対象に対する接触に怯える行動を示した。他の不安・うつ様行動は 3 群間で有意差は見られなかった。一方，仔の体重増加，摂食量，耐糖能，インスリン感受性にも有意差は見られなかった。これらの要因として我々の先行研究から，妊娠期における視床下部 AgRP の発現増強に着目した。遺伝子改変マウスにより AgRP 発現上昇を抑制すると，産仔のこれらの行動変容は Evening 群でも見られなくなった。本発表では，授乳期における摂食リズムが仔に及ぼす影響についても併せて報告し，代謝生理学的な恒常性の引継ぎについて議論したい。

（５）イントラクライン機構の再活性による加齢性ドライアイ軽減
—NAD+とサーカディアンリズムが鍵—

土居雅夫（京都大学大学院 薬学研究科）

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD+）要求性のステロイド合成酵素の眼局所における活性の日内変動を取り戻すことにより，加齢性ドライアイの原因となるマイボーム腺不全を軽減できることを私共は最近示した。性ステロイドホルモンの低下は，男女を問わず生殖腺機能の衰えた更年期の特徴である。従来の血中を流れるホルモンではなく，眼局所に NAD+を付与することで標的組織局所のホルモン産生機構（イントラクライン機構）を再活性化するという新たな治療法につながる可能性がある。本発表では私共が取り組んでいる生体リズムを基盤とした時間医薬科学研究の現状と今後の課題を紹介し，皆様から研究のご指導/ご意見を賜りたい。

文献： Hamada et al., Ocul Surf 26, 268-270 (2022); Sasaki et al., Nat Aging 2, 105-114 (2022) ; Doi et al., J Clin Endocrinol Metab 99, 257-262 (2014) ; Ota et al., Mol Cell Biol 34, 3880-3894 (2014) ; Doi et al., Nat Med 16, 67-74 (2010).

（６）NAD+代謝を中心とした中枢-骨格筋連関とサルコペニア/フレイルの関係性

伊藤尚基[1]，今井眞一郎[2]（[1]国立長寿医療研究センター 研究所 ジェロサイエンス研究センター
中枢性老化-骨格筋代謝-運動機能制御研究プロジェクトチーム
[2]ワシントン大学 医学部 発生生物学部門・医学部門（兼任））

超高齢社会における日本において，サルコペニア/フレイルは喫緊の医学的・経済的問題である。サルコペニア/フレイルを含む加齢性疾患には，全身性代謝や組織連関の破綻が関わっていると考えられるが，その中核をなす分子病態は未だ不明な点が多い。特に，これまで骨格筋における加齢現象に注目したサルコペニア/フレイル研究は数多くなされてきたが，中枢と骨格筋の機能連関に関する研究は数少ない。一方，近年加齢依存的な細胞/組織 NAD+の低下が老化の重要な一因となっていることがわかり，NAD+合成中間体のニコチンアミド・モノヌクレオチド（NMN）等の摂取によって NAD+を上昇させる「NAD+ boosting」と呼ばれる抗老化方法論が注目されている。

我々は NAD+代謝を中心とした中枢-骨格筋連関に着目し，外側視床下部における NAD+代謝に関わる重要分子の機能低下とサルコペニア/フレイルとの関連に注目した研究を行なっている（Ito N et al., Cell Reports, 2022）。本発表では NMN トランスポーターSlc12a8 の外側視床下部での機能解析を中心として，中枢-骨格筋連関とサルコペニア/フレイルの中枢性病因の可能性について議論したい。

（７）高齢者疾患・フレイルとホルモン

小川純人（東京大学 大学院医学系研究科 老年病学）

高齢者のフレイルやサルコペニアは，転倒・骨折リスクや要介護リスクの増大につながり，ADL・QOL，生命予後にも影響を及ぼす。そのため，「フレイル健診」をはじめとした早期からの介護予防や対策は重要と考えられている。フレイル・サルコペニアの発症・進展については，性ホルモンやビタミン D などの動態との関連性が指摘されており，高齢者疾患や老年症候群の発症や進展についても，ホルモンとの関連性や筋骨連関をはじめとする臓器連関が示唆されている。さらにまた，漢方医学ではフレイルと虚証との接点も注目され，漢方補剤の中には抗炎症効果やホルモン様作用を有する可能性が考えられている。今回，高齢者疾患・フレイルとホルモンとの関連性について取り上げ，その中で性ホルモンやビタミン D の特性やホルモン補充・漢方補剤などの薬物療法とその可能性について紹介したい。

（８）脂肪利用の概日リズムを制御する視床下部神経細胞

近藤邦生，箕越靖彦（生理学研究所 生殖・内分泌系発達機構研究部門）

生物はエネルギー恒常性により，エネルギー物質の産生・摂取と利用・貯蔵のバランスを保っており，体内の生理状態に応じ，利用するエネルギー物質の種類（糖・脂質・タンパク質）を適切に選択する。例えば，マウスに通常の食餌を与えると，活動期（暗期）では炭水化物の消費量が増加し，休息期（明期）では脂質の消費量が増加する。このような概日リズムの形成には，視床下部等の中枢神経系と末梢組織との連関が重要である。しかし，どのような機構によって概日リズムが形成されるかはほとんど明らかとなっていない。

我々は経シナプスウイルストレーサーを使用し，視床下部の室傍核で Nos1 (Nitric oxide synthetase 1) を発現する

ニューロンが, エネルギー代謝に重要な末梢組織に投射することを見出した。PVH Nos1 ニューロンの活性化は脂質利用を増加させたのに対し，Nos1 ニューロンの不活性化は明期選択的に脂質利用を抑制した。また，Nos1 ニューロンは明期に活性化され，暗期に不活性化されていた。さらに，Nos1 ニューロン活動の慢性的な抑制は，総エネルギー消費に影響を与えることなく脂質利用の概日リズムを乱し，代わりに炭水化物の利用を促進した。以上の結果は, 室傍核 Nos1 ニューロンが脂質代謝の概日リズム調節の形成に関与することを示している。

（９）運動器恒常性と運動ベネフィットの制御法の開発

中島友紀（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学）

超高齢社会において増加している運動機能の低下は, 要介護から寝たきり状態，そして，死亡への転帰をとる人類社会において極めて重大な問題である。運動器疾患は，まさに“現代国民病”と言っても過言ではなく，さらに重要なことに，運動器疾患や運動不足では，認知症やうつ病など精神神経疾患, 肥満や糖尿病など代謝性疾患を高頻度に合併する。一方，身体活動の強化や運動介入療法が，運動器疾患だけでなく様々な全身疾患の改善や予防，そして，抗老化に効果的である証拠が世界レベルで積み上げられている。しかしながら，運動器である骨と筋肉は，連動して運動を実現するにも関わらず, 個別の医学領域として研究が発展してきたため, その臓器間の連環メカニズムの理解はいまだ未成熟であり, 運動器と他の生命システムとの連環機構もまた，いまだ不明な点が多い。

本研究では, 大規模でハイスループットな運動器構成細胞の分化・増殖アッセイ系の構築と運動器疾患（骨粗鬆症，サルコペニア）のモデル解析から，運動した時にもたらされる筋肉と骨の強化作用や治療介入することかできる運動ベネフィットを実現する創薬シーズを発見した。本研究の成果から, 運動を模倣した“薬による運動ベネフィット”が実現され，運動器疾患の治療や予防，さらには健康寿命の延伸へつながることが期待される。

（10）ZIP13 による新しい脂肪分解の制御機構

福中彩子[1]，木村　徹[2]，齊藤大祐[1,3]，綿田裕孝[3]，深田俊幸[4]，藤谷与士夫[1]
（[1]群馬大学 生体調節研究所，[2]杏林大学 医学部
[3]順天堂大学 大学院医学研究科 代謝内分泌内科学，[4]徳島文理大学 薬学部）

肥満は多くの国で年齢を問わず増加の一途をたどっており，その病態の解明と新規治療薬の開発は急務である。我々は，これまでにエーラス・ダンロス症候群の原因分子である亜鉛トランスポーターZIP13 がベージュ化を抑制することを，全身で Zip13 を欠損したマウスを用いた解析により見出している (Fukunaka A，PLoS Genet. 2017)。そこで本研究では, 脂肪細胞における ZIP13 の役割をより詳細に調べるために，成熟脂肪細胞特異的に Zip13 を欠損したマウス(Adipo-Zip13-KO マウス)を作成し解析した。Adipo-Zip13-KO マウスでは，高脂肪食負荷時の肥満に抵抗性を示すが，ベージュ化亢進は観察できなかったことから，全身で Zip13 を欠損させた時に観察されたベージュ化亢進の表現系は, Adiponectin が発現するよりもより早い段階から Zip13 を欠損させることにより観察できると考えられた。一方，予想外の発見として，このマウスでは脂肪細胞での脂肪分解が亢進し，抹消組織で脂質がより優先的に消費されることで，肥満に抵抗性を示すことを見出した。また，その分子機序を調べたところ，ZIP13 は成熟脂肪細胞では細胞内の亜鉛と鉄のバランスを制御し，それによりｂ アドレナリン受容体シグナル経路が影響を受けて脂肪分解が抑制されることを見出した。ZIP13 を成熟脂肪細胞特異的に阻害することで，エーラス・ダンロス症候群を示さず，肥満糖尿病治療に繋がる可能性が考えられた。

（11）寒冷曝露による褐色脂肪組織の活性化を介した腫瘍増殖抑制効果

関　孝弘（Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institute, Sweden）

脂肪組織は大きく，白色と褐色脂肪組織 (WAT&BAT) がある。我々は，寒冷曝露等による BAT 活性化と WAT 褐色化の際に，脂肪細胞と血管の相互的な関わりがあることを報告してきた（Cell Metab. 2009, Nat. Commun. 2016&2017, JEM 2018, PNAS 2022）。脂肪の活性化は，エネルギー消費を促しインスリン感受性を高めるため，肥満や糖尿病等の治療に貢献すると期待されている。しかし，BAT 活性化に関連する代謝変化が腫瘍増殖に及ぼす影響は明らかでなかった。本研究では，寒冷曝露による BAT の活性化と腫瘍増殖への影響を検討した。

我々は，腫瘍の成長とがん宿主の脂肪組織の活性化との影響を観察するために，直腸がん細胞の皮下担がんマウスを寒冷曝露し腫瘍の増殖解析を行った。寒冷曝露の担がんマウスでは，腫瘍増殖が著明に抑制され，生存率が大幅に延長した。この腫瘍抑制効果は，様々な皮下移植モデルおよびがん遺伝子導入による自然発がんモデルでも認められた。また，環境温度による直接的な影響ではないことを示した。この腫瘍抑制効果は，BAT 活性化を通じた腫瘍へのグルコース取り込みの減少を介した腫瘍内糖代謝の変化により生じることを明らかにした。最後に予備的な臨床試験を行い，この腫瘍内グルコース獲得の減少効果を化学療法下のがん患者の協力により確認した。今後の臨床応用には，さらなる安全性と実証研究をがん患者等で検討する必要性がある。本研究により BAT の活性化が，がんの治療にも貢献する可能性があることを明らかにした。

（12）摂食エピソードをコードする海馬の報酬細胞

大村佳之
（Department of Psychiatry and Department of Neuroscience, University of Texas Southwestern Medical Center）

海馬の機能といえばエピソード記憶や空間学習ですが，摂食行動の制御にも関わっています。例えば，レストランの看板やテレビの CM を見ただけでお腹が空くのも，昼食を抜いた日の夕食は過食になりがちなのも，摂食のエピソード記憶や関連学習が関わっています。癲癇治療のため両側海馬を摘出した患者 H.M.や，認知症患者は，食後数分開けてもう一度提供すると同じ量を完食します。このように，いつ・どこで・何を・どのくらい食べるかは，食環境における過去の経験や学習によって柔軟に制御されており，海馬はエネルギーホメオスタシスに対するトップダウン制御を担っていると考えられます。ところで海馬には食報酬の場所をエンコードする報酬細胞の存在が知られています。摂食行動は，①食物へのアプローチ，②摂食，③摂食終了の３つの要素から構成されていますが，これら３要素はいずれもエピソード的であり，記憶や学習に基づく意識的な行動です。しかしこれまで海馬にはこれら摂食行動３要素に対応する報酬細胞が存在するかは分かっていませんでした。そこで自由行動下マウスの背側海馬にテトロード電極を挿入し，食行動中の神経細胞電気活動と摂食行動との関係を調べたところ，３要素を符号化する報酬細胞の部分集団を同定することができました。今後，報酬細胞の遺伝子発現パターンを調べることにより，過食に伴う肥満症や摂食障害に対する治療の開発を目指したいと考えています。

（13）菌体外多糖 EPS とエネルギー代謝調節

宮本潤基[1]，木村郁夫[1,2,3]
（[1] 東京農工大学 大学院農学研究院，[2] 京都大学 大学院生命科学研究科，[3] 京都大学 大学院薬学研究科）

近年の腸内細菌研究の発展により腸内細菌が宿主のエネルギー代謝調節や栄養素の摂取に関与し，肥満・糖尿病に代表される代謝性疾患に影響を及ぼすことが明らかとなった。この中で，腸内細菌が宿主のエネルギー代謝調節に影響を及ぼす最大の因子として，食物繊維のような難消化性多糖類から腸内細菌の発酵によって産生される短鎖脂肪酸（Short-chain fatty acids; SCFAs）が注目を集めている。一方，ある種の乳酸菌は難消化性の特性を示す菌体外多糖（exopolysaccharides; EPS）を産生することが知られているが，生体内における詳細な生理作用は不明な部分は数多く残されている。我々は独自に，EPS を高産生する乳酸菌 Leuconostoc mesenteroides に着目し，EPS と宿主エネルギー代謝調節における密接な関連性，さらには，難消化性多糖である EPS を基質とした腸内細菌由来の SCFAs 産生を介した宿主生体恒常性維持に及ぼす影響について検証した。EPS の摂取は腸内細菌による SCFAs 産生及び SCFA 受容体を介して，糖代謝や肥満モデルマウスの代謝改善作用を示した。さらに，EPS を基質として，特定の腸内細菌種（Bacteroidales S24-7 group や Bacteroides）の顕著な増殖を促す結果, 劇的に腸内 SCFAs の産生を高める全く新たなプレバイオティック因子であることを明らかにした。

（14）肝臓-腎臓間クロストークを介した腎糖新生制御機構の解析

波多野　亮，　李　恩瑛，　三木隆司（千葉大学 大学院医学研究院 代謝生理学）

「糖新生」は飢餓時におけるエネルギー恒常性の維持に重要であり, 様々な栄養条件に応じて生命活動を維持するための必要不可欠なエネルギー調節機構であるが, 2 型糖尿病では肝臓での糖新生の異常亢進が高血糖に寄与すると考えられている。一方，糖新生酵素は肝臓の他に腎臓でも高発現していることが知られているが, 腎糖新生の制御機構や生活習慣病における血糖への腎糖新生の寄与については明らかになっていない。肝臓では飢餓時にはグルカゴンや糖質グルココルチコイドなどによって早期に誘導されることが知られているが, 腎糖新生は飢餓状態がさらに進行した際に肝臓よりも遅れて誘導されてくることから肝臓と腎臓では糖新生の誘導機構は異なるものと考えられる。我々はこのような肝臓と腎臓の糖新生の誘導時期の違いと肝臓と腎臓の糖新生の相互関係に着目し, 肝臓から腎臓の糖新生を制御する何らかのシグナルが伝達されているのではないかと仮説を立て研究を開始した。マウスに対して絶食時間や高脂肪食負荷などの様々な条件での肝臓での遺伝子発現や代謝物の変動と腎臓での糖新生遺伝子発現に関して相関関係を調べたところ肝臓での脂肪酸代謝と腎臓での糖新生の間に相関関係を見出し, この代謝産物が腎臓での糖新生を誘導することを新たに発見した。本研究会においては，肝臓で生じた脂肪酸代謝物が腎臓での糖新生を制御する新たな肝―腎臓間の臓器間クロストークについて発表する。

（15）モデルマウスを用いたサルコペニア治療戦略の探索

小山博之，　青谷大介，　田中智洋
（名古屋市立大学 大学院医学研究科 消化器代謝内科学）

サルコペニアは筋力と筋量の低下により QOL 低下や死の転帰を辿りうる疾患であり，早期診断と積極的な薬物介入は健康寿命を延伸し社会への貢献につながる。薬物を含めた治療介入の効果・作用機序の解析にはモデル

マウスが必要であるが，たとえば自然老化マウスは長期間飼育すると個体差が大きくなり統計学的解析が困難であるし，骨格筋量や筋力が低下する遺伝子改変マウスは通常の加齢とは異なる外観や表現型を呈するためヒトへの外挿性に乏しい欠点がある。

我々は老化促進マウス SAMP1 に着目した。18 週齢の SAMP1 マウスは対照マウス（SAMR）と比較して，サルコペニアの診断（AWGS2019 サルコペニア診断ガイドライン）に必須の筋量（ヒラメ筋重量）・筋力（四肢握力）・身体機能（トレッドミル試験走行距離）の低下を認めた。さらにグルコースを取り込む骨格筋が少ないため糖負荷試験による耐糖能悪化および骨格筋でのインスリン抵抗性を認めた。また，SAMP1 は血中デスアシルグレリンおよび IGF-1 の有意な上昇を認め，グレリン応答性の摂餌量増加も減弱しておりいわゆるグレリン抵抗性が認められた。次に，18 週齢の SAMP マウスを①回転かごを置いたケージで飼育した Exercise 群，②回転かごを置かない Sedentary 群に分け，8 週間飼育した。結果，Exercise 群は有意に筋量および身体機能が改善していた。これらの知見は SAMP1 が治療介入の効果を評価することのできるサルコペニアモデルマウスとして有用である可能性を示唆するものである。

（16）Oikawa-Nagao マウスの表現型解析による２型糖尿病の新規病理基盤の同定

長尾元嗣[1,2]，　浅井　明[1]，　羽田幹子[1]，　岩部真人[1]
（[1]日本医科大学大学院 医学研究科 内分泌代謝・腎臓内科学分野
[2]Lund University Diabetes Centre, Unit of Islet Cell Exocytosis）

私達は 2001 年から，２型糖尿病発症における遺伝的要因と環境要因の相互作用の解明を目的として，高脂肪食（HFD）投与後の耐糖能を指標としたマウスの連続的選抜交配を行い，HFD 誘導性に糖尿病を発症する Diabetes-Prone 系（ON-DP）と正常耐糖能を維持する -Resistant 系（ON-DR）の２系統を確立した。

ON-DP マウスは ON-DR と比較して遺伝的な低インスリン分泌能を示し，HFD によって肥満・高血糖が顕著になる。ON-DP マウスの膵島では脂肪酸輸送体 CD36 が高発現となる一方で，インスリン分泌顆粒の開口放出を制御する SNARE タンパク質群は低発現を示す。そこでβ細胞株に CD36 を過剰発現させてインスリン分泌機序への影響を調べた結果，CD36 は細胞内のインスリンシグナルを減弱させ SNARE タンパク質群の発現低下を介して分泌顆粒の開口放出を抑制することがわかり，CD36 を起点とするβ細胞脂肪毒性の新たな惹起経路を提唱するに至った。また若齢期の ON-DP マウスは，ON-DR と比較して脂肪細胞でのレプチン産生能が低く，相対的なレプチン不足に陥って過食・肥満となり糖尿病を発症することを示し，低レプチン血症という新たな病理基盤が肥満や２型糖尿病の発症に関与する可能性を示した。

このように ON マウス２系統の代謝表現型の差異とその出現機序の解析を通じて，２型糖尿病や肥満の新規病理基盤が同定されると共に，ON-DP マウスの代謝表現型への介入研究によって，２型糖尿病の新規予防・治療法の開発が可能になると私達は考えている。

（17）腸 GLP-1 と膵インスリンの協働的な求心性迷走神経刺激が糖代謝に及ぼす影響

大林健人[1]，　矢田俊彦[2]，　岩﨑有作[1]（[1]京都府立大学大学院生命環境科学研究科，
[2]関西電力医学研究所・統合生理学研究センター）

食後に分泌亢進する腸ホルモン Glucagon-like peptide-1（GLP-1）は血中半減期が約 2 分と不安定で，GLP-1 の生理機能には不明な点が多い。我々は，希少糖アルロースを用いて GLP-1 分泌を促進すると，求心性迷走神経を介してインスリン作用を増強すること，さらに，この作用が血中インスリン濃度依存的な作用であることを見出した（未発表，2020 年度の本会にて発表）。本研究では，腸 GLP-1 のインスリン濃度依存的なインスリン作用

増強効果の作用機序を詳細に検討した。

マウスから調製した単一求心性迷走神経細胞への GLP-1 とインスリンの共添加は,それぞれ単独添加より，強くそして多くの神経細胞を活性化した。GLP-1 分泌促進成分のアルロースとインスリン分泌促進成分のスルホニルウレア（SU）薬をマウスへ同時投与すると，求心性迷走神経を協働的に活性化し，血糖降下作用を増強した。GLP-1 とインスリンの同時分泌促進によるインスリン作用増強効果は GLP-1 受容体欠損マウスで消失した。さらに，本作用は，迷走神経共通肝臓枝の求心性神経の障害，及び，求心性迷走神経特異的にインスリン受容体シグナル分子を欠損させたマウスにおいても消失した。

以上より，腸 GLP-1 の新規生理機能であるインスリン作用増強効果の発揮には，GLP-1 とインスリンの協同的な求心性迷走神経活性化が必須であることが示された。

（18）Dapagliflozin は脂質と食塩の過剰摂取によって生じる耐糖能異常を改善する

髙木博史[1]，　廣瀬友矩[2]，　久納光皓[2]，　佐々木智之[2]，　孫　汝楠[2]，　杉山摩利子[2]，　坂野僚一[3]，　有馬　寛[2]

（[1]名古屋市立大学 大学院医学研究科 消化器・代謝内科学
[2]名古屋大学 大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学
[3]名古屋大学 総合保健体育科学センター）

【背景】 現代の日本人の食習慣の特徴として，食生活の欧米化によって脂質摂取の割合が増加していることに加え，諸外国と比較して食塩摂取量が多いことが挙げられる。こうした食習慣を持つ日本人の糖尿病の病態に有効性の高い糖尿病薬は定まっていない。

【目的】 脂質と食塩を過剰摂取させる肥満糖尿病モデルマウスにおいて SGLT2 阻害薬の有効性を明らかにする。

【方法】 8 週齢 C57BL6 雄性マウスに高脂肪高塩分食（脂肪含有率 61 %，塩化ナトリウム濃度 4 %）を 8 週間摂餌した群（HFS 群）と，高脂肪高塩分食 6 週間投与後に dapagliflozin 含有高脂肪高塩分食を 2 週間摂餌した群（HFS+D 群）を比較した。

【結果】 HFS 群と比較して HFS+D 群では摂餌量，尿量，尿中糖・ナトリウム排泄量の有意な増加を認めたが，体重に有意差は認めなかった。インスリン負荷試験において両群のインスリン感受性に有意差は認めなかった。HFS 群と比較して HFS+D 群ではブドウ糖負荷試験において血糖値の有意な低下とインスリン分泌指数の有意な上昇，尿中カテコラミンの低下，免疫組織化学において膵 β 細胞面積の有意な増加を認めた。

【考察】 脂質と食塩を過剰摂取させる肥満糖尿病モデルマウスにおいて，dapagliflozin が耐糖能，インスリン分泌能を改善することが示された。脂質と食塩の摂取が多い日本人の糖尿病において，SGLT2 阻害薬が有用である可能性が示唆された。

（19）精神疾患発症リスクゲノムバリアントがもたらす臓器横断的な病態

有岡祐子[1,2]，奥村啓樹[1,2]，久島　周[1,2]，尾崎紀夫[2]

（[1]名古屋大学 医学部附属病院，[2]名古屋大学 大学院医学系研究科）

染色体 22q11.2 欠失や 3q29 欠失は，統合失調症や自閉スペクトラム症など精神疾患横断的な発症リスクゲノムバリアントの代表例である。そのため，脳病態に着目されることが多いが，これら欠失を有する患者は，心臓や免疫系など多臓器に及ぶ臨床表現型も示す。心臓の異常は患者にとって身体的負担をもたらすのはもちろんのこと，副作用の懸念増加から精神疾患の治療薬の選択を困難にする。当該欠失を有する患者にも安全な治療薬開発に向けては，22q11.2 欠失や 3q29 欠失における心臓病態の理解が求められる。また，母体免疫活性などから

も明らかなように，脳内免疫系の異常は精神疾患の病態に深く関わることが報告され，22q11.2 欠失や 3q29 欠失患者における脳内免疫異常およびそれに伴う精神疾患発症への寄与が示唆される。そこで我々は，22q11.2 欠失や 3q29 欠失患者 iPS 細胞，および遺伝子改変モデルマウスを用いて，これら発症リスクゲノムバリアントがもたらす脳と心臓の病態や，脳と免疫系との相互作用を検討している。本研究会では，22q11.2 欠失や 3q29 欠失患者の特性を紹介するとともに，国内外の最近の知見を交えて議論を深めたい。

12. 機能と構造の視覚科学研究会

2022 年 9 月 20 日－9 月 21 日

代表・世話人：鯉田孝和（豊橋技術科学大学）
所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（１）事前情報に基づく知覚の変容とその個人差

村井祐基（情報通信研究機構）

（２）ゼブラフィッシュにおけるオプティックフロー情報処理の神経回路基盤

久保　郁（国立遺伝学研究所）

（３）Optic nerve formation by electric fields

山下勝幸（国際医療福祉大学）

（４）ニホンザル外側膝状体における青色応答細胞の K 層局在

及川達也（豊橋技術科学大学）

（５）アゲハの色覚と初期波長情報処理

蟻川謙太郎（総合研究大学院大学）

（６）Zebrafish retina features two types of rod-bipolar cells

吉松剛志（Washington University in St Louis, USA）

（７）物体識別における視覚的意思決定の行動・神経メカニズム

岡澤剛起（神経科学研究所 上海，中国）

（８）視覚皮質の細胞集団を用いた刺激方向復号化における発火数相関の刺激依存性の貢献

伊藤浩之（京都産業大学）

（９）コントラスト依存の空間周波数チューニングダイナミクスとその信号伝達の最適化

田中宏喜　（京都産業大学）

（10）マウス側頭皮質のサイズ表現領域は正/負の行動に関与する可能性がある

西尾奈々（東京大学）

【参加者名】

吉松剛志 (University of Washington)，畑中　岳 (University of Washington)，大迫優真 (MIT)，大石浩輝 (UC Berkeley)，岡澤剛起（中国科学院神経科学研究所），Wu Jiahao（中国科学院神経科学研究所），Tianlin Luo（中国科学院神経科学研究所），正岡明浩（玉川大学），小濱　剛（近畿大学），木矢剛智（金沢大），三井真一（群馬大学），森　将輝（慶應義塾大学），本間耕平（慶應義塾大学），山下勝幸（国際医療福祉大学），久保　郁（国立遺伝学研究所），馬場美香（理化学研究所），村田　弓（産業技術総合研究所），林　隆介（産業技術総合研究所），稲吉宏明（産業技術総合研究所），稲垣未来男（情報通信研究機構），村井祐基（情報通信研究機構），小林　恵（新潟大学），鈴木雅洋（聖泉大学），蟻川謙太郎（総合研究大学院大学），木下充代（総合研究大学院大学），酒井　宏（筑波大学），佐々木哲也（筑波大学），梅川璃空（中央大学），佐藤壮平（中央大学），山中七菜子（中央大学），濵野揚茂（中央大学），楊　嘉楽（中京大学），行松慎二（中京大学），平田　豊（中部大学），進士裕介（中部大学），山中都史美（中部大学），田所慎（中部大学），土屋謙仕（長野保健医療大学），蘭　悠久（島根大学），蒋池かおり（東京女子医科大学），吉田盛史（東京大学），小島大輔（東京大学），橋本昂之（東京大学），木村梨絵（東京大学），西尾奈々（東京大学），織間大気（東京大学），本吉　勇（東京大学），田中宏和（東京都市大学），日髙　聡（藤田医科大學），雁木美衣（日本医科大学），李雪萍（日本女子大学），大隈井輔（日本大学），森下克幸（日本大学大学院），菊地　豊（脳血管研究所），渡邊紀文（武蔵野大学），

松藤佳名子（福岡国際医療福祉大学），潮井川修一（福岡国際医療福祉大学），本居　快（福岡国際医療福祉大学），南　哲人（豊橋技術科学大学），鯉田孝和（豊橋技術科学大学），辻奈津美（豊橋技術科学大学），及川達也（豊橋技術科学大学），山田達郎（豊橋技術科学大学），佐藤彰典（名古屋大学），小坂田文隆（名古屋大学），宮田零士（名古屋大学），神山斉己（愛知県立大学），高橋伸子（愛知淑徳大学），望月浩志（愛知淑徳大学），杉浦巧知（愛知淑徳大学），宮田浩輔（愛知淑徳大学），國武実里（愛知淑徳大学），伊藤浩之（京都産業大学），田中宏喜（京都産業大学），山田将太郎（京都産業大学），森口佑介（京都大学），笠井昌俊（京都大学），田村　弘（大阪大学），三好智満（大阪大学），波間智行（大阪大学），佐々木大雅（大阪大学），藤田一郎（大阪大学），西本伸志（大阪大学），小池千恵子（立命館大学），天野　晃（立命館大学），多田圭吾（立命館大学），堀　哲崇（立命館大学），寺尾将彦（山口大学），岡村純也（鹿児島大学），山根ゆか子（沖縄科学技術大学院大学），間島　慶（量子科学技術研究開発機構，JST さきがけ），青山俊弘（鈴鹿高専），本間俊光（Yamagata1），四方幸治（大塚製薬㈱），緒形昌美（ソニーグループ㈱），福島邦彦（ファジィシステム研究所），岡部伊織（ポーラ化成工業㈱），水越興治（ポーラ化成工業㈱），山本雅裕（㈱東芝），立花　献（㈱ニデック），加藤善隆（㈱ニデック），中野由香梨（㈱ニデック），山本　翠（㈱ビジョンケア），永谷広行，吉田愛由美，酒井英典，小松英彦（生理学研究所），大野伸彦（生理学研究所），久保義弘（生理学研究所），磯田昌岐（生理学研究所），竹村浩昌（生理学研究所），鳴島　円（生理学研究所），近藤邦生（生理学研究所），郷田直一（生理学研究所），泉谷芽生（生理学研究所），長澤裕太郎（生理学研究所），萩原　淳（生理学研究所），村田和義（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），髙橋菜々（生理学研究所），竹田育子（生理学研究所），西尾亜希子（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），林　健二（生理学研究所），米田泰輔（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），髙木正浩（生理学研究所）

【概要】

本研究会は視覚に関わる様々な研究分野の架け橋となるべく企画された。本研究会は任意団体である視覚科学フォーラムとの共催であり生理研研究会としては継続３年目になる。過去２年間のオンライン開催を経て，今回は対面・オンラインのハイブリッド開催となった。

５件の招待講演は生理機能と解剖構造を幅広い視点で学ぶために選ばれた。講演内容は網膜から中枢まで多様な動物種を対象とし，測定手法も多岐にわたった。末梢である網膜から脳への接続は機能と構造が綿密にかかわっていることが，昆虫，魚類の講演から示された。中枢での機能表現は「ダイナミックな情報の構造」とも言うべき新たな視点が必要であることが霊長類の講演から示された。情報のダイナミクスは言うまでもなく我々の知覚・行動にも反映されており，関連するヒト心理学的知見が報告された。

ハイブリッド開催は映像，音響，通信機器等の準備と運用が極めて重要である。会場である生理研１階会議室の機器は十分な性能があり，また技術課職員が運用ノウハウを持ち合わせていたため，ハイブリッドでの双方向のやり取りは非常にスムーズに行われた。このような環境の維持は大学共同利用機関としての価値が高い。また対面開催ならではの問題として，開催前日に台風が接近したことが挙げられる。交通機関の乱れから講演者が急遽対面からオンラインに切り替えることになった。このような急な変更においてもハイブリッド開催は好ましいと言える。

開催前の感染症の状況は減少期ではあったものの良くはなく，リスクを見積もって対面参加は予約制とし人数も 40 名に制限しての募集となった。参加者は満了し，また対面参加に限定されたにもかかわらず一般発表は 15 件あった。発表者の身分はアカデミアや学生に加え企業研究者など多様であった。本研究会が情報交換の場として大きなニーズがあったことをうかがわせる。

（１）事前情報に基づく知覚の変容とその個人差

村井祐基（情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター (CiNet) ）

視覚系に時々刻々入ってくる情報は，眼球や頭部の運動，瞬目，外界の物体運動，遮蔽など様々な要因によって，不連続かつノイズにまみれた信号である。 視覚系がこの信頼性の低い入力信号からいかにして安定した知覚を成立させているのかに関心を持ち，ヒトを対象とした心理物理学・脳機能計測研究を行っている。

知覚の中長期的な安定性を図るひとつの手段として，環境の時空間構造の活用がある。我々を取り巻く世界は時間的・空間的に体系だった構造を持っているため，そうした構造を事前知識として取り込むことで，視覚入力に内在する種々のノイズを低減し，安定した知覚や判断に結びつけることができる。例えば，現在の知覚が過去に観察した事象と同方向に引きずられる系列依存性（serial dependence）と呼ばれる現象は，脳が外界は自己相関しているものだというバイアスをもっているために生じると解釈されている（e.g., Fischer & Whitney, 2014）。本発表ではこの現象に関する近年の心理物理学研究を中心に紹介する。

まず我々は心理物理学的逆相関法を用いて，ノイズ中にガボール刺激があったか否か判断するような極めて単純な方位検出課題においても系列依存性が生じることを明らかにし，ごく初期の知覚表象が歪められている可能性を示した（Murai & Whitney, 2021）。またこの現象には大きな個人差があり，日をまたいで計測しても個人内で効果の大きさが安定していること，中心視と周辺視とでは異なる効果があることがわかっている（Kondo, Murai, Whitney, 2022; Manassi, Murai, Whitney, in prep）。さらに，代表的なワーキングメモリ指標との相関や，異なる刺激特徴に対する系列依存性の間での相関が見られないことから，仮に記憶が関与しているとしても特徴選択的な記憶保持メカニズムであると考えられる。こうした研究は，曝露している視覚環境自体の違いや，事前情報と感覚入力の間の重み付けの違いによって，個々人の知覚安定化の方略が大きく異なることを示唆している。最後にこうした知覚的安定化をもたらす脳内処理について，神経振動に着目した脳波研究についても簡単に紹介したい（Whitney, Manassi, Murai, 2022; Murai et al., in prep）。

（２）ゼブラフィッシュにおけるオプティックフロー情報処理の神経回路基盤

久保　郁（国立遺伝学研究所）

Direction-selective (DS) neurons compute the direction of motion in a visual scene. Brain-wide functional imaging in larval zebrafish has revealed hundreds of DS neurons scattered throughout the brain. To identify a behaviorally relevant population of DS neurons, we employed a classical optical illusion, a motion aftereffect (MAE), which causes the well-known “waterfall illusion”. Together with region-specific optogenetic manipulations and cellular-resolution volumetric calcium imaging, we found that MAE-responsive neurons represented merely a fraction of the entire population of DS cells in larval zebrafish. These MAE-responsive neurons were spatially clustered in a nucleus in the ventral lateral pretectal area and are necessary and sufficient for the optokinetic eye movements. Furthermore, genetic targeting of the MAE-responsive neurons revealed neurite projections and neurotransmitter subtypes. Our illusion-based behavioral paradigm, combined with the cellular resolution calcium imaging/optogenetics and morphological reconstruction, identified key circuit elements of global motion processing in the vertebrate brain.

（３）Optic nerve formation by electric fields

山下勝幸（Center for Basic Medical Research, International University of Health and Welfare）

Retinal ganglion cell (RGC) axons converge on the optic disc to form an optic nerve. However, the mechanism of axon convergence remains elusive. In the embryonic retina, the electric field (EF) exists that converges on the future optic disc (Yamashita, BBRC, 2013). The present study demonstrates that RGC axons converge in the in vivo-like focused EF by a fan-shaped microfluidic chip and reveals that integrin underlies electric axon guidance. The cathodal extension of embryonic chick RGC axons, which express integrin α6β1, was enhanced by monoclonal anti-chicken integrin β1 antibodies. Mn^{2+} abolished these EF effects and the axon convergence, as Mn^{2+} occupies the Ca^{2+}-dependent negative regulatory site in the β1 subunit to eliminate Ca^{2+} inhibition. It was suggested that EF-moved Ca^{2+} asymmetrically regulates integrin to trigger axon steering.

（４）ニホンザル外側膝状体における青色応答細胞のＫ層局在

及川達也，鯉田孝和（豊橋技術科学大学）

視覚研究において，解剖学的構造を機能と対応付けることは重要な課題である。霊長類において，網膜 S 錐体由来の視覚情報（青色刺激）は外側膝状体 K 層へ選択的に投射されている。したがって外側膝状体 K 層には青色刺激に応答する細胞が局在している可能性が高い。しかし，K 層に青応答細胞が局在しているかマカクザルで直接示した研究は存在しない。これは K 層が脳深部の微小な構造であるため，高い空間分解能での記録と記録部位の特定が難しいためである。我々はニホンザルを対象に，独自に開発した低侵襲高精細マーキング手法と細胞外シングルユニット記録によって，外側膝状体における青色応答細胞の局在を調べた。記録ユニットは錐体入力を分離する色刺激によって分類された。ユニットが青色 (S+) に選択的応答した場合は，その記録位置で記録電極に双極パルス電流を印加し，電極先端から剥がれた酸化物によってマーキングした。マーキングは，ニスル染色した脳スライスを暗視野観察することで明瞭に特定できた。その結果，全てのマーキング点が外側膝状体の K 層に位置していたことが分かった。以上から，外側膝状体において青色刺激に応答する細胞は K 層に局在することが示された。

（５）アゲハの色覚と初期波長情報処理

蟻川謙太郎（総合研究大学院大学）

花を訪れるとき，アゲハ（Papilio xuthus）は色覚を使う。アゲハの色覚は約 1nm の波長差を識別できるほど鋭敏で，これはヒトと同等である。複眼には，紫外線，紫，青，緑，赤，広帯域感受性の視細胞がある。波長弁別能を調べた行動実験の結果は，アゲハの色覚が紫外―青―緑―赤の 4 色性であることを示唆していた。複眼から入った波長の情報は，神経系でどう処理されるのか?

その端緒をつかむために我々は，視細胞の情報が LMC（二次ニューロン）に 伝達される視葉板(視覚一次中枢)を調べた。視葉板に電極を刺すと，視細胞からはしばしば波長対比性の反応が記録され，分光感度は概して鋭くなっている。一方，LMC からは幅広い分光感度ばかりが記録される。視葉板の神経回路を詳細に調べたところ，視細胞間に多くの抑制性シナプスがある一方，LMC には基本的に全ての視細胞が入力していることが分かった。神経結合のデータに基づくシミュレーションは，記

録される分光感度をよく説明した。波長対比性で分光感度が鋭くなる視細胞は視覚二次中枢まで軸索を伸ばす長視細胞で，回路レベルの波長情報処理はより高次の中枢で起きていると推察できた。LMC が色覚に関わっているとしても，その関与は限定的かも知れない。

（６）Zebrafish retina features two types of rod-bipolar cells

Takeshi Yoshimatsu [1]，Ayana M Hellevik，Philip Mardoum，Joshua Hahn，Yvonne Kölsch，Owen Lawrence，Karthik Shekhar，Joshua R Sanes，Herwig Baier，Tom Baden，Rachel O Wong

（[1] Department of Ophthalmology&Visual Sciences, Washington University in St Louis, USA Principal Investigator, bioRTC, Yobe State University, Nigeria）

The retinas of all vertebrate species share the basic architecture that contains five major neuron classes organised into three nuclear layers. The overall functions of each class are also conserved across vertebrates. However, the structural and functional similarities of each cell type within the same class across vertebrate species are little understood. Here, we used single-cell RNA-sequencing to map the correspondence of bipolar cell (BC) types between mammals and zebrafish. While we did not find clear correspondence of cone-BCs between zebrafish and mammals, we identified two BC types, which we call namely RDB1 and 2, that are transcriptionally similar to mammalian rod-BCs. To uncover whether both RDB1 and 2 are close relatives of mammalian rod-BCs, or if one of them is a diverged type, we examined the circuitries of RDB1 and RDB2 and compared them with mammalian rod-BCs.

We first generated transgenic lines that selectively label RDB1 or RDB2 to reveal the dendritic arrangement and connectivity of these BCs with photoreceptors (PRs). The dendrites of each type independently tile the retina, further confirming that R1- and R2-BCs are distinct BC types. We also found that both BC types share the same PR partner types; rods and red cones. These similarities between RDB1 and 2 suggested that these BCs are a duplication of the conserved rod-BCs. However, by investigating the downstream connectivity of both BC types using block-face serial electron microscopy, we discovered that the post-synaptic AMC types of RDB1 and 2 are distinct. RDB1 mostly synapse onto two morphologically separate AMC types; a narrow-field multi- stratified AMC type and a wide-field AMC type that stratifies in a bottom layer of the IPL. The wide-field AMCs often form reciprocal synapses with RDB1. In contrast, the narrow-field AMCs do not synapse onto RDB1 but rather exclusively synapse onto BC terminals in OFF layers. This pattern of synaptic connectivity resembles that of mammalian rod-BCs to AII and A17 AMCs. In contrast, R2-BC only formed synapses onto wide-field AMCs. These AMCs are morphologically diverse, including both mono- and multi-stratified types.

Taken together, we postulate that the RDB1 circuit is the zebrafish homologue of mammalian rod-pathway, whereas RDB2 circuit is not conserved in mammals. Furthermore, this study revealed that in both mammals and zebrafish, the rod-pathway piggybacks onto the cone-BC pathway through narrow-field multi-stratified AMCs rather than directly synapsing onto ganglion cells. This suggests that the conserved

arrangement of the rod-pathway circuitry is evolutionary ancient, at least originated before the split of teleost and mammalian species.

（７）物体識別における視覚的意思決定の行動・神経メカニズム

岡澤剛起（神経科学研究所（上海，中国））

我々が外界の物体とインタラクションする際には，対象を認識し，それに対し適切な行動を計画する必要がある。私の研究目標は，視覚的物体認知に基づいた意思決定プロセスの解明である。通常，物体認知といえば画像処理の問題として研究されるが，私は知覚的意思決定の枠組みを導入することで物体識別行動(特に顔識別)を定量的にモデル化し，サルが課題遂行中の視覚野・運動関連脳領野の神経活動を理解することを試みてきた。今回は，このアプローチで得られた 2 つの知見を紹介する。第一に，物体認知は，既存のフィードフォワードモデルのように常に瞬時に起こるというわけではなく，時空間情報の蓄積としてよく説明できるということを示す。第二に，物体識別時に運動関連脳領野において蓄積された情報がエンコードされていることを示すとともに，これが神経状態空間中の非線形な多様体上で見られることを明らかにする。これは情報の蓄積が平均発火率の上昇・下降でエンコードされているとする従来の意思決定モデルと反するものである。このように意思決定の側面から見た視覚的物体認知の研究が，新しいコンセプトを提供し始めているということを紹介したい。

（８）視覚皮質の細胞集団を用いた刺激方向復号化における発火数相関の刺激依存性の貢献

田畑由惟 [1]，幸野怜歩 [1]，圓山由子 [2]，森　理也 [3]，伊藤浩之 [1]
([1] 京都産業大学，[2] 函館高専，[3] 津山高専)

感覚皮質細胞のスパイク発火数は同じ刺激を繰り返し与えられても大きな試行間変動を示すことが知られている。Brain-Machine Interface (BMI) においては，同時記録された複数細胞の単一試行での集団活動から刺激情報を復号化することが中心的な課題である。我々は麻酔下ネコの視覚皮質から 16 方向の moving bar 刺激提示下で近接した複数の細胞活動を同時記録した。圓山らの先行研究（Maruyama & Ito, 2013）では各細胞の発火数の試行間変動は独立ではなく，細胞ペア間には有限な発火数相関が存在することを報告した。さらに，一部の細胞ペア間では発火数相関は固定化しておらず，刺激方向に依存して有意な変動を示すことを発見した。本研究の目的は，発火数相関およびその刺激依存変動が細胞集団活動からの刺激方向の復号化においてどのような効果を与えるかを検討することである。

我々は RBF カーネルを用いた非線形 Support Vector Machine (SVM) を適用し，cross validation において最大の正答率をもたらすハイパーパラメタを決定し，復号化モデルを構築した。非線形 SVM は線形 SVM より有意に高い正答率（Wilcoxon，P<0.001，N=35 セッション）を示すことから，復号化において非線形性は本質的であることが結論された。発火数相関およびその刺激依存変動の効果を検証するために，2 種類の bootstrap sample を適用した。最初に，試行シャッフルにより統計的に発火数相関がゼロとなり，各細胞の試行間変動が独立となるデータを生成した。有限の発火数相関を持つ test データは発火数相関がゼロのデータに比べて有意に高い正答率を示した（Wilcoxon, P=0.029, N=35）。次に, 新たな刺激シャッフルの方法を考案し, 各細胞ペア間の発火数相関は 16 刺激方向に渡って平均した有限の値を持つが，刺激依存変動のみを統計的に無くしたデータを生成した。刺激依存性の発火数相関を持つ test データは刺激依存変動を無くしたデータに比べて有意に高い正答率を示した（Wilcoxon，P=0.042，N=35）。さらに各セッションでの細胞集団において，細胞ペア間での発火数相関の刺激依存性検定の統計量（Kruskal-Wallis test の H 値）をすべての細胞ペアに渡って平均した量を細胞集団の刺激依存度合いとして定義した。一方，刺激シャッフルしたデータの正答率から test データの正答率の増加比率を計算した。正答率の増加比率と細胞集団の刺激依存度合いの間には有意な正の相関関係が存在することを確認した （r=0.36, P=0.033）。発火数相関において，より大きな刺激依存度

合いを持つ細胞集団は，より大きな正答率の増加比率を示す傾向があることが結論された。我々の発見は発火数相関とその刺激依存性は，個々の細胞の発火数のみを用いた細胞集団符号化モデルに付加的な復号化情報をもたらすことを示唆しており，BMI への応用が期待できる。

（９）コントラスト依存の空間周波数チューニングダイナミクスとその信号伝達の最適化

田中宏喜，澤田凌平（京都産業大学 情報理工学部）

脳視覚系の重要な課題の一つは，絶えず変化する視覚環境にたいして最適な情報伝達を行うことである。脳内で画像情報は，方位や空間周波数（SF）に鋭いチューニングを示す第一次視覚野（V1 野）細胞集団により，局所の輪郭特徴に分解して伝達される。外界の正確な認識のためには画像情報は詳細に伝達されることが望ましいが，自然界のシーンの中では細かな特徴ほど信号は弱くなる。V1 野細胞の SF チューニングカーブは刺激コントラストに依存して変化し，コントラストが高いときほど高空間周波数側の振幅が大きくなることが報告されているが（Sceniak et al 2002），このことは，細胞が低コントラストでは（信号の強い）粗い特徴を用いて刺激情報を頑強に伝達することを優先し，高コントラストでは細かな特徴を用いた詳細な画像情報伝達を優先していることを示唆する。しかし，こうしたコントラスト依存の SF 情報伝達最適化の神経メカニズムの詳細は不明である。

V1 野細胞にサイン縞刺激を短時間呈示すると，細胞はそれからおよそ 20~80 ミリ秒後の時間帯に応答するが，時間がたつにつれ，多くの細胞の最適 SF は高くなり，バンド幅は狭くなる。今回このチューニングの時間変化がコントラスト依存の SF 伝達の最適化に寄与するかどうかを検証した。様々なコントラスト下で方位および SF をランダムに変化させたサイン波刺激にたいするネコ V1 野細胞の応答を記録し，逆相関法により SF チューニングカーブの時間変化を求めた。多くの細胞において最適 SF は時間とともに高周波側へとシフトしたが，そのシフト量はコントラストに依存し，低コントラストではあまり大きなシフトはみられなかった。バンド幅の時間変化は，低コントラストでは全体的に減少する傾向がみられたが，高コントラストでは細胞間で多様性がみられ，最適 SF シフトの大きい細胞は，チューニングカーブが高周波領域に限局するようにバンド幅を減少させたのにたいし，シフトの小さい細胞は，高周波領域を十分含むようにバンド幅を増加させた。いずれの細胞でも，高コントラストほど高空間周波数信号の伝達が促進されるように SF チューニングカーブが時間変化した。

以上の結果は，SF チューニングの時間変化は，コントラストに依存した SF 信号伝達の最 適化に大きく寄与していることを示す。この変化には最適 SF シフトを伴いながらバンド幅を減少させるメカニズムと，シフトを伴わずにバンド幅を増加させるメカニズムの 2 つが関与していることが示唆される。

V1 野では，SF チューニング以外にも，両眼視差，サイズ，方位など多くの視覚特徴にたいしてチューニングカーブの時間変化が観察されてきた。その機能的意義として，先に検出した粗い特徴を拘束条件に用いて詳細な処理を行う coarse-to-fine アルゴリズムへの関与が提案されてきたが，直接的な証拠が示されたわけではない。今回の結果から，チューニング時間変化の主要な機能は，（眼球運動のたびに大きく変化しうる）受容野内の刺激の輝度やコントラストなどに合わせてチューニングカーブを素早く調節し，その特徴の伝達を最適化することであると考えられる。

（10）マウス側頭皮質のサイズ表現領域は正/負の行動に関与する可能性がある

西尾奈々[1,2,3]　澁木克栄[4]　大木研一[1,2,3]
（[1]東京大院医統合生理，[2]東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構
[3]Beyond AI 研究推進機構，[4]新潟大脳研基礎神経科学システム脳生理）

霊長類の視覚情報処理は，大きく 2 つの経路，背側経路と腹側経路に分けられることが明らかにされている。このうち腹側経路は What pathway とも呼ばれ，見たものの物体認知に機能すると考えられている。様々な実験ツールを適用できる有用なモデル動物マウスの視覚情報処理についても近年研究が進められており，一次視覚野の周囲にある高次視覚野群のうち，内側・前方の群は背側経路に，側方の群は腹側経路に分かれることが報告されているが，それ以降の経路は不明であった。我々は GCaMP トランスジェニックマウスを用いて覚醒下で広域カルシウムイメージングを行い，これまで視覚応答が知られていなかった側頭皮質の一部が顕著な視覚応答特性を持つことを見出した。今回 temporal visual field (TVF) と呼ぶこととした本領域の特に興味深い応答性は，刺激の物体サイズに従って応答位置がシフトするというものである。すなわち，小さいサイズの物体刺激に対しては領域後方が，大きいサイズの物体刺激に対しては領域前方が応答するという，物体サイズを表現するような反応を示した。本研究会ではその応答性の詳細と，前方領域(大サイズ領域)と後方領域(小サイズ領域)の神経投射パターンの違い，さらには正/負の情動行動との関連性について報告した。

13. 次世代シナプス生理学による脳神経機能の理解

2022 年 12 月 8 日－12 月 9 日

代表・世話人：山下貴之（藤田医科大学）
所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（１）大脳ネットワークによる情報処理のマルチスケールイメージング

松井鉄平（岡山大学）

（２）マウス側頭皮質のサイズ表現領域は接近/警戒行動に関与する可能性がある

西尾奈々（東京大学）

（３）覚醒行動中のマウス一次体性感覚野へ入力するシナプスの経路特異的な光遺伝学的機能検討

河谷昌泰（藤田医科大学）

（４）視床回路のリモデリング機構とその意義

宮田麻理子（東京女子医科大学）

（５）海馬苔状線維シナプス前終末における RIM-BP2 の役割

宮野里菜子（同志社大学）

（６）海馬神経細胞の樹状突起における低 Cl^- 濃度依存的な興奮性入力の非対称調節

森田雅登（京都大学）

（７）可視化により探る 多様な細胞外シグナル動態

稲生大輔（大阪大学）

（８）中脳皮質ドーパミン軸索が符号化する嫌悪信号と学習による強化

佐藤達雄（鹿児島大学）

（９）睡眠時の記憶回路再編

宮本大祐（富山大学）

（10）Roles of PTPδ in postnatal development of climbing fiber to Purkinje cell synapses in the mouse cerebellum

奥野優人（東京大学）

（11）生後マウス一次視覚野 6b 層に残るサブプレートニューロンの経験依存的な可塑性

米田泰輔（生理学研究所）

（12）A cartographic and morphometric analysis of neuronal spines in m6A reader-deficient mice

Shengqun Hou（理化学研究所）

（13）CDK5/p35 は微小管の動態を調節することで軸索起始部の可塑性に関わる

安達良太（名古屋大学）

（14）近位依存性ビオチン標識(BioID)技術によるシナプスプロテオーム

髙野哲也（慶応義塾大学）

【参加者名】

塚原飛央（University of Michigan），稲生大輔（大阪大学），松井鉄平（岡山大学），佐藤達雄（鹿児島大学），高野哲也（慶応義塾大学），宮田麻里子（東京女子医科大学），宮本大祐（富山大学），越智翔平（東北大学），金谷哲平（東北大学），鄭　富檬（北海道大学），掛川渉（慶應義塾大学），荒井　格（慶應義塾大学），石川理子（慶應義塾大学），松田恵子（慶應義塾大学），大石光洋（慶應義塾大学），会見昂大（慶應義塾大学），入江智彦（国立医薬品食品衛生研究所），實木　亨（三重大学），田川義晃（鹿児島大学），奥野浩行（鹿児島大学），山下愛美（大阪医科薬科大学），小西克侑（大阪大学），矢島愛美（鶴見大学），渡部文子（東京慈恵

会医科大学），中村行宏（東京慈恵会医科大学），石川太郎（東京慈恵会医科大学），高橋由香里（東京慈恵会医科大学），杉村弥恵（東京慈恵会医科大学），佐藤奈保子（東京慈恵会医科大学），緑川光春（東京女子医科大学），植田禎史（東京女子医科大学），丸山拓真（東京女子医科大学），真鍋俊也（東京大学），岡部繁男（東京大学），狩野方伸（東京大学），柏木有太郎（東京大学），丸岡久人（東京大学），渡邉貴樹（東京大学），野呂高之（東京大学），奥野優人（東京大学），藤野修平（東京大学），Zhang Shu（東京大学），木村梨絵（東京大学），西尾奈々（東京大学），張　剣玲（東京大学），鳥羽拓馬（東京大学），越膳真弓（東京大学），Oveis Hosseinzadeh Sahafi（東京大学），酒井誠一郎（東京都医学総合研究所），瀧川健司（東京都健康長寿医療センター研究所），西宗裕史（東京都健康長寿医療センター研究所），河谷昌泰（藤田医科大学），山下貴之（藤田医科大学），久場博司（名古屋大学），高橋康史（名古屋大学），山田　玲（名古屋大学），安達良太（名古屋大学），水田恒太郎（理化学研究所），HOU SHENGQUN（理化学研究所），田熊大輝（京都大学），杉本優友（京都大学），川口真也（京都大学），井下拓真（京都大学），田中洋光（京都大学），森田雅登（京都大学），古川　慧（京都大学），清水　優（京都大学），東 玲於（京都大学），大川理久（京都大学），坂場武史（同志社大学），三木崇史（同志社大学），河野洋幸（同志社大学），平井向日葵（同志社大学），宮野里菜子（同志社大学），田淵詠梨（同志社大学），塙　京子（同志社大学），冨岡良平（熊本大学），松本晋司（ソフトバンク㈱），村越秀治（生理学研究所），鳴島　円（生理学研究所），佐竹伸一郎（生理学研究所），植田大海（生理学研究所），萩原　淳（生理学研究所），長澤裕太郎（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），林　健二（生理学研究所），米田泰輔（生理学研究所），小松由紀夫（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），髙木正浩（生理学研究所）

【概要】

シナプスは神経細胞同士の情報交換の場であり，記憶・学習をはじめとした様々な脳機能が発揮されるための重要な構成素子である。本研究会は，シナプスにおける情報伝達の仕組みやその発達・修飾機構に関する最新の知見について情報交換を行う機会として毎年開催されてきた。近年の神経科学分野では，様々な技術の進展により脳機能発現のメカニズムを回路・細胞レベルで解明しようという試みが盛んであり，中には分子・シナプスレベルまで落とし込んで解析を進めるものも見られるようになってきた。そこで今年度の本会は，脳神経系を舞台に分子・シナプス・細胞・回路・生体システムといった多くの階層で起きる生命現象を扱う演題を集め，参加者に最新の潮流をつかんでいただくという狙いを持って企画した。準備段階ではポスター発表も行う予定ではあったものの，新型コロナウイルス感染拡大状況に鑑み，ポスター発表を中止し，現地とオンラインのハイブリッドでの開催とした。ポスター発表予定であった演題をすべてショートトークとしてプログラムに組み込み，招待講演 6 題，一般口演 2 題，ショートトーク 6 題の口頭発表が 2 日間に渡って行われた。in vivo 標本を用いた計測によるマーモセットやげっ歯類の感覚情報処理や学習による回路変化の解析，in vitro 標本を用いた計測による樹状突起や軸索，スパイン，伝達物質放出の解析，新しい蛍光プローブや近接するタンパク質の標識法の開発など，多岐に渡る内容の興味深い発表が続いた。従来から続くシナプス生理学研究に加え，回路・システムレベルの方向性を持つ研究と分子レベルの方向性を持つ研究が混在した研究発表会となった。現地参加者は 28 名で，オンラインでも常時 50~60 人前後が接続しており，発表後は，現地のみならずオンラインからの質問も多く，活発な議論が行われた。本研究会をきっかけとして各参加者に新たな研究方向性や共同研究が生まれることが期待される。

（１）大脳ネットワークによる情報処理のマルチスケールイメージング

松井鉄平（岡山大学 学術研究院自然科学学域 理学部生物学科）

生物の脳による情報処理の原理を明らかにすることには，新しい機械学習手法の開発のような工学的応用も視野に入れた幅広い関心が集まっています。カルシウムイメージングを始めとした脳機能イメージングは脳による情報処理を担う多数の神経細胞の協調的な活動を捉えるための重要な技術です。近年の遺伝子コード型カルシウムセンサーやその遺伝子の導入技術の進展により，こうした技術の適用範囲はマウスやセブラフィッシュといった小型のモデル動物だけでなくラットやサルのような中型・大型動物に広がっています。この講演では，最近私たちが行ったマーモセットサルの視覚情報処理に関する研究をご紹介します。また時間が許せば，生物の脳の特徴である自発的活動と感覚応答との相互作用についての最近の研究もご紹介したいと思います。

（２）マウス側頭皮質のサイズ表現領域は接近/警戒行動に関与する可能性がある

西尾奈々[1,2,3]，澁木克栄[4]，大木研一[1,2,3]
（[1]東京大院医統合生理，[2]東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構
[3]J Beyond AI 研究推進機構，[4]新潟大脳研基礎神経科学システム脳生理）

霊長類の視覚情報処理は，大きく 2 つの経路，背側経路と腹側経路に分けられることが明らかにされている。このうち腹側経路は What pathway とも呼ばれ，見たものの物体認知に機能すると考えられている。様々な実験ツールを適用できる有用なモデル動物マウスの視覚情報処理についても近年研究が進められており，一次視覚野の周囲にある高次視覚野群のうち，内側・前方の群は背側経路に，側方の群は腹側経路に分かれることが報告されているが，それ以降の経路は不明であった。我々は GCaMP トランスジェニックマウスを用いて覚醒下で広域カルシウムイメージングを行い，これまで視覚応答が知られていなかった側頭皮質の一部が顕著な視覚応答特性を持つことを見出した。今回 temporal visual field (TVF) と呼ぶこととした本領域の特に興味深い応答性は，刺激の物体サイズに従って応答位置がシフトするというものである。すなわち，小さいサイズの物体刺激に対しては領域後方が，大きいサイズの物体刺激に対しては領域前方が応答するという，物体サイズを表現するような反応を示した。本研究会ではその視覚応答性の詳細 0 と，前方領域（大サイズ領域）と後方領域（小サイズ領域）の神経投射パターンの違い，接近/警戒など情動行動と関連する刺激に対する応答性，さらには視覚刺激に対する行動実験の結果を報告した。

（３）覚醒行動中のマウス一次体性感覚野へ入力するシナプスの経路特異的な光遺伝学的機能検討

河谷昌泰[1,2]，山下貴之[1]（[1]藤田医科大学・医学部・生理学，[2]名古屋大学・医学系研究科・機能組織学）

In the primary somatosensory barrel cortex of the whisker region (wS1), spontaneous movements of whiskers (whisking) influence neuronal activities and modulate sensory perception (Poulet and Petersen, 2008, PMID: 18633351). However, neural circuit mechanisms of such motor-related wS1 modulation are not fully understood. Here, we performed 32-Ch silicone probe recordings from wS1 in awake behaving mice while inhibiting synaptic inputs sent from specific brain regions using optogenetics. We introduced the expression of eOPN3, an inhibitory GPCR opsin, in the neurons of the whisker thalamus (Thal), the primary whisker-motor cortex (wM1), or the secondary whisker somatosensory cortex (wS2) and photo-inhibited their axonal terminals in wS1 during spontaneous whisking behaviors. Spontaneous whisking induced an increase

or a decrease in the spike rate of a fraction of wS1 neurons (increase: 20±3 %, decrease: 42±10 %, n = 209 units, from 6 mice). Photo-inhibition of wM1→wS1 inputs did not affect such whisking-related spike rate changes in wS1 (n = 2 mice). In contrast, photo-inhibition of wS2→wS1 inputs abolished the whisking- related changes in wS1 (n = 2 mice). Photo-inhibition of Thal→wS1 inputs increased overall spike rates in wS1 during quiet wakefulness and during whisking by inhibiting the reduction of whisking-related spiking (n = 2 mice). The spike rates in wS1 during quiet wakefulness were not affected by photo-inhibition of wM1→wS1 and wS2→wS1 inputs. These results thus suggest the differential contribution of top-down and bottom-up signal inputs to whisking- related activity dynamics in wS1, highlighting wS2, not wM1, critical for whisking-related changes in the wS1 activity.

（４）視床回路のリモデリング機構とその意義

宮田麻理子（東京女子医科大学・医学部・生理学講座・神経生理学分野）

視床は脳内最大の神経核です。ほとんどすべての感覚情報は視床を介して大脳皮質の広範囲に投射される一方で，小脳，大脳基底核，視床下部，扁桃核など脳の様々な部位とも神経結合をつくり，情報の密なやりとりをしています。いわば，視床は脳のハブ的役割をしているといっても過言ではありません。

古くは視床に対して，「視床は単なる中継核である」「視床には可塑性がない」といったイメージを持たれていました。しかし，昨今そのイメージは崩れつつあります。我々の研究で，視床回路がダイナミックにリモデリングすることが明らかになり，また in vivo の実験から新たな視床の役割が明らかになりつつあります。

例えば，視床回路は生後の発達期において必要なシナプスが残り，不必要なシナプスが除去されるシナプス刈り込みが生じますが，我々の研究でそれが感覚経験依存的に行われ体部位情報の先鋭化に必須であることが明らかになりました（Takeuchi et al., J. Neurosci. 2014）。また，発達期においては，出来上がったばかりの脆弱な視床回路は感覚経験によって積極的に維持されていること，そこには皮質から視床への Feedback 回路を介した分子機構があることも明らかにしてきました（Narushima et al., Neuron 2016, Narushima Plos One et al., 2018）。さらには，今まで全く謎に包まれていた，シナプス刈り込み過程におけるプレシナプス機能の変化についても，視床回路のリモデリングを研究することでその一端が明らかになりました（Midorikawa and Miyata, PNAS, 2021）。

今回の研究会では，我々の研究室が明らかにしてきた知見を中心とし，視床回路のリモデリング機構とその意義について紹介しつつ，視床の機能，可塑性について皆さまと一緒に考えたいと思います。

（５）海馬苔状線維シナプス前終末における RIM-BP2 の役割

宮野里菜子（同志社大学大学院脳科学研究科 シナプス分子機能部門）

神経細胞どうしの情報伝達に必要なシナプス小胞の開口放出は，シナプス前終末のアクティブゾーンで起こる。アクティブゾーンに存在する様々なタンパク質がお互いに, あるいはシナプス小胞や Ca^{2+} チャネルと相互作用することで, シナプス小胞の膜融合や Ca^{2+} チャネルの局在を制御し，開口放出を調節している。シナプス小胞の開口放出確率はシナプスの種類によって異なり，Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞の距離が近いシナプスでは放出確率が高く，距離が遠いシナプスでは放出確率が低い。シナプス小胞と Ca^{2+} チャネルの距離の調節にはアクティブゾーンタンパク質が関わっていることから，各アクティブゾーンタンパク質のシナプス前終末における役割を調べることは，各シナプス特有の放出機構について 理解する上で重要である。

アクティブゾーンタンパク質の 1 つである RIM-BP2 は RIM や Ca^{2+} チャネルに結合し，放出確率が高いシナ

プス小胞をもつシナプス（calyx of Held）では Ca^{2+} チャネルの局在に影響を与える。一方，放出確率が低い海馬苔状線維シナプスにおける RIM-BP の機能は，シナプス前終末からの直接記録が難しいことから，あまり研究がすすんでいなかった。

海馬苔状線維シナプス前終末における RIM-BP2 の役割を調べるため，マウスの海馬急性スライス標本を作製し，苔状線維シナプス前終末からパッチクランプ記録を行った。細胞外の Ca^{2+} 濃度や細胞内液の EGTA 濃度を変化させたときの膜容量と Ca^{2+} 電流を測定し，開口放出や Ca^{2+} 流入への影響を WT マウスと RIM-BP2 KO マウスとで比較した。その結果，RIM-BP2 KO では Ca^{2+} 電流の流入量が減少し，それによりシナプス小胞の開口放出量が減少している可能性が示唆された。電気生理学的な実験は時間分解能に優れているが，伝達物質の放出機構を可視化できないため，メカニズムの実体に迫ることができない。そこで，STED 顕微鏡を用いて伝達物質放出に関わるタンパク質の分布や位置関係の解析を行った。電気生理学的手法と超解像顕微鏡を用いた実験により，RIM-BP2 KO マウスでは，シナプス前終末内の P/Q 型 Ca^{2+} チャネルの密度が減少し，それに伴ってシナプス小胞の放出量が減少することが分かった。Calyx of Held シナプスとでは RIM-BP2 の役割が異なることから，このような違いがシナプス特有の放出機構を生み出し，シナプス多様性を作り出す一因となると考えられる。

（６）海馬神経細胞の樹状突起における低 Cl^- 濃度依存的な興奮性入力の非対称調節

森田雅登，川口真也（京都大学大学院理学研究科 生物物理学教室）

神経細胞は多数枝分かれした樹状突起をもち，そこに形成されるシナプスで他細胞から入力を受ける。シナプス入力が樹状突起の中をいかに伝播して細胞体に至るか，という点は，神経細胞の情報統合の基礎となるため盛んに研究されてきた。しかし，微細な樹状突起の先端からパッチクランプ記録することは難しく，また多くの部位からの同時記録は不可能であり，樹状突起での入力伝播はケーブル理論に基づく理論的な推定に大きく依存していたのが実際である。したがって，シナプス入力が樹状突起内を伝わるときの時空間的な変化の実態はあまり分かっていない。近年，膜電位変化を蛍光タンパク質で検知する膜電位蛍光イメージングが急速に発達している。そこで本研究では，膜電位感受性蛍光タンパク質 ASAP の改良版を培養海馬神経細胞に発現させ，樹状突起へ局所グルタミン酸アンケージングを行って EPSP を惹起し，その EPSP が樹状突起をどのように伝わるかを時空間的に解析した。

従来の想定通り，刺激点から細胞体方向に向かって EPSP は減弱しながら伝わった。驚くべきことに，刺激点から樹状突起の末端方向へ伝わる際には EPSP の大きさが増大することが分かった。一方，GABA の局所アンケージングによる IPSP は，樹状突起で両方向ともに減衰しながら伝播した。このことから，海馬錐体細胞においては，グルタミン酸性の興奮性入力は伝播方向に依存して真逆の修飾をうけることが明らかとなった。この EPSP の方向依存的な修飾の分子メカニズムを薬理学的に調べたところ，NMDA 型受容体，Ca^{2+} チャネル，K^+ チャネル等の阻害には影響を受けず，TTX 非感受性 Na^+ チャネルおよび Cl^-トランスポーターKCC2 の阻害により影響されることが分かった。次に樹状突起から直接パッチクランプ記録をして，局所的な静止膜電位を測定すると，樹状突起では遠位ほど静止膜電位が細胞体より過分極する傾向にあり，その深い電位は KCC2 に依存することが分かった。したがって，樹状突起の先端に近づくにしたがって Cl^- 濃度が低いことに依存して静止膜電位が深くなると考えられ，それにより EPSP が伝播する際にその方向に応じて膜電位変化を修飾する可能性が示唆された。

（７）可視化により探る 多様な細胞外シグナル動態

稲生大輔（大阪大学大学院医学系研究科 統合薬理学）

脳内では認知・記憶・意思決定といった様々な情報処理が達成されているが, その多様性の鍵を握るのが細胞外シグナル伝達である。脳の細胞外では数百種類にわたる分子が情報伝達を介在すると想定されているが, 生きた脳内における局所動態は未だ不明な点が多く, その計測法の開発は強く求められている。そこで我々は本課題の解決を目指すべく, 細胞外シグナル分子が結合すると明るく光るタンパク質型蛍光センサーの開発を進めている。本研究ではまず，“幸せホルモン”と呼ばれる神経ペプチド オキシトシンに対する蛍光センサーの開発を行った。オキシトシン受容体と蛍光タンパク質のキメラ分子に対して指向性分子進化をほどこし, 明るさが最大 8 倍変化する超高感度センサーの開発に成功した。本センサーを生きたマウスの脳に導入し, 生体内におけるオキシトシンの脳内動態をリアルタイムで捉えることを試みた。興味深いことに，刺激の種類や動物の行動パターンに依存して, 脳内のオキシトシンシグナルは多用な動態を示すことが明らかとなった。さらに, オキシトシン以外の分子に対する蛍光センサーの開発も行った。オキシトシンセンサーの蛍光モジュール部位を切り出し, その他のシグナル分子受容体の対応部位に付加することで，オキシトシン以外の 24 種のリガンドに対する機能的な蛍光センサーを開発することにも成功した。

（８）中脳皮質ドーパミン軸索が符号化する嫌悪信号と学習による強化

佐藤達雄（鹿児島大学 医歯学総合研究科）

中脳ドーパミン細胞は，皮質投射を介して大脳皮質前頭前野の情報処理に影響を与える。しかし，この投射が実際にどのような信号を伝えているか不明な点が多かった。そこで，この研究では皮質投射ドーパミン軸索が，報酬・嫌悪情報処理およびその学習においてどのような発火活動を示すか調べた。まず，マイクロプリズムにて皮質投射ドーパミン軸索を二光子測光する手法を確立した。この手法を用いて，ドーパミン軸索の報酬および嫌悪刺激に対する応答を調べると，多くの軸索は両方に応答したが，嫌悪に対する選択性が高かった。次に，このドーパミン軸索の選択性が学習においてどう変わるかを調べた。報酬もしくは嫌悪刺激それぞれに先行する音を条件付けしても（パブロフ条件付け），ドーパミン軸索の嫌悪刺激に対する選択性は高いままであった（無条件付け刺激 Unconditioned Stimulus 応答）。しかしながら，報酬条件付け音および嫌悪条件付け音に対しては，学習初期は選択性がなかったが，徐々に嫌悪条件付け音に対して強く応答するようになった（条件付け刺激 Conditioned Stimulus 応答）。最後に，この CS 応答のトライアル毎のばらつきが，マウスが CS を識別とどのように関連するかを調べた。Anticipatory licking もしくは顔の表情用いた機械学習にて，各トライアルの CS 識別を予測した。マウスが CS を識別できたトライアルでは，CS 応答は嫌悪条件に選択性が高かった。これらの結果により，皮質投射ドーパミン軸索は報酬予測誤差を符号化しておらず，saliency 信号を符号化し，その信号は学習にて嫌悪情報処理に偏っていくことが明らかになった。

（９）睡眠時の記憶回路再編

宮本大祐（富山大学 学術研究部医学系(兼)研究推進機構アイドリング脳科学研究センター）

睡眠中の脳は感覚入力や運動出力から隔離されているが，自発的に神経活動を生じて回路を再編する。機械学習モデルの一つである覚醒-睡眠アルゴリズムでは，覚醒時のボトムアップの情報の流れと睡眠時のトップダウン

の情報の流れが神経回路を再編すると仮定している。しかし，生体における覚醒時と睡眠時を通じたトップダウン回路の動態は未解明であった。そこで，マウスを用いて in vivo 二光子イメージングを行い，トップダウン入力を受ける一次運動皮質 I 層におけるスパイン AMPA 受容体量の変化を解析した。平均 AMPA 受容体量は運動学習によって増加して，学習後の睡眠によって減少した。学習後の AMPA 受容体量の減少は断眠によって阻害された。各スパインにおける学習による変化と睡眠による変化は相関しており，この相関は断眠によって消失した。学習によって AMPA 受容体量の増加したスパインは睡眠や断眠の影響を受けずに保護されていたのに対して，その他のスパインは睡眠時に AMPA 受容体量が減少した。これらの学習と睡眠によるシナプス動態は，神経回路の恒常性と記憶の固定化の両立に役立つと考えられる。

（10）Roles of PTPδ in postnatal development of climbing fiber to Purkinje cell synapses in the mouse cerebellum

Yuto Okuno[1]，Takaki Watanabe[1,2]，Masanobu Kano[1,2]
（[1]Dept. of Neurophysiol., Grad. Sch. of Med., Univ. of Tokyo，[2]WPI-IRCN, UTIAS, Univ. of Tokyo）

In the developing brain, functionally mature neural circuits are formed by strengthening of necessary synaptic connections and elimination of early formed redundant ones. In the cerebellum of neonatal mice, each Purkinje cell (PC) receives excitatory synaptic inputs from multiple climbing fibers (CFs) that are terminal branches of axons originating from inferior olivary neurons in the contralateral Medulla oblongata. Multiple CFs have similar synaptic strengths around postnatal day 3 (P3) and a single CF is strengthened in each PC from P3 to P7. Then, synapses from the other weaker CFs are eliminated from around P8 to P17, and only the strengthened CF extends its synaptic territory along PC dendrite (CF translocation) from around P9. Although mechanisms underlying CF synapse elimination in PCs have been investigated intensively, relatively little is known about those in CFs. In the present study, we focused on PTPδ which is member of leukocyte common antigen-related (LAR)-type receptor phosphotyrosine-phosphatases (LAR-RPTPs) and are known as key organizers of synapse formation. We investigated whether PTPδ in CFs are involved in CF synapse formation or CF translocation in the developing mouse cerebellum. First, we analyzed global Ptprd-knockout (KO) mice to examine the role of Ptprd in CF translocation and CF synaptic function. We estimated the number of CFs innervating each PC by recording CF-mediated excitatory postsynaptic currents (CF-EPSCs) from PCs in cerebellar slices of wild type (WT) and Ptprd-KO mice. We found that CF synapse elimination was accelerated in Ptprd-KO mice postnatal 8-12 (P8-12). Then the amplitude of CF-EPSCs in Ptprd-KO PCs was significantly smaller than that in WT PCs at P8-30. Our morphological analysis also revealed that CF translocation was impaired in Ptprd-KO mice at P12 to P30. Finally, we generated mice with CF-specific RNAi-knockdown (KD) by injecting lentivirus carrying the corresponding microRNAs into the inferior olive at P0 to P2. We found that CF synapse elimination in Ptprd-KD mice was accelerated at P10-13. These results suggest that presynaptic PTPδ counteracts synapse elimination in the developing cerebellum.

（11）生後マウス一次視覚野 6b 層に残るサブプレートニューロンの経験依存的な可塑性

米田泰輔，林　健二，吉村由美子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門）

大脳皮質の神経回路は，その形成過程において経験依存的な可塑性によって調整される。大脳皮質発生の最初期に誕生するサブプレートニューロンは，神経回路形成の基礎を担った後にその多くは細胞死によって消失する。

生き残ったサブプレートニューロンは大脳皮質の 6b 層に配置されるが，6b 層は皮質最深部にあり，細胞数が少なく，しかもヘテロな細胞集団によって構成されているため，残存するサブプレートニューロンの機能解析は困難である。

これまでの研究で，サブプレートニューロンは成熟マウスの神経回路に組み込まれ，感覚応答を示し，特定の行動に関連することが示唆されている。また出生直後の大脳皮質感覚野では，サブプレートニューロンの神経突起が感覚入力依存的に変化する。従って大脳皮質のニューロンが顕著な可塑性を示す感受性期に，サブプレートニューロンの機能が経験依存的に変化することが予想されるが，これまでに直接的な証拠はない。

我々は生後 3-4 週齢の感受性期マウス一次視覚野において，サブプレートニューロンの視覚反応特性と可塑性を調べた。2 光子カルシウムイメージングと，サブプレートニューロンマーカーを用いた三次元染色を組み合わせることで，生後脳に残るサブプレートニューロンの明瞭な視覚応答を検出した。成熟マウスにおける先行研究と一致して，感受性期マウスのサブプレートニューロンはブロードな方位/方向選択性を示した。またサブプレートニューロンが低い空間周波数選択性と高い両眼性を持つことが新たに明らかになった。さらに我々は繰り返しイメージングによって，サブプレートニューロンが視覚経験依存的な可塑性を示すことを見出した。サブプレートニューロンには安定した視覚応答を示す細胞集団と，顕著な可塑性を示す集団が存在した。

これらの結果は，生き残ったサブプレートニューロンは経験依存的可塑性によって機能が調節され，大脳皮質のニューロンと協調して働く可能性を示唆する。

（12）A cartographic and morphometric analysis of neuronal spines in m6A reader-deficient mice

Shengqun Hou [1,2]，Momoe Sukegawa [1,2]，Dan Ohtan Wang [1,2]
（[1]Center for Biosystems Dynamics Research, RIKEN，[2]Graduate School of Biostudies, Kyoto University）

The morphological features of dendritic spines are highly dynamic and correlated to synapse maturation, plasticity, learning and memory. Recently, a new mode of gene regulation, epitranscriptomics, has emerged as a versatile and powerful post-transcriptional regulatory pathway to regulate spines and synapses; the prevalent mRNA modification N6-methyladenosine (m6A) is a critical component in multiple learning and memory paradigms such as motor learning, spatial memory, fear consolidation and extinction, etc. Previously, we have cataloged thousands of m6A-modified RNAs in the synaptic compartments and demonstrated that the loss of the cytoplasmic.

（13）CDK5/p35 は微小管の動態を調節することで軸索起始部の可塑性に関わる

安達良太，Israt Jahan，野村春香，江川　遼，久場博司（名古屋大学大学院医学系研究科 細胞生理学）

神経細胞は軸索の細胞体近傍に軸索起始部(AIS)と呼ばれる構造を持つ。AIS では微小管が極性を揃えて fascicle を形成し，そこに足場タンパク質である AnkyrinG を介して電位依存性の Na^+ チャネルが高密度に集積する。その結果，AIS では活動電位が発生し易くなっている。このように AIS は軸索の他の部分とは構造的機能的に異なっており，神経細胞は活動に応じて AIS の長さや位置を変化させることで，神経回路機能の恒常性を維持している。この AIS の構造的可塑性は多くの神経細胞で見られるが，その分子機序については十分に解明されていない。

そこで本研究では，AIS の成熟，可塑性に関する研究が進んでいるニワトリの蝸牛神経核である大細胞核を対象に，切片培養を用いて AIS 可塑性の制御に関わる分子の探索を行なった。切片培養の大細胞核神経細胞を高 K^+ 培地で処理すると，AIS の短縮と，Na^+ 電流や膜興奮性の減少が見られ，生体内の AIS 可塑性の特徴をほぼ再現した。 薬理学的解析により，この AIS の短縮には複数の

Ca^{2+} シグナル伝達経路が働き，最終的に CDK5 に収束することが判明した。AIS の短縮は CDK5 のドミナントネガティブ変異体の過剰発現により抑制されたが，CDK5 の活性化因子である p35 の過剰発現により促進された。また，p35 の過剰発現による AIS 短縮は，微小管安定化剤であるタキソールによって阻害された。以上の結果は，CDK5/p35 が AIS 遠位部における微小管の動態を制御することにより，AIS の短縮に関与することを示している。

（14）近位依存性ビオチン標識（BioID）技術によるシナプスプロテオーム

髙野哲也 [1,2]

（[1] 慶應義塾大学医学部生理学（神経生理）教室，[2] 国立研究開発法人・科学技術振興機構/さきがけ）

星の輝きのような多数の微細突起を有するアストロサイト（星状膠細胞）は，神経細胞のシナプスとの間に三者間シナプス（Tripartite synapse）と呼ばれる細胞接着構造を形成する。これまでに，アストロサイトがこの三者間シナプスを介して神経回路網の再構築，シナプス伝達や可塑性を制御していることが明らかになってきている。しかしながら，これまでのプロテオーム技術では脳内のアストロサイトー神経細胞間という特定の細胞間相互作用を構成するタンパク質成分を抽出し，そして解析することは出来なかった。その為に，アストロサイトがどのようにしてシナプスの形成や機能を制御しているのか，これまで未解明な点が多かった。近年，プロテオーム技術の中でも特に注目が集まっているのが近依存性ビオチン標識（BioID）技術である。この方法は，ビオチン化酵素を用いて標的タンパク質の周囲 10 nm 範囲内に存在するタンパク質をビオチン標識する手法である。ビオチン標識されたタンパク質は，アビジンービオチン結合を利用することで容易にタンパク質成分の解析が可能である。この BioID 技術を応用して，私達は新たな空間的シナプスプロテオーム技術として Split-TurboID 法を開発してきた。この方法は，高活性型ビオチン化酵素 TurboID を N 末端と C 末端に分割し，特定の細胞間接着部位でのみビオチン活性を再構成させることで細胞間隙に存在するタンパク質成分を網羅的に同定する技術である。実際に，この Split-TurboID 法を用いて脳内の三者間シナプスを構成するタンパク質成分を同定し，アストロサイトが神経回路の活動を直接的に制御する全く新しい分子機序を明らかにしてきた。そこで，本講演ではこれらの空間的シナプスプロテオーム技術について紹介し，脳内のシナプス特異的な分子制御機構について議論したい。

14. 細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線

2022 年 9 月 15 日－9 月 16 日

代表・世話人：日比野　浩（大阪大学大学院医学系研究科）
所内対応者：根本知己（自然科学研究機 生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門）

〔口頭発表〕

（１）神経細胞 cAMP 動態解明を目指した cAMP 蛍光プローブの開発とライブイメージング

○川田聖香，齋藤直人（同志社大学生命医科学研究科 医生命システム専攻 神経生理学研究室）

（２）Application of green enhanced nano-lantern as a bioluminescent ratiometric indicator for measurement of Arabidopsis thaliana root apoplastic fluid pH

○Quang Tran [1,2]，Kenji Osabe [1,2]，Tetsuyuki Entani [1]，Tetsuichi Wazawa [1]，Mitsuru Hattori [1,2]，Takeharu Nagai [1,2]
([1] 大阪大学 産業科学研究所 生体分子機能科学研究分野（永井研究室），
[2] Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University）

（３）可視化により見えてきた複雑な脳内オキシトシン動態

○稲生大輔 [1,2]，田中雄大 [2,3]，日比野 浩 [1]，西山正章 [2]
([1] 大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 統合薬理学，[2] 金沢大学医薬保健研究域医学系 組織細胞学
[3] 金沢大学医薬保健研究域医学系 分子細胞病理学）

（４）Alphafold2 による遺伝子にコードされた FRET 型カルシウム指示薬の設計

○酒井伸弥 [1]，岡崎圭一 [2]，松田知己 [3]，永井健治 [1,3]
([1] 大阪大学大学院生命機能研究科，[2] 分子科学研究所 計算科学研究センター
[3] 大阪大学 産業科学研究所 生体分子機能科学研究分野（永井研究室））

（５）In vivo カルシウムイメージングによるマウス生体内β細胞の活動様式解明

○金丸和典 [1]，太向　勇 [1]，陳 開 [1]，茂木優貴 [1]，平岡優一 [2]，飯野正光 [1]
([1] 日本大学医学部 生理学分野，[2] 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学）

（６）睡眠発達を支える細胞集団とその細胞内シグナルの理解

○昆　一弘 [1]，大出晃士 [1,2]，上田泰己 [1,2]
([1] 東京大学大学院医学系研究科 システムズ薬理学教室
[2] 理化学研究所生命機能科学研究センター 合成生物学研究チーム）

（７）Förster resonance energy transfer-based kinase mutation phenotyping reveals an aberrant facilitation of Ca^{2+}/calmodulin-dependent CaMKIIα activity in *de novo* mutations related to intellectual disability

○Hajime Fujii[1]，Hiroyuki Kidokoro[2]，Yayoi Kondo[1]，Masahiro Kawaguchi[2]，Shin-ichiro Horigane[3,4]
Jun Natsume[2,5]，Sayaka Takemoto-Kimura[3,4]，Haruhiko Bito[1]
([1]Department of Neurochemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
[2]Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine
[3]Department of Neuroscience I, Research Institute of Environmental Medicine (RIEM), Nagoya University
[4]Department of Molecular/Cellular Neuroscience, Nagoya University Graduate School of Medicine
[5]Department of Developmental Disability Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine）

（８）中枢シナプス前末端放出部位における小胞除去・補充メカニズム

○高橋智幸，Satyajit Mahapatra
（沖縄科学技術大学院大学 OIST 細胞分子シナプス機能ユニット）

（９）生体の多階層構造を捉える光学断層蛍光イメージング技術開発

○大友康平 [1,2,3]

（[1] 順天堂大学大学院 医学研究科，[2] 自然科学研究機構 生命創成探究センター

[3] 自然科学研究機構 生理学研究所）

（10）脳組織内部におけるシナプス分子動態の１分子イメージング

○大久保洋平 [1]，並木繁行 [2]，浅沼大祐 [2]，櫻井　隆 [1]，廣瀬謙造 [2]

（[1] 順天堂大学大学院医学研究科 細胞・分子薬理学，[2] 東京大学大学院医学系研究科 細胞分子薬理学）

（11）超解像顕微鏡システムを用いたシナプス分子の系統的可視化解析

○坂本寛和，大西泰地，廣瀬謙造

（東京大学大学院医学系研究科 細胞分子薬理学）

（12）TRAAK カリウムチャネルのフリッカーゲーティングと張力依存性

真木孝尚 [1]，松木悠佳 [1,2]，吉田俊之 [3]，○老木成稔 [4]，岩本真幸 [1]

（[1] 福井大学医学部　分子神経科学，[2] 福井大学医学部　麻酔蘇生学，

[3] 福井大学工学部 情報・メディア工学，[4] 福井大学 高エネルギー医学研究センター）

（13）AT_1 受容体/β アレスチンを介する新規心筋 L 型 Ca^{2+} チャネル制御

○山田充彦，川岸裕幸

（信州大学医学部 分子薬理学教室）

〔ポスター発表〕

（14）Analysis of the temperature sensitivity of CaMKII kinase activity

○Zhiqing Wen[1]，Koji L. Ode[1]，Hiroki R. Ueda[1,2]

（[1] 東京大学大学院医学系研究科 システムズ薬理学教室，

[2] 理化学研究所生命機能科学研究センター 合成生物学研究チーム）

（15）Exploration of the relationship between inhibition of CASK expression in mice brain and sleep regulation

○Siying Li[1]，Daisuke Tone[1]，Hiroki R. Ueda[1,2]

（[1] 東京大学大学院医学系研究科 システムズ薬理学教室，

[2] 理化学研究所生命機能科学研究センター 合成生物学研究チーム）

（16）局所熱パルス法で見いだされた 1 型リアノジン受容体変異体の高熱感受性

○鈴木　団

（大阪大学 蛋白質研究所 蛋白質ナノ科学研究室）

（17）Development of K^+ indicator for quantification of [K^+] in blood

○Yifei Mao [1]，Xue Peng [1]，Tomoki Matsuda [2]，Takeharu Nagai [1, 2]

（[1]Graduate School / School of Pharmaceutical Science, Osaka University

[2] 大阪大学 産業科学研究所 生体分子機能科学研究分野（永井研究室））

（18）生体深部「ナノ」イメージングに向けた二光子顕微鏡法の超解像化

○石井宏和 [1,2]，大友康平 [1-3]，根本知己 [1, 2]

（[1] 自然科学研究機構 生命創成探究センター，[2] 自然科学研究機構 生理学研究所

[3] 順天堂大学大学院 医学研究科）

（19）極性反転曲線を喪失した *Gpr156* ノックアウトマウス卵形嚢有毛細胞の生理学的特性

○小野和也 [1,2]，Ruth Anne Eatock[2]，Basile Tarchini[3]

（[1] 大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 統合薬理学

[2]Department of Neurobiology, University of Chicago，[3]The Jackson Laboratory）

（20）内耳蝸牛の感覚上皮帯に生じるナノ振動の計測と分析

○太田　岳[1]，任　書晃[2]，崔　森悦[3]，日比野　浩[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 統合薬理学
[2]岐阜大学医学部 生命原理学講座 生理学分野，[3]新潟大学工学部 工学科）

（21）ドラッグリポジショニングによる新規シスプラチン難聴保護薬の開発

○若井恵里[1,2]，池村健治[3]，奥田真弘[3]，西村有平[2]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 統合薬理学
[2]三重大学大学院医学系研究科 統合薬理学，[3]大阪大学医学部附属病院 薬剤部）

【参加者名】

高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学），津田　誠（九州大学 大学院薬学研究院），根本知己（自然科学研究機構生命創成探究センター/生理学研究所），中田開人（自然科学研究機構 生理学研究所），堤　元佐（自然科学研究機構 生理学研究所），坂本　丞（自然科学研究機構 生命創成探究センター），高橋泰伽（自然科学研究機構 生理学研究所），廣　蒼太（自然科学研究機構 生理学研究所），石井宏和（自然科学研究機構 生理学研究所），安宅光倫（自然科学研究機構 生理学研究所），大友康平（順天堂大学大学院 医学研究科），長澤裕太郎（自然科学研究機構 生理学研究所），山肩葉子（自然科学研究機構 生理学研究所），大久保洋平（順天堂大学 医学部），村山尚（順天堂大学 医学部），山田充彦（信州大学 医学部），Tran Quang（大阪大学 産業科学研究所），松田知己（大阪大学 産業科学研究所），永井健治（大阪大学 産業科学研究所），MAO YIFEI（大阪大学大学院薬学研究科），酒井伸弥（大阪大学大学院 生命機能研究科），日比野浩（大阪大学大学院 医学系研究科），稲生大輔（大阪大学大学院 医学系研究科），若井恵里（大阪大学大学院 医学系研究科），小野和也（大阪大学大学院 医学系研究科），太田　岳（大阪大学大学院 医学系研究科），鈴木　団（大阪大学 蛋白質研究所），山澤德志子（東京慈恵会医科大学 医学部），WEN Zhiqing（東京大学大学院 医学系研究科），李　思穎（東京大学大学院 医学系研究科），大出晃士（東京大学大学院 医学系研究科），昆　一弘（東京大学大学院 医学系研究科），坂本寛和（東京大学大学院医学系研究科），廣瀬謙造（東京大学大学院 医学系研究科），大西泰地（東京大学大学院 医学系研究科），尾藤晴彦（東京大学大学院 医学系研究科），藤井　哉（東京大学大学院 医学系研究科），齋藤直人（同志社大学 生命医科学研究科），川田聖香（同志社大学 生命医科学研究科），小林　裕（同志社大学 生命医科学研究科），藤枝悠佑（同志社大学 生命医科学研究科），金丸和典（日本大学 医学部），飯野正光（日本大学 医学部），老木成稔（福井大学 高エネルギー医学研究センター）

【概要】

細胞はシグナル分子，張力，浸透圧，酸化ストレス，熱などの様々な形態の情報を外部から受け取り，細胞内での情報伝達・処理を介した応答を通して，細胞機能，そしてさらなる細胞間での情報伝播を介した生体機能の制御を実現している。ライブイメージング技術や細胞シミュレータを用いた解析などの進歩に伴い，制御機構解明の基礎となる個々の刺激とその応答に関する知見は深まっている。細胞システム解明のさらなる進展のためには，これらのシグナル応答機構の類似性や違いを考察してその総体を理解する必要がある。本研究会では，シグナル応答解明を目指して研究を最前線で進めている研究者が，個々の研究対象の垣根を超えて討論をすることにより，技術的な障壁を乗り越える方法を考案し，測定結果に関する新たな解釈を産み出して当該研究分野の展開の方向性を見出すことを目指している。

これらの目的を達成するために，分子・細胞レベルから生体レベルまでの様々な題材や独創的な研究手法を用いて細胞シグナル応答を解析している第一線の科学者を募り，研究会を実施した。新型コロナウイルス感染の状況がある程度落ち着いていたため，オンサイト対面のみでの開催とした。新しいイメージングプローブや装置の開発，ユニークなアプローチからの電気生理学，シグナル動態操作，シグナル動態解析，などの多彩な分野に渡る 21 名の演者（口頭 : 13 名，ポスター8 名）が，最新の成果を発表・共有した。そして，合計 44 名の参加者と共に，異なった視点からの解釈・問題点提起・将来の

展望について，活発に議論がなされた。特筆すべきは，発表者に 6 名もの大学院生が含まれていたことであり，年代を超えた交流がなされた。対面ならではの情報交換量の多さが印象的であった。意見交換により，それぞれの研究で遭遇している課題の解決法や，新たな研究指針の発想が産まれ，シグナル応答原理解明の発展が期待された。

〔口頭発表〕

（１）神経細胞 cAMP 動態解明を目指した cAMP 蛍光プローブの開発とライブイメージング

○川田聖香，齋藤直人
（同志社大学 生命医科学研究科 医生命システム専攻 神経生理学研究室）

cAMP シグナリングは原核生物から哺乳類に至る多様な生物種において，普遍的なシグナル伝達機構として広範な細胞機能を制御している。細胞内の cAMP 動態を理解するため，これまで cAMP を可視化する蛍光プローブの開発が進められてきた。cAMP 濃度は細胞種ごとに異なる基底濃度に設定されていると考えられることから，対象とする細胞に適したプローブを選択する必要がある。しかし，個々の細胞の cAMP 動態の多様性に対して，使用できる cAMP プローブの種類があまりにも少ないのが現状である。そこで，本研究では神経細胞の cAMP 動態に適した cAMP 緑色蛍光プローブ gCarvi の開発を行った。gCarvi は大腸菌由来の cAMP 結合領域と円順列変異型 GFP を融合した単色型 cAMP 緑色蛍光プローブである。0.2～20 μM の神経細胞の生理的 cAMP 濃度の変動域をカバーする gCarvi は cAMP への高特異性と速い結合速度をもつ。また，細胞内 cAMP 濃度を定量的に解析する赤色蛍光タンパク質 mCherry を融合した ratiometric gCarvi も開発した。Ratiometric gCarvi を海馬神経細胞に適用し，定常時 cAMP 濃度を 1.4 μM と見積もった。この結果から定常時 cAMP 濃度は PKA 活性化直前の濃度であることが考えられる。gCarvi は単色型蛍光プローブであることから他の蛍光指示薬との併用も可能である。Ca^{2+} 蛍光プローブと gCarvi を併用し，薬理学的に細胞内 cAMP 濃度を上昇させた結果から，ある一定レベルの cAMP 濃度上昇が基底 Ca^{2+} 濃度上昇と Ca^{2+} スパイクを誘導することが明らかとなった。

（２）Application of Green enhanced Nano-lantern as a bioluminescent ratiometric indicator for measurement of *Arabidopsis thaliana* root apoplastic fluid pH

○Quang Tran [1,2]，Kenji Osabe [1,2]，Tetsuyuki Entani [1]，Tetsuichi Wazawa [1]，
Mitsuru Hattori [1,2]，Takeharu Nagai [1,2]
（[1] SANKEN (The Institute of Scientific and Industrial Research), Osaka University
[2] Department of Biotechnology，Graduate School of Engineering, Osaka University）

Plant root absorbs water and nutrients from the soil, and the root apoplastic fluid (AF) is an important intermediate between cells and the surrounding environment. The acid growth theory suggests that an acidic AF is needed for cell wall expansion during root growth. However, technical limitations have precluded the quantification of root apoplastic fluid pH (AF-pH). Here, we used Green-enhanced Nano-lantern (GeNL), a chimeric protein of the luciferase NanoLuc (Nluc) and the green fluorescent protein mNeonGreen (mNG), as a ratiometric pH indicator based on the pH dependency of bioluminescence resonance energy transfer efficiency from Nluc to mNG. Luminescence spectrum of GeNL changed reciprocally from pH 4.5 to 7.5, with a pK_a of 5.5. By fusing GeNL to a novel signal peptide from *Arabidopsis thaliana* Cellulase 1, we localized

GeNL in *A. thaliana* AF. We visualized AF dynamics at subcellular resolution over 30 minutes and determined flow velocity in the maturation zone to be 0.97 ± 0.06 μm/s. We confirmed that the developing root AF is acidic in the pH range of 5.1-5.7, suggesting that the AF-pH is tightly regulated during root elongation. These results support the acid growth theory and provide evidence for AF-pH maintenance despite changes in ambient pH.

（３）可視化により見えてきた複雑な脳内オキシトシン動態

○稲生 大輔[1,2]，田中雄大[2,3]，日比野　浩[1]，西山正章[2]
([1]大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 統合薬理学
[2]金沢大学医薬保健研究域医学系 組織細胞学
[3]金沢大学医薬保健研究域医学系 分子細胞病理学)

脳内では認知・記憶・意思決定といった様々な情報処理が達成されているが，その多様性の鍵を握るのが細胞外シグナル伝達である。脳の細胞外では数百種類にわたる分子が情報伝達を介在すると想定されているが，生きた脳内における局所動態は未だ不明な点が多く，その計測法の開発は強く求められている。そこで我々は本課題の解決を目指すべく，細胞外シグナル分子が結合すると明るく光るタンパク質型蛍光センサーの開発を進めている。本研究ではまず，“幸せホルモン”と呼ばれる神経ペプチド オキシトシンに対する蛍光センサーの開発を行った。オキシトシン受容体と蛍光タンパク質のキメラ分子に対して指向性分子進化をほどこし，明るさが最大 8 倍変化する超高感度センサーの開発に成功した。本センサーを生きたマウスの脳に導入し，生体内におけるオキシトシンの脳内動態をリアルタイムで捉えることを試みた。興味深いことに，刺激の種類や動物の行動パターンに依存して，脳内のオキシトシンシグナルは多用な動態を示すことが明らかとなった。さらに，オキシトシン以外の分子に対する蛍光センサーの開発も行った。オキシトシンセンサーの蛍光モジュール部位を切り出し，その他のシグナル分子受容体の対応部位に付加することで，オキシトシン以外の 24 種のリガンドに対する機能的な蛍光センサーを開発することにも成功した。

（４）Alphafold2 による遺伝子にコードされた FRET 型カルシウム指示薬の設計

○酒井伸弥[1]，岡崎圭一[2]，松田知己[3]，永井健治[1,3]
([1]大阪大学大学院生命機能研究科，[2]分子科学研究所 計算科学研究センター
[3]大阪大学産業科学研究所)

生体内で代謝産物・イオン濃度の変化など様々な生理機能を可視化するために，フェルスター共鳴エネルギー移動（FRET）を検出原理として利用した蛍光指示薬が用いられている。FERT 型蛍光指示薬の開発には，生体内の対象物質による微弱なシグナルを検出するために大きな FRET 効率の変化をもつ指示薬が求められる。しかし，そのような指示薬を開発するためには，FRET ペアとなる蛍光タンパク質の選定やリンカー部分におけるスクリーニングなど多くの試行錯誤が必要とされていた。そこで本研究では，AlphaFold2 によるタンパク質構造予測に基づく合理的な指示薬設計の手法を提案する。蛍光タンパク質間の距離と相対角度を最適化することにより，FRET 効率を最大化するプローブ構造を予測し，緑色蛍光タンパク質（GFP）と赤色蛍光タンパク質（RFP）を用いたレシオメトリックなカルシウム指示薬を開発した。設計したカルシウム指示薬は，インビトロで初期設計の 1.5 倍のダイナミックレンジを示し，生細胞内でのカルシウム応答を確認した。AlphaFold2 を用いた本手法は，カルシウム以外の生理機能指示薬にも応用可能であり，FRET を用いた指示薬の開発・改良に役立つと考えられる。

（５）In vivo カルシウムイメージングによるマウス生体内 β 細胞の活動様式解明

○金丸和典[1]，太向　勇[1]，陳　開[1]，茂木優貴[1]，平岡優一[2]，飯野正光[1]
（[1]日本大学医学部 生理学分野，[2]東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学）

膵臓 β 細胞における細胞内 Ca^{2+} シグナルは，インスリン分泌制御に直結するため盛んに研究されてきた。これらはほとんどが培養細胞や単離膵島などを用いた in vitro あるいは ex vivo の実験系で得られた知見であり，例えば「培養 β 細胞で見られる特徴的な Ca^{2+} オシレーションは本当に in vivo でも見られるのか？」などといった基本的な疑問にも明確な回答が得られていない状況にある。β 細胞 Ca^{2+} シグナル動態の in vivo 解析が進めば，血糖値制御メカニズムのさらなる理解と人為制御法への応用に大きく貢献することが期待できる。そこで我々は，タンパク質型 Ca^{2+} センサーを発現する遺伝子改変マウスを用いて in vivo　β 細胞 Ca^{2+} イメージング法の開発を試みた。β 細胞特異的プロモーター制御下に Ca^{2+} センサー yellow cameleon-Nano50 を発現させるマウスを作製してイメージング解析を行ったところ，単一膵島内で β 細胞同士が同期する Ca^{2+} オシレーションの観察に成功した。さらに，生体内インスリン制御機構の解明の糸口となり得る，複数の膵島における Ca^{2+} 活動の同時イメージングにも成功した。

（６）睡眠発達を支える細胞集団とその細胞内シグナルの理解

○昆　一弘[1]，大出晃士[1,2]，上田泰己[1,2]
（[1]東京大学 大学院医学系研究科 システムズ薬理学教室
[2]理化学研究所 生命機能科学研究センター 合成生物学研究チーム）

ヒトを含めた動物の睡眠覚醒パターンはライフステージに応じて変動し，特に人生初期にその変化が大きいことが知られている。発達に伴う睡眠覚醒パターン変化に関する生物学的な理解は，普遍的な睡眠制御機構の解明とそれに基づく安全な介入・操作・治療方法の確立に繋がる可能性がある。しかし，この変化の背後にある分子・神経基盤はこれまで不明であった。発達期マウスの非侵襲的な連続睡眠測定により，発達期における睡眠構造の不安定化と断眠に対する応答性の増加が観察された。また，組織透明化法 CUBIC を用いた細胞分布変化の全脳解析から，同時期におけるパルブアルブミン（PV）陽性ニューロン密度の減少が観察された。加えて，公開されている一細胞遺伝子発現データを用いることで，PV 陽性ニューロンでは一部のリン酸化酵素発現が発達に伴って増加することがわかった。PV 陽性ニューロンの神経活動・リン酸化酵素活性と睡眠変化の因果関係を調べるため，PV 特異的エンハンサーとアデノ随伴ウイルス（AAV）を用いて広範囲に分布する PV 陽性ニューロンを高効率に標識する手法を確立した。この手法を用いて PV 陽性ニューロンの神経活動ならびにリン酸化酵素活性を操作すると，睡眠構造と睡眠恒常性が変化することが明らかとなった。以上より，PV 陽性ニューロンとその細胞内リン酸化シグナルが睡眠構造と睡眠恒常性の発達に寄与する可能性があることがわかった。

（７）Förster resonance energy transfer-based kinase mutation phenotyping reveals an aberrant facilitation of Ca^{2+}/calmodulin-dependent CaMKIIα activity in de novo mutations related to intellectual Disability

○Hajime Fujii[1]，Hiroyuki Kidokoro[2]，Yayoi Kondo[1]，Masahiro Kawaguchi[2]，
Shin-ichiro Horigane[3,4]，Jun Natsume[2,5]，Sayaka Takemoto-Kimura[3,4]，Haruhiko Bito[1]
（[1]Department of Neurochemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
[2]Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine
[3]Department of Neuroscience I, Research Institute of Environmental Medicine (RIEM) , Nagoya University
[4]Department of Molecular/Cellular Neuroscience, Nagoya University Graduate School of Medicine
[5]Department of Developmental Disability Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine）

CaMKIIα plays a fundamental role in learning and memory and is a key determinant of synaptic plasticity. Its kinase activity is regulated by the binding of Ca^{2+}/CaM and by autophosphorylation that operates in an activity-dependent manner. Though many mutations in CAMKIIα were linked to a variety of neurological disorders, the multiplicity of its functional substrates renders the systematic molecular phenotyping challenging. In this study, we report a new case of CAMKIIα P212L, a recurrent mutation, in a patient with an intellectual disability. To quantify the effect of this mutation, we developed a FRET-based kinase phenotyping strategy and measured aberrance in Ca^{2+}/CaM-dependent activation dynamics in vitro and in synaptically connected neurons. CaMKIIα P212L revealed a significantly facilitated Ca^{2+}/CaM-dependent activation in vitro. Consistently, this mutant showed faster activation and more delayed inactivation in neurons. More prolonged kinase activation was also accompanied by a leftward shift in the CaMKIIα input frequency tuning curve. In keeping with this, molecular phenotyping of other reported CAMKIIα de novo mutations linked to intellectual disability revealed aberrant facilitation of Ca^{2+}/CaM-dependent activation of CaMKIIα in most cases. Finally, the pharmacological reversal of CAMKIIα P212L phenotype in neurons was demonstrated using an FDA-approved NMDA receptor antagonist memantine, providing a basis for targeted therapeutics in CAMKIIα-linked intellectual disability. Taken together, FRET-based kinase mutation phenotyping sheds light on the biological impact of CAMKIIα mutations and provides a selective, sensitive, quantitative, and scalable strategy for gaining novel insights into the molecular etiology of intellectual disability.

（８）中枢シナプス前末端放出部位における小胞除去・補充メカニズム

○高橋智幸，Satyajit Mahapatra（沖縄科学技術大学院大学 OIST）

シナプス小胞は伝達物質を開口放出した後，放出部位から速やかに取り除かれることによって，新たな小胞の開口が可能になる。神経筋接合部や calyx of Held における研究によって，この小胞除去・再補充メカニズムにはエンドサイトーシスと，その足場タンパク質の働きが深く関わっていると考えられている。しかし，このメカニズムが異なるシナプスにおいて，どのような生理的状況下に作動するかは明らかでない。この問題を検討するためにマウスの脳幹と海馬からスライスを作成し，生理的温度と生理的 Ca^{2+} 濃度の灌流液下で，入力線維を電気刺激して EPSC を誘発した。脳幹スライスの calyx of Held においては，エンドサイトーシス阻害薬，または足場タンパク質の活性阻害薬を細胞外投与すると，100 Hz 刺激開始後 10 ms 以内にシナプス抑制の顕著な増大が認められた。一方，海馬スライス CA1 領域のシナプスではエンドサイトーシス阻害薬によって，Schaffer 側枝 100 Hz 刺激下のシナプス促通が顕著に抑制された。しかし，足場タンパク質活性阻害薬は EPSC の振幅を全く変化させな

かった。エンドサイトーシスによる小胞除去・再補充メカニズムは脳幹の高速シナプス伝達を維持する役割を果たし, 海馬では可塑的シナプスの短期増強を強化するが, 足場タンパク質による小胞除去・再補充は高速シナプス伝達に特化された仕組みと推論される。

（９）生体の多階層構造を捉える光学断層蛍光イメージング技術開発

○大友康平 [1-3]
（[1] 順天堂大学大学院医学研究科，[2] 自然科学研究機構 生命創成探究センター
[3] 自然科学研究機構 生理学研究所）

生体分子，細胞小器官，細胞，組織のような生体多階層における様々な「かたち」は，個々の機能と密接な関わりをもつ。蛍光顕微鏡法はこれらについて，静的な微細構造のみならず，動的な形態変化や機能を可視化できるポテンシャルを持つため，生命科学研究における重要なツールの一つとなっている。我々は最近，特に三次元構造の可視化という観点から，細胞小器官，多細胞体，組織を対象とし, 以下の 3 種の新規顕微鏡システムを構築し，イメージング応用を提案した。

1. 4 チャンネル 2 光子励起スピニングディスク共焦点顕微鏡による低侵襲有糸分裂追跡 （Kamada, Otomo *et al.*, *Sci. Rep.* 2022）。
2. アドオン型光ニードル生成デバイスによるマウス脳スライスの 2 光子ボリュームイメージング （Chang, Otomo *et al.*, *Sci. Rep.* 2022）。
3. 「低コスト」かつ「組み立てに高度な光学知識を必要としない」光シート顕微鏡による透明化組織観察（Otomo, Susaki *in prep.*）

これら方法論の相補的活用は，細胞・生体システムの縦断理解に資することが期待される。

（10）脳組織内部におけるシナプス分子動態の１分子イメージング

○大久保洋平 [1]，並木繁行 [2]，浅沼大祐 [2]，櫻井　隆 [1]，廣瀬謙造 [2]
（[1] 順天堂大学大学院医学研究科 細胞・分子薬理学，[2] 東京大学大学院医学系研究科 細胞分子薬理学）

ナノメートルスケールでの少数分子の相互作用がシナプス機能を担っている。1 分子蛍光イメージングは, 個々の分子の動きを直接追跡することができる超解像ライブイメージング法であり，シナプス分子動態の解析にも広く用いられてきた。しかし従来の 1 分子イメージング法は，技術的制約からカバーガラス上の分散培養細胞にしか適用できず，実際の脳組織内部での 1 分子動態は不明であった。本研究では，新規ケミカルタグ技術 DeQODE に基づき，脳スライスの内部においてシナプス分子の 1 分子イメージングを実現した。DeQODE は蛍光色素に消光団を付した QODE プローブと，消光団に対する一本鎖抗体である DeQODE タグから構成され，QODE は DeQODE との可逆的結合により蛍光を発するという蛍光オン-オフシステムである。この特性により非特異的蛍光が抑えられ，組織標本においても極めて低いバックグラウンドで目的のタンパク質を蛍光標識することが可能となる。さらに可逆的結合に基づく繰り返し標識により，褪色に制限されず長時間観察が可能となる。DeQODE タグを GluA1 サブユニットなどのシナプス分子に付したものをマウス大脳皮質錐体細胞に発現させ，急性大脳皮質スライスを作製し，低濃度 QODE による低密度標識下で１分子イメージングを行った。その結果，スライスの深部においてシナプス分子の動きを高精度に追跡することに成功した。

（11）超解像顕微鏡システムを用いたシナプス分子の系統的可視化解析

○坂本寛和，大西泰地，廣瀬謙造
（東京大学大学院医学系研究科 細胞分子薬理学）

シナプス機能の多様性は脳機能の根幹である。しかしながら，その多様性の分子基盤は不明な点が多い。本研究では，脳組織標本におけるシナプス分子の効率的な免疫組織標識法と超解像顕微鏡解析法を構築することで，シナプス個々の分子構成やナノスケールの分子配置を系統的に定量する技術を開発した。本技術を海馬や視床などの脳領域に適用し解析を行ったところ，Munc13 や電位依存性のカルシウムチャネルなどの神経伝達物質の放出に必須の分子群であっても，単一シナプス内での分子数や分子間の物理的な距離がシナプスのタイプ毎に大きく異なることが明らかとなった。これらの機能分子の量および物理的配置の違いがシナプス機能の多様性の根底にあると考えられる。さらに，系統的な超解像イメージング解析法と遺伝子改変マウス，オプトジェネティクスおよび神経活動依存的な細胞標識技術を組み合わせることによって，シナプス可塑性，神経発達，さらには記憶形成に関連したシナプス分子のナノスケール分子変化を捉えることに成功した。本研究で確立した超解像顕微鏡システムをベースにしたシナプス分子の系統的な解析手法によってシナプス機能の多様性を担う分子メカニズムの理解が格段に進むことが期待される。

（12）TRAAK カリウムチャネルのフリッカーゲーティングと張力依存性

真木孝尚[1]，松木悠佳[1,2]，吉田俊之[3]，○老木成稔[4]，岩本真幸[1]
（[1]福井大学 医学部 分子神経科学，[2]福井大学 医学部 麻酔蘇生学
[3]福井大学 工学部 情報･メディア工学
[4]福井大学 高エネルギー医学研究センター）

TRAAK カリウムチャネルは two-pore チャネルの一つで，ヒト神経軸索のランビエ絞輪に存在する。TRAAK チャネルは様々な物理化学的刺激に応答するが，その中でも膜張力に対する感受性が報告されてきた。本研究ではヒト TRAAK チャネルを脂質平面膜法の一つである接触バブル 2 重膜（Contact Bubble Bilayer [CBB] ）に再構成し，TRAAK チャネルの張力依存性の特異な性質を検討した。CBB 法では広い範囲で張力を変化させ定量的に測定できる。精製したヒト TRAAK チャネルを CBB に再構成すると，単一チャネル電流は全膜電位で flicker を示した。Flicker とはアンプのカットオフ周波数よりも速いゲーティングであり，解析は一般に難しい。Flicker 電流から開確率やオン・オフ速度定数を求めるために，古典的な FitzHugh 理論を現代風に改良した。通常の Bessel（multi-pole）フィルタを通して得た単一チャネル電流データをさらにデジタル（one-pole）フィルタを通すことによって FitzHugh の原理に適合した解析が可能になった。Flicker ゲーティングは広い張力範囲で連続的に変化し，開確率の張力依存性から，張力によるチャネル蛋白質の断面積の拡大量などが推定できた。TRAAK チャネルの構造との関係について議論した。

（13）AT_1 受容体/β アレスチンを介する新規心筋 L 型 Ca^{2+} チャネル制御

○山田充彦，川岸裕幸
（信州大学医学部 分子薬理学教室）

心筋 L 型 Ca^{2+} チャネル（LTCC）は，心臓の興奮収縮連関の要であり詳しく研究されてきた。そして多くの神経伝達物質・ホルモンにより機能制御されると報告されているが，確実なのは β アドレナリン受容体（βAR）を介する活性亢進のみである。またこの反応が A キナーゼを介することは早期に確立したが，その分子機構は未だに不明である。我々は，長年 βAR 以外の明らかな LTCC 活性調節を探して来たが，近年離乳期までのマウスに限りアンジオテンシン II が LTCC 活性を~3 倍増強することを見出した。この反応は，AT_1 受容体（AT_1R）／β アレスチン 2／カゼインキナーゼ 2'という新しい経路を介するものであり，古くから哺乳類の周産期の AngII の生命維持機構として知られていた反応の機序であった。重要なことに，この反応は胎児から新生児の形質を示すヒト iPS 細胞由来心筋細胞でも保存されていた。AT_1R に結合すると G 蛋白質を抑制し β アレスチンを活性化する「β アレスチンバイアスアゴニスト」は，この経路を介して心拍数・不整脈・心筋酸素消費量・活性酸素量の増加を伴わない強心作用を発揮し，ヒト先天拡張型心筋症モデルマウスの離乳前生命予後を有意に改善した。従って，この新規 LTCC 制御経路は，周産期の生理反応を介して，現在もエビデンスの有る治療薬の無い小児心不全の治療に役立つと考えられた。

〔ポスター発表〕

（14）Analysis of the temperature sensitivity of CaMKII kinase activity

○Zhiqing Wen[1]，Koji L. Ode[1]，Hiroki R. Ueda[1,2]
（[1] Department of Systems Pharmacology, Graduate School of Science, The University of Tokyo
[2] Laboratory for Synthetic Biology, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research）

Temperature affects almost all biochemical reactions and thereby affects several physiological outputs. The protein kinase CaMKII is one of the major synaptic proteins, which is expressed in most neuron cells in the central nervous system. CaMKII is activated by Ca^{2+}/CaM and then further stabilizes the active CaMKII conformation through the auto-phosphorylation at T286/T287 residue. We found that CaMKII kinase activity is highly sensitive to the physiological temperature range and the optimal temperature is slightly lower than the typical body temperature around 37 °C. It should be mentioned that although all kinases shall have an optimal temperature for the activity, temperature sensitivity in the physiological temperature range is not a universal feature of all kinases. In vitro analysis of CaMKII kinase activity showed that CaMKIIβ phosphorylation activity decreased significantly over 35 °C, especially after a relatively long time (~ 10 min) upon the activation by Ca^{2+}/CaM. Interestingly, this decrease in activity is stabilized by several metabolites (nucleic acids) present in the cell. We confirmed that this inactivation does not depend on the known autoinhibitory autophosphorylation. We also found that a CaMKIIβ mutant that antagonizes the temperature-dependent decrease in activity, and also, a few CaMKIIβ mutants that show more decreased kinase activity under a higher temperature compared with wildtype CaMKIIβ. We confirmed that the level of CaMKIIβ autophosphorylation is higher at the lower temperature in the cultured neuron cells and the higher autophosphorylation activity of CaMKII at low temperatures is kept in the presence of tetrodotoxin, which inhibits the neuronal firing. These results suggest that CaMKIIβ activity may serve as a temperature sensor in the neuron cells.

（15）Exploration of the relationship between inhibition of CASK expression in mice brain and sleep regulation

○Siying Li[1]，Daisuke Tone[1]，Hiroki R. Ueda[1,2]
（[1]Department of Systems Pharmacology，Graduate School of Science，The University of Tokyo
[2]Laboratory for Synthetic Biology，RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research）

CASK (calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase) is a MAGUK (membrane-associated guanylate kinase) protein family member and consists of N-terminal CaM-kinase, L27, PDZ, SH3, and C-terminal GuK domains. CASK is widely found in various brain regions and can interact with various proteins in both pre- and postsynaptic regions for diverse functions, such as signal transduction, binding to membrane proteins and so on (Hata et al., 1996). Previous studies indicated CASK might take part in sleep-wake cycle regulation. Human disease research showed symptoms of CASK-related disorders include sleep disturbances (Burglen et al., 2012). Genetic analysis with flies also showed that sleep duration of CASK-β null flies increased compared with wild-type flies (Donelson et al., 2012). In mammals, however, the involvement of CASK in sleep regulation is still unclear. In this study, we aimed to elucidate the mechanism of mammalian sleep regulation by CASK using an AAV-based gene expression system in the whole brain.

（16）局所熱パルス法で見いだされた 1 型リアノジン受容体変異体の高熱感受性

○鈴木　団（大阪大学蛋白質研究所 蛋白質ナノ科学研究室）

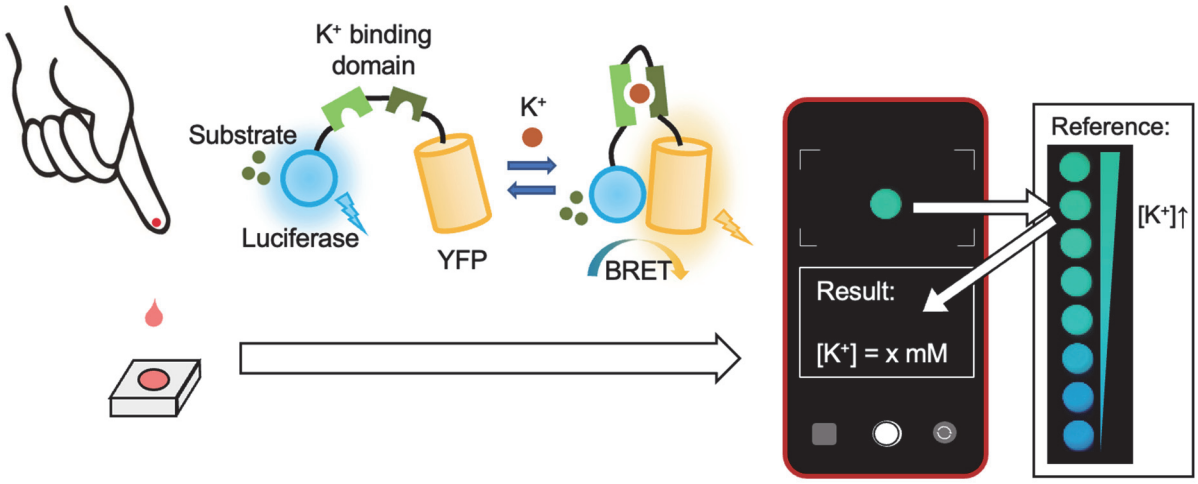
細胞内のカルシウム動態の制御は，ATP の化学的エネルギーを必要とする。このとき，カルシウムイオンを電気化学的勾配に逆らって移動するために必要となる力学的仕事を，ATP から取りだす効率は 100%には至らず，一部のエネルギーが熱として周囲へ散逸する。そこでカルシウム動態が正しく制御されない場合は，熱の産生が暴走し，体温の上昇が止まらなくなる場合もある。そのような例の一つが，悪性高熱症と呼ばれる疾患である。悪性高熱症を引き起こす主たる要因の一つは，骨格筋における 1 型リアノジン受容体（RyR1）の点変異であることが知られている。我々はこれまでに，光学的に局所加熱する手法を用いて，細胞の様々な熱応答を見出してきた[1]。例えば水に高い効率で吸収される 1455 nm の赤外レーザー光を，対物レンズを通して細胞近傍に集光すると，焦点を中心に同心円状の温度勾配が，レーザー光の照射中のみ形成される。本研究ではこの手法を利用して，RyR1 野生型および悪性高熱症に関連した変異体を発現する HEK293 細胞系の，熱刺激に対するカルシウム応答を評価した。その結果，RyR1 の熱応答を新たに発見し，これを「熱誘発性カルシウム放出（heat-induced Ca^{2+} release; HICR）」と命名した。また HICR で評価した RyR1 変異体の熱応答性は，その野生型に比べ過敏であった。さらに HICR は疾患モデルマウスから単離調製した骨格筋細胞でも確認された。我々の結果から，HICR は，悪性高熱症の発症時に熱産生を暴走させるメカニズムであることが強く示唆された[2]。

[1] Oyama, K., Ishii, S., Suzuki, M. Biophys. Rev. 14, 41–54 (2022).
[2] Oyama, K., Zeeb, V., Yamazawa, T., Kurebayashi, N., Kobirumaki-Shimozawa, F., Murayama, T., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 119, e2201286119 (2022).

（17）Development of K^+ indicator for quantification of $[K^+]$ in blood

○Yifei Mao [1]，Xue Peng [1]，Tomoki Matsuda [2]，Takeharu Nagai [1,2]
([1]Graduate School / School of Pharmaceutical Science, Osaka University
[2]SANKEN (The Institute of Scientific and Industrial Research), Osaka University)

Potassium ion concentration $[K^+]$ in human blood is maintained at 3.5-5.0 mM. $[K^+]$ higher and lower than this range are clinically diagnosed as hyperkalemia and hypokalemia, respectively. These states are caused by burns or severe diarrhea requiring prompt treatment, and chronic diseases that need long-term monitoring. However, the process of traditional clinical blood $[K^+]$ quantification method ion-selective electrode (ISE) needs to collect a large amounts of venous blood sample (3 mL or more) and measure with bulky analytical devices operated by professionals. Here we report a bioluminescent protein-based ratiometric K^+ indicator that changes color from blue to green with an increase of $[K^+]$ that aims to be used for $[K^+]$ quantification in human blood with a simple device, a smartphone. For the serum sample containing 4 to 10 mM $[K^+]$, the smartphone assay indicated comparable $[K^+]$ to that measured by a portable ISE meter (positive control). Moreover, the smartphone assay could be directly applied to blood sample without centrifugation that avoids the risk of hemolysis leading a pseudo-hyperkalemia and affect the doctor's clinical diagnosis. The above results suggest the smartphone-based $[K^+]$ quantification can provide an $[K^+]$ enough quality for clinical diagnosis, within a few minutes process with a small amount of blood (5 μL) that is useful for domestic health management.



（18）生体深部「ナノ」イメージングに向けた二光子顕微鏡法の超解像化

○石井宏和[1,2]，大友康平[1-3]，根本知己[1,2]
（[1]自然科学研究機構 生命創成探究センター，[2]自然科学研究機構 生理学研究所
[3]順天堂大学大学院 医学研究科）

生体深部をサブ細胞スケールの空間分解能で観察できる二光子顕微鏡法は, 広範な研究分野で利用されている。しかし，例えば神経科学の研究対象の一つであるシナプス可塑性は，ナノスケールの樹状突起スパインの形態変化を含むことが知られている。これを生体内で進行する現象として捉えるには，本法の空間分解能は一桁程度不足している。我々は，以前より独自の光技術を統合し，コンパクトかつ低侵襲的な超解像二光子誘導放出制御（STED）顕微鏡を開発してきた。その空間分解能は従来の二光子顕微鏡の約５倍，70 nm に達した。しかし，脳スライスなど比較的厚みのあるサンプルでは，STED 光照射に起因するバックグラウンド上昇により空間分解能が顕著に劣化するといった問題があった。そこで本研究では，蛍光光子をサブナノ秒の精度でゲート検出するためのシステムを新たに構築した。STED 顕微鏡法では焦点平面の中心部から辺縁部にかけて，励起状態の蛍光分子が蛍光光子を放出して基底状態に戻るまでの時間が短縮される。ゲート検出により，空間分解能の劣化に繋がる辺縁部の蛍光成分と，蛍光寿命の異なるバックグラウンド成分の除去を試みた。その結果，マウス固定脳スライスにおけるスパインの微細形態をこれまでの二光子 STED 像に比べてさらに約 1. 5 倍高い空間分解能で観察することに成功した。現在，本手法を実際のマウス生体脳観察に応用することを試みている。

（19）極性反転曲線を喪失した *Gpr156* ノックアウトマウス卵形嚢有毛細胞の生理学的特性

○小野和也[1,2]，Ruth Anne Eatock[2]，Basile Tarchini[3]
（[1]Department of Pharmacology, Graduate School of Medicine, Osaka University,
[2]Department of Neurobiology, University of Chicago
[3]The Jackson Laboratory）

前庭器は，直線加速度を検知する耳石器（卵形嚢，球形嚢）を含む。耳石器の中心部では有毛細胞の毛束の極性が反転し，反転領域に沿って曲線を描くことができる（Line of polarity reversal or LPR）。この特徴により，卵形嚢の求心性神経では興奮と抑制が同時に誘発される。しかし，前庭機能における LPR の役割は不明である。近年，G タンパク質共役受容体である GPR156 を介したカスケードが LPR の形成に関わっていることが示された （Kindt et al., 2021）。本研究では，*Gpr156* ノックアウト（KO）マウスの卵形嚢で見られる LPR の喪失が有毛細胞の生理学的機能に与える影響について調べた。若年マウス卵形嚢より，ホールセルパッチクランプ法を用いて有毛細胞の電位依存性カリウム電流や毛束刺激による機械電気変換電流を計測した。データは，*Gpr156* KO により毛束の極性が約 180 度変化する領域より集めた。前庭器の有毛細胞は，形態学的および電気生理学的な特徴の違いにより，１型，２型に分類される。それぞれの有毛細胞において，*Gpr156* KO マウスと野生型との間には，二種類の電流，すなわち細胞の重要な特性に著明な差は見られなかった。従って，*Gpr156* KO マウスでは，LPR の喪失の影響のみを評価でき, LPR の前庭機能における役割を抽出できると推察された。

（20）内耳蝸牛の感覚上皮帯に生じるナノ振動の計測と分析

○太田　岳[1]，任　書晃[2]，崔　森悦[3]，日比野　浩[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 統合薬理学，
[2]岐阜大学医学部 生命原理学講座 生理学分野，
[3]新潟大学工学部 工学科）

哺乳類の聴覚は，内耳蝸牛の感覚上皮帯が音によって正弦波振動することを端緒とする。この揺れは，上皮帯に整列する内・外有毛細胞の頂上膜に分布する感覚毛を偏位させる。この屈曲により，毛の先端に局在する非選択性陽イオンチャネル「機械-電気変換チャネル」のイオン透過性が増減し，細胞体へ流入する電流量の変化に伴い，膜電位も変動する。外有毛細胞は，その側底膜に電位駆動型のモータータンパク質プレスチンを発現するため，細胞体を伸縮させる。この運動が感覚上皮帯の振動を増幅し，求心性神経とシナプスを形成する内有毛細胞の感度を高める。我々はこれまで，改良型レーザー干渉計を麻酔下のモルモット感覚上皮帯の変位計測に応用し，高周波音刺激によって，上皮帯には正弦波振動だけでなく直流的な動きも含まれることを見出してきた。外有毛細胞の伸縮機能を薬物で阻害すると，後者の動作は大きく損なわれた。理論計算により，この動きは聴覚のダイナミックレンジを広げ，巨大音から内耳を保護すると予想された。本研究では，直流運動の起源を明らかにするため，機械-電気変換チャネルを介した陽イオン流入を制御する感覚毛のアクチン-ミオシンモーターの機能に着目した。ミオシンの働きを，リン酸化阻害もしくは細胞内カルシウム濃度の増加によって修飾すると，直流的な動きが大きく損なわれた。よって，このモーター機構がオフセット運動に関連することが示唆された。

（21）ドラッグリポジショニングによる新規シスプラチン難聴保護薬の開発

○若井恵里[1,2]，池村健治[3]，奥田真弘[3]，西村有平[2]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科 薬理学講座 統合薬理学，
[2]三重大学大学院医学系研究科 統合薬理学，
[3]大阪大学医学部附属病院 薬剤部）

抗がん薬のシスプラチンの副作用には不可逆性の難聴がある。難聴の発症には，有機カチオントランスポータ 2（OCT2）を介したシスプラチンの内耳蝸牛内への蓄積が示唆されている。また，プロトンポンプ阻害薬であるランソプラゾールは OCT2 を阻害する。本研究では，シスプラチン難聴に対するランソプラゾールの保護効果を検証した。ゼブラフィッシュ稚魚にシスプラチン 250 μM および臨床濃度のランソプラゾールを曝露させ，YO-PRO1 により有毛細胞を染色し，in vivo 蛍光イメージングを行った。CRISPER/Cas9 を用いて oct2 KO ゼブラフィシュを作成し，野生型とシスプラチンによる有毛細胞障害を比較した。三重大学医学部附属病院にてシスプラチンを含む化学療法が施行された患者 289 名を対象とした後方視的調査より，シスプラチン難聴に対するランソプラゾールの保護効果について検証した。ゼブラフィッシュにランソプラゾール（0.25，0.5 μM）を同時曝露することでシスプラチンによる有毛細胞障害が抑制された。また，oct2 KO では野生型と比較して，有毛細胞障害が抑制された。さらに，難聴未発症群（n=260）では，発症群（n=29）と比較してランソプラゾール併用患者の割合が高かった（34 ％ vs 7 %，p=0.002）。ランソプラゾールは OCT2 を阻害してシスプラチン難聴を抑制することが示唆された。

15. 心的状態の理解に向けた行動・生理的指標の計測と解析

2022 年 9 月 26 日－9 月 27 日

代表・世話人：網田英敏（京都大学ヒト行動進化研究センター）
所内対応者：磯田昌岐（認知行動発達機構研究部門）
世話人：二宮太平（認知行動発達機構研究部門）

（1）ラット超音波発声のおいしさ反応測定への利用可能性

村田航志（福井大学）

（2）自然非言語処理：数理モデルによる霊長類の行動記述

三村喬生（量子科学技術研究開発機構）

（3）画像解析による霊長類社会行動の大規模定量化にむけて

兼子峰明（京都大学ヒト行動進化研究センター）

（4）霊長類の親子関係において子の心的状態を反映するパラメターの探索

黒田公美（理化学研究所）

（5）社会的行動モニタリングの神経基盤解明に向けた行動学・神経生理学的研究

二宮太平（生理学研究所）

（6）ヒトの社会的コミュニケーションの潜在的過程

渡邊克巳（早稲田大学）

（7）カラスをモデルとした社会性の神経・行動基盤

伊澤栄一（慶応大学）

（8）認知状態と瞳孔反応

中内茂樹（豊橋技術科学大学）

（9）フレキシブルセンサを用いた生体計測

横田知之（東京大学）

(10) 情動処理の理解に向けた心血管応答の計測

山中　航（順天堂大学）

(11) 瞬きと瞳孔から探る心的状態

中野珠実（大阪大学）

【参加者名】

榎本一紀（NICT・CiNet），佐藤　尚（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），増田貴宏（アサヒクオリティーアンドイノベーションズ㈱），砂川忠広（アサヒクオリティーアンドイノベーションズ㈱），大木仁史，岡田裕斗（㈱CyberneX），服部裕子（京都大学・ヒト行動進化研究センター），加藤利佳子（京都大学・高等研究院），網田英敏（京都大学・ヒト行動進化研究センター），野々村聡（京都大学・ヒト行動進化研究センター），鴻池菜保（京都大学・ヒト行動進化研究センター），井上謙一（京都大学・ヒト行動進化研究センター），兼子峰明（京都大学・ヒト行動進化研究センター），黒島妃香（京都大学），榊原未桜（京都大学），金田勝幸（金沢大学），諸隈誠一（九州大学），伊澤栄一（慶応義塾大学），出馬圭世（高知工科大学），小杉亮人（国立精神・神経医療研究センター神経研究所），城ヶ﨑小都（国立精神・神経医療研究センター神経研究所），中村月香（国立精神・神経医療研究センター神経研究所），篠崎淳（札幌医科大学），山中　航（順天堂大学），横井　惇（情報通信研究機構・未来 ICT 研究所），田中慎吾（新潟大学），磯田昌岐（生理学研究所），二宮太平（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），近藤邦生（生理学研究所），戸松彩花（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），則武　厚（生理学研究所），郷田直一（生理学研究所），上野浩司（川崎医療福祉大学），宮崎淳

（早稲田大学），渡邊克巳（早稲田大学），田中雅史（早稲田大学），向井香瑛（早稲田大学），中野珠実（大阪大学），阿部高志（筑波大学），進士裕介（中部大学），高橋真有（東京医科歯科大学），篠田義一（東京医科歯科大学），坂入朋美（東京医科歯科大学），榮田　大（東京医科歯科大学），渡辺義浩（東京工業大学），横田知之（東京大学），Xu Yuting（東京大学），小倉有紀子（東京大学），山下　歩（東京大学），齋藤愛香（東京大学），石田裕昭（東京都医学総合研究所），中山義久（東京都医学総合研究所），領家梨恵（東北大学），越智翔平（東北大学），横山ちひろ（奈良女子大学），山下晶子（日本大学），松本惇平（富山大学），村田航志（福井大学），松野　響（法政大学），中内茂樹（豊橋技術科学大学），南　哲人（豊橋技術科学大学），矢野（梨本）沙織（北海道大学），瀧本彩加（北海道大学），松島俊也（北海道大学），新宮裕子（北海道立総合研究機構），高木佐保（麻布大学），清水稀惠（麻布大学），菊水健史（麻布大学），磯村朋子（名古屋大学），黒田公美（理化学研究所），三村喬生（量子科学技術研究開発機構），岩沖晴彦（量子科学技術研究開発機構），小山　佳（量子科学技術研究開発機構），南本敬史（量子科学技術研究開発機構），間島慶（量子科学技術研究開発機構），永澤美保（麻布大学）

【概要】

本研究会では，行動指標や生理指標にもとづいて心的状態を炙り出せないかという狙いのもと，機械学習・社会性･生理計測という 3 つのセッションにおいて計 11 名の講演者にご登壇いただいた。

機械学習セッション：村田先生には機械学習に基づいたラットの音声弁別に関する研究，三村先生にはマーモセットの自由行動を分節化して特定の動作パターンを抽出する研究，兼子先生にはマーカーレス画像解析により 3 次元でサルの姿勢推定をする研究を紹介していただいた。

社会性セッション：黒田先生には輸送行動による赤ちゃんの心拍数の変化，渡邊先生には他者との無意識的な行動同期，二宮先生にはサルにおける他者のモニタリング行動とその神経ネットワーク，伊澤先生にはカラスにおける個体間交渉でのソーシャルディスタンスや心拍数の変化についてそれぞれご講演いただいた。

生理計測セッション：中内先生には瞳孔径が認知的処理に関連するという研究，中野先生には瞬きや瞳孔径が知覚情報処理や意味認識に関連するという研究，山中先生にはラットにおける情動による血圧・心拍数への影響についての研究を紹介していただいた。また，横田先生には皮膚や臓器などへの侵害性の低いナノメッシュ電極を用いた最先端バイオセンサーについて紹介いただき，生体計測の可能性について議論した。

各セッション後にはパネルディスカッションを企画した。各セッションで座長を務めていただいた松本先生，磯田先生，高橋先生に，引き続き司会進行をおこなってもらい，普段の研究発表ではあまり議論されない，各トピックに関連した重要な課題や研究の展望について意見交換をおこなうことができた。

初日の最後にはポスターセッションもおこなった。計 7 名の方にオンラインで研究発表していただき，多様な生理・行動指標の計測と解析について，有意義な議論をおこなった。

（1）ラット超音波発声のおいしさ反応測定への利用可能性

村田航志（福井大学学術研究院医学系部門 脳形態機能学分野）

実験動物の情動反応の測定は，感覚を介した外界認識機構の研究に必須である。おいしさと表現される食の快情動は，栄養価の高い食物の学習や動機づけに重要である。しかし，動物の快情動を直接評価する方法は限られており，広く使われている指標は味刺激に対する表情反応だけである。

ラットの超音波発声 USV は，情動の測定指標となる。痛み等のネガティブな情動は 22 kHz の長い USV を誘発し，ラットどうしのじゃれあいや食物の期待等のポジティブな情動は 50 kHz（30 - 100 kHz）の短い USV を誘発する。本研究は，USV のおいしさ快情動測定への利用可能性を検討した。

オスラットペアに録音箱内でチョコレートを繰り返し提示し，録音箱に移動してからチョコレートを提示する前の 10 分間（期待期）と，チョコレートを提示した後の 10 分間（摂食期）における 50 kHz USV の発声回数と波形特性を比較した。USV の検出ならびに波形特性の抽出には DeepSqueak v3 を用いた。

チョコレート提示の繰り返しにより，提示前（期待期）と提示後（摂食期）の両方で USV が増加した。波形特性については，期待期と摂食期の間で周波数帯域および音圧が変化するラットペアが生じた。期待期 USV と摂食期 USV は波形特性をもとに機械学習で区別可能なものがあり，摂食行動に紐づいた USV の存在が示唆された。

（２）然非言語処理：数理モデルによる霊長類の行動記述

三村喬生（量子科学技術研究開発機構 脳機能イメージング研究部）

行動を手がかりに「心とはなにか」という根源的な疑問に実験的に答える研究アプローチは，機械学習の発展を背景に新たなステージを迎えつつある。霊長類の行動表現には，観察に基づいた古典的な行動類型の分類では拾いきれなかった豊かな情報に溢れている。摂餌 1 回とカウントしていた行動表現系における動物の振る舞い，すなわち視線方向・表情・全身運動のダイナミクスには，感情や意図など動物の内部状態に関する様々な情報が符号化されていると考えられる。この行動符号はヒト-非ヒト霊長類に進化的に共通の基盤を持つ非言語性のコミュニケーションの根幹を成し，社会脳機能の全容解明において不可欠な要素である。動物の内部状態を行動表現から確率的に推定する統計モデルには，自然言語処理を対照したアルゴリズムが有望である。すなわち連続した文字列から意味単位(形態素)や文法(構文構造)を教師なし機械学習により推定するのと同様に，モーションデータから再現的に観測される運動単位とそれらのチャンク構造を確率的に特定できる可能性がある。そこで本講演では，マーモセットおよびマカクの自由行動を対象にしたノンパラメトリック・ベイズモデルによる行動記述アルゴリズムの適用研究を紹介し，心的状態を客観的にラベル付ける次世代型の行動計測系について議論したい。

（３）画像解析による霊長類社会行動の大規模定量化にむけて

兼子峰明（京都大学 ヒト行動進化研究センター 高田研究室）

調和ある社会の実現にむけ，私たちが他者をどのように認識して，そして自己の行動をどのように調整しているのか理解することは現代社会における喫緊の課題といえる。これを達成するためには，個体の生命科学から社会・集団レベルへの視点の転換が必要であり，かつ脳の機能構築や社会行動特性がヒトと類似した霊長類を対象とした研究が必須である。個別個体でのサル研究の飛躍的進歩は，眼球運動測定によって多様な行動課題が実現できたことが大きい。一方で，社会性研究では，自然な社会行動を客観的かつ高効率で定量化できるシステムが有望な技術となるはずである。近年，深層学習に基づく画像解析の発展は著しく，霊長類の自然な社会行動のハイスループット定量化が現実のものとなりつつある。本講演では我々が独自に開発した解析系と，それにより霊長類集団行動の定量化を実施した研究例を紹介する。社会行動の大規模定量化が実現され，眼球運動測定のごとく，ごく当たり前に社会行動が検証課題の一部を構成するパラダイムの誕生は目前である。

（４）霊長類の親子関係において子の心的状態を反映するパラメターの探索

黒田公美，篠塚一貴，大村奈美（理化学研究所 脳神経科学研究センター 親和性社会行動研究チーム）
矢野(梨本）沙織（北海道大学 大学院獣医学研究院 生理学教室）

哺乳類では親の子育てが子の生存に必須であり，そのため親は子育て行動，子は親に対する愛着行動を示す。近年，子育て行動の神経機構については研究が進んできたが，発達期の個体（子）は脳や体が小さく，実施可能な行動タスクが限られる，また日単位で成長するために実験的操作が困難であるなどの理由で，愛着行動の神経機構についてはまだ大部分が未知である。本日は霊長類の子の心的状態に関する研究を２つご紹介したい。

（１）旧世界ザル，コモン・マーモセットは，母親のみでなく家族で子育てをするため，子の愛着が複数の相手に分散する点が人間と共通する。また幼少期から 10 種類前後の発声を行う。発声の量と種類は発達により変化するが，家族との社会的状況やその時の受けている子育ての様相に影響を受けることから，子の心的状態を反映すると考えられた。

（２）子が運ばれる際に泣き止みおとなしくなる「輸送反応」を 2013 年にマウスとヒトで報告した。この時は数十秒程度の短時間の変化のみを調べたが，今回，5 分程度の連続的な輸送や，座ったままの抱っこ，ベッドに寝かせるなど，日常の育児で見られる各種状況での子の状態を，ビデオによる行動モニターとホルター心電図の組み合わせで解析した。その結果，子の覚醒―睡眠状態や親の行動の変化への反応が，心拍間隔の変化に鋭敏に反映されることが明らかになった。

（５）社会的行動モニタリングの神経基盤解明に向けた行動学・神経生理学的研究

二宮太平（生理学研究所・認知行動発達）

我々は日常的に，他者の行動とその結果に関する情報を，自らの行動を決める手がかりとしている。今回，このような社会的行動モニタリングの神経基盤解明に向けて，マカクザルをモデル動物としておこなってきた研究について紹介する。まずサルに対して実在の他個体，ビデオ上の他個体，ビデオ上の棒状の物体の 3 種類のパートナーを相手に行動観察と行動実行を繰り返す役割交替課題をトレーニングした。課題成績に加え，眼球運動と舌舐め（リッキング）を指標として，他者の行動をモニタリングしているか検討したところ，サルは他者が次にとるべき選択や，その正解・不正解について予想していることが明らかになった。また，自他の行動情報処理に関わる腹側運動前野（PMv）と内側前頭前野（MPFC）の局所電場電位にグレンジャー因果解析を適用することで，様々な他者と課題をおこなう際の 2 領野間の機能連関を解析した。その結果, PMv から MPFC への情報の流れが，相手が実在他者の時に最も多く，物体他者の時に最も少ないことが明らかになった。最後に，ウイルスベクターの 2 重感染による神経路選択的操作法を用いて，PMv から MPFC への入力を遮断する実験をおこなった。PMv→MPFC 神経路の活動を遮断中，サルはパートナーの行動エラー情報を，次に自らがおこなう選択に利用することができなくなった。以上の結果は，PMv と MPFC が様々な「他者」に応じて相補的に機能することで，相手の行動とその結果に関する情報を抽出し，自らの行動選択に役立てていることを示唆する。

（６）ヒトの社会的コミュニケーションの潜在的過程

渡邊克巳（早稲田大学 理工学術院）

ヒトの社会的コミュニケーションは，いくつもの潜在的・顕在的過程が，多層的に構造化されることで成り立っている。近年，社会性（あるいは「つながり」）を反映するような，身体・生理・脳活動の同期の研究が進んできている。これは，コミュニケーションや社会性を，顕在的に現れた結果の平均値としてだけではなく，「イマココ」で起きている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の，二人称的視点（あるいは「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。ヒトの社会性は，他の心的過程と同様に，その多くの部分が無意識的過程に基づいており，態度や高次機能による影響はあるものの意図的に操作することは難しい。このようなヒトの社会性を媒介する潜在的情報は，個体間で創発され，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，他の個体に伝わるように，表層に表現されて伝わらなければならない。本講演では，ヒトの社会的コミュニケーションに潜む過程に関する研究をいくつか紹介することで，心的状態の理解に向けた行動・生理的指標の計測と解析に向けた議論に向けた話題提供を行いたい。

（７）カラスをモデルとした社会性の神経・行動基盤

伊澤栄一（慶應義塾大学 文学部）

哺乳類とは独立に進化した鳥類は，身体形態や脳構造が哺乳類とは異なる。しかし，それらの違いがありながらも，生態や行動および認知には，種や系統を超えた類似性があることも事実である。トリを対象にした生態・行動・神経の研究は，進化における生態（くらし）と機構（しくみ）の関係を理解することに貢献する。

カラスは，広域的には固定されたメンバーによる局所的な群れが，随時随所で形成される流動社会生態をもつ。血縁で結びついた個体が社会を営む哺乳類とは異なる。カラスの群れでは，互いが個体認識し，特にオス間では明瞭な優劣順位が構築され，その対抗策として宥和関係も形成される。そのような環境下における個体の社会行動の調節は，2 者間交渉が基礎となるが，直接的関与であれ間接的関与であれ，3 者間交渉も当然生じる。2 者間で構築された社会関係とそれに基づく行動は，3 者間交渉においてどのように修飾・影響されるのだろうか。本発表では，2 者間交渉における行動と身体生理反応，および，3 者間交渉の行動ダイナミクスとそれがもたらす社会関係の行動データについて話題提供する。

（８）認知状態と瞳孔反応

中内茂樹（豊橋技術科学大学大学院工学研究科 情報・知能工学系）

瞳孔は一義的には網膜に入射する光量を調整するための器官である。明所では縮瞳，暗所では散瞳し，その直径は光量に応じておよそ 2〜8 mm 変化する。瞳孔は交感神経系活動を反映し，その背後には複雑な神経支配が存在する。こうした背後にある神経活動を通じて，対光反射（PLR: pupillary light reflex）のみならず，様々な認知状態が瞳孔反応に反映されることが知られている。瞳孔は比較的容易に赤外線カメラ等を用いた非侵襲計測が可能であり，口頭報告に依らない認知状態推の有力な指標として注目されている。

本講演では我々の研究グループがこれまでに明らかにしてきた認知状態が瞳孔に反映されるいくつかの事

例を紹介する。まず，聴覚刺激に対する瞳孔反応を利用した，日本人が苦手とされる英語の/r/と/l/の発音の聞き分け能力の個人差推定について述べる。次に，自覚的/無自覚的な記憶再認過程と瞳孔反応の関係について紹介する。最後に，視覚刺激に依存した時間知覚の変調が瞳孔反応に反映される事例について述べ，瞳孔反応を認知状態の指標として用いるメリット，デメリットについて議論する。

（９）フレキシブルセンサを用いた生体計測

横田知之（東京大学大学院工学系研究科 総合研究機構）
染谷隆夫（東京大学大学院工学系研究科 電気系工学専攻）

現代社会の国際的な大きな社会問題の１つとして高齢化があげられる。高齢化社会においては，病院や介護施設のみで高齢者をケアすることは難しく，高齢者個人が自分自身の健康状態に責任をもって管理することが必要となってくる。このような在宅医療システムを構築するためには，高齢者でも簡便かつ安心して自分の健康状態へアクセスすることができる必要性がある。このような社会を実現するうえで，重要な技術としてあげられるのがウェアラブルエレクトロニクスである。

ウェアラブルエレクトロニクスの最先端技術の１つにフレキシブルエレクトロニクスがあげられる。フレキシブルエレクトロニクスは，従来のシリコンを用いたエレクトロニクスとは異なり，材料自身の柔らかさや有機分子ならではの特異的な機能を生かすことで，生体・医療向けのデバイス応用が注目を集めている。我々のグループでは，特に有機エレクトロニクスを極限まで薄膜化することで，生体表面へ追従するフレキシブルセンサの開発に取り組んでいる。本講演では，1 μm という薄膜基板上に形成した様々な柔らかい集積回路や発光素子，通気性のあるナノメッシュセンサに関する技術紹介を行うとともに，生体計測に関する応用例に関する進捗についても紹介する。

（10）情動処理の理解に向けた心血管応答の計測

山中　航，和氣秀文（順天堂大学 スポーツ健康科学部 生理学研究室）

運動限界に迫るような高強度での運動パフォーマンス発揮時の苦しみや競技中の優劣のような競争他者との比較など，スポーツ競技においてさまざまな要因によって情動が惹起されうる。これらの情動は，自律神経応答の変化を介して，運動パフォーマンスに影響を及ぼす可能性があるが，その詳細な生理学的メカニズムについては明らかでない。このような情動処理において扁桃体―視床下部―延髄孤束核の神経ネットワークが重要な役割を担っているという仮説の検証を目的として，これまで我々の研究室では，自由行動下または頭部固定下ラットを用いて急性的・慢性的な心血管応答（血圧および心拍数）計測を行い，情動応答の指標として用いてきた。本研究会では，(1) 麻酔下ラットの扁桃体中心核刺激に対する心血管応答を計測した研究（Yamanaka et al., 2018），(2) 高強度トレッドミル運動遂行中のラットから心血管応答を計測し，扁桃体―視床下部―延髄孤束核ネットワークの関与について調べた研究（Kim et al., 2020; Tsukioka et al., 2022），(3) 頭部固定下覚醒ラットに報酬と罰の古典的条件づけ課題を学習させ，そのときの心血管応答を計測した研究（Yamanaka and Waki, 2022），について紹介し議論したい。

（11）瞬きと瞳孔から探る心的状態

中野珠実（大阪大学大学院生命機能研究科 脳神経工学講座）

「目は心の窓」ということわざの通り，目は様々な心の状態を外部に映し出す。本口演では，瞳の変化（瞳孔径）と，目を閉じる（瞬き）という２つの行動に着目し，自発的な身体活動が心の状態の動的変化に関与していることを紹介する。

人は３秒に１回の頻度で自発的に瞬きをしているが，こんなに頻回にする理由は謎とされてきた。そこで，映像観察時の瞬きのタイミングを調べたところ，映像の意味的な切れ目で人々の瞬きが同期して発生していることを発見した。さらに，この瞬きの度に，デフォルト・モード・ネットワークの活動が上昇する一方，注意を制御するネットワークの活動が一過性に低下していることが明らかとなった。これらのことから，自発性の瞬きの機能とは，脳内ネットワークの活動をリセットすることで，心の状態のバランス制御をしているのではないかと考える。

一方，瞳孔径は，脳の覚醒状態の変化に応じて素早く変化することが様々な研究により実証されてきた。それに対し，我々のグループでは，多義図形の知覚交替を用いて，脳の状態遷移が生じる数秒前に瞳孔径が一時的に収縮していることを発見した。さらに，点眼により瞳孔の末梢筋の活動を薬理的に遮断することで，瞳孔の急速な反応変化と持続的な反応変化には，異なる末梢自律神経経路が関与していることを明らかにした。これらのことから，瞳孔径の変化から脳の状態変化をより詳細に推定できる可能性が示唆される。

16. 行動制御の脳内基盤理解へのマルチディシプリナリーアプローチ

2023 年 3 月 18 日－3 月 19 日

代表・世話人：橘　吉寿（神戸大学大学院医学研究科・生理学）
所内対応者：南部　篤（生理学研究所・生体システム）

（１）Multiscale multimodal analysis for unraveling brain function expression mechanisms
小山内実（大阪大学 大学院医学系研究科・生体機能イメージング）

（２）The basal ganglia predicting and responding to action outcome
礒村宜和（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科・細胞生理学）

（３）Roles of thalamostriatal neurons in learning and switching of behavior in rodents and common marmosets
小林和人（福島県立医科大学 生体情報伝達研究所・生体機能）

（４）The neural basis of the brain-body connection
Peter Strick（University of Pittsburgh Brain Institute・Neurobiology, USA）

（５）My life with the basal ganglia
南部　篤（生理学研究所・生体システム）

（６）A neural mechanism of sensorimotor transformation in the spinal cord and brainstem during voluntary movement
関和彦（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）

（７）Progress report to Prof. Nambu
西村幸男（東京都医学総合研究所・脳機能再建プロジェクト）

（８）Global disinhibition and massive plasticity for recovery from serious neuronal injuries
伊佐　正（京都大学 大学院医学研究科・神経生物学）

（９）Cerebrating achievement in basal ganglia research by Atsushi Nambu
木村　實（玉川大学 脳科学研究所）

（10）Forty years together with Prof. Nambu
高田昌彦（京都大学 ヒト行動進化研究センター）

【参加者名】

Peter Strick（University of Pittsburgh），Jose Obeso（CEU San Pablo University Madrid），Thomas Wichmann（Emory University），Thomas Boraud（University of Bordeaux），Thongchai Sooksawate（Chulalongkorn University），Steve Perlmutter（University of Washington），田中真樹，藤山文乃，岡田研一，亀田将史，澤頭　亮，Li　Li，安部　楓（北海道大学），高草木薫，高橋未来，千葉龍介（旭川医科大学），小林和人，宇川義一（福島県立医科大学），筒井健一郎，虫明　元，坂本一寛，越智翔平，渡辺秀典（東北大学），松本正幸，山田　洋，國松　淳，禰占雅史（筑波大学），竹林浩秀，笹岡俊邦，齊藤奈英（新潟大学），南本敬史，三村喬生，小山　佳，岩沖晴彦（量子科学技術研究開発機構），松崎政紀，森田賢治（東京大学），礒村宜和，篠田義一，高橋真有（東京医科歯科大学），植田禎史（東京女子医科大学），岩室宏一（順天堂大学），一瀬　宏，豊田　亮（東京工業大学），木村　實，鮫島和行，武井智彦，田中康裕（玉川大学），関和彦，窪田慎治，前田和孝，菊田里美（国立精神・神経医療研究センター），西村幸男，中山義久，横山　修，鈴木迪諒（東京都医学総合研究所），山森哲雄（理研脳神経科学研究センター），今井壽正（東京臨海病院），星英司（木更津病院），長谷川一子（国立病院機構相模原病院），佐藤澄人，駒井英人（北里大学），佐野裕美，一瀬（鷲見）千穂（藤田医科大学），山本哲朗（伊勢慶友病院），安田正治，倉岡康治，石井宏憲（関西医科大学），伊佐　正，伊佐かおる，佐々木　亮，加藤利佳子，高田昌彦，井上謙一，網田英敏，野々村聡，兼子峰明，木村慧，宮地重弘，兼重美希，行天悠一郎，Gaoge Yan（京都

大学），小山内　実（大阪大学），橘　吉寿，中井信裕，中村　毅，鈴木真生（神戸大学），加藤荘志（広島大学），吉田篤司（米国国立衛生研究所），南部　篤，久保義弘，磯田昌岐，北城圭一，村上正晃，長谷部理絵，山肩葉子，大塚　岳，知見聡美，二宮太平，畑中伸彦，上原一将，植松明子，郭　中天，泉谷芽生，長澤裕太郎，堀尾修平，本多結城子，纐纈大輔，高橋泰伽，江川孝彦（生理学研究所）

【概要】

我々の多様な行動の神経基盤を解明するためには，システム神経科学研究が重要で，古典的な手法により，あるいは技術革新によって新たに開発された手法を組み合わせて，脳神経回路において複雑に織りなされた神経ネットワークを一つ一つ解きほぐす必要がある。また，近年のカルシウムイメージングやオプト・ケモジェネティクスの勃興，げっ歯類の運動課題の開発が，システム神経科学に革命的な進歩をもたらしている。しかしながら，真のヒトの行動の神経基盤を理解するために，またヒト固有の精神・神経疾患の病態を解明するためには，げっ歯類とヒトの間を埋めるマーモセットやマカクザルなどの霊長類を用いた神経回路研究も不可欠である。

そこで，本研究会では，様々な動物種や実験手法を用いた多様な研究について，研究者が集い互いに情報交換を行う場を提供し，行動制御の基盤を成す多階層神経回路の作動原理を理解し，システム神経科学の未来を展望することを目的とした。2023 年 3 月 17 日－3 月 19 日の日程で，国内・国外から研究者を招聘し，後半を生理学研究所研究会として開催した。

本研究会の成果として，特筆すべきは，70 歳代の世界を代表する研究者から，20 歳代の大学院生にわたる幅広い年代の研究者が参加したことで，システム神経科学におけるこれまでの歴史的変遷を，シニア研究者から若手研究者が，直接ご教示いただく事が出来た点にあると言える。これにより，故きを温ねて，新しきものの長所・短所を再確確認することが出来た点は，若手研究者にとって，大変意義深いものとなった。と同時に，フラットな関係で自由で活発な議論を行うことが出来，全員が非常に楽しく温かみのある時間を共有できた研究会であったと言える。

17. 力学系の視点からの脳・神経回路の理解

2022 年 12 月 2 日－12 月 3 日

代表・世話人：青柳富誌生（京都大学）
世話人：岡崎由香（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門）
所内対応者：北城圭一（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門）

（１）確率的な神経系における脳状態制御コストの定量化

大泉匡史（東京大学）

（２）精神疾患の数理モデル

田中沙織（奈良先端科学技術大学院大学 / ATR）

（３）Modeling the emergence of novelties and its dynamics in social networks

岡　瑞起（筑波大学）

（４）テンソルネットワークによるニューラルネットワークモデルの圧縮

原田健自（京都大学）

（５）興奮抑制均衡の臨界点における神経回路の大域的振動と情報処理

早川　隆（日本大学）

（６）腸内細菌叢データに対する擬似時間再構成法の適用

中岡慎治（北海道大学）

（７）化学反応系における情報幾何学的な散逸の分解

伊藤創祐（東京大学）

【参加者名】

安藤正彦（㈱日立製作所），高橋雄太（NCNP），泉龍太郎（Nihon Univ.），Tang Qianyuan（RIKEN CBS），吉澤真太郎（R フロンティア部），中田一紀（TDK），本間俊光（Yamagata1），村井翔太（ニューロインテリジェンス国際研究機構），太田航介（バイオメカニクス研究室），吹野美和（パナソニックホールディングス㈱），福島邦彦（ファジィシステム研究所），長谷川博（茨城大学大学院），吉田暁人（㈱アラヤ），近添淳一（㈱アラヤ），山本雅裕（㈱東芝），齋藤美和（㈱豊田中央研究所），栗川知己（関西学院大学），三浦佳二（関西学院大学），亀山　敦（岐阜大学），伊藤浩之（京都産業大学），立川剛至（京都大学），荒井貴光（京都大学），阪上雅昭（京都大学），青柳富誌生（京都大学），落合美佳子（京都大学），水原啓暁（京都大学大学院），高須正太郎（京都大学大学院），寺前順之介（京都大学大学院），古川寛樹（京都大学大学院），島崎秀昭（京都大学大学院），古川温馬（京都大学大学院），金城卓司（玉川大学脳科学研究所），田中康裕（玉川大学脳科学研究所），矢嶋赳彬（九州大学），新居俊作（九州大学），竹川高志（工学院大学），高橋春輝（工学院大学），横山　寛（広島大学），中西大斗（広島大学），加藤荘志（広島大学），飯間　信（広島大学），山下祐一（国立精神・神経医療研究センター），西森康則（産業技術総合研究所），井上　公（産業技術総合研究所），田中琢真（滋賀大学），高井洋平（鹿屋体育大学），矢野望夢（鹿児島大学院），保坂亮介（芝浦工業大学），板橋貴史（昭和大学発達障害医療研究所），深山　理（情報通信研究機構未来 ICT 研究所），飯田和泉（新潟大学大学院），大須理英子（人間科学学術院），Jose Gomez-Tames（千葉大学），高橋徹（早稲田大学），合屋拓巳（早稲田大学），椰木功介（早稲田大学大学院），大隈玲志（早稲田大学大学院），大久保健一（大阪大学），末谷大道（大分大学），原田健自（筑波大学），岡　瑞起（筑波大学），手塚太郎（筑波大学），塚田啓道（中部大学），渡部大志（中部大学），津田一郎（中部大学創発学術院），川端政則（東京医科歯科大学），名村憲尚（東京工業大学），大泉匡史（東京大学），伊藤創祐（東京大学），田中剛平（東京大学），太田桂輔（東京大学），合原一幸（東京大学），水野晋

之介（東京大学），千葉元太（東京大学），松木彩星（東京大学），近藤勇人（東京大学大学院），村松光太朗（東京大学大学院），鶴海杭之（東京大学大学院），木戸照明（東京大学大学院），山岸純平（東京大学大学院），渕野　裕（東京都立大学），越智翔平（東北大学），久保孝富（奈良先端科学技術大学院大学），田中沙織（奈良先端科学技術大学院大学 / ATR），陣内裕成（日本医科大学），早川　隆（日本大学），大橋一徳（日本大学），勝木厚成（日本大学），齊藤　健（日本大学），上田肇一（富山大学），渡邊紀文（武蔵野大学大学院），梶田真司（福井大学），山口　裕（福岡工業大学），西村治彦（兵庫県立大学），遠藤靖典（放送大学大学院），中岡慎治（北海道大学），吉田正俊（北海道大学），石原憲（北海道大学），飯塚博幸（北海道大学大学院），山野辺貴信（北海道大学大学院），江守陽規（北海道大学大学院），吉原めぐみ（理化学研究所），磯村拓哉（理化学研究所），北野勝則（立命館大学），間島　慶（量子科学技術研究開発機構），北城圭一（生理学研究所），泉谷芽生（生理学研究所），後藤優仁（生理学研究所），岡崎由香（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），髙橋直樹（生理学研究所），萩原　淳（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），KAMIJI, NILTONLIUJI（生理学研究所），安宅光倫（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），土元翔平（生理学研究所），戸松彩花（生理学研究所），Vikas Pandey（生理学研究所），上原優子（生理学研究所）

【概要】

システムとしての非線形力学系の理解は，数学，物理学，工学，脳科学など，基礎・応用問わず広い分野において重要視されている。 とりわけ，脳科学においては，神経細胞レベルのミクロなスケールから，全脳に渡るマクロなスケールまで，様々な階層における脳活動におけるダイナミクスを非線形力学系の観点から理解する研究がなされている。特に，機能的結合解析をはじめ，多くの生理学研究により，脳領域間（あるいは神経細胞間）における繋がりや構造的変化が知覚，認知，情動，運動など様々な脳機能との関わりがあることが明らかになっている。 その意味でもネットワーク結合力学系としての脳神経ダイナミクスの定量的理解が，多様で柔軟な脳の情報処理システムを解明する上で必要不可欠である。 本研究会が，生理学と数理科学の関連研究の橋渡しとなり，システムとしての脳を理解するための活発な議論の場となることを期待する。

（１）確率的な神経系における脳状態制御コストの定量化

大泉匡史（東京大学）

近年，脳を制御システムとみなし，脳の状態遷移に対する制御コストを測る理論的枠組が注目されている。制御理論の枠組みを用いると，脳を最適に制御するにはどのような脳領野に制御入力を入れるべきかなどを明らかにすることができる。しかしながら，従来神経科学で用いられてきた理論的枠組みは決定論的なモデルに限定されていたため，確率的な振る舞いをする神経系への応用は制限されていた。本講演では，神経科学における制御理論の適用範囲を広げるため，確率的な神経系の中で制御コストを測る方法論を提案した我々の取り組みを紹介する（Kawakita et al., 2022, Network Neuroscience; Kamiya et al., 2022, bioRxiv）。我々は，制御コストを非制御過程と制御過程の間の Kullback-Leibler divergence (KLD) として定義した。この制御コストに基づく最適制御問題は Schrödinger 問題として知られている。我々は特に，線形モデルの中で，最小コストの解析解を導出し，その解析解が脳活動の平均と共分散を制御するためのコストに分解できることを示した。この枠組を fMRI データに対して適用し，7 つの認知タスクを行っている状態への制御コストを定量化し，最適制御を行うのに重要な脳領野の同定を行った。その結果，異なる遷移を実現する際に，平均値の制御には視覚野が，共分散の制御には後帯状皮質（posterior cingulate cortex）が共通して重要な役割を果たすことが分かった。

（２）精神疾患の数理モデル

田中沙織（奈良先端科学技術大学院大学 情報科学領域 / ATR）

私たちは，私たちが日常で行う行動のほとんどを，合理的なものと考えている。しかし，環境に対して明らか（explicit）な知識を持っているにもかかわらず，不適応行動が強化されることがある。この研究では，強迫症の症状を，implicit に学習された不適応行動としてモデル化した。まず強化学習フレームワークによるシミュレーションにより，過去の行動のトレース信号が正と負の予測誤差に対して異なる減衰をする場合，エージェントが強迫症における侵入思考に応答することを implicit に学習することを示した。さらに，このモデルは強迫症における行動療法の治療効果を説明できることを示した。我々はさらに，強化学習フレームワークによる行動課題を強迫症患者並びに健常者に実施し，行動データからトレース信号の減衰率（トレースパラメータ）を推定した。その結果，強迫症患者は正と負の予測誤差に対して極端に非対称なトレースパラメータを示し，その不均衡がセロトニン再取り込み阻害薬によって正常化されることを確認した。一方，健康な参加者の行動特性のうち強迫的傾向にばらつきがあり，その強迫的傾向がトレースパラメータの非対称度と関連することがわかった。この結果は，トレースパラメータの偏りといった行動特性は，臨床表現型の範囲を超えて，健康な集団における差異に一般化することができることを示している。

参考文献：

Sakai Y, Sakai Y, Abe Y, Narumoto J, Tanaka SC. Memory trace imbalance in reinforcement and punishment systems can reinforce implicit choices leading to obsessive-compulsive behavior. Cell Reports 40(9):111275.
doi: 10.1016/j.celrep.2022.111275.

（３）Modeling the emergence of novelties and its dynamics in social networks

岡　瑞起（筑波大学システム情報系）

The continuous emergence of novelty is key to the creation of open-endedness. The phenomenon of the waves of novelties has been observed in interactions of human communication. Exploring this mechanism can provide clues to understanding the nature of open-endedness. An agent-based model incorporating the Adjacent Possible space can capture people's behavior within this context. We report on some findings from the analysis of this model and empirical data on the mechanisms that give rise to waves of novelty.

（４）テンソルネットワークによるニューラルネットワークモデルの圧縮

原田健自（京都大学大学院情報学研究科）

ニューラルネットワークは，多様な学習タスクをこなす神経回路網をヒントした計算モデルで，近年の人工知能のブレークスルーの中心であり，さまざまな研究が行われている。一般的に，最近のニューラルネットワークは大規模になりがちで，パラメータ数が非常に大きく，その圧縮が望まれている。本講演では，量子状態などの高い自由度を圧縮するのに用いられているテンソルネットワークを，ニューラルネットワークのパラメータ圧縮に応用した研究を紹介する[1, 2] 。さらに，ニューラルネットワーク中のテンソルネットワーク固有の問題や特徴についての最近の研究成果を紹介する。

参考文献：

[1] A. Novikov, D. Podoprikhin, A. Osokin and D. P. Vetrov, "Tensorizing Neural Networks", NIPS (2015).

[2] Z.-F. Gao, S. Cheng, R.-Q. He, Z. Y. Xie, H.-H. Zhao, Z.-Y. Lu and T. Xiang, "Compressing deep neural networks by matrix product operators", Phys. Rev. Res. 2, 023300 (2020).

（５）興奮抑制均衡の臨界点における神経回路の大域的振動と情報処理

早川　隆（日本大学医学部）

ランダムな強度のシナプス結合を持つ神経回路モデルとそれを記述する統計力学理論が，動物脳の神経活動パターンを説明するのに古くから用いられてきたが，大脳皮質局所回路のように興奮・抑制性の 2 種類の細胞が密に結合する場合に適用できる理論は最近になって確立された。これらの理論では強い抑制性フィードバックが強い興奮性のリカレント入力を抑え込み各細胞が不規則非同期的に活動する様子が記述できるものの，大脳皮質で実験的に観察されるような局所回路全体の同期的な活動パターンについては記述できなかった。本発表では抑制性フィードバックが興奮性のリカレント入力を抑え込めなくなる臨界点において，個々の神経細胞が多様な活動パターンを示しつつも局所回路全体としての同期的な振動も出現する現象を紹介し，この場合に適用できる新しいタイプの統計力学理論を関連研究と共に紹介する。このような臨界点にある神経回路はわずかな結合変化により回路全体の同期度が周期振動・不規則振動・持続定常活動など多彩なパターンを呈し，また少数のニューロンへの入力によって回路全体が同期的に駆動されることが，数値シミュレーションや理論的解析によって示される。また，このことを利用したリカレント神経回路の学習・記憶について紹介し，哺乳類大脳皮質局所回路に類似のメカニズムが備わっているかどうかについて議論したい。

（６）腸内細菌叢データに対する擬似時間再構成法の適用

中岡慎治（北海道大学大学院先端生命科学研究院）

塩基配列の解読技術が発達したことで，ヒトの腸内には 100 種類を超える細菌が存在することがわかってきた。同時に，腸内細菌叢の変化が糖尿病といった生活習慣病に深く関わっていることが明らかになりつつある。当研究室では，疾患発症に関わる細菌叢に対して適用可能な数理解析手法の開発と応用を進めている。

発症過程のようなダイナミクスを解析する上で時系列データの存在は不可欠であるが，細菌叢データを経時的に取得することは現実上できないことも多い。このため，疾患発症に伴う腸内細菌叢の変化を知ることは困難であるという課題がある。

系統樹解析は，複数のサンプルから突然変異の蓄積による進化の履歴を復元する手法である。また，一細胞トランスクリプトームの分野で用いられている擬似時間再構成法は，同時に取得した多数のサンプルから，細胞分化などのプロセスを復元する手法である。サンプルから履歴を復元する方法を適用することで，疾患発症のプロセスに伴って変化する可能性のある細菌を特定できる可能性がある。

一細胞トランスクリプトームの分野で用いられている擬似時間再構成法を腸内細菌叢データに適用することで，疾患発症に伴う腸内細菌叢の擬似時系列を推定し，疾患の発症・進行に伴って変化し得る細菌分類群を特定する手法を開発した。本発表では，開発手法と応用例について紹介する。

（７）化学反応系における情報幾何学的な散逸の分解

伊藤創祐（東京大学大学院理学系研究科）

化学反応系は生体情報処理を記述するために広く用いられており，例えば細胞内でのシグナル伝達のダイナミクスを記述するために用いられている。化学反応系は粒子数の分布のダイナミクスとしてはポアソン過程で記述される確率過程として表現可能であるが，一方で希薄溶液中のマクロな化学物質の濃度を粗視化して考えると，レート方程式で記述される非線形力学系を用いても平均的な挙動を理解することができる。近年，このレート方程式における熱力学理論である化学熱力学の理解が進んでいる。特に我々の貢献によって確率分布の規格化を考えない正測度空間の情報幾何学が化学熱力学の記述に有用であることがわかってきた。本講演では，化学熱力学における情報幾何学の取り扱いについて述べ，その周辺分野の話題についても触れたいと思う。

18. 人工知能技術と科学の協調と展開

2022 年 7 月 14 日－7 月 15 日

代表・世話人：山下祐一（国立精神・神経医療研究センター）
世話人：上原一将（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門）
所内対応者：北城圭一（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門）

（1）深層ニューラルネットワークによる錯視現象の探求

渡辺英治（基礎生物学研究所）

（2）脳波と人工知能技術による意思抽出への取り組み

吉村奈津江（東京工業大学）

（3）Autoencoder による fMRI データからの認知機能の時系列情報の解読

近添淳一（㈱アラヤ）

（4）精神疾患のスクリーニング・重症度評価を目指したプログラム医療機器開発

岸本泰士郎（慶應義塾大学）

（5）計算論的精神医学研究とデジタル治療の融合の可能性と展望

加藤郁佳（理化学研究所）

（6）異常検知についての最近の話題：イベント系列からの因果発見問題を中心に

井手　剛（IBM ワトソン研究所）

（7）データ同化とデータ駆動型モデリング：理論とスコープ

中村和幸（明治大学）

（8）リザバーコンピューティングに基づく省エネ情報処理

田中剛平（東京大学）

【参加者名】

水口智仁（Princeton University），Aqsa Shakeel（IBIC, NCNP），髙野晴成（IBIC），井手　剛（IBM），高橋雄太（NCNP），土肥栄祐（NCNP），小林由弥（SONY），西嶋　櫻（シスメックス㈱），池田幸次（シスメックス㈱），宮崎崇史（データ統括本部），渡邉博康（ブリーム自由研究会），福島邦彦（ファジィシステム研究所），高木聖和（㈱J-QuADDYNAMICS），近添淳一（㈱アラヤ），岡　大樹（㈱国際電気通信基礎技術研究所），Masami Iwamoto（㈱豊田中央研究所），三浦佳二（関西学院大学），金城卓司（玉川大学），正岡明浩（玉川大学脳科学研究所），岡村　翼（近畿大学），峯田渉吾（近畿大学），保坂　奎（近畿大学），竹内勇祐（近畿大学），小濱　剛（近畿大学），迫　優真（近畿大学），多田那由多（近畿大学），吉江里彩（近畿大学），大西健太（近畿大学），竹下真琴（近畿大学大学院），大橋勇介（近畿大学大学院），千畑颯也（近畿大学大学院），田中世識（慶応義塾大学），武見充晃（慶應義塾大学），岸本泰士郎（慶應義塾大学），品川和志（慶應義塾大学），加藤智信（慶應義塾大学），高田則雄（慶應義塾大学），加藤荘志（広島大学大学院），山下祐一（国立精神・神経医療研究センター），松島斗真（国立精神・神経医療研究センター），内田裕輝（国立精神・神経医療研究センター），辻本憲吾（国立精神・神経医療研究センター），小林　般（国立精神・神経医療研究センター），宗田卓史（国立精神・神経医療研究センター），伊藤正哉（国立精神・神経医療研究センター），青嶋陽平（国立精神・神経医療研究センター），神坂　遼（国立精神・神経医療研究センター），高村恒人（国立精神・神経医療研究センター），阿部十也（国立精神・神経医療研究センター），松本有央（産業技術総合研究所），添田喜治（産業技術総合研究所），大野伸彦（自治医科大学），山口博行（疾病研究第七部），小川昭利（順天堂大学），奥　貴紀（上智大学），政岡幸樹（川崎医科大学），末谷大道（大分大学），平田　豊（中部大学），塚田啓道（中部大学），阿部祐磨（中部

大学），吉岡辰朗（中部大学），新谷正嶺（中部大学），加藤　響（中部大学），山中将輝（中部大学），津田一郎（中部大学創発学術院），南部功夫（長岡技術科学大学），村上丈伸（鳥取大学），金子　順（東海大学），中川　渉（東京医科歯科大学），杉原玄一（東京医科歯科大学），清水正彬（東京医科歯科大学大学院），金井貴夫（東京医科歯科大学大学院），木立蒼斗（東京工科大学），吉村奈津江（東京工業大学），浅川伸一（東京女子大学），田中剛平（東京大学），合原一幸（東京大学），岡田征剛（東京大学大学院），田中宏和（東京都市大学），武田さより（東京都立大学大学院），樫原　潤（東洋大学社），吉本潤一郎（藤田医科大学），鈴木菜穂（徳島大学大学院），野澤孝之（富山大学），渡邊紀文（武蔵野大学大学院），田村秀希（豊橋技術科学大学），大脇崇史（豊田中央研究所），山本健太（北海道大学病院），中村和幸（明治大学），福島　誠（有限責任監査法人トーマツ），加藤郁佳（理化学研究所），間島　慶（量子科学技術研究開発機構），立松　圭（基礎生物学研究所），上田恭平（基礎生物学研究所），渡辺英治（基礎生物学研究所），谷本昌志（基礎生物学研究所），上野直人（基礎生物学研究所），小松英彦（生理学研究所），松岡健太（生理学研究所），北城圭一（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），横山　寛（生理学研究所），泉谷芽生（生理学研究所），岡崎由香（生理学研究所），後藤優仁（生理学研究所），萩原　淳（生理学研究所），髙橋直樹（生理学研究所），植松明子（生理学研究所）

【概要】

近年，人口知能（AI）技術の飛躍的進歩に伴い，科学研究においても既存の手法では見過ごされてきた重要な情報が可視化されるなど，科学と AI 技術の調和が基礎・応用研究分野において革新をもたらしています。特に，脳神経科学や神経内科学・精神医学といった脳病態研究においては，AI が人間の脳機能のモデルであるという観点から，ツールとしての有用性のみならず，他の科学領域とは一線を画する特異的な貢献が期待されます。脳神経科学・脳病態研究領域における AI 技術活用のさらなる発展には，分野を越境して相互の問題意識・技術を共有するための議論が重要です。そこで，本研究会では脳神経科学・脳病態研究領域を含む様々な領域で，先端的 AI 技術を用いて研究に取り組む方々をお迎えし，多角的視点から AI 技術と科学の協調と展開について議論を進めます。また，本研究会を通して将来の連携につながる交流の場を構築します。

（１）深層ニューラルネットワークによる錯視現象の探求

渡辺英治（自然科学研究機構 基礎生物学研究所／総合研究大学院大学 生命科学研究科）

ヒトの視覚は物体の色や形や大きさなど物理パラメータを忠実に再現しているわけではない。その原因のひとつは，眼から入力される視覚情報が限定的であり，脳はその曖昧な情報から視覚世界を推定していることにある。しかしながら，脳が再現した視覚世界は非常に巧みであり，正確に再現するよりも遥かに有用な情報を包含している。予測符号化説は，そのような脳の巧みな視覚処理を説明するための理論のひとつである。予測符号化説では，脳は常に感覚入力からの信号を予測しており，現実との予測誤差によって脳に保持している内部モデルの学習を進めているとする。不足する情報を予測で補い，有用な情報に変換しているのだ。最近，私たちの研究グループは予測符号化説を組み込んだ深層ニューラルネットワーク（DNN）による錯視の再現を試みている。錯視は，物理パラメータと知覚の乖離が顕著な例であり，これをテスト刺激にして予測符号化説の検証を進めている。本講演では，見て楽しい錯視のご紹介と共に，DNN で数多くの錯視が再現できること，さらには DNN と遺伝的アルゴリズムを組み合わせてことで錯視が創作できることをご紹介し，新しいスタイルの知覚研究の話題提供としたい。また最近取り組み始めた DNN 言語モデルの心理学的研究についても合わせてご紹介をする。本講演では，可能な限りその場で AI を実行し，AI とは何かを体感できるように工夫をして話を進める。

（２）脳波と人口知能技術による意思抽出への取り組み

吉村奈津江（東京工業大学 科学技術創成研究院）

脳活動信号から意思を抽出してロボットやパソコン操作を行える Brain-machine interface (BMI) において，近い将来には脳内に電極を埋め込む手法が我々の生活の一部になるという見解がある。言葉を伝えることを目的とした BMI 研究では，脳の神経細胞に針電極を刺す方式や脳皮質表面に電極を留置する侵襲的な方式で記録された脳活動信号に AI 処理を施すことで，発話や言語情報を抽出できる可能性を示している。その一方で，このような侵襲的手法に対する懸念点は依然として存在するため，非侵襲的手法を用いた取り組みも重要と考える。我々の研究グループでは，空間的分解能が低い非侵襲的手法の１つである脳波を用いた詳細な情報抽出に取り組み続けており，その中で本発表では意思抽出への取り組みについて紹介する。侵襲的手法を用いた知見との比較を通して非侵襲的手法の可能性を議論し，意思抽出を目的とした BMI 以外の用途の可能性についても議論する。

（３）Autoencoder による fMRI データからの認知機能の時系列情報の解読

近添淳一（㈱アラヤ 研究開発部）

機能的 MRI は，脳領域と脳機能の対応関係を同定するツールとして，広く用いられてきました。現在，主流となっているのは，いわゆるブレインマッピングであり，この手法においては，計測された脳活動の時系列データを，刺激提示や被験者の反応の情報に基づいて作成された回帰子によって回帰することにより，認知機能と対応する脳活動マップを作成します。しかし，この手法では，多重共線性の問題から，時間的に連続したイベントにおける信号の分離が困難である，という問題がありました。今回，私たちのグループでは，この回帰の問題を転置することにより，認知機能関連活動の時系列情報をデータ駆動的に抽出する手法（認知動態推定法）を考案し，どのような情報が抽出可能であるかを検証しました。Human Connectome Project の言語課題遂行中の機能的 MRI データを解析したところ，被験者のレスポンスや，聴覚野の活動のタイミングは正しく解読できていることが示され，さらに，認知機能関連活動の dynamics が個々の被験者の認知能力を反映したものであることが示されました。さらに，この手法を発展させ，autoencoder において，同様の回帰問題を解かせることで，脳活動 map の個人差を考慮したモデルが作成可能であることが明らかになっています。本研究会では，これらの知見について，技術面での工夫を中心にご紹介します。

（４）精神疾患のスクリーニング・重症度評価を目指したプログラム医療機器開発

岸本泰士郎（慶應義塾大学 医学部）

精神科領域におけるバイオマーカーの不在，症状定量化の難しさは，診断の遅れや不一致，治療評価の困難さ，新薬開発の難しさなどの問題につながっている。演者らは，種々のデバイスを活用したり，人口知能技術を用いたりすることで，このような問題を解消できないかと考え，複数の医療機器の開発に取り組んできた。具体的には，認知症スクリーニングやうつ病のスクリーニング/重症度評価を可能とするソフトウェア医療機器の開発である。

認知症の経過中，言語の上に表出され得る症状として，アルツハイマー型認知症の健忘失語は代表的ではあるが，典型的な失語症状としてとらえられる前にも，おそらく品詞の使い方の変化，文章の構造の変化が生じている可能性がある。演者らは，Natural Language Processing

(NLP) を用いて認知症スクリーニングを可能とするソフトウェアを開発し，治験を実施中である。また，同様に，演者らはホルター心電図計やリストバンド型ウェアラブルデバイスを用いて，うつ病のスクリーニングや重症度推定を行うソフトウェア医療機器を開発中である。

これらの人口知能技術を用いたソフトウェア開発に際しては，精緻なラベル付を行いながら，効率よく多くの患者データを安全に収集し，解析する仕組みを構築する必要があり困難も多い。演者の経験を通じて，類似の医療機器開発に向けた展望と課題について論じる。

（５）計算論的精神医学研究とデジタル治療の融合の可能性と展望

加藤郁佳（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

精神疾患の発症や病状には，遺伝子，神経回路，認知・行動特性，周囲の環境に至るまで複数の階層の要因が複雑にからみあって影響している。これらを理解し，治療法開発につなげるために，今まで蓄積されてきた臨床的知見や神経科学研究に加えて，機械学習をはじめとする数理・計算科学的方法論を用いた計算論的精神医学研究の重要度が増している。一方で，近年生活習慣病や精神疾患の治療・予防を目的に，スマートフォンなどを通じて食事栄養指導や認知行動療法などを患者に提供するデジタル治療が国内外で新しく開拓されつつある。診察以外の時間や場所など，従来は介入が難しかった医療空白の時間を活用できるという治療上のメリットに加えて，医学研究で収集が難しかった日常的な行動データを取得できるという意味で研究という観点でも注目を集めている。本発表では，計算論的精神医学分野の発展を促進するために開発した論文データベース CPSYMAP と実際の研究の例としてギャンブルなどの行動依存症の強化学習モデルの研究を紹介する。さらに，デジタル治療分野の企業における研究経験を元に，どのように計算論的精神医学研究とデジタル治療を融合させることができるのかについて展望を述べる。

（６）異常検知についての最近の話題： イベント系列からの因果発見問題を中心に

井手　剛（IBM ワトソン研究所）

異常検知は統計学における正規分布の数学的性質の研究に端を発し，2000 年代から始まるデータマイニング，機械学習，情報理論との融合で，劇的にその幅を広げた。最近は深層学習が一般に広まったことで，さらにその間口を広げた感があるが，多くの深層学習のモデルは確率モデルとしては不完全なものが多く，改めて問題設定を見直す時期に来ているようにも思われる。本講演では，まず統計的異常検知の問題を概観し，とりわけ「説明可能なＡＩ」の観点から最近の発展に軽く触れる。次いで，神経科学とも関連の深いイベント系列からの因果発見問題を，グレンジャー因果と点過程モデル（ホークスモデル）の観点から論ずる（Ide et al., NeurIPS 21）。

（７）データ同化とデータ駆動型モデリング：理論とスコープ

中村和幸（明治大学 総合数理学部）

生命現象は，多様性・非定常性・不確実性の大きい複雑なシステムであり，物理モデル・数理モデルのような演繹的アプローチのみでは，実現象のもつ不確実性を定量的にカバーできない場合が多い。そのため，これまでも統計学的手法のようなデータを中心とした帰納的アプローチがとられてきた。しかし，対象を時間発展する

システムとしてとらえた場合，データに基づく帰納的アプローチのみでは，精度の高い時間発展予測やシステム理解が難しい場合も多い。

本講演では，この問題に対するアプローチとして捉えることができる，データ同化（Data Assimilation）ならびにデータ駆動型モデリングの一手法である逐次変分オートエンコーダ（Sequential Variational Auto-Encoder; SVAE）について紹介する。データ同化は，計測データと数値シミュレーションモデルを融合し，各々のみでは実現できない高精度な予測のための初期値・パラメータ推定などが可能である。また，ベイズ統計の枠組みで捉えることができるため，不確実性の評価も可能である。逐次変分オートエンコーダは，時間発展するシステムに対して変分オートエンコーダの枠組みを用いることで，時系列データの背後にある潜在空間の情報を抽出し，潜在空間内での動的構造も併せて推定しながら，近似モデルを構築するものである。講演では，両手法の数理的枠組みや共通点・相違点について説明し，さらにその特徴から，適用可能な対象・範囲について議論する。

（８）リザバーコンピューティングに基づく省エネ情報処理

田中剛平（東京大学 ニューロインテリジェンス国際研究機構）

リザバーコンピューティングは，リザバーを使って入力信号を高次元特徴空間に射影し，リードアウトでリザバー状態から所望の情報を読み出す方式をとる機械学習の枠組みである。リカレントニューラルネットワークの学習法の一種として提案され，主に時系列パターン認識に適用されてきた。ディープラーニングと比較して，学習が高速かつ簡便である点が特長である。また，リザバーとして物理系を利用する物理リザバーコンピューティングは，省エネ AI システム・ハードウエアの基礎になると期待され，近年注目されている。本発表では，リザバーコンピューティングの概要と最近の動向に触れた後，具体的な研究を紹介する。一つはマルチスケールダイナミクスを扱うためのリザバーコンピューティングモデルの構築に関するものであり，もう一つはメモリスタ素子のネットワークを利用する物理リザバーコンピューティングシステムに関するものである。これらの研究例を通じて，AI 技術でも脳神経科学でも考慮すべき，要素ばらつきと計算機能の関係性について議論する。

19. 第１２回社会神経科学研究会　「社会神経科学研究の今後の展開に向けて」

2022 年 10 月 27 日－10 月 28 日

提案代表者：松田哲也（玉川大学脳科学研究所・教授）

所内対応者：定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所・教授）

（１）コミュニケーションの脳科学：その展望

定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所）

（２）社会的文脈によって影響を受けるヒト記憶の神経メカニズムとその加齢変化

月浦　崇（京都大学大学院人間・環境学研究科）

（３）身体感覚を軸としたヒトの社会性発達の多様性，その生物学的基盤

明和政子（京都大学大学院教育学研究科）

（４）生きる力としての社会性

杉浦元亮（東北大学加齢医学研究所）

（５）社会神経科学の社会論的転回

笠井清登（東京大学大学院医学研究科精神科）

（６）統合失調症の中核症状を可視化する

高橋英彦（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科精神行動医科学）

（７）表情模倣における扁桃体の活動―fMRI と iEEG を用いた研究―

飯高哲也（名古屋大学脳とこころの研究センター）

（８）ポジティブ・イリュージョンの神経科学アップデート

山田真希子（量子科学技術研究開発機構量子生命科学研究所）

（９）ヒトとイヌの共生を支える認知，行動，内分泌

菊水健史（麻布大学獣医学部）

(10) マカクザルをモデル動物とする社会神経科学研究の今後の展開

磯田昌岐（自然科学研究機構生理学研究所）

(11) サル–ヒト社会脳基盤研究：現状と展望

南本敬史（量子科学技術研究開発機構量子生命・医学研究部門量子医学研究所）

(12) 非母国語の学習と使用に関わる脳機能解剖研究

花川　隆（京都大学医学研究科脳統合イメージング分野/脳機能総合研究センター）

(13) 社会的認知発達の多様性と可塑性

千住　淳（浜松医科大学子どものこころの発達研究センター）

(14) マルチスケールの視点から見た脳・人間・社会

赤石れい（理化学研究所脳神経科学研究センター）

(15) 気分・意欲と内側前頭皮質

筒井健一郎（東北大学大学院生命科学研究科）

(16) Speed dating を活用した脳機能画像研究

伊藤文人（高知工科大学フューチャー・デザイン研究所）

(17) 神経表象による職業スティグマの可視化

柳澤邦昭（神戸大学大学院人文学研究科）

(18) 社会・文化環境と遺伝子の共進化と相互作用

石井敬子（名古屋大学大学院情報学研究科）

（19）向社会性のデフォルト・制御過程・個人差の創発

高岸治人（玉川大学脳科学研究所）

【参加者名】

南　哲人（豊橋技術科学大学）松本有紀子（東京医科歯科大学精神科）兵頭和樹（公益財団法人明治安田厚生事業団体力医学研究所）玉利祐樹（静岡県立大学経営情報学部）磯崎三喜年（ICU）山地秀俊（神戸大学経営学研究科）森口佑介（京都大学）小川健二（北海道大学大学院文学研究院心理学研究室）小山佑奈（東京医科歯科大学国際健康推進医学分野）田中友香理（関西大学大学院心理学研究科）神田真治（神協産業㈱）石田裕昭（東京都医学総合研究所統合失調症 PJ）高木佐保（麻布大学）坂本考司（花王㈱感覚科学研究所）中田大貴（奈良女子大学研究院工学系）金井貴夫（東京医科歯科大学大学院・精神行動科学分野）小川昭利（順天堂大学医学部生理学第一講座）田浦秀幸（立命館大学大学院・言語教育情報研究科）小松英彦（生理学研究所）上田竜平（京都大学人と社会の未来研究院）前岡　浩（畿央大学）阿部匡樹（北海道大学）吉田一生（北海道大学大学院保健科学研究院リハビリテーション科学分野）小川園子（筑波大学人間系行動神経内分泌学研究室）坂田千文（京都大学文学研究科森口研究室）板倉昭二（同志社大学赤ちゃん学研究センター）廖　旭銘（京都大学明和研究室）高橋陽香（花王㈱）北地　雄（総合東京病院リハビリテーション科）石原　暢（神戸大学大学院人間発達環境学研究科人間発達専攻）増田柚衣（京都大学大学院人間・環境学研究科月浦研究室）山本真江里（名古屋大学医学部精神科）竹村浩昌（生理学研究所　システム脳科学研究領域感覚認知情報研究部門）近添淳一（㈱アラヤ・研究開発部）三村喬生（量子科学技術研究開発機構脳機能イメージング研究部）田中章浩（東京女子大学）南條啓孝（生理学研究所心理生理学研究部門）黄　強（立命館大学）小川洋和（関西学院大学文学部）三原萌愛（京都大学大学院人間・環境学研究科共生人間学専攻認知・行動科学講座 認知科学分野 月浦 崇研究室）Yulei Shen（名古屋大学情報学研究科心理認知科学専攻認知神経科学研究室）上原一将（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門）本多結城子（生理学研究所 研究力強化戦略室）奥村優子（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）一戸紀孝（国立精神・神経医療研究センター微細構造研究部）森本陽子（生命倫理カフェ・ねりま）田中大貴（玉川大学脳科学研究所）JUNWOO PARK（立命館大学言語教育情報研究科）佐藤大輔（新潟医療福祉大学健康科学部健康スポーツ学科スポーツ生理学ラボ）松本千明（京都大学教育学部教育科学科）平岡大樹（福井大学子どものこころの発達研究センター）船渡　錬（大阪大学連合小児発達学研究科浜松校（浜松医科大学）千住研究室）村井翔太（ニューロインテリジェンス国際研究渡部研究室）石塚佳奈子（名古屋工業大学保健センター）姫野友紀子（立命館大学生命科学部生命情報学科組織機能解析学研究室）出馬圭世（高知工科大学経済・マネジメント学群）角谷基文（浜松医科大学子どものこころの発達研究センター）近藤竜生（名古屋大学大学院情報学研究科心理・認知科学専攻田邊宏樹研究室）植松明子（生理学研究所認知行動発達機構研究部門）守田知代（情報通信研究機構）榎本一紀（NICTCiNet 脳情報工学研究室）新井さくら（玉川大学 脳科学研究所）小林亜紀子（高知工科大学経済・マネジメント学群）櫻井悠介（名古屋大学大学院情報学研究科心理・認知科学専攻認知神経科学研究室）磯村朋子（名古屋大学情報学研究科心理・認知科学専攻）水原啓暁（京都大学大学院情報学研究科）金城卓司（玉川大学脳科学研究所）田中里奈（名古屋大学大学院情報学研究科石井研究室）上田江里子（京都大学教育学研究科明和研究室）阪口幸駿（研究開発推進機構）下野九理子（大阪大学連合小児発達学研究科）前田友吾（北海道大学大学院文学院行動科学研究室）栗原勇人（早稲田大学大学院人間科学研究会認知神経科学研究室）管谷尚樹（京都大学教育学部現代教育基礎学系明和研究室）横山修（東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）佐藤洋大（名古屋大学大学院情報学研究科唐沢穣研究室）近藤崇弘（慶應義塾大学医学部生理学教室）平松　巧（京都大学教育学部現代教育基礎学系）水野　夏（京都大学教育学部）越智翔平（東北大学大学院医学系研究科発生発達神経科学分野）藤原秀朗（京都大学明和研究室）二宮太平（生理学研究所認知行動発達機構研究部門）中川恵理（静岡大学情報学部情報社会学科）子安ひかり（麻布大学）佐藤　徳（富山大学人文学部）岩渕俊樹（浜松医科大学子どものこころの発達研究センター）松尾　藍（北陸学院大学人間総合学部社会学科）水野　敬（大阪

公立大学）松井久典（京都第一赤十字病院）中村 太戯留（武蔵野大学）中村月香（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所微細構造研究部）川口　潤（追手門学院大学）滝口慎一郎（大阪大学大学院連合小児発達学研究科）浅野孝平（大阪総合保育大学児童保育学部乳児保育学科）宮園貞治（旭川医科大学教育研究推進センター）永瀬麻子（鳥取大学）Christy（The UT）宍倉由真（介在動物学研究室）寿　秋露（玉川大学脳科学研究所高岸研究室）泉谷芽生（神経ダイナミクス研究部門）北城圭一（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門）柿沼亨祐（高知工科大学経済マネジメント学群）梶原隆真（京都大学大学院教育学研究科発達科学講座）崔　邱好（名古屋大学・石井研究室）岩瀬湧多（明治大学）峯　耕太郎（東京都立大学大学院小児理学療法分野）Ruri Katsunuma（The University of Queensland, School of Psychology, Social Neuroscience Lab）南　俊行（京都大学大学院教育学研究科明和研究室）Liu Yuyong（杉浦研究室）Yin May Zin Han（東北大学）大場健太郎（東北大学加齢医学研究所人間脳科学研究分野）平山優花（専修大学人間科学部心理学科石金研究室）松永昌宏（愛知医科大学医学部衛生学講座）舘石和香葉（北海道大学文学院，行動科学講座）水口暢章（立命館大学総合科学技術研究機構伊坂研究室）兼子峰明（京都大学ヒト行動進化研究センター高田研究室）加茂晶穂（京都大学人間・環境学研究科月浦研究室）綾部宏明（NIPS 心理生理学研究部門）赤石れい（理化学研究所脳神経科学研究センター）飯高哲也（名古屋大学脳とこころの研究センター）石井敬子（名古屋大学大学院情報学研究科）磯田昌岐（生理学研究所　認知行動発達機構研究部門）伊藤文人（高知工科大学フューチャー・デザイン研究所）菊水健史（麻布大学獣医学部介在動物学研究室）定藤規弘（生理学研究所心理生理学研究部門）杉浦元亮（東北大学加齢医学研究所人間脳科学研究分野/災害科学国際研究所認知科学研究分野）高岸治人（玉川大学）月浦　崇（京都大学大学院人間・環境学研究科　認知・行動科学講座認知科学分野）筒井健一郎（東北大学大学院生命科学研究科）南本敬史（量子科学技術研究開発機構量子生命・医学研究部門量子医学研究所）明和政子（京都大学）柳澤邦昭（神戸大学人文学研究科）山田真希子（量子科学技術研究開発機構量子生命・医学部門 量子医科学研究所）千住　淳（浜松医科大学子どものこころの発達研究センター）笠井清登（東京大学大学院医学系研究科精神医学分野）高橋英彦（東京医科歯科大学）花川　隆（京都大学医学研究科脳統合イメージング分野）伊津野　巧（生理学研究所システム脳科学研究領域心理生理）伊藤嘉邦（生理学研究所心理生理学部門）岩瀬　恵（自然科学研究機構生理学研究所）小笠原香苗（生理学研究所心理生理研究部門）木村玲子（生理学研究所心理生理学研究部門）小池耕彦（自然科学研究機構生理学研究所心理生理学研究部門）竹中邦子（定藤研究室）土元翔平（生理学研究所心理生理学研究部門）鳴川　紗（生理学研究所システム脳科学研究領域心理生理研究部門）橋口真帆（生理学研究所心理生理研究部門）花田捺美（生命科学研究科生理科学専攻システム脳科学研究領域心理生理学研究部門）福永雅喜（生理学研究所）細谷絵美子（玉川大学脳科学研究所）山本哲也（生理学研究所 心理生理学研究部門）吉岡　歩（生理学研究所心理生理）郷田直一（生理学研究所心理生理学研究部門）吉本隆明（立命館大学・総合科学技術研究機構）松田哲也（玉川大学脳科学研究所）則武　厚（生理学研究所 認知行動発達機構）

【概要】

これまで社会性については，長年人文・社会科学系学問から生物学系学問まで幅広い領域からアプローチされてきた。近年，社会神経科学というような融合研究としても研究が進められてくるようになっている。それは，社会を理解するためには，個と集団という 2 軸の相互作用という観点から理解することが必要となってきたからである。つまり，個が生きていく上で必要とされる社会機能は，個が集団としてまとまった際に生まれる社会環境の変化を理解し柔軟に適応させることが社会性と考えられるからである。そこで，本研究会では最近 10 年間の社会性に関する研究の動向ならびに先端研究を理解すると同時に，2050 年の社会を想定して今後どのような研究が必要であるか？について，人文・社会科学系学問から生物学系学問の様々な領域で代表する 19 名の研究者による講演とディスカッションを行った。

（１）コミュニケーションの脳科学：その展望

定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所）

ヒトのコミュニケーションは「意味の伝達と共有を図る双方向的・循環的・創発的な記号・象徴行為」であることから，その神経基盤探索においては，伝達と共有の両概念を適用する必要がある。対面コミュニケーションは「相互予測性」を特徴としており，これにより生成される行動や神経活動の同期現象から，コミュニケーションの神経基盤を明らかにする試みが進行している。その現状と今後の方向性を展望する。

（２）社会的文脈によって影響を受けるヒト記憶の神経メカニズムとその加齢変化

月浦　崇（京都大学大学院人間・環境学研究科）

ヒトの記憶とその基盤となる神経メカニズムは，刺激に由来する社会的価値や他者との社会的関係性などの社会的文脈によって影響を受ける。しかし，そのような社会的文脈におけるヒト記憶の神経メカニズムが，加齢によってどのように変化するのかは，これまでに十分に検討されて来なかった。本日の講演では，この点について検証した最近の我々の fMRI 研究を紹介する。

（３）身体感覚を軸としたヒトの社会性発達の多様性，その生物学的基盤

明和政子（京都大学大学院教育学研究科）

社会的な生物として進化してきたヒト特有の精神機能が創発・発達する軌跡，その普遍性と多様性，その背後にある生物学的基盤について議論する。今，私たちが生きる環境は未曾有のスケールで変化している。「ヒトとは何か」という基本的理解を軸に，人類の未来環境をどのように設計していくべきかについて考えてみたい。

（４）生きる力としての社会性

杉浦元亮（東北大学加齢医学研究所）

2011 年の東日本震災以来，被災地の認知神経科学者として，サバイバルに関わる心理行動特性について研究してきた。人間のサバイバルの鍵は社会性であり，その多面性と多様な認知機能との関連について，未だ認知モデルの探索的構築の段階にある。その中で，脳機能計測実験はモデル検証の重要な役割を期待されている。

（５）社会神経科学の社会論的転回

笠井清登（東京大学大学院医学研究科精神科）

脳科学は歴史上，知覚や認知，情動や意欲，そして対人認知・行動の脳基盤を明らかにしてきたものの，対峙する標準的な人や集団を定数として扱うことを暗黙の了解として社会性概念を構築してきた。その結果，例えば定型発達者と比較して社会性障害の脳基盤を同定したとしたり，その障害を定型発達者に近づけるための研究が目標とされたりしてきた。しかし，社会変動が大きく，多様性と包摂が目標とされるこれからの時代に，社会神経科学も方向転換を迫られている。

（６）統合失調症の中核症状を可視化する

高橋英彦（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科精神行動医科学）

ヒトの精神機能は，知・情・意と呼ばれる。知とは知識・知覚，情は感情・情動，意は意図，意思決定，意識などを指す。社会神経科学は主に，情や意を扱う学問として近年，発展を遂げた。演者自身も統合失調症をはじめ，精神疾患の症状は情や意の変容と考えられるものが多いと感じ, 情や意に関する研究を行ってきた。しかし，研究の歴史が長い知の機能もまた，精神症状の理解には不可欠である。長い知の研究で検討されてきたが，十分に理解が進んでいない統合失調症の中核症状である思考障害や幻覚について，新しい技術を用いて再考する演者の最近の研究や今後の展望を紹介する。

（７）表情模倣における扁桃体の活動—fMRI と iEEG を用いた研究—

飯高哲也（名古屋大学脳とこころの研究センター）

相手の表情を見ている時に扁桃体が活動することは良く知られているが，表情を模倣している時に扁桃体が賦活されるかどうかまだ分かっていない。本研究では動画による表情を見た後に，顔刺激の無い状態で直前の表情を模倣する課題を行った。同じ課題を用いた健常者の fMRI 実験と, 難治性てんかん患者の脳内電極から計測された脳波解析の 2 つの結果を報告する。

（８）ポジティブ・イリュージョンの神経科学アップデート

山田真希子（量子科学技術研究開発機構量子生命科学研究所）

偏ったものの見方や思い込みなどの「認知バイアス（認知の歪み・錯覚）」は，これまで，認知科学，社会心理学，行動経済学において研究が続けられてきた。不正確な判断や非論理的な解釈など，行動経済学において広く非合理性と呼ばれるものにつながる場合もあるが，一方で, 自分に都合の良い解釈は心身の健康につながるなど，適応的な側面も有している。本講演では，自分に対して肯定的に偏った解釈を行う「ポジティブ・イリュージョン」に焦点を当て，その効果と弊害について心理学的観点から概観し，ポジティブ・イリュージョンを生み出す脳内基盤について概説する。

（９）ヒトとイヌの共生を支える認知，行動，内分泌

菊水健史（麻布大学獣医学部）

イヌは飼い主との特別な関係を構築できる最も古い家畜である。それを支える認知機能が明らかとなってきた。イヌはオオカミと比較し，ヒトからの視線や指さしによるシグナルを読み取る能力が長けていること，そしてその能力が進化の過程で獲得してきた能力であった。イヌはどのようにこの能力を獲得したのか，その認知能力や内分泌機構，そして遺伝的背景について紹介する。

（10）マカクザルをモデル動物とする社会神経科学研究の今後の展開

磯田昌岐（自然科学研究機構生理学研究所）

ヒトと進化的に近縁で，類似した脳機能構造を持つマカクザルを用いたシステム神経科学研究を推進することで，社会的な認知・行動制御における社会脳の役割をどこまで明らかにすることができるだろうか。研究開発の現状と国際動向を踏まえ，今後の展開を議論したい。

（11）サルーヒト社会脳基盤研究：現状と展望

南本敬史（量子科学技術研究開発機構量子生命・医学研究部門量子医学研究所）

社会コミュニケーションにおける言語的側面の分析・理解・再現は，AI 技術の急速な進歩により，今後，驚異的なスピードで知識集約の対象になっていくと推測される。一方で，ヒトの情動や感情，そしてさまざまな無意識的な行動など非言語的な側面の理解が次に重要となろう。そこではヒトの生物学的基盤の理解にむけた研究が動物を使った基礎研究を含める形で発展していくことが予想される。そこで，サル類を対象とした神経科学研究は次に何を目指すのか？現在の取り組みと展望について紹介する。

（12）非母国語の学習と使用に関わる脳機能解剖研究

花川　隆（京都大学医学研究科脳統合イメージング分野/脳機能総合研究センター）

ヒトが情報伝達に使用するシンボルのレパートリーは幅広い。その学習や使用を脳がどのように支えているかについては多くの研究があるが未だ未解明の問題も多い。本講演では非母国語文字の学習や使用に関わる脳機能・構造イメージングの知見を紹介する。

（13）社会的認知発達の多様性と可塑性

千住　淳（浜松医科大学子どものこころの発達研究センター）

社会的認知は，個人と個人の間，あるいは個人と社会的環境の間で生じる現象である。本発表では，特に乳幼児期の社会的環境の多様性が初期の社会的認知発達に及ぼす影響について検討した研究を概観し，個別の社会的環境への適応として社会的認知発達を捉える重要性について議論する。

（14）マルチスケールの視点から見た脳・人間・社会

赤石れい（理化学研究所脳神経科学研究センター）

人間の脳の研究において社会との繋がりを扱うことはある意味必然的な命題で有った。しかしこのような問題を実際に研究で扱う事は，非常に精細な脳神経回路のレベルから，人間の個人の行動のレベル，さらには文化の様な大きな社会的な文脈のレベルまで扱う必要がある。これらはそれぞれ別べつに研究されてきたが，近年ではこの様な研究のスタイルを見直そうという動きが出てきている。当研究室でもマルチスケールでの社会神経科学の研究アプローチを取ろうとしており，今回の発表では個人が集団の中でダイナミックに関係性を変え協調行動を行うメカニズムとその際の脳の働きの研究や，実際の社会で文化的な背景が社会行動や wellbeing に及ぼす影響についての研究について紹介したい。

（15）気分・意欲と内側前頭皮質

筒井健一郎（東北大学大学院生命科学研究科）

われわれのグループでは，気分や意欲の調節にかかわる神経機構を明らかにするため，サルを用いた動物実験を展開している。ウイルスベクターを用いた神経トレーシングでは，大脳皮質の中でも内側前頭皮質の腹側部（vMFC）が側坐核や扁桃体に密な投射を送っていることが明らかになった。また，当該領域を標的として低頻度の反復経頭蓋磁気刺激（lf-rTMS）による神経活動阻害を行うと，サルがうつ病様の行動を示した。以上の結果は，vMFC が気分や意欲の調節に重要な役割を果たしていることを示唆している。

（16）Speed dating を活用した脳機能画像研究

伊藤文人（高知工科大学フューチャー・デザイン研究所）

参加者同士が短時間の会話を繰り返し行っていく speed datingが脳機能画像と組み合わせて活用されるようになってきた。こうした手法は実験室実験の枠を超えて高い生態学的妥当性をもつと期待される。本講演では，筆者による Speed dating を活用した脳機能画像研究を紹介し，今後の展望について議論したい。

（17）神経表象による職業スティグマの可視化

柳澤邦昭（神戸大学大学院人文学研究科）

スティグマとは人の社会的価値を低下させる望ましくない属性を指し，特に職業に関連するものを職業スティグマという。従来の研究によって職業情報はスティグマ関連次元でカテゴリー化処理されていることが示唆されているが，そのような処理の神経表象は十分に検討されていない。本発表では，職業情報が含まれる記事を被験者が読んでいる際の脳活動から職業スティグマについて検討した結果を報告する。

（18）社会・文化環境と遺伝子の共進化と相互作用

石井敬子（名古屋大学大学院情報学研究科）

過去の文化神経科学による知見は,環境要因（例えば，病原体の感染への脅威）によってあるタイプの社会・文化的な規範（例えば，集団主義）が進化し，そうした規範に対する個々の適応を促す心の性質やその背後にある遺伝子が結果的に選択されてきたことを示唆する。また相互作用の過程は，ある特定の遺伝子多型が環境要因による影響を受けやすい結果，その遺伝子多型をもつ個人ほどその環境において促される心の働きや行動様式を獲得しやすい可能性を示唆する。しかし近年，これらの共進化や相互作用についての研究は，検定力不足を原因としてさまざまな問題に直面している。本発表ではサンプルサイズや効果量の小ささやターゲットとする遺伝子多型の妥当性といった問題点にも言及した上で，今後の研究の方向性を論じる。

（19）向社会性のデフォルト・制御過程・個人差の創発

高岸治人（玉川大学脳科学研究所）

2012 年より継続している大規模一般人サンプル実験の結果，向社会行動の過程には個人差が明確に存在し，その人が持つ向社会性の "デフォルト" を考慮して研究する必要があることが示された。本発表では，右背外側前頭前野（rDLPFC）が向社会性のデフォルトの制御に関連すること，向社会性のデフォルトの個人差は社会環境との相互作用の結果として生じていくこと，そして，思春期が向社会性のデフォルト形成に重要な役割を果たしていることを報告する。それらを踏まえて今後の社会神経科学の方向性について議論する。

20. 脳神経倫理研究会

2023 年 1 月 27 日

代表・世話人：中澤栄輔（東京大学医学部）
所内対応者：定藤規弘（生理学研究所）

（1）ワークショップ「日本における neuroethics の課題と展望」

定藤規弘，丸山めぐみ（生理学研究所）
福士珠美（東京通信大学）
荒木敏之，有江文栄（国立精神・神経研究センター）
立花幸司（千葉大学）
植原　亮（関西大学）
中澤栄輔（東京大学）

【参加者名】

中澤栄輔（東京大学），定藤規弘（生理学研究所），丸山めぐみ（生理学研究所），福士珠美（東京通信大学），荒木敏之（国立精神・神経研究センター），有江文江（国立精神・神経研究センター），植原　亮（関西大学），立花幸司（熊本大学）

【概要】

脳神経科学・技術の発展に伴い，それによってもたらされる人間，社会の変容を評価する営みとして脳神経倫理は欧米を中心に 2000 年代のはじめに勃興した。2008 年には，International Neuroethics Society が米国の研究者を中心に結成され，脳神経倫理学という学際的学問分野が形成されている。日本においても脳神経倫理に関する萌芽的な取り組みは散見される。しかしながら，これまで，日本においては学会組織の枠組みを超えた分野横断型の学知の集合と蓄積がなされることがなかった。こうした状況を踏まえ，脳神経倫理研究会は日本における脳神経倫理学のプラットフォームとなるべく，研究者の自発的取り組みとして結成されたものである。

2022 年度の研究会では，新型コロナウイルス感染症対策を十分に施した上で，初めて対面でのミーティングを実施することができた。しかしながら，当初，広く聴衆を全国から募る予定であったが，感染症拡大の防止の観点から，2022 年度の初めての会合は研究会メンバーによるクローズドな研究交流とした。参加者の 8 名はそれぞれの研究機関において神経科学研究に携わりつつ倫理的・社会的観点からの検討・発信を行っていたり，あるいは，脳神経倫理を専門に研究活動をしたりしている。本研究会では，研究会メンバー各自の関心領域と最近の取り組みについて簡単に情報共有がなされた後，日本における neuroethics の課題を確認し，さらに今後の研究の展望が共有された。論じられた話題は多岐に渡るものの，エンハンスメント，精神疾患研究の社会的影響，脳神経倫理的な国際的レギュレーション，市民参画の 4 点に議論が集中した。

今後は，本研究会への参加者をより広く募り，議論を広範に興すことで，日本の脳神経倫理のさらなる発展に寄与する研究会としていくことが期待される

（1）ワークショップ「日本の Neuroethics の今後の展開」

定藤規弘，丸山めぐみ（生理学研究所）
福士珠美（東京通信大学）
荒木敏之，有江文栄（国立精神・神経研究センター）
立花幸司（千葉大学）
植原亮（関西大学）
中澤栄輔（東京大学）

本ワークショップでは，「日本の Neuroethics の今後の展開」として，参加者によるオープンディスカッションを実施した。中澤栄輔（東京大学）は「ニューロエンハンスメント関する調査について」と題して，一般市民を対象とした質問紙調査の結果を共有し，他者の行動がエンハンスメントへの意欲に対して与える影響について論じた。荒木敏之（国立精神・神経研究センター）からは，ブレインバンクからの組織提供に関する話題提供があった。有江文栄（国立精神・神経研究センター）はニューロモデュレーションと若年層におけるインフォームド・コンセントの問題を指摘した。植原亮（関西大学）は AI の哲学の観点から知的徳としての創造性について問題提起した。定藤規弘（生理学研究所）は「ヒト脳機能イメージング研究における倫理的問題」と題し，精神疾患の神経科学的説明が社会に与える影響について問題提起した。福士珠美（東京通信大学）は IEEE によるニューロエシックス・フレイムワークを中心に，神経科学に関する国際的倫理規制の枠組みについて情報提供した。丸山めぐみ（生理学研究所）は脳科学研究者によるアウトリーチ活動における困難について指摘した。さらに，立花幸司（千葉大学）は，宇宙空間での脳科学研究を題材に，宇宙飛行士の精神心理支援と閉鎖環境研究の倫理について話題提供した。

21. 多次元脳形態研究会

2022 年 11 月 24 日－11 月 25 日

代表・世話人：一戸紀孝（国立精神・神経医療研究センター）
所内対応者：竹村浩昌（生理学研究所）

（1）ミクログリアの機能的活動の時空間解析と神経活動に対する応答性

堀内　浩（名古屋大学）

（2）成体脳で生じる新生ニューロンの移動における血流の役割

荻野　崇（名古屋市立大学）

（3）髄鞘形成は精神疾患の症状形成にどう関与するのか？

牧之段　学（奈良県立医科大学）

（4）マウス MRI 計測によって可視化できる脳体積変化を細胞・分子レベルで読み解く

阿部欣史（慶應義塾大学）

（5）拡散 MRI：脳微細構造解析及び脳コネクトーム解析

鎌形康司（順天堂大学）

（6）パルプロ酸投与自閉症モデルマーモセットにおける神経回路ダイナミクスの変異とオキシトシンによるその調節

野口　潤（国立精神・神経医療研究センター）

（7）白質線維束イメージングによる視覚情報伝達機構の研究

竹村浩昌（生理学研究所）

（8）白質解剖と神経画像によるヒト脳の神経束の解析

山口　淳（千葉大学）

（9）霊長類脳における視覚情報伝達経路の構造及び機能計測

兼子峰明（京都大学）

(10) フェレットを用いた大脳の形成と進化の分子機構の解析

河﨑洋志（金沢大学）

(11) ニューロイメージングからみたサルとヒト

横山ちひろ（奈良女子大学）

(12) ヒトにおける視覚認知の神経基盤　－自覚的な見えの変化－

鈴木匡子（東北大学）

【参加者名】

蘆田　宏（京都大学），麻生俊彦（理化学研究所），阿部欣史（慶應義塾大学），五十嵐博中（新潟大学），井関理南子（順天堂大学），一戸紀孝（国立精神・神経医療研究センター），植松明子（理化学研究所），湊原圭一郎（第一三共㈱），江尻亜梨紗（順天堂大学），蝦名昂大（金沢大学），大塚作一（国際高等専門学校），小川昭利（順天堂大学），荻野　崇（名古屋市立大学），奥村俊樹（情報通信研究機構），越智翔平（東北大学），金井貴夫（多摩北部医療医センター），金子奈穂子（同志社大学），金子貴久子（相澤病院），兼子峰明（京都大学），金城卓司（玉川大学脳科学研究所），金田大太（医療法人さわらび会 福祉村病院），鎌形康司（順天堂大学），河崎洋志（金沢大学），川端政則（東京医科歯科大学），小池　誠（マイクロ特許事務所），鯉田孝和（豊橋技術科学大学），黄　子彦（東京大学），小口峰樹（玉川大学），小林　恵（新潟大学），西條賢二（静岡大学），澤本和延（名古屋市立大学），實石達也（千葉大学），篠崎　淳（札幌医科大学），司馬　康（亀田

総合病院），浅水屋剛（東京大学），菅生康子（産業技術総合研究所），鈴木匡子（東北大学），須原哲也（量子科学技術研究開発機構），関戸雄貴（国立成育医療研究センター），高橋陽香（花王㈱），田熊大輝（京都大学），竹村晶子（名古屋市立大学），巽　理紗（東京大学），田宮寛之（京都府立医科大学），辻　奈津美（豊橋技術科学大学），土屋垣内　晶（Laureate Institute for Brain Research），續木大介（高知大学），中川剣人（早稲田大学），中澤忠輝（大阪大学共創機構），中嶋智佳子（名古屋市立大学），中田大貴（奈良女子大学），西本博則（情報通信研究機構），野界武史（情報通信研究機構），野口　潤（国立精神・神経医療研究センター），羽賀　柔（理化学研究所），橋口　伸（和泉市立総合医療センター），平野好幸（千葉大学），渕野　裕（東京都立大学），古道万喜（名古屋大学），堀内　浩（名古屋大学），本堂茉莉（慶應義塾大学），牧之段学（奈良県立医科大学），政岡幸樹（川崎医科大学），増田　修（新潟医療福祉大学），松平　泉（東北大学），松橋拓努（東北大学），松本有紀子（東京医科歯科大学），本居　快（福岡国際医療福祉大学），守田知代（情報通信研究機構），山口　涼（東北大学），山口　淳（千葉大学），山崎由喜（国士舘大学），山本雅裕（㈱東芝），楊　家家（岡山大学），Kenichi Yuasa（New York University），行松慎二（中京大学），横山ちひろ（奈良女子大学），吉田暁人（㈱アラヤ），吉田直史（理化学研究所），渡我部昭哉（理化学研究所），渡辺恭介（理化学研究所），渡邉リラ（第一三共㈱），渡邉　惠（国立精神・神経医療研究センター），間島　慶（量子科学技術研究開発機構），Inoko Junko（Foodidea），JEON Hyeonjin（名古屋大学），QIAN CHENYU（東京医科歯科大学），Yu Yinghua（Okayama University），以下 生理学研究所，KAMIJI Nilton Liuji，伊津野　巧，植松明子，郷　康広，小松英彦，高橋泰伽，髙橋菜々，戸松彩花，長澤裕太郎，鳴川紗，南條啓孝，二宮太平，萩原　淳，本多結城子，吉村由美子，竹村浩昌，羅　俊翔，宮田季和，横井　功，岩瀬　恵，庭木由紀

【概要】

今日では，脳の形態を研究する際に対象となる空間スケールや計測原理の異なる多種多様な方法論が用いられています。こうしたアプローチの多様性は脳研究を多面的に推進する上で有用である反面，専門化の進行によって，空間スケールや計測手法を超えた議論をする場が設定できないことが課題であると考えられます。このため，2022 年度より新たに脳形態研究において存在している様々なギャップを超えて議論を行う場として，生理学研究所研究会「多次元脳形態研究会」を新設しました。この研究会では，細胞レベルの形態学的・解剖学的研究，齧歯類を対象とした脳形態研究，非ヒト霊長類を対象とした解剖学的研究および脳機能研究，ヒトを対象とした脳イメージング研究・病態研究・脳損傷研究などを広く網羅することで学際的な議論の場を提供し，新分野の開拓の機会を提供することを目的としています。2022 年度の研究会は新型コロナウィルス感染症の症例数の増加などが懸念されたことから，オンラインのみでの開催となりましたが，２日間で 12 名の講演者の先生方にご発表いただきました。講演内容はミクログリアやニューロン新生，血流などに関するミクロレベルの研究，齧歯類を対象とした髄鞘や脳体積変化に関する研究，フェレットを対象とした脳形態の形成過程に関する研究，自閉症モデルマーモセットを対象とした脳形態の変異についての研究，サルを対象とした機能的イメージングと行動の関連についての研究，ヒトや非ヒト霊長類を対象とした拡散強調 MRI による白質線維束の研究，ヒト死後脳を対象とした白質線維束の解剖学的研究，ヒトを対象とした症例研究など，既存の学会では同時に聞く機会のない多様な内容から構成されました。参加者も第 1 回の開催でありながら，総計 109 名と恵まれ，質疑も終始活発でした。来年度以降継続の場合オンサイトの要素も含めた研究会とすることも望まれますが，一方でオンラインでの参加を希望する参加者も多く，どのようにしてオンサイトの参加が有意義となるプログラムを構成するかが今後の課題です。

（１）ミクログリアの機能的活動の時空間解析と神経活動に対する応答性

堀内　浩（名古屋大学大学院医学系研究科 分子細胞学分野 特任助教）

脳免疫細胞であるミクログリアは, 複雑で動的な突起をシナプスや軸索などに接触させることでその機能を監視・調節するが, 細胞内情報の伝達様式は明確になっていない。ミクログリアの活動性や周辺環境との相互作用を理解するためには, 時空間的に活動情報を読み出すことが有用である。我々は，ミクログリアの生体 Ca^{2+} イメージングを行い，一つ一つの活動イベントを個別に抽出・定量することで，ミクログリアの Ca^{2+} 活動の起源，情報伝達の方向性，速度，範囲などの伝達様式を定量的に読み出すことに成功した。さらに，ミクログリアの Ca^{2+} 活動が神経活動に依存することや ATP 受容体を介していることを明らかにした。

（２）成体脳で生じる新生ニューロンの移動における血流の役割

荻野　崇（名古屋市立大学大学院医学研究科 脳神経科学研究所 神経発達･再生医学分野）

成体マウスの脳には限られた領域に神経幹細胞が存在し，生涯にわたって新たなニューロンを産生する。脳室下帯で産生された新生ニューロンは，長距離を移動して，嗅覚情報の１次制御中枢である嗅球に到達する。新生ニューロンは嗅球内で移動を停止して，介在ニューロンへと分化・成熟することで, 神経回路に組み込まれる。このような嗅球におけるニューロン新生は，嗅覚機能の維持や学習に寄与している。新生ニューロンは，脳内を移動する際に血管を足場として移動することが知られているが，血流が新生ニューロンの移動に及ぼす影響は不明であった。私たちは，生体内イメージングを行うことによって，新生ニューロンの移動と血流の関係性を明らかにした。さらに，血流制御および血中因子の機能解析によって，新生ニューロンの移動が血流によって影響を受けることを見出した。これらのことから，血管に沿った新生ニューロン移動における血流依存的なメカニズムが明らかとなった。

（３）髄鞘形成は精神疾患の症状形成にどう関与するのか？

牧之段　学（奈良県立医科大学 精神科）

髄鞘は跳躍伝導により軸索伝導速度を飛躍的に高めることから，髄鞘形成不全は脳機能を変化させ，精神症状を変容させると想定されている。実際，統合失調症，躁うつ病, 自閉症などの多くの精神疾患においては脳の髄鞘形成不全が認められ，病態生理への関与が示唆されている。しかしながら，その詳細なメカニズムには不明である。かつて髄鞘は興奮性ニューロンの軸索のみに形成され, 抑制性ニューロンには形成されないとされていたが, 近年の複数の研究から, 抑制性ニューロンの軸索もまばらに髄鞘化されることが明らかになった。抑制性ニューロン，とりわけ parvalbumin 陽性ニューロンは，精神症状と相関する γ オシレーションの生成や興奮性/抑制性バランス（E/I バランス）の制御を司るため，これらの細胞種の髄鞘形成は精神症状の形成に関与する, すなわち精神疾患の病態生理の一部になると考えられる。

当日は，様々な精神疾患における髄鞘形成不全の知見をご紹介し，髄鞘形成不全による精神障害の想定されるメカニズムについて話します。

（４）マウス MRI 計測によって可視化できる脳体積変化を細胞・分子レベルで読み解く

阿部欣史（慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 脳科学研究部門）

臨床研究において MRI による脳領域の体積計測は広く用いられている。しかしある脳領域の体積が変化するという事は細胞レベルではどのような現象が起きているのか，ヒト MRI の知見だけから理解する事は難しい。そこで，モデル動物を用いて，脳体積変化に寄与した細胞構造変化を組織学的に詳細に記述する必要がある。さらに，その構造変化を引き起こした責任分子を特定できれば，臨床研究への還元が期待できる。本発表ではその一例として，大脳基底核 （淡蒼球や黒質）が肥大化する L-DOPA-induced dyskinesia (LID) モデルマウスを用いた研究を紹介する。LID はパーキンソン病の治療薬の副作用として知られている。また本発表では，マウス MRI の結果を組織学的に掘り進む事で発見した責任分子に介入し，その分子が LID に寄与する構造，神経回路，病態の 3 つの変化にまで迫った研究を報告したい。

（５）拡散 MRI：脳微細構造解析及び脳コネクトーム解析

鎌形康司（順天堂大学大学院医学研究科 放射線診断学）

拡散 MRI は, 脳内で拡散する水分子のミクロンスケールの変位を介して，ミクロ構造の特徴を推測可能とする。さらには近年，脳神経回路網の解明を目的とした構造的コネクトーム解析にも利用されている。つまり拡散 MRI は脳のミクロ構造〜マクロなネットワークまでを包括的に評価可能である有望な iv vivo imaging 技術の一つと言える。本講演では， neurite orientation dispersion and density imaging (NODDI)，Free water imaging などの脳微細構造評価技術や脳排泄機構評価へ利用, 拡散 MRI によるコネクトーム解析について概説する。さらには拡散 MRI 定量値の組織的な裏付けや多施設共同研究に向けた MRI 装置間の定量値変動やその調和法などについて触れる。

（６）パルプロ酸投与自閉症モデルマーモセットにおける神経回路ダイナミクスの変異とオキシトシンによるその調節

野口　潤（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 微細構造研究部）

自閉症スペクトラム障害（ASD）の背景には，マクロな機能的あるいは解剖学的変化とともに，神経回路動態の変異などのミクロな変化が考えられている。しかし，その基盤となるシナプスの性質は十分に理解されていない。今回，バルプロ酸（VPA）投与 ASD マーモセットモデルと in vivo 2 光子顕微鏡を用いた 3 日毎のイメージングによって，ASD の中核症状に関連する背内側前頭前野における樹状突起スパインの形態的ダイナミクスを検討した。VPA 投与成体マーモセットでは，対照群と比較してスパインのターンオーバーが亢進し，新生スパインは近接して(クラスター状に)生成される傾向が見られた。また，鼻腔内オキシトシン投与により，そのスパインのクラスター状の生成は抑制された。本発表では，ASD 病態の基盤と想定される，シナプス可塑性と回路固定化のバランスの変化と，その修正について考察し，行動実験の結果と比較検討する。

（７）白質線維束イメージングによる視覚情報伝達機構の研究

竹村浩昌（自然科学研究機構 生理学研究所）

ヒトの脳では遠く離れた脳領域間を結ぶ白質線維束が非常に発達している。近年拡散強調 MRI（diffusion MRI; 以下 dMRI）の発展により，ヒト生体脳を対象に白質線維束のイメージングを行うことが可能となってきた（Basser et al., 1994)。今回の講演では，主に dMRI を用いて視覚系を対象に行ってきた白質線維束イメージングの成果について紹介する。第一に，ヒトを対象にした dMRI 研究によって, 背側視覚野と腹側視覚野を連絡する白質線維束である Vertical Occipital Fasciculus （VOF; Yeatman et al., 2014）が視覚野のどの領域を連絡しているのかを分析した研究（Takemura et al., 2016）を紹介する。第二に，マカクザルの死後脳から得られた dMRI データを分析することで同様の検討を行い解剖学的研究と比較を行った研究（Takemura et al., 2017）について紹介する。第三に，偏光顕微鏡を用いた高解像度データの分析によって, ベルベットモンキー視覚野の白質線維束の分析を行った結果（Takemura et al., 2020）を紹介する。これらの結果を総合し，VOF が視覚系における視野情報の表現とどのように関係しているのかを議論する。

（８）白質解剖と神経画像によるヒト脳の神経束の解析

山口　淳（千葉大学大学院医学研究院 機能形態学(C1) ）

当研究室は医学部の神経解剖学教室である。ご献体頂いたヒト脳の白質解剖により神経束を剖出し，オープンデータバンクから入手した神経画像（拡散強調 MRI，機能的 MRI）の解析と併せて構造的，機能的な解析を行っている。 本研究会では，ヒト脳の後外方を上下方向に走行する「鉛直束 VOF（vertical occipital fasciculus）」，「IPS-FG」や，後頭葉 内側の神経束の解析結果を紹介する。まず，VOF であるが，近年，神経画像（Tractography）解析より，背側と腹側視覚伝導路を連絡する歴史上忘却された神経束と報告された。我々は白質解剖（Klingler 法）で VOF の存在とその投射部位の確認（validation）を行った。次に，頭頂溝 IPS (Intraparietal sulcus) と紡錘状回 FG (Fusiform gyrus) を結ぶ「IPS-FG」や，後頭葉内側に存在する神経束の解析結果を紹介する。

（９）霊長類脳における視覚情報伝達経路の構造及び機能計測

兼子峰明（京都大学ヒト行動進化研究センター）

霊長類の視覚システムは，大脳皮質の計算原理について最も理解の進んでいるシステムであり，機能的に異なる腹側と背側の視覚経路から構成されていることが知られている。しかし，自然な視覚行動において，これらの経路がどのような時空間ダイナミクスで機能するのかその詳細は不明であった。本講演ではマーモセットを対象として，拡散強調 MRI を用いた構造解析，半球全体に設置した皮質脳波電極による機能解析を用いることでその実態解明に迫った研究を紹介する。MRI による構造解析からは腹側と背側の視覚経路を連絡する白質線維束が霊長類種間で保存された主要な構造であること，また，皮質脳波に基づく機能解析では腹側と背側視覚経路が異なるタイミングで活動しながら効率的な視覚探索を実現することを見出した。マクロスケールな計測により能動的視覚行動における情報伝達の一端が明らかとなった。

（10）フェレットを用いた大脳の形成と進化の分子機構の解析

河崎洋志（金沢大学 医学系 脳神経医学分野）

進化の過程で大脳は著しく発達してきた。例えば，ヒトの大脳は肥大化しており，またその表面には皺（脳回と脳溝）が存在する。これらの変化は脳機能の発達に重要だと考えられているが，その形成や進化の分子機構には不明な点が多い。その理由として，発達した大脳を持つ動物では分子遺伝学的解析技術の確立が遅れていたことが挙げられる。そこで我々は，脳回などのヒトに似た大脳構築を多く持つ哺乳動物フェレットに着目した研究を進めてきた。フェレットの大脳での遺伝子操作技術を確立し，マウスとフェレットとを比較検討してきた。その結果，脳回形成に FGF シグナルや sonic hedgehog シグナルが関わること，さらにアストロサイトの増加を制御する分子機構などを明らかにしてきた。今回は，フェレットを用いた大脳の進化，発生および疾患に関する我々の最新のデータを紹介したい。

（11）ニューロイメージングからみたサルとヒト
Monkeys and Humans from Neuroimaging

横山ちひろ（奈良女子大学大学院　人間文化総合科学研究科）

ヒトを含む哺乳類の臓器の多彩な機能が分子レベルで詳細に解明されていく一方で，マクロレベルの研究が重要な意味をもつ臓器の一つが脳である。脳の全域にわたって抽出される神経回路網，分子動態や遺伝子発現の全脳マッピングなど，これらは直接個体の行動との関連，予測可能性を記述する。陽電子断層撮影法（PET）や核磁気共鳴画像法（MRI）などのニューロイメージング技術は，生体が機能している状態での測定が可能であり，ヒトを対象とした研究が進められてきた。これらの技術を動物に適用する意味は何だろうか。本講演では，サルの脳機能イメージングを通じて得られた知見をいくつか紹介し，脳機能研究におけるマルチスピーシーズ（種間比較）という視点から考察する。

（12）ヒトにおける視覚認知の神経基盤　－自覚的な見えの変化－

鈴木匡子（東北大学大学院医学系研究科高次機能障害学）

近年，ヒトの視覚認知に関わる神経ネットワークについては機能的 MRI による多くの研究がなされてきた。しかし，その部位が特定の視覚認知に関して必須の部位かどうかを知るには，脳損傷による視覚認知の変化を観察することが有用である。我々は神経疾患患者における脳機能低下部位と視覚症状を検討し，その関連を明らかにしてきた。さらに，難治性てんかん患者において，皮質電気刺激による視覚症状と皮質脳波の視覚誘発反応を組み合わせて，ヒトの視覚認知に関する神経ネットワークについて研究を進めている。動物実験と異なり，ヒトでは幻視や変形視など自覚的な見えの変化を聴取できる。わずかな刺激部位の差によって異なる幻視がみられることもある。本講演では“自覚的な見え”が皮質電気刺激や神経疾患によってどのように変化するかを中心に，最近の知見を紹介する。

22. 記憶・学習の包括的理解に向けたアプローチ

2022 年 9 月 7 日

代表・世話人：北村貴司（University of Texas Southwestern, Psychiatry）
所内対応者：鳴島　円（生理学研究所・生体恒常性発達研究部門）

（１）Multi-neuron coactivity in the medial prefrontal cortex during inferential decision-making

Kaori Takehara-Nishiuchi
（Department of Cell and Systems Biology & Department of Psychology, University of Toronto）

（２）A Dopaminergic Circuit Mediating Flexibility of Alerting Behaviors

Daisuke Hattori（University of Texas Southwestern Medical Center）

（３）Gastrin-releasing peptide regulates fear learning under stressed conditions via activation of the amygdalostriatal transition area

Yuji Kiyama
（Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University）

（４）Pathway-specific signals of midbrain dopamine neurons in reward-based decisions

Hideyuki Matsumoto（Osaka Metropolitan University）

（５）A novel therapeutic strategy for cognitive dysfunctions under clinically relevant antipsychotic treatment in a mouse model of schizophrenia

Yosefu Arime
（Division for Memory and Cognitive Function, Research Center for Advanced Medical Science, Comprehensive Research Facilities for Advanced Medical Science, Dokkyo Medical University）

（６）Social transmission of new knowledge without firsthand experience in mice

Ryang Kim（The University of Tokyo）

（７）Activity- and septin-dependent extension of smooth endoplasmic reticulum into dendritic spines as a synaptic mechanism of memory consolidation

Natsumi Ageta-Ishihara
（Dept Biomol Sci, Facul Sci, Toho Univ, Grad Sch Sci, Nagoya Univ, JST, PRESTO）

（８）Post-associative dopamine release works as a reinforcer for classical conditioning

Shintaro Naganos
（Learning and Memory Project, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science）

（９）Brain networks centered on prelimbic of mPFC for a novel food memory

Yudai Fukuyama（The university of Tokyo）

（10）Orbitofrontal Cortex Governs Wise Decisions Throughout Idling States

Mostafa Reda Fayed（University of Toyama）

（11）m^6A RNA modification binding protein YTHDF3 neuronal knockout mice pay less effort in motivation-based reward task

Momoe Sukegawa（Graduate School of Biostudies, Kyoto University, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research）

（12）Cartographic and morphometric analysis of neuronal spines in m6A reader-deficient mice

Shengqun Hou（Center for Biosystems Dynamics Research, RIKEN, Graduate School of Biostudies, Kyoto University）

（13）Calcium imaging of hippocampal CA1 engram cells before, during, and after contextual fear conditioning

Kyogo Kobayashi（Faculty of Science, Kyushu University, Graduate School of Informatics, Kyoto University）

（14）Regulation of diacylglycerol content in olfactory neurons determines forgetting or retrieval of olfactory memory in *Caenorhabditis elegans*

Mary Arai（Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University）

（15）Dynamic Nature of Memory Representation and the Hippocampal Network

Kazumasa Z. Tanaka（Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University (OIST)）

【参加者名】

Takashi Kitamura（University of Texas Southwestern Medical Center），尾藤晴彦（東京大学大学院医学系研究科神経生化学分野），Makoto Kinoshita（Department of Biological Science, Division of Natural Science, Nagoya University Graduate School of Science），奥野浩行（鹿児島大学　大学院医歯学総合研究科　生化学・分子生物学分野），上田（石原）奈津実（東邦大学理学部生物分子科学科），Dan Ohtan Wang（RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research），長井　淳（理化学研究所脳神経科学研究センター RIKEN Center for Brain Science），田中和正/Kazumasa Tanaka（Okinawa Institute of Science and Technology (OIST)），HOU SHENGQUN（Kyoto University; RIKEN BDR），野村洋（名古屋市立大学大学院医学研究科），Hideyuki Matsumoto（Osaka Metropolitan University），Tom McHugh（RIKEN CBS），福山雄大（東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻），Yu-Ju Lin（OIST Memory research units），喜田　聡（東京大学大学院農学生命科学研究科），Mostafa Reda Fayed（Department of Biochemistry, University of Toyama），長野慎太郎（公益財団法人東京都医学総合研究所），Daisuke Hattori（Department of Physiology and Department of Neuroscience, UT Southwestern Medical Center），Masakazu Agetsuma（生理学研究所），大野駿太郎（富山大学），佐々木拓哉（東北大学大学院薬学研究科），佐藤由宇（東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室），Viviane Saito（Memory Research Unit, OIST），有村奈利子（東北大学薬学研究科），水関健司（大阪公立大学），南雅文（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室），新井美存（九州大学大学院理学研究院生物科学部門），石原　健（九州大学理学研究院生物科学部門），山川武蔵（東北大学薬学部薬理学分野），鈴木美希（静岡県立大学薬学部），YUJI KIYAMA（Kagoshima-University），横井太紀（東北大学薬学部 薬理学分野），平野匡佑（名古屋市立大学大学院　医学研究科　認知機能病態学），金　亮（東京大学大学院医学系研究科），Yaolong Li（Kyoto university, Graduate school of medicine），疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所），Tom Macpherson（Institute for Protein Research, Osaka University），林　悠（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻），朝光世煌（理化学研究所 生命機能科学研究センター），上原一将（生理学研究所　神経ダイナミクス研究部門），植松明子（生理学研究所），山肩葉子（自然科学研究機構生理学研究所），堀内　浩（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），Sicre Mehdi（Riken），實木亨（三重大学医学部生化学），高橋泰伽（生理学研究所），鍋倉淳一（生理学研究所），石原義久（生理学研究所），Indrajith R Nair（National Brain Research Centre），Kaori Takehara-Nishiuchi（Department of Psychology, University of Toronto），木村梨絵（東京大学　大学院医学系研究科），小林暁吾（九州大学理学研究院），遠山　卓（東京慈恵会医科大学），助川桃枝（京都大学大学院生命科学研究科），南部美友（Okinawa Institute of Science and Technology），大西湧己（九州大学システム生命科学府），山田大輔（東京理科大学），佐々木　聡（九州大学 大学院理学研究院 生物科学部門 動態生物学講座 行動神経科学研究室），小山瑛里子（東京大学医学系研究科神経生化学教室），Josh Johansen（RIKEN Center for Brain Science），有銘預世布（獨協医科大学 先端医科学研究センター 認知・記憶研究部門），金谷哲平（東北大学大学院生命科学研究科超回路脳機能分野），上田修平（名古屋大学），長澤裕太郎（生理学研究所 多光子顕微鏡室），程　曦（東京大学栄養学研究室），柳下晴也（東北大学），森下良一（名古屋市立大学），金叢芸（生理学研究所），大原慎也（東北大学大学院生命科学研究科），永嶋　宇（東京慈恵会医科大学），萩原賢太（Allen Institute for Neural Dynamics），JUN YOKOSE（University of Texas Southwestern Medical Center），

吉友美樹（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），大川宜昭（獨協医科大学），大西克典（久留米大学医学部薬理学講座），榎木亮介（生命創成探究センター/生理学研究所），加藤成樹（福島県立医科大学），上野耕平（（公財）東京都医学総合研究所），Ali Choucry（Department of Biochemistry - University of Toyama），藤原　学（九州大学理学研究院），鳴島　円（生理学研究所　生体恒常性発達研究部門），井ノ口　馨（富山大学学術研究部医学系），Mahmoud Hanafy（University of Toyama），水田恒太郎（理化学研究所），荒木　峻（東北大学医学系研究科），松尾直毅（九州大学大学院理学研究院），齊藤　実（公益財団法人東京都医学総合研究所），Janine Micahella Contreras（New York University），渡邉　慧（静岡県立大学），Yoshiaki Tagawa（Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences），森川勝太（東京大学），引間卓弥（獨協医科大学 先端医科学統合研究施設 先端医科学研究センター 認知・記憶研究部門），鈴木章円（富山大学 学術研究部医学系），石川理絵（東京大学大学院農学生命科学研究科），Dennis Cheung（The National Institute for Physiological Sciences, Division of Homeostatic Development），米田泰輔（生理学研究所），ジャバン リーヅ ハン（富山大学 生化学講座），小林文絵（生理学研究所），山尾啓熙（東北大学），杉山奏美（東京大学大学院），香取和生（東京大学理学系研究科），KAMIJI, Nilton Liuji（生理学研究所 脳機能計測・支援センター 電子顕微鏡室・窪田グループ），大城叶絵（久留米大学医学部医学科），宇津野友哉（久留米大学），河原幸江（久留米大学医学部薬理学講座），宮下知之（東京都医学総合研究所），石井宏和（生命創成探究センター・生理学研究所），城山優治（鹿児島大学医歯学総合研究科）

【概要】

記憶・学習はヒトを含む動物の生存に重要な機能の一つであり，精神機能などにも関与する。1990 年代初頭から特定の遺伝子に着目した分子と記憶学習行動とをつなぐ研究が精力的に進められ，分子機構の解明が進展してきた。近年，発生工学，分子生物学の発展により産み出された光遺伝学のような特定神経細胞や回路の人為的活動操作，各種の in vivo イメージング，大規模神経活動記録，機械学習を用いた行動解析，数理解析などを複合的研究によって，記憶情報を物理化学的基質として可視化し観察するとともに，さらには操作することも可能となりつつある。そこで本研究会では，様々な実験手技・システムを用いて記憶研究の第一線で活躍する研究者や新進気鋭の若手研究者が一堂に集まり，十分に時間をかけて現在の記憶研究の最先端の情報をお互いに共有・補完することによって，記憶・学習研究の新展開に繋げる機会を設けることを目的として開催した。なお，本研究会は英語で実施した。

（１）Multi-neuron coactivity in the medial prefrontal cortex during inferential decision-making

Kaori Takehara-Nishiuchi

（Department of Cell and Systems Biology & Department of Psychology, University of Toronto）

The brain integrates multiple memories to discover their similarity, latent patterns, and causal relationships. These learned regularities in the external world, so-called prior knowledge, allow for better adaptation in the future even when direct experience is lacking. Evidence from human and rodent studies suggests that knowledge construction and application processes critically depend on an inter-connected network consisting of the medial prefrontal cortex (mPFC), orbitofrontal cortex (OFC), and the hippocampus. During knowledge application processes, neurons in these regions rapidly assimilate spiking patterns or form precise temporal spike coupling to chain together stimulus relations encountered on separate occasions. However, the neural mechanisms linking the inferred relations with inferred actions remain unknown. To address this point, we devised a behavioral task in which rats needed to infer a new action without any explicit training by transforming previously learned information about the environment. Our findings suggest that the newly introduced change in the familiar environment disconnects the mPFC from hippocampal control, which triggers the formation

of new coactivity patterns that link prior knowledge with a novel action. The newly formed coactivity may guide the execution of inferred action for rapid adaptation and incorporate the action into the mPFC knowledge structure for future use. We speculate that the accumulation of these processes endows the mPFC with the ability to predict beyond recall the best action to ongoing events in novel situations.

（２）A Dopaminergic Circuit Mediating Flexibility of Alerting Behaviors

Daisuke Hattori（University of Texas Southwestern Medical Center）

A fundamental function of the brain is to identify and orient the attention of animals to salient stimuli. Orienting, or alerting, behaviors afford animals an opportunity to investigate and learn about the nature of a salient stimulus. Salience is not fixed but dynamically modulated, such that an animal flexibly elicits alerting in accord with its past experience and current internal state. Here we show that a dopamine-gated circuit integrates hunger to flexibly control alerting behavior in response to food odors in *Drosophila*. We developed an assay that examines an alerting behavior of the fly and showed that food deprivation enhances alerting in response food odors. Screens using optogenetic manipulations of neural activity identified a class of mushroom body output neurons (MBONs), whose activity is necessary and sufficient for this behavior. Simultaneous recording of neural activity and fly behavior revealed that strong responses of these MBONs correlate with alerting behavior. This association between MBON response and alerting behavior is only observed for food odors, is eliminated upon feeding, and depends on dopaminergic input to these MBONs. These results indicate that the MBONs integrate hunger state through dopamine signals to dynamically generate alerting behavior. Given the functional similarity of dopaminergic circuits between insects and mammals, our study may shed light on a cellular-resolution mechanism for computing salience and controlling alerting behavior that is shared across species.

（３）Gastrin-releasing peptide regulates fear learning under stressed conditions via activation of the amygdalostriatal transition area

Yuji Kiyama（Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University）

The amygdala, a critical brain region responsible for emotional behavior, is crucially involved in the regulation of the effects of stress on emotional behavior. In the mammalian forebrain, gastrin-releasing peptide (GRP), a 27-amino-acid mammalian neuropeptide, which is a homolog of the 14-amino-acid amidated amphibian peptide bombesin, is highly expressed in the amygdala. The levels of GRP are markedly increased in the amygdala after acute stress; therefore, it is known as a stress-activated modulator. To determine the role of GRP in emotional behavior under stress, we conducted some behavioral and biochemical experiments with GRP-knockout (KO) mice. GRP-KO mice exhibited a longer freezing response than wild-type (WT) littermates in both contextual and auditory fear (also known as threat) conditioning tests only when they were subjected to acute restraint stress 20 min before the conditioning. To identify the critical neural circuits associated with the regulation of emotional memory by GRP, we conducted Arc/Arg3.1-reporter mapping in the amygdala with an Arc-Venus reporter transgenic mouse line. In the amygdalostriatal transition area (AST) and the lateral side of the basolateral nuclei, fear conditioning after restraint stress increased neuronal activity significantly in WT mice, and GRP KO was found to negate this potentiation only in the AST. These results indicate that the GRP-activated neurons in the AST are likely to suppress excessive fear expression through the regulation of downstream circuits related to fear learning following acute stress.

（４）Pathway-specific signals of midbrain dopamine neurons in reward-based decisions

Matsumoto Hideyuki（Osaka Metropolitan University）

Depending on the state of environments, we continuously update our behaviors to maximize future rewards. Dopamine has been known to be involved in learning and motivation and play a crucial role in reward-based decision-making. However, how midbrain dopamine neurons respond while animals face a different state of their environments and adapt their behaviors accordingly has not yet been examined well. In this study, we used freely moving animals and investigated the dynamics of responses of dopamine neurons in a reward-based, self-paced decision-making task in which animals flexibly adapt their choice and response vigor according to reward contexts. We recorded from optogenetically identified dopamine neurons located in the ventral tegmental area (VTA) which are selectively labeled by ChR2 in a Cre-dependent manner. We found diversities in inhibitory responses of dopamine neurons to negative events (error and reward omission) in the task. We implanted optical fibers into several projection targets of VTA dopamine neurons in single rats and examined projection targets of the activity-monitored dopamine neurons by delivering brief blue light pulses sequentially to each of the target areas. We found that dopamine neurons projecting to distinct striatal subareas showed different degrees of inhibitory responses to negative events. These results suggest that pathway-specific dopamine signals might be involved in distinct basal ganglia functions in reward-based learning and motivation.

（５）A novel therapeutic strategy for cognitive dysfunctions under clinically relevant antipsychotic treatment in a mouse model of schizophrenia

Yosefu Arime（Division for Memory and Cognitive Function, Research Center for Advanced Medical Science, Comprehensive Research Facilities for Advanced Medical Science, Dokkyo Medical University）

One of critical unmet medical needs in schizophrenia (SCZ) is an effective treatment for cognitive dysfunctions. Despite efforts over the past decades, impaired cognition remains largely refractory to current medications. However, the neural circuit mechanisms of cognitive dysfunctions remain unclear. Here, we studied chronic phencyclidine (PCP)-treated mouse model of SCZ to define the pathogenic mechanisms and pathophysiological processes that give rise to cognitive deficits of SCZ. We performed brain-wide c-Fos mapping and found the prelimbic cortex (PL) as a brain region relevant to working memory deficits in PCP model. In the layer 2–3 of PL of this model, we observed excessive c-Fos elevation by working memory load and identified several synaptic abnormalities including parvalbumin (PV)+ synapses onto the pyramidal neuron soma. We demonstrated prefrontal PV activation using hM3Dq-DREADD restored working memory deficits in PCP model. On the other hand, patients with SCZ can not stop taking antipsychotics due to very high relapse rate. However, many studies using animal models do not consider this clinical situation. We optimized dose regimen of antipsychotics (haloperidol and olanzapine) in mice and demonstrated that chemogenetic activation of prefrontal PV neurons restored working memory deficits in PCP model even under clinically comparable olanzapine treatment. These results suggest that intervention in prefrontal PV neurons could be add-on therapy to antipsychotics targeting amelioration of cognitive deficits in SCZ. Our study provides a potential therapeutic strategy for cognitive dysfunctions in SCZ.

（６）Social transmission of new knowledge without firsthand experience in mice

Ryang Kim（The University of Tokyo）

In order to survive in nature, animals use prior knowledge to determine whether the places and objects in front of them are safe or dangerous. Animals can acquire new knowledge via two types of learning: by firsthand experiences (such as during classical conditioning) or by secondhand experiences through observing and listening to another animal's experiences (social learning). The mechanism of the former has been well studied, while that of the latter is not well understood. The social transmission of food preference (STFP) task in rodents is considered as a behavioral model for social learning. In this task, an animal (observer) learns that an odor is safe by smelling another animal (demonstrator) that has safely eaten a food associated with this unknown odor. Once learned, the observer shows a "preference" to a food with this familiar odor (smelled from a demonstrator) than the same food with a novel odor in a test session. STFP, however, requires habituating the observer with a food-filled cup, thus providing the observer with a firsthand experience that a food is in the cup. Furthermore, an odor itself is sufficient to generate a preference to a food with the same odor, without any need to interact with a demonstrator animal to establish STFP. These issues make it challenging to disambiguate, based on animal's behavior, whether the observer has *socially* acquired "a new knowledge" from the demonstrator. We here established a new experimental model for social learning in mice, social transmission of food finding (STFF), by a modification of STFP task, and tested whether an animal can acquire a new knowledge from another. In STFF, we excluded the habituation session from the protocol, and we evaluated whether the observer acquired a knowledge about an unknown odor associated with the food, by measuring the latency of the animal to eat the food in the cup. We found that when the observer smelled an unknown odor from the demonstrator, the latency to eat a food with this associated odor was significantly shorter than that of a control observer animal that was not exposed to the smell. To induce this behavior, it was necessary to smell an unknown odor directly from the demonstrator, indicating that mice can socially learn an association of an unknow odor relates a food from the demonstrator mice. In addition, we found that mice recognized not only positive but also negative valence about an unknown odor in a manner dependent to the demonstrator's state (painful or dying, or healthy). The hippocampus was necessary for acquisition but not for recall of STFF. These findings are the first evidence that mice can learn a new knowledge without firsthand experience.

（７）Activity- and septin-dependent extension of smooth endoplasmic reticulum into dendritic spines as a synaptic mechanism of memory consolidation

Natsumi Ageta-Ishihara（Dept Biomol Sci, Facul Sci, Toho Univ, Grad Sch Sci, Nagoya Univ, JST, PRESTO）

Short-term and long-term memories (STM and LTM) are characterized respectively by the independence and dependence on protein translation. Likewise, long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission, a neural substrate of memory, comprises early-phase and late-phase components (E-LTP and L-LTP). It is postulated that the transition from E-LTP to L-LTP at the synapse level is responsible for the conversion from STM to LTM (memory consolidation) at the behavior/organism level. However, synapse mechanisms underlying memory consolidation remain unclear.

Ubiquitous nucleotide-binding cytoskeletal polymers composed of septins are poorly characterized despite their abundance in the brain. We reported that septin cytoskeleton plays a pleiotropic role in developmental neuritogenesis and postdevelopmental synaptic transmission (Ageta-Ishihara et al., Nature Communications 2013, 2015, Neurochemistry International 2018, Neuroscience Research 2021). Here we show that strong synaptic activities trigger extension of smooth endoplasmic reticulum (sER) from dendritic shaft into enlarged spines that depends on association between myosin motor and a

septin subunit, which facilitates Ca^{2+} responses for sustained synaptic activities. These findings indicate that sER extension serves as a positive feedback mechanism underlying synaptic consolidation and memory persistence.

（８）Post-associative dopamine release works as a reinforcer for classical conditioning

Shintaro Naganos（Learning and Memory Project, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science）

The neurotransmitter dopamine (DA) regulates various higher brain functions including learning and memory. In Pavlovian classical conditioning, it is thought that DA is released by the unconditional stimulus (US) to reinforce the relationship between the conditional stimulus (CS) and the conditional response. However, recent studies have reported that DA is also released during CS odor exposure during olfactory aversive conditioning in *Drosophila*, making it unclear what type of DA release functions as a reinforcer. We have conducted *in vivo* DA imaging and found that in addition to phasic DA release by either CS odor exposure or US shock exposure, tonic DA release occurs immediately after coincidence CS/US exposure. To determine which type of DA release is important for reinforcer function, we suppressed synaptic outputs from dopaminergic neurons (DANs) at different times during conditioning. We have found that suppressing synaptic outputs from DANs during conditioning did not affect olfactory learning, suggesting that DA released by either CS odor exposure or US shock exposure does not work as a reinforcer. By contrast, inhibiting synaptic outputs from DANs immediately after conditioning impaired olfactory learning. These results demonstrate that post-associative DA release works as a reinforcer for classical olfactory aversive conditioning.

（９）Brain networks centered on prelimbic of mPFC for a novel food memory

Yudai Fukuyama（The university of Tokyo）

Food neophobia is the reluctance to try novel foods. This biological phenomenon suggests that formation and retrieval of episodic memory engram of feeding novel food promote feeding when that food is presented again. We hypothesize that food neophobia is a psychological model modulating food value and try to understand mechanisms of neophobia from the view of episodic memory of feeding novel food. We first attempted to identify the neural network of the food memory by examining c-fos expression. Fasted mice were fed cheese as a novel food for 30 minutes (training) and fed again for 30 min 24 hours later (test). Cheese intake was increased during test compared to training, suggesting the neophobia toward the cheese during training. Expression of c-fos, a marker of neural activity, was measured after training. Mice fed cheese showed a significant increase in c-fos positive cells in PL of the medial prefrontal cortex, insular cortex, bed nucleus of the stria terminalis, and some other regions compared to mice fed a normal diet. We next performed in silico analysis to evaluate the functional connectivity between brain areas based on the correlation of the number of c-Fos positive cells. Interestingly, mice fed cheese showed the formation of neural network centered on the PL. Thus, we suggested for the first time that a food memory engram centered on the PL is formed following feeding a novel food.

（10）Orbitofrontal Cortex Governs Wise Decisions Throughout Idling States

Mostafa Reda Fayed（University of Toyama）

Wise decisions are supposed to be guided by the accumulated experiences and life skills that are acquired throughout life. It stands to reason that this complex cognitive function is negatively affected by improper sleep or rest, however, direct experimental evidence is still deficient. We hypothesize that sleep or resting periods, which we refer to as idling states, affect the neural underpinnings of the wise decision-making process. We have established a behavioral protocol where after appropriate training on separate days, mice can attain the knowledge to have a free choice between a mentally challenging high gain choice and another that is associated with a safe low reward. We have confirmed that mice can attain their same free choices on separate days, while when sleep deprived (SD) before the test, their choices were significantly biased away from wise decisions compared to the other testing day. The orbitofrontal cortex (OFC) has been shown to affect value-guided decision-making. Therefore, OFC represented a perfect candidate area that upon its silencing just before the test, the behavioral output was correlated with the effect of SD. On the contrary, pre-test activation of the OFC compensated for the deteriorating effects of SD. Interestingly, we found that not only the pre-test idling state is decisive for wise choices, but also the post-training idling state if perturbed could trigger a distant significant negative bias away from wise decisions. Inactivation of the OFC for this specific post-training period gave rise to the same latter behavioral output. Capturing real-time brain activity for various sessions while mice were training, idling and freely tested for the task represented an array of potentials for unraveling the neural code of the OFC. We have identified ensembles associated with wise decisions; these neural populations were also activated during the idling states. These findings indicate that idling states are indispensable for wise behavior and knowledge preservation.

（11）m^{6}A RNA modification binding protein YTHDF3 neuronal knockout mice pay less effort in motivation-based reward task

Momoe Sukegawa（Graduate School of Biostudies, Kyoto University,
RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research）

Recently, widely spread RNA chemical modifications have emerged as a notable epitranscriptomic regulatory mechanism of gene expression by regulating RNA metabolism, translation efficiency, and phase-transition. The landscape of one of the most abundant modifications, N6-methyladenosine (m^{6}A) is stimulus-responsive; m^{6}A-modified RNAs are related to synaptic function; and manipulating m^{6}A pathway impacts on learning and memory, stress response, etc. These findings suggest that m^{6}A could be a promising and important molecular player on activity-dependent brain function.

To explore the m^{6}A pathway as an underlying neuronal activity-dependent gene expression regulatory mechanism, we have focused on an m^{6}A binding protein YTHDF3 as one of the key factors. As a reader protein for m^{6}A-modified RNAs, YTHDF3 not only contributes to the localization, but facilitates translation of neuronal mRNAs. However, the behavioral consequences of missing YTHDF3 expression in excitatory neurons is unknown. Here we subjected neuronal YTHDF3 conditional KO mice (with CaMKIIα-Cre driver: to specifically inactivate YTHDF3 in mature forebrain excitatory neurons) to behavioral analyses using IntelliCage, an automated RFID-based monitoring system to continuously measure animals' activities without leaving their homecages, which allow us to analyze the animal behavior 24-hour for days under complex experimental settings. We found YTHDF3 cKO mice were less likely to pay effort for achieving higher valued reward (saccharin solution) than cWT mice in the motivation-

based reward task, meanwhile the performance of normal saccharin-water-choice task was unaffected. This result suggests that YTHDF3 functional deficits in excitatory neurons could be associated with neuronal reconstruction related to higher-level brain function and decision making under dynamic surrounding environment. YTHDF3 could impact motivation-related dopaminergic regulation possibly via synaptic regulation. Such stimuli-responsive epitranscriptomic regulation suggests new pathway of fine-tuning cognitive function.

（12）Cartographic and morphometric analysis of neuronal spines in m6A reader-deficient mice

Shengqun Hou（Center for Biosystems Dynamics Research, RIKEN,
Graduate School of Biostudies, Kyoto University）

The morphological features of dendritic spines are highly dynamic and correlated to synapse maturation, plasticity, learning and memory. Recently, a new mode of gene regulation, epitranscriptomics, has emerged as a versatile and powerful post-transcriptional regulatory pathway to regulate spines and synapses; the prevalent mRNA modification N6-methyladenosine (m6A) is a critical component in multiple learning and memory paradigms such as motor learning, spatial memory, fear consolidation and extinction, etc. Previously, we have cataloged thousands of m6A-modified RNAs in the synaptic compartments and demonstrated that the loss of the cytoplasmic reader proteins YTHDF1 and YTHDF3 causes reduced synaptic transmission. However, the role of YTHDF proteins in neurons over the regulation of spine morphology in vivo is unknown. In the current study, we have performed high-resolution morphometric analysis on a large number of dendritic spines over wide brain regions by combining modified Dil-labeling with high-speed, high-resolution, position-registered imaging followed by computer-aided spine detection and quantification. We applied this technique to analyze dendritic spines in YTHDF3-conditional knockout mice (CaMKIIa-Cre: to specifically inactivate YTHDF3 in mature forebrain excitatory neurons) and quantified parameters such as spine volume, diameters of the spine head and neck, as well as the length of spine neck, etc. We found massively altered spine morphometry and density at the loss of YTHDF3 in different brain regions. Intriguingly, morphometric measurements revealed diverse responses to the loss of YTHDF3 in different neurons, and even within the neurons in different subcellular compartments. Golgi staining supported the analysis with consistent albeit less accurate measurements. A further detailed anatomical analysis will be applied in future studies to understand the role of m6A signaling in regulating spine dynamics.

（13）Calcium imaging of hippocampal CA1 engram cells before, during, and after contextual fear conditioning

Kyogo Kobayashi（Faculty of Science, Kyushu University,
Graduate School of Informatics, Kyoto University）

Contextual fear conditioning is a powerful behavioral paradigm to study the neural mechanism of learning and memory. In this paradigm, a mouse is placed in a neutral context and given foot shocks. After fear conditioning, mice exhibit freezing in the conditioned context as a result of fear memory retrieval. Although previous studies have demonstrated that memory engram cells in the hippocampal CA1 are indispensable for contextual learning, the precise neural activity patters still remain elusive: what kind of cell would become a memory engram cell and how CA1 engram cells encode contextual (information. To tackle these issues, we performed calcium imaging and engram labeling. Using a head-mounted microendoscope, calcium

dynamics of more than 1,000 CA1 neurons from 8 mice were monitored and about 8% of the cells were identified as engram cell. We thereby analyzed the activity of engram and non-engram cells at different time points, different environments, and different behavioral states. In this meeting, we will present our recent findings about the engram activity observed in the CA1 before, during, and after contextual fear conditioning.

（14）Regulation of diacylglycerol content in olfactory neurons determines forgetting or retrieval of olfactory memory in *Caenorhabditis elegans*

Mary Arai（Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University）

Proper management of memories by forgetting and retrieval is essential for animals to adapt their behavior to changing environments. To elucidate the mechanisms underlying forgetting, we use olfactory learning to an attractive odorant, diacetyl, in *Caenorhabditis elegans*. Wild-type worms which are strongly attracted to diacetyl in naïve state show weaker chemotaxis to diacetyl after learning of diacetyl and starvation, and then they restore the chemotaxis within 4 hours to the level of naïve animals. We studied this behavioral plasticity as a model of memory acquisition and forgetting. By behavioral and calcium imaging analyses, we previously reported that the TIR-1/JNK-1 pathway in AWC sensory neurons accelerates forgetting of the olfactory memory, which is stored as a sensory memory trace in AWA sensory neurons. In this study, our genetic screening revealed that increased neuronal diacylglycerol in the olfactory neuronal circuit, by mutations in diacylglycerol kinase-1, *egl-30* or *goa-1*, Gq and Go type G-proteins, suppress the prolonged retention of the memory in the behavior of *tir-1* mutants. However, the calcium imaging analyses of AWA olfactory neurons revealed that the sensory memory trace to the odorant was maintained in *tir-1;goa-1* double mutants even when after 4-hour cultivation. In contrast, the expression of a gain-of-function *goa-1* gene exclusively in AWC neurons, which presumably downregulate diacylglycerol in AWC, caused a prolonged retention of the memory in behavior, although their sensory memory trace was declined. Furthermore, the behavioral analysis of animals applied with diacylglycerol analog suggested that diacylglycerol content is important for the proper forgetting. These findings raise a possibility that diacylglycerol signaling plays a crucial role in determining whether to forget or to recall in olfactory learning.

（15）Dynamic Nature of Memory Representation and the Hippocampal Network

Kazumasa Z. Tanaka
（Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University (OIST)）

Memories are encoded through long-lasting changes in the network of the brain. These memory traces can interfere with each other and therefore lead to instability of the representations. Indeed, a previous study discovered that instability is preferentially embedded within spatial maps in memory engram cells in the hippocampus even though their activity is still functionally linked to memory-relevant behaviors. Notably, higher instability of place cells is often observed in aberrant network states caused by various factors, including aging, stress, or epileptic seizure, which cause memory impairments. These studies highlight two distinct types of instability leading to the opposite outcomes of hippocampal memory. In my talk, I will introduce our unpublished studies aiming at 1) elucidation of neuronal underpinning that survives extreme plasticity yet supports memory and 2) development of a novel approach to reset the aberrant network state. These studies will provide fundamental insight into physiological and pathological instability in the neuronal network.

23. 自発活動と形態形成から紐解く胎児脳発達メカニズムの解明

2022 年 10 月 21 日－10 月 22 日

代表・世話人：多賀厳太郎（東京大学・大学院教育学研究科）
所内対応者：鳴島　円（生理学研究所・生体恒常性発達研究部門）

（１）脳の発生と発達の原則，砂時計モデル

石川裕二（元 放射線医学総合研究所（現 神経生物学研究室））

（２）円口類にみる脳形成機構の起源

村上安則（愛媛大学大学院理工学研究科）

（３）脳形成過程における血管の発生・発達

水谷健一（神戸学院大学大学院薬学研究科）

（４）ヒト胚子期の脳形成

高桑徹也（京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻）

（５）ヒト胎児脳イメージングによる正常脳発達と先天性脳発達異常

夫　律子（クリフム出生前診断クリニック胎児脳センター）

（６）*Homo* 属の大脳化と知性の進化

荻原直道（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）

【参加者名】

阿知波ひとみ（東京大学大学院），跡見友章（杏林大学保健学部理学療法学科），荒田晶子（兵庫医科大学　生理学・生体機能部門），石川裕二（神経生物学研究室），磯谷菜穂子（京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻総合医療科学コース），植松明子（生理学研究所），荻原直道（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻），越智翔平（東北大学大学院医学系研究科），金橋　徹（京都大学医学研究科人間健康科学系専攻），烏山亜紀（杏林大学保健学部理学療法学科），紀伊克昌（大阪発達総合療育センター），北城圭一（生理学研究所），城所博之（名古屋大学医学部附属病院小児科），儀間裕貴（東京都立大学健康福祉学部），小林文絵（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），嶋田幸世（九州大学病院 諸隈研究室），白木杏奈（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学），新屋裕太（東京大学大学院教育学研究科），杉田祐輔（東京都医学総合研究所），高桑徹也（京都大学医学研究科人間健康科学系専攻），多賀厳太郎（東京大学大学院教育学研究科），髙橋菜々（生理学研究所基盤神経科学研究領域多細胞回路動態研究部門），續木大介（高知大学 理工学部 情報科学科），長澤裕太郎（生理学研究所），永田みづほ（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），中野尚子（東京大学大学院教育学研究科），鍋倉淳一（生理学研究所），Pan Pengcheng（東京大学大学院），夫　律子（クリフム出生前診断クリニック 胎児診断センター・胎児脳センター），藤澤祐基（杏林大学保健学部），藤平遼（東京大学大学院教育学研究科），藤本仰一（大阪大学 理学研究科），保前文高（東京都立大学），堀部和也（大阪大学），増渕順恵（心身障害児総合医療療育センター），真鍋清則（社会福祉法人 バルツァ事業会重症心身障害児学園・病院 バルツァ・ゴーデル），水谷健一（神戸学院大学），峯　耕太郎（国立成育医療研究センター），村上安則（愛媛大学大学院理工学研究科），森　清忠（高知大学理工学部情報科学科），森岡歩夢（東京都医学総合研究所），守屋敬子（公益財団法人 東京都医学総合研究所），諸隈誠一（九州大学大学大学院医学研究院），山田重人（京都大学），吉田暁人（㈱アラヤ），吉友美樹（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），米田泰輔（生理学研究所），渡辺はま（東京大学大学院教育学研究科），鳴島　円（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

【概要】

ヒト胎児期において，脳の形態形成，ネットワーク形成，行動発現が可視化されるようになり，脳の構造も機能も動的に変化し続ける様子が捉えられつつある。それらの機構を理解するために重要な視点は，変化の仕方が普遍的でロバストなものと，個体や環境の違いに応じて特殊化個性化するものとを区別することである。さらに，形態やネットワークの生成には，細胞死やシナプス除去のような消滅過程を内在しており，途中で消えたものの役割の理解も重要である。そして，理論的に発達機構を捉えようとすると，何が変数で，何がパラメーターや拘束条件なのか自明でないのが面白い点である。本研究会では，進化発生学・比較形態学等が扱う時間軸と生理学・脳イメージング・行動学等が扱う時間軸との間を行き来することで，ヒトの脳の発達機構を解明するための研究を深化させる議論を行った。

（１）脳の発生と発達の原則，砂時計モデル

石川裕二（元 放射線医学総合研究所（現 神経生物学研究室））

ヒトの脳をはじめ，脊椎動物の脳の発生と発達を理解することは，重要な研究課題である。脳は神経管の一定部位の膨らみ（脳胞）から生ずる。脳胞の発生様式については，約 200 年前から有名な原則が知られ，それは現在でも発生学，解剖学，神経科学のあらゆる教科書に記載されている。その原則とは，脳の発生は一次脳胞（３脳胞）から二次脳胞（５脳胞）にむけて一定の様式に従って進行するというものである。このベーアの原則は，近代発生学の父フォン・ベーア（文献 3）に始まる。

私たちは，メダカなどの脳発生の研究から，ベーアの原則が間違っていることを見出した。本研究会では，ベーアの原則の歴史的経緯をたどり，私たちの結果を紹介し，そしてこれに代る新しい一般的な原則（脳発生の砂時計モデル）を提案する。このモデルでは，３脳胞の普遍的存在は否定される。脳発生の初期では，脳の形態はむしろ動物ごとに多様である。中期になると，５脳胞が普遍的に存在し，動物の間での共通性が最も高くなる。後期では，脳血管が発達し，動物ごとに多様な脳形態に向かう。つまり，縦軸を時間，横軸を多様性の程度にとって表現すると，脳の発生は「砂時計の形」で進行する。

（２）円口類にみる脳形成機構の起源

村上安則（愛媛大学大学院理工学研究科）

脊椎動物はおよそ 5 億年に及ぶ進化の過程で様々な形態を獲得してきた。それに対応するように，外界からの感覚情報を集め，適切な応答を出力する脳にも顕著な多様性が見られる。しかしその一方で，前後軸に沿った脳領域の構成や基本的な神経配線は脊椎動物の系統間で保存されている。このように多様性と保守性を併せ持つ脊椎動物の脳について，その形成機構の起源を進化発生学的な視点から明らかにするため，我々は脊椎動物の中で最初期に分岐した円口類（ヤツメウナギ類・ヌタウナギ類）の脳神経系の形成機構を調べ，それを円口類以外の現生脊椎動物（顎口類）のものと比較した。我々が発生期の円口類を用いて脳発生に関わる様々な遺伝子の相同遺伝子の発現を解析したところ，それらの発現パターンは顎口類に見られるものと極めて良く似ていることが判明した。興味深いことに，これまで円口類は真の小脳を持たないとされ，小脳は顎口類の系統で獲得されたと考えられてきたが，小脳の形成に関わる峡部オーガナイザーを特徴づける遺伝子群が円口類の中脳と後脳の境界に発現していた。つまり，小脳が分化する以前の段階ですでに小脳を作ることが可能な発生機構が存在していたと考えられる。これらの結果を総合すると，脊椎動物の脳形成機構の起源は円口類と顎口類の分岐以前，おそらく 5 億年前にまで遡ると考えられる。

（３）脳形成過程における血管の発生・発達

水谷健一（神戸学院大学大学院薬学研究科）

血管内皮増殖因子（VEGF）ファミリーは，VEGF-A をはじめとするリガンドとその受容体である VEGF 受容体 1 型（VEGFR1）と 2 型（VEGFR2）が内皮細胞特異的に発現し，これらのシグナルの緻密な使い分けを組織毎に巧みに変化させることで，特有の血管を新生し，個々の組織・領域が必要とする形態・機能を有する血管ネットワークの形成が可能となる。私たちはこれまで，神経幹細胞が盛んに分裂する胎生中期では，脳室帯における VEGF の発現が一過的に上昇し，神経幹細胞の周囲で VEGFR2 優位な内皮細胞型（血管先端細胞）が誘導されることで，血管系と神経系の物理的な接触が促され，この両者の連携が正常な脳形成に重要な働きをすることを明らかにした（*Cell Reports* 2019）。一方，大脳皮質における組織内の血管化は生後 40 日前後まで劇的に増加するが，血管新生が盛んな内皮細胞の周囲ではコンドロイチン硫酸型プロテオグリカンの一種であるアグリカンが豊富に局在することを見出している（*Int J Mol Sci* 2021）。興味深いことに，アグリカンは血管の発生・発達が盛んな時期に限って内皮細胞周囲で特異的に発現し，強い血管新生促進作用を示すことが確認されている（未発表）。本研究会では，脳組織内で極めて規則的に形成される毛細血管網の生理的意義と，それを制御する分子機構について，最近の研究成果を紹介したい。

（４）ヒト胚子期の脳形成

高桑徹也（京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻）

ヒトの脳の形成は古くから興味がもたれ，形態学的手法を中心に体系化された知見がある。一方，その複雑な立体的な変化をみるために，より精確な立体的把握，定量性が求められているのも事実である。本講演では，下記の内容をおもに自験例を用いて紹介する。１）精確な立体的把握，定量性を得るためにヒト胚子標本を高解像度 MRI で撮像し，ヒト胚子期の形成過程の立体可視化，定量化を行った。脳室が拡大する時期，脳実質が肥厚する時期，分化がすすみ，領域による不均一化が顕著になる時期にわけられた。脳の実質の割合は胚子期中から後期はほぼ一定であった。２）近年注目されている subplate 層について，胚子期にどこからどのように分布が広がっていくかを検討した。島領域から頭頂，後方，前方に subplate はひろがり，胎児期初期には大脳のほぼ全体を覆った。３）強い中脳屈曲は，胚子期の特徴である。屈曲部では，脳形成に重要な血管系，髄膜，静脈系が形成される。これらの形成について Willis 輪の形成，テント形成をとりあげ紹介する。また tractography を用いた前脳，高脳の区画化についても言及する。４）胚子期後期から胎児期初期にかけて加速度的に増大する脈絡叢の形成について紹介する。髄液循環の観点から拡大する脳実質外領域（subarachnoid space）についても言及する。

（５）ヒト胎児脳イメージングによる正常脳発達と先天性脳発達異常

夫　律子（クリフム出生前診断クリニック胎児脳センター）

妊娠中の胎児脳画像診断は，産科領域では脳室拡大などの例のみ診断されるのが現状である。産科において胎児脳診断が難しい理由は，被写体が小さく子宮内を動き回ること，母体腹壁・胎盤などの障壁，胎児脳の急速な発達により週数により形態が異なることなどが挙げられる。当院では妊娠初期から詳細な胎児観察を行い経腟 3D 超音波診断を用いた詳細な胎児脳画像診断を確立し，形態異常が疑われる場合に絨毛検査や羊水検査を行い，倫

理委員会の承認を得て選択例で 6,704 遺伝子パネル TES（ターゲットエクソームシークエンス）検査を行っている。大脳皮質形成は神経細胞増殖や細胞移動の結果 28 週以降に脳回脳溝形成が明らかとなり確認可能となる。当院ではさらに早い週数で大脳皮質形成異常を発見することを目的とし, 妊娠 18-20 週（胎児推定体重約 200-300 g）で大脳皮質形成異常を予測する超音波マーカーを考案し, 選択された異常例で羊水 TES 検査を行っている。21 週末までに人工妊娠中絶を選択し剖検を行った場合には神経病理学的診断とともに選択例で脳組織の遺伝子変異診断も行っている。その結果，胎児発育，脳発達に関連する生殖細胞遺伝子変異だけでなく体細胞突然変異モザイクなども見つかってきている。本講演では主に胎児期脳の形態変化と大脳皮質形成異常が胎児脳神経画像診断でどのように診断されるか，またそれらの異常と遺伝子変異との関連について具体例を示して解説する。

（６）*Homo* 属の大脳化と知性の進化

荻原直道（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）

脳の巨大化による，高度な認知学習機能や，複雑なコミュニケーション能力の獲得は，ヒトと他の霊長類とを区別する，もっとも顕著なヒトの生物学的特徴である。しかし, 大きな脳を発達させ, それを維持するためには, 非常に多くの代謝エネルギーが必要である。このため, 脳が大きい動物は，ヒト以外にはほとんど存在しない。なぜヒトの脳だけが，進化の過程において極端に大きくなったのであろうか？ 初期人類の化石頭蓋骨の内腔容積の時代的変遷から，脳の大型化が始まるのは，ホモ属が誕生した後からであることが明らかとなっている。ヒトの進化過程において脳の大型化がなぜ起きたのか，どのような選択圧が作用したのかを明らかにするためには, その出発点である猿人から初期ホモ属に至る過程において，脳の各領域の相対容量がとのように変化し，その結果，両者の脳にどのような機能差が生まれたのかを明らかにすることが不可欠である。我々のグループでは, 3 次元モデリングと脳イメージング研究の技術・手法に基づいて，猿人と初期ホモ属の化石頭蓋骨の内腔形状，およびそこに収まっていた脳形態を数理的に詳細に推定し，機能的特異性を有する脳の各領野の大きさの比較から，両者の脳機能の差を明らかにし，初期ホモ属の脳にどのような選択圧が作用したのかを読み解くことを目指している。本講演では，現在までの我々の取り組みについて紹介する。

24．情動の本質を捉える最先端アプローチ

2022 年 9 月 8 日

代表・世話人：佐々木拓哉（東北大学 大学院薬学研究科 薬理学分野）
所内対応者：揚妻正和（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

（１）室傍核コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)神経細胞の発火パターンとホルモン放出の量的関係の解明

五十嵐敬幸（University of Western Ontario, Department of Physiology and Pharmacology）

（２）社会性行動にかかわる前頭前皮質-扁桃体ネットワークの解析

久我奈穂子（東北大学 大学院薬学研究科）

（３）神経ペプチド VIP による連合学習の制御機構の解析

森川勝太（東京大学 大学院薬学系研究科）

（４）皮質徐波に位相同期した扁桃体基底外側核ニューロンの活動

佐藤由宇（東京大学 大学院薬学系研究科）

（５）感情の理解へ向けた深層感情モデルの開発

日永田智絵（奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科）

（６）感情への気づきを支える神経基盤とその問題

寺澤悠理（慶應義塾大学 文学部）

（７）内受容感覚と意思決定の関連とそれに伴うフィーリング

大平英樹（名古屋大学 大学院情報学研究科）

（８）記憶想起を回復させる神経機構の解明

野村　洋（名古屋市立大学 大学院医学研究科）

（９）父性養育行動発現の神経メカニズム

稲田健吾（理化学研究所 生命機能科学研究センター）

（10）Neural Mechanisms of Reward and Aversion Signaling

Tom Macpherson（大阪大学 蛋白質研究所）

【参加者名】

奥野浩行（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 生化学・分子生物学），揚妻正和（生理学研究所），佐々木拓哉（東北大学大学院薬学研究科），日永田智絵（奈良先端科学技術大学院大学），佐藤由宇（東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室），野村　洋（名古屋市立大学），稲田健吾（理化学研究所生命機能科学研究センター），南　雅文（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室），笠井淳司（大阪大学　大学院薬学研究科），山川武蔵（東北大学薬学部薬理学分野），森川勝太（東京大学），大平英樹（名古屋大学），Tom Macpherson（Institute for Protein Research, Osaka University），中村靖子（名古屋大学大学院人文学研究科），堀内　浩（生理学研究所　生体恒常性発達研究部門），鍋倉淳一（生理学研究所），寺澤悠理（慶應義塾大学 文学部 心理学専攻），助川桃枝（京都大学大学院生命科学研究科），大西湧己（九州大学システム生命科学府），山田大輔（東京理科大学），佐々木　聡（九州大学 大学院理学研究院 生物科学部門 動態生物学講座 行動神経科学研究室），横井太紀（東北大学薬学部 薬理学分野），柳下晴也（東北大学），森下良一（名古屋市立大学），田中和正（沖縄科学技術大学院大学），Viviane Saito（Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University），小林曉吾（九州大学大学院理学研究院），吉友美樹（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），加藤貴大（小野薬品工業㈱），五十嵐敬幸（The University of Western Ontario），久我奈穂子（東北大学　大学院薬学研究科 薬理学分野），鹿山　将（東北大学 大学院薬学研究科 薬理学分野），水

関健司（大阪公立大学），木下航輔（東北大学薬学部薬理学分野），鈴木美希（静岡県立大学薬学部），勢力　薫（大阪大学大学院薬学研究科），疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所），上原一将（生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門），植松明子（生理学研究所），塩崎裕美（東北大学大学院 薬学研究科），高橋泰伽（生理学研究所），山肩葉子（自然科学研究機構生理学研究所），伊津野　巧（自然科学研究機構 生理学研究所 システム脳科学研究領域），石原義久（生理学研究所），木村梨絵（東京大学 大学院医学系研究科），松本悠真（大阪大学理学研究科 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室），古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科），堀川伊和（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野），QIU　WENRAN（神戸大学），谷口将之（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野），遠山　卓（東京慈恵会医科大学），松下和敏（神戸大学大学院医学研究科），近藤邦生（生理学研究所 生殖・内分泌系発達機構研究部門），實木　亨（三重大学医学部生化学），上田修平（名古屋大学），長澤裕太郎（生理学研究所 多光子顕微鏡室），金谷哲平（東北大学生命科学研究科超回路脳機能分野），吉本愛梨（東京大学大学院薬学系研究科），金　叢芸（生理学研究所），萩原賢太（Allen Institute for Neural Dynamics），大山千聖（早稲田大学・先進理工学研究科・電気情報生命専攻・坂内研究室），榎木亮介（生命創成探究センター/生理学研究所），加藤利佳子（京都大学　高等研究院　ヒト生物学高等研究拠点），荒木　峻（東北大学医学系研究科），鳴島　円（生理学研究所　生体恒常性発達研究部門），則武　厚（生理学研究所），天野大樹（北海道大学大学院薬学研究院），生形咲奈（ヒト行動進化研究センター），松尾直毅（九州大学大学院理学研究院），渡邉　慧（静岡県立大学），諸隈誠一（九州大学大学大学院医学研究院），Yoshiaki Tagawa（Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences），引間卓弥（獨協医科大学 先端医科学統合研究施設　先端医科学研究センター 認知・記憶研究部門），篠原亮太（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野），山中　航（順天堂大学），竹本さやか（名古屋大学環境医学研究所），齊藤　実（公益財団法人東京都医学総合研究所），小林文絵（生理学研究所），淺野雄輝（東北大学），山尾啓熙（東北大学），譚　婉琴（東北大学），古川孝太（東北大学大学院 生命科学研究科），南部美友（沖縄科学技術大学院大学），石井宏和（生命創成探究センター・生理学研究所），城山優治（鹿児島大学医歯学総合研究科），松本英之（大阪公立大学）

【概要】

情動の研究は古くからなされてきたが，近年における神経生理計測・操作法およびオミクス解析などの飛躍的な発展により，分子・細胞・回路・行動の各研究階層でさらに詳細な生理メカニズムの理解が進みつつある。こうした基礎研究の進展に加えて，さらには情動が様々な臓器の生理状態（内受容感覚）によって変化するといった全身システムの観点や，情動を実装した計算モデルによる構成論的アプローチの導入など，神経科学にとどまらない幅広い研究分野との結びつきが盛んになり，「こころ」や「精神」を対象とした研究はさらに裾野を広げつつある。そこで本研究会では，基礎医学・生物学を専門とした情動研究者に加え，情報科学，哲学，心理学など学際的な研究者からの最先端研究アプローチの発表と討論を行うことにより，情動の本質をあらためて捉え直し，今後のさらなる新しい情動研究の方向性を探ることを目的とした。

本研究会では，神経科学の研究者のみならず，最近の情報科学や心理学を専門とする研究者を招集し，従来の神経科学研究の知見に基づく情動の研究発表や議論のみならず，多面的なアプローチにより情動の本質について活発な議論が行われた。まず，齧歯動物を用いた神経生理学を専門とする研究者が，最新のイメージング法や電気生理計測法などを用いた最先端の研究を紹介した。ほとんどが論文掲載前のデータであり，論文発表に向けて，有意義な議論を行うことができた。さらに，ヒトの情動を対象とした研究者からは，最近注目されている内受容感覚（身体内部から脳に与えられる情報）がいかに情動や意思決定をはじめとした脳機能の制御に関与するか，という点から新しい研究発表や議論が行われた。さらに，ロボット工学から見た情動の捉え方などについても議論が行われた。こうした研究視点は，これまでの神経科学分野の情動研究にはほとんどない試みであったため，本会の参加者からも非常に好評であった。以上，本研究会では，情動に関する新しい考え方を提起し，新しい研究の方向性を考察する一助になった。

（１）室傍核コルチコトロピン放出ホルモン（CRH）神経細胞の発火パターンとホルモン放出の量的関係の解明

五十嵐敬幸（University of Western Ontario）

視床下部室傍核（PVN）に局在する副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン（Corticotropin-releasing hormone, CRH）神経細胞は，視床下部-下垂体-副腎系（HPA axis）活性化の起点として，ストレス応答，免疫，情動など，多様な生体機能を制御する。講演者らは, CRHR1 とその活性化によって産生が促進される cAMP と結合して蛍光が変化する FRET センサーを HEK 細胞に遺伝子導入し，CRH 放出に反応して蛍光強度を変化させる CRH-sniffer 細胞を作製した。共焦点顕微鏡下で hCRHR1，FRET センサーの発現がそれぞれ細胞膜，細胞質に限局していることを確認し，CRH に対する用量反応曲線より EC50 が 451 pM と推定された。この CRH-sniffer 細胞を分散後，急性脳スライス上に接着させ，CRH 神経細胞の投射先である正中隆起を電気刺激したところ，CRH 放出によって引き起こされる CRH-sniffer 細胞の蛍光変化をリアルタイムで測定することに成功した。バーストの CRH 放出における意義を確かめるため，刺激周波数を減らして RB と同じ総発火数が得られる 3 Hz での刺激を正中隆起に与えたところ，引き起こされるカルシウム応答/CRH 放出の強度は RB と同程度であった。この結果は，CRH 神経細胞は総発火数で CRH 放出を制御しており，バースト発火が生体において CRH 放出を抑える役割を果たすことを示唆する。本講演では，これらの研究成果発表に対する質疑応答が行われた。

（２）社会性行動にかかわる前頭前皮質-扁桃体ネットワークの解析

久我奈穂子，佐々木拓哉（東北大学 大学院薬学研究科）

動物にとって，他者と関わるための社会性行動は重要である。前頭前皮質と扁桃体が，社会的行動の調節に関与し，精神疾患に関連することは，分子および細胞レベルで広く知られるところであった。講演者らは，社会的相互作用試験中のマウスの前頭前皮質と扁桃体から局所場電位（LFP）を計測し，野生型マウスでは，前頭前皮質と扁桃体の両方で，4〜7 Hz の LFP パワーの増強と，30〜60 Hz での減弱することを見出した。社会的相互作用が減弱したマウスモデルに対して, 前頭前皮質の 4〜7 Hz の LFP パワーを減弱させる光遺伝学的操作を行ったところ，社会的相互作用行動が回復した。これらの結果は，社会的行動に関連する前頭前皮質と扁桃体の神経生理学的基盤を示すとともに，社会性低下を呈する疾患の病態生理学的理解に繋がる知見となる。本講演では，これらの研究成果発表に対する質疑応答に加え，今後どのような研究手法が必要か，また，得られた実験的知見をどのような統合的な理論で捉えればよいかについて議論がなされた。

（３）神経ペプチド VIP による連合学習の制御機構の解析

森川勝太（東京大学 大学院薬学系研究科）

扁桃体は恐怖条件づけ学習に必須な脳領域である。これまで扁桃体外側基底核が中心的な研究対象とされてきた一方で，扁桃体中心核（CeA）は行動表出のための単なる中継核だと考えられてきた。講演者らは，未だ機能的意義が不明である CeA における VIP（血管作動性腸管ペプチド）陽性細胞の神経支配に着目し，CeA 構成細胞の更なる特徴づけ・回路制御機構の解明を目指した。まず，CeA に認められる VIP 軸索終末は中脳水道周囲灰白質 (PAG) の興奮性細胞由来であり, 免疫電子顕微鏡およびパッチクランプ記録によって, 機能的なシナプスが形成されているこ

とを明らかとした。そして，Somatostatin 陽性 GABA 細胞が VIP 受容体 2 番（Vipr2）を発現することを同定した。リガンドとなる VIP は，Vipr2 陽性細胞への興奮性入力を増大させ，神経活動を増加させることを Ca^{2+} イメージング法およびパッチクランプ記録によって明らかとした。また，細胞種特異的な神経伝達阻害および Vipr2 の発現ノックダウン，PAG-VIP 細胞から CeA への軸索終末の活動抑制は，恐怖条件づけ学習を低下させた。これらの結果は，情動記憶の形成における神経ペプチドを介した細胞種特異的な活動バランス調節機構の重要性を示すものである。本講演では，これらの研究成果発表に対する質疑応答が行われた。

（４）皮質徐波に位相同期した扁桃体基底外側核ニューロンの活動

佐藤由宇，池谷裕二（東京大学 大学院薬学研究科）

扁桃体基底外側核（BLA）は，様々な振動帯域で大脳新皮質と同期した活動を示す。講演者らは，生体内の脳深部領域からホールセル記録を可能にする新規手法を用いて，BLA 神経細胞の膜電位を記録した。その結果，BLA 神経細胞は徐波と同期して一過的に脱分極していた。脱分極のタイミングは徐波の UP 状態の長さによって異なっていたが，個々の UP 状態の後半に発生しており，位相同期していることを明らかにした。また，BLA からカルシウムイメージングを行うことで，徐波発生時には BLA の複数の神経細胞間で活動が同期していることを明らかにした。さらに，BLA 神経細胞の脱分極の神経基盤を明らかにするために，徐波発生時における BLA の投射元領域の神経活動を調べた。ここでは BLA に投射する軸索が恐怖記憶の形成に寄与することが知られている内側前頭前野に着目し，BLA 投射神経細胞の発火活動をオプトタグ法により記録した。本講演では，これらの結果が，どのように情動記憶の形成機構に繋がるか質疑応答が行われた。

（５）感情の理解へ向けた深層感情モデルの開発

日永田智絵（奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科）

ロボット研究では感情について深く扱えずにいる。それは一般に「ロボット」が感情は無い存在として考えられがちなことからも示唆される。講演者らは，上位概念である感情を扱うための感情モデルを提案しており，感情分化をコアアイディアとして，神経科学や心理学等の様々な分野の文献を基に感情モデルを作成し，感情の重要な役割の一つである行動決定の実装を行った。行動決定の実装は convolutional LSTM と DDPG を用いて行い，報酬にホメオスタシスの考えを適用した。検証として，Virtual Agent を用いた表情決定タスクを行い，感情の分化が観察されたと共に，見せかけの利他行動の様子が見られた。本講演では，これらの研究成果発表に対する質疑応答が行われた。

（６）感情への気づきを支える神経基盤とその問題

寺澤悠理（慶應義塾大学文学部）

講演者らはこれまで，内受容感覚と環境情報（状況に関する文脈情報やその解釈，他人の表情など）を統合することが主観的感情の基本システムであるという仮説のもと研究を行ってきた。これらの内受容感覚の特徴の異常がパニック障害，鬱，不安障害，摂食障害といった種々の心理的な問題と関連していることは，身体状態とそれ

に基づく主観的感情状態の適切な結びつきにおいて内受容感覚が重要な機能を担っていることを示唆していると考えられる。このような枠組みに則り，本演題では，内受容感覚を支える神経基盤やそのネットワークの働きと感情への気づきの関係性について講演が行われた。また，脳機能画像法や神経心理学研究によって，感情への気づきの個人差やその揺らぎと関連する脳活動を検討した結果が報告され，これらの研究成果発表に対する質疑応答が行われた。

（７）内受容感覚と意思決定の関連とそれに伴うフィーリング

大平英樹（名古屋大学 大学院情報学研究科）

近年，内受容感覚は身体内部の信号から身体状態をモニタリングし，恒常性維持の観点から身体状態を適切に制御する過程であると考えられるようになった。そこでは，脳における身体のインターフェイスである島皮質や，内臓運動領域である前部帯上皮質や眼窩前頭皮質が重要な役割を果たす。さらに内受容感覚は，価値に基づく選択である意思決定とも深く関連する。行動選択の結果，恒常性が回復されればそれは報酬信号として働き行動の価値を上げ，また逆に得られた報酬の増減によって対処にために身体状態が調整を受ける。こうした内受容感覚と意思決定の関連は，予測符号化の原理により説明できると考えられ，その過程を表現する計算論モデルも提案されている。こうした内受容感覚と意思決定の過程は，一種のアルゴリズムのように，ある原理に従って自律的に機能すると考えるが，我々人間はその過程に伴い，快／不快，事態がうまくいっている／うまくいっていない，などの主観的フィーリングを経験する。その源泉は，報酬や身体状態などの予測と実際に観測された値との予測誤差，そしてその変化が意識化されたものであると考えることができる。本講演では，こうした問題に関する動物とヒトの研究知見が紹介され，どのような課題が残されているか，その課題にどのようにアプローチすべきかなど質疑応答を交えながら，議論が行われた。

（８）記憶想起を回復させる神経機構の解明

野村　洋（名古屋市立大学 大学院医学研究科）

ものごとを経験してから時間が経過すると，その記憶を思い出しづらくなる。また，認知症を始めとして様々な認知機能障害においては過去に覚えていた記憶を思い出せなくなる。しかし記憶を忘れてしまっても“ふとした瞬間”に思い出すことがある。そのため記憶痕跡は脳内に残っていると考えられる。このように思い出せなくなった記憶痕跡を再活性化させることができれば，失われてしまった記憶想起を回復できると期待されるが，想起を回復させる方法はこれまでのところ確立していない。脳内でヒスタミンは神経伝達物質として働き，覚醒や食欲，認知機能などを調節する。講演者らは，頭部搭載型の小型顕微鏡を用いた in vivo カルシウムイメージングやファイバーフォトメトリーを用いることで行動課題中のマウスから特定の細胞集団の活動を測定し，記憶・学習を調節する神経活動の解明を進めた。本発表ではこうした最近の成果が紹介され，記憶想起を回復させる神経機構について議論が行われた。

（９）父性養育行動発現の神経メカニズム

稲田健吾（理化学研究所 生命機能科学研究センター）

交尾未経験の雄マウスは仔に対して非常に攻撃的であるが，交尾からパートナーの出産まで連れ添った父親マウスは，仔への攻撃性が見られず，他者の仔であっても養育行動を行う。このように雄マウスにおける養育行動発現に関しては，行動学的には明瞭な変化がみられる一方で，それを生み出す神経回路基盤について，詳しいことは分かっていない。脳視床下部は養育行動発現に重要な神経核が多数存在する脳領域である。講演者らは，このうち室傍核にあるオキシトシン神経細胞が，父親マウスの養育行動発現に必須であること，そして交尾からパートナーの出産に至る過程において，オキシトシン神経細胞が興奮しやすくなるような神経回路変化が起きていることを明らかにした。また，バソトシン神経細胞も父親マウスの養育行動を促進する作用を持っており，特に仔への攻撃性を下げる役割を担っていることを示した。これらの知見は父親の養育行動発現を促進する神経回路の一端を解明するものである。本講演では，これらの研究成果発表に対する質疑応答が行われた。

（10）Neural Mechanisms of Reward and Aversion Signaling

Tom Macpherson（大阪大学 蛋白質研究所）

The ability to adapt to our environment is critical for survival and requires that we are able to understand and identify stimuli that are rewarding (e.g. food/sex), as well as those that are aversive (e.g. pain/danger), in our environment and adjust our behavior accordingly. Using miniature microscope-based in-vivo calcium imaging of NAc core D1- and D2-MSNs, the presenters recorded the neural activity of NAc D1- and D2-MSNs during performance of a Pavlovian conditioning task in which rewarding (sucrose) and aversive (airpuff) unconditioned stimuli (US) were repeatedly paired with previously neutral auditory stimuli, until these now conditioned auditory stimuli (CS) were able to induce conditioned responses in the form of augmented (reward-paired) or suppressed (aversion-paired) licking responses at a reward delivery spout. This new understanding of the precise roles of specific NAc subpopulations provides novel insight into reward and aversion signaling in the brain and will likely help to better understand the mechanisms underlying flexible behavioral control.

25. 極限環境適応

2022 年 11 月 10 日－11 月 11 日

代表・世話人：金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所）
所内対応者：榎木亮介（生理学研究所/生命創成探究センター バイオフォトニクス）

（１）動物の極限環境適応戦略の理解と 4D イメージング技術開発

杉　拓磨（広島大学）

（２）極微小・極微量の生命計測を実現するダイヤモンド量子センサー技術

五十嵐龍治（量子科学技術研究開発機構）

（３）原生生物のジオラマ行動力学　～野外環境での行動を探る～

中垣俊之（北海道大学）

（４）最少ゲノム細菌（ミニマルセル）を用いた生命機能の解析

柿澤茂行（産業技術総合研究所）

（５）光るクマムシで読み解く無水生命機構の謎

田中　冴（慶應義塾大学/ExCELLS）

（６）巨大ウイルスの構造にみる物質と生命の境界

村田和義（ExCELLS/生理学研究所）

（７）オジギソウの虫害防御運動を誘発する Ca^{2+}/電気シグナル

豊田正嗣（埼玉大学）

（８）リズムの無い細胞から紐解く概日時計の成立条件

金　尚宏（名古屋大学 ITbM）

（９）爬虫類睡眠時神経活動の極限環境適応

乗本裕明（北海道大学）

（10）クサフグが大潮に一斉集団産卵する仕組み

吉村　崇（名古屋大 ITbM）

（11）改変型 GPCR オプシンによる冬眠様状態の光遺伝学的誘導

高橋　徹（筑波大学 IIIS）

（12）極低温環境下における概日リズム発振機構

榎木亮介（ExCELLS/生理学研究所）

【参加者名】

五十嵐龍治（量子科学技術研究開発機構），石井宏和（生命創成探究センター/生理学研究所），今村隆輝（広島大学），植松明子（生理学研究所），榎木亮介（生命創成探究センター/生理学研究所），柿澤茂行（産業技術総合研究所），片田祐真（名古屋大学大学院），久野将也（名古屋大学），古賀理恵（生命創成探究センター），金　尚宏（名古屋大学），坂本　丞（生命創成探究センター/生理学研究所），杉　拓磨（広島大学），高橋泰伽（生命創成探究センター/生理学研究所），髙橋　徹（筑波大学大学院），滝澤謙二（基礎生物学研究所），田中　冴（慶應大学/生命創成探究センター），谷川未来（名古屋大学），栂根一夫（基礎生物学研究所），堤　元佐（生命創成探究センター），豊田正嗣（埼玉大学），中垣俊之（北海道大学），中根達人（香川大学），中根有梨奈（広島大学），Ren Liang（名古屋大学），野中茂紀（生命創成探究センター/基礎生物学研究所），乗本裕明（北海道大学），花井亮賢（名古屋大学），廣　蒼太（総合研究大学院大学），村田和義（生命創成探究センター/生理学研究所），吉村　崇（名古屋大学），渡我部ゆき（生理学研究所）谷本昌志（基礎生物学研究所），中田開人（総合研究大学院大学），安宅光倫（総合研究大学院大学）

【概要】

地球上に生命が誕生して以来, 生命はダイナミックな環境変動に適応して進化を遂げ， 幾度の氷河期や気候変動などの極限環境をも乗り越えてきた。 例えば生命は昼夜の明暗や温度の変化，年間を通して起きる季節変動など，環境変化を予期して行動する生物時計の仕組みを獲得し，さらに寒冷や飢餓のような生命の存続が脅かされるような極限環境では, 休眠や冬眠にみられるような能動的に低体温や低代謝状態を発動して危機を乗り切る。 本研究会では，生命の極限環境への適応戦略に焦点を当て，冬眠・休眠・生物時計・体温調節・ホルモン分泌・代謝・睡眠覚醒などの恒常性メカニズムから, 極限環境への適応メカニズムについて議論することを目的に開催した。

第 2 回目となる本研究会は，2022 年 11 月 10 日〜11 日の日程で岡崎カンファレンスセンター中会議室にて開催した。計 35 名の現地での参加があり, 非常に多くの質疑応答があり，質問時間を大幅に延長しての議論が行われた。特に, 学生からの積極的な参加により活発な研究会となった。研究会では，哺乳類，魚類，爬虫類，昆虫，線虫，微生物など, 多種の生物種における環境適応機構に関する講演があった。所内はもとより全国を見渡しても同様の趣旨の研究会はなく，来年度も継続して開催して，新分野創設や共同研究の発展へと繋げて行きたい。

（１）動物の極限環境適応戦略の理解と 4D イメージング技術開発

杉　拓磨（広島大学 大学院統合生命科学研究科）

動物は集団を形成することにより，単独のときには見られない機能を創発し，極限環境に適応しようとする。我々は過去に線虫 C. elegans の耐性幼虫が乾燥への耐性を高めるため，集団で秩序だった行動をすることを発見した。さらに，この行動過程において，運動を停止した全線虫が無秩序に運動を再開するのではなく，１個体からの刺激をきっかけに一斉に同期して運動状態に転じる現象を見出した。この集団が静から動へ状態転移するメカニズムについて，現在，神経科学と物理学の両側面から研究している。特に神経科学的には集団を形成することで，神経回路が刺激に過敏な「臨界状態」になっている可能性が予想される。しかし，既存の共焦点顕微鏡などによる神経回路の計測では空間スキャンして撮影する必要があるため，行動中の神経回路動態を高速に撮影する新たな技術が必要と考えた。そこで我々は３Ｄ空間をスキャンレスにたった１回のカメラ露光で撮像可能なライトフィールド技術に着目し，その汎用化を妨げていた低解像度の問題を解決する画期的技術の開発に成功した。これにより，カメラのフレームレートのまま３Ｄ空間を撮像可能になり，既存の共焦点顕微鏡の 100 倍以上の速度で３Ｄ空間をイメージングすることに成功し，C. elegans の神経回路をシングルショットでナノ分解能撮影することを可能にした。この技術は「検出」技術であるため，現在，様々な「照明」技術と組み合わせ，シングルセル３Ｄオプトジェネティクス技術やリアルタイム３Ｄ超解像技術の開発を行なっている。また，様々な蛍光プローブの「検出」にも利用可能であり, 量子センサーの蛍光ダイヤモンドナノ粒子と組み合わせたシングルショット３Ｄ温度イメージング技術の開発も進めている。

（２）極微小・極微量の生命計測を実現するダイヤモンド量子センサー技術

五十嵐龍治（量子科学技術研究開発機構）

量子センサーは量子効果を利用することにより, 従来技術を超えて高感度･高精度の物理化学パラメータ計測を可能にする新しいセンサー技術である。その中でも，特に蛍光性格子欠陥「窒素-空孔中心（Nitrogen-Vacancy center; NV センター）」を有する蛍光ナノダイヤモンドは，その生体適合性の高さから細胞内微小環境の物理化学パラメータ計測や生体試料中の微量バイオマーカー分子の検出などに応用が進められている。これまでに我々は，世界最小と

なる粒子径 5 nm の量子センサー調製法の確立，pH をリアルタイム検出できるナノサイズ化学センサーの実現, 生体分子に標識したナノダイヤモンドの回転運動を三次元的に追跡することによる単一タンパク質複合体の構造変化のトラッキングおよび細胞内ナノ環境の粘性計測の実現, 量子操作による背景光除去技術の発案と細胞計測への適用など, 多くのブレークスルーを世界に先駆けて実現してきた。現在はその開発成果を細胞や生物個体の温度や pH の計測，あるいは患者体液中のウイルスやバイオマーカー分子の高感度検出などに適用することで, 細胞生物学はもちろん，がん科学，脳神経科学，免疫学，再生医療などに応用を展開している。

（３）原生生物のジオラマ行動力学　～野外環境での行動を探る～

中垣俊之（北海道大学 電子科学研究所 社会創造数学センター 知能数理研究分野）

原生生物が生息する野外環境は，一般に多様でありかつ変動著しい。彼らは，このような環境にある程度うまく反応する能力を秘めていると思われる。とはいえ，どれほどの環境にどのように反応できるかは，判然としない。そこで，彼らの秘めたる能力を引き出すために，野外環境を参考にしながら適度な複雑さを積極的にとり入れた実験環境を設計することにした。このような実験環境をジオラマ環境と呼ぶことにしよう。原生生物の遊泳運動やほふく運動は，しばしば力学モデル化され，物理的な理解も進められている。原生生物は，様々な環境要因に反応して短期的かつ局部的な応答をすることが知られており，そのような反応を力学モデルに導入することで，巧みな運動能力が再現されたりしている。

近年私たちは，ジオラマ環境により潜在的な適応能力を見出し，その仕組みを力学モデルで読み解く研究に取り組んでいる。原生生物の一種である真正粘菌変形体などを例に，ジオラマ行動力学の試みについて紹介した。

（４）最少ゲノム細菌（ミニマルセル）を用いた生命機能の解析

柿澤茂行（産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門）

最少ゲノム細菌（ミニマルセル）は，必須遺伝子のみを持つよう設計・作製された「最もシンプルな細菌」である。マイコプラズマという寄生性の細菌をベースに，473 遺伝子（531 kbp）のみを持つよう作られた。これにより生命の「基幹システム」の理解が大きく進展すると期待されたが，驚くべきことに，このうち約 3 割の遺伝子は機能未知であった。これらの遺伝子の解析のため，我々は遺伝子ノックダウン系である CRISPRi をミニマルセルへと応用した。誘導プロモーター系との併用により必須遺伝子の発現抑制が可能となったため，ミニマルセルが持つ遺伝子の網羅的な機能解析を行っている。これにより「生命とは何か？」「生命はどのように生存しているのか？」といった生命科学における根源的な問いに迫ることができるのではと期待している。

また, ミニマルセルに様々な遺伝子を追加することで，生命機能を再現する試みも行っている。これまで，ウレアプラズマという病原細菌が持つ「ヒト細胞への接着能と病原性」の再現，スピロプラズマという細菌が持つ「スパイラルな細胞形態と遊泳能」の再現に成功した。ミニマルセルは「最少の生命のモデル」のみならず，オルガネラや共生細菌のゲノム縮小，初期生命にどんな遺伝子が必要であったか，といった極限環境を考察する上でも共通性があると考えている。

（５）光るクマムシで読み解く無水生命機構の謎

田中　冴，荒川和晴（自然科学研究機構 生命創成探究センター，慶應義塾大学先端生命科学研究所，
慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科，慶應義塾大学環境情報学部）

水は生命現象に必須の分子である。その一方で，クマムシをはじめとするいくつかの生物種では，周囲の環境が乾燥するとともに脱水し，「無水生命状態（Anhydrobiosis）」という無代謝の状態になることが知られている。18 世紀にこの現象が発見されて以降，どのようにして無水生命状態になり，復帰できるのかに興味がもたれてきた。これまで我々のグループでは，これらを可能にする機構を解明するため，各種オミクス解析をおこなうことで，クマムシのゲノム構成や遺伝子発現変動について明らかにしてきた。これらの解析により，クマムシ固有の非構造タンパク質が大量に発現し，無水生命状態を可能にしているのではないかという仮説が立てられた。最近，我々はクマムシに外来遺伝子を強制発現させる系を確立することで，クマムシの中で無水生命状態がどのように成立していくのかを観察する基盤を構築した。これにより，クマムシ固有の非構造タンパク質の発現領域や細胞内におけるダイナミクスを観察することで，クマムシの無水生命機構は各組織が異なった分子で成立する複雑な機構である可能性を見出した。

（６）巨大ウイルスの構造にみる物質と生命の境界

村田和義（自然科学研究機構 生命創成探究センター，自然科学研究機構 生理学研究所）

現在，我々の日常を一変させているウイルスは，学術的には「非生物」に分類される。これまでの知見では，ウイルスは生命の最小単位である「細胞」からすると遥かに小さくその構造も単純で，明らかに生物とは異なった存在であった。ところが 21 世紀に入り，これを揺るがす事件が起こる。これまで細菌の一種に分類されていたものが実はウイルスであることがわかった。このウイルスは生物をまねる（英語の"mimic"）の意味からミミウイルスと名づけられた。以降，細菌に匹敵するサイズのウイルスが世界各地で発見され，「巨大ウイルス」と命名・分類された。一般にゲノムサイズが 300 kb 以上で，小型の細菌より大きい（0.2 μm 以上）ウイルスが巨大ウイルスと呼ばれる。本講演では，クライオ電子顕微鏡を用いて観察された巨大ウイルスの構造を紹介した。そして，この巨大ウイルスの詳細な構造解析から明らかになってきた「物質と生命との新たな境界」について考察した。

（７）オジギソウの虫害防御運動を誘発する Ca2+/電気シグナル

豊田正嗣（埼玉大学 大学院理工学研究科，サントリー生命科学財団，
Department of Botany，University of Wisconsin-Madison）

植物に神経や脳，筋肉はない。しかし，オジギソウのように接触や傷害などの様々な機械刺激を感じて，瞬時に葉を動かす植物種も存在する。近年，蛍光バイオセンサーの高感度化やライブイメージングの技術躍進を背景に，植物にも神経系のような長距離・高速情報伝達機構が存在することが見えてきた。本発表では，動く植物であるオジギソウを例にして，「オジギ運動を引き起こす長距離・高速シグナルは何か？」，さらに「オジギソウは何のために葉を動かすのか？」といった運動の生理学的意義に関して，最新の動画を使って紹介する。独自に開発している広視野・高感度イメージング技術やゲノム編集技術が，これらの植物生理学的研究にどのように貢献しているのか，についても議論した。

（８）リズムの無い細胞から紐解く概日時計の成立条件

金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所，名古屋大学 生命農学研究科）

哺乳類において概日時計はほぼ全ての組織や細胞に存在している。培養細胞株は本来の生存環境から離れ，恒温槽の中で独自の代謝や増殖システムを獲得した極限的な細胞であるが，この状態ですら，概日時計は時を刻み続けている。私たちは，いくつかの細胞株を用いて時計遺伝子の発現リズムの観察を行ったところ，ラット由来の Rat-1 繊維芽細胞，マウス由来 NIH3T3 細胞，ヒト由来 U2OS 細胞において，時計遺伝子の明瞭な発現リズムが観察できた。一方, ヒト由来 HEK293A 細胞を用いて，時計遺伝子 Per2 あるいは Bmal1 レポーターの安定形質発現細胞株を作製した場合には，両レポーター細胞株ともに概日リズムは観察されなかった。この結果から, Rat-1 線維芽細胞，NIH3T3 細胞，U2OS 細胞には自律性の概日振動体が存在する一方で, HEK293A 細胞では概日振動体が停止していると考えられた。そこで私たちは，リズムを示す細胞株と示さない細胞株にはどういった遺伝子発現の変化があるのかを探索している。そして，HEK293A 細胞に概日リズムを付与するにはどうすればよいか，遺伝子導入などの構成的アプローチから解析を進めた。

（９）爬虫類睡眠時神経活動の極限環境適応

乗本裕明（北海道大学医学院 医学研究院）

爬虫類や両生類等の変温動物は冬になり外気温が低下すると行動を停止する。この変温動物の“冬眠”行動については不明な点が多く，ただ睡眠をとっているだけなのか，それとも睡眠とは全く異なる現象が脳内で生じているのかは基本的な問いであるにもかかわらず明らかになっていない。

この疑問に答えるために我々は，モデル動物として爬虫類であるオーストラリアドラゴン（Pogona vitticeps）を導入した。この動物は単相性睡眠をとり，レム睡眠とノンレム睡眠が神経活動から明確に定義されている。しかしこれらの睡眠ステージが恒常性および概日性をもつかは明らかになっていないため，実験系の立ち上げも兼ねて断眠処置後の脳波記録および恒暗条件下における神経活動記録を行った。すると，断眠処置により睡眠時脳波のリバウンドが見られ, 恒常暗条件においては約 24 時間周期で睡眠時脳活動が現れた。これらは哺乳類の睡眠の特徴と類似している。最後に，環境温度を変化させたときの睡眠時脳活動を記録したところ，温度とレム・ノンレム睡眠の周期の持続時間に高い相関が見られることが明らかになった。以上は爬虫類の睡眠時脳活動が環境温度に柔軟に適応し，情報を処理していることを示唆している。

（10）クサフグが大潮に一斉集団産卵する仕組み

陳　君鳳[1,2]，片田祐真[1,2]，沖村光祐[1,2]，山口大輝[1,2]，顧　穎傑[1,2]，中山友哉[1,2]，丸山迪代[1,2]，古川祐子[1,2]，
中根右介[1,2]，山本直之[2]，佐藤良勝[1]，安東宏徳[3]，杉村麻子[4]，田畑和文[4]，佐藤綾人[1]，吉村　崇[1,2]
（[1]名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所，[2]名古屋大学 大学院生命農学研究科
[3]新潟大学 佐渡自然共生科学センター，[4]トヨタ紡織㈱）

海岸沿いでは大潮，小潮で環境が劇的に変化する。サンゴやウミガメは, 月の満ち欠けの情報を頼りに集団で一斉に産卵や繁殖活動を行うことが知られている。また最近の研究から，ヒトにおいても月経周期や睡眠，双極性障害の躁と鬱の周期が, 月の満ち欠けの影響を受けることが明らかとなり, 月の満ち欠けと生き物の営みの関係が注目を集

めている。5 月中旬から 7 月中旬の新月と満月の大潮の日になると，数百匹から数千匹のクサフグが海岸に押し寄せて波打ち際に飛び込み，壮大な産卵ショーを繰り広げるが，その仕組みは謎だった。我々はクサフグにエコゲノミクスのアプローチを適用することで大潮に活性化する「大潮遺伝子」を同定することに成功した。また，産卵時に海水中に放出されるプロスタグランジン E2 がフェロモンとして働き，周囲の個体の一斉集団産卵を促すことを見出した。

（11）改変型 GPCR オプシンによる冬眠様状態の光遺伝学的誘導

高橋　徹，平野有沙，櫻井　武
（筑波大学 医学医療系 分子行動生理学，筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 IIIS）

光遺伝学（オプトジェネティクス）は，高い時間分解能での神経科学的操作に多用され，生理現象の神経科学的メカニズムを理解するために不可欠なツールとなっている。しかし，数秒から数分といった短時間の操作に有効である例は多いものの，数時間から数日といった長時間にわたって神経細胞を連持続的に刺激し，長期的な行動・生理反応を安全かつ安定的に誘導することは困難である。本研究では，高感度な GPCR (Gq) 型光センサーである OPN4（オプシン 4，メラノプシン）を用いて，24 時間にわたり安定的に再現性高い光操作を可能とする方法の確立を目指した。近年われわれは，視床下部視策前野に局在する Qrfp 発現ニューロン（Q ニューロン）の化学遺伝学（ケモジェネティクス : DREADD）による興奮性操作により，マウスに長期間の冬眠様低体温・低代謝状態（QIH）を誘導できることを見出した。より高い時間分解能で QIH を制御するために，改変型 OPN4 を用いた光遺伝学的 QIH 誘導法を開発した。OPN4 の C 末端部分の細胞内ドメインを削除することにより安定性を高めた OPN4dC が，微弱レーザー光により長時間の安定した神経科学的操作に使用できることを見出した。OPN4dC は，低出力光（3 μW，473 nm レーザー）を照射することで少なくとも 24 時間，安定かつ再現性よく QIH を誘導し，高い時間分解能で QIH を制御することを可能にした。本研究により開発された改変型 OPN4 による持続的かつ再現性高い光遺伝学的手法は，概日リズム，睡眠，日内休眠，冬眠など長期に及ぶ生理学的行動の神経制御機構の解明に役立つことが期待される。

（12）極低温環境下における概日リズム発振機構

榎木亮介 [1,2]，金　尚宏 [3]，山口良文 [4]，根本知己 [1,2]
（[1] 自然科学研究機構 生命創成探究センター，[2] 自然科学研究機構 生理学研究所
[3] 名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所，[4] 北海道大学 低温科学研究所）

哺乳類の概日リズムは，視床下部の視交叉上核に存在する中枢時計により制御される。冬期の食糧不足のような厳しい環境下では，幾つかの哺乳類は休眠や冬眠に見られるような基礎代謝や熱産生能が低下する低体温状態を引き起こすが，温度補償能をもつ中枢時計がこうした低体温時にもリズムを維持するか否かについては，長年の議論があるものの決着がついていない。本研究では，マウス視交叉上核スライスの神経細胞において，様々な低温条件下で時計遺伝子の転写と細胞内 Ca^{2+} の長期イメージング計測を行った。その結果，時計遺伝子 *Bmal1* の転写と Ca^{2+} の概日リズムは 22-28 ℃で持続するが，15 ℃では大きな Ca^{2+} 上昇を伴ってリズムが停止した。さらに 15 ℃の低温から 35 ℃に復温すると，Ca^{2+} リズムは直ちにリセットして安定周期で振動を再開した一方，*Bmal1* と *Per2* のリズム周期は数サイクルかけて安定となり，その後に Ca^{2+} リズムとの通常の位相関係に復帰した。これらの実験結果は，中枢時計は 22-28 ℃前後の低体温では機能を維持するが 15 ℃では停止し，復温後にリセットして再開すること，さらには Ca^{2+} 振動は *Bmal1* や *Per2* の転写リズムに先行して安定的な振動に復帰することを示している。

26. 大脳皮質を中心とした神経回路：構造と機能，その作動原理

2022 年 12 月 1 日－12 月 2 日

代表・世話人：田中康裕（玉川大学脳科学研究所）
所内対応者：窪田芳之（生理学研究所脳機能計測・支援センター）

（1）越シナプストレーシングを利用した大脳皮質 ―大脳基底核ループ回路の構造解析
井上謙一（京都大学ヒト行動進化研究センター）

（2）期待外れを乗り越える神経基盤
小川正晃（京都大学医学研究科）

（3）統合失調症で淡蒼球が大きくなる事実を突きつけられたらどう攻めますか？
田中謙二（慶應義塾大学医学部先端医科学研究所）

（4）経験依存的に生じる脳領域横断的な局所アンサンブルの同期活動
宮脇寛行（大阪公立大学大学院医学研究科）

（5）多次元神経活動のダイナミクスとしての認知機能
栗川知己（関西医科大学物理教室）

【参加者名】

大迫優真（Massachusetts Institute of Technology），吉田篤司（National Institutes of Health），藤山文乃・苅部冬紀・平井康治・角野風子（北海道大学），越智翔平・金谷哲平（東北大学），大橋一徳（日本大学），稲吉宏明（産総研），森田賢治・河村優志・木村梨絵・鹿島哲彦・橋本昂之・吉田盛史・西尾奈々・佐藤由宇・近藤将史（東京大学），横山　修・畠中由美子（東京都医学総合研究所），川端政則（東京医科歯科大学），森島美絵子（東京慈恵会医科大学），植田禎史（東京女子医科大学），日置寛之・髙橋　慧・亀田浩司・岡本和樹（順天堂大学），齋藤喜仁・谷本　彩（理化学研究所），田中康裕・川口泰雄・小口峰樹・武井智彦・澤口　光・アガハリフランシスクス アドリアン（玉川大学），田中謙二・大石光洋・本堂茉莉・小笠原　淳（慶應義塾大学），花田捺美（総合研究大学院大学），長坂和明（新潟医療福祉大学），侯　旭濱（新潟大学），田中琢真（滋賀大学），坪　泰宏（立命館大学），小川正晃・井上謙一・高須正太郎・北野樹里亜（京都大学），篠本　滋（ATR），廣川純也（同志社大学），小山内実・孫　在隣・金地真生・岩田貴光・柳澤琢史（大阪大学），水関健司・松本英之・宮脇寛行・中井慎也・古田成蘭（大阪公立大学），栗川知己（関西医科大学），味岡雄大（神戸大学），永瀬麻子（鳥取大学），加藤荘志（広島大学），木田裕之・美津島　大・楊　宇衡（山口大学），冨岡良平（熊本大学），今井　猛・稲垣成矩・武島光里・馬場俊和・平林直樹（九州大学），倉本恵梨子（鹿児島大学），松本晋司（ソフトバンク㈱），山本雅裕（㈱東芝），吉田暁人（㈱アラヤ），小松英彦・北城圭一・大塚　岳・髙橋菜々・高橋泰伽・植松明子・上原一将・泉谷芽生・鳴島　円・窪田芳之・浦久保秀俊・石原義久・宮崎隆明・カミジ ニュートン（生理学研究所）

【概要】

多細胞記録技術の著しい発達により，行動中の動物を用いて多数の神経細胞活動を同時に捉え解析できるようになった。形態学的な解析についても，ウイルストレーサーや超解像顕微鏡などの技術が順調に向上している。さらに，深層学習技術を応用することで，新たな切り口が見いだされる可能性もある。これら昨今の状況を踏まえ，本研究会では大脳皮質を中心とする神経回路の構造と機能について最新の知見を検討し，さらに理論的洞察を加え，作動原理の解明に迫ることを目的としている。本年度は，形態学・生理学・モデリング・データ解析をカバーし，正常及び病態における脳研究の最先端を担う 5 人の新進気鋭の研究者に，各々の最新の結果と将来の展望を発表していただいた。第 1 日目，井上謙一先生（京都大学ヒト行動進化研究センター）がウイルストレーサーを用いた大脳皮質と大脳基底核の並行ループの解剖学的解析について発表し，次いで，小川正晃先

生（京都大学医学研究科）が新規の行動課題によりあぶり出したドーパミン作動性細胞の特性についての研究を発表した。田中謙二先生（慶應義塾大学医学部先端医科学研究所）は統合失調症の新たな病因論についてマウスモデルを用いた議論を展開した。第 2 日目，宮脇寛行先生（大阪公立大学大学院医学研究科）が，多領域にまたがる新規のアンサンブルの学習による生成に関する研究を発表した。最後に理論家として栗川知己先生（関西医科大学物理教室）が，リカレントネットワークを用いたモデリングによる研究の現状を紹介した。昨年に引き続きハイブリッド開催としたことで，現地参加者（25 名）に限らず，リモートでの参加者（71 名）からも活発な質問があり，各々の 1 時間の枠を超えて建設的かつ徹底した討論を行った。若手からシニアに至るまで多くの研究者が議論に参加し，研究のスタンスや立場を問わず，発想を養うよい機会になったと思われる。

（１）越シナプストレーシングを利用した大脳皮質―大脳基底核ループ回路の構造解析

井上謙一（京都大学ヒト行動進化研究センター）

大脳皮質は大脳基底核と視床を介したループ回路を形成している。前頭葉に由来するループ回路は，運動ループ，眼球運動ループ，背外側前頭前野ループ，外側眼窩前頭葉ループ，前帯状回ループの５つの並列したループ回路に分類されており，これらのループ回路は，起始となる皮質領野が異なるだけでなく，大脳基底核や視床の中継部位が異なるという並列性を備えていることが古くから報告されている。一方で，近年では同一のループ内のみならずループ間においても情報の統合と分散が行なわれているという，ループ回路の半開放性を示唆する報告もなされている。このような複数の脳領域を経由する多シナプス性神経路の構造解析に，シナプスを越えて感染が伝播する神経向性ウイルスを利用する越シナプストレーシング法は極めて有効である。我々はこれまで，神経向性ウイルスの一つである狂犬病ウイルスおよびそのベクターを利用した越シナプストレーシングにより，非ヒト霊長類の大脳皮質―大脳基底核ループ回路の構造解析をおこなってきた。本発表では運動前野および前頭極をターゲットとした解析例を紹介するとともに，異なる皮質を起始とするループ回路間の関係性を詳細に解析するための蛍光双方向性トレーシング法の開発などについても紹介した。

（２）期待外れを乗り越える神経基盤

小川正晃（京都大学医学研究科）

自然界の報酬は大抵の場合不確実であり，容易には手に入らない。不確実な報酬を得るという目標を達成するにはどうすればよいだろうか？そのためには，期待した報酬が得られずに「期待外れ」が生じた場合でも，それを受け入れて報酬を諦めるのではなく，むしろ能動的に処理して，再度，報酬獲得に向けて行動を調節する必要がある。この「期待外れを乗り越える」機能は，生存や将来の成功のために重要である。従来，その機能を理論的に想定する心理学研究はあったものの，その神経メカニズムについては，適切な動物行動モデルの開発や，先端的な神経活動測定技術との融合が実現されていなかったため，全く解明されていなかった。そこで我々は，ラットで期待外れを乗り越える行動を定量する課題を開発し，中脳ドーパミン細胞の活動計測法と側坐核でのドーパミン計測法，光遺伝学法と融合した。その結果，中脳ドーパミン細胞の一部が側坐核への投射神経回路を介し，報酬に関する期待外れを能動的に処理する誤差信号を伝達することを見出した。この誤差信号は，これまで既知の報酬価値に関するドーパミン誤差信号と協調して，不確実な報酬の適応的な追求を可能にし，最終的により多くの報酬を得るために重要であることが示唆された。

（３）統合失調症で淡蒼球が大きくなる事実を突きつけられたらどう攻めますか？

田中謙二（慶應義塾大学医学部先端医科学研究所）

精神科の臨床研究で得られるデータの中で，今回は特に脳構造画像データに着目した。神経変性疾患では，脳のどこどこから萎縮が始まるというデータが全てであるし，うつ病や統合失調症も某皮質において萎縮する・しないというデータが多い。一方で，統合失調症で脳のある一領域が大きくなるというのは研究者を思考停止に陥らせる。神経・精神疾患で脳領域が大きくなることを想像できますか？ガンならともかく．．．そんな折りに，L-DOPA 誘発性ジスキネジアで淡蒼球が大きくなることを，弘前大学の冨山先生が報告していることを知った。それではそこを深掘りすることでどこまで分かるのだろうかとやれることをやってみた。私達がやったことは，マウス構造 MRI と超解像顕微鏡を用いた力尽くの組織学的解析である。その結果，線条体投射神経の構造可塑性が見えてきた。この構造可塑性が統合失調症の何と関係するのか，全く分かっていない状況ではあるが，これらのデータを共有した。

（４）経験依存的に生じる脳領域横断的な局所アンサンブルの同期活動

宮脇寛行（大阪公立大学大学院医学研究科）

様々な脳領域において，記憶情報は同時に活動する少数の細胞集団（アンサンブル）の活動として表現されている。しかし，様々な脳領域に存在するアンサンブルの活動が，脳領域横断的にどのように相互作用しており，それが経験にともないどのように変化するのかは不明であった。

この点を明らかにするため，ラットにおける恐怖条件づけ課題をモデル系として用い，腹側海馬・扁桃体・大脳皮質前頭前野で同時に大規模電気生理学記録を行なった。その結果，前頭前野–扁桃体ならびに前頭前野–海馬のアンサンブル・ペアは，恐怖条件付け後の睡眠中，とくに高周波数の局所電場電位オシレーションが生じる際に同期して活動することを発見した。興味深いことに，前頭前野–扁桃体の同期活動は記憶を獲得する際にも生じたのに対し，前頭前野–海馬の同期活動は記憶の獲得時にはほぼ見られず，獲得後の睡眠中になって強く見られるようになった。いずれの領域ペアの同期活動も，記憶を想起する際に再び生じていた。また，恐怖条件付け前の睡眠中についてみると，脳領域横断的なアンサンブル・ペアの同期活動は見られなかったが，前頭前野ならびに扁桃体においてはアンサンブルの活動そのものは有意なレベルで認められた。これらの結果は，安定な局所回路のアンサンブルの間の広域ネットワークが経験依存的に変化することが脳の記憶情報表現にとって重要であることを示唆している。

（５）多次元神経活動のダイナミクスとしての認知機能

栗川知己（関西医科大学物理教室）

近年のライブ多点計測技術の進展により，ラットなどの実験動物が認知課題を遂行中の神経活動を高次元ダイナミクスとして観察すること可能になってきている。では，ここで得られる高次元の神経活動ダイナミクスのデータから，神経系が行っている情報処理・認知機能をどのように理解できるのだろうか？

本講演では，最近の多点計測データを用いた研究結果を一般的なレビューと発表者の研究成果を交えながら，どのようにダイナミクスから認知機能を理解できるのか，に関して考えていった。特に，近年しばしば用いられる

力学系理論を用いた解析やリカレントニューラルネットワークを用いたデータ駆動型モデリングで何がわかるのか，典型的なデータ解析と比較しどういう利点があるのか，に焦点を当てた。

最後にそれらを踏まえて，現在の解析方法・視点では何が不足していて，今後どのようなアプローチが取りうるのか，行動の個体性・神経ダイナミクスの安定性といった切り口から，展望を述べた。

27. 病気につながる血管周囲の微小炎症を標的とする量子技術，ニューロモデュレーション医療による未病時治療法の開発

2022 年 10 月 21 日

代表・世話人： 田井中一貴（新潟大学 脳研究所）
所内対応者：長谷部理絵（分子神経免疫研究部門）

（１）微小炎症由来のエクソソームを捕捉し高感度に検出する量子マイクロデバイスの開発
安井隆雄（名古屋大学 大学院工学研究科）

（２）微小炎症検出のための高感度量子ナノダイヤモンドプローブの開発
五十嵐龍治（量子科学技術研究開発機構 量子生命科学領域）

（３）組織特異的な微小炎症検出用の生体イメージングプローブの開発
小川美香子（北海道大学 大学院薬学研究院）

（４）超音波による非侵襲的ニューロモデュレーション法の開発
竹内雄一（北海道大学 大学院薬学研究院）

（５）組織特異的微小炎症関連細胞，因子の検出系およびニューロモデュレーション療法の開発
長谷部理絵（生理学研究所 分子神経免疫研究部門）

（６）癌治療時の自己免疫疾患における微小炎症誘導機構の解明
茶本健司（京都大学 大学院医学研究科）

（７）動脈硬化における血管部の微小炎症の検出法と制御法の開発
佐田政隆（徳島大学 大学院医歯薬学研究部）

（８）微小炎症誘導の遺伝的リスクの解析とそれらに関連する自己反応性 T 細胞サブセットの機能的解析
藤尾圭志（東京大学 大学院医学系研究科）

【参加者名】

赤羽慧一郎（北海道大学），渥美達也 （北海道大学），阿部靖矢（北海道大学），荒川貴紀（岡山大学），五十嵐龍治（量子科学技術研究開発機構），石井康太（北海道大学），石垣聡子 （北海道大学），井上貴博（新潟大学），上野将紀（新潟大学），植松明子（生理学研究所），大河内美奈（東京工業大学），大澤まり（北海道大学），小川美香子（北海道大学），小坂田文隆（名古屋大学），押味佳裕 （岡山大学），神長輝一（量子科学技術研究開発機構），久保田晋平（北海道大学），小園晴生（東京理科大学），小林ひな（岡山大学），今野　哲 （北海道大学），佐々木拓哉 （東北大学），佐田政隆 （徳島大学），篠原雄太（北海道大学），田井中一貴 （新潟大学），竹内雄一 （北海道大学），田中くみ子（北海道大学），田中勇希（量子科学技術研究開発機構），茶本健司 （京都大学），渡慶次　学 （北海道大学），中山千恵美 （北海道大学），南部　篤（生理学研究所），西　李依子（北海道大学），橋本　茂（北海道大学），長谷部理絵（生理学研究所），樋口真人（量子科学技術研究開発機構），藤尾圭志 （東京大学），藤原正澄（岡山大学），北條慎太郎 （北海道大学），松尾瑠星（名古屋大学），南　雅文（北海道大学），村上　薫（北海道大学），村上正晃 （生理学研究所・北海道大学・量子科学技術研究開発機構），村上　裕 （名古屋大学），村林優樹（北海道大学），安井隆雄 （名古屋大学），山崎剛士 （生理学研究所），山本規世 （北海道大学），鷲尾　隆（大阪大学），JINGJING JIANG（北海道大学）（五十音順）

【概要】

本研究会は，ムーンショット型研究開発制度「病気につながる血管周囲の微小炎症を標的とする量子技術，ニューロモデュレーション医療による未病時治療法の開発」プロジェクト（PM:村上 正晃教授）に関する研究会である。慢性炎症は神経炎症性疾患，自己免疫性疾患，生活習慣病など様々な病態に関与する。本プロジェクト

では，慢性炎症の起点となる血管周囲の「微小炎症」を「病気の芽」と定義し，病気の症状が顕在化していない「未病」の時期に微小炎症を発見する技術と，神経回路の人為的制御により微小炎症を除去する新規ニューロモデュレーション技術の開発により，ムーンショット目標 7「100 歳まで健康不安なく，人生を楽しめる社会」の実現を目指している。本研究会では，名古屋大学 安井准教授，量子科学技術研究開発機構 五十嵐グループリーダー，北海道大学 小川教授より微小炎症高感度検出技術の開発について，北海道大学 竹内准教授より新規ニューロモデュレーション法の開発について，生理学研究所 長谷部特任准教授より神経-免疫連関の新規分子機構について，京都大学 茶本特定准教授，徳島大学 佐田教授，東京大学 藤尾教授より，疾患において微小炎症を誘導する分子機構について，最新の技術，知見，研究成果についての発表があった。各発表について，活発な質疑応答が行われ，さらに今後の研究の方向性についても提案があるなど，本プロジェクトの目標達成に向けて，発展的な議論が行われた。

（１）微小炎症由来のエクソソームを捕捉し高感度に検出する量子マイクロデバイスの開発

安井隆雄（名古屋大学 大学院工学研究科）

細胞外小胞の機能解析においては，体液中などの細胞外小胞の捕捉と，その後の microRNA・タンパク質・脂質・糖鎖の解析が主に行われてきている。我々は，これまでの研究において，血液の体内循環時間と細胞外小胞の拡散定数，細動脈の血管直径より，ドナー細胞の細胞外小胞は一回の血液循環ではレシピエント細胞へ運ばれないことに着目し，尿中の細胞外小胞の解析とがん検知への応用に取り組んできた。ナノワイヤが生み出す空間を駆使して表面電荷を用いる細胞外小胞捕捉法を提唱(1,2)し，尿による高精度のがん検知への展開(3,4)を進めている。これまでの研究では，回収率の底上げを目的とする網羅的捕捉法の創出と，細胞外小胞の網羅的捕捉による microRNA 解析や膜タンパク質解析を主眼としており，細胞外小胞の極限検出を目標としてこなかった。これらの研究経緯に基づき，本発表では，現在取り組んでいる細胞外小胞の極限検出を可能にする量子マイクロデバイスの開発状況を紹介する。

(1) ***Nanoscale***, **14**, 4484 (2022)
(2) ***Biosensors and Bioelectronics***, **194**, 113589 (2021)
(3) ***ACS Appl. Mater. Interfaces***, **13**, 17316 (2021)
(4) ***Science Advances***, **3,** e1701133 (2017)

（２）微小炎症検出のための高感度量子ナノダイヤモンドプローブの開発

五十嵐龍治（量子科学技術研究開発機構 量子生命科学領域）

慢性炎症性疾患は根治が難しいだけではなく社会的負荷も大きく，その克服は長寿社会において主要な課題となっている。これらの疾患を効果的に治療するためには，病気の芽である微小炎症が拡大し，慢性炎症化する前に早期発見することが大切である。我々はこれまで，生命系の超高感度計測技術として，量子センシングに基づくダイヤモンドナノセンサー（ナノ量子センサー）の開発を進めてきた。その過程で，超分岐のポリグリセロールコーティングによる非特異的な分子吸着の排除や，生体微小環境の多様な物理的・化学的パラメータの超高感度計測法，微量分子検出のための量子操作に基づくバックグラウンドフリーイメージング技術などの開発を進めてきた（Nano Lett. 2012, Bioconjug. Chem. 2018, ACS Nano 2019, JACS 2020, ACS Nano 2021）。これらの既得技術に基づいて，ムーンショット型研究開発事業「病気につながる血管周囲の微小炎症を標的とする量子技術，ニューロモデュレーション医療による未病時治療法の開発」においては，疾患最初期に発生した微小炎症に由来する超高感度バイオマーカー検出を目指してナノ量子センサーに基づく高感度免疫吸着アッセイ技

術の開発を行っている。本研究会においてはこれまで行ってきたナノ量子センサー開発の概要を紹介するとともに，高感度免疫吸着アッセイ技術の開発状況を報告する。

（３）組織特異的な微小炎症検出用の生体イメージングプローブの開発

小川美香子（北海道大学 大学院薬学研究院）

炎症の PET イメージングには，糖代謝イメージング剤[^{18}F]FDG が臨床において用いられている。我々はこれまでに，動脈硬化プラークの不安定性を[^{18}F]FDG により評価できることを報告している。本研究では，早期の微小炎症の検出を目指し，実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）マウスの PET イメージングを行った。ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質（MOG）ペプチド特異的な CD4+ T 細胞を C57BL/6J マウスに移植し，移植前 1 日および移植後 1，7，14，21 日後に PET 撮像をした。その結果，未処置のコントロールマウスと比較して EAE マウスでは脳，胸椎，腰椎への[^{18}F]FDG の集積量が高かった。また，炎症性スコアは 14 日後に最大となったが，[^{18}F]FDG の集積は炎症性スコアが上がっていない 7 日後から有意に上昇しており，症状が現れる前に PET にて画像化可能であることが示された。なお，21 日後ではコントロールマウスと EAE マウスで[^{18}F]FDG 集積に差は認められず，炎症の収束も画像により判定することができた。また，乳酸代謝 PET イメージング剤の開発にも成功し，エネルギー代謝を指標とした炎症・免疫の定量評価が可能となった。

（４）超音波による非侵襲的ニューロモデュレーション法の開発

竹内雄一（北海道大学 大学院薬学研究院）

本講演では，１．閉ループ脳刺激によるてんかん制御，２．閉ループ脳刺激法によるうつ病制御，３．超音波ニューロモデュレーション法の開発，について発表があった。最初の話題として，側頭葉てんかんのモデルである海馬電気キンドリングラットにおいて，内側中隔核の電気刺激あるいは光遺伝学刺激により一度生じたてんかん発作を直ちに終息できることが示された。この発作終息作用は刺激のタイミング依存であり，内側中隔核刺激の海馬におけるてんかん波への位相固定が必要であると示された。次に，うつ病のモデルであるリポポリサッカライド投与ラットにおける嗅球―嗅皮質間ガンマ周波数帯機能的カップリングの減弱，および嗅皮質の閉ループ電気刺激で当該カップリングを増強することで，ショ糖嗜好試験の成績等うつ病様症状が回復することが示された。更にこれら時間特異的閉ループ脳深部刺激を用いた新しい神経・精神疾患制御法を，経頭蓋集束超音波照射によって非侵襲化する試みが紹介された。超音波ニューロモデュレーション法は非侵襲的でありかつ時空間解像度にも優れるため，時間特異的閉ループ脳深部刺激によるてんかん制御およびうつ病制御を非侵襲化し，トランスレーショナルな展開を加速できる可能性がある。

（５）組織特異的微小炎症関連細胞，因子の検出系およびニューロモデュレーション療法の開発

長谷部理絵（生理学研究所 分子神経免疫研究部門）

ゲートウェイ反射は，2012 年に発見された神経-免疫連関の新たな分子機構であり，現在までに重力，電気刺激，痛み，ストレス，光および遠隔炎症という 6 つのゲートウェイ反射が発見されている。加齢，ストレスなどで

自己反応性 T 細胞は増加するが，このような T 細胞が血中に増加している状態で，重力，痛み，ストレス，間接内炎症などの環境刺激が引き起こされると，特異的神経回路が活性化し，中枢神経系を含む臓器の特定血管近傍に神経伝達物質ノルアドレナリンが分泌される。それにより特定血管内皮細胞で，STAT3 と NFkB の同時活性化により NFkB が過剰活性化する IL-6 アンプが誘導され，ケモカイン・サイトカインの過剰産生が起こり，最終的にその部位の透過性が亢進する。その結果，自己反応性 T 細胞を含む免疫細胞の侵入口である「血管ゲート」が形成され，血管周囲に微小炎症が誘導される。ストレスゲートウェイ反射と遠隔炎症ゲートウェイ反射では，微小炎症部位で局所産生された ATP が神経伝達物質として機能し，特異的神経回路を活性化し，投射先の臓器で炎症や組織機能不全を誘導する。これらのゲートウェイ反射は炎症を促進するが，光ゲートウェイ反射は逆に，炎症を抑制する。ゲートウェイ反射の人為劇な制御により，将来的には，新規ニューロモデュレーション療法を開発し，微小炎症を未病の状態で除去する新規予防・治療法の開発を目指す。

（６）癌治療時の自己免疫疾患における微小炎症誘導機構の解明

茶本健司（京都大学 大学院医学研究科）

生体内ポリアミンであるスペルミジンは加齢に伴い減弱しており，様々な慢性炎症にも関与していることが知られている。一方でスペルミジン投与により，慢性疾患が回復し，寿命が延長することも報告されている。しかしこれらの細胞の分子メカニズムは不明である。我々は，PD-1 抗体を用いたがん免疫治療モデルを用いて炎症に関連する研究を行なってきた。多くのがん患者が高齢者であり，その半数以上が PD-1 阻害がん免疫治療に無効であることを考慮すると，老化による免疫力低下メカニズムの解明は急務である。老化マウスでは若齢マウスと比較し，CD8+T 細胞のスペルミジン含有量は低く，若齢 CD8+T 細胞と比較しミトコンドリア ATP 産生や増殖能が減弱していた。また PD-1 阻害抗体による抗腫瘍効果が全く発揮されなかった。しかし，スペルミジンを併用すると, CD8+T 細胞のミトコンドリア代謝が回復し, PD-1 阻害抗腫瘍効果も回復した。スペルミジンを FG ビーズに結合させ，スペルミジン結合タンパクを同定したところ，脂肪酸酸化の主酵素である mitochondrial trifunctional protein (MTP) が同定された。スペルミジンは MTP に強い親和性で結合し，脂肪酸酸化の酵素活性を増強することを示した。以上のことより，スペルミジンは細胞の脂肪酸酸化を制御しており，老化 T 細胞ではその低下によって脂肪酸酸化が減弱していることを示した。スペルミジン を投与することで加齢に伴う CD8+T 細胞の機能低下を回復させ抗腫瘍効果を増強できることを示した。

（７）動脈硬化における血管部の微小炎症の検出法と制御法の開発

佐田政隆（徳島大学 大学院医歯薬学研究部）

メタボリックシンドロームや動脈硬化の病態においては，脂肪組織や血管壁における無菌的慢性炎症が大きな役割を担う。しかし，生活習慣病によってどのようにして慢性炎症が惹起されるのか十分に明らかになっていない。Toll 様受容体-9（*TLR9*）は，本来，外来性の病原体由来の DNA 断片を認識する自然免疫受容体であるが，最近では，自己由来の遊離核酸断片（cell free DNA, cfDNA）を認識して，自己免疫性疾患などの病態に関与していることが報告されている。

（１）肥満に伴って脂肪組織から，cfDNA が放出された。*TLR9* 欠損マウスでは，脂肪組織での炎症が減弱しており，肥満に伴うインスリン抵抗性が軽減していた。

（２）*TLR9*/*ApoE* 二重欠損マウスでは，動脈硬化病変およびプラーク内脂質量は，*ApoE* KO マウスに比べて有意に少なかった。*TLR9* の阻害オリゴヌクレオチドは，血管での慢性炎症と動脈硬化を抑制した。

生活習慣病によって生じるインスリン抵抗性，動脈硬化を防ぐうえで, 自己 DNA/*TLR9* 系がキーとなる経路であることが明らかとなった。

今後は，生活習慣病によって生じる早期の微小炎症を検出して，ニューモモジュレーションなどの技術で動脈硬化のプロセスを未然に防ぐ方法の開発を目指す。

（８）微小炎症誘導の遺伝的リスクの解析とそれらに関連する自己反応性Ｔ細胞サブセットの機能的解析

藤尾圭志（東京大学 大学院医学系研究科）

微小炎症誘導の遺伝的リスクの評価は，微小炎症制御にとって重要な情報となる。近年，遺伝素因すなわち遺伝子多型がどのように免疫システムに影響するか，のカタログとなる機能ゲノムデータベースが重要となっている。我々は 2021 年に免疫介在性疾患と健常人 416 例からの 28 免疫担当サブセットの 9852 サンプルから成る ImmuNexUT を構築した。遺伝子発現と遺伝子多型の関連解析である expression quantitative trait loci (eQTL) 解析を行うと，ImmuNexUT では従来のデータベースの 2 倍以上の eQTL が同定可能で, 各免疫細胞が特徴的な eQTL を有する事が明らかとなった。全身性エリテマトーデス（SLE）では eQTL 解析により新たな遺伝子が疾患感受性遺伝子の候補として同定できた。さらに，一部の eQTL 効果が炎症などによって動的に変化する事，つまり遺伝子多型の機能が病的環境下で動的に変化する事が明らかとなった。また SLE においては，疾患発症に関連する免疫経路と，疾患増悪に関連する免疫経路が異なることが明らかとなった。この様にトランスクリプトーム解析をゲノム解析と組み合わせる事で，免疫経路と遺伝的リスク，疾患発症の関連を明らかにすることが可能である。今後 ImmuNexUT 内で同定した年齢により増加する細胞傷害性サブセット ThA 細胞について解析し，微小炎症の遺伝的リスクと発生メカニズムの解明を進める。

28. コミュニケーション研究の展望：双方向コミュニケーションを駆動する神経・行動因子

2022 年 9 月 5 日

代表・世話人：岡本悠子（早稲田大学高等研究所）
所内対応者：定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所）

（１）Movement clues to mental states: the role of movement similarity in social cognition

Bianca Schuster（Waseda University, Japan）

（２）Why do our brians synchronize during social interaction? : Discuss future hyperscanning studies

Yuto Kurihara（Waseda University）

（３）Neural substrates and inter- and intra-brain functional connectivity during joint attention scheme: hyperscan fMRI studies

Hiroki C. Tanabe（Nagoya University）

（４）Beyond the individual in autism: The dialectical misattunement hypothesis

Dimitris Bolis（NIPS）

（５）Empathy and social camouflaging in individuals with autism spectrum disorders

Hidetsugu Komeda（Aoyama Gakuin University）

（６）The visual cortex development: the role of social interaction and relationship to autism

Yuko Okamoto（Waseda University）

（７）Cultural transmission of birdsong and its neural underpinnings

Masashi Tanaka（Waseda University）

（８）Reading people

Jennifer L. Cook（Birmingham University）

【参加者名】

植松明子（生理学研究所），中村月香（国立精神・神経医療研究センター），岩渕俊樹（浜松医科大学，角谷基文（浜松医科大学），野中梨聖（名古屋大学），yulei shen（名古屋大学），櫻井悠介（名古屋大学），近藤竜生（名古屋大学大学），北城圭一（生理学研究所），小笠原香苗（生理学研究所），船渡　錬（浜松医科大学），伊津野巧（生理学研究所），吉岡　歩（生理学研究所），千住　淳（浜松医科大学），鳴川　紗（生理学研究所），福永雅喜（生理学研究所），戸松彩花（生理学研究所），髙橋　徹（早稲田大学），橋口真帆（生理学研究所），南條啓孝（生理学研究所），村井翔太（東京大学），山本哲也（生理学研究所），ウ・チェリム（早稲田大学），網田英敏（京都大学），田中雅史（早稲田大学），Schuster Bianca（早稲田大学），Hiroki C. Tanabe（名古屋大学），Dimitris Bolis（生理学研究所），Hidetsugu Komeda（青山学院大学），Jennifer L. Cook（Birmingham University），Yuto Kurihara（早稲田大学），岡本悠子（早稲田大学），大須理英子（早稲田大学），Ryo Kitada（神戸大学），Norihiro Sadato（生理学研究所），Takahiko Koike（生理学研究所）

【概要】

他者とのコミュニケーションは双方向的な現象で，科学的な検証には双方向性を考慮した研究が不可欠である。近年の個体間の行動・脳同期に関する研究からは運動と 2 者間コミュニケーションのつながり，自閉スペクトラム症研究からは共感の欠如ではなく個人間の類似性の問題であるという二重共感仮説が提唱されている。また，このようなコミュニケーションが社会の中での文化伝達に果たす役割は動物実験からも検証がなされている。さらに，これらの知見から介入研究や障害観の再考を目指す動きもある。本シンポジウムでは，話題提供

として実験心理学，認知神経科学，哲学から双方向的なコミュニケーションに寄与する心理・神経科学基盤に迫る。さらに，指定討論では，これらの研究の限界や障害を持つ方の日常との乖離を指摘し，社会認知科学の展望について議論することを目的とした。

女性・外国人研究者約 4 割を含む大学院生から教授まで幅広い世代の研究者が登壇し，多様な視点から意見交換がなされた。特に，脳や行動の同期が実際のコミュニケーションに与えるインパクト，動物でコミュニケーションを研究する意義，臨床への適用の難しさなどについての課題が提案された。

世代の異なる研究者に対して全て同じ発表時間を設定し，開会挨拶で若手研究者がざっくばらんに議論する場を持つという研究会の目的を説明することで，大学院生からも現状の課題や将来に向けた展望などの提案がなされた。提案当初の目的を十分に達成し，充実した研究会となった。

（１）Movement clues to mental states: the role of movement similarity in social cognition

Bianca Schuster（Waseda University, Japan）

Difficulties in social communication and interaction are considered core features of Autism Spectrum Disorders (ASD). While the importance of movements (such as facial expressions, gestures, or gait) for everyday social interactions is well-evidenced, highly prevalent movement atypicalities among autistic individuals have so far mostly been overlooked with respect to their possible role in social interaction difficulties. Previous research suggests that differences in the way two interaction partners express their internal states through movement may be one of the drivers of social interaction difficulties. In my talk I will present research which investigates how movement similarity between a non-autistic agent and observer promotes the observer's accurate interpretation of the agent's movements. I will outline possible underlying neural mechanisms of this movement similarity effect and discuss how these findings may cause us to reconsider some earlier interpretations of performance differences between autistic and non-autistic individuals as 'socio-cognitive difficulties'.

（２）Why do our brians synchronize during social interaction? : Discuss future hyperscanning studies

Yuto Kurihara（Waseda University）

We are influenced by someone or something in our daily activities and decision-making. Not only body-to- body behavioral synchronization but also brain-to-brain neural synchronization has been reported during social interaction, and it has been suggested that inter-brain neural synchronization could play an important role in social interaction. However, the developmental mechanisms of brain synchronization during social interactions are largely unknown. Some dual-brain imaging (i.e., hyperscanning) studies suggest the relationship between good behavioral perfomance and inter-brain synchronization. On the other hand, inter-brain synchrony is observed even when the behavior was not in good performance; at first glance, the two observations seem contradictory. I propose that these findings are consistent by interpreting brain-to-brain synchrony as occurring through "mutual prediction." In the symposium, I will discuss the possibility that mutual prediction is causing brain synchrony and how brain synchrony data should be interpreted.

（３）Neural substrates and inter- and intra-brain functional connectivity during joint attention scheme: hyperscan fMRI studies

Hiroki C. Tanabe（Nagoya University）

Eye contact provides a communicative link between humans, prompting joint attention, which is the ability to coordinate attention between interactive partner with respect to objects or events to share an awareness of them. Lack of joint attention is one of early abnormalities in children with the autism spectrum disorders (ASD). Employing hyperscan functional MRI system, we examined and compared inter- and intra-brain functional connectivity of the brain activity between individuals with ASD and typically-developed individuals (TD), and between TDs. Results showed that ASD – TD pairs were significantly less accurate in detecting the eye gaze direction compared with the TD pairs, more prominently impaired in ASD participants than their paired normal participants who in turn showed lower performance than the TD – TD pairs. This suggests that the pair-specific impairment occurs during the task. In TD participants, eye-cued gaze activated the bilateral occipital pole extending to the right posterior superior temporal sulcus (STS), the dorso-medial prefrontal cortex (DMPFC), and the bilateral inferior frontal gyrus (IFG). The direct comparison between ASD and TD group showed that the activation of the occipital cortex (OC) was reduced in ASD group, while the TD participants paired with ASD individuals, contrasted with TD participants paired with TD ones, showed greater activity in the bilateral OC and right IFG. Inter-brain functional connectivity in the right IFG was significantly less prominent in the ASD – TD pairs than TD – TD pairs. This might represent the difficulty in establishing the common psychological ground between ASD and TD participants that is in turn reflected in the performance in the joint attention task. Intra-brain functional connectivity between the right IFG and right STS in TD participants paired with ASD individuals was reduced compared with in TD – TD pairs. This functional connectivity was positively correlated with performance on the eye-cued joint-attention task. Considering the integrative role of the right STS in gaze processing, inter-brain functional connectivity during eye contact may be a prerequisite for joint attention.

（４）Beyond the individual in autism: The dialectical misattunement hypothesis

Dimitris Bolis（NIPS）

In this talk we will describe the dialectical misattunement hypothesis, which reconsiders psychopathology with regard to ‘neurosocial minorities’, such as autism, not as mere misfunction within single brains, but as a dynamic interpersonal mismatch as well. Firstly, we will view the hypothesis from an experiential angle, discussing anecdotal clinical and pedagogical evidence. Secondly, we will look at it through a conceptual lens, considering the philosophical and computational bases. Thirdly, assuming an experimental point of view, we will present the methodology of collective psychophysiology, as well as empirical data, interrelating interpersonal matching of autistic traits to friendship quality. Finally, we will touch upon the societal implications, from science and clinical practice to pedagogy and the law. In a nutshell, such an approach aims at moving beyond the individual in the study and caring of psychopathology, yet without neglecting the relevant psychophysiological processes.

（５）Empathy and social camouflaging in individuals with autism spectrum disorders

Hidetsugu Komeda（Aoyama Gakuin University）

Individuals with autism spectrum disorders (ASD) are thought to lack social interaction and to experience difficulty empathizing with others. Although these characteristics have been demonstrated in previous studies, most target stimuli were constructed for typically developing (TD) individuals. We created original story tasks for individuals with ASD, including recognition and judgment tasks involving a protagonist with autistic characteristics (Komeda et al., 2013a). Our paradigm revealed self-relevant processing in individuals with autistic characteristics (Komeda et al., 2015). Our previous studies showed that extraverted readers understand stories with extraverted characters more easily than they do stories involving introverted characters (Komeda et al., 2009), and extraverted readers empathize more with extraverted characters (Komeda et al., 2013b). Additionally, TD individuals retrieve stories featuring TD characters more effectively than they do stories featuring ASD characters, whereas individuals with ASD retrieve stories that consistently include ASD characters more effectively than they do stories featuring ASD characters on an inconsistent basis (Komeda et al., 2013a). In this talk, I will describe our current studies on how individuals with ASD regard other individuals with ASD, focusing especially on empathy based on similarities between perceivers and targets (Komeda, 2015). Our findings show that the ventromedial prefrontal cortex (self-processing brain area) was significantly activated in individuals with ASD in response to characters with autism and in TD individuals in response to characters without autism (Komeda et al., 2015). Thus, individuals with ASD have specific responses towards other people with ASD. Social camouflaging is defined as the use of strategies by autistic people to minimize the visibility of their autistic traits and behaviors during social situations (Lai et al. 2011). We examined effects of social camouflaging in ASD toward other people with and without autism. In terms of clinical and educational implications, these findings suggest that people with ASD characteristics may be able to help those with ASD.

（６）The visual cortex development: the role of social interaction and relationship to autism

Yuko Okamoto（Waseda University）

Autism spectrum disorder is considered to have difficulties in social interaction. Some of the behavioral characteristics of autism are seen in early childhood, and the salient characteristics and difficulties perceived in daily life depend on each age. Many neuroimaging studies have attempted to elucidate the neural basis of social interactions in autism, however, the developmental aspects have been largely overlooked. In this talk, I will present my fMRI research focusing on the development of body- and face-sensitive visual cortex in typically developing and autistic individuals. Second, I will explain the importance of understanding how their brains and cognition grow in the context of understanding and educating autistic children. Finally, I will provide a point of discussion about the barriers to connecting basic research and society, including my experience and perspective on cultural differences.

（７）Cultural transmission of birdsong and its neural underpinnings

Masashi Tanaka（Waseda University）

Transmission of cultural behaviors such as language, music, and other social knowledges across generations has contributed to the growth of complex human societies and civilizations. Among mammals only a handful of species have been reported to transmit cultural behaviors, whereas cultural transmission of patterned vocalizations is oddly common in some avian species including songbirds. Songbirds sing songs with a sequence of complex vocalizations, and transmit the songs across generations through imitative learning. I will review recent findings on the neural mechanism regulating the vocal imitation in a songbird species, zebra finch, and discuss how these studies may help to understand our cultural behaviors.

（８）Reading people

Jennifer L. Cook（Birmingham University）

Our work covers a range of topics that fall under the umbrella term social cognition including emotional expression, emotion recognition, face perception, biological motion processing, social learning and decision making, imitation and theory of mind. On the whole we are interested in the cognitive abilities that enable humans to have rich and cumulative culture and we are intrigued about whether other species share some of these abilities, and if so, what inhibits cultural evolution in these species. Dr Cook’s work investigates action and social cognition in typically developed adults and those with autism spectrum conditions. With respect to action Dr Cook and her colleagues have shown that autistic adults move with subtly different kinematics compared to typical controls. Such atypical kinematics can impact on the perception, categorisation and imitation of others' actions.

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔　目　　次　〕

1．大脳皮質―大脳基底核神経回路の機能とその破綻がもたらす機能障害
Function and dysfunction of cortico-basal ganglia circuit
（代表・世話人：橘　吉寿　2023 年 3 月 17 日－18 日）…… 476

1. 大脳皮質ー大脳基底核神経回路の機能とその破綻がもたらす機能障害
Function and dysfunction of cortico-basal ganglia circuits

2023 年 3 月 17 日ー3 月 18 日

代表・世話人：橘　吉寿（神戸大学大学院医学研究科・生理学）
所内対応者：南部　篤（生理学研究所・生体システム）

（１）Roles of medial frontal cortex in the regulation of mood and motivation
筒井健一郎（東北大学 大学院生命科学研究科・脳神経システム）

（２）Multisynaptic neuronal connections of the frontal cortex and behavioral control
宮地重弘（京都大学 ヒト行動進化研究センター・高次脳機能）

（３）Temporal information processing in the cerebellum and basal ganglia
田中真樹（北海道大学 医学研究院・神経生理学）

（４）Morphological re-evaluation of basal ganglia network
藤山文乃（北海道大学 医学研究院・細胞組織学）

（５）Cortical and subcortical contributions to different aspects of economic decision-making
松本正幸（筑波大学 医学医療系・認知行動神経科学）

（６）Nonhuman primate chemogenetics: current status and future direction
南本敬史（量子科学技術研究開発機構・脳機能イメージング）

（７）The subthalamic nucleus in Parkinson's disease: an option and opportunity to impact on disease evolution
José Obeso（HM CINAC Madrid, Universidad CEU San Pablo, Spain）

（８）Posture-gait control by the basal ganglia - brainstem system
高草木薫（旭川医科大学・脳機能医工学研究センター）

（９）Clinical interest in the subthalamic nucleus
岩室宏一（順天堂大学・脳神経外科）

（10）Neuroplasticity in Parkinsonism
Thomas Wichmann（Emory University・Neurology, USA）

（11）The adaptive value of probability distortion and risk-seeking in macaques' decision-making
Thomas Boraud（University of Bordeaux・Neurodegeneration, France）

【参加者名】

Peter Strick（University of Pittsburgh），Jose Obeso（CEU San Pablo University Madrid），Thomas Wichmann（Emory University），Thomas Boraud（University of Bordeaux），Thongchai Sooksawate（Chulalongkorn University），Steve Perlmutter（University of Washington），田中真樹，藤山文乃，岡田研一，亀田将史，澤頭　亮，Li Li，安部　楓（北海道大学），高草木薫，高橋未来，千葉龍介（旭川医科大学），小林和人，宇川義一（福島県立医科大学），筒井健一郎，虫明　元，坂本一寛，越智翔平，渡辺秀典（東北大学），松本正幸，山田　洋，國松　淳，禰占雅史（筑波大学），竹林浩秀，笹岡俊邦，齊藤奈英（新潟大学），南本敬史，三村喬生，小山　佳，岩沖晴彦（量子科学技術研究開発機構），松崎政紀，森田賢治（東京大学），礒村宜和，篠田義一，高橋真有（東京医科歯科大学），植田禎史（東京女子医科大学），岩室宏一（順天堂大学），一瀬宏，豊田　亮（東京工業大学），木村　實，鮫島和行，武井智彦，田中康裕（玉川大学），関　和彦，窪田慎治，前田和孝，菊田里美（国立精神・神経医療研究センター），西村幸男，中山義久，横山　修，鈴木迪諒（東京都医学総合研究所），山森哲雄（理研脳神経科学研究

センター），今井壽正（東京臨海病院），星　英司（木更津病院），長谷川一子（国立病院機構相模原病院），佐藤澄人，駒井英人（北里大学），佐野裕美，一瀬(鷲見)千穂（藤田医科大学），山本哲朗（伊勢慶友病院），安田正治，倉岡康治，石井宏憲（関西医科大学），伊佐　正，伊佐かおる，佐々木　亮，加藤利佳子，高田昌彦，井上謙一，網田英敏，野々村　聡，兼子峰明，木村　慧，宮地重弘，兼重美希，行天悠一郎，Gaoge Yan（京都大学），小山内実（大阪大学），橘　吉寿，中井信裕，中村　毅，鈴木真生（神戸大学），加藤荘志（広島大学），吉田篤司（米国国立衛生研究所），南部　篤，久保義弘，磯田昌岐，北城圭一，村上正晃，長谷部理絵，山肩葉子，大塚　岳，知見聡美，二宮太平，畑中伸彦，上原一将，植松明子，郭　中天，泉谷芽生，長澤裕太郎，堀尾修平，本多結城子，纐纈大輔，高橋泰伽，江川孝彦（生理学研究所）

【概要】

我々の多様な行動の神経基盤を解明し、それが破綻した場合の精神･神経疾患の病態生理を明らかにし、治療法を開発するためには、システム神経科学的アプローチが重要である。古典的な手法により、あるいは技術革新によって新たに開発された手法を組み合わせて、脳神経回路において複雑に織りなされた神経ネットワークを一つ一つ解きほぐす必要がある。また、近年のカルシウムイメージングやオプト・ケモジェネティクスの勃興、げっ歯類の運動課題の開発が、システム神経科学に革命的な進歩をもたらしている。しかしながら、真のヒトの行動の神経基盤を理解するために、またヒト固有の精神・神経疾患の病態を解明するためには、げっ歯類とヒトの間を埋めるマーモセットやマカクザルなどの霊長類を用いた神経回路研究も不可欠である。そこで、本研究会では、様々な動物種、疾患モデル、実験手法を用いた多様な研究について、研究者が集い互いに情報交換を行う場を提供し、行動制御の基盤を成す多階層神経回路の作動原理を理解し、それが破綻した場合の精神･神経疾患の病態生理の解明、治療法開発の未来を展望することを目的とした。2023 年 3 月 17 日－3 月 19 日の日程で、国内･国外から研究者を招聘し、前半を生理学研究所国際研究集会として開催した。

アメリカから Peter Strick 博士、Thomas Wichmann 博士、フランスから Thomas Boraud 博士、の計 3 名が現地参加し、また、スペインから José Obeso 博士がオンライン参加し、計 4 名の海外演者による特別講演（各 45 分の講演・質疑応答）が行われた。また、16 人の国内演者による講演（各 30 分）と生理学研究所・南部篤教授による退職記念講演（1 時間）が行われ、活発な議論がなされた。その他、若手研究者によるポスター12 題の発表も行われた。参加者は、合計 119 名に達した。ここ数年、COVID-19 の影響により、オンラインでの研究会が多かった中、やはり対面での国際研究集会は、それぞれの研究に対する熱意をぶつけ合う場として非常に重要であると再確認する大変良い機会となった。この研究会を機に共同研究の機会が増え、大脳皮質-大脳基底核神経回路に関する研究が更に発展することが期待される。

【 各種シンポジウム 】

第 52 回 生理学研究所国際シンポジウム

The 52nd international symposium “Frontiers in Primate Systems Neuroscience”

2022 年 11 月 30 日から 12 月 2 日までの 3 日間の日程で，非ヒト霊長類動物をモデルとする高次脳機能研究に焦点をあてた「第 52 回生理学研究所国際シンポジウム−Frontiers in Primate Systems Neuroscience」をオンラインで開催した。オーガナイザーは認知行動発達機構研究部門の磯田教授で，同部門のスタッフが協力して事務局運営にあたった。講演者は計 15 名で，海外の研究機関から 11 名を招待した（内訳は，米国 5 名，加国 1 名，英国 1 名，仏国 1 名，伊国 2 名，中国 1 名）。合計 136 名の参加者があり，海外の研究者が 39 名を占めた。

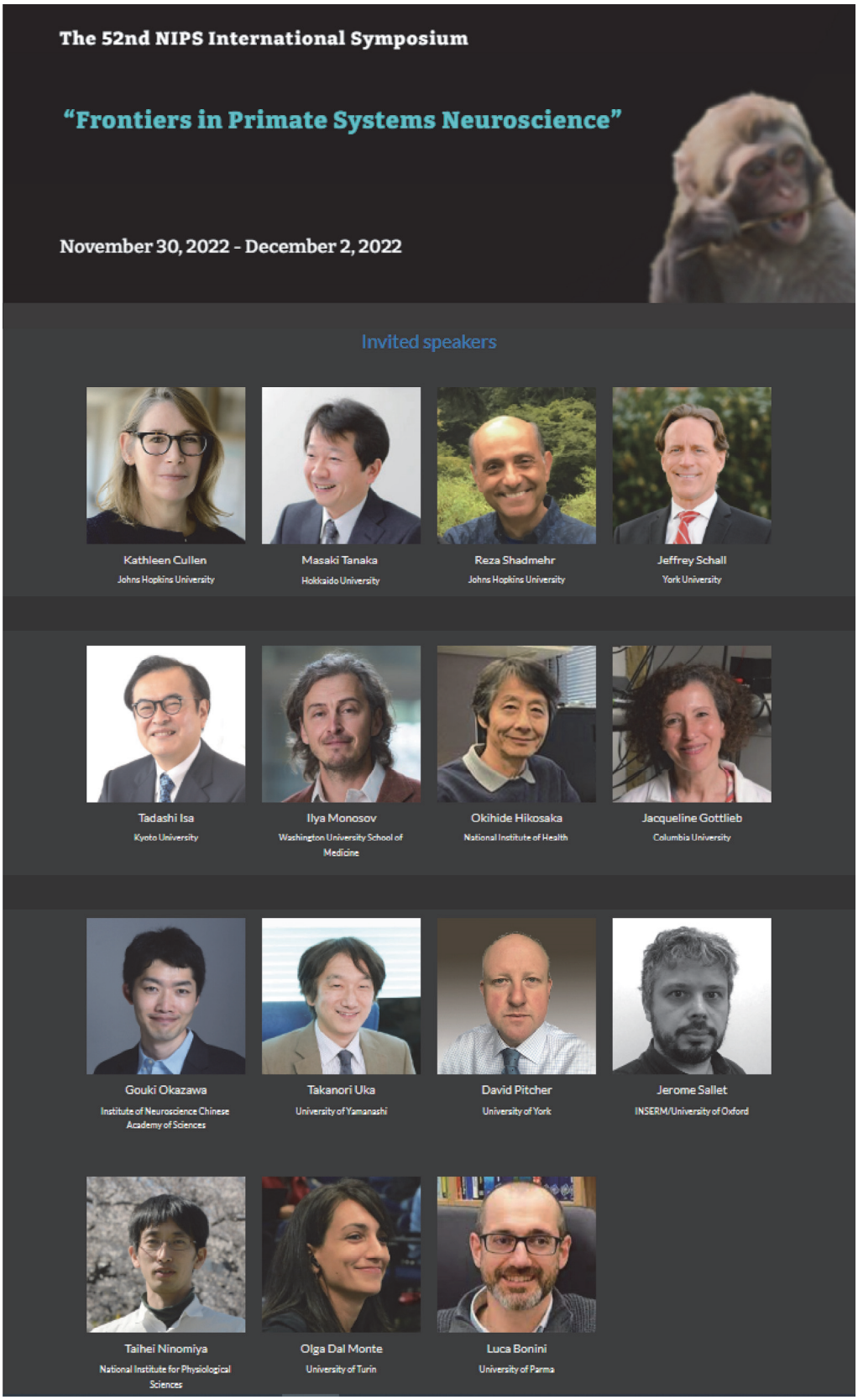
当該コミュニティにおいて注目を集める 3 つの主要テーマとして，① sensory integration and action，② motivation, learning, and decision-making，③ social cognition を設定した。各セッションでは，前後の講演内容が関連するようにプログラムを構成した。若手 PI から distinguished PI までバランスのとれたラインアップとなるように配慮した。すべての講演において 10 分間という十分な質疑応答時間を確保した。各セッションでは認知行動発達機構研究部門の研究者 2 名が座長を務めた。

シンポジウム当日は途切れることなく質問が続き，終始活発な議論が展開された。オンライン形式にもかかわらず会場は大盛況であった。本シンポジウムの開催は，（1）非ヒト霊長類をモデルとする最先端研究の成果を俯瞰し，（2）当該領域における今後の研究の方向性を具体的にイメージし，（3）新たな共同研究の可能性を探索し，（4）若手研究者のモチベーションを刺激するという点において意義深いものとなった。今回のようなオンラインでの開催では地域間の時差が問題となるが，本格的な国際学術集会をごくわずかな経費と小規模な事務局体制で実現できるというメリットはある。今後も生理学研究所が学術コミュニティを先導するために，タイムリーなテーマを選定して国際シンポジウムを開催することは，大学共同利用機関としての最重要ミッションの一つであると，改めて認識する機会となった。

The 52nd international symposium “Frontiers in Primate Systems Neuroscience” was held online from November 30 to December 2, 2022, which focused on research into higher brain function using nonhuman primates as an experimental animal model. The symposium organizer was Professor Isoda of the Division of Behavioral Development, and the staff of the division was in charge of the administrative management. There were 15 speakers, 11 of whom were invited from overseas institutions (5 from the U.S., 1 from Canada, 1 from the U.K., 1 from France, 2 from Italy, and 1 from China). A total of 136 people attended, 39 of whom were overseas researchers.

Three main themes were set out this time, all of which attract increasing attention in the community: (1) sensory integration and action, (2) motivation, learning, and decision-making, and (3) social cognition. The program was organized so that the contents of each talk were serially linked in each session. The lineup was well-balanced, ranging from young PIs to distinguished PIs. All the talks were given a 10-minute Q&A period. Each session was chaired by two researchers from the Division of Behavioral Development.

Throughout the symposium, active discussions with insightful questions continued uninterruptedly. Although the symposium was held online, the venue was a great success. The symposium was significant in that it provided (1) a bird's-eye view of the results of cutting-edge research using nonhuman primate models, (2) a concrete image of future research directions in the relevant field, (3) a search for new collaboration opportunities, and (4) motivation for young researchers. Although the time difference between regions is an issue when holding an online meeting, the advantages have also become evident, that is, being able to accomplish a full-scale international scientific meeting with very little expense and a small administrative structure. The organization of international symposiums on timely themes is one of the most important missions for the National Institute for Physiological Sciences as an inter-university research institute.


The 52nd NIPS International Symposium
“Frontiers in Primate Systems Neuroscience”
November 30, 2022 - December 2, 2022
Invited speakers
Kathleen Cullen
Johns Hopkins University
Masaki Tanaka
Hokkaido University
Reza Shadmehr
Johns Hopkins University
Jeffrey Schall
York University
Tadashi Isa
Kyoto University
Ilya Monosov
Washington University School of Medicine
Okihide Hikosaka
National Institute of Health
Jacqueline Gottlieb
Columbia University
Gouki Okazawa
Institute of Neuroscience Chinese Academy of Sciences
Takanori Uka
University of Yamanashi
David Pitcher
University of York
Jerome Sallet
INSERM/University of Oxford
Taihei Ninomiya
National Institute for Physiological Sciences
Olga Dal Monte
University of Turin
Luca Bonini
University of Parma

PROGRAM

==========

Day 1 (8:00-11:50 JST, Nov 30)

8:00-8:10 Opening remarks
Junichi Nabekura (Director General, NIPS)

Session 1: Sensory Integration and Action
Chairs: Saeka Tomatsu & Taihei Ninomiya (NIPS)

8:10-8:15 Introduction
Masaki Isoda (NIPS)

8:15-8:55 Vestibular processing during natural self-motion: implications for perception and action
Kathleen Cullen, Johns Hopkins University, USA

8:55-9:35 Rhythm processing in the cerebellum and basal ganglia
Masaki Tanaka, Hokkaido University, Japan

9:45-10:25 Population coding in the cerebellum
Reza Shadmehr, Johns Hopkins University, USA

10:25-11:05 Neurocomputational mechanisms of visual search
Jeffrey Schall, York University, Canada

11:05-11:45 Role of the interhemispheric interaction for recovery after spinal cord injury
Tadashi Isa, Kyoto University, Japan

11:45-11:50 Outlook for the next session
Masaki Isoda (NIPS)

==========

Day 2 (8:00-11:40 JST, Dec 1)

Session 2: Motivation, learning and decision-making
Chairs: Atsushi Noritake & Masaki Isoda (NIPS)

8:00-8:05 Introduction
Masaki Isoda (NIPS)

8:05-8:45 The neurobiology of novelty seeking and uncertainty reduction
Ilya Monosov, Washington University School of Medicine, USA

8:45:9:25 Attentional Priority as Expected Information Gain
Jacqueline Gottlieb, Columbia University, USA

9:35-10:15　Learning by parallel neuronal circuits for motor skill
Okihide Hikosaka, National Institute of Health, USA

10:15-10:55　Decision-making mechanisms underlying context-dependent object categorization
Gouki Okazawa, Institute of Neuroscience, China

10:55-11:35　Neural mechanism of flexible decision making
Takanori Uka, University of Yamanashi, Japan

11:35-11:40　Outlook for the next session
Masaki Isoda (NIPS)

==========

Day 3 (17:00-20:40 JST, Dec 2)

Session 3: Social cognition
Chairs: Akiko Uematsu & Masaki Isoda (NIPS)

17:00-17:05　Introduction
Masaki Isoda (NIPS)

17:05-17:45　Evidence for a third visual pathway specialized for social perception
David Pitcher, University of York, UK

17:45-18:25　On the evolutionary roots of human social cognition
Jerome Sallet, National Institute of Health and Medical Research, France

18:25-19:05　Functional interactions of frontal areas in social action monitoring
Taihei Ninomiya, National Institute for Physiological Sciences, Japan

19:15-19:55　Prefrontal-amygdala circuits in primate social interaction
Olga Dal Monte, University of Turin, Italy

19:55-20:35　Beyond mirror neurons: the social affordance hypothesis
Luca Bonini, University of Parma, Italy

20:35-20:40　Concluding remarks
Masaki Isoda (NIPS)

【トレーニングコース】

第 33 回生理科学実験技術トレーニングコース

2022 年 8 月 1 日－8 月 5 日

担当：富永真琴（細胞生理研究部門）

【概要】

生理科学実験技術トレーニングコースは，今年で 33 回目を迎え，8 月 1 日（月）より 8 月 5 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：富永真琴）。生理学研究所は，分子・細胞レベルから個体行動レベルまでの各階層にわたる研究の専門性を有し，また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実験技術を普及させ，それらを使った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，新型コロナウイルス感染症の感染が拡大しつつあったため，その予防措置のため，現地開催コースは全て直前で中止とし，オンラインコースは予定通り開催した。初日の全体講演会や水曜日の全体交流会についてはオンライン開催とし，現地に来られなかった受講者にも便宜を図った。下記 22 コースの募集を行ったところ 222 名の応募があった。159 名が採択され，感染の急拡大にともなって現地参加予定だった 101 名の受講をお断りしたものの，オンラインコースの 63 名が受講された。受講者の約 7 割が大学院生・学部学生で，他は大学や企業の研究者であった。本トレーニングコースは，日本生理学会の共催として実施した。実習指導には生理研の職員を中心として，他大学からの講師も含めて，約 80 人の研究者があたった。

【実習内容】

1. In vitro 発現系を用いたイオンチャネル・受容体の機能解析
2. パッチクランプ法を用いた温度感受性 TRP チャネル解析
3. スライスパッチクランプ法を用いた神経活動・シナプス・回路解析
4. 培養細胞と組織凍結切片の蛍光免疫染色法
5. クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の単粒子構造解析
6 海馬神経初代培養法とシナプス超解像観察
7. 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
8. 最新の蛍光顕微鏡法を用いた生理機能の可視化解析
9. In vivo 4 次元心循環機能計測と心筋細胞の機能評価
10. ウイルスベクターの作製と導入遺伝子の発現観察
11. ゲノム編集による遺伝子改変動物作製のための発生工学技術
12. マウスの基本的実験手技と学習・記憶行動解析入門
13. 脳特定部位内への薬物微量注入法と摂食行動解析入門
14. 覚醒下実験動物からの神経活動記録法入門
15. 霊長類を対象としたシステム神経科学実験入門
16. SPM を用いたヒト脳の fMRI データ解析入門　(オンライン開催)
17. 脳波ダイナミクスのデータ解析入門　(オンライン開催)
18. 神経細胞の連続電子顕微鏡画像撮影と３次元再構築画像解析法
19. 生体多細胞活動計測と操作
20. 拡散強調 MRI データ解析による白質線維束分析入門　(オンライン開催)
21. フローサイトメーターによる免疫細胞の解析
22. 生体アンプ回路工作と機械工作入門

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。
https://www.nips.ac.jp/training/2022/courses.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。
https://www.nips.ac.jp/training/2022/questionnaire/TC2022Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. 発達期における可塑的な神経回路形成を担う分子機構 ― 神経発芽と神経活動依存的な遺伝子発現 ―

山本亘彦（大阪大学・大学院生命機能研究科・教授）

(2022.5.19)

脳の発達期，神経回路は外的環境の変化に応じて再編される。これまで私たちは，この可塑性を担うメカニズムを探求し，視床皮質軸索の軸索分岐が神経活動によって促進されること，それを担う分子機構の一つとして神経活動依存的に発現する Netrin-4 や BDNF が軸索分岐に対して促進的に作用することを明らかにした。次なる興味深い問題として，神経活動がどのようにして遺伝子発現をコントロールするのか，高度に発達したヒト脳において特徴的な要素があるのかと言った課題が挙げられる。これらの問題に取組むために，ヒト ES/iPS 細胞由来の大脳皮質ニューロンにおいて転写調節因子 CREB の時空間的動態を 1 分子イメージング法により解析している。その結果，CREB は神経活動に依存して，cofactor と共局在しながら特定のゲノム部位に繰り返し結合することにより，一連の遺伝子発現を制御する可能性が浮かび上がってきた。また，可塑性の別の側面として，脳損傷に伴う神経回路のリモデリングが挙げられる。その過程において新たな軸索成長，すなわち神経発芽（neural sprouting）は重要なメカニズムである。この分子機構を明らかにするために，大脳半球除去によって生ずる対側性の皮質中脳投射をモデル系として研究を行い，脱神経支配された中脳でグリア細胞由来因子が重要な役割を果たすことがわかってきた。本セミナーでは，これらの結果について報告し，可塑性を担う分子機構を総括したい。

2. Subjective Experience as Implicit Metacognition

Hakwan Lau（理研 CBS）

(2022.5.20)

The problem of consciousness concerns how we can mechanistically account for the occurrence of subjective experiences. Taking a cognitive neuroscience approach, I emphasize two functional aspects of conscious experiences. First, they present the content as reflecting the state of the world at the moment. That is, they come with what philosophers call an assertoric force, impacting on our cognition. Accordingly, we are logically inclined to believe what we experience (although we can also sometimes resist this tendency). Second, conscious content is qualitative, in the sense that without effort, we can automatically appreciate how similar an experience is with respect to all other possible experiences. Seeing red is to see it as being distinct from blue, more similar to orange than to yellow, and so on. Importantly, the relevant similarity relations concern one's own capacity to distinguish between different stimuli. As such, the qualitative content contains implicit metacognitive (i.e. self-) knowledge. I present a view in which mechanisms in the prefrontal cortex can account for both of these aspects of consciousness. On this view, subjective experiences arise when qualitative content acquires an assertoric force. This happens when such content is monitored by the relevant prefrontal mechanisms in a specific way. Unlike global workspace theory, the emphasis is on the role of implicit (i.e. automatic) self-monitoring, rather than the broadcast and amplification of signals. Accordingly, this bypasses one of the most challenging problems facing virtually all major theories of consciousness, including physics-centric and panpsychic views, which is the confounding of conscious perception with information. On the implicit metacognitive view, consciousness is not just information processing. It is a specific form of automatic and

intrinsic appreciation of the nature of one's own information processing at the moment. Therefore, not all robots are conscious, but some can be engineered to be so, at least in principle.

3. 嗅皮質の「匂い機能地図」仮説：多細胞同時記録法でみえた，亜領域ごとに異なる匂い－行動状態応答パターン → 生理研での研究妄想

谷隅勇太（生理学研究所　多細胞回路動態研究部門）

(2022.6.7)

「匂い」は食欲をそそり，経験や記憶を思い出させる刺激であり，私たちの生活を豊かにしている．しかし，匂い情報が大脳皮質に入る最初の領域である「嗅皮質」において，高次情報がどのように表象・分配されているのかは，いまだ不明である．発表者は Ph.D.取得まで，匂いを手掛かり刺激とした行動課題をラットやマウスに遂行させ，未開拓の地であった嗅皮質亜領域からニューロン活動をマルチユニット記録してきた．そして，匂い感覚皮質で行動状態変数がどのように表象されているのかを解析した．結果，各亜領域は感覚センサーとして匂い刺激自体を表象するだけでなく，匂いによって誘発された行動や，その結果得られた報酬をも表象し，まるで連続的な匂い経験がコードされているかのような現象を発見した．

本ランチセミナーではこの嗅皮質研究の概要と，最後にホログラフィック顕微鏡系を応用した感覚情報の他個体間・情報転送を実現する夢について，楽しく話します！

4. 脳構造・脳機能イメージングによる網膜疾患研究

竹村浩昌（生理学研究所　感覚認知情報研究部門）

(2022.7.8)

高齢化が進む日本社会においては，緑内障などの加齢に伴って有病率が上昇する網膜疾患への対処が今後社会的な重要課題となると考えられる。磁気共鳴(MR)装置を用いた脳イメージングは，網膜疾患症例における視覚経路の構造及び機能を非侵襲的に評価できる点で優れた手法である。本セミナーでは，脳イメージングの手法を用いてこれまで行ってきた網膜疾患症例を対象とする脳構造・脳機能イメージングの結果を紹介する。第一に，拡散強調 MRI 及び定量的 MRI を用いて，レーベル遺伝性視神経症及び緑内障症例における視覚白質線維束（視索・視放線）の微細構造特性を評価した研究について紹介する（Takemura et al., 2019; Ogawa et al., 2022)。第二に機能的 MRI を用いて，若年性黄斑変性症症例の一次視覚野における聴覚・体性感覚誘発脳活動が課題依存的であるかを評価した研究について紹介する（Masuda et al., 2021）。

5. Roles of astrocytes in regulating synapses with sleep/wake neurons: A novel mechanism for sleep homeostasis?

Kazue Semba （Dalhousie University, Halifax, Canada）

(2022.7.25)

Sleep–wake cycles are regulated by the alternate activation of sleep- and wake-promoting neurons. However, recent evidence indicates important roles of glial cells in various brain functions and behaviours. Astrocytes, for example, play important roles in regulating synaptic transmission and plasticity, including fine-tuning of glutamate transmission

through glutamate transporter-1 (GLT1). We have been investigating the role of astrocytes in regulating glutamatergic and GABAergic transmission to wake-promoting orexin (ORX) and sleep-promoting melanin-concentrating hormone (MCH) neurons in the lateral hypothalamus. Brief (6 hours) sleep deprivation bidirectionally altered the perisomatic coverage wit GLT1 in ORX and MCH neurons. In ORX neurons, a decrease in GLT1 apposition paralleled tonic presynaptic inhibition through activation of Group III mGluRs, which would promote sleep transition after sleep loss. These changes were reversed following 3 hours of ad lib sleep. One possible explanation for the GLT1 plasticity is the structural remodeling of perisynaptic astrocytic processes. To investigate this possibility, we have been using correlative light-electron microscopy with serial 3D reconstruction. Astrocytes are present at the majority of synapses to ORX neurons, at 200-400 nm from the synaptic cleft. The effect of sleep history on this distance is currently under investigation. Interestingly, a large part (~70%) of the cell bodies as well as dendrites of ORX neurons is wrapped with very thin (~100 nm) astrocytic sheets. When axon terminals approach ORX neurons, astrocytic processes move away to allow synapse formation. Collectively, these findings to date indicate that astrocytes may play an important role in regulating the activity of sleep/wake-regulatory neurons homeostatically according to the level of sleep need.

6. Large-scale functional connectomics of mouse visual cortex

Marc M. Takeno（Senior Research Associate, Allen Institute for Brain Science, Seattle, WA, USA）

(2022.7.26)

On behalf of a multi-institute team, I will present highlights from a functional connectomics dataset that combines physiology and ultrastructural anatomy in the same volume of mouse visual cortex. This dataset is the largest to date that combines functional calcium imaging and ultrastructural connectivity in the same cells. The responses of an estimated 75,000 neurons from primary visual cortex and three higher visual areas were recorded from, using calcium imaging, while the mouse viewed natural movies and parametric stimuli. Electron microscopy data of the same volume was automatically segmented, and more than 200,000 neuronal and non-neuronal cells were reconstructed, and 524 million synapses automatically identified, from the same tissue. Manual proofreading of some cells from this volume yielded complete dendritic arbors and local and inter-areal axonal projections. Of the 601 neurons that were proofread in the publicly available dataset, 78 excitatory neurons have axons and dendrites proofread to their maximal extension within the EM volume. Axon arbor length ranges from 2.5 to almost 19 mm, with a mean number of 714 synapses per axon (range: 192 – 1893). For 104 inhibitory neurons that were proofread for false merges, the number of output synapses ranged from 40 to 10,051. As an example, one completely proofread Layer 2/3 pyramidal cell has 3441 inputs and 1398 outputs identified, with 1239 synaptic partners.

The dense reconstruction and scale of the dataset allow for analysis between groups of neurons (motifs), layer-layer connectivity, and functional and anatomical analysis of feedforward and feedback connections that are not possible with other modalities and methods.

This dataset is released as an open access resource at www.microns-explorer.org with analysis tools for programmatic data access, and a web user interface to view morphologies and data.

I will also highlight aspects of method development that were crucial to producing this dataset, work in progress, and future directions for our research group using large-scale electron microscopy.

Relevant links:
https://www.microns-explorer.org/
https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.07.28.454025v2

7. 光顕と電顕アプローチを統合したショウジョウバエ全脳コネクトーム解析

伊藤　啓（ケルン大学 理学部 動物学教室）

(2022.8.9)

ショウジョウバエの脳は，脳全体で約 10 万，低次視覚中枢を除いた脳本体が片半球 2 万未満の神経細胞からなり，脳を構成するすべての神経細胞とそのネットワークの解析が現実的に可能なレベルにある。標識タンパク遺伝子をさまざまな細胞で発現させて光学顕微鏡で解析する手法では，光波長の限界で分解能が制約される反面，神経伝達物質の種類ごとに単一神経を標識したり，長大な軸索や細かな神経分枝を漏れなく標識したりすることが可能だ。一方，電顕連続切片画像から個々の神経をセグメンテーションする手法では，1 個体の標本しか解析できず，神経線維の完全なトレースが困難な反面，入力出力の個々のシナプスを高解像度で同定して詳細な神経連絡をマップできる。ハワード・ヒューズ財団ジャネリア研究所が作成した全脳電顕データを解析した 4000 種類超の新規神経細胞タイプの分類同定，光顕標識による全モノアミン神経の同定と電顕データからの相同細胞のマッチング同定と結合解析，脊索と脳を結ぶ体性感覚上行神経の同定分類解析など，我々が最近行っている研究を紹介する。

8. 自己と他者を理解する認知神経機構の解明に向けて

兼子峰明（京都大学ヒト行動進化研究センター）

(2022.8.25)

私たちは他者をどのように理解するだろうか。発達心理や神経科学分野の発展により，他者の行動理解には自己の行為生成や認識が密接に関係していることが明らかになりつつある。本セミナーでは講演者がこれまで行ってきた非ヒト霊長類を対象とした自他認知研究を紹介する。

前半では，行為に伴う自他判断における種間比較研究を紹介する。ある行為やそれに伴う結果について，自己に由来するものかあるいは他者やその他の要因に基づくものか区別することは，ヒトの重要な認知機能の一つである。

一連の研究から，非ヒト霊長類においてもヒトと共通した認知機構を有していることや，一方でヒトを特徴づける要素も明らかとなってきた。後半では，深層学習を用いた画像解析による霊長類集団行動の大規模定量化の技術を紹介する。我々の開発したシステムにより，マカクザル集団における社会関係の描出や，マーモセットが他者の内的な状態に応じて自己の対応を調整する行動の定量化に成功している。霊長類の自然な社会行動のハイスループット定量化が現実のものとなりつつある。今後，これらの知見や技術革新をもとに，自他理解の神経機構に関する細胞レベルの挙動解明や回路操作による因果的理解が発展するものと期待される。

9. ドーパミンによる連合記憶の形成メカニズムと，そのアルツハイマー病における破綻

五十嵐　啓（カリフォルニア大学アーバイン校医学部 神経・解剖学科 准教授）

(2022.9.13)

報酬信号であるドーパミンはこれまでの多くの研究から，線条体において非常に強い学習制御機能を担うことが明らかになっています。一方で，海馬・嗅内皮質を含む記憶回路において，ドーパミンがどのような役割を果たすのかは，ほとんど明らかになっていませんでした。私たちの研究室では最近，嗅内皮質のうち，外側嗅内皮質(LEC)の海馬に投射する第 2 層の神経細胞が，匂い・水報酬の連合学習において必須であり，報酬の有無を分別

する神経活動を学習中に可塑的に形成することを見出しました。さらに，この第 2 層神経細胞の可塑的な変化は，腹側被蓋野からのドーパミン入力によって制御されていることを，光遺伝学とフォトメトリー法によって明らかにしました (Lee et al., Nature, 2021)。これらの結果は，外側嗅内皮質が非空間的なタスクルールの学習に関与していること，ドーパミンが記憶領域の入り口である嗅内皮質において記憶形成を制御する強い機能を持つことを初めて明らかにしたものです。

後半では，健常動物で見出した記憶形成の回路機能が，アルツハイマー病モデルマウスにおいてどのように破綻していくのかについて，内側嗅内皮質からこれまで得られた知見と (Jun et al., Neuron 2020)，外側嗅内皮質から最近得られたデータをもとに議論いたします。

Reference:
Lee JY, Jun H, Soma S, Nakazono T, Shiraiwa K, Dasgupta A, Nakagawa T, Xie JL, Chavez J, Romo R, Yungblut Y, Hagihara M, Murata K, and Igarashi KM* (2021)
Dopamine facilitates associative memory encoding in the entorhinal cortex
Nature, 598:321-326
(https://www.nature.com/articles/s41586-021-03948-8)

Jun H, Bramian A, Soma S, Saito T, Saido TC, Igarashi KM* (2020)
Disrupted Place Cell Remapping and Impaired Grid Cells in a Knockin Model of Alzheimer's Disease
Neuron, 107:1095-1112
(https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.023)

10. Perception in context: expectations and plasticity shape the way we sense the world

Paola Binda（Department of Translational Research & NTMC, University of Pisa, Italy）

(2022.10.13)

Like most our decisions, perception combines current evidence with a priori knowledge. Based on the spatial and temporal context in which a stimulus is delivered, expectations are generated, and plastic reorganization of brain networks may be triggered. I will present experiments documenting this phenomenon using a combination of three techniques: classic psychophysics, pupillometry (the measurement of non-light driven modulations of the eye-pupil diameter), ultra-high field Magnetic Resonance Imaging. Our findings show that people vary in the extent to which perception is affected by context, and that characteristics of their perceptual performance are predictive of their cognitive styles.

11. Computational neuroimaging: from population receptive fields to canonical computations and neurotransmitters

Serge Dumoulin（Director, Spinoza Centre for Neuroimaging）

(2022.11.4)

The brain is thought to implement canonical neural computations, i.e. the same mathematical operations, in a variety of contexts. The method of population receptive fields (pRFs) allows quantitative modeling of responses to external stimuli, and has been used extensively to investigate neural computations in health and disease. Here, we build a pRF model based on divisive normalization. Divisive normalization pRF models provide a biologically-inspired, unified modeling framework for seemingly different properties of responses to spatial visual stimuli observed across the visual hierarchy. Moreover, a fundamental question is how canonical computations link to the underlying biological substrate. We shed light on this question by investigating the computational roles of neurotransmitter receptors in divisive normalization. We find significant alignment between neurotransmitter receptor densities and the divisive normalization parameters throughout the human visual

hierarchy. These results provide an algorithmic link between the brain's computational capabilities and their biological implementation. We propose that the brain employs canonical computations, and that neurotransmitter systems provide response flexibility within the framework of these canonical computations.

12. A neural circuit substrate for endocannabinoid modulation of fear state

Andrew Holmes（NIAAA, NIH, US.）

(2022.11.9)

Preclinical and clinical studies increasingly implicate endocannabinoids (eCBs) in fear extinction, but the underlying neural circuit basis of their actions is still unclear. Here, we employed a combination of in vivo optogenetics, eCB biosensor imaging, ex vivo electrophysiology and CRISPR-Cas9 gene editing to examine whether basolateral amygdala (BLA) projecting medial prefrontal cortex (mPFC) neurons represent a neural substrate for the effects of eCBs on extinction. We found that excitation of mPFC afferents during extinction mobilizes eCBs in the BLA and that BLA eCBs dynamically signal learned expectancy of shock-omission in the mPFC-BLA circuit to enable extinction, partly through actions at functional cannabinoid CB1 receptors expressed at vmPFC-BLA synapses. Our findings serve to clarify the temporal characteristics and neural circuit basis of the effects of eCBs on fear extinction, informing efforts to target the eCB system as a novel therapeutic approach in trauma, anxiety and other extinction-deficient neuropsychiatric disorders.

13. イオンチャネルを標的とした害虫防除戦略：新規昆虫忌避剤と殺虫剤増強剤の開発

佐藤翔馬（生理学研究所）

(2022.11.15)

害虫による農作物への被害や感染症の媒介は現代においても大きな問題である。殺虫剤の使用は効果が高く即効性もある一方で生態系の攪乱，人体への健康被害の懸念，殺虫剤抵抗性害虫の出現といった問題がある。昆虫忌避剤を使用することでこれらの問題を回避できるが，あまり効果が高くなく，薬剤の選択肢も非常に限られている。本研究は「昆虫忌避剤」と「殺虫剤の増強剤」の新規開発を目的として，優れたモデル生物であるキイロショウジョウバエを用いて検証を行っている。昆虫忌避剤の標的分子としては，昆虫の忌避行動を誘導する TRP チャネルに着目してその活性化剤の解析を行っている。また，殺虫剤にはイオンチャネルを標的とした薬剤が多いため，イオンチャネルの修飾作用を持つ化合物を増強剤の候補物質として注目している。本研究により，イオンチャネルの活性に注目することで昆虫忌避剤と殺虫剤増強剤の新規化合物を選定する新しい害虫防除戦略を提案する。

多数のご参加をお待ちしております。セミナーは日本語で行われます。

14. The Shape of Water: Implications for Neuroimaging

Denis Le Bihan

（NeuroSpin, CEA-Saclay, France; NIPS, Okazaki, Japan; Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan）

(2022.11.18)

Diffusion functional MRI (DfMRI) has been shown to more directly reflect neuronal activity than blood oxygenation level dependent (BOLD) MRI which is based on the neurovascular coupling principle. Based on earlier reports that water apparent

diffusion coefficient (ADC) decreases in relation to cell swelling it has been hypothesized that the decrease water diffusion observed during neural evoked responses would originate from changes occurring in a membrane bound layer of structured water molecules likely at the dendritic spine level. Interestingly, a recently introduced fMRI method (DIANA) was also shown to be directly reflecting neuronal activation and inhibition (firing of action potentials) with a very high temporal resolution through changes in water relaxation times (T2). Although the exact mechanisms remain unclear at this stage both DIANA and DfMRI point out to the important role of membrane bound water in neuronal function.

15. 共創の時代に向けた脳イメージング研究における循環型共同利用研究支援エコシステムの構築

酒井朋子（慶應義塾大学 医学部生理学教室 助教）

(2022.11.30)

近年の科学技術動向を俯瞰すると，複雑化した課題に対して，分野や国を超えた多様なステークホルダーによる解決が求められる「共創」の時代を迎えている。脳科学では，この基盤として，研究データの集約化による駆動型サイエンスを軸とした研究システムが求められている。本セミナーでは，これまでの活動として，ヒト及び非ヒト霊長類の種間比較脳イメージング研究，脳画像データベースの開発・運営，行政面での生体機能国際協力基礎研究の支援活動について紹介する。今後の抱負として，脳イメージング研究における共同利用研究の効果的な支援を目指し，（１）計算解剖学的手法による多次元脳画像分析法の開発，（２）数理モデルやリバースエンジニアリング法による脳構造機能連関分析法の開発，（３）全自動脳区解析や健常及び疾患の現況分析を可能とする知識型脳画像データベースの構築を提案する。最終的には，国内外の異分野研究者が集結できるプラットフォームを形成し，上記の技術やデータベースをフェーズに応じて有効活用できる循環型共同利用研究支援エコシステムの構築を目指す。

16. 高次認知機能，その神経基盤とそれらに影響を与える遺伝環境要因の研究

竹内　光（東北大学加齢医学研究所・准教授）

(2022.11.30)

私は「ヒトの高次認知機能がどのような神経基盤によって支えられているか，またそれらやそれらの障害にどのような要因が関係するか」というテーマを研究興味の根底にもち主に MRI を用いた研究を進めてきました。そうした中で私の研究は(1)生活介入実験による主に認知訓練による認知神経メカニズムの可塑性の解明，(2)自ら PI としてデータを収集した若年成人の横断データベースを用いた高次認知機能の神経基盤，それらの遺伝的要因との関連，それらの生活習慣環境要因との関連の解明(3)共同 PI としてデータを収集した小児の縦断データベースによる生活習慣の認知神経メカニズムの発達との関連の解明，(4)公開データベースである UK biobank を用いた生活習慣と認知神経メカニズムの老化や高齢神経疾患のリスクとの関連の解明に大別できます。こうした研究を通じて私は創造性を始めとする広範高じ認知機能の神経基盤を明らかにし我々の認知神経メカニズムが様々な高次認知機能の使用，神経精神疾患リスクと関連する遺伝的要因，栄養などの要因と関連していることを明らかにしました。

17. ７テスラ超高磁場 MRI による脳イメージング

福永雅喜（自然科学研究機構 生理学研究所 心理生理学研究部門 准教授）

(2022.12.1)

磁気共鳴画像法(MRI)は，非侵襲的に生体深部の観察が可能で, 形態のみならず機能的情報や神経伝達物質の局所濃度などを提供する。MRI による生体計測は, 装置要因である空間分解能，信号雑音比(感度)とともに，組織由来の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。近年，実用化が進む超高磁場 MRI(>７テスラ)では，これらのパラメータがいずれも上昇するが, 従来装置で問題とならない事項への対策も必要となる。本セミナーでは，７テスラ MRI において演者がこれまでに取り組んだ各種計測法や補正法の開発と, それらを応用したヒト脳の高分解能計測，および最近進めているレイヤーfMRI とマカクサル fMRI について紹介する。また，演者が計測，解析で参加する精神科疾患の多施設共同脳 MRI 研究における成果とともに, 神経科学研究における基盤技術としての MRI の今後の展開について議論したい。

18. 神経-免疫連関による組織特異的炎症誘導機構：ゲートウェイ反射

長谷部理絵（生理学研究所 分子神経免疫研究部門）

(2022.12.26)

ゲートウェイ (G) 反射は, 2012 年に発見された神経-免疫連関の新たな分子機構である。自己反応性 T 細胞が血中に増加している状態で，環境刺激・人為的刺激を受けると，特異的神経回路が活性化し，標的臓器の特定血管近傍にノルアドレナリンが分泌され，特定血管内皮細胞で，STAT3 と NFkB の同時活性化により NFkB が過剰活性化する IL-6 アンプが誘導される。その結果，ケモカイン・サイトカインの過剰産生が起こり，自己反応性 T 細胞を含む免疫細胞の侵入口である「血管ゲート」が形成され，血管周囲に微小炎症が誘導される。その後の１０年間で重力，電気刺激，痛み，ストレス，光，関節内炎症の６つの刺激を介する G 反射を発見できた。最近のストレス G 反射と遠隔炎症 G 反射では，微小炎症部位で局所産生された ATP が神経伝達物質として機能し，特異的神経回路の活性化を介して投射先の臓器で炎症や組織機能不全を誘導する。本セミナーでは，G 反射の概要とストレス G 反射・遠隔炎症 G 反射を中心に紹介する。

19. Mechanisms underlying AMPA receptor activation and modulation

Ingo Greger（Programme Leader, Neurobiology Division , MRC, Cambridge, UK）

(2023.1.12)

AMPA glutamate receptors (AMPARs) mediate fast excitatory neurotransmission throughout the brain, and are central players in various forms of synaptic plasticity that underlies learning. In addition to four core subunits (GluA1-4), an array of auxiliary subunits render AMPAR response properties uniquely versatile, tuned to the needs of a given circuitry. These assemble with the receptor core in various stoichiometries, and in a brain-region specific fashion.

Recent cryo-EM structural data, combined with functional studies, have started to shed light on the arrangement of both, core and auxiliary subunits. Hence, despite tremendous versatility, unique to AMPA-type glutamate receptors, organizing principles are beginning to emerge. This information will ultimately allow us to decipher the activation mechanisms underlying synaptic AMPAR responses. In this talk I will discuss our current understanding of AMPAR organization, the differential action of core subunits (GluA1 versus GluA2), and recent insights into its modulation by prominent auxiliary

subunits at the level of the receptor and at the synapse.

20. ブレイン・コンピュータ・インターフェースを用いた運動訓練が誘導するヒト体性感覚運動野への修飾効果の検証

土元翔平（生理学研究所・システム脳科学研究領域・心理生理学研究部門・日本学術振興会特別研究員）

(2023.1.13)

ヒトの随意運動は，大脳皮質体性感覚運動野より発せられる運動指令が脊髄運動ニューロンに伝達され，筋収縮を引き起こすことで発現する。この下行路が脳卒中によって組織損傷すると，充分な筋収縮が誘導できずに片麻痺状態となり，長年にわたって重篤な生活阻害をもたらすことが知られている。これまでに，ロボティクスを用いた運動介助や麻痺筋への電気刺激などの様々な治療介入手法が提案されてきたが，いずれも手指運動機能の回復には確定的効果が認められておらず，新たな治療介入方法とその背後にある神経機構の解明が求められる。ブレイン・コンピュータ・インターフェース（Brain-Computer Interface, BCI）は，頭皮上に貼付した金属電極から導出される脳波を用いて，片麻痺の治療標的脳領域である大脳皮質体性感覚運動野の興奮性を実時間に読み出し，その興奮性に応じた状態フィードバックをロボティクスや電気刺激を通じて麻痺手指に与える新規な治療介入手法である。国内外でおこなわれた複数の臨床試験によって BCI の臨床有効性は示されてきたものの，中枢神経作用性については不明であった。そこで本発表では磁気共鳴画像法を用いて，BCI が検出する運動関連脳波の活動相関脳領域を同定するとともに，BCI 単回介入による脳活動修飾効果を検討した。

21. 反復経頭蓋磁気刺激の作用機序の解明と霊長類認知・情動機能研究への応用

中村晋也（東北大学・大学院生命科学研究科・脳神経システム分野）

(2023.1.13)

非侵襲的な脳刺激法である経頭蓋磁気刺激（TMS），とくにその反復刺激（rTMS）は，刺激された脳領域の機能の促進や抑制が可能なことから，臨床治療や認知科学実験の有用なツールとして広く用いられている。私はこれまでに，本手法をサルに適用し，rTMS の作用機序を探る基礎実験や，認知神経科学的実験を行ってきたので，それらの成果を紹介したい。まず，rTMS の作用機序を探るために，サル一次運動野（M1）への異なる刺激頻度の rTMS が，硬膜下皮質表面電位（ECoG）や M1 への単発 TMS による誘発筋電図（MEP）に与える影響の違いを調べる実験を行った。その結果，高頻度 rTMS によって，MEP の振幅の増大に伴う ECoG の γ 帯域パワーの増加が，低頻度 rTMS によって，MEP の振幅の減弱に伴う β 帯域パワーの低下が認められたことから，rTMS による脳機能の促進と抑制作用には異なる神経メカニズムが関与していることが示唆された。また，TMS/rTMS を用いて，サル大脳皮質の認知・情動機能に関する行動実験を行った。遅延反応課題を用いてサルの作業記憶能を調べた実験では，前頭前野背外側部と運動前野が，それぞれ視空間と視覚運動性の作業記憶に関与していることを示す結果が得られている。また，内側前頭皮質の気分・情動調節機能を調べた実験では，その腹側部への低頻度 rTMS により，サルが抑うつ状態に陥ることを示した。

22. Action and perception in human learning

Sophia Vinci-Booher（Vanderbilt University, USA）

(2023.1.24)

Early childhood experiences form a critical bedrock from which future learning is accomplished, yet we lack a comprehensive explanation of how these early experiences scaffold future learning and affect long-term educational outcomes. My research is uncovering the mechanisms through which experience affects future learning by investigating how experiences that integrate action and perception are processed and recorded in the brain during learning and development. In this talk, I will provide an account of the neural mechanisms by which production tasks, such as handwriting and drawing, facilitate the learning of foundational literacy skills in early childhood and develop into important tools for learning throughout adolescence and adulthood. The account highlights the short and long-term relationships among production tasks, brain function and structure, and emerging literacy skills and opens new avenues of research concerning the impact of early childhood experiences on individual differences in learning and the progression and mitigation of developmental disorders.

23. 温度感受性 TRPM2 の体温下活性調節メカニズムと生理機能

加塩麻紀子（生理学研究所 細胞生理研究部門）

(2023.1.26)

Transient receptor potential (TRP) チャネルは，外部環境に存在する物質に加え生体内の内因性物質など多刺激に応答するイオンチャネルであり，なかでも温度による活性化を受ける温度感受性 TRP チャネルの存在を特徴とする。温度感受性 TRP チャネルのひとつである TRPM2（M; Melastatin）は体温域の温度に感受性を持つが，その発現部位の多くは温度変化の少ない深部組織・細胞であることから，体温下 TRPM2 活性が適切に調節されることで，その生理機能を果たしていると考えられる。本セミナーでは，TRPM2 活性化を可能とする温度（活性化温度閾値）が活性酸素，内因性リガンド，細胞内 Ca^{2+}，TRPM2 リン酸化といった多因子により調節される分子メカニズムと，体温下 TRPM2 活性が関わる生理機能について紹介する。

24. 大脳皮質一次視覚野 6b 層ニューロンの視覚応答選択性と経験依存的な可塑性

米田泰輔（生理学研究所，視覚情報処理研究部門，特任助教）

(2023.2.10.)

大脳皮質発生の最初期に誕生するサブプレートニューロンは，出生前後の時期に視床軸索投射をガイドした後，その多くは細胞死によって消失する。生き残ったサブプレートニューロンは大脳皮質 6b 層に位置し，成熟脳の神経回路に組み込まれる。この 6b 層ニューロンは，感覚野においては感覚応答を示すことや，嗅内野では空間記憶に関与することが示唆されている。しかしながら，6b 層は大脳皮質最深部にあり，細胞数が少なく，しかもヘテロな細胞集団によって構成されているため，その機能や可塑的変化はほとんど明らかにされていない。

我々は生後 3-4 週齢の感受性期マウス一次視覚野において，2 光子励起カルシウムイメージングと，サブプレートニューロンマーカーを用いた抗体染色と組織透明化を組み合わせることで，6b 層ニューロンサブタイプを同定したうえで，視覚応答を記録する実験系を最適化した。6b 層ニューロンの視覚応答を解析したところ，成熟マウスにおける先行研究と一致して，ブロードな方位選択性を示した。また 6b 層ニューロンは高い空間周波数に応答し，ブロードな選択性のチューニングを示した。6b 層のニューロンサブタイプごとに解析したところ，ブロー

ドな方位・空間周波数選択性はサブタイプで共通していたが，最適空間周波数はサブタイプに依存した違いがみられた。さらに同一の 6b 層ニューロンからの繰り返しイメージングによって，このニューロンが視覚経験依存的な可塑性を示すことを見出した。サブプレートニューロンには安定した視覚応答を示す細胞集団と，顕著な可塑性を示す集団が存在した。

これらの結果は，生後の大脳皮質に生き残ったサブプレートニューロンは経験依存的可塑性によって機能が調節され，大脳皮質の他の層のニューロンと協調して視覚情報処理に関与することを示唆する。

25. Structural mappings of visual regions combining MRI and histological data in humans and macaques

大石浩輝（カリフォルニア大学）

(2023.2.16)

Anatomical microarchitectures (e.g. cytoarchitecture) and functional organizations are heterogeneous across the brain, but the extent to which these anatomical and functional properties are tightly coupled remains unknown. In this talk, I will present our two studies that address this question in cortical and subcortical regions by combining structural MRI, functional MRI and histological data analyses. In the first study, we evaluated anatomical and functional differences between the human lateral geniculate nucleus (LGN) subdivisions (magnocellular and parvocellular) using structural and functional MRI and found that these differences are coupled in the LGN. Based on this, we demonstrated that approximate positions of the LGN subdivisions can be estimated in the living human brain by using non-invasive neuroimaging. In the second study, we investigated the anatomical microarchitecture of face patches, which are a network of cortical regions selectively responsive to images of faces. By developing a method to integrate fMRI and histological data acquired from the same brains, we investigated how the anatomical microarchitecture differs between face patches.

26. 運動学習に伴う大脳皮質一次運動野の神経回路リモデリング

窪田芳之（生理学研究所　脳機能・計測支援センター電子顕微鏡室）

(2023.2.22)

練習により運動は上達する。前肢を用いた種掴み運動学習時に大脳皮質一次運動野（M1）で生じる神経回路の変化を観察するため，マウスの M1 直上に生体脳観察窓を作成し２光子顕微鏡で観察した。学習期間中，５層錐体路細胞のタフト樹状突起に棘突起新生を数多く認めた。学習初期（day1 – day4）には，より運動が上達したマウスほど多く，その６割は皮質二次運動野（M2）からのシナプス入力があることを post-hoc 免疫組織化学法で示した。一方，学習の後期（day5 – day8）になると，新生棘突起の８割は消失する。残存新生棘突起の大半は視床-皮質神経終末入力を受けることを明らかにした。さらに，M2 や視床から M1 へ投射する神経細胞の活動を化学遺伝学的手法で抑制し，機能的意義を検証した結果，M2-M1 神経路は「運動学習」に重要な役割を担う一方，体得した「運動記憶」は視床-M1 神経路に引き継がれることがわかった。

27. Principles in paracellular transport physiology and new insights from isolated perfused kidney tubule experiments

Markus Bleich（Department of Physiology, Christian-Albrechts-University, Kiel, Germany）

(2023.2.24)

Epithelial transport of ions and water is a prerequisite for whole body homeostasis. Any type of function, from systemic blood pressure control to cell excitability, requires the respective volume and its ion composition. The kidney tubular epithelium comprises the highest transport rates, followed by exocrine glands and the gastrointestinal tract. As ion transport consumes energy in a direct (pumps) or indirect (channels and carriers) fashion, evolution of the most cost-effective transport mechanism resulted in the combined use of transcellular and paracellular transport. Both transport pathways influence each other and are powered by electrochemical and osmotic gradients across the epithelium. The paracellular pathway is controlled by multi-protein complexes with claudin proteins as the key determinants of tight junction properties. These properties cover the whole range from barrier to conductivity and normally show ion selectivity. Also, epithelial water permeation depends completely on the composition of the tight junction and the adjacent cell membranes. The thick ascending limb of Henle is water tight, shows very high rates of NaCl transport and plays a key role in reabsorption of divalent cations. We have investigated this segment in detail by in vitro perfusion, imaging techniques, and molecular analysis. The data from control mice, claudin-10b conditional knockout and claudin-16 knockout mice help to decipher a more detailed understanding of TAL transport processes and the respective human disease in case of claudin mutations.

28. Psychiatric disorders: perturbed brain development and circuit maturation revealed by single-cell omics

Konstantin Khodosevich（University of Copenhagen）

(2023.3.1)

Brain development is a tremendously complex process in which a myriad of neuronal and non-neuronal cell types is generated and assembled into functional circuits in a highly organized manner. Many psychiatric disorders arise when developmental processes are perturbed by various genetic and environmental factors. Given high cellular diversity in the brain, for most psychiatric disorders, we are still far from understanding how they arise and what types of neurons and circuits underlie functional impairments in psychiatric disorders. Recent technological advance in single-cell analysis allowed us to address how psychiatric risk factors perturb brain development at single-cell resolution. In my presentation, I will show recently published and unpublished data from my lab, where we implemented single-cell analysis to identify how neuronal subtypes and their networks are perturbed during brain development, followed up by functional experiments to validate single-cell data.

References:

https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abn8367
http://www.nature.com/articles/s41380-019-0539-5
https://www.nature.com/articles/s41467-020-18752-7

Recent review:

https://www.nature.com/articles/s41380-022-01876-1

29. Thalamocortically evoked 400-Hz "ripplets" in mouse barrel cortex

Aric Agmon（Professor, Department of Neuroscience, West Virginia University, USA）

(2023.3.7)

Oscillations of extracellular voltage, reflecting synchronous rhythmic activity in large populations of neurons, are a ubiquitous feature in the mammalian brain and are thought to subserve critical, if not fully understood cognitive functions. Oscillations at different frequency bands are hallmarks of specific brain or behavioral states. At the higher end of the scale, ultrafast (400-600 Hz) oscillations in the somatosensory cortex, in response to peripheral stimulation, were previously observed in human and a handful of animal studies; however, their synaptic basis and functional significance remain largely unexplored. Here we report that brief optogenetic activation of thalamocortical axons, in brain slices from mouse somatosensory (barrel) cortex, elicited in the thalamorecipient layer local field potential (LFP) oscillations (“ripplets”) consisting of a sequence of precisely reproducible negative transients at ~400 Hz. Fast-spiking (FS) inhibitory interneurons fired ~400 Hz spike bursts entrained but in antiphase to the LFP oscillation, while regular-spiking (RS) excitatory neurons fired only 1-2 spikes per ripplet and nearly 180 degrees out of phase with FS spikes. During a ripplet, RS cells received synchronous, precisely repeating sequences of alternating excitatory and inhibitory postsynaptic currents phase-locked to the LFP oscillation, suggesting that ripplets were generated by a chain of excitatory spike volleys synchronized by volleys of IPSPs. We suggest that ripplets are a ubiquitous cortical response to a brief, highly synchronous and exceptionally salient sensory stimulus, and could provide increased bandwidth for encoding and transmitting sensory information.

30. 生理研で学んだ７つの大切なこと

山肩葉子（生理学研究所　多階層生理機能解析室）

(2023.3.8)

私は 1991 年に留学中の米国ロックフェラー大学から，生理学研究所神経化学研究部門（小幡邦彦教授）に赴任しました。それまでの研究を継続・発展させようと，リン酸化による修飾，とくにカルシウム・カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（CaMKII）による蛋白質リン酸化が脳機能に及ぼす影響について研究を行いました。また, 柳川右千夫助教授（当時）の協力を得て, CaMKII のリン酸化活性のみを不活性化したノックインマウスの作出に成功しました。その後，神経シグナル研究部門（井本敬二教授）に異動し，このマウスの行動を多角的に解析しました。現在では，この経験を元に多階層生理機能解析室（西島和俊教授）で，共同利用研究の方々と共に，様々なマウスの行動解析を行なっています。

今年 3 月末で定年退職を迎えるにあたり，生理研での研究生活を振り返ってみたいと思います。

31. 変異ウイルスにも対応できるメモリーB 細胞多様性を生み出すメカニズム

黒﨑知博（大阪大学ＷＰＩ免疫学フロンティア研究センター 教授）

(2023.3.16)

液性免疫システムでは，長期生存プラズマ(LLPC)細胞とメモリーB 細胞という 2 つの記憶細胞コンポーネントが存在するが従来メモリーB 細胞は単に LLPC 細胞のバックアップと考えられていた。

私たちの結果は決してそんなことはなく，メモリーB 細胞が，感染防御上，ユニークな役割を有していること。又，そのユニークな役割を遂行するために，メモリーB 細胞抗体の多様性を担保するメカニズムが，その生成過

程に埋め込められていることを見つけた。

32. 大脳基底核，わかったこと，わからないこと

南部　篤（生理学研究所　生体システム研究部門）

(2023.3.25)

南部　篤教授が 2023 年 3 月 31 日をもって，生理学研究所教授を退職されます。

南部　篤先生は 2002 年 11 月に生理学研究所（生理研）に教授として着任され，生体システム研究部門を主宰するとともに，生理研副所長（2019 年度から 2021 年度），研究総主幹（2022 年度）を務め，生理研の運営に尽力されました。

南部　篤先生は 1982 年に京都大学医学部を卒業された後，同大学院に進学され，京都大学医学部助手，米国ニューヨーク大学医学部博士研究員，生理研助教授，東京都神経科学総合研究所副参事研究員を経て生理研教授に就任されました。この間，現在に至るまで一貫して「大脳基底核の運動制御機構」の解明に情熱を注ぎ続け，世界に先駆けた研究を進めてこられました。

そこで今回，南部　篤教授の退職を記念し，生体システム研究部門公開セミナーを開催し，これまでの研究について講演を行っていただきます。

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 250 回（2022.5.11）※WEB 配信
   演者：システム脳科学研究領域 心理生理学研究部門　定藤規弘　教授
   演題：社会能力の神経基盤：機能イメージングによるアプローチ

2. 第 251 回（2022.6.8）※WEB 配信
   演者：行動・代謝分子解析センター ウィルスベクター開発室　小林憲太　准教授
   演題：脳機能解析のための遺伝子改変技術

3. 第 252 回（2022.7.6）※WEB 配信
   演者：分子細胞生理研究領域 神経機能素子　久保義弘　教授
   演題：イオンチャネルの構造と機能の動的側面

4. 第 253 回（2022.8.10）※WEB 配信
   演者：基盤神経科学研究領域 視覚情報処理研究部門　吉村由美子　教授
   演題：大脳皮質視覚野の機能と発達

5. 第 254 回（2022.10.26）※WEB 配信
   演者：システム脳科学研究領域 心理生理学研究部門　福永雅喜　准教授
   演題：超高磁場 MRI を用いた生体脳構造･機能の解析

6. 第 255 回（2022.11.9）※WEB 配信
   演者：生体機能調節研究領域 細胞構造研究部門　泉　裕士　准教授
   演題：細胞間隙バリアと上皮ホメオスタシス-ショウジョウバエ腸管をモデルとした研究から

7. 第 256 回（2022.12.7）※WEB 配信
   演者：分子細胞生理研究領域 生体分子構造研究部門　村田和義　特任教授
   演題：タンパク質の構造と機能、および構造解析手法

8. 第 257 回（2023.1.11）※WEB 配信
   演者：生体機能調節研究領域 細胞生理研究部門　加塩麻紀子　特任准教授
   演題：イオンチャネルによる感覚受容の分子基盤と生理機能

生理学研究所年報　第４４巻

発　　行　　2023 年 12 月 25 日
編 集 者　　北 城 圭 一
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:https://www.nips.ac.jp/
編集協力　　株式会社　エニウェイ
〒170-0013　東京都豊島区東池袋 2-31-14
Reveur 101
電話〈03〉3988-5656