自 然 科 学 研 究 機 構

生理学研究所年報

第38巻

2017

（2016年度業務報告書）

はじめに

生理学研究所年報第38巻をここに刊行し，2016（平成28）年度における大学共同利用機関としての生理学研究所の事業活動，研究成果を報告させていただきます。

生理学研究所は，1977年5月に開設され，2004年4月の法人化により大学共同利用機関法人自然科学研究機構を構成する研究機関となり現在に至っています。その間，生理学研究所はいくつかの組織改編を行いながら，「人体基礎生理学の研究と研究者育成のための大学共同利用機関」としての役割を果してきました。2016年度におきましても，コミュニティ研究者の皆様のご協力と，所員一同の努力によって，多数（166件；法人化以前の約2倍）の共同研究・共同利用実験を行いつつ大きな成果をあげることができたものと思います。今後とも研究レベルの向上と大学共同利用機関としての更なる機能強化に努力していく所存であり，関係者各位の評価を仰ぐ次第であります。

生理学研究所の第１の使命は，人のからだと脳の働き，そしてそれらの仕組みについて，世界トップレベルの研究を進めることです。2015 年度は論文数が減少していましたが，2016 年度はほぼ例年並みの 143 編の原著論文・英文総説を発表することができました。その内，およそ 3 割がインパクトファクター値 5.0 以上を持つ雑誌に掲載されています。第２の使命は，このような世界トップレベルの研究を基礎にして，全国の研究者コミュニティの方々との共同利用実験・共同研究を進め，わが国の大学の研究力強化に貢献するということです。2016 年度は，「一般共同研究」39 件，「計画共同研究」62 件，超高圧電子顕微鏡，機能的磁気共鳴画像装置（fMRI），脳磁計（MEG）を供しての「共同利用実験」31 件，「研究会」20 件，「国際シンポジウム」1 件，「国際研究集会」2 件の事業を進め，国内外から多数の研究者の方々にご参加いただくことができました。また自動切削装置内蔵型走査型電子顕微鏡（3D-SEM）の共同利用や遺伝子導入用ウイルスベクターの供給など，研究者コミュニティの要望に応える研究手法・研究リソースの提供を共同利用・共同研究として実施いたしました。本研究所の第３の使命は，若手研究者を育成することにあります。総合研究大学院大学（総研大）の基盤機関として大学院生の指導にあたると共に，全国からの多数の大学院生を受託する形で指導もしています。更には，生理科学実験技術トレーニングコースを開催し，全国から 100 名以上の若手研究者・院生・学生を受け入れて教育すると共に，分野をまたぐ若手脳科学研究者の育成のための異分野連携的脳科学に関する「生理学研究所 異分野融合脳科学トレーニング＆レクチャー」を開催しました。加えて，「せいりけん市民講座」開催や出前授業やその他講演会 10 回の開催など，多種の情報発信活動も研究力強化戦略室が中心となって行ってまいりました。

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

2017 年 8 月

生理学研究所　所長　井本敬二

生理学研究所年報

〔 目　　次 〕

職　員（2016 年度）…… i

研究活動報告

分子細胞生理研究領域…… 11
生体機能調節研究領域…… 22
基盤神経科学研究領域…… 30
システム脳科学研究領域…… 38
個 別 研 究…… 57
研究連携センター…… 60
脳機能計測・支援センター…… 63
行動・代謝分子解析センター…… 68
岡崎統合バイオサイエンスセンター…… 74
動物実験センター…… 76
技　術　課…… 80

研 究 発 表

ａ．発 表 論 文…… 99
ｂ．学 会 発 表…… 117

一般共同研究報告…… 149

計画共同研究報告…… 177

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告…… 221

生体機能イメージング共同利用実験報告…… 233

研究会報告…… 257

国際研究集会…… 461

行 動 様 式…… 501

特別プロジェクト…… 509

各種シンポジウム

2016（平成 28）年度生理研国際シンポジウム…… 513

トレーニングコース

第 27 回生理科学実験技術トレーニングコース…… 519

セミナー報告…… 523

大学院特別講義…… 553

職員（2016年度）

所　　長　井本啓二

【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
特任助教	陳　以珊
NIPS リサーチフェロー	粂　慎一郎（2016.10.1～）
大学院生	粂　慎一郎（～2016.9.30）
〃	ANDRIANI, Rizki Tsari
技術支援員	内藤知津江

分子神経生理研究部門

教　　授	池中一裕
特任准教教	大野伸彦（2016.4.1～）
助　　教	清水健史
〃	吉村　武（～2016.11.30）
NIPS リサーチフェロー	長内康幸
〃	國澤和生（2016.12.16～2017.3.31）
生理研研究員	半田（鳴海）麻衣
〃	國澤和生（2016.4.1～2016.12.15）
大学院生	李　佳益
〃	菊地原沙織（～2017.3.31）
技術支援員	田口理恵
〃	赤坂英里子
事務支援員	田中真由美

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
大学院生	宮崎裕理
技術支援員	鈴木由美
〃	渡邊聖愛
〃	古川佐千子（2016.11.1～）

神経細胞構築研究部門

客員教授	瀬藤光利

神経発達・再生機構研究部門

客員教授	澤本和延（2016.4.1～）

【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
特任助教	菅原太一
技術支援員	渡邉美香
〃	古瀬京子
〃	鈴木則子（2016.5.1～）
〃	今井篤子（2016.10.1～）

細胞生理研究部門

教　　授	富永真琴
准教授	曽我部隆彰（2017.3.1～）
特任准教授	岡田俊昭
助　　教	鈴木喜郎
〃	齋藤　茂
〃	内田邦敏（～2016.6.30）
特任助教	高山靖規
NIPS リサーチフェロー	DEROUICHE, Sandra
生理研研究員	橘髙裕貴（～2017.1.31）
研究員	孫　武平（～2016.9.30）
〃	ISLAM, Md. Rafiqul
〃	齋藤くれあ
〃	GUPTA, Rupali（2016.10.1～2017.3.31）
大学院生	GUPTA, Rupali（～2016.9.30）
〃	KURGANOV, Erkin（～2017.3.31）
〃	山野井　遊
〃	李　天邦
〃	馮　暁娜（2016.10.1～）
特別共同利用研究員	藤山雄一（～2016.8.31）
技術支援員	福岡慶子
〃	重本久実
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

助　　教　冨　田　拓　郎
特任助教　西　村　明　幸
NIPS リサーチフェロー　伊　藤　智　哉（～2016.8.31）
特別共同利用研究員　島　内　　司（～2017.3.31）
大学院生　小　田　紗矢香（2016.4.1～）
技術支援員　藤　森　仁　美
〃　下　田　　翔（2016.4.1～2017.3.31）
事務支援員　中　西　綾　乃

生殖・内分泌系発達機構研究部門

教　　授　箕　越　靖　彦
助　　教　岡　本　士　毅（～2016.12.31）
NIPS リサーチフェロー　横　田　繁　史（～2017.3.31）
研　究　員　佐　藤　達　也（2016.4.1～2016.12.31）
研　究　生　MOUSA, Abdelazeem Abuelwafa Shimaa（2016.6.1～2016.12.31）
大学院生　MOHAMED ASGAR, Nur Farehan（～2016.9.30）
技術支援員　林　　めぐみ

【基盤神経科学研究領域】

神経シグナル研究部門

准教授　古　江　秀　昌
助　　教　佐　竹　伸一郎
〃　山　肩　葉　子
特別共同利用研究員　山　田　彬　博（～2017.3.31）
〃　中　川　達　貴（2016.5.1～2017.3.31）
共同研究員　御　領　憲　治（2016.5.23～2017.2.22）
技術支援員　田　中　美　穂
〃　中　村　亜由美

大脳神経回路論研究部門

教　　授　川　口　泰　雄
准教授　窪　田　芳　之
助　　教　大　塚　　岳
〃　森　島　美絵子
NIPS リサーチフェロー　孫　　在　隣（2016.5.1～2017.3.31）
生理研研究員（外国人研究職員）
ALSAYED, Alsayed Abdelhamid Mohamed（2016.6.27～2016.12.28）
研　究　員　畠　中　由美子（～2017.3.31）
〃　孫　　在　隣（2016.4.1～2016.4.30）
〃　ALSAYED, Alsayed Abdelhamid Mohamed（2017.1.1～2017.3.31）
〃　AGAHARI, Fransiscus Adrian（2016.12.1～）
大学院生　任　　翔　壎（2016.4.1～）
技術支援員　犬　塚　小百合
〃　北　　啓　子
〃　服　部　宣　子（～2017.3.31）
〃　兵　藤　智栄美
〃　渡　邉　晴　子
〃　江　川　尚　美

生体恒常性発達研究部門

教　　授　鍋　倉　淳　一
教　　授（兼任）　和　氣　弘　明（2016.4.1～2017.3.31）
助　　教　江　藤　　圭（2016.4.1～）
特任助教　稲　田　浩　之
NIPS リサーチフェロー　堀　内　　浩
研　究　員　宮　本　愛喜子（～2016.8.31）
〃　竹　田　育　子（2016.4.1～）
特別協力研究員　加　藤　大　輔（2016.4.1～2017.3.31）
日本学術振興会特別研究員　中　畑　義　久（～2017.3.31）
大学院生　中　村　佳　代（～2017.3.31）
〃　穐　吉　亮　平（～2017.3.31）
〃　戸　田　拓　弥（～2017.3.31）
〃　春　若　航一路
技術支援員　大　場　多津子
〃　市　橋　結　貴
〃　石　田　順　子
〃　小　林　知　子
〃　戸　山　　彩
〃　蜂須賀　由香里
事務支援員　小　林　文　絵

視覚情報処理研究部門

教　　授　吉　村　由美子
助　　教　石　川　理　子
特任助教　宮　下　俊　雄
〃　木　村　梨　絵

NIPS リサーチフェロー	山　浦　　洋（～2017.3.31）
大 学 院 生	山　本　真理子
〃	唐　木　智　充
技術支援員	石　神　久美子
事務支援員	比　賀　昌　子

【システム脳科学研究領域】

感覚認知情報研究部門

教　　授	小　松　英　彦
助　　教	郷　田　直　一
〃	横　井　　功
特 任 助 教	眞　田　尚　久
研　究　員	西　尾　亜希子
〃	馬　場　美　香
技術支援員	太　田　知　宏
〃	庭　木　由　紀
〃	澤　　栄　恵

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
助　　教	吉　田　正　俊
〃	二　宮　太　平（2016.8.1～）
研　究　員	山　根　　到（～2016.6.30）
〃	加　藤　利佳子（～2016.6.30）
〃	笠　井　昌　俊（～2016.6.30）
〃	石　野　誠　也（～2016.6.30）
〃	高　桑　徳　宏（～2016.6.30）
日本学術振興会外国人特別研究員	VEALE, Richard Edmund（～2016.6.30）
〃	MATROV, Denis（～2016.6.30）
大 学 院 生	鈴　木　迪　諒
〃	西　原　陽　子
〃	辻　本　憲　吾
〃	St.CLAIR, Griffin Thomas
〃	山　本　勇　祐
特任専門員	伊　佐　かおる（～2016.6.30）
〃	柴　田　あゆみ
〃	嶋　田　ゆ　う（～2016.9.30）
技術支援員	高　田　和　子
〃	山　西　ユ　ミ
〃	高　橋　伸　明（～2016.6.30）
技術支援員	山　崎　瞳　子（～2016.6.30）
〃	桑　原　寿　江（～2016.6.30）

生体システム研究部門

教　　授	南　部　　篤
助　　教	畑　中　伸　彦
〃	知　見　聡　美
〃	佐　野　裕　美（2016.4.1～）
特 任 助 教	近　藤　秀　樹
NIPS リサーチフェロー	金　子　将　也（～2016.4.30）
研　究　員	纐　纈　大　輔（2016.4.1～）
〃	長谷川　　拓
〃	DARBIN, Olivier Eric（2016.5.6～2016.12.30）
〃	WANG, Tsui-Chin（～2017.3.31）
〃	DWI WAHYU, Indriani（2016.4.1～）
大 学 院 生	若　林　正　浩
〃	WONGMASSANG, Woranan
〃	POLYAKOVA, Zlata（2016.10.1～）
技術支援員	磯　谷　ひとみ
〃	後　藤　美　穂
〃	鈴　木　規　子

統合生理研究部門

教　　授	柿　木　隆　介
准　教　授	乾　　幸　二（～2016.12.1）
〃	岡　本　秀　彦（～2017.3.31）
特任准教授	木　田　哲　夫
助教（併任）	坂　本　貴和子（2016.4.1～）
特任助教（併任）	坂　本　貴和子（～2016.3.31）
NIPS リサーチフェロー	小　林　　恵（2016.10.1～）
特別訪問研究員	本　多　結城子
技術支援員	廣　岡　裕　子

心理生理学研究部門

教　　授	定　藤　規　弘
准　教　授	福　永　雅　喜
客員准教授	廣　谷　昌　子（2016.4.1～2016.8.31）
助　　教	北　田　　亮（～2016.12.31）
特 任 助 教	原　田　宗　子（～2016.11.30）
〃	小　池　耕　彦
研　究　員	當　山　峰　道（2016.4.1～）
〃	山　本　哲　也（2016.4.1～）
〃	宮　田　紘　平（2016.4.16～）

日本学術振興会特別研究員
間　野　陽　子（2016.10.1～）
大 学 院 生　濱　野　友　希
〃　青　木　直　哉（～2017.3.31）
〃　角　谷　基　文（～2017.3.31）
〃　吉　本　隆　明
〃　川　部　恭　裕（2016.4.1～2017.3.31）
〃　西　東　倫太朗（2016.4.1～）
〃　谷　川　　翼（2016.4.1～2017.3.31）
特任専門員　木　村　玲　子
技術支援員　竹　中　邦　子
〃　岩　瀬　　恵

【個 別 研 究】

個別研究（村上研究室）
准　教　授　村　上　政　隆（～2017.3.31）
特別協力研究員　古　家　園　子（～2017.3.31）

個別研究（大橋研究室）
助　　教　大　橋　正　人

個別研究（毛利研究室）
助　　教　毛　利　達　磨

【研究連携センター】

センター長（併任）久　保　義　弘（2016.4.1～）

共同利用研究推進室
教　　授（併任）久　保　義　弘（2016.4.1～）
助　　教（併任）坂　本　貴和子（2016.4.1～）

学術研究支援室
客 員 教 授　高　田　昌　彦（2016.4.1～）
〃　狩　野　方　伸（2016.4.1～）
特任准教授（併任）丸　山　めぐみ（2017.1.1～）
特任専門員　林　　愛（2016.4.1～）
事務支援員　土　井　　優（2016.4.16～）
〃　太　田　美穂子（2016.10.16～）

NBR事業推進室
教　　授（併任）伊　佐　　正（～2017.3.31）
教　　授（併任）南　部　　篤
特 任 助 教　東　濃　篤　徳
研　究　員　山　根　　到（～2017.3.31）
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）定　藤　規　弘

形態情報解析室
准　教　授　村　田　和　義
研　究　員　永　谷　幸　則
〃　富　田　雅　人
〃　ソ　ン　チホン
大 学 院 生　角　田　　潤（2016.4.1～）
技術支援員　山　田　幸　子
〃　加　藤　三津子
〃　加　藤　勝　己（～2017.3.31）
事務支援員　河　口　美　江

多光子顕微鏡室
教　　授（併任）鍋　倉　淳　一
准　教　授　村　越　秀　治
博士研究員　柴　田　明　裕
技術支援員　恩　田　麻　紀
〃　佐　藤　愛　子

電子顕微鏡室
教　　授（併任）古　瀬　幹　夫
准　教　授（併任）村　田　和　義
〃　（併任）窪　田　芳　之
特 任 助 教　齋　藤　　成（2016.9.1～）

生体機能情報解析室
教　　授（併任）定　藤　規　弘
准　教　授　近　添　淳　一（2016.4.1～）

【行動・代謝分子解析センター】

センター長（併任）池　中　一　裕

ウイルスベクター開発室
教授（併任）　南　部　　篤
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
特 任 助 教　足　澤　悦　子（～2017.3.31）
研　究　員　後　藤　哲　平（2016.4.1～）
特別共同利用研究員 余　郷　享　子（2016.4.1～2017.3.31）

技術支援員　山内恵子
〃　道木美香（～2017.3.31）
〃　橋本恵（2016.4.1～2017.3.31）

行動様式解析室

客員教授　宮川剛（～2017.3.31）
教授（兼任）　高雄啓三（～2017.3.31）
特任専門員　腰高由美恵（～2017.3.31）
大学院生　村野友幸（～2017.3.31）
技術支援員　今井篤子（～2016.9.30）
〃　古川佐千子（～2016.10.31）
〃　兵藤美和（～2016.11.30）
事務支援員　高松香（～2017.3.31）

代謝生理解析室

教授（併任）　箕越靖彦
助教（併任）　鈴木喜郎

【情報処理発信センター】

センター長（併任）　柿木隆介（～2017.3.31）

アーカイブ室

准教授（併任）　村上政隆

医学生理学教育開発室

教授（併任）　富永真琴（2016.4.1～）
特任助教　中川恵理（2016.4.1～2017.3.31）

【安全衛生管理室】

教授（併任）　深田正紀（2016.4.1～2017.3.31）

【研究力強化戦略室】

教授（併任）　鍋倉淳一
〃（併任）　柿木隆介
〃（併任）　吉村由美子
〃（併任）　箕越靖彦
〃（併任）　久保義弘
特任教授　浦野徹
〃　鹿川哲史
特任准教授　丸山めぐみ
助教　坂本貴和子（2016.4.1～）
特任専門員　内山千保美
〃　岡安友美
事務支援員　安井亜紀

岡崎共通研究施設（生理学研究所関連）【岡崎統合バイオサイエンスセンター】

バイオセンシング研究領域

細胞生理研究部門（兼務）

（ｉ頁の細胞生理研究部門を参照）

生体制御シグナル研究部門

特任准教授　佐藤幸治
技術支援員　住田明日香

生命時空間設計研究領域

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）

生命動秩序形成研究領域

【動物実験センター】

センター長（併任）　箕越靖彦
特任教授（併任）　浦野徹
助教　王振吉
特任専門員　山中緑（2016.11.1～）
技術支援員　水野みどり
〃　松永ゆう子
〃　不退久恵
〃　小林明子
〃　亀岡一乃
〃　山中緑（～2016.10.31）
〃　山本忍（～2016.12.25）
〃　本多千佳

【動物実験コーディネータ室】

特任教授　佐藤浩（～2017.3.31）
研究員　山根到（2016.7.1～）
事務支援員　鈴木邦子

【技術課】

課長　大河原浩

研究領域技術班

班長　戸川森雄（2016.4.1～）

分子細胞生理研究系　技術係

係長　佐治俊幸（2016.4.1～）
主任　山本友美（2016.4.1～）
係員　稲橋宏樹（2016.4.1～）

係　　員　　加　納　雄一朗（2016.4.1～）

生体機能調節研究領域　技術係

係　　長　　永　田　　治（2016.4.1～）
主　　任　　福　田　直　美（2016.4.1～）
係　　員　　石　原　博　美（2016.4.1～）

基盤神経科学研究領域　技術係

係　　長　　山　口　　登（2016.4.1～）
主　　任　　髙　木　正　浩（2016.4.1～）
〃　　吉　友　美　樹（2016.4.1～）

システム脳科学研究領域　技術係

係　　長　　竹　島　康　行（2016.4.1～）
主　　任　　佐　藤　茂　基（2016.4.1～）
係　　員　　髙　橋　直　樹（2016.4.1～）

研究施設技術班

課長補佐（班長）　小　原　正　裕（～2017.3.31）

研究連携　技術係

係　　長　　前　橋　　寛
（2016.4.1～2017.3.31）

脳機能計測･支援　技術係

係　　長　　伊　藤　嘉　邦（2016.4.1～）
係　　員　　山　田　　元

情報処理･発信　技術係

係　　長　　吉　村　伸　明
係　　員　　村　田　安　永

動物実験　技術係

係　　長　　伊　藤　昭　光（～2016.6.30）
〃　　廣　江　　猛（2016.7.1～）
主　　任　　廣　江　　猛（～2016.6.30）
係　　員　　神　谷　絵　美
〃　　窪　田　美津子
特任専門員　　山　中　　緑（2016.11.1～）

行動･代謝分子解析　技術係

係　　長　　齊　藤　久美子
主　　任　　三　寳　　誠
特任専門員　　腰　高　由美恵（～2017.3.31）

研究基盤　技術係

係　　長　　伊　藤　昭　光（2016.7.1～）
主　　任　　森　　将　浩（2016.7.1～）
係　　員　　森　　将　浩（～2016.6.30）

研究力強化戦略室

特任専門員　　内　山　千保美
〃　　岡　安　友　美

技術支援員・事務支援員

技術支援員　　加　藤　勝　己（～2017.3.31）
〃　　市　川　　修（2016.4.1～）
〃　　粟　村　香奈子
〃　　石　神　久美子
〃　　磯　谷　ひとみ
〃　　犬　塚　小百合
〃　　岩　瀬　　恵
〃　　大　西　皆　子
〃　　大　場　多津子
〃　　加　藤　三津子
〃　　亀　岡　一　乃
〃　　小　林　明　子
〃　　澤　　栄　恵
〃　　鈴　木　規　子
〃　　鈴　木　由　美
〃　　高　田　和　子
〃　　田　口　理　恵
〃　　田　中　美　穂
〃　　内　藤　千津江
〃　　新　関　奈央子
〃　　林　　めぐみ
〃　　廣　岡　裕　子
〃　　福　岡　慶　子
〃　　藤　森　仁　美
〃　　不　退　久　恵
〃　　本　多　千　佳
〃　　松　永　ゆう子
〃　　水　野　みどり
〃　　矢　田　　徹（～2017.3.31）
〃　　山　田　幸　子
〃　　山　中　　緑（～2016.10.31）
〃　　山　本　　忍（～2016.12.25）
〃　　渡　邊　美　香
事務支援員　　浅　井　明　代（～2017.3.31）
〃　　浦　川　裕　乃
〃　　小　澤　祐　子
〃　　小　林　文　絵
〃　　坂　本　　愛
〃　　佐　藤　明　子
〃　　柴　田　利　江
〃　　芝　村　賞　子

事務支援員	杉　山　朋　美（2016.4.1～）	事務支援員	橋　谷　久　美（～2017.3.31）
〃	高　松　　香	〃	安　井　亜　紀
〃	長　尾　法　子（～2017.3.31）		

【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 …… 11
概要
Prrt3 の機能解明に向けた，大脳興奮性神経細胞特異的遺伝子破壊ホモマウスの網羅的行動解析
（山本友美，陳　以珊，久保義弘，周　麗，夏目里恵，崎村建司，高雄啓三，宮川　剛）
抗寄生虫剤 Ivermectin による GIRK チャネルの活性化機構の解明
（陳　以珊，久保義弘，上杉志成）
代謝型プリン受容体 P2Y1R の電位依存性に関する研究
（立山充博，久保義弘）
Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）における 2 つの S4 ヘリックスによる膜電位依存性制御機構の解析
（下村拓史，久保義弘）
hERG チャネルの脱活性化の速度調節に関わる C 末端細胞内ドメインの解析
（粂　慎一郎，久保義弘）
ATP 受容体チャネル P2X2 の膜電位と ATP に依存する構造変化の光学的手法による検出
（Rizki Tsari Andriani，久保義弘）
原索動物ホヤのグルタミン酸受容体チャネルの発生期における機能の解析
（平井志伸，岡戸晴生，堀田耕司，西野敦雄，岡部繁男，岡村康司，久保義弘）
線虫の温度走性に関わる Ca^{2+} および電位依存性 K^+ チャネル（Slo-2）の機能解析
（青木真一，森　郁恵，立山充博，下村拓史，久保義弘）
分子神経生理研究部門 …… 15
概要
オリゴデンドロサイトの機能と病態
（清水健史，長内康幸，國澤和生，李　佳益，池中一裕）
アストロサイトの機能
（菊地原沙織，池中一裕）
脊髄神経発生における硫酸化プロテオグリカンの役割
（橋本弘和，江　文，吉村　武，池中一裕）
糖鎖の構造決定と機能解析
（吉村　武，半田（鳴海）麻衣，加納雄一朗，池中一裕）
生体膜研究部門 …… 17
概要
シナプス足場タンパク質 PSD-95 の脱パルミトイル化酵素の同定と性状解析
（深田優子，横井紀彦，関谷敦志，村上達郎，小林憲太，深田正紀）
パルミトイル化修飾の化学量論的解析法の構築
（横井紀彦，関谷敦志，深田優子，深田正紀）
てんかん関連リガンド LGI1 の分子病態機構の解明
（横井紀彦，宮崎裕理，深田優子，深田正紀）
LGI1−ADAM22 結合の分子基盤の解明
（宮崎裕理，横井紀彦，深田優子，深田正紀）
ヒトにおける ADAM22 の compound heterozygous 変異の解析
（深田優子，深田正紀，Lehesjoki AE）
神経細胞構築研究部門 …… 19
概要
末梢神経損傷時の脊髄のおけるリン脂質分布の質量顕微鏡解析
（徐　冬**闽**，瀬藤光利）
統合失調症患者脳におけるリン脂質分布の質量顕微鏡解析
（松本純弥，瀬藤光利）
アルツハイマー病患者脳における修飾チュブリン分布の解析

（Vu Thi Hang，瀬藤光利）
神経発達・再生機構研究部門 20
概要
成体脳内における新生ニューロンの高速移動を制御する超微細構造の解析
（松本真実，澤田雅人，金子奈穂子，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 22
概要
上皮極性形成におけるタイトジャンクションの役割の解析
（大谷哲久，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，古瀬幹夫）
トリセルラータイトジャンクション形成における膜タンパク質アンギュリンの機能の解析
（菅原太一，古瀬幹夫）
タイトジャンクション欠損培養上皮細胞樹立の試み
（古瀬幹夫，大谷哲久，菅原太一）
ショウジョウバエの腸管バリア機能を規定する細胞間接着装置の分子構築の解析
（泉　裕士，古瀬幹夫）
Vangl2 がその結合タンパクを制御する仕組み
（永岡唯宏，古瀬幹夫，岸　将史）
細胞生理研究部門 24
概要
マウス褐色細胞での TRPV2 の機能
（Wuping Sun，内田邦敏，富永真琴）
進化におけるカエルの温度感受性変化と TRPV1 の熱感受性の変化
（齋藤　茂，富永真琴）
阻害剤 HC-030031 のヒト TRPA1 への結合部位の同定
（Rupali Gupta，齋藤　茂，富永真琴）
TRPV1, TRPM8 の阻害剤効果の相互関係
（高石雅之，内田邦敏，鈴木喜郎，富永真琴）
心循環シグナル研究部門 26
概要
免疫Ｂ細胞における TRPC3-PKCβ 複合体形成を介した ERK 活性化機構
（冨田拓郎，西田基宏）
心臓の硬化（線維化）における TRPC3-Nox2 複合体形成の役割
（北島直幸，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏）
P2Y6R によるアンジオテンシン II 誘発性高血圧発症の分子機構
（西村明幸，Caroline Sunggip，西田基宏）
β2 アドレナリン受容体シグナル活性化による心筋インスリン抵抗性発症のメカニズム
（Supachoke Mangmool，島内　司，西田基宏）
生殖・内分泌系発達機構研究部門 27
概要
社会的ストレス誘導性炭水化物食選択行動に及ぼす神経ペプチド NPY の作用
（佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦）
AgRP の長期摂食促進作用に及ぼす Dmbx1 の効果
（Eun Young Lee，三木隆司，廣野誠一郎，佐伯直勝，福田隆浩，岩永敏彦，箕越靖彦）
レプチンシグナルは高脂肪食摂取によって引き起こされる萎縮性胃炎の発症に関与する
（稲垣匡子，松本　敏，堀　徹治，片岡寛章，岡本士毅，高木一代，齊藤久美子，唐　麗君，箕越靖彦）

基盤神経科学研究領域

神経シグナル研究部門 …… 30
概要
覚醒下前帯状回における感覚応答の修飾機構
（古江秀昌，山田彬博，中川達貴，井本敬二）
カンナビノイド CB1 受容体が仲介する逆行性脱興奮における Cav2 チャネルの役割：サブタイプ間相補的作用の存在
（佐竹伸一郎，井本敬二）
海馬依存性記憶とカルモジュリンキナーゼ II 活性
（山肩葉子，柳川右千夫，井本敬二）
大脳神経回路論研究部門 …… 31
概要
ATUMtome ための新規テープの開発
（窪田芳之，畑田小百合，孫　在隣，川口泰雄）
運動学習における皮質サブネットワークの機能的役割
（大塚　岳，川口泰雄）
前頭皮質 5 層の錐体細胞サブタイプから抑制性 LTS 細胞への結合様式
（森島美絵子，川口泰雄）
大脳皮質興奮性細胞の分類とその細胞系譜
（畠中由美子，服部宣子，川口泰雄）
前頭皮質のレイヤー・ニューロンタイプ・表面領域に依存した視床入力形成
（川口泰雄，重松直樹）
生体恒常性発達研究部門 …… 33
概要
In Vivo 多光子顕微鏡を用いたミクログリアによる大脳皮質神経回路再編機構の解析
（堀内　浩，和氣弘明，宮本愛喜子，穐吉亮平，春若航一路，鍋倉淳一）
In Vivo 多光子顕微鏡を用いた慢性疼痛形成期における大脳皮質体性感覚野神経回路再編
（江藤　圭，竹田育子，金　善光，鍋倉淳一）
細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能
（戸田拓弥，中村佳代，Andrew Moorhouse，鍋倉淳一）
伝達物質のスイッチングのメカニズム細胞応答
（中畑義久，鍋倉淳一）
視覚情報処理研究部門 …… 36
概要
視覚野における同期発火の刺激特徴依存性は層により異なる
（石川理子，吉村由美子）
ラット一次視覚野の 5 層錐体細胞における神経結合特性
（唐木智充，吉村由美子，尾藤晴彦）
二光子励起顕微鏡を用いた，機能的な一次視覚野神経回路の形成メカニズム
（宮下俊雄，吉村由美子，三宝　誠，平林真澄，八木　健）
視知覚・運動連関に関する一次視覚野の神経活動
（木村梨絵，吉村由美子）

システム脳科学研究領域

感覚認知情報研究部門 …… 38
概要
サル下側頭皮質微小電気刺激による，光沢識別行動への影響
（馬場美香，西尾亜希子，小松英彦）
物体の材質を表現する視覚特徴
（郷田直一，小松英彦）
素材画像刺激に対するマカクザル下側頭葉皮質ニューロンの反応
（横井　功，小松英彦）
プロジェクションマッピング刺激に対するサルの行動反応と生理反応
（横井　功，小松英彦，岩井大輔）

液体粘性知覚の神経メカニズムの解明
（眞田尚久，小松英彦）
認知行動発達機構研究部門 40
概要
ヒト発達障害・精神疾患解明のためのシステム神経生理学と認知ゲノミクスの融合
（吉田今日子，斉藤延人，入來篤史，郷　康広，久島　周，尾崎紀夫，豊田　敦，藤山秋佐夫，今井啓雄，磯田昌岐）
マカクザルを用いた半側空間無視動物モデルの確立
（吉田正俊，辻本憲吾，澤田真寛，福永雅喜）
統合失調症患者の静止画自由視時の視線計測データのサリエンシー計算論モデルによる解析
（吉田正俊，三浦健一郎，橋本亮太）
マーモセットの静止画自由視時の視線データの計測
（吉田正俊，デニス・マトロフ，伊佐　正，三浦健一郎，南本敬史，須原哲也）
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）
社会的コンテキストにおける動作情報処理の神経機構
（二宮太平，磯田昌岐）
生体システム研究部門 43
概要
パーキンソン病モデルマーモセットにおける視床の神経活動
（若林正浩，畑中伸彦，南部　篤）
大脳基底核における上肢運動ストップ課題遂行中の活動調節
（Zlata Polyakova，畑中伸彦，南部　篤）
大脳基底核による視床－大脳皮質投射の活動制御機構
（知見聡美，佐野裕美，小林憲太，川口泰雄，木村　實，南部　篤）
運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロンの相互相関
（Waranan Wongmassang，知見聡美，長谷川　拓，Olivier Darbin，南部　篤）
大脳皮質–線条体路による大脳基底核の制御機構の解析
（佐野裕美，小林憲太，加藤成樹，小林和人，南部　篤）
線条体投射ニューロンによる大脳基底核の制御機構の解析
（佐野裕美，田中謙二，南部　篤）
ジストニア様症状を示す変異マウスの病態生理学的解析
（佐野裕美，堀江正男，知見聡美，竹林浩秀，南部　篤）
マーモセットの運動関連大脳皮質と大脳基底核，大脳皮質，視床間の解剖学的結合
（近藤秀樹，畑中伸彦，南部　篤）
マーモセット大脳皮質の神経生理学的マッピング
（纐纈大輔，南部　篤）
マカクザル視床下核の化学遺伝学的抑制による不随意運動の誘発
（長谷川　拓，知見聡美，小林憲太，南部　篤）
Mechanism Underlying L-dopa Induced Dyskinesia in Hemiparkinsonian Model Mice
（Dwi Wahyu Indriani, Sano H, Chiken S, Nambu A）
統合生理研究部門 48
概要
突発性難聴に対する神経リハビリテーションを用いた治療法
（関谷健一，福嶋宗久，タイスマン・ヘンニング，ラーゲマン・ロター，パンテフ・クリスト，柿木隆介，岡本秀彦）
メニエール病に対するバゾプレッシン分泌抑制療法：予備研究
（北原　糺，岡本秀彦，福嶋宗久，阪上雅治，伊藤妙子，山下哲範，太田一郎，山中敏彰）
ヒト聴覚野での抑制
（乾　幸二，中川　慧，西原真理，元村英史，柿木隆介）
聴覚変化関連脳活動と性格傾向
（棚橋めぐみ，元村英史，大山慶子，西原真理，乾　幸二，柿木隆介）
何故表皮内電気刺激法は小径線維を選択的に刺激するのか：シミュレーション研究
（根木　潤，Ilkka Laakso，平田晃正，村垣善浩，乾　幸二）

自閉症スペクトラム障害者における自己顔認知に伴う恥ずかしさ情動
（守田知代，小坂浩隆，齋藤大輔，藤井　猛，石飛　信，棟居敏夫，猪原敬介，岡沢秀彦，柿木隆介，定藤規弘）
非侵襲的大脳皮質刺激により痒み知覚が抑制される～経頭蓋直流電気刺激法(tDCS)を用いた検討～
（中川　慧，望月秀紀，小山総市朗，田中悟志，定藤規弘，柿木隆介）
顔処理が成人顔に特化するのは文化普遍の現象である：注視行動および脳機能計測による検討
（小林　恵，Macchi Cassia, Viola，金沢　創，山口真美，柿木隆介）
心理生理学研究部門 …… 51
概要
7 テスラ MR による高度脳計測基盤技術の開発
（福永雅喜，菅原　翔，山本哲也，定藤規弘，Lana G. Kaiser，川口浩和，Gerald B.Matson）
統合失調症と脳皮質下構造変化の横断的検討 -多施設 MRI 研究-
（福永雅喜，岡田直大，越山太輔，橋本亮太）
Neural basis for goal-oriented conversation
（Masako Hirotani, Takahiko Koike, Shuntaro Okazaki, Motofumi Sumiya, Maho Hashiguchi, Douglas Roland, Norihiro Sadato）
触覚による物体の柔らかさ知覚に関する神経基盤
（北田　亮，谷川　翼，中川恵理，土斐崎龍一，Jinhwan Kwon，梶本裕之，坂本真樹，定藤規弘）
リアルタイムでのアイコンタクトの神経基盤：Dual fMRI を用いた研究
（小池耕彦，中川恵里，角谷基文，定藤規弘）
共同注意の神経基盤の解明：Dual fMRI を用いた研究
（小池耕彦，田邊宏樹，定藤規弘）
聞き手の承認反応が第二言語学習に及ぼす効果とその神経基盤の解明
（中川恵理，角谷基文，小池耕彦，定藤規弘）
7T 機能的核磁気共鳴撮影を用いた脊髄損傷後の回復過程における大脳機能連関の解析
（當山峰道，福永雅喜，山本哲也，伊佐　正，中川　浩）
新たな MRI データ解析プラットフォーム“HCP Pipelines”の 7 テスラ MRI への導入
（山本哲也，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘）
表情模倣に関与する神経基盤の検討
（宮田紘平，小池耕彦，中川恵理，原田宗子，角谷基文，定藤規弘）
親子間および夫婦間における共感に関連する心理・神経メカニズムの解明
（間野陽子，板倉昭二，定藤規弘）
手指の系列運動学習による記憶の神経基盤：機能的 MRI を用いた研究
（濱野友希，菅原　翔，吉本隆明，定藤規弘）
助詞処理の神経基盤：日本語母語者および非母語者の比較
（角谷基文，笠井千勢，小池耕彦，吉本隆明，青木直哉，定藤規弘）
内部状態依存および非依存の食品の表象
（吉本隆明，近添淳一，岡崎俊太郎，角谷基文，高橋晴香，中川恵理，小池耕彦，北田　亮，岡本士毅，小阪浩隆，中田正範，矢田俊彦，定藤規弘）
注意効果と報酬期待効果による一次運動野準備賦活説の検証
（西東倫太朗，菅原　翔，山本哲也，濱野友希，福永雅喜，定藤規弘）

個別研究

個別研究（村上研究室） …… 57
概要
ラット顎下腺水分分泌における傍細胞輸送の関与
（村上政隆，橋本貞充，成田貴則）
個別研究（大橋研究室） …… 58
概要
細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと発生シグナル制御
（大橋正人，木下典行）
個別研究（毛利研究室） …… 58
概要
ウニ類卵受精時のカルシウム遊離機構と活性電流の研究
（毛利達磨）

イトマキヒトデ卵母細胞成熟過程におけるカルシウム遊離機構と活性電流の研究
（毛利達磨，経塚敬一郎）

研究連携センター…… 60
概要

共同利用研究推進室…… 60
概要
学術研究支援室…… 61
概要
NBR 事業推進室 …… 61
概要
サルレトロウイルス５型（SRV5）の高感度検出系の作製
（東濃篤徳，南部　篤）

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室…… 63
概要
染色体に似た構造をシアノバクテリアの一種で発見し 低温超高圧電子顕微鏡を用いて解明
（村田和義，金子康子）
マウスノロウイルスのタンパク質感染受容体を発見し，そのウイルス粒子への結合部位を推定
（村田和義，芳賀　慧，藤本　陽，戸高玲子，村上耕介，横山　勝，片山和彦）
隣から伸びてきた構造体が細胞分裂の方向を決めることをホヤの卵で発見
（宮崎直幸，村田和義，根岸剛文，上野直人）
多光子顕微鏡室…… 65
概要
無蛍光赤色蛍光タンパク質によるアストロサイト内分子活性化イメージング
（中畑義久，鍋倉淳一，村越秀治）
光応答性 CaMKII 阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用
（村越秀治，柴田明裕，安田涼平）
光応答性 CaMKII 分子の開発とシナプス可塑性研究への応用
（柴田明裕，村越秀治）
分子間相互作用検出のための“無蛍光”黄色蛍光タンパク質の開発
（村越秀治，柴田明裕）
生体機能情報解析室…… 66
概要
味覚の神経基盤
（近添淳一，Daniel Lee，Nikolaus Kriegeskorte，Adam K. Anderson）

行動・代謝分子解析センター

ウイルスベクター開発室…… 68
概要
脳機能解析に有用なウイルスベクターの開発・提供と共同研究の推進
（小林憲太）
皮質線条体ニューロンの生存における Rho シグナル伝達系の機能解析
（小林憲太，佐野裕美，加藤成樹，黒田啓介，中牟田信一，伊佐　正，南部　篤，貝淵弘三，小林和人）
線条体-黒質投射ニューロンに制御される運動機能のメカニズム解析
（小林憲太，佐野裕美，黒田啓介，中牟田信一，貝淵弘三，南部　篤）
遺伝子改変動物作製室…… 69
概要
ドナー核注入後に時間をおいてレシピエント核を除く手法で作製したラットクローン胚盤胞
（原　弘真，平林真澄）

CRISPR/Cas9 法の適用により作出した FoxN1 遺伝子ノックアウトラットの解析
（後藤哲平，平林真澄）
行動様式解析室 …… 70
概要
精神疾患の中間表現型「未成熟脳」のメカニズム解明と制御法の探索
（高雄啓三，宮川　剛）
マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用
（高雄啓三，宮川　剛）
代謝生理解析室 …… 71
概要
活性イオウ生成酵素の心循環機能制御
（赤池孝章，下田　翔，西村明幸，西田基宏）
薬剤誘発性心筋症における TRPC3 チャネルの役割解析
（島内　司，松金良祐，冨田拓郎，西田基宏）
褐色脂肪細胞における TRP チャネルの役割
（若林繁夫，岩田裕子，河田照雄，後藤　剛，金　珉智，孫　武平，内田邦敏，鈴木喜郎，周　一鳴，高山靖規，富永真琴）
脳損傷時の冷却における TRP チャネル
（藤山雄一，鈴木倫保，内田邦敏，富永真琴）
運動異常症の病態生理の解析
（竹林浩秀，堀江正男，佐野裕美，知見聡美，南部　篤）

岡崎統合バイオサイエンスセンター

オリオンプロジェクト　生体制御シグナル研究部門 …… 74
匂い認識における嗅粘液の役割の解明
（佐藤幸治）
幹細胞から誘導される腸管オルガノイドのイメージング法の確立
（佐藤幸治）

動物実験センター

動物実験センター …… 76
概要
管理運営
研究
教育
社会貢献

技術課

技術課 …… 80
概要
施設の運営状況
①システム脳科学研究領域
（1）生体磁気計測装置
（竹島康行）
（2）磁気共鳴装置
（伊藤嘉邦）
②脳機能計測･支援センター
（1）形態情報解析室
（小原正裕，山田　元，斎藤善平）
（2）電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）
（小原正裕，山田　元）
（3）機器研究試作室（生理研・基生研共通施設）
（佐治俊幸）

③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）

④岡崎共通研究施設

（1）動物実験センター

（伊藤昭光，廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美）

分子細胞生理研究領域

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

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

Prrt3 の機能解明に向けた，大脳興奮性神経細胞特異的遺伝子破壊ホモマウスの網羅的行動解析

山本友美，陳　以珊，久保義弘
周　麗，夏目里恵，崎村建司（新潟大学脳研究所細胞神経生物学分野）
高雄啓三，宮川　剛（生理研行動様式解析室）

我々は，代謝型グルタミン酸受容体や $GABA_B$ 受容体と同じく，大きな N 末細胞外領域と 7 回膜貫通部位を持つ，Family C に属するオーファン代謝型受容体（Prrt3）の機能の解析に取り組んでいる。機能に関する手がかりを得るために，過去に，Prrt3 遺伝子破壊 (KO) マウスを作成した。しかし，KO ホモマウスは 1 週間以内に高率に死亡したため，やむを得ず KO ヘテロマウスを用いて網羅的行動解析を行い，空間記憶の長期保持および恐怖条件付け記憶の長期保持が低下していることを明らかにした。今年度，Prrt3 遺伝子の flox マウスと Emx1-Cre マウスの交配により得られた，大脳興奮性神経細胞特異的 KO ホモマウスを用いた網羅的行動解析を行った。その結果，Barnes maze 試験において，空間記憶の長期保持には異常はみられなかったが，恐怖条件付け記憶の長期保持が野生型に比して有意に低下していることを観察した。予想に反して，大脳興奮性神経細胞特異的 KO ホモマウスの異常が全 KO ヘテロマウスより軽微であった。その理由として，抑制性神経細胞や大脳以外の部域に発現する Prrt3 が機能的役割を担っていることが等が想定される。

抗寄生虫剤 Ivermectin による GIRK チャネルの活性化機構の解明

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

オーファン代謝型受容体 Prrt3 のリガンドの同定を目的として，ツメガエル卵母細胞に Prrt3 と GIRK チャネルを共発現させ，GIRK チャネル電流を指標とした小分子ライブラリーのスクリーニングを行った。その過程で，抗寄生虫剤に属する Ivermectin の投与が GIRK 電流を増加させることを見出したが，その効果は Prrt3 の共発現無しでも見られた。よって，Ivermectin が Prrt3 のリガンドとして機能しているわけではなく，GIRK チャネルを直接活性化することが明らかとなった。その活性化機構の解明に向けた実験を行い，Ivermectin による GIRK チャネル電流増加作用は G タンパク質に依存しないこと，また PIP_2 に依存することが明らかとなった。Ivermectin は GIRK4 より GIRK 2 を強く活性化するため，GIRK2 と GIRK4 のキメラ及び変異体の機能解析による Ivermectin 作用部位の同定を試みた。その結果，GIRK2 チャネルの第 1 膜貫通領域 (TM1) と N 末端細胞内領域をつなぐ Slide helix 上に位置する Ile82 が Ivermectin による活性化に重要であることがわかった。さらに，Ile82 近傍に存在する TM1 直前の Trp91，TM2 直後の Ile195 も Ivermectin による GIRK チャネル活性化を制御していることが明らかとなった。

代謝型プリン受容体 P2Y1R の電位依存性に関する研究

立山充博，久保義弘

G タンパク質共役型受容体の中には，膜電位により異なるリガンド感受性を示すものがあることが知られている。我々は，Gq 共役型受容体の KCNK13 チャネル電流増加作用の解析から，代謝型プリン受容体 P2Y1R が膜電位を脱分極に保持した時の方が過分極に保持した時より高い作用薬感受性を示すという，膜電位依存性を有することを見出した。この膜電位依存性に関わる部位の同定を目的として，膜貫通部位の荷電性アミノ酸残基にアラニン変異を導入したところ，アスパラギン酸残基（D97，D320）のアラニン変異体において膜電位依存性の消失が認められた。また，P2Y1R に YFP を付加したコンストラクトと Gq タンパク質に CFP を付加したコンストラクトの FRET 解析を異なる膜電位下で行ったところ，野生型の P2Y1R では 40 mV に膜電位を保持したときの EC_{50} が -80 mV に保持した時の EC_{50} に比して，約 2 倍小さいことが明らかとなった。一方，D320N 変異体ではこのような変化はみられなかった。以上の結果から，P2Y1R が膜電位依存性を示すこと，膜電位依存性に D320 が重要な役割を担うことが明らかとなった。

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

下村拓史，久保義弘

膜電位依存性カチオンチャネルファミリーは 4 番目のヘリックス（S4）に複数の正の荷電残基を持ち，この残基により膜電位変化を感知する。Two-pore Na^+ channel（TPC）は 2 つの異なる S4 を持つ特徴的なチャネルである。この 2 つの S4 の膜電位感知における役割の違いを明らかにするため，TPC ファミリー3（TPC3）を対象として，ツメガエル卵母細胞を発現系とした電流測定および膜電位固定下蛍光測定法（VCF）による実験を行った。まず，

各 S4 のそれぞれにおいて，正電荷を持つアルギニン残基をグルタミンに置換した変異体の影響を解析した。その結果，1 番目の S4 への変異導入（Arg167Gln，Arg170Gln）は電位依存性に対して大きな影響を与えなかったのに対し，2 番目への変異導入（Arg517Gln，Arg523Gln）は活性化により高い膜電位が必要になるように大きく電位依存性が変化した。この結果は，TPC3 においては 1 番目よりも 2 番目の S4 がチャネル全体の電位依存性に大きく貢献していることを示唆している。VCF による測定については，2 つの S4 の一方のみを蛍光ラベルした TPC3 を解析することで，個々の S4 の動的構造変化を分離して検出することを狙った。これまでのところ，2 番目の S4 の細胞外側に位置する残基にシステイン変異を導入し，システイン修飾性の蛍光試薬によりラベルすることで，膜電位変化に依存した蛍光強度変化を検出することに成功した。現在，より強い蛍光強度変化を再現よく検出するため，蛍光性非天然アミノ酸導入法の適用など測定条件の最適化を進めている。

hERG チャネルの脱活性化の速度調節に関わる C 末端細胞内ドメインの解析

粂　慎一郎，久保義弘

電位作動性 K^+チャネル（Kv）の hERG チャネルは，他の Kv と比較して極めて遅い脱活性化が特徴であり，この制御機構には細胞内ドメインの関与が示唆されている。C 末端側の細胞内領域には環状ヌクレオチド結合相同ドメイン（CNBHD）が存在し，C リンカードメイン（CLD）を介してチャネルゲートに繋がっており，これらのドメインも遅い脱活性化の制御に重要であることが報告されている。しかし，その詳細な制御機構は未だ不明であるため，その解明を目指し，C 末端細胞内ドメインに関する研究を行った。

これまでの研究から，hERG チャネルの CLD と CNBHD 間には対になるように帯電したアミノ酸同士の相互作用が 2 つ存在し，遅い脱活性化の制御に重要であることを示す結果を得ている。本研究では，4 量体形成時のこれら 2 つの相互作用に焦点を当て，これらがサブユニット間または内のどちらの相互作用様式をとるか，また，その機能の維持に必要な相互作用の個数はいくつかについて，タンデムコンストラクトを使用した解析を行った。その結果，これら 2 つの相互作用は，いずれも同一のサブユニット内での相互作用であることを見出した。また，相互作用の個数と脱活性化の速度の変化には相関があることを示唆する結果を得た。

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

Rizki Tsari Andriani，久保義弘

ATP 受容体チャネル P2X2 は，膜電位依存性チャネルにみられるような典型的な膜電位センサードメインが存在しないにも関わらず，膜電位依存的ゲーティングを示すことをこれまでに観察した。次のステップとして，膜電位と ATP に依存する動的構造変化を蛍光強度の変化として捉えることを目指した。蛍光非天然蛍光アミノ酸 (Anap) を P2X2 中に取り込ませる手法を用いることにより，特異的に，高効率に，かつ膜貫通部位や細胞内領域等も含め P2X2 中の様々な部域に蛍光ラベルを導入した。網羅的解析の結果，イオンチャネルポアに位置する Thr339 に Anap を導入することにより，膜電位依存性の蛍光強度の変化が観察された。また，第 1 膜貫通部位の細胞外側よりの疎水性アミノ酸残基 Tyr43, Tyr47 等や，その近傍に位置する第 2 膜貫通部位の細胞外側よりの Ile328, Val343 等に Anap を導入すると膜電位依存性のゲーティングが失われることから，この部域の膜電位依存性ゲーティングへの寄与が想定された。さらに，Lys53, Ser54, Ala335 に Anap を導入したコンストラクトにおいて，ATP 投与後，電流増加，すなわちチャネルポアの開口よりも顕著に遅い時間経過の蛍光強度の変化が観察

された。この遅い変化は，ポア開口に続くポア拡大現象等の 2 次的な構造変化を反映していることがひとつの可能性として想定される。

原索動物ホヤのグルタミン酸受容体チャネルの発生期における機能の解析

平井志伸，岡戸晴生（東京都医学総合研究所・神経細胞分化プロジェクト）
堀田耕司（慶応大学理工学部），西野敦雄（弘前大学農学生命科学部），
岡部繁男（東京大学大学院医学系研究科），岡村康司（大阪大学医学系研究科），
久保義弘

これまでに AMPA 型グルタミン酸受容体の機能は，哺乳類の成体の脳で興奮性シナプス伝達の担い手として，学習・記憶に重要な役割を担っていることが知られてきた。AMPA 受容体は，胎児期の早期より発現がみられるが，発生期における役割は明らかとなっていなかった。本研究では，脊椎動物の祖先として知られる原索動物ホヤを用いて解析した。ホヤは AMPA 受容体が 1 つのみで，さらに受精から成体になるまでの発生の過程が観察しやすいという点を活用した。その結果，AMPA 受容体が，哺乳類の松果体に相当する光受容感覚器形成に必須であること，さらに，変態という，多数の生物がもつ成体への変化を起こす現象にも必須であることを明らかにした。久保研究室では，アミノ酸配列からホヤの AMPA 受容体と想定されるタンパク質が，確かにグルタミン酸受容体チャネルとしての機能を有すること，Ca^{2+}透過性を有することを，アフリカツメガエル卵母細胞の発現系を用いた電気生理学的実験で示した。

線虫の温度走性に関わる Ca^{2+} および電位依存性 K^+ チャネル（Slo-2）の機能解析

青木真一，森　郁恵（名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻　分子神経生物学グループ）
立山充博，下村拓史，久保義弘

線虫は，飼育環境から異なる環境へ移動させた場合，飼育環境温度に近い環境へ移行するという温度走性を示すことが知られている。我々は，温度走性に異常を示す線虫のゲノム解析から，Ca^{2+} および電位依存性 K^+チャネル（Slo-2）のコード領域にミスセンス変異を認めた。そこで，野生型および変異体 Slo-2 チャネルを HEK293T 細胞に発現させ，whole cell patch clamp 法により膜電流を記録し，機能解析を行った。野生型および変異体チャネルは，細胞内液カルシウム濃度（$[Ca^{2+}]_i$ ）が 0 μM の条件下では脱分極刺激を与えてもカリウム電流は増加せず，$[Ca^{2+}]_i$ が高濃度（> 20 μM）の条件下では脱分極刺激により電流が増加するという $[Ca^{2+}]_i$ 依存性を示した。一方，$[Ca^{2+}]_i$ が低濃度（0.2 μM）の条件下では，変異体チャネルのみが脱分極刺激による電流増加を示した。以上の結果から，Slo-2 チャネル変異体は細胞内カルシウム濃度への感受性を亢進させることにより，線虫の温度走性に異常をもたらすことが示唆された。

分子神経生理研究部門

【概要】

分子神経生理部門では以下に示す３つのテーマに関して研究している。

1）グリア細胞の機能とその病態解明。

2）哺乳類神経系の発生・分化。

3）脳神経機能発現における糖鎖の役割。

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

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

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

オリゴデンドロサイトの機能と病態

清水健史，長内康幸，國澤和生，李　佳益，池中一裕

オリゴデンドロサイト（以下 OL）は，ミエリン形成後もニューロンの活動電位の伝導速度を調節していることが明らかとなり，また一つの OL は複数の軸索に対してミエリンを形成することから，OL がニューロン間の情報伝達を仲介し，ひいては脳高次機能の発現に寄与している可能性が考えられる。我々はすでに OL―ニューロン間相互作用をマウス生体内で可視化する新しい技術の開発に成功している。今年度は,活動電位を抑制する遺伝子 Kir2.1 と,活動電位を亢進させる遺伝子 Nachbac を用いてニューロンの活動を人為的に変化させることができるマウス実験系を確立した。このマウスに対して前述の技術を適応し,現在,ニューロンの活動とミエリン形成との相関を調べている。また我々は OL―ニューロン間に形成される paranodal junction の破綻を誘導できるノックアウトマウスを保持している。

今年度はマウス脳内の内包領域の paranodal junction 破綻を誘導した後，大脳皮質の運動野を刺激した際のマウス前肢筋電図計測を行った。その結果，内包領域の paranodal junction 破綻により筋電図計測の伝導速度に遅延が認められた。この結果から，脳内の限局した領域の paranodal junction の崩壊のみでも脳高次機能へ影響を及ぼす可能性が示唆された。さらに脱髄性疾患の病態解明に取り組むため，我々は髄鞘巣のミクログリア，および好中球で特異的に発現するシスタチン F の発現を制御する分子機構と,その機能解析を行っている。それと並行して,脱髄誘導時にミクログリア依存的に活性化される non-canonical Wnt シグナルにより神経変性が引き起こされることを明らかにした（Shimizu et al., Mol Cell Biol, 2016）。

アストロサイトの機能

菊地原沙織，池中一裕

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

伝子である。

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

脊髄神経発生における硫酸化プロテオグリカンの役割

橋本弘和，江　文，吉村　武，池中一裕

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

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

糖鎖の構造決定と機能解析

吉村　武，半田（鳴海）麻衣，加納雄一朗，池中一裕

糖鎖を有する分子は細胞表面や細胞外に存在し，細胞間相互作用やシグナル伝達に深く関わる。これまでに我々は糖鎖解析手法を改良し，神経系に発現している糖鎖構造および糖鎖生合成過程に関わる遺伝子発現を網羅的に解析してきた。これまでに，ケラタン硫酸と呼ばれる糖鎖が神経発生に関与することを報告した（Hashimoto et al., Neurochem Res, 2016）。本年度は，ヘパラン硫酸脱硫酸酵素 Sulf2 がマウス脊髄において細胞の運命決定を制御することを見出した（Jiang et al., Dev Neurosci, 2017）。脳発達期に発現レベルが上昇する新規シアル酸化N結合型糖鎖構造（6-sialyl Lewis C）が神経細胞のシナプスに集積していることを見出した。

末梢神経系の髄鞘には硫酸化N結合型糖鎖が豊富に存在し，硫酸転移酵素 GlcNAc6ST-1 がN結合型糖鎖の硫酸化を独占的に担っていることを突き止めた。硫酸転移酵素ノックアウトマウスでは髄鞘構造の異常や軸索変性が観察された。故に,末梢神経系において硫酸化糖鎖が髄鞘形成を制御していることが明らかとなった（Yoshimura et al., Sci Rep, 2017）。

生体膜研究部門

【概要】

本研究部門では，脳高次機能の基本機能単位であるシナプス伝達を制御する中心的分子機構，さらには脳病態におけるその破綻機構について明らかにすることを目指している。具体的には，記憶や学習の分子基盤をなすと考えられている AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の制御機構に着目している。我々はこれまでに，特異性と定量性を重視した生化学的手法に基づいて，２種類の AMPA 受容体制御分子（パルミトイル化脂質修飾酵素 DHHC 蛋白質と，てんかん関連リガンド・受容体である LGI1・ADAM22）を独自に発見した。さらに最近，長年未知であった, PSD-95 の脱パルミトイル化修飾酵素の同定も達成した。そして，パルミトイル化酵素ライブラリースクリーニング法やパルミトイル化修飾の定量的解析法，パルミトイル化蛋白質の可視化プローブなど新しい実験手法を開発し，超解像顕微鏡イメージング，マウス遺伝学，電気生理学などを組み合わせて，これら AMPA 受容体制御分子の生理機能と脳病態（てんかんや自己免疫性脳炎）における機能破綻のメカニズムの一端を先導的に明らかにしてきた。現在，これら AMPA 受容体制御分子がいかにしてシナプス伝達の可塑的側面，さらにはマウス・ヒトの記憶，学習，認知機能を制御するのかを明らかにするため研究を展開している。

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

深田優子，横井紀彦，関谷敦志，村上達郎，小林憲太（ウイルスベクター開発室），深田正紀

AMPA 受容体は外部からの刺激に応じて，シナプス後肥厚部（PSD）に輸送され，その PSD における AMPA 受容体の数の変化がシナプス可塑性に重要と考えられている。PSD-95 は PSD における主要な足場蛋白質で，附属サブユニットを介して，AMPA 受容体と結合する。我々はこれまでに, PSD-95 パルミトイル化酵素を同定し，PSD-95 のパルミトイル化レベルが外部刺激によってダイナミックに変化し，AMPA 受容体の局在を制御することを見出した。今回，PSD-95 の脱パルミトイル酵素を同定するため，セリン加水分解酵素に着目した。そして，過剰発現系で PSD-95 に対して，ABHD17 ファミリー蛋白質が脱パルミトイル化活性を示すことを見出した。さらに，これら酵素を海馬神経細胞でノックダウンすることで, PSD-95 の脱パルミトイル化反応が特異的に抑制されることを見いだした。このようにして，PSD-95 のパルミトイル化サイクルの全容を明らかにし，AMPA 受容体を介したシナプス伝達の制御機構の一端を解明しようとしている。

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

パルミトイル化修飾の化学量論的解析法の構築

横井紀彦，関谷敦志，深田優子，深田正紀

パルミトイル化修飾は他の脂質修飾（プレニル化やミリストイル化）と異なる可逆的な翻訳後修飾で，蛋白質の局在や機能を制御している。これまで多くのパルミトイル化修飾部位が放射性同位体標識法等によって同定されてきたが，その化学量論（ある蛋白質のシステイン残基がどの程度の割合でパルミトイル化修飾されているか）については解析手法が無かった。今回，我々は蛋白質上のパルミトイル基を高分子化合物 Polyethylene glycol（PEG）に置換し，パルミトイル化蛋白質と非パルミトイル化蛋白質を電気泳動上の移動度の違いで分離し，それらのウェスタンブロットでの検出強度を比較することによって，パルミトイル化修飾の化学量論を同定

する方法（acyl-PEGyl exchange gel shift (APEGS) method）を開発した。この手法により，パルミトイル化/脱パルミトイル化サイクルの動的制御に関する詳細な解析が可能になり，パルミトイル化修飾の総合的な理解に関して大きな役割を果たすと考えられる。実際に，シナプス蛋白質の中で PSD-95 のパルミトイル化サイクルが特異的に速いこと，シナプスの成熟によってその速度が変化することが分かり，パルミトイル化反応が蛋白質ごとに精密に制御されている事が明らかとなってきた。さらに，新たなパルミトイル化蛋白質として，mGluR5 と vGluT1 を発見した。

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

てんかん関連リガンド LGI1 の分子病態機構の解明

横井紀彦，宮崎裕理，深田優子，深田正紀

近年の我々を含む研究から，神経分泌蛋白質 LGI1 の機能障害が，遺伝性側頭葉てんかんや，記憶障害やけいれんを主訴とする辺縁系脳炎を引き起こすことが明らかになってきた。すなわち，LGI1 はヒトの脳の興奮性制御や記憶形成に重要な役割を担っていると考えられる。これまでに我々は LGI1 とその受容体である ADAM22 との複合体が AMPA 受容体を介したシナプス伝達を制御すること，そして，LGI1 を欠損させたノックアウトマウスでは，シナプス伝達異常により，生後 2-3 週間で致死性てんかんを必発することを報告してきた。さらに，家族性てんかん患者における LGI1 変異の解析によって，その分子病態の解明を試みており，LGI1-ADAM22 結合の異常がてんかんを引き起こす事を報告してきた。一方，最近，我々はヒトで報告されている LGI1 の変異体のうち，in vitro で ADAM22 と結合する変異体があることを見出した。そこで，今回この変異体を発現するてんかんモデルマウスを作製し，解析を行った。その結果，このマウスは LGI1 ノックアウトマウスと同様にてんかん症状を示し，この LGI1 変異がてんかん原因変異であることを明らかとした。また，このマウス脳での LGI1 結合蛋白質を調べた結果，LGI1-ADAM22 結合に重要な差は見られなかった。以上より，LGI1-ADAM22 結合以外の分子病態が推測され，現在解析を進めている。

LGI1−ADAM22 結合の分子基盤の解明

宮崎裕理，横井紀彦，深田優子，深田正紀

近年の我々の家族性てんかん患者における LGI1 変異の解析から，LGI1-ADAM22 結合が正常な脳機能，すなわち安定な脳興奮状態の維持に必須であることが示された。しかし，その LGI1-ADAM22 結合の構造的知見は明らかでは無い。今回，LGI1，または ADAM22 の表面アミノ酸のアラニンへの置換が LGI1-ADAM22 結合へ及ぼす影響を調べて，LGI1-ADAM22 の相互作用部位を明らかにする事を試みた。その結果，LGI1-ADAM22 結合に重要な複数の疎水性アミノ酸残基を見出した。興味深いことに，これら変異の部位は，ヒトで痙攣を引き起こす ADAM22 の変異との関連性が見られた。これらの結果は，LGI1 や ADAM22 の変異と病態との関連について知見を与えるものである。

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

深田優子，深田正紀，Lehesjoki AE（ヘルシンキ大学）

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

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

神経細胞構築研究部門

【概要】

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

末梢神経損傷時の脊髄のおけるリン脂質分布の質量顕微鏡解析

徐　冬**闽**（浜松医大），瀬藤光利

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

1. Xu et al. Sci Rep (2016) 6: 26427.

統合失調症患者脳におけるリン脂質分布の質量顕微鏡解析

松本純弥（福島県立医大），瀬藤光利

統合失調症患者の死後脳におけるリン脂質分布の変化を質量顕微鏡で解析した。統合失調症の前頭葉，特に前頭前野の灰白質において，アラキドン酸（AA）を含有する特定のホスファチジルイノシトール（PI）分子種，

PI(16:0/20:4)の有意な減少が観察された。また，ドコサヘキサエン酸（DHA）を含有する特定のホスファチジルセリン（PS）分子種，PS(18:0/22:6)も減少していた．これら PI(16:0/20:4)，PS(18:0/22:6)の減少は白質では観察されなかった（文献 2）。

2. Matsumoto et al. Sci Rep (2017) 7: 45050.

アルツハイマー病患者脳における修飾チュブリン分布の解析

Vu Thi Hang（浜松医大），瀬藤光利

アルツハイマー病患者の死後脳における微小管チュブリンの修飾状態の変化を解析した。アルツハイマー病患者の海馬, 特に CA3 領域の錐体細胞先端樹状突起および苔状線維において，グルタミル化された Δ2 型 α チュブリンが増加していた（文献 3）。

3. Vu et al. Sci Rep (2017) 7: 40205.

神経発達・再生機構研究部門

【概要】

生後の脳においても，神経幹細胞から継続的にニューロンやグリア細胞が産生されており，脳の発達や恒常性の維持に関与している。一方で，脳外傷や脳梗塞のように脳が傷害を受けると，このメカニズムが活性化し，傷害によって失われたニューロンの一部を再生させることも明らかになってきた。本研究部門では，生後の脳における新生ニューロンやグリア細胞の移動・成熟メカニズムについて研究をおこなっている。また，正常脳で得られた知見を応用することで，脳傷害後のニューロン・グリア細胞の再生および脳機能回復を賦活する操作技術の開発にも取り組んでいる。これらの研究を遂行する上で，生理学研究所の他の研究部門と共同で，二光子顕微鏡を用いた新生ニューロンの生体イメージング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の微細形態解析，行動バッテリーを用いた病態モデルの表現形解析にも取り組んでいる。さらに，ゼブラフィッシュ，コモンマーモセットなど他のモデル動物におけるニューロン新生を比較することで，その制御機構の共通性，多様性を解析している。これらの研究を通じて，本研究部門では，生後脳におけるニューロンやグリア細胞の新生メカニズムとその意義を解明し，様々な脳疾患に対する新しい治療法の開発に役立てることを目指す。

成体脳内における新生ニューロンの高速移動を制御する超微細構造の解析

松本真実，澤田雅人，金子奈穂子，澤本和延（名古屋市立大学）

脳室下帯で産生された新生ニューロンは，お互いに接着して鎖状の構造を形成し，脳内を高速で移動する。この移動形態は，傷害脳における新生ニューロンの傷害部位への移動過程でも観察されることから，新生ニューロンの鎖状移動は，成体脳内を移動するための重要な移動様式であると考えられる。しかし，その接着の詳細な構造および制御は不明である。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，新生ニューロン間の接着構造およびその細胞内分布を 3 次元的に解析した。これらの解析から，新生ニューロンが接着構造を適切に調節することで，効率の良い鎖状のニューロン移動を実現していることが示唆された。

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（名古屋市立大学）

成体嗅球では，脳室下帯で産生された新生ニューロンが加わる一方，古い嗅球ニューロンは細胞死により除去されており，ニューロンが常に入れ替わることで神経回路を維持している。我々はこれまでに，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生体イメージング法を確立し，嗅覚入力による嗅球ニューロンのターンオーバーの時空間的制御機構を報告した[1]。しかし，その詳細な制御メカニズムは不明である。本研究では，ニューロンのターンオーバーを調節する因子としてミクログリアと血流に着目し，多光子顕微鏡を用いてミクログリアの動態および血流とニューロンのターンオーバーの関係を解析した。これらの知見は，ミクログリアおよび血流がニューロンのターンオーバーを調節する可能性を示唆している。

1. Sawada et al., *J Neurosci* (2011) **31**: 11587

生体機能調節研究領域

細胞構造研究部門

【概要】

上皮を横切る物質輸送は，細胞膜上の輸送タンパク質および細胞質を介する経細胞輸送と，細胞間隙を介する受動輸送である傍細胞輸送に分けられる。傍細胞輸送の特性は各器官の生理機能に応じて多様であり，経細胞輸送と共役して上皮輸送全体を構成することから，その調節機構を解明することは上皮輸送研究における重要な課題の一つである。当研究部門は，傍細胞輸送を規定する「閉塞結合」と総称される細胞間接着装置に着目し，その構成分子・制御分子の同定と機能解析を通じて，上皮のバリア機能および透過性を制御する分子メカニズムの解明を目指している。主な研究対象としている閉塞結合は，タイトジャンクションと，その特殊な形態として 3 つの上皮細胞の角が接する部分に形成されるトリセルラータイトジャンクションで，これらの構成分子の機能を培養上皮細胞，遺伝子改変マウスを用いて解析している。また，腸管バリア機能を担う細胞間接着装置のモデルとして，ショウジョウバエ腸管上皮のセプテートジャンクションの分子構築の解明と機能解析も進めている。

2015 年に生理研で研究室をスタートさせてから開始したプロジェクトが着実に進みつつある。ゲノム編集による閉塞結合関連分子の機能喪失実験が培養上皮細胞においてきわめて有効に機能することがわかり，研究に欠かせない技術となっている。

上皮極性形成におけるタイトジャンクションの役割の解析

大谷哲久，古瀬幹夫

タイトジャンクション（TJ）は上皮細胞の頂端部と側基底部の境界部に位置することから，古くから上皮細胞の極性を維持すると考えられてきたが，その役割については未だ議論がある。我々は，培養上皮細胞として広く用いられている MDCK 細胞において TJ の裏打ちタンパク質である ZO-1 と ZO-2 遺伝子をゲノム編集法により破壊した細胞株を樹立し，この細胞における TJ の形成不全を確認するとともに，側基底部に本来局在する膜タンパク質が頂端部に異所的に局在するという上皮極性の異常を見出した。今年度はこの細胞についてさらに解析を進め，コラーゲン・ゲル中で三次元培養したところ，シスト形成能が異常が認められた。さらに，ZO-1 遺伝子の再発現細胞を樹立し, TJ の形成不全, 上皮極性の異常, 三次元培養下におけるシスト形成能の異常の表現型がこの細胞では抑制されることを確認した。これらのことから，MDCK 細胞においては ZO-1, ZO-2 が TJ 形成と上皮極性の形成・維持に必要であることが明らかになった。

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，古瀬幹夫

タイトジャンクション（TJ）は上皮バリア形成において重要な役割を果たす。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TJの裏打ちタンパク質であるZO-1とZO-2遺伝子を破壊することにより，上皮バリアが破綻した細胞株を樹立した。上皮組織が局所的な上皮バリアの破綻にどのように応答するかを検討するために，この細胞と正常細胞を共培養したところ，上皮バリアが破綻した細胞に選択的に細胞死が誘導され除去されることによって上皮バリアが修復されることを見出した。このことは，細胞競合によって上皮バリアのホメオスタシスが保証されていることを示唆しており，この現象の分子メカニズムの解明に着手した。

トリセルラータイトジャンクション形成における膜タンパク質アンギュリンの機能の解析

菅原太一，古瀬幹夫

上皮細胞のすき間からの物質の漏れを防ぐしくみとして，2つ細胞の接着部位に形成されるタイトジャンクション(TJ)と，3つ細胞が接する領域に形成されるトリセルラーTJ(tTJ)がある。tTJが電子顕微鏡で稀にしか観察できない構造であることから，その形成機構の詳細に関する研究はほとんど進んでいない。今回，様々な培養上皮細胞を用いてtTJ構成分子の局在を共焦点レーザー顕微鏡で詳細に解析した結果，フィルター上に培養したイヌ腎臓上皮由来MDCK細胞において，電子顕微鏡観察で報告されているtTJの細長い構造の特徴を簡便に観察できることを見出した。この方法を用いて，tTJにはTJを構成する膜タンパク質，裏打ちタンパク質も含まれていることを明らかにした。さらに，MDCK細胞でtTJ構成分子の1つであるアンギュリン-1をゲノム編集技術によりノックアウトすると上記の特徴が消失したことから，アンギュリン-1がtTJ形成に必要であることが示唆された。

タイトジャンクション欠損培養上皮細胞樹立の試み

古瀬幹夫，大谷哲久，菅原太一

生理機能に応じて各上皮の傍細胞輸送の特性が異なる主要な理由は，タイトジャンクション（TJ)を構成する膜タンパク質クローディンファミリーのサブタイプの組合せの違うことにある。したがって，生理学的測定が困難な個体内の上皮の傍細胞輸送の特性を知るためには，その上皮に発現するクローディンサブタイプの組合せを培養上皮細胞で再現して生理学的測定を実施することが有効である。ところが培養上皮細胞には多数の内在性クローディンサブタイプが共発現している。そこで，典型的な培養上皮細胞の1つであるMDCK細胞を用いて，内在性クローディンの発現をゲノム編集により全て欠失させたTJを持たない細胞を樹立し，この細胞に任意のサブタイプを導入してTJを再構成する計画を実行に移した。MDCK細胞では少なくとも11サブタイプの発現がRT-PCRにより確認されたが，そのうちの5つを欠失する細胞を樹立することに成功した。

ショウジョウバエの腸管バリア機能を規定する細胞間接着装置の分子構築の解析

泉　裕士，古瀬幹夫

スムースセプテートジャンクション (sSJ)は節足動物の内胚葉上皮における細胞間隙の透過障壁として働く細胞間接着装置である。その構成分子としては我々が同定した膜タンパク質Ssk，Mesh，Tsp2Aが知られている。さらにsSJの形成機構を解明する目的で，sSJの形成異常を指標に実施したショウジョウバエの遺伝学的スクリーニングにより同

定した新規の膜貫通型タンパク質 CG13704 について解析を進めた。CG13704 は腸管上皮細胞の sSJ への特異的な局在を示し，新規の sSJ 構成分子であることが明らかになった。CG13704 の機能を解明するために，CRISPR/CAS9 法により CG13704 の変異系統の作出を試みた結果，CG13704 遺伝子に塩基欠損を含む系統を得ることに成功した。この変異系統は幼虫期に致死であることから，CG13704 が生存に必須な分子であることが明らかになった。

Vangl2 がその結合タンパクを制御する仕組み

永岡唯宏，古瀬幹夫，岸　将史

平面内細胞極性の制御因子 Vangl2 は哺乳類の神経系において不可欠な役割を担っている。我々は，これまでに神経シナプスにおいて Vangl2 が細胞接着分子 N カドヘリンと結合し，その動態を制御することを示した。前年度に同様の制御機構が神経管の閉鎖にも重要であることを見出したが，今年度はその分子レベルでの理解を深めるための解析を行った。具体的には Vangl2 の過剰発現が Prickle2 の発現量を低下させる際に，Drosophila の系で Vang が Prickle を減少させるのと同様，タンパク質のユビキチン化が働いていることを明らかにした。今後は，このメカニズムが実際に in vivo で働いているのかどうか解析して行く予定である。

細胞生理研究部門

【概要】

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

マウス褐色細胞での TRPV2 の機能

Wuping Sun，内田邦敏，富永真琴

マウス褐色脂肪細胞に，他の温度感受性 TRP チャネルと比較して TRPV2 が遺伝子レベル，たんぱく質レベルとも強く発現することが分かった。マウス褐色脂肪細胞の分化の進展に従って TRPV2 電流が大きくなることも

分かった。TRPV2 欠損マウスの褐色脂肪細胞では，UCP1 を含む熱産生に関わる分子の発現が減弱しており，β 受容体刺激による発現量増加も小さかった。TRPV2 欠損マウスの褐色脂肪細胞は大きく，脂肪蓄積が多かった。TRPV2 欠損マウスでは，冷環境下で体温が維持できず，冷刺激による UCP1 の発現増加も小さかった。また，β 受容体刺激による褐色脂肪での熱産生が著しく低下していた。TRPV2 は褐色脂肪細胞で活性化して，UCP1 の発現増加から熱産生の促進もたらしていることが明らかになった。さらに，マウス褐色脂肪細胞の分化初期においては，TRPV2 活性はカルシニューリン経路を介して，むしろ分化を抑制することも明らかになった。

進化におけるカエルの温度感受性変化と TRPV1 の熱感受性の変化

齋藤　茂，富永真琴

アフリカツメガエルと西ツメガエルはともにアフリカに生息するが，生息域の環境温度が異なり，アフリカツメガエルはより高温刺激への感受性が強い。アフリカツメガエル熱センサーTRPA1 の熱感受性は西ツメガエル TRPA1 より強かった。今一つの熱センサーTRPV1 の熱感受性も２つのカエルで異なり，アフリカツメがル TRPV1 は繰り返し熱刺激で脱感作し，西ツメガエル TRPV1 は逆に感作して，その活性が次第に大きくなった。アフリカツメがル TRPV1 と西ツメガエル TRPV1 のキメラ体解析および点変異体解析によって，この機能の違いに関わるアンキリンリピートドメインの３つのアミノ酸残基を同定した。アフリカツメがル TRPV1 と西ツメガエル TRPV1 では，カプサイシン感受性も異なり，それに関わる１つのアミノ酸残基も同定した。

阻害剤 HC-030031 のヒト TRPA1 への結合部位の同定

Rupali Gupta，齋藤　茂，富永真琴

HC-030031 は，ヒト，マウス，ニワトリ，グリーンアノールトカゲの TRPA1 活性を阻害するがカエル TRPA1 には効果がない。そこで，ヒト TRPA1 とカエル TRPA1 のキメラ体を作製して解析したところ，第２細胞内ループから第６膜貫通ドメインにかけての部位が関与することが分かった。その領域でのヒト，マウス，ニワトリ，グリーンアノールトカゲの TRPA1 で保存されていてカエル TRPA1 で異なるアミノ酸のヒト TRPA1 点変異体をスクリーニングして，ヒト TRPA の第２細胞内ループ（第４，５膜貫通ドメイン間）の 855 番目のアスパラギンを同定した。カエル TRPA1 ではセリンであった。カエル TRPA1 にアスパラギンを導入した点変異体は HC-030031 感受性であった。ゼブラフィッシュ TRPA1 も HC-030031 感受性がなく，同部位のアミノ酸はアルギニンであった。ヒト TRPA1 の 855 番目のアスパラギンとカルボキシル末端が相乗的に HC-030031 感受性に関わることも分かった。分子動力学的解析によって，ヒト TRPA1 の 855 番目のアスパラギンと HC-030031 の安定的な結合が観察された。

TRPV1, TRPM8 の阻害剤効果の相互関係

高石雅之，内田邦敏，鈴木喜郎，富永真琴

メントールは鎮痛薬・鎮痒薬として長く使われているが，その分子メカニズムは明らかではなく，TRPM8 以外のタンパク質に作用する可能性が指摘されている。カプサイシンや熱刺激によるヒト TRPV1 電流がメントー

ルによって濃度依存的に抑制されたが，熱による活性化温度閾値に変化はなかった。メントールによる TRPV1 活性阻害は Ca^{2+} imaging 法によっても確認された。同様に，メントールや冷刺激によるヒト TRPM8 活性の濃度依存的な抑制が，パッチクランプ法と Ca^{2+} imaging 法によって観察された。TRPV1 と TRPM8 の点変異体解析によって，メントールとカプサイシンの作用部位は，それぞれ TRPV1 のカプサイシン結合部位，TRPM8 のメントール結合部位とは異なることが分かった。また，ヒトを使った感覚の実験で，カプサイシン類似化合物の VBE による灼熱感がメントールの同時投与によって有意に減弱した。メントールの鎮痛作用のある部分は TRPV1 の抑制によってもたらされていると考えられた。

心循環シグナル研究部門

【概要】

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

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

冨田拓郎，西田基宏

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

心臓の硬化（線維化）における TRPC3-Nox2 複合体形成の役割

北島直幸，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏

組織の線維化は多くの疾患において機能不全を起こした終末期における病態として認識される。心臓においても，長期的な機械負荷刺激が間質の線維化を惹起することが知られている。本研究において，我々は，カルシウム透過性カチオンチャネルである transient receptor potential canonical 3 (TRPC3)が NADPH oxidase 2 (Nox2) と安定複合体を形成し，機械的伸展誘発性の ROS 産生に寄与することを明らかにした。ラット単離心筋細胞にお

いて，TRPC3 阻害剤 Pyr3 および siRNA 処置は，機械伸展刺激に惹起される Nox2 の活性化を抑制した。TRPC3 はNox2 と複合体を形成することにより Nox2 タンパク質を安定化させた。TRPC3 欠損マウスを用いた結果，大動脈狭窄による圧負荷で惹起される心肥大は全く抑制されなかったものの，心臓の酸化ストレスと線維化（硬化）がほぼ完全に抑制されていた。以上のことから TRPC3-Nox2 機能的連関は，圧負荷による心臓の硬度（線維化）を誘導する重要な創薬標的となりうることが示唆された。

P2Y6R によるアンジオテンシン II 誘発性高血圧発症の分子機構

西村明幸，Caroline Sunggip，西田基宏

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

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

Supachoke Mangmool，島内　司，西田基宏

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

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

本研究部門は，視床下部による摂食行動の調節と末梢組織における代謝調節機構の解明を目指して研究を行っている。視床下部は，摂食行動（エネルギー摂取）とエネルギー消費機構（栄養代謝）を巧みに調節することによって生体エネルギーを一定に保つ重要な働きを担う。しかし，近年，この調節機構の異常が肥満，糖尿病，高血圧など，生活習慣病の発症と密接に関連することが明らかとなってきた。当部門では，視床下部における生

体エネルギー代謝の調節機構を分子レベルで解明し，その分子機構を通して生活習慣病など様々な疾患の原因・治療法を明らかにしたいと考えている。本年度実施した主たる研究課題は次の通りである。１）社会的ストレスが引き起こす炭水化物食選択行動に及ぼす神経ペプチド NPY の作用，２）AgRP の長期摂食促進作用に及ぼす Dmbx1 の効果，３）高脂肪食により引き起こされる胃炎に及ぼすレプチンシグナルの効果。

社会的ストレス誘導性炭水化物食選択行動に及ぼす神経ペプチド NPY の作用

佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦

AMPK (AMPK-acitavted protein kinase) は, 代謝センサーとして知られており, 視床下部においては摂食調節に関与する。私共は，これまでに，視床下部室傍核 CRH ニューロンが AMPK を介して，社会的ストレス後の炭水化物選択行動を促進することを明らかにしてきた。炭水化物食の摂取を高める神経伝達物質として，norepinephrine と NPY がある。そこで本研究では，norepinephrine と NPY が，社会的ストレス後の炭水化物選択行動にどのような調節作用を及ぼすかを調べた。まず，norepinephrine と NPY の各受容体拮抗薬を室傍核に投与して効果を調べた。その結果, NPY 受容体拮抗薬によって社会的ストレス後の炭水化物選択行動が抑制された。Norepinephrine 受容体の拮抗薬では抑制されなかった。室傍核には視床下部弓状核と背内側核の NPY ニューロンが軸索を延ばしている。そこで，次に，社会的ストレス後にこれらの神経核での NPY の発現を調べたところ，背内側核において NPY の発現が増加していた。さらに，室傍核に NPY を選択的に投与すると，炭水化物選択行動が促進すると同時に，室傍核 CRH ニューロンの AMPK も活性化していた。以上の結果から，社会的ストレスが，視床下部背内側核の NPY ニューロンを活性化させ, それによって CRH ニューロンの AMPK を活性化，炭水化物選択行動を促進すると考えられる。

AgRP の長期摂食促進作用に及ぼす Dmbx1 の効果

Eun Young Lee，三木隆司（千葉大学大学院医学研究院代謝生理学）
廣野誠一郎，佐伯直勝（千葉大学大学医学部脳神経外科）
福田隆浩（東京慈恵医科大学料理学講座神経病理学）
岩永敏彦（北海道大学大学院医学研究科組織細胞学）
箕越靖彦

Dmbx1 は，脳特異的ホメオドメイン転写因子であり，ICR マウスにおいてこの遺伝子をノックアウトすると，摂食促進ペプチド AgRP による長期に及ぶ摂食促進効果が消失し，マウスはやせることが知られている。しかし，どの時期にまたどの場所に発現する Dmbx1 が，AgRP による摂食促進作用に及ぼすかは全く不明であった。本研究は，Dmbx1 の調節作用を明らかにするために，Dmbx1 成熟後にノックアウトして AgRP による摂食促進作用に及ぼす効果を調べた。その結果，成熟後にノックアウトしたマウスでも AgRP による摂食促進作用が消失した。Dmbx1 は主に胎生期に発現することが知られているが，このことから，AgRP による摂食促進作用は成熟後においても，Dmbx1 が必要であることが分かった。次に，Dmbx1 の発現場所を調べたところ，外側傍脚核(LBN)に限局して発現することが分かった。さらに，AgRP を投与すると LBN において cFos の発現が亢進していた。以上のことから，LBN に成熟後発現する Dmbx1 が AgRP による摂食促進作用に関与することを強く示唆する。

レプチンシグナルは高脂肪食摂取によって引き起こされる萎縮性胃炎の発症に関与する

稲垣匡子（県立広島大学生命科学科）
松本　敏，堀　徹治（ヤクルト中央研究所微生物研究所）
片岡寛章（宮崎大学医学部病理学講座腫瘍･再生･病態学分野）
岡本士毅，高木一代，齊藤久美子，唐　麗君，箕越靖彦

萎縮性胃炎がしばしば肥満に伴うことは知られているが，そのメカニズムは不明である。レプチンは脂肪組織だけでなく，胃からも分泌され胃癌と関連することが明らかとなっている。本研究では，高脂肪食摂取によって引き起こされる萎縮性胃炎に，レプチンシグナルインスリンがどうような調節作用を及ぼすかを調べた。その結果，同マウスに高脂肪食を与えると胃粘膜の増殖を引き起こすと共に，レプチンの発現が増加することを見出した。胃粘膜の過形成では，Ki67 陽性の細胞が増加，炎症を伴う胃腺の萎縮を伴っていた。高脂肪食を摂取して 1 週間で，レプチン受容体，レプチン受容体の下流シグナルである STAT3, Akt, ERK が活性化していた。また，ヒト腸管異形成において認められるように Muc2 及び Cdx2 の発現も増加していた。これに対して，レプチン及びレプチン受容体を欠損した ob/ob 及び db/db 肥満マウスでは, Cdx2 の発現や萎縮性胃炎は起こっていなかった。以上の実験結果から，高脂肪食摂取によって引き起こされる萎縮性胃炎の発症に，レプチンシグナルインスリンが関与することが示唆される。

基盤神経科学研究領域

神経シグナル研究部門

【概要】

痛みは，感情の変化を伴う体験であり，感覚的側面と情動的側面から構成される。情動的側面に関わる神経回路を解き明かすため，覚醒動物の前帯状回からニューロン活動を記録する方法を確立した。さらに光遺伝学の手法を取り入れるなど，引き続き新しい実験技術の開発を推進している。その他には，記憶・学習，運動制御など多くの生理作用に関わると考えられている，内因性カンナビノイドの作用機序を追究した。逆行性シナプス脱興奮をモデルに検討を行い，CB1 カンナビノイド受容体の下流において，$Ca_v2.2$ チャネルと $Ca_v2.3$ チャネルは機能的に補完関係にあること（相補的作用）を発見した。また当部門にて作製した，Ca^{2+}/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ IIα (CaMKIIα) のリン酸化機能不活性型ノックインマウスを用いて行動解析を実施し，海馬が担う空間認識記憶が CaMKIIα のハプロ不全により著しく障害されることを見出した。タンパク質リン酸化酵素の発現量－機能連関を追究する優れた実験モデルと考え，系統的な検討を進めている。

覚醒下前帯状回における感覚応答の修飾機構

古江秀昌，山田彬博，中川達貴，井本敬二

痛みには組織傷害を感知する生体警告系としての感覚と，快・不快に加え感情や共感を含めた痛みの情動的側面がある。感情や共感を含む痛みの情動的側面には前帯状回が関与すると考えられているが，その詳細は不明なことが多い。そこで前年度から引き続き前帯状回からの解析を遂行し，新たな記録法の開発などを行った。In vivo 前帯状回ニューロンは皮膚への機械的刺激により発火頻度を増加したが，その応答や自発性の活動は麻酔深度の影響を受けた。そこで，覚醒下に前帯状回ニューロンから神経活動を記録する方法を開発した。行動実験で用いる von Frey 刺激を後肢に加えると，前帯状回ニューロンの神経発火増加の持続性の応答が見られるなど興味深い応答が得られた。今後さらに，光や薬理遺伝学等を用い前帯状回の活動が如何に修飾されるかをノルアドレナリン神経等をターゲットに詳細な解析を進める予定である。

カンナビノイド CB1 受容体が仲介する逆行性脱興奮における Ca_v2 チャネルの役割：サブタイプ間相補的作用の存在

佐竹伸一郎，井本敬二

小脳顆粒細胞－分子層介在ニューロン間のグルタミン酸 (Glu) 作動性シナプスでは，介在ニューロンの一過的な脱分極に伴い，内因性カンナビノイドと前シナプス性 CB1 受容体に依存した逆行性脱興奮（即ち，Glu 入力の抑制；depolarization-induced suppression of excitation, DSE）が惹起される。薬理学的手法を用いて，Ca_v2 チャネルサブタイプが CB1 受容体により仲介されるシナプス前抑制において担う役割を検討した。DSE は，$Ca_v2.2$（*N* 型）チャネル阻害薬 ω-conotoxin GVIA ならびに $Ca_v2.3$（*R* 型）チャネル阻害薬 SNX-482 の同時投与により完全に消失した。一方，各阻害薬の単独投与は DSE に無効であった。また，両阻害薬が顆粒細胞－分子層介在

ニューロン間興奮性シナプス後電流 (EPSC) を減弱させる作用は閉塞的 (occlusive) であった。これらの結果は，$Ca_v2.2$ チャネルと $Ca_v2.3$ チャネルが，顆粒細胞 CB1 受容体の下流において，相補的な様式でシナプス前抑制に関わっていることを示唆している。

海馬依存性記憶とカルモジュリンキナーゼ II 活性

山肩葉子，柳川右千夫（群馬大学），井本敬二

Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II は，脳に多く存在し，学習・記憶の分子メカニズムに関わることが知られている。中でも神経細胞に特異的に発現するαアイソフォームが重要で，実際，我々が作製したカルモジュリンキナーゼ IIα の不活性型のノックインマウスでは，海馬依存性の記憶が強く障害されている。しかしながら，どのくらいの量のキナーゼ活性が，海馬依存性の記憶の形成に必要なのかはわかっていない。そこで我々は，カルモジュリンキナーゼ IIα 活性が野生型マウスの半分となったヘテロ変異型のノックインマウスを用いて，学習・記憶テストを行った。その結果，ヘテロマウスでは，水迷路学習において，海馬依存性の空間認識記憶が，ホモマウスと同じく障害されていた。この結果は，正常の半分のキナーゼ活性では記憶の形成に不十分であることを示している。現在さらに週齢の異なるマウスを用いて，詳しい解析を行っている。

大脳神経回路論研究部門

【概要】

大脳皮質の局所情報処理の基本には，皮質領野間と視床からの入力相互作用と，出力的には多様な脳部位への並列性がある。私たちは前頭皮質が感覚系皮質と異なり，情報処理の時定数が長いこと，大脳基底核と視床を介した閉ループ結合（基底核視床ループ）を作ることから，固有の局所回路を持つと考え，その実体回路の結合ルールとニューロン機能分化の解明を目標にしている。これまでに，GABA 細胞と皮質下構造へ投射する錐体細胞の構成原理を明らかにした。その過程で，基底核投射細胞のサブタイプによって結合伝達特性・選択性が異なり，直接路・間接路からなる基底核の上流にも多様な機能経路があることを見つけた。さらに，基底核投射錐体細胞は皮質間投射にも関わり，サブタイプごとに皮質間投射の領野・層選択性が異なる。これは皮質領野間結合と基底核視床ループが体系的に連携して機能することを示している。現在は，前頭皮質機能に本質的な基本構造（標準回路）を抽出するために，以下の事を行っている。皮質領野投射系細胞の結合則と，視床入力のシナプス結合選択性を解析する事で，皮質領野間結合と基底核視床ループの局所回路を統合させる。前頭皮質 GABA 細胞サブタイプの錐体細胞サブタイプへの結合様式・作用を明らかにする。皮質シナプス結合のコネクトーム解析を行うために，大容量電子顕微鏡・三次元構造解析法を発展させる。

ATUMtome ための新規テープの開発

窪田芳之，畑田小百合，孫　在隣，川口泰雄

ATUMtome は超薄切片をテープ上に自動回収するウルトラミクロトームである。従来の手を使った方法に比べて，連続超薄切片を簡単かつ確実に回収できる。走査電顕 (SEM)を使えば，テープ上の連続切片から電顕像を効率的に撮影できる。しかし，現在使われているカーボンコート表面処理した Kapton テープは，導電性が低いた

めに，SEM 観察時に切片に電荷が蓄積し，画像撮影が困難となることがあり，シナプス結合同定の障壁になっている。私たちは SEM を使った高解像度の電顕像を取得するために，導電性が非常に高く，表面が均一で起伏がない carbon nanotube (CNT)テープを導入した。CNT テープ上の連続超薄切片を SEM で撮影したところ，従来使われていたテープと異なり，シナプス微細構造を明瞭に観察できた。CNT テープは ATUMtome-SEM を使った神経系コネクトーム解析に最適なテープである。

運動学習における皮質サブネットワークの機能的役割

大塚　岳，川口泰雄

運動学習形成における皮質サブネットワークの役割について検討した。回転カゴを用いた強制運動において，カゴの足場バーの間隔を変え，バー間隔のパタン学習をラットに行わせた。バーからの脱落回数は，トライアルごとに減少し，学習形成がみられた。そこで，運動野の 2/3 層や 5 層錐体細胞サブタイプ選択的にチャネルロドプシンを子宮内電気穿孔法を用いて発現させ，学習中の神経活動を光操作した。その結果，2/3 層や 5 層 PT タイプの錐体細胞を光刺激した時に学習形成が早くなった。また，アーケロドプシンを発現させ活動を抑制した結果，5 層 PT 細胞を操作した場合に学習形成が遅くなった。さらに，光操作によって誘発される神経活動をスライス標本を用いて検討した結果, 2/3 層や 5 層 PT タイプの錐体細胞を光刺激した時に 5 層 PT 細胞にオシレーション活動が誘発されることがわかった。これらの結果は，5 層 PT 細胞によるオシレーション活動が学習形成に関与していることを示唆する。

前頭皮質 5 層の錐体細胞サブタイプから抑制性 LTS 細胞への結合様式

森島美絵子，川口泰雄

前頭皮質 5 層には投射先が異なる 2 種類の錐体細胞，橋核投射細胞と対側線条体投射細胞がある。錐体細胞サブタイプ間では興奮性結合選択性とシナプス伝達特性が異なる。これら 2 種類の錐体細胞から GABA 作動性細胞の主要なサブタイプであるパルブアルブミン陽性 FS 細胞とソマトスタチン陽性 LTS 細胞への興奮性結合を調べたところ，LTS 細胞への結合様式は錐体細胞サブタイプによって異なっていた。LTS 細胞への興奮性シナプスの短期可塑性は，特に高頻度刺激(40Hz)で，橋核投射細胞からの入力強度が加速度的に上昇するのに対して，対側線条体投射細胞からの強度は一過性に上昇した後，減弱した。5 層では錐体細胞がサブタイプごとに，ソマトスタチン LTS 細胞への興奮性結合様式・伝達特性を変えることで，その出力チャネル活動が選択的に抑制制御されると考えられる。

大脳皮質興奮性細胞の分類とその細胞系譜

畠中由美子，服部宣子，川口泰雄

大脳皮質興奮性神経細胞は，培養系において，幹細胞から直接分化するものと，増殖性神経前駆細胞を介して分化するものがあることが知られている。しかし，生体内において，これら分化様式が皮質神経細胞の多様性形

成にどのように寄与しているかは不明である。本研究では増殖性神経前駆細胞の寄与を解析するため，Neurogenin2-CreERT2 マウス（遺伝研平田先生より供与）を導入した。CreERT2 は幹細胞には発現せず幼若神経ならびに神経前駆細胞で発現していた。Cre 依存的に増殖性細胞でレポーターを発現するマウスと交配したところ，1 つの前駆細胞からは初期投射と分子発現を共有するペア神経細胞が生じることがわかった。その後生後 3 週齢になると，形態は似ているが，樹状突起分岐や細胞体の位置が深さ方向で異なるペアが見られた。以上より，前駆細胞を介した分化も皮質神経細胞多様性形成に寄与している可能性が示唆された。

前頭皮質のレイヤー・ニューロンタイプ・表面領域に依存した視床入力形成

川口泰雄，重松直樹（熊本大学）

前頭皮質への主要な興奮性入力の一つに，基底核や小脳出力を伝える複数の視床核からの視床皮質投射がある。前頭皮質の視床終末は 3 層と 5 層下部（5b 層）で特に密度が高く，そこにある多様なニューロンタイプにシナプスを作ると考えられる。そこで，視床細胞軸索が 3 層や 5b 層のニューロンタイプ，あるいは単一ニューロン上の細胞表面部位ごとに選択的にシナプスを作るのか，あるいは局所での興奮性終末全体の中での視床終末の割合に応じてシナプスを作るのかどうかを調べた。その結果，視床入力形成は同じ局所でのニューロンサブタイプや，その表面領域ごとに大きく異なり，同じ分子・発火特性を共有するサブタイプであっても，視床入力様式は 3 層と 5b 層で異なっていた。前頭皮質への視床軸索シナプス形成がサブレイヤーとニューロンサブタイプの両方に依存して組織化されていることが分かった。

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の可視化技術の確立および技術向上をおこなった。これらの技術を利用して，発達期や障害における大脳皮質神経回路の変化を検討するために，シナプスの長期変化の観察およびその制御機構の解明，特に各種グリア細胞の関与について検討を行っている。

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

人事として，広島大学神経内科講座から竹田育子研究員が参画した。一方，宮本愛喜子研究員が神戸大学医学部特命助教，中畑義久 JSPS 特別研究員が米国マックスプランク・フロリダ研究所に研究員，総研大大学院生の中村佳代が豊橋創造大学助教，同穐吉亮平が帝京大学病院医師として移動した。

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

堀内　浩，和氣弘明，宮本愛喜子，穐吉亮平，春若航一路，鍋倉淳一

発達期における神経回路構築・再編を観察する目的にて，幼若期の大脳皮質錐体細胞とミクログリア細胞を 2 光子顕微鏡法による同時可視化する技術を構築した。ミクログリアの樹状突起への接触によりフィロポディアの形成が誘発されることを生体リアルタイムイメージング法を用いて観察した。さらに，ジフテリアトキシンをミクログリアに発達時期特異的に発現させ，ミクログリア細胞の大部分を生後１週目に死滅させると大脳皮質体性感覚野第２・３層錐体細胞におけるシナプス数の減少が観察され，ミクログリアによるシナプス新生という新たな機能を見出した。このミクログリアによるシナプス新生は未熟期に限定しておこり，成熟後の大脳皮質第４層から２・３層への入力の構築にかかわっていることが判明した。このミクログリアによるシナプス新生は未熟期に限定して起こることから，発達期における脳内免疫環境が成熟後の脳機能へ影響を与える可能性が示唆される。２）ミクログリアがシナプスに接触するとスパイン内カルシウムイオン濃度が上昇することが判明した。これにより接触される神経細胞活動の上昇を引き起こし，局所回路の同期活動を促進していることが分かった。これは覚醒下におけるシナプスとミクログリアの接触を観察するという非常に高度な技術により観察可能となった，今後は同期活動と運動学習の関連をミクログリアの除去を行ったマウスを用いて観察する予定である。

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

ミクログリアがシナプス構造への接触によりミクログリア内のシグナル伝達の解明を目指して，現在　カルシウム感受性蛍光蛋白質をミクログリアに発現する遺伝子改変マウスの作成を行っている。

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

江藤　圭，竹田育子，金　善光（Kyung Hee Univeristy 韓国），鍋倉淳一

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

末梢感覚神経の部分傷害後に末梢感覚神経の過剰活動と痛覚過敏が持続する。痛覚過敏形成時に限定して，大脳皮質錐体細胞のシナプスの新生・消失が更新し，その後ターンオーバー率は傷害前の値に戻るが感覚過敏は長期にわたり持続する。慢性疼痛時には，大脳皮質感覚野細胞の活動の増強が観察された。これらから，慢性疼痛時における大脳皮質感覚野における回路再編による過剰応答回路の形成が持続する慢性疼痛発症の一因である可能性が示唆される。さらに，大脳皮質神経回路再編時には，アストロサイトにおける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。アストロサイトによるシナプス再編の関与について検討を行い，アストロサイトから放出されるトロンボスポンジンが痛覚過敏増悪期に限定したシナプス再編を惹起していることが判明した。また，障害末梢側と同側大脳皮質においてもアストロサイト活動が上昇していることが判明し，同部位におけるシナプス再編と障害末梢と対側末梢に発症するミラーペインとの関連を検討している。

細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能

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

未熟期および虚血や痙攣時に GABA は興奮性伝達物質としての作用を獲得する。$GABA_A$ 受容体の細胞応答はに内蔵するチャネルを流れる Cl^-イオンの向きによって決定されるため，細胞内 Cl^-イオン濃度によって GABA は興奮性／抑制性が決定される。この細胞内 Cl^-イオン濃度は神経細胞特異的に発現する K^+-Cl^-トランスポーターである KCC2 によって主に制御されている。ドキシサイクリンにより KCC2 発現をコントロール可能な tetO マウスを作成し，CAMK2-TTA マウスと交配し，大脳皮質および海馬錐体細胞，脊髄前核細胞における KCC2 の発現をコントロール化の可能なマウスを作成した。

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

オーストラリア国連邦 New South Wales 大学へ KCC2 過剰発現マウスを送付し，慢性的な痙攣発症における GABA 機能の低下との関連について共同研究を行っている。

伝達物質のスイッチングのメカニズム細胞応答

中畑義久，鍋倉淳一

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

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

視覚情報処理研究部門

【概要】

大脳皮質の機能は，生まれ育った環境に適応するために，生後の経験や学習に依存して柔軟に発達する。このような機能発達は，大脳皮質のシナプス・神経回路が可塑的に調節されることにより成立すると考えられている。本研究部門では，大脳皮質の機能と神経回路の発達メカニズムを明らかにすることを目指し，様々な発達段階および生後の視覚体験を操作して飼育したラット・マウスの視覚系を対象に，視覚機能および視覚野神経回路が可塑的に調節されるメカニズムの研究を行っている。また，視覚情報処理がどのような神経回路を基盤として行われているかについての解析も進めている。具体的な課題として，１）大脳皮質一次視覚野の特異的神経結合による微小神経回路網の形成メカニズムとその情報処理における役割，２）神経結合および視覚反応の発達における視覚経験の役割，３）発達初期の遺伝的プログラムに基づく視覚反応性獲得の分子メカニズム，４）視覚誘発性の行動課題を担う神経活動の解析を実施している。以下に本年度に行った研究内容の要約を記載する。

視覚野における同期発火の刺激特徴依存性は層により異なる

石川理子，吉村由美子

一次視覚野(V1)が投射先に視覚情報を伝達するには，複数の細胞が同期して活動することが重要である。我々はこれまでに，V1 神経細胞の同期発火の発達機構は浅層(2-4 層)と深層(5/6 層)で異なることを見出している。V1 神経細胞は特定の方位や空間周波数に選択的に応答するので，本年度は視覚反応選択性と同期発火の関係を精査した。麻酔したラットの V1 から様々な方位・空間周波数特徴をもつ視覚刺激に対する神経活動を記録し，層ごとに解析した。浅層では， 類似した方位・空間周波数選択性を持つ神経細胞ペアが高い割合で同期発火した。一方，深層細胞ペアの同期発火は空間周波数選択性の類似度に依存したが，方位選択性には依存しなかった。従って，浅層神経細胞の同期発火は，視覚対象の方位と空間周波数情報をその投射先である高次視覚野に伝達し，深層の同期発火は方位情報よりも空間周波数情報を皮質下に伝達すると考えられる。

ラット一次視覚野の 5 層錐体細胞における神経結合特性

唐木智充，吉村由美子
尾藤晴彦（東京大学医学部神経生化学教室）

大脳皮質一次視覚野における神経結合の層特異的な特性を明らかにする目的で，ラット一次視覚野の 2/3 層および 5 層錐体細胞間の神経結合を，視覚反応と対応付けて調べた。神経活動依存的な人工プロモーター（E-SARE）の制御下で蛍光蛋白 Venus を発現する遺伝子をアデノ随伴ウイルスベクターにより一次視覚野に導入後，覚醒状態で縦縞の視覚刺激を提示し，それに応答した細胞に Venus を発現させた。この視覚野より切片標本を作製し，2/3 層あるいは 5 層内の Venus 陽性ペアおよび Venus 陽性・陰性ペアから同時ホールセル記録を行い，神経結合の有無を調べた。その結果，視覚野 2/3 層および 5 層において最適方位が類似する錐体細胞は選択的に神経結合していた。さらに 5 層では同じタイプの錐体細胞が高い確率で結合していた。以上の結果は 5 層内興奮性神経結合は，視覚反応選択性と細胞タイプの両方に依存して形成されることを示唆する。

二光子励起顕微鏡を用いた，機能的な一次視覚野神経回路の形成メカニズム

宮下俊雄，吉村由美子
三宝　誠，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）
八木　健（大阪大学大学院生命機能研究科）

本研究では，胎生期に発現する DNA メチル基転移酵素 Dnmt3b が生後の視覚野神経細胞の視覚反応形成に関与するかを調べた。胎生致死である Dnmt3b ノックアウト(KO)マウスより iPS 細胞を樹立し，その iPS 細胞を野生型胚に移植してキメラマウスを作成した。このキメラマウスに様々な方位と空間周波数よりなる縞刺激を呈示し，同一個体の一次視覚野にある KO 型並びに野生型細胞の視覚応答を，二光子励起カルシウムイメージングにより記録した。

Dnmt3b KO 細胞と野生型細胞の視覚刺激に対する応答強度には差がなかった。KO 細胞の空間周波数選択性は野生型細胞と同程度であったが，方位に関しては最適刺激以外の刺激に対する応答が高く，その結果として方位選択性が野生型細胞群に比べて低かった。以上の結果は，胎生期のゲノムメチル化が神経細胞の反応特性に影響を与える可能性を示唆する。

視知覚・運動連関に関する一次視覚野の神経活動

木村梨絵，吉村由美子

動物は，外部の刺激を知覚・認知して，特定の運動出力をする。外部の刺激が多少あやふやでも，同一の運動出力が可能であることから，柔軟な情報処理機構が存在すると考えられる。

縦縞/横縞の提示により，それぞれレバーを押す/引くという視覚弁別誘発性の運動課題をラットに学習させた後，視覚刺激のコントラストを下げ，弁別が困難な課題を実施した。この課題遂行中に一次視覚野深層の発火活動をマルチユニット記録した。

その結果，一次視覚野の興奮性・抑制性細胞の中で，高コントラストよりも低コントラストで強く応答する細胞が課題遂行中に観察された。この低コントラスト選択性の細胞は，麻酔下では，ほとんど観察されなかったため，トップダウン入力が関与している可能性が示唆された。また，この細胞は，低コントラストを用いた弁別課題の正解時に強く応答する傾向があったことから，曖昧な刺激を弁別するのに貢献すると考えられる。

システム脳科学研究領域

感覚認知情報研究部門

【概要】

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

サル下側頭皮質微小電気刺激による，光沢識別行動への影響

馬場美香，西尾亜希子，小松英彦

これまで我々は，特定の光沢に選択性を持つ細胞が，サル下側頭皮質上側頭溝下壁に限局して存在している事を明らかにしてきた。そこで，これらのニューロン群の活動と光沢知覚との因果関係を直接的に明らかにするために，サルに光沢識別課題を訓練し，課題遂行中のサルの神経細胞群に微小な電気刺激を加えた時，識別課題のパフォーマンスがどのように変化するかを調べた。その結果，電気刺激を与えて強制的に神経細胞を発火させた際に，光沢識別課題のパフォーマンスが変化する領域が存在する事が分かった。これは，電気刺激を行った周辺の脳領域が光沢知覚に影響を与えていることを示唆している。また，このように電気刺激によって影響をうける領域が脳内でどのような分布になっているかを調べるために，３次元的なマッピングを行っている。

物体の材質を表現する視覚特徴

郷田直一，小松英彦

我々は様々な物体を見て，金属・木材などその材質の種類や，表面の手触りや硬さ・重さなどの特性を瞬時に認識する。このような材質の種類や特性の認識はどのような画像特徴を手掛かりにしているのか，また，その画像特徴の抽出には，どのような神経機構が関わっているのかは未だ十分に明らかでない。本研究では，材質認識に関わる画像特徴の候補として深層畳み込みニューラルネットワーク（CNN）特徴をとりあげ，これらと材質感（材質特性の視覚印象）との対応について調べた。その結果，一般に CNN 高次畳み込み層/プーリング層の特徴表現が材質感とよく対応することが見出された。また，硬さ，重さなどの非視覚的な材質特性については，光沢等の視覚的特性に比べてより高次の層の特徴表現と対応する傾向が見られた。非視覚的な材質特性の認識にはより複雑/大域的な画像特徴が関係していることが示唆される。

素材画像刺激に対するマカクザル下側頭葉皮質ニューロンの反応

横井　功，小松英彦

素材知覚の神経メカニズムを明らかにするために，９種類の素材カテゴリー（金属，ガラスなど）からなる素材画像刺激（計３６画像：９カテゴリー×各４サンプル）を注視課題遂行中のサルに呈示し，単一細胞外電位記録法を用いて下側頭皮質（IT 野）のニューロンから視覚応答を記録した。多くのニューロンは一種類または数種類の素材カテゴリーに属する複数の刺激に対して強く反応し，素材カテゴリーに対してある程度選択的な反応を示した。一方，少数のニューロンは数種類の素材画像に対してのみ強く反応し，鋭い選択性を示した。これらの選択的反応は２頭のサルで共通に見られ，IT 野には様々な素材を選択的に表現するニューロンが多く存在することが明らかになった。これらの結果は，IT 野のニューロンが素材知覚の元となる神経表現に関与している可能性を示唆する。

プロジェクションマッピング刺激に対するサルの行動反応と生理反応

横井　功，小松英彦，岩井大輔（大阪大学）

プロジェクションマッピング（ＰＭ）技術の脳科学実験への応用の可能性を探るため，さまざまな素材（金属，布など）の実物刺激とそれを模擬したＰＭ刺激に対して２頭のニホンザルに把持課題を行わせ行動を比較した。ＰＭ刺激は，実物刺激を呈示したときにサルが触れることを避けた素材（布と毛）に対して反応時間の延長を示した。実物刺激とＰＭ刺激でみられた触れることを避ける（または躊躇する）行動は負の情動によって引き起こされていると推測される。このことを実験的に明らかにするために，把持課題を遂行中のサルから複数の生理反応（顔の表面温度，心拍数，瞳孔サイズ）を記録した。心拍数と瞳孔サイズについては素材間での明らかな差を示さなかった。顔の表面温度（特に鼻周辺）は，実物刺激とＰＭ刺激のいずれにおいても，毛の刺激を呈示したときに他の刺激よりも低いことが明らかになった。これらの結果は，ＰＭ刺激が実物に近いリアルな質感を表現していることと，サルが毛の刺激を避ける行動は負の情動によって生じていたことを示唆する。

液体粘性知覚の神経メカニズムの解明

眞田尚久，小松英彦

近年, 素材や光沢感など物体の質感の脳内表現が調べられるようになってきている。腹側経路 V4 野や IT 野において，素材やテクスチャ，光沢感など，静的な物体の質感に対する応答特性報告されたが (Okazawa et al. 2014, Nishio et al. 2011, 2014)，液体粘性知覚などの，運動を伴う質感情報処理についての生理学的知見は乏しい。

近年人の心理物理研究から, 液体粘性の知覚判断と相関する高次運動統計量が報告された (Kawabe et al. 2015)。本研究では, この高次運動統計量を電気生理実験の視覚刺激生成に用いることで, 液体粘性知覚が質感関連領野(IT 野)と視覚運動領野 (MT/MST 野) の両方から入力を受けている，高次視覚領野 FST 野で表現されているかどうかを調べ, その応答が MT 野とどのように違うのかを実験的に調べている。MT 野の神経細胞から記録を行った結果，一様運動に相関した活動は示したが, 高次運動統計量には選択的に応答しないことが分かった。今後 FST 野での記録を行い，領野間で比較をする予定である。

認知行動発達機構研究部門

【概要】

伊佐正教授が京都大学大学院医学研究科へ異動したことに伴い，平成 28 年 4 月 1 日より後任として磯田昌岐が着任した。実際には，伊佐教授は京都大学の研究室が整備される平成 28 年 7 月まで，生理学研究所において従来どおり研究活動を継続したため，磯田は前任地の関西医科大学と生理学研究所の間を行き来して，生理学研究所での業務をこなした。平成 28 年 8 月 1 日には，二宮太平が助教として着任した。その後，伊佐研究室が京都大学へ実質的に移動したことに伴い，研究室の本格的な整備と実験機器および実験動物（サル）の移動を開始した。

主な研究成果としては，東京大学大学院医学系研究科の大学院生（当時）であった吉田今日子氏と郷康広特任准教授が中心となって行った，ヒトの自閉スペクトラム症に類似した行動特性を示すニホンザルの行動解析，神経活動解析, ゲノム解析に関する論文が Science Advances 誌に発表された。本研究成果は多くの注目を浴び，主要全国紙を含む 18 紙で報道された。

その他，磯田が第 31 回塚原仲晃記念賞を受賞した。

ヒト発達障害・精神疾患解明のためのシステム神経生理学と認知ゲノミクスの融合

吉田今日子（東京大学大学院医学系研究科，湯河原病院），斉藤延人（東京大学大学院医学系研究科）
入來篤史（理化学研究所脳科学総合研究センター），郷　康広（新分野創成センター）
久島　周，尾崎紀夫（名古屋大学大学院医学系研究科），豊田　敦，藤山秋佐夫（国立遺伝学研究所）
今井啓雄（京都大学霊長類研究所），磯田昌岐

自閉スペクトラム症は，対人相互作用の障害と，限局的な興味や反復的な行動により定義される発達障害である。障害の根底には，「遺伝子の変異が関わり，何らかの形でその影響が脳に現れ，脳内の特定の状態が行動に影響する」という仕組みが存在するであろうと想定されている。しかし，ヒトの脳内を直接研究することは難しいため，今のところ，そのような仕組みを実証することはできていない。治療の根拠を固めるためには，基本的な仕組みを解明することが必要不可欠である。

本研究では，実験者との親和行動を欠くといった個体間の相互作用の障害，頻繁に自分自身の爪を噛むといった反復的行動，そして独自の行動ルールを固持するなど，ヒトの自閉スペクトラム症と類似した行動特性を示すニホンザルを見出し，多岐にわたる解析を行った。社会的認知機能を担うと考えられている前頭葉内側皮質領域の神経細胞活動を記録・解析した結果，定型発達個体とは異なり，他者の行動に応答する神経細胞がほとんど欠落していることが明らかになった。さらに，網羅的な遺伝子解析を行った結果，ヒトの自閉スペクトラム症や精神障害に関係する 2 遺伝子に変異があることが明らかになった。

本研究は，ヒト以外の霊長類動物において，自閉スペクトラム症に相当する発達障害の自然発生例を確認した世界初の報告である。遺伝子の変異から脳活動の変容が生じ，さらにそれが発達障害などで見られる非定型的な行動を引き起こす仕組みの一端を明らかにした点で画期的である。

マカクザルを用いた半側空間無視動物モデルの確立

吉田正俊，辻本憲吾，澤田真寛
福永雅喜（生理研 心理生理学）

【目的】半側空間無視とは主に右大脳半球の損傷によって引き起こされる，損傷と反対側の空間の感覚刺激に対する反応が欠如・低下する現象のことを指す。本研究はマカクザルによる半側空間無視の動物モデルの確立を最大の目的とした。【方法】4 頭のニホンザルで側頭連合野と前頭連合野とを離断するために右上側頭回を損傷させた。手術はイソフルレンによる全身麻酔下で行い，あらかじめ撮影した核磁気共鳴画像に基づいて，脳溝などの位置を指標として損傷目標部位を決定した。【結果・考察】回復後に行動評価を行った。ケージ内での行動観察からは，4 頭とも顕著な運動麻痺および視覚障害は見受けられなかった。無視症状の定量的評価のため，ヒト半側空間無視患者でのテストに用いられる線分抹消課題を参考にして「標的選択課題」を作成した。損傷後にこの課題の成績の低下，応答潜時の延長が見られたことから，無視症状が起きていることが確認できた。また，核磁気共鳴画像法を用いて構造画像を撮影して，目的の部位に損傷が作成されていることを確認した。また，3 頭の損傷動物では resting-state fMRI 法を用いることで頭頂連合野と前頭連合野の間の機能的結合が術後に低下していることを示唆する結果を得た。以上の結果から，右上側頭会の損傷によって，マカクザルにおける半側空間無視の動物モデルを確立することに成功したと結論づける。

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

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

統合失調症の中間表現型を探索するために本研究グループは以前，静止画像を自由視しているときの視線計測を行い，統合失調症患者では年齢などをマッチさせた統制群と比べて視線の移動距離が短くなっているなどの幾つかの点で眼球運動に違いが見られることを明らかにした (Miura et.al. 2014) 。ではこのような眼球運動の違いはなにから引き起こされるのだろうか？ 本研究では，自由視時に画像のどこに注意を向けるかが患者群と統制群とで異なっている可能性について検証した。著者が以前開発したサリエンシー計算論モデル(Yoshida et.al. 2012)によって，自由視時の視線位置を解析した。サリエンシー計算論モデルでは静止画像のうち輝度の違いや色の違いなどの低次の視覚属性によってどの位置が注意を惹くかを定量化する。視線位置のサリエンシーの大きさが各画像を 8 秒間見ている間にどのように時間変動するか計算し，患者群と統制群とで比較した。統制群では画像ごとに最初に視線を向けた位置のサリエンシーが最も高く，時間が経過するごとに視線位置のサリエンシーは低化していった。患者群でも同様な時間パターンは見られたが，全時間を通してサリエンシーは統制群よりもより高かった。さらにサリエンシー計算論モデルの代わりにベイジアン・サプライズ(Itti and Baldi 2009)を用いた解析によって時空間的サリエンスを評価するとこのような違いはさらに大きくなることが明らかになった。以上のことは統合失調症では自由視時に画像のどこに注意を向けるかに影響を受けていることを示唆している。以上のことは「精神症状の異常サリエンス仮説」とも整合的である。

マーモセットの静止画自由視時の視線データの計測

吉田正俊，デニス・マトロフ，伊佐　正
三浦健一郎（京都大学大学院医学系研究科認知行動脳科学）
南本敬史，須原哲也（放射線医学総合研究所）

マーモセットは小型霊長類の一種であり，ヒトと同様な視覚眼球運動システムを保持しているため，視覚的注意の動物モデルに適している。遺伝子操作動物などのモデル動物での視覚眼球運動系のスクリーニングを行うためには，頭部への固定具の埋め込みなどの非侵襲的な方法を必要としない実験方法と行動課題の確立が必要となる。そこでわれわれは熱可塑性樹脂を用いて頭部を柔らかく挟み込むことによって固定を行い，自由視課題によって自然画像を提示しているときの視線計測を行う方法を開発した。これまでに生理研，放医研，京都大学の 3 機関において 10 頭の健常マーモセットから同じ方法，同じ自然画像を用いて視線計測をすることに成功している。視線計測データの解析からは，サッカードの頻度，サッカードの振幅などにおいてヒトと同様な値が得られることを見出した。また，サッカードの振幅と最大速度の関係(主系列)もヒトと同様に見られることを見出した。以上のことはマーモセットを統合失調症や半側空間無視など視覚的注意に影響を及ぼす病態の動物モデルとして用いる際の行動評価系として，本実験方法が有用であることを示唆している。

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（関西医科大学医学部）
二宮太平，磯田昌岐

ヒトやサルなどの社会的動物は，自らの報酬のみならず，他者が得る報酬に対しても関心を示す。本研究では，自己と他者の報酬情報が脳内のどの領域でどのように処理されるのか，そして，他者の報酬情報は自己の報酬情報の処理に対してどのような影響を及ぼすのかを明らかにするため，サルをモデル動物とする実験系の開発と，行動解析および電気生理学的解析を行った。

まず，対面する 2 頭のサルに対し，自己と他者の認知下に古典的条件づけを行った。この「社会的古典的条件づけ」では，各条件刺激に対し自己と他者で異なる報酬確率を関連づけた。リッキング運動を指標としてサルの報酬期待行動を評価した結果，他者の報酬獲得確率が増加するにつれて，自己の報酬の主観的価値が低下することが示唆された。続いて中脳の黒質緻密部および腹側被蓋野のドーパミン神経細胞から単一神経細胞活動を記録した。リッキング運動と同様に，条件刺激提示後の神経活動は，自己の報酬確率とは正の相関を，他者の報酬確率とは負の相関を示した。このことから，中脳ドーパミン神経細胞は報酬の主観的価値を表現していると考えられた。

我々の先行研究により，内側前頭前野細胞は，自己の報酬情報か他者の報酬情報かを選択的に表現することが明らかにされている。中脳ドーパミン神経細胞の報酬情報表現は，内側前頭前野細胞のそれとは異なり，自己と他者の報酬情報を統合した結果としての主観的価値情報であると考えられる。

社会的コンテキストにおける動作情報処理の神経機構

二宮太平，磯田昌岐

他者の動作情報は，自己の行動を決定する上で重要な指針となりうる。我々が他者の動作を観察する際，動作そのものに加え，相手の意図や心情なども理解の対象となる。先行研究から，これらの情報は内側前頭前野や上側頭溝，また腹側運動前野といった脳領域において処理されていることが明らかになりつつある。しかしながら，これらの脳領域の機能連関については，その有無を含めて議論の対象となっている。

本研究では，自他の動作情報処理の広域神経ネットワーク機構を明らかにするため，実物または眼前のディスプレイ内にビデオ再生した他個体と，交互に行動選択タスクを遂行するサルから神経活動を記録する。内側前頭前野，上側頭溝および腹側運動前野を記録対象とし，単一神経細胞活動記録および局所電場電位（LFP）の多点同時記録・解析をおこなう。特に，標的 3 領域の 48 点同時記録から得られた神経活動データに対して領域間同期解析と Granger causality 解析を適用し，大脳皮質ネットワークにおける神経活動ダイナミクスと情報処理の方向性を解明する。これらの実験と解析により，自他の動作情報処理に関する各脳領域の機能，さらには単一神経細胞活動記録法では知りえない，脳領域間の機能連関を明らかにする。

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。逆にこれらの領域に異常があると，パーキンソン病やジストニアに見られるように，随意運動が著しく障害される。本研究部門においては，げっ歯類，霊長類（マーモセット，マカクサル）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いる。

パーキンソン病モデルマーモセットにおける視床の神経活動

若林正浩，畑中伸彦，南部　篤

MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) を動物に投与すると，中枢神経系ドーパミンニューロンの特異的な脱落を引き起こし，パーキンソン病様の症状を引き起こすことが知られている。これまでわれわれは，マカクサルを用いてパーキンソン病モデル動物とし，病態生理学的な研究に用いてきた。しかし筋固縮や寡動などは非常によく再現できるが，振戦はほとんど観察されなかった。ところが，小型の新世界サルであるマーモセットを MPTP で処理し，パーキンソン病モデルにすると，マカクよりも振戦が多く観察されることがわかった。平

成２８年度は MPTP を用いたパーキンソン病モデルマーモセットを用いて，大脳基底核の出力核である淡蒼球内節と，小脳の出力核である歯状核に慢性刺激電極を埋め込み，両者からの入力を確認しながら，運動性視床のニューロン活動と，腕に取り付けた加速度センサーのデータとの間に相関があるか調べた。２９年度はデータを解析し，論文として発表することを目指す予定である。

大脳基底核における上肢運動ストップ課題遂行中の活動調節

Zlata Polyakova，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言う，非常に複雑な回路になっている。よって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。これまでわれわれは，淡蒼球の内節と外節において，視床下核からの興奮性入力がどのような情報を運んでいるのかを調べてきた。その際に，事前に運動を行わないことをサルに知らせる No-go 課題と運動開始直前に運動を停止させる Stop 課題では視床下核の活動が異なる可能性が示唆された。平成２８年度は３種類の課題（Go 課題，No-go および Stop 課題）をサルにトレーニングした。２９年度は一次運動野および補足運動野の上肢領域，また淡蒼球外節の上肢領域に刺激電極を埋入し，視床下核ニューロンの応答を確認することで，記録中の視床下核ニューロンの情報源を確定しながら記録実験をする予定である。

大脳基底核による視床－大脳皮質投射の活動制御機構

知見聡美，佐野裕美，小林憲太，川口泰雄，木村　實（玉川大学），南部　篤

大脳基底核は視床を介して大脳皮質との間でループ回路を形成し，運動の発現や制御に寄与している。本研究では，覚醒下のサルにおいて視床－大脳皮質投射ニューロンの活動を記録し，大脳基底核出力が視床－大脳皮質投射の活動を制御する機構を調べた。大脳基底核の出力部である淡蒼球内節に電気刺激を加えると，視床では短潜時の抑制とそれに続く興奮という２相性の応答が観察された。視床ニューロンを記録しながら近傍に GABA 受容体拮抗薬を局所投与したところ，抑制と興奮の両方が消失したことから，２相性応答は GABA 作動性の抑制とリバウンド興奮であることが示唆された。また，運動課題遂行中のサルの視床ニューロンから記録を行い，光遺伝学的手法を用いて淡蒼球内節から視床への情報伝達をブロックしたところ，運動中に観察された視床の活動増大が減弱したことから，大脳基底核からの出力は，運動遂行時における視床の活動に必須であることが示唆された。

運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロンの相互相関

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

大脳基底核は随意運動の発現と制御において重要な役割を果たす。大脳皮質や小脳では神経活動の相互相関が情報伝達において重要な役割を果たすことが示唆されているが，運動を行っていない覚醒下サルの大脳基底核ニューロンは，相互相関を示さず独立に発火しているという報告がある。本研究では，上肢到達運動課題遂行中のサルにお

いて，淡蒼球外節・内節の上肢支配領域の複数のニューロンから同時記録を行い相互相関を調べた。運動課題遂行中，多くの淡蒼球ニューロンは活動の増大または減少を示したが，有意な相互相関を示したものは少数であった。この結果は，淡蒼球のニューロンは相互相関を示さず独立に活動することにより，運動情報を伝達していることを示唆する。一方，パーキンソン病では大脳基底核の同期活動や周期的活動が報告されている。現在，パーキンソン病モデルサルにおいて，運動時の淡蒼球ニューロンの相互相関を調べる実験を進めている。

大脳皮質− 線条体路による大脳基底核の制御機構の解析

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

注入部位から逆行性に遺伝子導入が可能なレンチウイルスベクター（FuGC ベクター）とアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターの二重感染を利用した Cre-loxP システムにより，光駆動性イオンチャネルであるチャネルロドプシンを大脳皮質− 線条体路に発現させた。そして，大脳皮質に光刺激用の光ファイバー，淡蒼球外節や黒質網様部に記録電極を刺入し，大脳皮質− 線条体路の興奮を誘導したときの応答を記録した。その結果，大脳皮質への電気刺激では興奮− 抑制− 興奮という三相性の応答が主に認められるのに対し，光刺激では抑制− 興奮という二相性の応答に加えて，興奮− 抑制− 興奮という三相性の応答も認められた。早い興奮は大脳皮質− 視床下核を経由して伝達されると考えられていることから，大脳皮質− 視床下核路の側枝が線条体に投射しており，その側枝からウイルスベクターによる遺伝子導入が起こった結果，三相性の応答も認められたと考えられた。

線条体投射ニューロンによる大脳基底核の制御機構の解析

佐野裕美，田中謙二（慶応義塾大学），南部　篤

線条体− 黒質投射ニューロンと線条体− 淡蒼球外節投射ニューロンに光駆動性イオンチャネルであるチャネルロドプシンを発現するマウス（PDE10A2-tTA::tetO-ChR2 マウス）を利用して，2 種類の線条体投射ニューロンが同時に興奮したときに行動と大脳基底核の神経活動に与える影響を解析した。片側の線条体に光を照射すると，マウスは反対側に回転し始め，パーキンソン病モデルマウスにおける L-DOPA 誘導性ジスキネジアと類似した行動を示した。一方で，線条体に光を照射したときの黒質網様部の応答を記録したところ，抑制− 弱い興奮という一過性の応答が認められた。黒質網様部で認められた抑制は線条体− 黒質投射ニューロンを介し，遅い興奮は線条体− 淡蒼球外節を介すると考えられることから，今後，2 種類の線条体投射ニューロンが同時に興奮したとき，線条体− 淡蒼球外節路を介する応答が弱いのかどうかを検討する必要がある。

ジストニア様症状を示す変異マウスの病態生理学的解析

佐野裕美，堀江正男（新潟大学），知見聡美，竹林浩秀（新潟大学），南部　篤

理研 BRC の吉木先生らのグループが発見した突然変異マウス（dt-23Rbrc）は上肢の捻転，下肢の伸展，歩行時の体幹捻転などが認められ，ジストニア様の表現型を示す。このマウスの突然変異は，Dystonin (Dst) 遺伝子

にあることが明らかとなった。このマウスの正向反射，背地走性は野生型マウスと比較して著しく低下しており，さらにこのマウスの筋電図を記録したところ，持続的な筋収縮が認められたり，伸筋と屈筋が同時に収縮するといったジストニアにおける筋収縮の特徴とよく一致していた。この運動異常の原因を解明するため，大脳基底核から神経活動を記録した。淡蒼球外節，黒質網様部において自発発火および大脳皮質運動野を電気刺激したときの応答を記録した。その結果，野生型マウスと比較して顕著な差は認められなかった。dt-23Rbrc マウスの運動異常は小脳など大脳基底核以外の脳領域の異常に起因することが示唆された。

マーモセットの運動関連大脳皮質と大脳基底核，大脳皮質，視床間の解剖学的結合

近藤秀樹，畑中伸彦，南部　篤

これまでマカクサルにおいて，大脳皮質− 大脳基底核− 視床− 大脳皮質ループ回路における運動関連領野ごとの神経連絡は基本的に分離していることが示されてきたが，マーモセットにおいては，その詳細は不明であった。そこで，無麻酔と鎮静下の条件で，マーモセットの補足運動野(SMA)と一次運動野(M1)での体部位局在を電気刺激と神経活動記録によってマッピングした後，体部位の同定された前肢部位にアデノ随伴ウイルス(AAV)，BDA，FB，FR，Ctb などの前行性，逆行性のトレーサーを注入し，大脳基底核，大脳皮質，視床における標識された軸索終末や標識細胞の分布を調べた。その結果，以下のことが明らかとなった。SMA は大脳基底核の被殻と尾状核に両側性に投射し，M1 からの投射よりも被殻のより内側部に投射する。SMA と M1 から被殻への強い投射部位はほとんど重なり合わない一方で，中間− 弱い投射部位においては部分的に重なりが見られる。SMA から視床下核への投射も M1 からの投射に比べて視床下核のより内側部に投射する。さらに，SMA と M1 は大脳皮質と視床から共通の入力と異なる領域からの入力を受ける。これらの結果は，マカクサルでの投射パターンにほぼ対応する結果となったが，SMA から尾状核への投射はマカクサルで見られる投射よりも強いなど，マカクサルとの違いも見られた。

マーモセット大脳皮質の神経生理学的マッピング

纐纈大輔，南部　篤

小型の霊長類動物であるマーモセットはヒトに系統的及び遺伝学的に近いことから医学研究への応用が期待されており，マーモセット脳についての基礎的なデータの蓄積が求められている。そこでマーモセット大脳皮質の機能的マッピングを行った。皮質内微小電気刺激（ICMS）と皮膚刺激に対する細胞応答を記録することで，大脳皮質の運動関連領野の神経生理学的マッピングを行った。これまでの研究で，一次運動野，運動前野（PM），一次感覚野（3a 野，3b 野）の詳細な体部位再現マップを作製した。今回，更に赤外線カメラを用いてマーモセットの眼球運動を測定することで，ICMS によって急速眼球（サッケード）運動を誘発する領野である前頭眼野（FEF）のマッピングを行った。PM の前部，約 1 mm 四方の領域にサッケード運動を誘発する FEF を思われる皮質領域を確認した。また，マッピング後に同領域に神経トレーサーを注入し，神経連絡を確認すると，頭頂皮質や側頭皮質の視覚関連領域や上丘に強い投射を伸ばしており，ヒトやマカクザルの場合と同じような投射関係を示していた。

マカクザル視床下核の化学遺伝学的抑制による不随意運動の誘発

長谷川　拓，知見聡美，小林憲太，南部　篤

視床下核は大脳基底核の間接路とハイパー直接路を担い，その損傷によって不随意運動（バリスム）が生じる。本研究では視床下核の運動制御に関わる神経機構をDREADD による可逆的な抑制によって明らかにすることを目的とした。

ニホンザル (*Macaca fuscata*) の視床下核に抑制型DREADD 受容体 (hM4Di) を導入し，clozapine N-oxide を静脈投与したところ，反対側の上肢に不随意運動が見られた。上肢による到達課題では，不安定な到達運動及び運動停止の異常が観測された。

到達課題中に淡蒼球内節から単一神経細胞活動を記録した。視床下核の抑制は活動パターンや平均発火頻度に一貫した影響は与えなかったものの，多くの神経細胞において神経発火のばらつき（ファノ因子）が上昇した(n=20)。以上の結果から，視床下核が淡蒼球内節の神経活動の確実性に寄与し，安定した運動実行を実現すると考えられる。

Mechanism Underlying L-dopa Induced Dyskinesia in Hemiparkinsonian Model Mice

Dwi Wahyu Indriani, Sano H, Chiken S, Nambu A

Parkinson`s disease (PD) is a motor disorder induced by the degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta, part of the basal ganglia (BG) responsible for controlling involuntary movements. Treatment with dopamine (DA) replacement therapy, L-dopa, has become a standard treatment for PD. Disease progression and prolong use of L-dopa narrows L-dopa therapeutic effect, resulting increase involuntary movements that known as L-dopa induced dyskinesia (LID) in some PD patients. To elucidate the mechanisms underlying LID, we examined spontaneous neuronal activities and motor cortex-induced responses in the globus pallidus (GP), which is the relay station of BG, and substantia nigra pars reticulata (SNr) as the output station of BG in the LID mice under awake state. L-dopa was injected intra-peritoneally into 6-hydroxydopamine induced hemiparkinsonian mice for 11 days until mice develop LID. Spontaneous neuronal activities of GP and SNr neurons showed a little difference between control, PD, dyskinesia-off (at least 24 hours after L-dopa injection, when the effect of L-dopa has disappeared), and dyskinesia-on (20-120 min after L-dopa injection, when mice develop dyskinesia) states. Cortical stimulation can mimic information processing through the BG circuitry and generate a triphasic response consisting of early excitation, inhibition, and late excitation in the GP and SNr. During PD and dyskinesia-off states, DA depletion increased cortically evoked inhibition and late excitation in the GP. However, during dyskinesia-on sate, response pattern of the GP returned to control state. In the SNr, lack of DA abolished cortically evoked inhibition and increased late excitation in PD state. Similar responses with increased inhibition were seen during dyskinesia-off state, indicating there was a latent change after long-term L-dopa treatment. During dyskinesia-on state, cortically evoked inhibition to release movements prolonged, meanwhile late excitation to stop movements was reduced in the SNr. Thus, LID appears as a result of increased facilitatory signal and decreased stop signal for movements from the BG.

統合生理研究部門

【概要】

初めに 2016 年の人事異動を列挙します。国内では，12 月に乾幸二准教授が，愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所の部長に栄転されました。新しい研究室での活躍を祈っています。10 月には，小林恵博士が NIPS Research Fellow として新たに仲間に加わりました。

2016 年も他施設との共同研究が順調に進んでいます。国内では中央大学文学部（山口教授），三重大学精神科（元村先生），神戸大学文学部（野口先生），愛知医科大学（牛田教授，西原教授），奈良女子大学（中田先生），また国外では，ドイツ Munster 大学（Prof. Pantev），米国 Temple 大学（Prof. Yosipovitch）との共同研究を行っています。

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

突発性難聴に対する神経リハビリテーションを用いた治療法

関谷健一（名古屋市立大学大学院医学研究科），福嶋宗久（関西ろうさい病院耳鼻咽喉科），
タイスマン・ヘンニング（ミュンスター大学），ラーゲマン・ロター（ミュンスター大学），
パンテフ・クリスト（ミュンスター大学），柿木隆介，岡本秀彦

突発性難聴は主に片耳の感音難聴を急速に引き起こす原因不明の疾患である。薬物治療や高圧酸素療法など，様々な治療の試みが為されているが，残念ながら科学的根拠に基づいた治療法は限られている。最近，我々の研究により音響療法の有効性が示されている(Okamoto et la., Sci Rep, 2014)。本論文ではビデオを用いて音響療法の施行方法及びその注意点などをわかりやすく示している（http://www.jove.com/video/53264）。このビデオ論文により突発性難聴に対する音響療法が普及すると考えられる。

(*Journal of Visualized Experiments* **107**, e53264, 2016)。

メニエール病に対するバゾプレッシン分泌抑制療法：予備研究

北原　糺[1]，岡本秀彦，福嶋宗久[2]，阪上雅治[1]，伊藤妙子[1]，
山下哲範[1]，太田一郎[1]，山中敏彰[1]
（[1]奈良県立医科大学大学院医学系研究科）（[2]関西ろうさい病院耳鼻咽喉科）

メニエール病はめまいや難聴を主訴とする疾患で発症率は 10 万人あたり 15—50 人とされている。内耳のリンパ水腫が発症の原因とされているがその治療は困難である事も多い。本研究では体内の水動態に影響を与えるバゾプレッシンに注目し，バゾプレッシンの分泌を抑制することで症状が改善するのではないかと考えた。本研究ではバゾプレッシンの分泌を抑えるため，メニエール病患者に水分摂取を促しその効果を確かめた。その結果，水を多く摂取しバゾプレッシンの分泌を抑えることでメニエール病に対して効果があることが明らかになった。

(*PLoS One* **11**, e158309, 2016)。

ヒト聴覚野での抑制

乾　幸二，中川　慧，西原真理（愛知医大），元村英史（三重大），柿木隆介

感覚情報処理には不可欠であるにもかかわらず，ヒト介在細胞の機能はほとんどわかっていない。本研究では変化関連活動を指標としたプレパルス抑制の手技を用いて，この抑制に介在細胞が関与するか否かを検討した。クリック音を 100Hz で連続提示し，その背景から 10dB 音圧を上げる変化をテスト刺激とした。テスト刺激の 10〜800 ミリ秒前に背景よりも 5dB 大きいクリックを挿入し，これをプレパルスとした。脳磁図で誘発脳活動を記録した。プレパルスはわずかな脳応答を惹起する一方，テスト刺激に対する応答を明瞭に抑制した（PPI）。PPI はプレパルス—テスト刺激間隔に顕著な影響を受け，概ね 20〜30ms，40〜60ms，及び 500〜700ms に抑制の頂点が認められ，異なる機序による抑制の存在が示唆された。抑制率はプレパルスによる脳応答の振幅とは相関せず，プレパルスによる興奮性の応答と抑制性の応答の両者があることが示唆された。統合失調症やてんかんなど，多くの疾患で介在細胞の機能異常が推定されており，本手法は有用な検査となるかもしれない。

(*PLoS One* **11**, e0155972, 2016)。

聴覚変化関連脳活動と性格傾向

棚橋めぐみ（三重大），元村英史（三重大），大山慶子（三重大），西原真理（愛知医大）
乾　幸二，柿木隆介

変化関連脳活動は，脳波や脳磁図を用いて非常に明瞭に安定して記録でき，高い再現性を示す。生来の変化に対する応答性を反映すると考えられる。本研究では，変化関連脳活動の振幅と性格傾向との関連を検討した。変化刺激は，60dB の背景からの突然の 10dB 音圧減少で，脳応答を脳波で記録した。性格傾向は TCI を用いて評価した。被験者は 63 人の健康成人。変化関活動振幅と TCI 各項目の得点との相関をみたところ，損害回避が有意な正の相関，自己志向性が有意な負の相関を示した。脳機能計測で何らかの性格傾向を反映する結果が得られた点が非常に興味深く，この計測が個人の特性を反映することを示している。有意な相関のあった２項目はいずれも不安尺度として用いられるものであり，不安傾向が高い人ほど変化関連脳活動の振幅が大きい，すなわち変化に応答しやすいことを示している。不安尺度はうつ病やパニック障害の発症と関連しており，臨床研究につながる可能性も示唆している。

(*Neuroscience Research* **103**, 34-39, 2016)。

何故表皮内電気刺激法は小径線維を選択的に刺激するのか：シミュレーション研究

根木　潤（東京女子医大），Ilkka Laakso（名工大），平田晃正（名工大）
村垣善浩（東京女子医大），乾　幸二

我々が開発した表皮内電気刺激法に関して，皮膚末梢神経における電界のシミュレーションを行い，神経線維の選択的刺激について考察した。電磁気分析の結果から，表皮内電極の先端の深さは，その電導度が他の組織よりもはるかに低い角質層の厚さよりも大きくなければならないことが判明した。外筒リング電極の半径の効果は，限界的であった。自由神経終末での電界（レオバース）の最小閾値は，6.3kVm-1 であると推定された。電気刺激量は，針が長くなるにつれてより深く狭くなり，針の長さを変えることによって刺激部位を制御できることが

示唆された。この研究は，Aβ-，Aδ-および C-線維末端が皮膚の異なる深さに位置するため，表皮内電気刺激が選択的に小径線維の刺激を達成できることを示した。

(*Physics in Medicine & Biology* **61**, 4479-4490, 2016)。

自閉症スペクトラム障害者における自己顔認知に伴う恥ずかしさ情動

守田知代[1]，小坂浩隆[2]，齋藤大輔[3]，藤井　猛[4]，石飛　信[4]，
棟居敏夫[3]，猪原敬介[5]，岡沢秀彦[2]，柿木隆介[6]，定藤規弘[6]
（[1]大阪大学，[2]福井大学，[3]金沢大学，[4]国立精神･神経医療研究センター，[5]くらしき作陽大学，[6]生理研）

人は写真写りの悪い自分の顔写真を見せられると，恥ずかしさを感じる。また，その写真を他者に観察される場合にはさらに強い恥ずかしさを感じる。本研究では，他者理解に困難を抱える自閉症スペクトラム（ASD）においても，恥ずかしさ情動が他者に影響されるかどうかを機能的 MRI を用いて調べた。ASD 者および健常者が，自分の顔写真をひとりで見ている条件と，他者と一緒に見る条件を用意し，それぞれの脳活動を測定した。健常者と同様に，ASD 者は自己顔に対する恥ずかしさが他者の存在により強まることを報告した。ところが，健常群では主観的な恥ずかしさを反映する右島皮質前部の活動がみられたのに対して ASD 群ではみられなかった。また，健常者では，他者が存在する際に，情動処理に重要な前帯状回皮質と，他者の心の推測に関わる内側前頭前野との機能的な結合が強まっていたのに対して，ASD 者ではこのような結合力の変化が認められなかった。これらの結果から，ASD 者における恥ずかしさ情動は，主観評価では健常者と一見変わらないようにみえるが，その脳内処理過程が異なる可能性が示唆された。

(*Research in Autism Spectrum Disorders*, **26**, 16-32, 2016)

非侵襲的大脳皮質刺激により痒み知覚が抑制される～経頭蓋直流電気刺激法(tDCS)を用いた検討～

中川　慧，望月秀紀，小山総市朗，田中悟志，定藤規弘，柿木隆介

本研究では，大脳皮質感覚運動野を非侵襲的に刺激することで痛み知覚が抑制されるという現象に注目し，痒み知覚に対して，同様の抑制効果がみられるかどうか二重盲検比較試験にて検討した。大脳刺激には，頭皮上に微弱な電流を流すことで大脳皮質の興奮･抑制性をコントロールする経頭蓋直流電気刺激法（transcranial direct current stimulation: 以下，tDCS）を用いた。

痒み知覚は左手前腕にヒスタミン通電法にて誘発し，tDCS 刺激には，両側感覚運動野への同時刺激法（dual-tDCS）を用いた。15 分間微弱な電流を流し，被験者に痒み知覚の程度を 30 秒ごとに 10 段階で回答させた。その結果，左陰極／右陽極条件で，痒み知覚の抑制および痒みの持続時間の短縮が認められた。これらの結果は，tDCS 刺激が痒み知覚を減衰させる一つの手法となる可能性を示している。

(Clinical Neurophysiology 127: 827-832, 2016)。

顔処理が成人顔に特化するのは文化普遍の現象である：注視行動および脳機能計測による検討

小林　恵，Macchi Cassia, Viola（Department of Psychology, University of Milano-Bicocca），
金沢　創（日本女子大学人間社会学部），山口真美（中央大学文学部），柿木隆介

日常生活の中で視覚経験を積んだ成人の顔に比べ，視覚経験が比較的少ない乳児の顔の識別が困難であるという知覚的狭小現象が生後 9 ヶ月ごろに生じることが，西欧人乳児を対象とした研究で報告されてきた。本研究では，日本人乳児を対象に，注視行動および近赤外分光法（NIRS）による脳活動計測からこの知覚的狭小を検討した。実験 1 では生後 3 ヶ月児・9 ヶ月児を対象に，新生児の顔および成人女性の顔の弁別能力を比較した結果，生後 3 ヶ月児は新生児・成人ともに顔の弁別が可能であった。一方，生後 9 ヶ月児は成人の顔のみを有意に区別した。実験 2 では，新生児および成人顔観察時の生後 9 ヶ月児の脳活動を NIRS によって計測した結果，成人顔観察時にのみ右半球の後側頭部位の活動が上昇した。これらの結果から，成人顔への処理の特化が生後 9 ヶ月ごろに起こるのは文化を超えた現象であり，右半球の後側頭部位の処理が関与することが示唆された。

(Developmental Science, in press, accepted in 2016)。

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解明している。さらに超高磁場（7 テスラ）MRI を用いて社会脳機能に関連する脳微細構造・機能連関研究を展開しつつある。

7 テスラ MR による高度脳計測基盤技術の開発

福永雅喜，菅原　翔，山本哲也，定藤規弘
Lana G. Kaiser（シーメンスヘルスケア），川口浩和（シーメンスヘルスケア），
Gerald B.Matson（UCSF）

MRI による生体観察において，静磁場強度の上昇は，信号雑音比（SNR）に加え，磁気共鳴の物理パラメータである共鳴周波数の上昇をもたらし，MR 信号の位相分散や周波数シフトが顕著となる。超高磁場 MR にみられるこれらの特性は，感度改善による空間分解能の向上や組織コントラストの増強に作用する。本研究ではこれらをふまえ，超高磁場 7 テスラ MR 装置による脳機能計測技術の初期検討を実施した。多スライス同時励起技術等の応用により，全脳を対象に，1.2 mm 等方ボクセルの機能画像を 2 秒以下の時間分解能にて収集が可能となった。また，^{1}H MR スペクトロスコピー計測では，エディティング法を応用することで，脳内のグルコース計測が可能となった。本研究成果は，Magnetic Resonance in Medicine 誌に掲載された。引き続き，計測系の最適化を進めると共に，脳微細構造・機能連関研究への応用を推進する予定である。

統合失調症と脳皮質下構造変化の横断的検討 -多施設 MRI 研究-

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

統合失調症の神経基盤は，未だ不明な部分が多い。注意や感情のほか，抑制機能や実行機能等に関連を持つ大脳皮質下領域が注目されているが，統合失調症におけるこれら脳領域の構造変化に関する報告は一定しない。昨年度までに，11 施設の健常者 1,683 名および統合失調症患者 884 名を対象にの T1 強調 MRI 画像を用いて，大脳皮質下領域構造における体積変化のメタ解析を実施した。今年度は，これらの皮質下体積と記憶機能および認知社会機能との関連性について解析を実施した。記憶機能の指標である WMS-R，認知社会機能の指標である WAIS-III および UPSA-B との関連解析の結果，統合失調症患者では，海馬，扁桃体，視床，側坐核において指標との相関がみられ，統合失調症における皮質下核の神経回路異常を反映すると思われた。

Neural basis for goal-oriented conversation

Masako Hirotani[1,2], Takahiko Koike[2], Shuntaro Okazaki[2,3], Motofumi Sumiya[2],
Maho Hashiguchi[2], Douglas Roland[4], Norihiro Sadato[2]
([1]Carleton University, Ottawa, Canada,[2]National Institute for Physiological Sciences, Aichi, Japan,
[3]Waseda University, Tokyo, Japan, [4]The University of Tokyo, Tokyo, Japan)

While conversation is a dynamic process, requiring many linguistic and social contexts, most of us find it very easy. The proposed research aims to identify the processing mechanisms underlying conversation. 1. Research Questions. A) What is a key to successful conversation between two individuals? What linguistic properties support successful conversation between two individuals? B) What is the neuroanatomical basis that supports successful conversation between two individuals? 2. Proposed Hypothesis. This research extends the interactive-alignment model by hypothesizing that the ease of conversation relies on shared discourse representations (or shared mental models) between two speakers. At the behavioral level, if a shared mental model is built between conversational partners, we should see the use of similar lexical items (words) and some indications of the speakers' alignment, i.e., speakers influencing each other. At the neurological level, "the theory of mind network" is expected to play an important role in establishing shared discourse representations. This network is recruited when an individual tries to understand his or her conversational partner's state of mind via inference or reasoning (e.g., Saxe, 2009). A similar underlying cognitive mechanism should come into play when two speakers build successful shared mental models.

触覚による物体の柔らかさ知覚に関する神経基盤

北田　亮，谷川　翼，中川恵理，土斐崎龍一（電気通信大学），Jinhwan Kwon（電気通信大学），
梶本裕之（電気通信大学），坂本真樹（電気通信大学），定藤規弘

ヒトはさまざまな素材の特性を触るだけで推定することができる。この素材の特性抽出に関与する神経基盤は温度や粗さについては知られているが，柔らかさおよび硬さに関する神経基盤についてはほとんど調べられ

ていない。そこで本研究では MRI 装置内で指に素材を２段階の異なる強さで押し当てる装置を開発し，右指に素材が押し当たったときの柔らかさを判断しているときの脳活動を計測した。その結果頭頂弁蓋部を含めた広範な脳内ネットワークが柔らかさ強度との関係が認められた。現在，押し当てる圧力と柔らかさの神経基盤との関係について詳細な解析を進めている。

リアルタイムでのアイコンタクトの神経基盤：Dual fMRI を用いた研究

小池耕彦，中川恵里，角谷基文，定藤規弘

アイコンタクトとは単に他者の目を見る行為ではなく，実時間での情報交換が可能な状態で相互に目をみつめあい，自他の行動が影響を与え合い二者が繋がれる，ある種の共同作業である。我々は，初対面の二者であってもアイコンタクトをしている場合に，右中側頭回の脳活動が相関するという先行研究(Koike et al., 2016)をもとにして，リアルタイムでのアイコンタクトが自他を繋ぐ神経基盤を検討した。2 名の被験者は，dual-fMRI 装置に入り，ビデオコミュニケーション装置を介してアイコンタクトをおこなった(オンライン条件)。また映像遅延装置を利用することで，相互作用が存在し得ないオフライン条件のアイコンタクトもおこなった。参加者は条件の違いに全く気が付かなかったにも関わらず，オンライン条件時には，瞬目のタイミングが相手のそれに影響を受けていた。また小脳半球および前部帯状回の脳活動が，オンライン時に高かった。加えて前部帯状回と前部島皮質への機能的結合が，オンライン時に増強されていた。これら領域間での情報伝播の方向性を解明するため，Dynamic causal modeling 解析をおこなった。小脳-前部帯状回-前部島皮質で構成されるネットワークのうち，前部島皮質から前部帯状回への因果的結合に，オンライン性が影響を与えていることも明らかになった。

共同注意の神経基盤の解明：Dual fMRI を用いた研究

小池耕彦，田邊宏樹（名古屋大学大学院・情報学研究科），定藤規弘

共同注意とは，視線を介したコミュニケーションである。みつめあっている二人のうち，ある空間位置に存在する物体に対して一人が視線を向け，その視線をパートナーが追従し，最終的に物体上で視覚的注意を共有する。この共同注意は，二者が同じ目的をもって協力していることを理解する上で，重要な役割を果たすことが知られている。我々は，二者が繋がれ互いを理解する仕組みを，共同注意中の脳活動および前後のみつめあい課題中の脳活動から検討した。共同注意前後の二者のみつめあいで，右下前頭回で二者間の脳活動同期が高まる際に，活動同期の増加に比例して右中側頭回と右下前頭回の脳内機能的結合が増加していることが明らかになった。この結果は，右中側頭回-右下前頭回で構成されるネットワークが，共同作業中に繰り返し利用され，強化されている可能性を示唆する。この結果を受けて我々は，Dynamic causal modeling (DCM) 解析により，共同注意課題中の脳内ネットワークを検討した。その結果，initiative joint attention (IJA)と reactive joint attention (RJA)では行動自体には大きな差があるにも関わらず，右中側頭回から右下前頭回へと向かうネットワークが，IJA と RJA のどちらでも共通して利用されていることが明らかになった。また DCM 解析は，右前部島皮質が IJA と RJA に関連した神経基盤を繋ぐと共に切り替えるハブとして機能していることを示した。

聞き手の承認反応が第二言語学習に及ぼす効果とその神経基盤の解明

中川恵理，角谷基文，小池耕彦，定藤規弘

ヒトは社会的な生物であり他者とのやりとりの中で言語を獲得していく。本研究では聞き手の承認反応が第二言語学習に与える効果とその神経基盤を明らかにするため，fMRI 実験を実施した。被験者は文字提示される疑似英単語を音読し，英語教員からのフィードバックを観察した。フィードバックは２つのモダリティ（動画/文字）につき３種類あり，被験者はそれを観察した直後の気分を評定した。コントロールとして他者（コンピュータ）が単語を音読する条件も設けた。さらに音読した単語をどの程度覚えているかを測るサプライズテストを行った。

実験の結果，承認反応（頷き動画/ “GOOD”）は否定的な反応（首振り動画/ “BAD”）やその中間的な反応（静止動画/ “SOSO”）よりも気分評定値が有意に高いことが示された。また，他者よりも自分に対する反応のほうが嬉しいと感じられることがわかった。この行動指標に対応する神経基盤とフィードバックによる学習効果を現在検討中である。

7T 機能的核磁気共鳴撮影を用いた脊髄損傷後の回復過程における大脳機能連関の解析

當山峰道，福永雅喜，山本哲也
伊佐　正（京都大学大学院医学研究科神経生物学）
中川　浩（京都大学霊長類研究所統合脳システム分野）

マカクザルの皮質脊髄路損傷後に見られる手指機能の回復過程において，脳の大規模回路にどのような変化が起きているかは不明であった。そこで本研究では，皮質脊髄路を損傷させたマカクザルの麻酔下安静時 MRI データを高磁場 7T MRI で取得し，機能回復に伴う大規模回路の再編がどのように起きるかを解析することを計画した。今年度は，現在稼働中の 3T MRI を用いて麻酔深度の調整を含めた撮像条件検討を行い，日内及び日別撮像間で再現性の高いデータを得ることに成功した。また，シーメンスとの共同研究により，高精度の歪み補正用撮像シークエンス，高分解能拡散強調画像シークエンスを開発した。これらのサルに特化した撮像条件下で，脊髄損傷後サルの継時的なデータ収集，解析とともに，年度末に導入した 7T 用サルコイルの最適化をすすめる予定である。

新たな MRI データ解析プラットフォーム“HCP Pipelines”の 7 テスラ MRI への導入

山本哲也，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘

7 テスラ MRI により，より高い空間分解能での fMRI 撮像が可能になった。一方，静磁場や励起パルスの不均一性に伴う画像の歪みや輝度勾配等のアーチファクトは顕著になる。本研究では，米国のワシントン大学を中心とした Human Connectome Project（HCP）が提供する，高度な前処理を始めとした MRI データ解析プラットフォーム“HCP Pipelines”を 7 テスラ MRI に導入し，これらのアーチファクトの低減を図った。また，既存の 3 テスラ MR 装置や異なる撮像モダリティーで撮像されたデータを一元的に扱える解析環境を整えた。今後，皮質領域を何層にも分けて層毎にデータをサンプリングしたりする等，高解像を最大限に生かした fMRI 解析を展開する予定である。この他，HCP パイプラインをヒトのみならず，サルにも適用できるようにし，共通のツールでの種間比較を行えるようにする。

表情模倣に関与する神経基盤の検討

宮田紘平，小池耕彦，中川恵理，原田宗子（広島大学），角谷基文，定藤規弘

表情や行為が模倣されると，ポジティブな感情や模倣者への親近感を生む。これまでの脳イメージング研究では，被模倣に関わる神経基盤は模倣の神経活動と直接比較することで描出されてきた。本研究では，2 人同時に表情を生成する統制条件を用いて，表情の被模倣と模倣に関わる神経基盤を調べた。16 ペアの参加者は 2 台の機能的磁気共鳴画像装置にそれぞれ入り，笑顔，悲しみ顔の表情模倣課題を行った。各課題後には，ポジティブとネガティブを両端とした七件法で内省報告を行ってもらった。その結果，模倣されることは表情の種類に関わらずポジティブな感情を誘引し，内側前頭前野，両側の側頭頭頂接合部と小脳，右側下前頭回，島皮質，補足運動前野で賦活が生じることが示された。模倣時にはこれらの領域で有意な活動は観察されず，模倣と被模倣は全く異なる神経活動を示した。

親子間および夫婦間における共感に関連する心理・神経メカニズムの解明

間野陽子，板倉昭二（京都大学大学院文学研究科），定藤規弘

社会性において重要な役割を果たす共感には，感情的共感と認知的共感があり，発達段階の過程で獲得されていくものとされている。しかしながら，親子間や夫婦間などの自己と親しい他者との双方向の共感が同期していく過程の心理的・神経学的メカニズムは明らかにされていない。共感が同期する過程に必要な認知機能に関して，発達心理学および神経科学のアプローチを用いて，家族内の共感体験に関与する心理・神経基盤を探究することは，親子間や夫婦間の役割を理解することにつながると考えられる。今後は，自分の子に対する親の共感の心理・神経メカニズムを解明する fMRI 研究を行う予定である。具体的には，母親と父親それぞれの，自分の子に対する共感の性差を，脳賦活部位の類似性または差異を調査することにより明らかにし，Dual MRI 装置(Verio)を用いて，子に対する母親と父親の共感の同期を検討する予定である。

手指の系列運動学習による記憶の神経基盤：機能的 MRI を用いた研究

濱野友希，菅原　翔，吉本隆明，定藤規弘

運動技能は，速さと正確さによって計測される。運動技能学習によって，より素早く，より正確な運動遂行が実現されている。同一の運動技能を学習する場合であっても，速さに重点をおいた学習と，正確さ重視の学習が考えられる。異なる学習形態に応じて生成される運動記憶痕跡の形成過程を解明するため，運動技能学習中の機能的磁気共鳴画像データを解析した。結果として，速さ重視の学習では全脳ネットワーク内での各ボクセルの重要性を表す中心性が，学習に伴い頭頂間溝の前部領域にて増強することが示された。一方，正確さ重視の学習では，一次運動野と運動前野で中心性の増強が認められた。さらに，一次運動野の運動技能実行時の課題関連活動は，いずれの学習形態でも学習に伴う増加を示した。以上の結果から，学習形態に応じて記憶痕跡は頭頂葉と運動前野に分散して形成され，運動技能実行時には一次運動野にて統合されると結論づけた。

助詞処理の神経基盤：日本語母語者および非母語者の比較

角谷基文，笠井千勢（岐阜大学），小池耕彦，吉本隆明，青木直哉，定藤規弘

第二言語として日本語の文法を学習する際に，最も難しいのが助詞の使い方であることが知られている。日本語を複数年使用している学習者でも不適切な助詞を使用していることが報告されている。しかし，非母語者が助詞を使用する際にどのような処理をしているのかについては不明な点が多い。本研究では，日本語母語者と複数年日本語を使用している非母語者を対象に，正しい助詞を考え発話する fMRI 課題を行った。その結果，母語者と比べて非母語者は，助詞の発話の反応時間が遅く，発話した助詞の正答率が低かった。また，脳画像データ解析の結果，母語者と比べて非母語者の助詞の発話に伴い左下前頭溝が強い活動を示した。これらの結果は，非母語者にとって助詞の使用は言語的負荷が高く，左下前頭溝の活動が困難な助詞発話過程を制御している可能性を示唆している。

内部状態依存および非依存の食品の表象

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

外界の情報は脳内で多次元的に表現される。しかし，全く同一の対象であっても，その脳内表現（表象）が常に同一であるとは限らない。例えば，満腹時には興味のなかった食品が空腹時には魅力的に感じられることがある。この現象は，対象認知が内的状態の変化に応じて部分的に変化する可能性を示している。この現象が脳内のどのような機構によって支えられているかを明らかにする目的で，私たちは空腹時・満腹時双方に，食品画像の価値を評定する fMRI 実験を行った。

多ボクセルパターン解析の結果，紡錘回などのカテゴリー認知に関与する領域では，同じ刺激をみるときの脳活動のパターンは変化しなかった。一方，前頭眼窩野では同じ刺激をみるときの脳活動のパターンの変化がみられ，そのパターンの変化は価値の評定値の変化と関連していた。内的状態の変化に影響されない対象認知の機構と，内的状態の変化に応じる柔軟な機構があることが示唆された。

注意効果と報酬期待効果による一次運動野準備賦活説の検証

西東倫太朗，菅原　翔，山本哲也，濱野友希，福永雅喜，定藤規弘

注意効果は事前の注意刺激により次の刺激に対する反応時間が短縮する現象である。この現象は，注意によって一次運動野で生じる事前賦活が動作コストを低減することによって説明されている。一方報酬の期待によっても反応時間短縮が生じることが知られている。報酬期待効果と注意効果の神経基盤の異同を明らかにするために, 注意刺激からの Go/NoGo 課題に対して成功で報酬・失敗で罰・報酬変化なしの 3 条件を割り当てた課題を作成した。これを用いて被験者 8 名に対し反応時間を計測したところ，注意と報酬期待共に有意な反応時間短縮を来した。現在 MRI を用いた実験を遂行中であり，一次運動野準備賦活説の検証及び関連領域のネットワーク解析を行う予定である。

個別研究

個別研究（村上研究室）

【概要】

村上研究室は最終年度となり，これまで実施してきた唾液腺の傍細胞輸送の研究を完成させるべく実験を実施した。残念ながら論文は国際雑誌に受理されなかったが，共同研究者が改訂を加え，論文受理を目指している。

唾液腺国際シンポジウムとして第4回ニールスステンセンを岡崎コンファレンスセンターで開催した。また日本唾液腺学会に海外唾液腺研究者を招聘し，学会の国際化を目指した。また，これまでの研究成果を若い研究世代に伝えるために，日本唾液腺学会 60 周年記念出版として「唾液腺」を刊行し，その基礎の章を担当し，全国の生理学，生化学，解剖学，病理学，薬理学の共感，，研究者らの意見，執筆を集約した教科書として刊行した。

傍輸送の研究として，残っていた大きい分子量の蛍光物質の通過測定および，刺激時のタイト結合周辺の膜振動について，新しい実験結果を加えた。また富永研究室と共同して，マウスの顎下腺の水分分泌への TRP 信号系の関与の研究を継続した。

ラット顎下腺水分分泌における傍細胞輸送の関与

村上政隆，橋本貞充（東京歯科大・生物），成田貴則（日本大生物資源・生化学）

刺激持続時の唾液分泌の大部分は傍細胞分泌である。その経路，駆動力，タイト結合の開閉を明らかにする目的で本研究は行われた。

村上らは　経細胞輸送の開始と傍細胞輸送が最大になる時間には，約30秒の時間差があることを発見した。当初　この最初の 30 秒間にタイト結合直下の細胞骨格が動的変化を起こすこととタイト結合が緩み傍細胞輸送が開始されると仮定して実験を開始した。

あらかじめフォーレンにより痛みを除去した雄性 Wistar/ST ラットをチオペントタールで麻酔し，顎下腺を摘出，唾液排出導管，動脈，静脈にチューブを挿管し，酸素 100%で飽和した人工灌流液を拍動ポンプにて動脈より定流灌流した。臓器は恒温チャンバーに設置し，37℃の条件を保った。経路を査定するため，種々の分子量の蛍光マーカーは従来使用した Lucifer Yellow および Sulforhodamin B(これらの色素の分子量は約 400 dalton)，また，生理活性をもたないペプチド鎖に蛍光タグを付け，800，1500，4000dalton の大きさで合成を依頼し用いた。水分分泌速度に対する，唾液・灌流液のマーカー濃度比をプロットした。異なる大きさのマーカーでも同様の関係が得られ同じ経路を通ることが示された。また，その駆動力は主としてタイト結合の両側にかかる静水圧差であった。

さらに，タイト結合周辺の振動の精密測定のために灌流腺全体の動きをキャンセルするために，留置した蛍光ビーズを３次元で追尾し，実験画像のアーチファクトを除去する方法が完成した。

タイト結合を通過する水分の駆動力を主として静水圧差とすれば，分泌刺激による血管拡張および毛細血管床の増加により，分泌終末部の血流が増加し，局所の圧が増加することを想定し，観察確認しなければならない。しかし，唾液腺において，この変化は形態的に観察されていなかった。すなわち，用いた血管灌流は拍動ポンプによる定流灌流であり，分泌刺激時の血流変化をとらえることが出来ない。

今回，血管内皮細胞を染色して微小循環を評価する方法を開発した。ムスカリンによる刺激中に，細い毛細血管が増加することを観察した。本研究計画のタイト結合近辺での振動の観察のため 3 つの重要な基本研究を実施でき，最終段階である振動の観測につなげることができた。

個別研究（大橋研究室）

【概要】

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

我々は，発生過程のシグナル制御，特に平面細胞極性(PCP)形成に注目し,そこで細胞内膜系がはたす役割と，そのメカニズムの研究を進めている。PCP シグナルは，内耳の有毛細胞が一貫した方向性を示すように，組織全体のグローバルな極性を感知して個々の細胞の極性を生み出す役割を果たしている。その空間情報制御をになう特徴から,位置情報とシグナル制御の重層的関係が興味深い系である。組織レベルと細胞内レベルの時空間情報をつなぐインターフェイスとしての細胞内膜系の役割を解明することが,現在の主要テーマである。

細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと発生シグナル制御

大橋正人，木下典行（基礎生物学研究所）

哺乳動物モデル細胞系とアフリカツメガエルの発生実験系を相補的に利用し, PCP シグナルを制御する細胞内膜系タンパク質の候補を見出してきた。これまでに，これらの制御機能分子のいくつかについて細胞内局在を規定する配列構造を同定し,その作用が, PCP シグナル下流の細胞骨格制御と関連していることを示唆するデータを得ている。また,タンパク質機能阻害実験系の工夫と，それを元にした機能阻害スクリーニングによって，関連する新たな制御因子の探索を可能とするため実験系の最適化を進めた。本年度は新たな方法論を導入してシグナルの定量的検出を試み，細胞のポピュレーションの変化をとらえて定量化が可能となってきた。定量性の信頼性をさらに確保すると同時に，スループットの改善を図り，実験系の完成を目指している。制御分子の同定,細胞内局在と機能の相関の解析をよどみなく行う事が実現しつつある。

個別研究（毛利研究室）

【概要】

受精は雌雄の性を持つ生物における雄性配偶子（精子）と雌性配偶子（卵）の融合に伴う劇的で普遍的な活性化現象である。それは個体発生という重要な現象に導く。しかし, 受精機構の詳細はいまだに謎に満ちている。どのように精子が卵に近づいてどのように卵を活性化させるのか，その刺激のシグナルは何でどのように卵に伝えられるのか, その後, 卵内でどのような反応が引き起こされて発生のプログラムがどのように実行されるのか不明な部分が多い。また，卵が活性化されるためにはどのように雌雄両配偶子が成熟するのか, まだ謎が多い。普遍的な現象として受精時には卵内の Ca^{2+} が著しく増加することが知られている。哺乳類, 鳥類, 一部の爬虫類，両生類では卵内 Ca^{2+} 変化は精子が持ち込むタンパク質によって引き起こされることがわかってきたが，もっと単純な海産無脊椎棘皮動物ウニやヒトデではまだ不明である。本年度は昨年に引き続き，数種のウニ

卵の受精時および，イトマキヒトデ卵母細胞の成熟過程について電気生理学とイメージングにより，これまで調べられていなかった活性電流と卵内 Ca^{2+} 変化の関係について研究を行った。

ウニ類卵受精時のカルシウム遊離機構と活性電流の研究

毛利達磨

日本産 3 種のウニ，バフンウニ，アカウニ，タコノマクラとイトマキヒトデの受精時の卵内 Ca^{2+} 変化と活性電流について比較検討する実験を開始した。最初に細胞内 Ca wave の解析を行った。カルシウム遊離を引き起こす物質として IP3, cADPr, NAADP が知られているがそれぞれマイクロインジェクションした時，ミックスした時の Ca 増加が受精時の Ca wave と同じなのか三物質混合のインジェクションで受精時の Ca wave が模倣できるのかバフンウニでイメージングを試みた。その結果濃度を上げてインジェクション量を減らしても，三種を混ぜてインジェクションしても精子が引き起こす Ca wave は模倣ができないことがわかった。このことは Ca wave を引き起こす機構を考える上でまだ未知の機構が存在していることを強く示唆した。次にそれぞれのウニ類卵で活性電流を測定したところそれぞれ特徴的なパターンがあることがわかった。活性電流の最大値はアカウニで最も大きく次にイトマキヒトデ，タコノマクラ，バフンウニの順になった。また，イトマキヒトデ以外の 3 種では精子が侵入しやすい-20mV 電位固定では *L. variegatus* と異なり最大値の後に非常に強い外向き電流を示した。またそれぞれのウニ類卵で卵内 Ca^{2+} 変化と電流が特徴的なパターンを示した。このことは関わるチャンネルの量が異なるのか異なる電流なのか今後の検討を要する。

イトマキヒトデ卵母細胞成熟過程におけるカルシウム遊離機構と活性電流の研究

毛利達磨，経塚敬一郎（東北大学大学大学生命科学研究科）

昨年，イトマキヒトデの状態が悪いことが指摘されていたので昨年の結果が正常でない個体の状態によるものかどうか本年も同様の実験を行った。イトマキヒトデ卵母細胞の成熟過程において，精子刺激に対する細胞内カルシウムと活性化電流を測定した。イトマキヒトデ卵では受精時の活性電流には肩の部分が存在せず内向きの鋭い電流を示し最大値を迎えその後不活性化して外向き電流に変化する。その後も受精前の電流レベルには戻らず 10 数分は平衡状態にあった。

イメージングとの同時測定の結果の活性電流の一部は細胞内カルシウムイオン依存性であった。卵成熟ホルモン 1—メチルアデニンの閾値以下 (0.02-0.04 μM) 処理で成熟が不完全な成熟途上卵の状態になる。成熟途上卵では媒精すると卵内 Ca^{2+} 変化とそれに対応する活性電流の変化が増減するパターンが多く観察された。十分な閾値濃度 (1 μM) 存在下で 15 分処理途中の成熟途上卵母細胞でも同様なパターンになることがわかり，本年でも同様の結果になった。未成熟卵母細胞，成熟途上卵，成熟卵でのそれぞれの活性電流は細胞内カルシウム濃度に対応した増減する特徴的なパターンを示した。さらにカルシウム遊離機構を阻害する処理をした時の活性電流，卵内 Ca^{2+} 変化を測定して論文にまとめる。

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。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 室により構成される。(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う。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う。（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する。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う。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実験用サルの供給事業を行ってきた。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。（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。（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。2016 年度までの 3 年間は, Rabirov Ravshan 外国人客員教授（ウズベキスタン）が研究室の代表者として，細胞容積調節に寄与する Cl^-チャネルの分子同定と機能メカニズムの解明等を目指した研究を推進した。

共同利用研究推進室

【概要】

共同利用研究推進室は, 全国の大学や研究機関等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ための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（3D-SEM）や多光子励起顕微鏡などの各種顕微鏡や，2 個体間同時計測磁気共鳴画像装置（dual fMRI），7 テスラ MRI，脳磁場計測装置（MEG）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。また個々の研究室で作成, 調整が困難な高品質のウイルスベクターの作製拠点としての役割を担い, 脳科学研究に有用なウイルスベクターの開発・作製・提供と，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，企業等に属する研究者と，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。

本年度は，2016 年 10 月 24 日，25 日に九州大学馬出キャンパスで開催された生理学研究所研究会「心臓・血管系の包括的な機能統合研究」と，10 月 26 日〜28 日に開催された第 47 回生理研国際シンポジウム「Decording Synapses」にてブース展示を行い，ポスター貼付や資料配布など，共同利用研究に関する情報提供を行った。

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 2 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）

平成 28 年度より開始された新学術領域研究（学術研究支援基盤形成）の 1 つである，ABiS の運営事務局を担当している。狩野客員教授が代表を務める 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及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。今年度は，ウェブサイトの立ち上げや説明会の実施，種々の学会でのブース出展やシンポジウム共催による周知活動を行った。さらに，公募の枠組みを作り，募集，審査，支援の実施に関するサポートを行った。また，平成 29 年 2 月 19 日～20 日には，支援内容の紹介と支援を受けた研究報告会を兼ねた 1 回目のシンポジウムを開催した。

・「次世代脳」プロジェクト

平成 28 年度に，10 を超える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である「次世代脳」プロジェクトが立ち上がり，当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。今年度は，平成 28 年 12 月 19 日～21 日に第 1 回冬のシンポジウムを実施した。

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」は平成 14 年に発足し，自然科学研究機構生理学研究所が代表機関となって京都大学霊長類研究所（分担機関）と共同推進してきた。ニホンザルは優れた認知能力を持ち，我が国の高次脳機能研究に不可欠なモデル動物である。NBRP「ニホンザル」は病原微生物学的にも安全かつ付加価値の高い実験用動物として繁殖育成し，国内の研究者を対象に安定して提供する体制を構築することを目的としている。事業推進の柱として平成 28 年度は以下４つの業務を行った。なお，平成 29 年度から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第４期 NBRP「ニホンザル」を実施する予定である。

（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のサル繁殖事業の停止を続けている。なお，平成 28 年度末時点で繁殖母群２０４頭，育成仔ザル９９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３１件８１頭の応募があり，３１件７６頭が採択された。平成 28 年度内の提供は７６頭，そのうち多年度申請１７頭，４頭は去年度積み残し分であり，今年度申請に対しては５５頭が提供された。提供先機関は自然科学研究機構，大阪大学，豊橋技術科学大学，新潟大学，北海道大学，東北大学，金沢大学，東京医科歯科大学，理化学研究所，玉川大学，近畿大学，獨協医科大学，放射線医学総合研究所，山梨大学，京都大学，関西医科大学，国立精神・神経医療研究センターである。

（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，平成 26 年度から組織試料の提供を試験的に開始し，引き続き平成 28 年度も組織試料の提供を行った。応募数は１０件（血液３件，全身１件，上唇・下唇１件，口腔・肛門粘膜１件，咽頭１件，生殖器２件，顔面写真１件）であった。

（４）プロジェクトの総合的推進

１）委員会等の実施

運営委員会の開催は，生理学研究所外部委託施設からのサル提供再開についてメール会議１回，事業計画のための議論を１回，全体的な進捗状況，計画の達成状況について１回，申請課題の再審査についてメール会議２回，及び年度の総括のための１回の計５回であった。供給検討委員会はリソース提供応募書類を審議するために２回開催した。疾病検討委員会については，メール会議２回を含めて計３回，疾病の原因究明および感染防護，その他疾病全般に関する事項を調査審議するために開催した。

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。今年度は第２３回大阪府大阪市，第２４回東京都品川区の計２回開催した。

４）ニホンザル終生飼養保管施設ワーキンググループ

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，２回開催された。今後，生理学研究所所長の諮問機関として設置される母群検討委員会に引き継がれる予定である。

サルレトロウイルス５型（SRV5）の高感度検出系の作製

東濃篤徳，南部　篤

Simian Retrovirus (SRV) はベータレトロウイルスの１種であり，宿主ゲノムにインテグレートする特徴を持つ。アカゲザル，カニクイザルでは無症候性の感染が報告されている。一方でニホンザルでは感染すると血小板減少症，免疫抑制症状，神経症状を引き起こし，感染個体は高確率で死亡する。サル繁殖施設では検査を繰り返すことで安全を確認しているが，検査系には検出限界があり，潜伏感染している可能性は否定しきれない。現時点では封じ込めに成功しているが，いつ再発生するかは不明であるため，現行の検査系の高感度化を目指すことを目的とした。Digital PCR を導入し，検出感度，検出精度の向上を検証した。なお，標準サンプルとして SRV5 断片の合成核酸(10 ng/µl)を作製し用いた。

ゲル電気泳動法では，10^7 希釈のサンプル使用時，バンドは視認できたが，10^8 希釈ではバンドの視認は困難であった。一方で Digital PCR 法では 10^8〜10^9 希釈のサンプルの使用時でも検出することができ，10^8 希釈サンプルとネガティブコントロールの間で比較的明確な蛍光強度の差が見られた。血液サンプルへの適用においては，ゲル電気泳動法では検出および定量は困難であったが，Digital PCR 法では，サンプル 1 µl あたりの濃度を算出できた。結果として，ゲル電気泳動法に比べ高い検出感度の検査系を作製できた。さらに絶対定量が可能でサンプル中のコピー数を計算可能であるため，検出精度も向上できたと考えられる。

Digital PCR 法を導入し，検査系を改良することで，検出感度をゲル電気泳動法に比べ 10 倍〜100 倍向上できた。さらに，サンプル 1 µl あたりのコピー数が計算されることや，蛍光強度の比較が可能であることから，検出精度も向上したといえる。今後，SRV 陽性個体血液から，ウイルスゲノムの検出を試み，さらなる感度・精度の向上を目指し，プライマー・プローブを改良する。さらに，使用したプライマー・プローブについてリアルタイム PCR を用いた検証実験を予定している。

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室

【概要】

形態情報解析室では，医学生物学専用超高圧電子顕微鏡（Biomedical-HVEM），低温位相差電子顕微鏡（Cryo-PCTEM），連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）などを駆使して，バクテリアや生体組織などの比較的大きな試料の立体形態観察から，細胞，ウイルス，タンパク質などの無染色氷包埋試料による高分解能三次元構造解析などを行っている。Biomedical-HVEM は，生理研を代表する共同利用実験機器の一つであり，毎年これを利用した研究課題も全国から募集している。平成28 年度は，ウイルス粒子から神経組織の観察にいたるさまざまな生体試料の三次元形態研究について，合計 10 課題が採択され実施された。また，Cryo-PCTEM では，膜タンパク質からウイルス粒子の高分解能単粒子構造解析，SBF-SEM では，神経細胞や寄生性病原虫の立体形態解析などの共同研究が行われた。本研究室では，これらの共同研究を遂行すると伴に，それぞれの課題を達成するための手法および付属装置の開発，電顕画像からの最適な立体再構成法の研究も合わせて行っている。

染色体に似た構造をシアノバクテリアの一種で発見し 低温超高圧電子顕微鏡を用いて解明

村田和義
金子康子（埼玉大学教育学部）

シアノバクテリアは海や池に広く生息し光合成をするバクテリアの一種である。そしてシアノバクテリアは昼から夜に変わる瞬間に一斉に細胞分裂することが知られている。本研究では，その一種である「シネココッカス＝エロンゲータス（Synechococcus elongatus PCC7942）」が，細胞分裂する際私たちの細胞の染色体に似た構造体を作ることを発見した。そして低温超高圧電子顕微鏡を用いて，その構造を詳細に調べることに成功した。

通常バクテリアには，細胞のような遺伝子が膜に包まれた核はなく，分裂に際しても染色体構造はとらず，２倍に複製された遺伝子DNA が細胞の成長にともない伸張する細胞膜にくっついて新しい細胞へと分配される。本研究によって，シアノバクテリアの一種では，細胞分裂の際２倍に複製された遺伝子 DNA が染色体に似た構造体を作り，分裂後の新しい２つの細胞に分配されていくことが明らかになった。

今回の成果は，バクテリアのような単純な生物がより複雑な生物へと進化するその一つの過程を表していると考えられ，私たちのような高等で複雑な生物がいつ，どのように作られてきたかをひも解くためのヒントになると期待される。

Murata K, Hagiwara S, Kimori Y, & Kaneko Y (2016) Ultrastructure of compacted DNA in cyanobacteria by high-voltage cryo-electron tomography. Sci Rep 6, 34934.

マウスノロウイルスのタンパク質感染受容体を発見し，そのウイルス粒子への結合部位を推定

村田和義
芳賀　慧，藤本　陽，戸高玲子，村上耕介，横山　勝，片山和彦（国立感染症研究所）

ノロウイルスやロタウイルスに代表されるウイルス感染による下痢症は，世界中で年間数百万人規模の感染者を出し，大きな社会問題となっている。特にノロウイルスは，病原性発現機構を研究するためのモデル動物，効率良くウイルスを増殖させるための培養細胞がないため，現在有効な治療法が見つかっていない。本研究では，唯一培養細胞で安定して増殖させることが可能なマウスノロウイルス（MNV）を用いて，その三次元構造をクライオ電顕により解析し，ノロウイルスの感染メカニズムを明らかにする。

MNV の構造タンパク質 VP1 ゲノムのみを昆虫細胞で発現させ，得られた MNV-VLP をクライオ電子顕微鏡で単粒子構造解析し，高分解能のキャプシドのマップを得た。このマップをもとにホモロジーモデリングを行い MNV VP1 の分子モデルを作製した。この分子モデルを別途解析した感染型粒子（Virion）に当てはめることにより，Viron と VLP の構造の違いを推定した。

我々の共同研究グールプは同時に MNV の感染レセプターの研究を進展させており，RAW 細胞膜にある CD300lf, CD300ld 分子が MNV 粒子を細胞内に取り込むレセプターとして機能することを発見した（Haga et al., PNAS 2016）。CD300lf 分子の分子構造は X 線構造解析によって解かれていたため, 本研究で明らかにした MNV キャプシドタンパク質との分子ドッキングシミュレーションを行った結果，CD300lf は，MNV の P ドメイン二量体が組合わさる側面に結合することが示された。

Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R , Miki M, Doan YH, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, & Katayama K. (2016) Functional receptor molecules CD300lf and CD300ld within the CD300 family enable murine noroviruses to infect cells. Proc Natl Acad Sci USA 113(41).

隣から伸びてきた構造体が細胞分裂の方向を決めることをホヤの卵で発見

宮崎直幸，村田和義
根岸剛文，上野直人（基礎生物学研究所）

すべての動物は，一つの細胞である受精卵から細胞分裂を繰り返して，一つの大きな個体に成長する。そのためには，成長の各場面で細胞が分裂するタイミングや方向が，正確にコントロールされていないといけない。本共同研究では，ホヤの発生過程において細胞分裂の方向をコントロールする新しい構造体を発見し，その詳細な構造を解析した。この新しい構造体は，隣の細胞膜の一部が伸びてきて，“中心体”と呼ばれる小器官を引っ張ることにより，細胞の分裂方向を決めていると考えられた。このような隣の細胞の分裂方向をコントロールする構造体は，他の動物種においても報告がなく，細胞分裂制御の理解に全く新しい視点を与える。

本研究で発見した隣から伸びてくる構造体は，これまでに全く知られておらず，“中心体”が関わる重要な現象において新しい知見を提供できると考えられた。

Negishi T, Miyazaki N, Murata K, Yasuo H, & Ueno N (2016) Physical association between a novel plasma-membrane structure and centrosome orients cell division. eLife 5, e16550.

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。

無蛍光赤色蛍光タンパク質によるアストロサイト内分子活性化イメージング

中畑義久，鍋倉淳一，村越秀治

細胞内のタンパク質分子の活性化や相互作用を検出する方法として蛍光共鳴エネルギー移動法（FRET）がよく用いられる。特に，蛍光寿命イメージング顕微鏡により FRET を可視化する方法は，計測のアーチファクトが出にくく，しかも定量的である。最近，このような計測に利用可能な新規蛍光タンパク質（dark mCherry）の開発に成功した。そこで本研究では，このプローブを用いて，培養アストロサイト内でのカルシウムとシグナル分子活性の同時観察を試みた。特に，mRuby から dark mCherry への FRET を観察することによって，低分子量 G タンパク質である Cdc42 と RhoA の分子活性化を可視化する系を立ち上げた。この方法の特徴は赤色の波長域のみで分子活性計測が可能になることである。すなわち，緑の波長域が別の計測に利用することができる。そこで，緑色蛍光タンパク質をベースにしたカルシウム指示タンパク質である G-GECO と Cdc42/RhoA 活性の同時観察を行った。G-GECO と Cdc42/RhoA FRET プローブを発現した培養アストロサイトに ATP を投与したところ，細胞内で一過的な Ca^{2+}上昇が見られた。また，Ca^{2+}上昇に数十秒遅れて RhoA と Cdc42 が活性化することが明らかとなった。これに加えて，Cdc42 と RhoA の活性化は Ca^{2+}に依存する成分と非依存的な成分があることを見出した。今後はこれらの計測を海馬，大脳皮質の組織内で計測する予定である。

光応答性 CaMKII 阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用

村越秀治，柴田明裕，安田涼平（マックスプランクフロリダ研究所）

シナプスの可塑性に必須な分子である CaMKII の活性化を光照射依存的に阻害可能な光応答性分子の開発を行っている。これまでに，植物の光受容タンパク質キナーゼである Phototropin1 の LOV2 ドメインに CaMKII 阻害ペプチドを融合することによって，光制御可能な CaMKII 阻害分子を作製することに成功した。この分子は青色光照射によって，LOV2 に結合していた阻害ペプチドが解離し，CaMKII のキナーゼドメインに結合することで活性を阻害する。現在までに，この分子を用いて，刺激依存的なスパイン形態の変化や長期増強を光照射依存的に阻害できることを確認し，さらに阻害の特異性を生化学アッセイにより確認した。今年度は個体マウスにおいて，CaMKII が記憶形成の初期段階において，重要な役割を果たしていることを見出した。

光応答性 CaMKII 分子の開発とシナプス可塑性研究への応用

柴田明裕，村越秀治

本研究では，シナプスの可塑性にとって重要な分子である CaMKII を青色光照射によって活性化することが可能な光応答性分子の開発を行っている。現在までに，CaMKII のヒンジ領域に植物の光受容タンパク質キナーゼである Phototropin1 の LOV2 ドメインを挿入することによって，光制御可能な CaMKII 分子を作製することに成功した。この分子は青色光照射によって，分子構造が大きく変化し，キナーゼ活性が上昇する。また，単一スパイン内で CaMKII を活性化させることによって，スパイン形態の変化や，AMPA 受容体のリクルートを惹起出来ることを確認した。すなわち，スパイン形態の変化だけでなく，シナプス長期増強を惹起することができることを強く示唆する結果を得ることができた。今年度は光応答性 CaMKII の光活性化による RhoGTPase 活性化を蛍光寿命イメージング法によって可視化することを試みた。その結果，CaMKII の活性化によって Cdc42 は活性化するが RhoA は活性化しないことを見出した。今後は，光応答性 CaMKII の活性化により長期増強が惹起できるかどうかを電気生理学的手法で調べていく予定である。

分子間相互作用検出のための“無蛍光”黄色蛍光タンパク質の開発

村越秀治，柴田明裕

本研究では，2 光子蛍光寿命イメージングによる蛍光共鳴エネルギー移動（FLIM-FRET）の観察を高感度で行うことができる蛍光タンパク質の開発を行っている。エラー誘発 PCR，或いはランダムプライマーを用いた変異導入を行うことで EYFP に変異を導入し，大腸菌に形質転換しライブラリーを作製した後，大腸菌コロニーの蛍光を観察することによりスクリーニングを行った。これによって，従来 FRET のアクセプターとしてよく用いられてきた sREACh と比べてフォールディング効率が優れると共に，アーチファクトを抑えることができるプローブを得ることに成功し，ShadowY と名付けた。今年度はこの分子の吸光計数，量子収率，スペクトル測定を行い，さらにいくつかの既存の FRET プローブに応用することにより，この蛍光タンパク質の特性を詳細に調べた。今後は，このプローブを用いて，神経細胞やアストロサイトでの分子活性化イメージングを行う予定である。

生体機能情報解析室

【概要】

高磁場 MRI（３テスラおよび７テスラ）の共同利用 による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。MRI 装置の基礎研究・機器開発から臨床画像研究に至る共同研究を推進しつつ，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ている。

味覚の神経基盤

近添淳一，Daniel Lee（コロラド大学，認知科学研究所），
Nikolaus Kriegeskorte（認知脳科学ユニット，医学研究部門），
Adam K. Anderson（コーネル大学，人間発達学部）

哺乳類の舌には味覚の種類の知覚に最適化された科学受容体が並んでおり，これは何を摂取し，何を吐き出すべきかを判断する指針として，進化的には非常に古い時代から保たれてきた構造である。ネズミやサルを対象とした研究からは中枢神経系，その中でも特に島皮質において基本味覚が表象されていることが明らかにされているが，人間の中枢神経系における基本味覚の表象がどのようにされているかは，いまだ明らかにされていない。本研究においては，機能的 MRI データにパターン解析を用いることによって，人間において初めて，島皮質が基本味覚の種類の弁別の中心領域であることを示した。特に島皮質の中でも前方および中央部が基本味覚の種類の弁別に関わることを示し，さらに，基本味覚と味覚の価値が少なくとも部分的には分離可能であることを示した。本研究は，これまでネズミやサルの研究結果から類推されてきたヒト島皮質と味覚情報処理の関わりを直接的に示した点で意義深い。

行動・代謝分子解析センター

ウイルスベクター開発室

【概要】

ウイルスベクターは，げっ歯類から霊長類に至まで広範な哺乳類モデル動物に適用可能な非常に優れた遺伝子改変ツールである。ウイルスベクター開発室では，現在主に研究利用されているアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターあるいはレンチウイルスベクターの大量精製システムが確立しており，これらのウイルスベクターの効率的な提供体制も整備されている。本研究室は，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イ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，これらのウイルスベクターを駆使して，脳の複雑な神経回路網を構成する特定神経路の機能解析に取り組んでいる。

脳機能解析に有用なウイルスベクターの開発・提供と共同研究の推進

小林憲太

今年度は，国内外の研究室からの要望に応じて，延べ 214 件のウイ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，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。

皮質線条体ニューロンの生存における Rho シグナル伝達系の機能解析

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

AAV ベクターと高頻度逆行性遺伝子導入レンチウイルスベクターを組み合わせた二重遺伝子導入システムを利用して，皮質線条体ニューロンにおいて特異的に Rho GTPase とその標的タンパク質の一つである Rho-kinase の活性を抑制したマウスをそれぞれ作製した。これらの遺伝子改変マウスを組織学的に解析したところ，皮質線条体ニューロンに顕著なアポトーシスが誘導されていた。このことから，Rho/Rho-kinase シグナル伝達系は，皮質線条体ニューロンの生存に重要な役割を果たすことが明らかになった。

線条体-黒質投射ニューロンに制御される運動機能のメカニズム解析

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

AAV ベクターの二重感染システムを利用して，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する遺伝子改変マウスの作製に成功した（D1R-MSN PKA マウス）。

D1R-MSN PKA マウスの行動パターンを解析したところ，顕著な随意運動の変化が観察された。現在，D1R-MSN PKA マウスを用いて，引き続き，行動生理学的・電気生理学的な解析を進めており，線条体-黒質投射ニューロンによる運動機能制御を分子レベルで解明することを目指している。

遺伝子改変動物作製室

【概要】

様々な生理機能を個体レベルで研究する際，分子生物学的・発生工学的技術を駆使して作製した遺伝子改変動物が重宝である。小実験動物の主流であるマウスでは遺伝子改変技術が確立されているが，体が小さいためサンプル採取や生理学実験，とくに臓器移植などの外科的手技には向いていない。一方，生物・医学分野の生理学的研究において豊富な実験データの蓄積があるラットは，近年 ES 細胞株が樹立できたこともあって逆遺伝学的研究に利用される機会が増えている。最近，人工ヌクレアーゼや RNA 誘導型ヌクレアーゼを利用してゲノム配列の任意の場所を削除，置換，挿入する新・遺伝子改変技術が普及し，比較的容易にかつ短時間でノックアウト (KO) /ノックイン (KI) ラットを作製できるようになった。遺伝子改変動物作製室では，マウスとラットの両動物種に新・遺伝子改変技術を提供し，KO/KI 動物を作製している。ここでは，除核のタイミングを変えることで作製に成功したラットクローン胚盤胞からの ES 細胞株の樹立，ならびに CRISPR/Cas9 法の適用によって作製に成功した FoxN1 遺伝子ノックアウトラットについて紹介する。

ドナー核注入後に時間をおいてレシピエント核を除く手法で作製したラットクローン胚盤胞

原　弘真，平林真澄

注入ドナー核に早期染色体凝集 (PCC) という変化を誘起してからレシピエント核板を取り除く，というクローン胚作製法を考案した。Rosa26 領域に H2B/tdTomato を挿入した KI ラットを用いることで蛍光下でレシピエント卵子の細胞核を可視化できるようにし，CAG/Venus ラット由来 ES 細胞の核を顕微注入して 1〜2 時間後に tdTomato 蛍光を目印にレシピエント核板を取り除いた。顕微注入 2 時間後のほとんどの卵子においてドナー核が PCC を起こしており，除核・活性化誘起後に体内培養することで複数のクローン胚盤胞を回収できた。これらの胚盤胞から 1 ラインの ntES 細胞株の樹立に成功し，核型が正常であることや未分化マーカーが発現していることに加え，生殖細胞系列キメラに寄与することも確認できた。以上，除核をドナー核注入から遅らせて実施することで作製したクローンラット胚盤胞から，実用性の高い ntES 細胞株を樹立することに成功した。

CRISPR/Cas9 法の適用により作出した FoxN1 遺伝子ノックアウトラットの解析

後藤哲平，平林真澄

CRISPR/Cas9 システムを適用し，ヌードマウスの原因遺伝子で胸腺の発生に関わる Foxn1 遺伝子を欠失させたラットを作製した。ゲノム上の Foxn1 遺伝子を認識するガイド RNA と Cas9 mRNA をデザインし，Crlj:WI ラット由来前核期卵に顕微注入した。その結果，Foxn1 遺伝子の片側アレルに 44 bp 欠失，60 bp 欠失，4 bp 挿入のいずれかの変異を持つ 5 匹のラットが得られた。末梢血リンパ球の FACS 解析により，Foxn1 ホモ欠失個体では T

細胞数が著しく減少した一方，B 細胞や NK 細胞の数には影響しないとわかった。いずれのホモ欠失個体 (44 /44 bp 欠失，44 /60 bp 欠失，60 /60 bp 欠失) でも胸腺欠損が確認されたが，完全なヌードの表現型を呈さず，分娩能力ならびに哺育能力も正常だった。以上，CRISPR/Cas9 システムを利用して作製した Foxn1 遺伝子 KO ラットは，胚盤胞補完法によって多能性幹細胞から胸腺を再生するためのモデル動物として有用である。

行動様式解析室

【概要】

マウスの遺伝子の 99%はヒトにもホモログ（対応する遺伝子）があり，さらに遺伝子ターゲティングなどの技術を応用することで，遺伝子を自由自在に操作することができる。マウスでは心理学的な解析をはじめとして，個体レベルでの多彩な解析技術が適用でき，ヒト脳の統合的理解のためのモデル動物として最適であると考えられる。全ての遺伝子の 80%以上は脳で発現していると言われており，脳で発現する遺伝子の機能を調べるためにはその最終アウトプットである行動を調べることが必要だと考えられる。我々は各種の遺伝子改変マウスに対して，知覚・感覚，運動機能，情動性などから記憶学習や注意能力など高次認知機能まで，幅広い領域をカバーした行動テストバッテリーを用いて解析し，各種遺伝子の新規機能の探索を行っている。国内外の多数の研究室との共同研究を行っており，これまでに行動様式解析室として 84 系統，4664 匹のマウスを解析している。この中には，精神疾患のモデルマウスとなるような系統も複数見つかっている。

行動様式解析室は 2010 年に開始し，室長である宮川剛客員教授のもと高雄啓三特任准教授（2015 年 10 月より 2017 年 3 月までは教授（兼任））が運営を担当していた。2015 年 10 月の高雄の富山大学への異動に伴い，行動解析に使用している機器を富山大学に徐々に移設し，本年度で共同研究施設としての役割を終え，行動様式解析室は廃止となった。これは生理学研究所で確立した共同研究・共同利用研究の機能を所外にも拡充するという生理研所長のリーダーシップによるものである。行動様式解析室で確立された技術は，今後は富山大学において国内外の研究者との共同研究に活用される。

精神疾患の中間表現型「未成熟脳」のメカニズム解明と制御法の探索

高雄啓三，宮川　剛

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

胞の活動性を操作し，その成熟度変化を調べることで海馬歯状回の神経細胞をはじめとする各種の脳細胞の成熟度変化が起こるメカニズムの解明を目指している。また，神経細胞成熟度の制御法を確立することができれば統合失調症やうつ病などの精神疾患の新たな予防・治療法の創出に大きく貢献すると期待できる。

マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用

高雄啓三，宮川　剛

藤田保健衛生大学や京都大学などでの活動を合わせ，これまでに国内外 100 以上の研究室との共同研究で遺伝子改変マウス 180 系統を含むおよそ 200 系統の 10000 匹以上のマウスについて網羅的行動データを取得している。個体ごとの生データはデータベースに登録しており，これらを用いて各種行動の指標となる数値間にどのような関連性があるか，実験における各種のパラメータが行動データに及ぼす影響などについてインフォマティックス的解析を行うことが出来る。このデータベースを活用し，遺伝子改変マウスのバックグラウンド系統として最も多く使われている C57BL/6 J 系統についてのデータをまとめて，実験を行う時間や実験時の週齢，ケージ内の同居マウスの匹数などの各種変数が実験結果に与える影響を解析している。これらの解析により，実験を行う週齢が進むにつれて活動性，社会的行動，驚愕反応，参照記憶が低下し，プレパルス抑制が増加することなどが明らかとなった (Shoji et al., ***Mol Brain***, 2016)。また，実験を行う際にケージから取り出す順番によっても体温，痛覚感受性，不安様行動などの指標が影響されることも明らかとなった (Takao et al., ***Front Behav Neurosci***, 2016)。これらの実験時における各種変数が行動に与える影響を明らかにすることで行動解析のプロトコルの改良や標準化を推進していく。現在，論文発表された 64 系統 4458 匹分のデータおよび各種遺伝子改変マウスの野生型コントロールとして使用された C57BL/6 亜系統のマウスのデータ（1965 匹分）についてはマウス表現型データベース http://www.mouse-phenotype.org/ で公開している。この Web サイトではマウス用行動解析ソフトウェアの公開も行っている。この他，行動実験後の各個体の行動データが付属したマウスの脳や血漿サンプルについてもリソース化を進めている。行動様式解析室の廃止に伴い，生理学研究所で運用していたサーバーは理化学研究所 脳科学総合研究センター 神経情報基盤センターに移設し，運用を続けている。また，マウスの脳・血漿リソースについては藤田保健衛生大学にて保管を行っている。

代謝生理解析室

【概要】

研究所内外が作成，保有する遺伝子改変マウス及びラットの代謝，生理機能を詳しく解析し，標的遺伝子の機能と行動変異のメカニズムを明らかにすることを目的に本年度より新たに開設された。計測する代謝・生理機能と担当者は以下の通りである。（１）運動系を中心とした，覚醒下での単一ニューロン活動など神経活動の計測(担当：生体システム研究部門，南部教授)，（２）自由行動下における脳内特定部位での神経伝達物質の分泌計測(担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門，箕越教授)，（３）フラビンおよびヘモグロビン由来の内因性シグナルを利用した脳領域活動と膜電位感受性色素を用いた回路活動のイメージング（担当：生体恒常機能発達機構研究部門，鍋倉教授），（４）自由行動下における摂食行動，エネルギー消費の計測（担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門，箕越教授），（５）自由行動下における体温，脈拍数，血圧の計測（担当：細胞生理研究部門，富永教授，鈴木喜郎助教），（６）摘出灌流心臓または麻酔マウスを用いた心機能，循環血流量の測定（担当：心循環シグナル研究部門，西田教授）。

活性イオウ生成酵素の心循環機能制御

赤池孝章（東北大学大学院医学研究科）
下田　翔，西村明幸，西田基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター心循環シグナル研究部門）

生体内で酵素的あるいは非酵素的に形成されるシステインパースルフィドやポリスルフィドは極めて求核性が高く，細胞内外の様々な親電子性物質（活性酸素や重金属なども含む）と反応し，抗酸化に貢献している。心臓にはミトコンドリア tRNA 合成酵素（cysteine tRNA-syntethase (CARS)）のみが活性イオウ生成酵素として機能しているものの，その役割は明らかでない。赤池らが作出した CARS2 ホモ欠損マウスは致死性であったことから, CARS2 ヘテロ欠損マウスを用いて心機能解析を行った。その結果，心臓における活性イオウ量は半分近くまで低下していたものの，通常の飼育環境下において心臓の形態構造および収縮機能に影響はなかった。一方で，CRISPR/Cas9 を用いて CARS2 を欠損させた HEK293 細胞株ではミトコンドリアが有意に分裂しており，それに伴ってミトコンドリア分裂促進タンパク質 Drp1 の活性増大も観察された。低濃度の有機水銀曝露マウスにおいても Drp1 の活性化やミトコンドリア過剰分裂が同様に観察されたものの，心血管機能には影響がなかったことを考えると，活性イオウ量低下による Drp1 活性化を介したミトコンドリア分裂自体は心血管機能に影響を及ぼさないことが示唆された。

薬剤誘発性心筋症における TRPC3 チャネルの役割解析

島内　司（九州大学大学院医学研究院）
松金良祐（九州大学大学院薬学研究院）
冨田拓郎，西田基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター心循環シグナル研究部門）

アントラサイクリン系抗がん剤ドキソルビシンによる化学療法は全身性のがんに対して有効であるものの，累積投与によって生じる心毒性が重篤な副作用として問題視されている。マウスにドキソルビシンを投与すると心機能低下に伴って心臓の萎縮が観察される。TRPC3 チャネル欠損マウスにドキソルビシンを投与したところ，心重量の低下（心筋萎縮）とそれに伴って生じる NADPH 酸化酵素（Nox2）の発現増加と脂質過酸化物の生成, 心機能の低下が有意に抑制された。TRPC3 と Nox2 の相互作用部位である TRPC3 の C 末端ペプチドを心筋細胞特異的に発現させたマウスにドキソルビシンを投与した場合においても，心筋の萎縮は有意に抑制された。TRPC3 欠損マウスの左心室内圧―容積関係を測定した結果，野生型マウスの心臓と比べて心筋コンプライアンスが有意に高いことが明らかとなった。この表現型は，回転かご付き飼育ケージに 2 週間以上飼育させた自発運動マウスの心機能と類似しており，どちらの心臓においても TRPC3 と Nox2 タンパク質の発現量が低下していたことから, TRPC3 機能阻害は運動状態を模倣することで抗がん剤誘発性の心筋萎縮を抑制する可能性が示された。

褐色脂肪細胞における TRP チャネルの役割

若林繁夫，岩田裕子（国立循環器病研究センター）
河田照雄，後藤　剛，金　珉智（京都大学農学研究科）
孫　武平，内田邦敏，鈴木喜郎，周　一鳴，高山靖規，富永真琴（生理学研究所細胞生理研究部門）

TRPV2 は生体内に広く分布するものの体温よりも遥かに高い温度(52℃以上)で活性化することから，その生理機能は不明な点が多い。TRPV2 は細胞膜への伸展刺激によっても活性化する。本研究では TRPV2 の生理機能を明らかにするため TRPV2 を欠損したマウスを作製し解析した。その結果，WT マウスと比較して個体のエネルギー代謝に違いがあることが明らかになった。より詳細な解析により TRPV2 欠損マウスでは褐色脂肪細胞における熱産生能が減弱していることがわかった。このことから TRPV2 は個体のエネルギー代謝に中心的な役割を果たしている褐色脂肪細胞の機能に重要であることが示唆された。

脳損傷時の冷却における TRP チャネル

藤山雄一，鈴木倫保（山口大学医学研究科）
内田邦敏，富永真琴（生理学研究所細胞生理研究部門）

脳神経外科分野において中枢神経損傷，特に重症の頭部外傷に対する治療として，脳低温療法が確立されているが，その作用機序は不明である。本研究ではその作用機序を明らかにするために温度センサーである TRP チャネルに着目し，脳損傷時の冷却効果における TRP チャネルの関与を TRP チャネル欠損マウスを用いて検討した。その結果，一部の TRP チャネルにおいてその効果の有意な違いを見出した。

運動異常症の病態生理の解析

竹林浩秀，堀江正男（新潟大学大学院）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生理学研究所生体システム研究部門）

運動異常症モデルのうち，理研 BRC の吉木先生らのグループが発見した突然変異マウス（dt-23Rbrc）の記録・解析を行った。本マウスは，上肢の捻転，下肢の伸展，歩行時の体幹捻転など，ジストニア様の症状を示す。遺伝子解析により，Dystonin (Dst) 遺伝子に異常があることがわかった。筋電図を記録したところ，持続的な筋収縮，伸筋と屈筋の同時収縮など，ジストニアに特徴的な筋活動を示した。ジストニアの病態生理を調べるため，大脳基底核から覚醒下で神経活動を記録した。淡蒼球外節・黒質網様部における自発発射活動および大脳皮質運動野を電気刺激した際の応答は，野生型マウスと比較して顕著な差は認められなかった。今後，小脳など大脳基底核以外の脳領域の神経活動を調べる予定である。

岡崎統合バイオサイエンスセンター

オリオンプロジェクト
生体制御シグナル研究部門

【概要】

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

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

匂い認識における嗅粘液の役割の解明

佐藤幸治

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

幹細胞から誘導される腸管オルガノイドのイメージング法の確立

佐藤幸治

細胞外マトリックスを用いた腸管幹細胞の三次元培養で得られる腸管オルガノイドは, 生体の持つ腸管上皮細胞の機能を反映したモデル器官として注目されている。しかし細胞外マトリックスはゲル状であり物質透過能が著しく低いため, オルガノイドに対する薬物刺激は限定的である。したがってその利用は分子生物学的な手

法に留められており，薬物刺激に対する動的な反応を測定する技術は開発されていない。

オルガノイドを用いた細胞生理学的実験を行うためには，培養に必須である細胞外マトリックスを取り除いた状態で，細胞を維持しなければならない。そこで，オルガノイド培養の細胞外基質に用いるマトリゲルを取り除いた状態で細胞の生存を検討したところ，ポリマーを含んだ液体培地で生存率の改善が認められた。この培養条件下では蛍光色素による染色が可能であり，Fura2を用いたカルシウムイメージングが可能となった。これまでにこの方法により，オルガノイド外側に分布する受容体の反応を可視化できた。

動物実験センター

【概要】

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

第一の管理運営は，特に微生物学的品質管理の面について，微生物モニタリング，コントロール，クリーニングを行ったところ，その結果，明大寺地区ではラットから*Clostridium piliforme*（Tyzzer菌）を検出した。そこで，隔離飼育，緊急検査，清掃消毒等の感染対策を実施した結果，除去に成功した。山手地区ではマウスから*Pasteurella pneumotropica*汚染事故が確認され，疫学調査及び隔離飼育の微生物コントロール等を行った結果，除去に成功した。空調機等の補修管理について，特に明大寺地区の動物棟Ｉ（本館）の空調機が自動運転で安定運転不能に陥っていることは重大な問題で，可及的速やかな解決が必要である。さらに動物棟Iの改修・増築計画を概算要求に向けて立案した。その他に，サル類微生物検査に向けての整備，サル類の定期的健康診断，サル類の授受に関する書類の整備，齧歯類微生物自家検査の実施に向けての整備などを進めた。

第二の研究は，マーモセット肥満モデルの作製と解析に関する研究を行った。飼育管理方法に関する研究は，霊長類実験動物飼養保管施設における総合的管理技術の取り組み及び飼育環境調査，マウス肺パスツレラ感染事故の対策，マーモセット日常飼育管理と獣医学的ケア等を行った。

第三の教育は，センター山手地区の利用者を対象に，前年度までと同様に利用者講習会及び実務講習を開催した。明大寺地区は昨年ICカードによる入退館システムが導入されたが，全利用者対象に利用者講習会を行った。昨年度からは齧歯類の取り扱い初心者を対象に，動物福祉に配慮したマウスの基本的な実技講習会を行った。

第四の社会貢献は，研究所外では各種学協会等での理事長，理事，委員等の役割を担っての活動，実験動物飼養保管基準の解説書の改正，「動物愛護管理法」の過去・現在・未来に関するシンポジウム，動物実験の外部検証の実施準備に向けた事前説明会，さらに文部科学省等の行政との間の情報交換等の活動を行った。

【管理運営】

1. 動物飼育数および入館者数

明大寺地区動物種別の飼育数は，マウス2,291匹，ラット19匹，魚類19,853匹，両生類34匹，サル類32匹であった。登録者数113名であった。

山手地区動物種別の飼育数は，マウス4,245匹，ラット376匹，魚類4,020匹，両生類380匹であった。年間入館者数は12,162人（延べ），登録者数147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，12部門（生理研8部門，統合バイオサイエンスセンター3部門，共通研究施設1部門）であった。明大寺及び山手地区水生動物の利用状況は，明大寺地区の利用部門数は，6部門（生理研1部門，基生研5部門）であった。山手地区の利用部門数は，4部門（生理研1部門，統合バイオサイエンスセンター3部門）が水槽を利用している。

3. 微生物学的品質管理

(1) 微生物モニタリングの項目

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

(2) 微生物モニタリングの件数

明大寺地区の検査件数はマウス98件とラット20件であった。山手地区の検査件数はマウス127件とラット28件であった。

(3) 微生物モニタリングの結果とコントロールの成績

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

A. 経緯

2017 年 1 月 16 日に行った定期微生物モニタリングにおいて，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）で飼育しているラットから *Clostridium piliforme* 陽性が検出されたと報告があった。同室および該当部門が使用しているセンター内 201 ラット飼育室の緊急検査を行ったところ，5 ケージで抗体陽性個体が確認されたため，隔離飼育等の微生物コントロールを行った。さらに 201 ラット飼育室はラットの凍結胚を作製するため必要最小限の動物を残し，陽性個体を含むラットの安楽殺を行った。

B. 防除対策

a. 汚染状況把握

センター内の 201 ラット飼育室で飼育されている全てのケージのラット 1 匹から部分採血して検査した。センター外に該当部門の飼育室のラット全頭，マウス 1 匹/ケージについても検査した。

b. 囮動物設置

該当部門の飼育室，センター内 336 マウス飼育室および 201 ラット飼育室に囮動物を設置し，全ケージから糞便を採取した後に囮動物に暴露させる汚れ床敷きによる飼育を行った。一か月ごと二ヶ月間，部分採血を行い，*Clostridium piliforme* の微生物モニタリングを行うこととし経過観察を行った。

c. 清掃消毒

飼育室の入口に長靴，踏み込み槽を設置した。白衣，マスク，手袋，キャップを着用して，マスク，手袋，キャップはディスポで廃棄した。白衣は前室に掛けてその都度着脱し，床換え時に滅菌缶に入れて滅菌・洗濯した。消毒薬は塩素系消毒薬を使用し，使用器材や廃棄物は滅菌缶に入れて，高圧蒸気滅菌後に洗浄や廃棄を行った。センター内の床敷き倉庫，洗浄室，器材庫は清掃，エクスポアによる消毒を行った。汚染ケージ室は清掃およびホルマリン燻蒸を行った。

d. 除去成功

2017 年 3 月および 4 月に実施していた微生物モニタリングで *Clostridium piliforme* が全て陰性であることが確認されたことから同年 5 月 16 日に本菌汚染は終息したと結論した。しかし，*Clostridium piliforme* の汚染源及び侵入経路は特定できなかった。

2) 山手地区マウスでの *Pasteurella pneumotropica* 汚染事故

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

3. マウス受精卵凍結胚操作・融解・クリーンアップ実績

受精卵凍結保存は37件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は4件，融解・移植は6件，それぞれ実施した。げっ歯類の授受について，動物輸送件数は年間でのべ56件の導入と119件の供与があった。

4. 空調機等の補修管理

(1) 明大寺地区でのトラブル発生件数

空調関連は 31 件（前年度 12 件），オートクレーブは 2 件（5 件），機器関連は 18 件（27 件）のトラブルがそれぞれ発生した。

(2) 明大寺地区での主な工事修理

1) 動物棟I（本館）の空調機は，真夏及び真冬の時期に，自動運転では安定した運転が出来ない。真冬では温水槽に蒸気を直接吹き込んだり，温水・冷水ポンプを強制的に稼働させたりするなど，手動運転を行う必要が出てきている。経年劣化が原因と考えられるため，改修・増築と併せて，整備していくことが必要である。
2) 動物棟I（本館）の全熱交換機のファンモーター不具合で修理を行った。
3) 動物棟I（本館）の洗浄室ケージウォッシャーの蒸気配管に穴が空き，修理を行った。
4) 動物棟I（本館）のオートクレーブのドレーン配管から水漏れがあり，修理を行った。
5) 動物棟II（新館）の336室天井から漏水。空調機のドレンパンの経年劣化による水漏れのため修理を行った。

(3) 山手地区でのトラブル発生件数

空調関連は 22 件（前年度 20 件），オートクレーブは 10 件（18 件），機器関連は 25 件（21 件）のトラブルがそれぞれ発生した。

(4) 山手地区主な工事修理

1) 空調用吸収式冷温水発生器にいては高温再生器液面低異常のため，薬液洗浄および真空関連部品取り替えを行った。

2) オートクレーブ 3 台の蒸気漏れ修理および部品交換，オートクレーブのコンプレッサー故障のため，修理を行った。

3) 3 階，4 階の定風量装置（CAV）53 台の点検を行い，うち不具合のあった定風量装置 14 台の交換を行った。

4) 5 階機械室の空調機 ACU-1A の加湿用塩ビ配管が破裂し，4 階北側 SPF エリアへ漏水のため，修理を行った。

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

5. サル類の定期的健康診断

マカクサルの導入時にE型肝炎ウイルス（HEV），サル免疫不全ウイルス（SIV），サルT細胞白血病ウイルス1型（STLV-1）の検査結果を確認した上で導入することとなった。サルの定期的健康診断について，全頭（44頭）を対象として，血液学的検査，血清生化学的検査，糞便検査（寄生虫，細菌性赤痢，サルモネラ菌），ツベルクリン反応による結核症の感染検査，Bウイルス抗体検査，SRV抗体検査・核酸検出，E型肝炎ウイルス（HEV）抗体検査・核酸検出，麻疹ワクチン予防接種およびイベルメクチン予防投与を実施した。

6. 齧歯類微生物自家検査業務の整備

昨年度中に齧歯類微生物自家検査の実施に向けての整備は動物棟IIの432室にクリーンベンチ，安全キャビネット，オートクレーブ，ゲル泳動装置，光学顕微鏡等を購入し整備を行った。2016年10月より，実験動物中央研究所ICLASモニタリングセンターへの外部委託検査と一部自家検査の同時並行検査を行った。来年，外部委託検査をとりやめ，自家検査に移行する予定である。

7. 明大寺地区のセンターの改築・改修計画

明大寺地区のセンターは建設されてから 37 年あまりを経過しており，動物棟 I が老朽化して空調設備等に多くのトレブルが発生し，飼育環境を適正に維持することが困難となってきたことから，本格的な改修・改築工事をすべく，様々な角度から検討を加えた。その結果，動物棟 I（マウス，ラット等）と動物棟 II（マウス，ニホンザル，マーモセット等）を含む施設の機能改善および機能高度化を目的に，改修することで検討した。検討した改修・改築計画案については，機構長ヒアリング，文部科学省生理研視察時に概算要求の説明および動物実験センター見学，文部科学省とのヒアリングも行い，その結果を踏まえてさらに検討を進めた。

【研究】

1. マーモセット肥満モデルの作製と解析

本研究では生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門の箕越教授の指導下に小型霊長類肥満モデル動物の確立を目指し，実現することである。これまでに，箕越研の研究成果により摂食行動と代謝調節への視床下部室傍核に慢性的に選択的に持続活性化型AMPK（CA-AMPK）を発現させ観察したところ，高脂肪食よりも高炭水化物食を多く摂食し，体重が大幅に上昇することを見出した。しかし，霊長類にみられる高度な認知・学習・行動発現や意志決定などを司る中枢神経系の嗜好性調節メカニズムを明らかにするためには，モデルマウスでの実験は難しい。また小型霊長類では，肥満研究に使用する為の適切なモデル動物が非常に少ないため，新たなマーモセット肥満モデルの作成と解析の研究を推進した。さらに実験動物中央研究所マーモセット研究部とのMTA（研究材料提供契約）の締結を実施した。年間6頭のマーモセットの譲渡と共同研究を推進した。

2. 飼育管理方法に関する研究

(1) 霊長類実験動物飼養保管施設における総合的管理技術（Integrated Pest Management ; IPM）の取り組み及び飼育環境調査について，第 50 回日本実験動物技術者協会総会に発表した。動物実験センター屋内サル飼育エリアで 2016 年 1 月から 2017 年 3 月にかけてオオチョウバエ生息調査を行った。その結果，サル飼育室で多量のオオチョウバエ生息を確認した。発生源探索の結果，サル飼育室の便器排水トラップ裏側と側溝で発生源が見つかった。今回の調査では，外気温の変化，排水管の構造がオオチョウバエ発生数に影響すると考えられた。対策として生息調査に基づいた，清掃による発生源の除去，外部侵入を防ぐための便器排水トラップ隙間の封鎖，発生源に対する薬剤処理を行った結果，効果的，継続的にオオチョウバエの発生を抑制

することができた。

(2) マウス肺パスツレラ感染事故対策と除菌効果を検討した。肺パスツレラは動物実験施設では高率に検出される細菌のひとつである。通常の動物への病原性は低いとされているが，免疫不全の動物に肺病変の形成等を起こす。主に結膜や気管粘膜から分離され，糞便を介した接触感染で伝播すると考えられている。山手地区動物実験センターSPF バリア区域では，3 ヶ月に 1 回，定期的に微生物モニタリングを行っている。そのうち 2015 年 8 月に肺パスツレラが検出され（1 回目の感染事故），その後終息宣言を出したが，2016 年 2 月に再び肺パスツレラが検出された（2 回目の感染事故）。この 2 回の感染事故で行った対策について，第 50 回日本実験動物技術者協会総会に発表した。

(3) マーモセット日常飼育管理と獣医学的ケアについて，明大寺地区 2015 年より，マーモセット飼育室に自動洗浄飼育装置の設置を行った。約 2 年間で飼育管理記録および獣医学的ケア，マーモセットの取り扱い方と，基本的な手技，例えば保定法，麻酔法，大腿静脈採血法をまとめ，第 14 回中華実験動物学会日本実験動物学会に発表した。

【教育】

1. 教育訓練

これまで行っていなかった明大寺地区利用者講習会はICカードによる入退館システムの導入整備を行い，利用者講習会を月1回実施し，合計119名が受講した。山手地区において初めてセンターを利用する実験者を対象にして，利用者講習会を毎月開催した。受講者数は合計22名であった。

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

その他，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」のプログラムについて，神経シグナル研究部門と合同で共催した。参加者は合計3名であった。動物実験委員会実験用霊長類専門委員会の「サル講習会」について，受講者は合計47名であった。

【社会貢献】

1. 研究所外での役員等

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

2. 行政

文部科学省，農林水産省，環境省，内閣府等との間で情報交換を行った。

技術課

大河原　浩

【概要】

今年度，研究所の組織再編に伴い，技術課組織も変更したが，ほとんどの技術職員を昨年度と同じ部門や施設に配属させた。昨年度から引き続きスキルを考慮した配属換えを実施し，高木正浩技術主任を視覚情報処理研究部門に，高橋直樹係員を感覚認知情報研究部門に，森将浩係員を安全衛生管理室に配属させた。磯田昌岐教授の認知行動発達機構研究部門への着任に伴い，戸川森雄班長を引き続き同部門に配属させた。また，小原正裕課長補佐と前橋寛係長が定年退職を迎えたため，当該職員の業務の整理と引き継ぎ作業を進めた。

技術課組織の強化と研究支援体制の充実を図るため，戸川森雄係長を班長に，廣江猛技術主任を技術係長に，森将浩技術係員を技術主任に昇任させた。

課の研究活動への寄与と貢献を一層進めるため下記の事業を実施した。

① 生理科学実験技術トレーニングコースでの技術指導

生理学研究所が毎年主催し，実施している生理科学実験技術トレーニングコースで，『生体アンプ回路工作と機械工作入門』と『ＰＩＣによる回路工作とプログラミング』の 2 コースを企画し，各コースに 4 名づつの受講者を受け入れ，指導した。

② 生理学技術研究会の開催

全国の大学等技術職員の技術連携と交流を目的に第 39 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 2017 年 2 月 16 日－17 日の 2 日間にわたり開催した。会では，口演発表が 21 題（含む奨励研究採択課題技術シンポジウム口演発表），ポスター発表が 41 題あり，研修講演として『細胞間結合を構成するタンパク質群の同定』（古瀬幹夫，生理学研究所 細胞構造研究部門 教授）を行った。これらの報告は『生理学技術研究会報告（第 39 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 13 回の報告会（2017 年 2 月 17 日）を 11 演題で行った。この報告は『生理学技術研究会報告（第 39 号）』にまとめた。

④ 自然科学研究機構技術研究会の参加

自然科学研究機構技術職員の業務の紹介と技術連携を目的に，第 11 回を国立天文台で開催した（2016 年 6 月 9－10 日）。会では 29 演題の発表があり，詳細は『第 11 回自然科学研究機構技術研究会集録（電子ファイル）』としてまとめた。

⑤ 東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修等の受講と参加

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

また，第 42 回国立大学法人動物実験施設協議会総会（岐阜，1 名），第 50 回日本実験動物技術者協会総会（埼玉，1 名），第 7 回 実験動物管理者等研修会（九州，1 名），微生物モニタリング研修（熊本，1 名），NBR のサル取扱いと関連法規についての事前講習会（大阪，1 名），マカクサル・マーモセット飼育に関する研修（犬山，1 名），生物試料固定包埋講習会（東京，1 名），ビジネスセミナー（名古屋，1 名），AMED・JST CREST 合同ミーティング（山梨，1 名），革新的先端研究開発支援事業・AMED-CREST 領域会議（大阪，1 名），総合技術研究会 2017（東京大，3 名），機器・分析技術研究会（名古屋大，4 名），第 18 回岐阜大学技術研究会（岐阜，1 名），日本神経科学大会（横浜，1 名），研究倫理に関する講演会（東京，2 名）などに参加し，業務の研究支援力の強化を図った。

⑥ 放送大学利用による専門技術研修の受講

研究の高度化と多様化に対応するため，放送大学を利用した技術職員の研修を推進している。今年度は，心理統計法 ’11 の科目を選択し，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

い，下記の 1 課題の採択を得た。

(1) 齊藤 久美子 : 非放射性試薬による消化管 SGLT 活性測定法の開発と肥満による影響の解析

⑧ 業務報告会とデータベース化事業の促進，および表彰制度の整備

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

⑨ 安全衛生技能講習等の受講と参加

研究所の安全衛生を課業務として充実するために，平成 28 年度東海・北陸地区国立大学法人等安全衛生担当者連絡会（名古屋工業大学，1 名），平成 28 年度安全講習会（名古屋大学，1 名），衛生管理者講習会（岡崎，1 名），高圧ガス保安協会講習会（名古屋，2 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，相互訪問またはテレビ会議による情報交換を行った。

⑪ 職場体験の受入れ等

広報展開推進室が推進する地域貢献活動を支援するため，岡崎市近郊の中学校生徒（4 中学校，11 名）の職場体験を受入れ，ネットワーク管理室，機器研究試作室，遺伝子改変動物作製室，電子顕微鏡室の技術職員が指導した。また，せいりけん市民講座，岡崎市理科作品展，大学共同利用機関シンポジウム，自然科学研究機構シンポジウムなどのアウトリーチ活動の支援を行った。

施設の運営状況

①システム脳科学研究領域

（1）生体磁気計測装置

竹島康行

【概要】

生体磁気計測装置における研究成果については，システム脳科学研究領域 統合生理研究部門の研究活動報告と生体磁気計測装置共同利用実験報告に記載している。

下表に生体磁気計測装置の稼動率を示す。本装置は計測システムと解析システムから成るが，使用日数に解析システムの使用分は含んでいない。システム全体の保守は業者による三ヶ月毎の定期点検を基本としており，センサーを良好な状態に保っている。

6 月～9 月にデータ収集プロセッサの SQC ボードの不具合により計測不能の状態が数回発生したが，予め交換部品を調達しており，センサーの調整を含め数時間で復旧を終えたため，実験計画に支障を来すことは無かった。

数年前から計測システムの変更に伴い，システム全体を HP-UX から Linux PC への移行を進めている。ファイルサーバーの移行は済み，保存容量と転送速度の向上を図ることができたが，解析システムはライセンスの関係で移行できないソフトウエアがあるため，利用者の使用状況に合わせて，一部の HP-UX の運用を続けている。BTi 社製の解析システムについては運用を停止した。

2016 年度　生体磁気計測装置稼働率

年　月	日数	休日	点検調整日数	使用日数	稼働率（%）	使用者数（人）		備考
						延べ総数	所外	
2016 年　4 月	30	10	0	12	60	12	7	
5 月	31	12	0	9	47	9	9	
6 月	30	8	4	13	72	14	14	定期点検，SQC ボード交換
7 月	31	11	1	14	74	14	12	プロジェクタ修理
8 月	31	9	3	18	95	20	16	定期点検 SQC ボード交換
9 月	30	10	1	16	84	16	16	SQC ボード交換
10 月	31	11	0	7	35	7	6	
11 月	30	10	0	18	90	19	4	
12 月	31	12	2	8	47	8	7	定期点検
2017 年　1 月	31	12	0	11	58	11	10	
2 月	28	8	0	15	75	16	9	
3 月	31	9	3	13	68	13	10	定期点検，BTi 解析システム停止
	365	122	14	154	67	159	120	（稼働率は平均値）

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

（2）磁気共鳴装置

伊藤嘉邦

【概要】

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

磁気共鳴装置は，2015 年度に新たに独シーメンス社の 7T-MRI が導入され，これまでの独シーメンス社の 3T の装置 3 台と合わせて 4 台が稼働している。3T-MRI 装置は 2001 年度から共同利用実験に供されている Allegra と，2010 年度に導入された 2 台の Verio による世界初の Dual fMRI 実験装置がある。2015 年度から新たに稼働を開始した 7T-MRI 装置は，3T-MRI に比べてより高解像度で脳の断層画像を行うことができ，脳機能画像計測においても新たな研究への貢献が期待されている。7T-MRI 装置は，周辺の実験機器の整備を行いつつ，2016 年度より共同研究機器として運用を開始した。

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

それぞれの装置ごとの稼働率を下表に示す。なお 2014 年 4 月より Allegra は動物実験を主に行うようになった。また，2 台の Verio に関しては単体でも実験に使用できるため，便宜上 Verio-A，Verio-B として個々の稼働率を算出している。

今年度は，7T-MRI で得られる大容量の画像データーに対応するために，新たに大容量かつ高速なファイル・サーバーの導入およびデーター解析用 PC クラスタ・マシンの導入を行った。また，これらの機器を有効に活用するために 10Gb ネットワーク網の基盤整備を行った。また，新たに導入した PC クラスタと 10Gb ネットワークを活用するために，これまで解析に用いてきた PC 群のアップデートを行った。

2016 年度　磁気共鳴装置稼働率

Allegra

年　月	日数	休日	保守	使用可能日数	稼働率（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2016 年　4 月	30	10	0	20	40	6	2	
5 月	31	12	1	18	6	0	1	
6 月	30	8	0	22	45	1	9	
7 月	31	11	1	19	47	0	9	液体ヘリウム補給
8 月	31	9	1	21	19	2	2	
9 月	30	10	3	17	35	2	4	
10 月	31	11	1	19	16	1	2	
11 月	30	10	1	19	26	1	4	液体ヘリウム補給
12 月	31	12	1	18	33	1	5	
2017 年　1 月	31	12	0	19	53	2	8	
2 月	28	8	0	20	30	0	6	
3 月	31	9	2	20	30	2	4	液体ヘリウム補給
計	365	122	11	232	32	18	56	

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	
2016 年　4 月	30	10	0	20	65	0	13	
5 月	31	12	1	18	67	2	10	
6 月	30	8	0	22	86	2	17	
7 月	31	11	1	19	95	0	18	定期保守
8 月	31	9	0	22	73	0	16	
9 月	30	10	2	18	39	0	7	
10 月	31	11	0	20	60	2	10	
11 月	30	10	2	18	83	0	15	定期保守
12 月	31	12	2	17	71	0	12	
2017 年　1 月	31	12	1	18	44	0	8	
2 月	28	8	3	17	6	0	1	
3 月	31	9	6	16	50	1	7	定期保守
計	365	122	18	225	63	7	134	

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	
2016 年　4 月	30	10	0	20	35	1	6	
5 月	31	12	2	17	59	1	9	定期保守
6 月	30	8	1	21	81	2	15	
7 月	31	11	1	19	95	0	18	
8 月	31	9	0	22	91	0	20	
9 月	30	10	1	19	89	1	16	定期保守
10 月	31	11	0	20	80	2	14	
11 月	30	10	2	18	89	0	16	
12 月	31	12	2	17	82	0	14	
2017 年　1 月	31	12	1	18	0	0	0	定期保守
2 月	28	8	1	19	47	0	9	
3 月	31	9	8	14	43	0	6	
計	365	122	19	224	67	7	143	

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	
2016 年　4 月	30	10	0	20	40	0	8	
5 月	31	12	0	19	11	0	2	
6 月	30	8	2	20	20	0	4	定期点検
7 月	31	11	2	18	17	0	3	
8 月	31	9	0	22	18	2	2	
9 月	30	10	2	18	17	0	3	定期点検
10 月	31	11	2	18	28	0	5	
11 月	30	10	1	19	32	0	6	定期点検，液体ヘリウム補給
12 月	31	12	0	19	63	7	5	
2017 年　1 月	31	12	1	18	44	4	4	
2 月	28	8	1	19	42	2	6	
3 月	31	9	3	19	21	0	4	定期点検
計	365	122	14	229	29	15	52	

②脳機能計測･支援センター

（1）形態情報解析室

小原正裕，山田　元，斎藤善平

【超高圧電子顕微鏡利用状況】

今年度における超高圧電子顕微鏡共同利用実験は，合計 10 課題が採択され，ほぼ全課題が実施された。これらの共同実験の成果は，超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告の章に記述されている。超高圧電子顕微鏡の年間の

利用状況を表にまとめたので下記に示す。稼働率は，利用日数と使用可能日数より求めている。なお，調整日は，定期調整（含清掃）日と修理・改良と停電後のイオンポンプベーク等に要した日数を合わせた数である。

超高圧棟には長年使用している設備が多く，設備の定期点検や計時劣化による設備交換を随時行っている。超高圧電子顕微鏡本体のトラブルとしては，フィルム室内の残存のフィルムが真空排気ラインを通り，真空ポンプ内に詰まりポンプを破壊するというトラブルが起こった。このトラブルに対してはポンプの交換対応を行った。また，デジタルカメラの冷却水循環装置が故障し，デジタルカメラが利用不能となった為，循環装置の更新を行った。これらのトラブルは，無事に解消し，以後は順調に稼動をしている。

2016 年度　超高圧電顕月別稼働率

年　月	総日数	休 日	調整日	使用可能日数	所内利用	所外利用	計	稼働率（%）	備　考
2016 年 4 月	30	10	6	14	3	2	5	36%	
5 月	31	12	6	13	0	3	3	23%	
6 月	30	8	8	14	3	3	6	43%	
7 月	31	11	9	11	1	10	11	100%	
8 月	31	9	6	16	2	5	7	44%	
9 月	30	10	11	9	2	3	5	56%	
10 月	31	11	7	13	2	0	2	15%	
11 月	30	10	6	14	0	3	3	21%	
12 月	31	12	4	15	2	13	15	100%	
2017 年 1 月	31	12	8	11	2	9	11	100%	
2 月	28	8	5	15	0	16	16	100%	
3 月	31	9	7	15	3	11	14	93%	
計	365	122	83	160	20	78	98	61%	

フィラメント点灯時間　247.7 時間
使用 CMOS イメージ枚数　2,267 枚
使用フィルム枚数　0 枚

【クライオ位相差電子顕微鏡利用状況】

今年度におけるクライオ位相差電子顕微鏡の共同利用実験は合計 15 課題が採択され，全課題が実施された。

クライオ位相差電子顕微鏡の年間利用状況と利用者の所属，部署，共同研究者，観察方法，研究テーマの一覧を下記の表にまとめた。なお，稼働率は利用日数と使用可能平日数より求めている。また，昨年度位相差像観察用位相板ホルダーを Air Lock 式ホルダーに更新し，しばらくは順調に稼働していたが，Air Lock 式ホルダーからの微少リークが発生したため，現在原因究明のため使用を停止しているので，早急の改善が待たれる状況である。一般的なクライオ電子顕微鏡としては，問題なく稼働している。

2016 年度　クライオ位相差電子顕微鏡年間利用状況

年月	総日数	保守日数	使用可能日数	所内利用日数	所外利用日数	利用日数合計	利用率［%］	フィラメント点灯時間［hr］	備考
2016 年 4 月	30	1	29	18	2	20	69.0	117	位相板交換　4 回
5 月	31	2	29	15	1	16	55.1	101	位相板交換　2 回 Column Bake Emission Restart
6 月	30	0	30	10	2	12	40.0	61	位相板交換　2 回
7 月	31	0	31	13	0	13	41.9	105	
8 月	31	2	29	10	2	12	41.3	73	FEG OFF & Column Bake FEG Restart
9 月	30	3	27	12	2	14	51.9	72	位相板交換　2 回 FEG Stop & Column Bake FEG Restart
10 月	31	3	28	13	1	14	50.0	75	Remove PP holder Column Bake FEG Restart
11 月	30	0	30	8	2	10	33.3	62	Holder Check　5 回
12 月	31	0	31	16	0	16	51.6	132	PP Test　2 回
2017 年 1 月	31	2	29	7	0	7	24.1	19	SF6 Gas warning Full SF6 Gas PP Holder Test
2 月	28	2	26	11	2	13	50.0	70	位相板交換　1 回 FEG stop Column Bake FEG Restart
3 月	31	1	30	9	3	12	40.0	95	Column Bake
計	365	16	349	101	57	159	45.6	982	

2016 年度　共同利用者の所属，部署，共同研究者，観察方法，研究テーマ一覧

所　属	部　署	共同研究者	観察方法※		研究テーマ
			クライオ	位相差	
国立感染症研究所	ウイルス第二部	片山和彦	○	○	マウスノロウイルスの高分解能構造解析
麻布大学	獣医学部	内山淳平	○	○	低温位相差電子顕微による黄色ブドウ球菌ファージの 3 次元構造解析とその感染機構の解析
大阪大学	蛋白質研究所	中道優介	○	○	位相差電子顕微鏡を用いた SFTSV 構成タンパク質の構造解析
大阪大学	蛋白質研究所	東浦彰史	○	○	PBCV-1 ファイバー状構造体の低温位相差顕微鏡による観察
Academia Sinica	Institute of Chemistry	CHANG, Wei-hau	○	○	Exploring the energy barrier for RNA polymeraseIII conformation change by Zernike phase plate cryo-EM(ZEM)
ウプサラ大学	BMC	岡本健太	○	○	新規蚊媒介性ウイルスの三次元構造解析
中央大学	理工学部	今井　洋	○	○	真核生物鞭毛の動力源である蛋白質ナノモーター「ダイニン」の鞭毛軸糸中での構造変化のカルシウムによる影響の解析

所　属	部　署	共同研究者	観察方法※		研究テーマ
			クライオ	位相差	
大阪大学	蛋白質研究所	中川敦史	○	○	イネ萎縮ウイルスの構造構築機構の解明
神戸大学	大学院理学研究科	洲崎敏伸	○	○	原核細胞内に存在するユニークなチューブ構造の解析
熊本大学	大学院自然科学研究科	高野博嘉	○	○	クライオ電顕トモグラフィーを用いたコケ植物葉緑体のペプチドグリカン層の観察と解析

（2）電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）

小原正裕，山田　元

【概要】

今年度の電子顕微鏡室の活動の概要は以下の通りである。

昨年度山手地区に設置されているすべての電子顕微鏡を電子顕微鏡専用の部屋に移設することができた。

移設後，空いたスペースは解析室となり，SBF-SEM の共同利用のために増えたデータ解析に大きく役立っている。

しかし，実験で生じる膨大なデータを転送するシステムにたびたび不具合が生じ，データの解析が遅れるという問題が生じている。こちらに関しては，パソコンやその周辺機器の問題だけではなく，施設のネットワーク回線にも問題がありそうであり，現在も全面改善に向け対応中である。

また，これまで山手地区透過型電子顕微鏡 JEM-1010 は保守契約に加入し，適切な状態を維持してきた。しかし，経年劣化と思われる通常の保守の範囲を超えた修理事例が数件発生し始めている。利用者の多い装置でもあり，後継機種の検討が必要な時期かもしれない。

他に，走査型電子顕微鏡 ΣIGMA においては検出器の抜き差しに起因する真空漏れ並びに真空ポンプの故障という事象が発生し，対応を行った。このトラブルに関しては走査型電子顕微鏡の全ユーザーに検出器の抜き差し方法を周知するなどして事故再発の予防を行っている。

また，ウルトラミクロトームのタッチパネル式コントローラが反応しなくなるというトラブルが発生したが，これには代替品を手配して取り敢えず利用可能な状態とする対応を行った。実際の修理は来年度以降，おこなう予定である

上述の JEM-1010 だけでなく，今後設置年数が長くなるにつれ，他の機器の更新についても検討が必要になってくる可能性がある。一方，ΣIGMA は昨年，保守契約締結などの検討の必要性について記述したが，保守契約費用と実際の修理費用を慎重に比較検討した結果，来年度の保守契約加入は見送ることとなった。

明大寺地区では透過型電子顕微鏡 JEM-1010 のコントロールレバー等が正常に動かせないトラブルが少し前から発生していたが，こちらの原因が判明した。こちらの修理も完了し，現在は非常に良好な状態で稼働している。また，真空蒸着装置の真空度が正常に表示されないトラブルが発生したがこちらも修理が完了し，現在は良好に稼働し，利用者の用に供することができている。

電子顕微鏡試料の 3 次元再構築が可能な SBF-SEM（ΣIGMA/VP），2 台目の高解像度 SBF-SEM（MERLIN）は，TFE-Tip 検出器交換等の通常メンテナンス以外に，3View 用検出器の位置ズレの調整，撮像中のフォーカスズレ等数回の調整とクリーニング，TMP の交換等多くのトラブルに見舞われた。

今後設置年数が長くなるにつれ，特に利用者が多い SBF-SEM は修理費用が嵩んでいくことが予想されるため，出来るだけこれらの出費を抑えかつ迅速な修理対応を行うため，保守契約の締結などの検討が必要となると思われる。

【活動】

本年度も電子顕微鏡室の新規利用を希望する利用者が多くみられた。昨年度より開始した，山手地区電子顕微鏡室での電子顕微鏡試料作成のための環境整備は，利用者に好評であり，本年度も試料作製用の周辺機器の充実など，より利用し易い環境を整備した。電顕試料の作成講習会，電顕ならびにその周辺機器に講習会は連年通り，明大寺，山手の両地区で複数回実施した。

また本年度は前述の通り，両地区で機器の故障が相次いだが，殆どの修理を完了して稼働状態とすることがで

きた。一方，修理が間に合わなかった機器に関しては代替品を用意するなどして最低限稼働できる状態を維持した。

【研究内容一覧表】

本年度も例年通り，多くの利用者が電子顕微鏡室の利用を希望した。

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

以下，SBF-SEM の稼働率ならびに，SBF-SEM，電子顕微鏡室利用者の代表的な研究課題を掲載する。

2016 年度　SBF-SEM　MERLIN 稼働率

年月	総日数	保守日数	使用可能日数	利用日数	利用時間（hr）	のべ利用者数	稼働率（日数）（利用日数/使用可能日数）（%）	備考
2016 年 4 月	30	0	30	27	553.5	55	90.0%	
5 月	31	2	29	23	366.0	48	79.3%	Detector ズレで撮像不可 撮像中に何度か真空系のトラブルで停止
6 月	30	5	25	25	353.5	35	100.0%	TMP 交換，調整 撮像中フォーカスズレ調整しながら撮像
7 月	31	4	27	18	350.0	32	66.7%	像の中心で急にぼける症状改善のため，BSED 調整 BSED 交換・調整
8 月	31	5	26	22	412.0	47	84.6%	
9 月	30	1	29	26	456.0	48	89.7%	
10 月	31	0	31	18	328.5	35	58.1%	
11 月	30	0	30	30	525.0	68	100.0%	
12 月	31	5	26	21	368.0	48	80.8%	TFE-Tip 交換・調整
2016 年 1 月	31	0	31	26	500.5	50	83.9%	
2 月	28	0	28	23	524.5	66	82.1%	
3 月	31	0	31	29	644.5	75	93.5%	
合計（平均）	365	22	343	288	5382.0	607	94.1%	

2016 年度　SBF-SEM　ΣIGMA/VP 稼働率

年月	総日数	保守日数	使用可能日数	利用日数	利用時間（hr）	のべ利用者数	稼働率（日数）（利用日数/使用可能日数）（%）	備考
2016 年 4 月	30	0	30	13	150.5	13	43.3%	
5 月	31	7	24	3	58.0	8	12.5%	TFE-Tip 交換，調整，スクロールポンプメンテナンス等
6 月	30	5	25	21	376.0	52	84.0%	Detector 位置調整中破損，予備と交換，イメージ不具合修理
7 月	31	1	30	11	138.0	17	36.7%	フォーカスズレ調整
8 月	31	3	28	16	301.5	40	57.1%	画像が黒くなるトラブルとスキャン時横線発生
9 月	30	1	29	27	474.5	53	93.1%	
10 月	31	1	30	20	415.5	50	66.7%	撮影中フォーカスズレ
11 月	30	1	29	9	147.0	10	31.0%	フォーカス不具合対応

年月	総日数	保守日数	使用可能日数	利用日数	利用時間（hr）	のべ利用者数	稼働率（日数）（利用日数/使用可能日数）（%）	備考
12 月	31	3	28	14	190.0	26	50.0%	フォーカス不具合対応作業
2017 年 1 月	31	0	31	27	551.5	58	87.1%	
2 月	28	0	28	21	416.0	61	75.0%	
3 月	31	4	27	17	324.5	40	63.0%	流量計破損・交換 BSED 検出器プレアンプ不良・交換
合計（平均）	365	26	339	128	3543.0	428	58.3%	

2016 年度　SBF-SEM 利用者の代表的な研究課題一覧

研究所・大学	研究部門	研究内容
名古屋工業大学	大学院工学研究科	血管壁内の細胞外マトリックスの 3 次元超微細構造計測
中央大学	理工学部	真核生物鞭毛の動力源である蛋白質ナノモーター「ダイニン」の鞭毛軸糸中での構造変化のカルシウムによる影響の解析
三重大学	大学院医学系研究科	SBF-SEM 3 次元立体再構築法を用いた細胞接着関連分子による神経シナプス形成機構の形態構造レベルでの解析
大阪大学	蛋白質研究所	イネ萎縮ウイルスの構造構築機構の解明
神戸大学	大学院理研究科	社会行動の分子神経基盤の理解に向けて:仲間感覚神経システムの 3D 構造の研究
神戸大学	大学院理研究科	原核細胞内に存在するユニークなチューブ構造の解析
岡山大学	大学院自然科学研究科	連続ブロック表面 SEM による感覚ニューロン系の 3 次元超微形態解析
長崎大学	熱帯医学研究所	マラリア原虫感染赤血球におけるマウレル裂の 3D 構造解析
アルバータ大学	生物学科	SBF-SEM を用いた小型甲殻類の比較形態学
熊本大学	大学院自然科学研究科	クライオ電顕トモグラフィーを用いたコケ植物葉緑体のペプチドグリカン層の観察と解析
東京女子医科大学	東医療センター	ミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いた脳動脈瘤形成における超微細形態変化の解明
東京薬科大学	生命科学部	脳特異的な MITOL ノックアウトマウスの形態学的解析
東京薬科大学	薬学部	SBF－SEM を用いた髄鞘の軸索機能調節機序の解析
山梨大学	大学院総合研究部医学域	甲状腺乳頭癌細胞の核形態　－SBF-SEM による 3 次元解析－
信州大学	大学院医学系研究科	軸索におけるミトコンドリアと滑面小胞体の相互作用の超微形態学的検討
東北大学	大学院医学系研究科	2 型糖尿病性上皮細胞障害に対する SGLT 阻害剤（フロリジン）の薬理作用の解明
健康科学大学	健康科学部	高脂肪食摂取下における腸管粘膜防御機能と吸収機構に関するメカニズムの解明
信州大学	農学部	SBF-SEM を利用した消化管 GLP-1 分泌細胞の絶食に伴う微細構造変化の解析
松本歯科大学		連続ブロック表面 SEM によるカエル舌の茸状乳頭上皮に分布する神経の三次元構造解析
名古屋市立大学	大学院医学研究科	成体脳内における新生ニューロンの高速移動を制御する超微細構造の解析
福井大学	医学部	連続ブロック表面－走査電子顕微鏡（SBF-SEM）による各種細胞微細構造の立体構造解析
理化学研究所	生命システム研究センター	細胞分裂過程を 1 細胞丸ごとレベルで 3 次元構造解析するための技術開発
熊本大学	大学院生命科学研究部	精子の形態形成過程における精子細胞とセルトリ細胞間で見られる細胞膜および細胞内膜性構造物の三次元構造解析

研究所・大学	研究部門	研究内容
理化学研究所	脳科学総合研究センター	ラットの生後環境による脳形態の差異を観察する
東北大学	大学院医学系研究科	走査型電子顕微鏡を用いた糸球体腎炎の 3 次元構築
熊本大学	大学院生命科学研究部	精子形成の調節因子である細胞接着分子およびその相互作用する細胞内分子のノックアウトマウスの精巣の形態学的解析

2016 年度　電子顕微鏡室利用者の代表的な研究課題一覧

研究所・大学	研究部門	研究内容
生理学研究所	大脳神経回路	ラット大脳皮質の神経回路の研究
		大脳皮質の局所神経回路解析
		膀胱上皮細胞の微小構造形成における TRPM7 の役割の検討
		運動学習に伴う大脳皮質運動野の神経局所回路の可塑的変化
	心循環シグナル	マウス心臓の病態形成時における心筋オルガネラ形態の経時変化観察
	細胞構造	上皮バリア機能を担う細胞間接着装置の微細形態の観察
	視覚情報	海馬歯状回におけるカイニン酸型受容体の局在解析
	形態情報解析室	ERATO 位相差電顕プロジェクトでの電顕像シミュレーション
		小腸絨毛に走行する各種知覚神経の免疫電顕による観察
基礎生物学研究所	進化発生	ヒメツリガネゴケ MADS-box 遺伝子の機能解析
		ショウジョウバエクチクラのナノポア観察
		オジギソウ組織の固定・観察
		数種昆虫の翅形成過程観察
	環境光生物学	光化学系タンパク質の構造を見る
		シロイヌナズナの花器官の観察
		藻類光合成機構の解明
	初期発生	マウス 9 日目胚の外観撮影
		卵管上皮の繊毛形成
	構造多様学	多細胞系の形態形成機構－チョウ目昆虫の翅の形態形成－
	分子発生学	器官発生におけるシグナル分布の解析
その他	環境保全研究センター	光照射が及ぼす渦鞭毛藻類へのウイルス感染の影響評価
	分子科学研究所	神経変性疾患関連タンパク質のアミロイド線維形成メカニズムの構造基盤の解明

(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。本年も汎用工作機械の使用方法を主体に実習するフライス盤コース（リキャップ台）と旋盤コース（小物入れ），CAD コースの 3 コースを開講した。参加希望者は，3 コース合わせ生理研 14 名，基生研 11 名で，各コース共に半日の講習を行った。

石膏ベースのフルカラー3D プリンターは，分子研か

らの依頼による分子モデルを多く製作した。また，樹脂ベース 3D プリンターは，施設内にて試作を行い，形状が確定したら，外部業者による高精度製作や当施設では利用できない材料(アクリルやチタン)での製作依頼を行っている。

なお，機器研究試作室の今年度の利用状況は，以下の通りである。

2016 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	61	心理生理学	31	感覚認知情報	28
技術課	6	細胞構造	6	生体システム	1
生体恒常機能発達機構	5	形態情報解析室	2	大脳神経回路論	3
NBR 事業推進室	2	行動様式解析室	0	心循環シグナル	1
動物実験コーディネータ室	1				

基生研					
環境光生物	19	バイオリソース	9	所長室付	5
統合神経生物学	4	光学解析室	3	生物進化	3
共生システム	2	形態形成	2	分析室	1
形態形成	1	ＲＩ実験センター	1	ほ乳類動物飼育開発支援	1
核内ゲノム動態	1	幹細胞生物	1	人工気象室	0
分子発生学	1				

機器研究試作室　利用人数表

月	生理研	基生研	合計	のべ時間
4	23	2	25	59
5	14	1	15	36
6	11	7	18	54
7	13	14	27	56
8	8	5	13	25
9	12	12	24	115
10	12	2	14	42
11	9	2	11	23
12	19	2	21	59
1	8	2	10	26
2	9	2	11	27
3	9	2	11	45
合計	147	53	200	567
昨年値(参考)	*263*	*51*	*314*	*605*

機器研究試作室　利用機器表（件数）

月	フライス盤	ボール盤	横切り盤	コンタマシン	NC フライス	旋 盤	ベルトグラインダー	切断機	その他
4	13	6	9	8	0	3	1	0	4
5	8	4	3	1	0	4	0	1	1
6	4	7	4	4	1	0	0	1	6
7	7	10	7	5	1	2	3	4	1
8	7	2	1	3	0	0	3	1	0
9	2	2	5	5	8	1	2	1	4
10	2	3	5	1	0	0	1	4	1
11	6	5	3	5	0	2	3	0	1
12	12	4	1	9	0	3	4	2	4
1	4	4	1	3	0	2	0	0	3
2	6	4	4	2	0	0	1	0	2
3	8	3	1	3	0	0	0	0	0
合計	79	54	44	49	10	17	18	14	27

機器研究試作室　依頼製作品例

機械工作	培養チェンバー	電気生理用チェンバー	恒温バス
電気工作	ＬＥＤ照明	タイマー	物理刺激装置
３Ｄ工作	カバーグラス篭	分子模型	マーモセット固定器

③情報処理･発信センター

（1）ネットワーク管理室

吉村伸明，村田安永

【概要】

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

生体情報解析システムは，数値計算，データ解析，可視化，数式処理，統計解析，DNA 配列情報解析，電子回路設計などの多くのネットワークライセンス用アプリケーションを備えている。これらのアプリケーションはネットワーク認証により，各部門施設の PC 上で動作可能である。登録者は 103 名で，研究推進のために活用されている。

岡崎情報ネットワークは，MAC アドレスベース，もしくは Web 認証ベースの動的 VLAN 機能を有する 1000BASE-T ネットワークの提供を基とし，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，同様の認証機能を持つ無線 LAN は構内全域で利用可能である。今年度はこのネットワークとメールサーバー等の更新を進め，年度末までに完了している。セキュリティインシデントは今年度も自然科学研究機構内外で発生している。機構で新しく決定施行された情報セキュリティポリシーに基づき，岡崎３機関の実施手順書の改訂を始めると共に，職員に広報を行うなどの対応を進めている。

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 433 名。WWW 登録者が 99 名。LAN の端末数が 2,173 台。所外からのメール受信数は 2,800 通／日，所外へのメール発信数は 3,100 通／日であった。WWW は 3,300 IP ／日の端末から 13,000 ページ／日の閲覧があった。

④岡崎共通研究施設

（1）動物実験センター

伊藤昭光，廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美

【概要】

齧歯類の授受件数は昨年度と比べ，導入は減少し，搬出は，ほぼ変わりなかった。マウス受精卵凍結・クリーンアップ事業では，昨年と比べ，クリーンアップ件数と融解件数は減少したが，凍結件数はやや増加した。

齧歯類の微生物統御では，明大寺地区において *Clostridium piliforme*（Tyzzer 菌）を検出し，感染症対策を実施した。

施設整備面において，齧歯類微生物モニタリングの自家検査準備のため，ICLAS モニタリングセンターと自家検査の平行検査を行った。齧歯類の取り扱い初心者を対象に，実験動物の基本的手技の実技講習を引き続き実施し，生理研トレーニングコースでもコースの一部でマウスの基本的手技を担当し，マウスの取り扱い講習を行った。明大寺地区は昨年 IC カードによる入退館システムが導入されたが，導入を機に，全利用者対象に利用者講習会を行い，新たな利用者には館内案内を行った。また，サル類の授受に関する書類の整備を行った。

明大寺の動物棟 I は，建設されてから 37 年あまりを経過しており，設備の老朽化が著しく，また，研究現場の現状にそぐわなくなってきている。動物棟 I（マウス，ラット等）の機能改善および機能高度化を目的に，増築・改修に向けた話し合い，さらに概算要求に向けての準備が行われた。

山手の施設は 15 年を越えており，空調機器類の経年劣化による不具合が増え，今後の対策が必要である。

【明大寺/山手共通業務】

①齧歯類の授受について

年間でのべ 56 件の導入と 119 件の供与があった。全体として昨年より減少したが，他機関への供与は約 1 割増加した。また，授受の条件や書類内容の確認，利用者へのアドバイスなどに時間を多く費やしている。

②受精卵凍結・クリーンアップ事業

受精卵凍結保存は 37 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 4 件，融解・移植は 6 件それぞれ実施した。昨年度と比較して凍結件数は増加したが，クリーンアップ，融解・移植件数は減少した。外部からのマウス導入の際，マウス個体で導入するより，輸送費用が安くなることや，微生物学的な問題が解決するため，マウス個体でなく，マウス凍結精子による系統の導入を 1 件行った。マウス凍結精子による導入は，今後増える傾向にあると考えられる。

③齧歯類微生物検査実施に向けての整備

2016/10 より，神谷技術職員による自家検査と実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターへの検体送付の平行検査を行った。また，神谷技術職員が 2017/1/24～27 に熊本大学で細菌培養に関する研修を受けた。

明大寺の齧歯類感染事故 Tyzzer 対策で，モニライザ(ELISA)による自家検査を実施した。

④マウス・ラットの取り扱い実技講習会の実施

王助教と窪田技術職員が，マウス・ラットを中心として，尾静脈採血および投与法，灌流固定法，一般的な飼育作業等を含め，動物実験センター利用者への実技講習を年 2 回行った。

生理研トレーニングコースでは「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」コースで，遺伝子改変マウスの基本的手技を担当し，マウスの取り扱いの講習を行った。

⑤サル類飼育管理方法の調査

廣江技術職員が 2017/1/10～12 に京都大学霊長類研究所でマカクサル，マーモセットの飼育管理に関する研修を受けた。

⑥サル類の授受について

サル類の授受に関する書類を整備した。

マカクサルの導入時に E 型肝炎ウィルス(HEV)，サル免疫不全ウィルス(SIV)，サル T 細胞白血病ウィルス 1 型(STLV-1) の検査結果を確認した上で導入することとなった。

HEV の検査を，王助教，神谷技術職員，本多技術支援員で行うことになった。

⑦(公社)日本実験動物学会主催の実験動物管理者等研修会受講

2016/9/16～17 廣江技術職員が第 7 回研修会を受講

2017/2/27～28 王助教が第 8 回研修会を受講

【明大寺地区　陸生動物室】

①施設の利用状況について

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

動物のべ飼育数は，昨年度と比べ，マウスは認知行動発達部門が移動したこと，生体恒常性発達研究部門の先生の異動等に伴い匹数を減らしたため減少した。ラットは認知行動発達部門の移動，Tyzzer 菌感染症による淘汰により減少した。サルは昨年と比べやや減少した。マーモセットは，昨年と比べ横ばいであった。

②齧歯類微生物モニタリングについて

マウス，ラットの一般飼養保管室では，3 ヶ月に 1 度の微生物モニタリングを各飼養保管室で行っている。

（1）Tyzzer 菌感染事故：2016/2 の定期検査において，明大寺地区 203 ラット室で Tyzzer 菌が検出された件の対応について昨年度報告したが，2016/5/13 に終息した。2017/1 の定期検査において，生理研部門飼養保管室のラットで Tyzzer 菌が検出され，隔離飼育等の微生物コントロールを行った。同室および該当部門が使用しているセンター201 ラット室の緊急検査を行ったところ，5 ケージで陽性個体が確認されたため，隔離飼育等の微生物コントロールを行った。201 室はラットの凍結胚を作製するため必要最小限の匹数を残し，陽性個体を含むラットの安楽死を行った。

床敷き倉庫，洗浄室，器材庫は清掃，エクスポアによる消毒を行った。汚染ケージ室は清掃およびホルマリン燻蒸を行った。

該当部門が使用しているセンター336 マウス室および 201 ラット室に囮動物を設置し，1 ヶ月後および 2 ヶ月後に囮動物の微生物モニタリングを行うこととし経過観察を行った。

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

③施設整備について

（1）IC カードによる入退館システムの導入整備を行い，利用者講習会を月 1 回実施し，合計 119 名が受講した。

（2）動物棟 I の改修・増築計画を概算要求に向けて立案した。

④主な工事及び修理について

＜動物棟 I＞

（1）チラーのオイルとガス漏れ。夏季であったため，チラーを停止できず，冷媒補充による応急処置。時期をずらして修理を行った。

（2）全熱交換器 EV-4 ファンモーターの不具合のため修理を行った。

（3）現空調機は，真夏及び真冬の時期に自動運転での安定した運転が出来ない。真夏の温度上昇では，冷水バイパスを開けたり，屋上に散水するなど，また厳寒期には，温水バイパスを開けたり，ヒーターを入れるなどのマニュアル運転を行った。経年劣化が原因と考えられるため，改修・増築と併せて，整備していく必要がある。

（4）オートクレーブのドレーン配管から水漏れがあり，補修を行った。

（5）洗浄室ケージウォッシャーの蒸気配管に穴が開き，修理を行った。

（6）1F トイレ男性用小便器の排水用配管に穴が開き，地下に漏水があった。1 つの小便器の使用を不可として対応した。

＜動物棟 II＞

（1）336 室天井から漏水。空調機のドレンパンの経年劣化による水漏れのため修理を行った。

（2）432 実験室天井換気扇の換気口から台風時に雨水の侵入があり，天井の補修を行った。同時にロスナイ換気扇の修理を行った。

【山手地区 陸生動物室】

①施設の利用状況について

（1）陸生動物の飼養保管室利用部門数は，12 部門（生理研 8 部門，統合バイオサイエンスセンター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

（2）利用者講習会を毎月開催するとともに，実際の利用方法について別途実務講習会を実施している。利用者講習受講者および実務講習会受講者は各々22 名であった。

②齧歯類微生物モニタリングについて

全 SPF 飼育室およびマウス・ラット一時保管室 1～3 の病原微生物モニタリングを，3 ヶ月に 1 回のペースで実施した。

（1）*Pasteurella pneumotropica* 感染事故：2016/2 の定期検査において，SPF 飼育室の 1 室で *Pasteurella pneumotropica* が検出された件の対応について昨年度報告したが，2016/5 に終息した。

③施設整備について

施設運用面では，齧歯類の取り扱い初心者を対象に，動物福祉に配慮をした実験動物の基本的手技の実技講習を年 2 回実施した。生理研トレーニングコースでも「遺伝子改変マウスの基本的実験手技と学習・記憶行動解析入門」コースで講習を実施し，あわせて合計 11 名が受講した。

④主な工事及び修理について

（1）共通設備室空調用吸収式冷温水発生器 RB-1C, RB-3C 高温再生器液面低異常のため，薬液洗浄，真空関連部品取り替え

（2）5F 設備室 空調機 ACU-1A の加湿用塩ビ配管が破裂し，4F SPF エリアへ漏水。修理

（3）3F, 4F ISS (Interstitial Space System) の定風量装置 53 台の点検，うち不具合のあったもの 14 台を交換

（4）3F, 4F 用ダムウェーターのロープ張り替え

（5）3F オートクレーブ 1, 2, 3 号機の蒸気漏れ修理，部品交換

（6）3F オートクレーブ 2, 3 号機のコンプレッサー故障のため交換

（7）3F プレハブフリーザー温度上昇のため修理

（8）2F 給湯器故障のため修理

【明大寺及び山手地区 水生動物室】

① 施設の利用状況について

（1）明大寺地区では，生理研 1 部門，基生研 5 部門が利用している。

（2）山手地区では，生理研 1 部門，統合バイオサイエンスセンター3 部門が水槽を利用している。

② 主な工事及び修理について

（1）山手地区水槽のモーターバルブ動作不良のため交換修理

（2）山手地区水生室水槽用加熱冷却ユニット故障のため新規交換および，1 台を修理

陸生動物　部門別・動物種別搬入数（2016 年度）

部門＼動物種	明大寺地区							山手地区	
	マウス	ラット	ハムスター	モルモット	ウサギ	マーモセット	サル	マウス	ラット
神経機能素子	106							63	
生体膜	60							234	49
分子神経生理	9							216	15
神経シグナル		24						106	107
感覚認知情報							1		
生体システム	110	6				10	5		
認知行動発達		5				5	10		
脳形態解析(細胞構造)								18	6
大脳神経回路論	21							210	43
生殖内分泌系	198							1	
生体恒常性発達	290	44						43	
行動様式解析室	26							14	
多光子顕微鏡室	9	23							
動物実験センター	78	19				11		327	42
心理生理学							4		
核内ゲノム動態								128	
視覚情報処理	298	275						64	
個別研究									2
細胞生理								605	2
遺伝子改変動物作製室								878	628
心循環シグナル								466	113
合計	1,205	396				26	20	3,373	1,007

【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 100
分子神経生理研究部門 100
生体膜研究部門 100
神経細胞構築研究部門 101
神経発達・再生機構研究部門 101
細胞構造研究部門 102
細胞生理研究部門 102
心循環シグナル研究部門 103
生殖・内分泌系発達機構研究部門 104
神経シグナル研究部門 105
大脳神経回路論研究部門 105
生体恒常性発達研究部門 106
視覚情報処理研究部門 107
感覚認知情報研究部門 107
認知行動発達機構研究部門 108
生体システム研究部門 108
統合生理研究部門 109
心理生理学研究部門 110
個別研究（村上研究室） 112
形態情報解析室 112
多光子顕微鏡室 113
ウイルスベクター開発室 114
遺伝子改変動物作製室 114
行動様式解析室 115

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1) 英文原著論文

1. Tateyama M, Kubo Y (2016) Stabilizing effects of G protein on the active conformation of adenosine A1 receptor differ depending on G protein type. Eur J Pharmacol 788: 121-131. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.06.025.
2. Oda M, Kurogi M, Kubo Y, Saitoh O (2016) Sensitivities of Two Zebrafish TRPA1 Paralogs to Chemical and Thermal Stimuli Analyzed in Heterologous Expression Systems. Chem Senses 41: 261-272. doi: 10.1093/chemse/bjv091.

《分子神経生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Hashimoto H, Ishino Y, Jiang W, Yoshimura T, Takeda-Uchimura Y, Uchimura K, Kadomatsu K, Ikenaka K (2016) Keratan Sulfate Regulates the Switch from Motor Neuron to Oligodendrocyte Generation During Development of the Mouse Spinal Cord. Neurochem Res 41: 450-462. doi: 10.1007/s11064-016-1861-9.
2. Shimizu T, Smits R, Ikenaka K (2016) Microglia-induced activation of non-canonical Wnt signaling aggravates neurodegeneration in demyelinating disorders. Mol Cell Biol 36: 2728-2741. doi: 10.1128/MCB.00139-16.
3. Liang J, Li N, Zhang Y, Hou C, Yang X, Shimizu T, Wang X, Ikenaka K, Fan K, Ma J (2016) Disinhibition of cathepsin C caused by cystatin F deficiency aggravates the demyelination in a cuprizone model. Front Mol Neurosci 9:152. doi: 10.3389/fnmol.2016.00152
4. Thai TQ, Nguyen HB, Saitoh S, Wu B, Saitoh Y, Shimo S, Elewa YHA, Ichii O, Kon Y, Takaki T, Joh K, Ohno N (2016) Rapid specimen preparation to improve the throughput of electron microscopic volume imaging for three-dimensional analyses of subcellular ultrastructures with serial block-face scanning electron microscopy. Med Mol Morphol 49: 154-162. doi: 10.1007/s00795-016-0134-7.
5. Nguyen HB, Thai TQ, Saitoh S, Wu B, Saitoh Y, Shimo S, Fujitani H, Otobe H, Ohno N (2016) Conductive resins improve charging and resolution of acquired images in electron microscopic volume imaging. Scie Rep 6: 23721. doi: 10.1038/srep23721.
6. Naruse M, Ishino Y, Kumar A, Ono K, Takebayashi H, Yamaguchi M, Ishizaki Y, Ikenaka K, Hitoshi S (2016) The Dorsoventral Boundary of the Germinal Zone is a Specialized Niche for the Generation of Cortical Oligodendrocytes during a Restricted Temporal Window. Cerebral Cortex 26: 2800-2810. doi: 10.1093/cercor/bhv141.

《生体膜研究部門》

1) 英文原著論文

1. Yokoi N, Fukata Y, Sekiya A, Murakami T, Kobayashi K, Fukata M (2016) Identification of PSD-95 depalmitoylating enzymes. J Neurosci 36:6431-6444. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0419-16.2016.
2. Muona M, Fukata Y, Anttonen A, Laari A, Palotie A, Pihko H, Lönnqvist T, Valanne L, Somer M, Fukata M, Lehesjoki A (2016) Dysfunctional ADAM22 implicated in progressive encephalopathy with cortical atrophy and epilepsy. Neurol Genet 2:e46. doi: 10.1212/NXG.0000000000000046.

2) 英文総説

1. Fukata Y, Murakami T, Yokoi N, Fukata M (2016) Local palmitoylation cycles and specialized membrane domain organization. Curr Top Membr 77:97-141.
   doi: 10.1016/bs.ctm.2015.10.003.
2. Fukata Y, Yokoi N, Miyazaki Y, Fukata M. The LGI1-ADAM22 protein complex in synaptic transmission and synaptic disorders. (2016) Neurosci Res 116:39-45.
   doi: 10.1016/j.neures.2016.09.011.

3) 研究関係著作

1. 深田優子, 横井紀彦, 宮崎裕理, 深田正紀 (2016) 記憶・学習とメンブレントラフィック. “メンブレントラフィック” (福田光則, 吉森保 編), 化学同人, 11章:pp 157-175.

《神経細胞構築研究部門》

1) 英文原著論文

1. Matsumoto J, Nakanishi H, Kunii Y, Sugiura Y, Yuki D, Wada A, Hino M, Niwa SI, Kondo T, Waki M, Hayasaka T, Masaki N, Akatsu H, Hashizume Y, Yamamoto S, Sato S, Sasaki T, Setou M, Yabe H(2017). Decreased 16:0/20: 4-phosphatidylinositol level in the post-mortem prefrontal cortex of elderly patients with schizophrenia.
   Sci Rep. 7:45050. doi: 10.1038/srep45050.
2. Koga K, Yao I, Setou M, Zhuo M(2017). SCRAPPER selectively contributes to spontaneous release and presynaptic long-term potentiation in the anterior cingulate cortex.
   J Neurosci. 37(14):3887-3895.
   doi: 10.1523/JNEUROSCI.0023-16.2017.
3. Hirayama-Kurogi M, Takizawa Y, Kunii Y, Matsumoto J, Wada A, Hino M, Akatsu H, Hashizume Y, Yamamoto S, Kondo T, Ito S, Tachikawa M, Niwa S, Yabe H, Terasaki T, Setou M and Ohtsuki S(2017). Downregulation of GNA13-ERK network in prefrontal cortex of schizophrenia brain identified by combined focused and targeted quantitative proteomics.
   Journal of Proteomics,158:31-42.
   doi: 10.1016/j.jprot.2017.02.009.
4. Vu HT, Akatsu H, Hashizume Y, Setou M, Ikegami K(2017). Increase in α-tubulin modifications in the neuronal processes of hippocampal neurons in both kainic acid-induced epileptic seizure and Alzheimer's disease.
   Sci Rep. 7:40205. doi: 10.1038/srep40205.
5. Xu D, Omura T, Masaki N, Arima H, Banno T, Okamoto A, Hanada M, Takei S, Matsushita S, Sugiyama E, Setou M, Matsuyama Y(2016). Increased arachidonic acid- containing phosphatidylcholine is associated with reactive microglia and astrocytes in the spinal cord after peripheral nerve injury.
   Sci Rep. 6:26427. doi:10.1038/srep26427.
6. Miyawaki S, Imai H, Hayasaka T, Masaki N, Ono H, Ochi T, Ito A, Nakatomi H, Setou M, Saito N(2016). Imaging mass spectrometry detects dynamic changes of phosphatidylcholine in rat hippocampal CA1 after transient global ischemia.
   Neuroscience.322:66-77.
   doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.02.013.

《神経発達・再生機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Fujioka T,Kaneko N, Ajioka I, Nakaguchi K, Omata T, Ohba H, Fässler R, Garcia-Verdugo JM, Sekiguchi K, Matsukawa N, Sawamoto K (2017) β1 integrin signaling promotes neuronal migration along vascular scaffolds in the post-stroke brain. EBioMedicine 2017 Feb;16:195-203.
   doi: 10.1016/j.ebiom.2017.01.005.
2. Matsunami K, Nishida N, Kaneko N, Ikeo K, Licht Toyo-oka, Takeuchi H, Matsuura K, Tamori A, Nomura H, Yoshiji H, Imamura M, Masaki N, Hayakawa T, Ide T,

Shimada N, Ikeda F, Hino K, Nishiguchi S, Okuse C, Nojiri S, Sawamoto K, Tokunaga K, Joh T, Tanaka Y (2016) Genome-Wide Association Study Identifies ZNF354C Variants Associated with Depression from Interferon-Based Therapy for Chronic Hepatitis C. PLoS One 11(10):e0164418. doi:10.1371/journal.pone.0164418.

3. Miyake M, Ito Y, Sawada M, Sakai K, Suzuki H, Sakamoto T, Sawamoto K, Kamijima M（2016）Subchronic inhalation exposure to 2-ethyl-1-hexanol impairs the mouse olfactory bulb via injury and subsequent repair of the nasal olfactory epithelium. Arch Toxicol 90(8):1949-58. doi: 10.1007/s00204-016-1699-6.
4. Ogino T, Sawada M, Takase H, Nakai C, Herranz-Pérez V, Cebrian-Silla A, Kaneko N, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K (2016) Characterization of multiciliated ependymal cells that emerge in the neurogenic niche of the aged zebrafish brain. J Comp Neurol 524(15):2982-92. doi: 10.1002/cne.24001.

2) 和文総説

1. 坪井義晃，澤田雅人，大塚隆信，澤本和延（2017）DDS 技術を活用した体内再生誘導治療 Drug Delivery System 32(1):46-49.

3) 研究関係著作

1. 荻野崇，澤田雅人，岡田洋平，澤本和延（2017）精神・神経特異的 iPS 細胞を用いた創薬研究．Annual Review 2016 神経:68-73.
2. 岩田英敏，金子奈穂子，大塚隆信，澤本和延（2016）脳梗塞に対する内在性神経幹細胞活性化を用いた治療．Clinical Neuroscience 34(11):46-49.
3. 澤田雅人，澤本和延（2016）成体脳における神経細胞死と再生の生体イメージング．実験医学 34 (7)：87-92

《細胞構造研究部門》

1) 英文原著論文

1. Izumi Y, Motoishi M, Furuse K, Furuse M (2016) A tetraspanin regulates septate junction formation in Drosophila midgut. J Cell Sci 129:1155-64. doi: 10.1242/jcs.180448.
2. Tokuda S, Hirai T, Furuse M (2016) Effects of Osmolality on Paracellular Transport in MDCK II Cells. PLoS One 11:e0166904. doi: 10.1371/journal.pone.0166904.
3. Yokouchi M, Atsugi T, Logtestijn MV, Tanaka RJ, Kajimura M, Suematsu M, Furuse M, Amagai M, Kubo A (2016) Epidermal cell turnover across tight junctions based on Kelvin's tetrakaidecahedron cell shape. Elife 5. pii: e19593. doi: 10.7554/eLife.19593.
4. Nagaoka T, Kishi M (2016) The planar cell polarity protein Vangl2 is involved in postsynaptic compartmentalization. Neurosci Lett. 12:251-255. doi: 10.1016/j.neulet.2015.12.009.

《細胞生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Takaishi M, Uchida K, Suzuki Y, Matsui H, Shimada T, Fujita F, Tominaga M (2016) Reciprocal effects of capsaicin and menthol on thermo-sensation through regulated activities of TRPV1 and TRPM8. J Physiol Sci 66: 143-155. doi: 10.1007/s12576-015-0427-y.
2. Sun W, Uchida K, Suzuki Y, Zhou Y, Kim M, Takayama Y, Takahashi N, Goto T, Wakabayashi S, Kawada T, Iwata Y, Tominaga M (2016) Lack of TRPV2 impairs thermogenesis in mouse brown adipose tissue. EMBO reports 17: 383-399. doi: 10.15252/embr.201540819.
3. Uchida K, Demirkhanyan L, Asuthkar S, Cohen A, Tominaga M, Zakharian E (2016) Stimulation-dependent gating of TRPM3 channel in planar lipid bilayers. FASEB J 30: 1306-1316. doi: 10.1096/fj.15-281576.
4. Yoshida A, Furube E, Mannari T, Muneoka S, Kotani E, Takayama Y, Kittaka H, Tominaga M. Miyata S (2016) TRPV1 is crucial for proinflammatory STAT3 signaling

and thermoregulation-associated pathways in the brain during inflammation. Sci Rep 6: 26088. doi: 10.1038/srep26088.

5. Saito S, Ohkita M, Saito C, Takahashi K, Tominaga M, Ohta T (2016) Evolution of Heat Sensors Drove Shifts in Thermosensation between Xenopus Species Adapted to Different Thermal Niches. J Biol Chem 291: 11446-11459. doi: 10.1074/jbc.M115.702498.
6. Okuda H, Noguchi A, Kobayashi H, Kondo D, Harada K, Youssefian S, Shioi H, Domon Y, Kubota K, Kitano Y, Takayama Y, Hitomi T, Ohno K, Saito Y, Asano T, Tominaga M, Takahashi T, Koizumi A (2016) Infantile pain episodes associated with novel Nav1.9 mutations in familial episodic pain syndrome in Japanese families. PLoS ONE 11(5): e0154827. doi: 10.1371/journal.pone.0154827.
7. Dong X, Kashio M, Peng G, Wang X, Tominaga M, Kadowaki T (2016) Isoform-specific modulation of the chemical sensitivity of conserved TRPA1 channel in the major honeybee ectoparasitic mite, *Tropilaelaps mercedesae*. Open Biol 6 (6): 160042. doi: 10.1098/rsob.160042.
8. Kaimoto T, Hatakeyama Y, Takahashi K, Imagawa T, Tominaga M, Ohta T (2016) Involvement of transient receptor potential A1 channel in algesic and analgesic actions of the organic compound limonene. Eur J Pain 20 (7): 1155-1165. doi: 10.1002/ejp.840.
9. Zhong J, Amina S, Liang M, Akther S, Yuhi T, Nishimura T, Tsuji C, Tsuji T, Liu H-X, Hashii M, Furuhara K, Yokoyama S, Yamamoto Y, Okamoto H, Zhao YJ, Lee HC, Tominaga M, Lepatina O, Higashida H (2016) Cyclic ADP-Ribose and Heat Regulate Oxytocin Release via CD38 and TRPM2 in the Hypothalamus during Social or Psychological Stress in Mice. Front Neurosci 10: 304. doi: 10.3389/fnins.2016.00304.
10. Yamamoto A, Takahashi K, Saito S, Tominaga M, Ohta T (2016) Two different avian cold-sensitive sensory neurons: Transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-dependent and -independent activation mechanisms. Neuropharmacology 111: 130-141. doi: 0.1016/j.neuropharm.2016.08.039.
11. Peng G, Kashio M, Li T, Dong X, Tominaga M, Kadowaki T (2016) TRPA1 channels in Drosophila and honey bee ectoparasitic mites share heat sensitivity and temperature-related physiological functions. Front Physiol 7: 447. doi:10.3389/fphys.2016.00447.
12. Sun W, Uchida K, Takahashi N, Iwata Y, Wakabayashi S, Goto T, Kawada T, Tominaga M (2016) Activation of TRPV2 negatively regulates the differentiation of mouse brown adipocytes. Pflüger Archiv Eur J Physiol 468 (9): 1527-1540. doi: 10.1007/s00424-016-1846-1.
13. Gupta R, Saito S, Mori Y, Itoh S, Okumura H, Tominaga M (2016) Structural basis of TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species-specific differences. Sci Rep 6: 37460. doi: 10.1038/srep37460.
14. Mihara H, Suzuki N, Boudaka AA, Muhammad JS, Tominaga M, Tabuchi Y, Sugiyama T (2016) Transient receptor potential vanilloid 4-dependent calcium influx and ATP release in mouse and rat gastric epithelia. World J Gastroenterol 22: 5512-5519. doi: 10.3748/wjg.v22.i24.5512.

2) 研究関係著作

1. 富永真琴 (2016) わさびで「つーん」とするのはなぜですか？ Clinical Neuroscience 34(4): 483.
2. 富永真琴 (2016) 温度感受性TRPチャネルと脳機能. 日本神経精神薬理学雑誌 36: 37-41.
3. 富永真琴 (2016) 温度感受性 TRP チャネルと亜鉛による制御. 亜鉛栄養治療 7(1): 14-19.
4. 富永真琴 (2016) 辛み感覚と TRP チャネル/anoctamin 1 の機能連関. 日本味と匂学会雑誌 23(2): 111-117.

《心循環シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Nishimura A, Sunggip C, Tozaki-Saitoh H, Shimauchi T, Numaga-Tomita T, Hirano K, Ide T, Boeynaems JM, Kurose H, Tsuda M, Robaye B, Inoue K, Nishida M

(2016) The purinergic P2Y6 receptor heterodimerizes with the angiotensin AT1 receptor to promote angiotensin II-induced hypertension. Science Signaling 9: ra7. doi: 10.1126/scisignal.aac9187.

2. Numaga-Tomita T, Nishida M, Putney JW Jr, Mori Y (2016) TRPC3 amplifies B-cell receptor-induced ERK signalling via protein kinase D-dependent Rap1 activation. Biochemical Journal 473:201-210. doi: 10.1042/BJ20150596.
3. Mangmool S, Denkaew T, Phosri S, Pinthong D, Parichatikanond W, Shimauchi T, Nishida M (2016) Sustained β AR Stimulation Mediates Cardiac Insulin Resistance in a PKA-Dependent Manner. Molecular Endocrinology 30:118-132. doi: 10.1210/me.2015-1201.
4. Sawamura S, Hatano M, Takada Y, Hino K, Kawamura T, Tanikawa J, Nakagawa H, Hase H, Nakao A, Hirano M, Rotrattanadumrong R, Kiyonaka S, Mori MX, Nishida M, Hu Y, Inoue R, Nagata R, Mori Y (2016) Screening of Transient Receptor Potential Canonical Channel Activators Identifies Novel Neurotrophic Piperazine Compounds. Molecular Pharmacology 89:348-363. doi: 10.1124/mol.115.102863.
5. Hagimori M, Murakami T, Shimizu K, Nishida M, Ohshima T, Mukai T (2016) Synthesis of radioiodinated probes to evaluate the biodistribution of a potent TRPC3 inhibitor. Medicinal Chemistry Communications 7:1003-1006. doi: 10.1039/c6md00023a.
6. Unoki T, Abiko Y, Toyama T, Uehara T, Tsuboi K, Nishida M, Kaji T, Kumagai Y (2016) Methylmercury, an environ-mental electrophile capable of activation and disruption of the Akt/CREB/Bcl-2 signal transduction pathway in SH-SY5Y cells. Sci Rep 6:28944. doi: 10.1038/srep28944.
7. Kitajima N, Numaga-Tomita T, Watanabe M, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M (2016) TRPC3 positively regulates reactive oxygen species driving maladaptive cardiac remodeling. Sci Rep 6:37001. doi: 10.1038/srep37001.
8. Numaga-Tomita T, Kitajima N, Kuroda T, Nishimura A, Miyano K, Yasuda S, Kuwahara K, Sato Y, Ide T, Birnbaumer L, Sumimoto H, Mori Y, Nishida M (2016) TRPC3-GEF-H1 axis mediates pressure overload-induced cardiac fibrosis. Sci Rep 6:39383. doi: 10.1038/srep39383.

2) 英文総説（査読あり）

1. Fujii S, Sawa T, Nishida M, Ihara H, Ida T, Motohashi H, Akaike T (2016) Redox signaling regulated by an electrophilic cyclic nucleotide and reactive cysteine persulfides. Archives of Biochemistry and Biophysics 595:140-146. doi: 10.1016/j.abb.2015.11.008.
2. Nishida M, Kumagai Y, Ihara H, Fujii S, Motohashi H, Akaike T (2016) Redox signaling regulated by electrophiles and reactive sulfur species. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 58:91-98. doi: 10.3164/jcbn.15-111.
3. Putney JW Jr, Steinckwich-Besanon N, Numaga-Tomita T, Davis FM, Desai PN, D'Agostin DM, Wu S, Bird GS (2016) The functions of store-operated channels. Biochim Biophys Acta pii: S0167-4889(16)30323-8. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.11.028.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Hirono S, Lee EY, Kuribayashi S, Fukuda T, Saeki N, Minokoshi Y, Iwanaga T, Miki T (2016) Importance of adult Dmbx1 in long-lasting orexigenic effect of agouti-related peptide. Endocrinology 157:245-257. doi: 10.1210/en.2015-1560.
2. Inagaki-Ohara K, Okamoto S, Takagi K, Saito K, Arita S, Tang L, Hori T, Kataoka H, Matsumoto S, Minokoshi Y (2016) Leptin receptor signaling is required for high-fat diet-induced atrophic gastritis in mice. Nutrition & Metabolism 13:7. doi: 10.1186/s12986-016-0066-1.

2) 研究関係著作

1. 梶村慎吾，箕越靖彦 (2016) 肥満症：いま，何をしるべきか？何をするべきか？ 実験医学 増刊 (「解

明」から「制御」へ 肥満症のメディカルサイエンス) 34:176-182.

2. 箕越靖彦 (2016) 食欲の中枢制御. 実験医学 増刊 (「解明」から「制御」へ 肥満症のメディカルサイエンス) 34: 260-268.
3. 箕越靖彦 (2016) 摂食と食物嗜好性の分子機構. Clinical Calcium 26:405-411.
4. 箕越靖彦 (2016) 自律神経による脂肪組織マクロファージ機能の調節. 医学のあゆみ 257:695-702.
5. 箕越靖彦 (2016) 中枢性食欲調節のフロンティア. Diabetes Frontier 27:325-330.
6. 箕越靖彦 (2016) 食欲調節にかかわる末梢と中枢シグナル. 医学のあゆみ 259:1083-1090.

3) その他

1. 箕越靖彦 (2016) 第 36 回日本肥満学会を終えて. 日本医事新報 1/2:90-91.

《神経シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Freyermuth F, Rau F, Kokunai Y, Linke T, Sellier C, Nakamori M, Kino Y, Arandel L, Jollet A, Thibault C, Philipps M, Vicaire S, Jost B, Udd B, Day J.W, Duboc D, Wahbi K, Matsumura T, Fujimura H, Mochizuki H, Deryckere F, Kimura T, Nukina N, Ishiura S, Lacroix V, Campan-Fournier A, Navratil V, Chautard E, Auboeuf D, Horie M, Imoto K, Lee K-Y, Swanson MS, De Munain AL, Inada S, Itoh H, Nakazawa K, Ashihara T, Wang E, Zimmer T, Furling D, Takahashi MP, Charlet-Berguerand N (2016) Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy. Nat Commun 7: 11067. doi: 10.1038/ncomms11067.
2. Naitou K, Nakamori H, Shiina T, Ikeda A, Nozue Y, Sano Y, Yokoyama T, Yamamoto Y, Yamada A, Akimoto N, Furue H, Shimizu Y (2016) Stimulation of dopamine D2-like receptors in the lumbosacral defecation centre causes propulsive colo-rectal contractions in rats. J Physiol 594: 4339-50. doi: 10.1113/JP272073.
3. Kurabe M, Furue H, Kohno T (2016) Intravenous administration of lidocaine directly acts on spinal dorsal horn and pro-duces analgesic effect: An in vivo patch-clamp analysis. Sci Rep 6: 26253. doi: 10.1038/srep26253.
4. Kozuka Y, Kawamata M, Furue H, Ishida T, Tanaka S, Namiki A, Yamakage M (2016) Changes in synaptic transmission of substantia gelatinosa neurons after spinal cord hemisection revealed by analysis using in vivo patch-clamp recording. Mol Pain 12: 1-14. doi: 10.1177/1744806916665827.
5. Katano T, Fukuda M, Furue H, Yamazaki M, Abe M, Watanabe M, Nishida K, Yao I, Yamada A, Hata Y, Okumura N, Nakazawa T, Yamamoto T, Sakimura K, Takao T, Ito S (2016) Involvement of brain-enriched guanylate kinase-associated protein (BEGAIN) in chronic pain after peripheral nerve injury. eNeuro 3: 0110-16. doi: 10.1523/ENEURO.0110-16.2016.
6. Choi S, Yamada A, Kim W, Kim SK, Furue H (2016) Noradrenergic inhibition of spinal hyperexcitation elicited by cutaneous cold stimuli in rats with oxaliplatin-induced allodynia: electrophysiological and behavioral assessments. J Physiol Sci 67(3):431-438. doi: 10.1007/s12576-016-0505-9

《大脳神経回路論研究部門》

1) 英文原著論文

1. Villa KL, Berry KP, Subramanian J, Cha JW, Oh WC, Kwon H-B, Peter So PTC, Kubota Y, Nedivi E (2016) Inhibitory synapses are repeatedly assembled and removed at persistent sites in vivo. Neuron 89: 756-769. doi:10.1016/j.neuron.2016.01.010.
2. Hatanaka Y, Namikawa T, Yamauchi K, Kawaguchi Y (2016) Cortical divergent projections in mice originate

from two sequentially generated, distinct populations of excitatory cortical neurons with different initial axonal outgrowth characteristics. Cereb Cortex 26: 2257-2270. doi: 10.1093/cercor/bhv077.

3. Shigematsu N, Ueta Y, Mohamed AA, Hatada S, Fukuda T, Kubota Y, Kawaguchi Y (2016) Selective thalamic innervation of rat frontal cortical neurons. Selective thalamic innervation of rat frontal cortical neurons. Cereb Cortex: 26: 2689-2704. doi: 10.1093/cercor/bhv124.
4. Sohn J, Okamoto S, Kataoka N, Kaneko T, Nakamura K, Hioki H (2016) Differential inputs to the perisomatic and distal-dendritic compartments of VIP-positive neurons in layer 2/3 of the mouse barrel cortex. Front Neuroanat 10:124. doi: 10.3389/fnana.2016.00124.

2) 英文総説（査読あり）

1. Hatanaka Y, Zhu Y, Torigoe M, Kita Y, Murakami F (2016) From migration to settlement: the pathways, migration modes and dynamics of neurons in the developing brain. Proc Jpn Acad Ser B 92: 1-19. doi: 10.2183/pjab.92.1.
2. Kubota Y, Karube F, Nomura M, Kawaguchi Y (2016) The diversity of cortical inhibitory synapses. Front Neural Circuits 10:27. doi: 10.3389/fncir.2016.00027.

3) 研究関係著作

1. Kubota Y (2016) Morphological and neurochemical characterization of electrophysiologically identified cells. "Neuromethods Vol 110, Receptor and ion channel detection in the brain" (Luján R, Ciruela F, eds), Springer, pp 277-309.
2. Barth A, Burkhalter A, Callaway EM, Connors BW, Cauli B, DeFelipe J, Feldmeyer D, Freund T, Kawaguchi Y, Kisvarday Z, Kubota Y, McBain C, Oberlaender M, Rossier J, Rudy JB, Staiger JF, Somogyi P, Tamas G, Yuste R (2016) Comment on 'Principles of connectivity among morphologically defined cell types in adult neocortex'. Science 353: 1108. doi: 10.1126/science.aaf5663

《生体恒常性発達研究部門》

1) 英文原著論文

1. Goto K, Kawahara I, Inada H, Misawa H, Kuniyasu H, Nabekura J, Takaki M (2016) Activation of 5-HT4 receptors facilitates neurogenesis from transplanted neural stem cells in the anastomotic ileum. J Physiol Sci 66(1):67-76. doi: 10.1007/s12576-015-0396-1.
2. Kim SK, Hayashi H, Ishikawa T, Shibata K, Shigetomi E, Shinozaki Y, Inada H, Roh SE, Kim SJ, Lee G, Bae H, Moorhouse AJ, Mikoshiba K, Fukazawa Y, Koizumi S, Nabekura J (2016) Cortical astrocytes rewire somatosensory cortical circuits for peripheral neuropathic pain. J Clin Invest 126(5):1983-1997. doi: 10.1172/JCI82859.
3. Kato G, Inada H, Wake H, Akiyoshi R, Miyamoto A, Eto K, Ishikawa T, Moorhouse AJ, Strassman AM, Nabekura J (2016) Microglial Contact Prevents Excess Depolarization and Rescues Neurons from Excitotoxicity. eNeuro 3(3). doi: 10.1523/ENEURO.0004-16.2016.
4. Miyamoto A, Wake H, Ishikawa AW, Eto K, Shibata K, Murakoshi H, Koizumi S, Moorhouse AJ, Yoshimura Y, Nabekura J (2016) Microglia contact induces synapse formation in developing somatosensory cortex. Nat Commun 7:12540. doi: 10.1038/ncomms12540.
5. Nakahata Y, Nabekura J, Murakoshi H (2016) Dual observation of the ATP-evoked small GTPase activation and Ca^{2+} transient in astrocytes using a dark red fluorescent protein. Sci Rep 6:39564. doi: 10.1038/srep39564.

《視覚情報処理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Oishi K, Nakagawa N, Tachikawa K, Sasaki S, Aramaki M, Hirano S, Yamamoto N, Yoshimura Y, Nakajima K (2016) Identity of neocortical layer 4 neurons is specified through correct positioning into the cortex. Elife 5:e10907. doi: 10.7554/eLife.10907.
2. Sunaga Y, Yamaura H, Haruta M, Yamaguchi T, Motoyama M, Ohta Y, Takehara H, Noda T, Sasagawa K,

Tokuda T, Yoshimura Y, Ohta J (2016) Implantable imaging device for brain functional imaging system using flavoprotein fluorescence. Jpn J Appl Phys 55:03DF02. doi: 10.7567/JJAP.55.03DF02.

3. Tarusawa E, Sanbo M, Okayama A, Miyashita T, Kitsukawa T, Hirayama T, Hirabayashi, T, Hasegawa S, Kaneko R, Toyoda S, Kobayashi T, Kato-Itoh M, Nakauchi H, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y (2016) Establishment of high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is regulated by the Dnmt3b DNA methyltransferase and clustered protocadherins. BMC Biol 14(1):103. doi: 10.1186/s12915-016-0326-6.
4. Kimura R, Saiki A, Fujiwara-Tsukamoto Y, Sakai Y, Isomura Y. (2016). Large-scale analysis reveals populational contributions ofcortical spike rate and synchrony to behavioural functions. J Physiol, 595 (1), 385-413. doi: 10.1113/JP272794.

《感覚認知情報研究部門》

1) 英文原著論文

1. Tajima C, Tajima S, Koida K, Komatsu H, Aihara K, Suzuki H (2016) Population code dynamics in categorical perception. Sci Rep 6: 22536. doi: 10.1038/srep22536.
2. Goda N, Yokoi I, Tachibana A, Minamimoto T, Komatsu H (2016) Crossmodal association of visual and haptic material properties of objects in the monkey ventral visual cortex. Current Biology 26(7):928-934. doi: 10.1016/j.cub.2016.02.003.
3. Mochizuki Y, Onaga T, Shimazaki H, Shimokawa T, Tsubo Y, Kimura R, Saiki A, Sakai Y, Isomura Y, Fujisawa S, Shibata K, Hirai D, Furuta T, Kaneko T, Takahashi S, Nakazono T, Ishino S, Sakurai Y, Kitsukawa T, Lee J W, Lee H, Jung M, Babul C, Maldonado P, Takahashi K, Arce-McShane F, Ross C, Sessle B, Hatsopoulos N, Brochier T, Riehle A, Chorley P, Gruen S, Nishijo H, Ichihara-Takeda S, Funahashi S, Shima K, Mushiake H, Yamane Y, Tamura H, Fujita I, Inaba N, Kawano K, Kurkin S, Fukushima K, Kurata K, Taira M, Tsuitsui K, Ogawa T, Komatsu H, Koida K, Toyama K, Richmond B, Shinomoto S (2016) Similarity in neuronal firing regimes across mammalian species. J Neurosci 36: 5736-5747. doi:10.1523/JNEUROSCI.0230-16.2016.
4. Kato D, Baba M, Sasaki KS, Ohzawa I (2016) Effects of generalized pooling on binocular disparity selectivity of neurons in the early visual cortex. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 371(1697):20150266. doi: 10.1098/rstb.2015.0266.
5. Sanada TM, Namima T, Komatsu H (2016) Comparison of the color selectivity of macaque V4 neurons in different color spaces. J Neurophysiol 116(5): 2163-2172. doi: 10.1152/jn.00108.2016.
6. Okazawa G, Tajima S, Komatsu H (2016) Gradual development of visual texture-selective properties between macaque areas V2 and V4. Cerebral Cortex (in press).

2) 研究関係著作

1. 小松英彦 (2016) 大脳視覚野. "光と生命の事典" (日本光生物学協会 光と生命の事典編集委員会 編), 朝倉書店, pp 276-277.
2. 小松英彦 (2016) 質感とは何か. "質感の科学" (小松英彦 編), 朝倉書店, pp 2-23.
3. 小松英彦 (2016) 質感を見分ける脳の働き. "質感の科学" (小松英彦 編), 朝倉書店, pp 89-104.

3) その他

1. Spillmann L, Saito K, Komatsu H (2016) Hajime Ouchi - a mystery resolved. Perception. vol. 45, (4), 371-374, doi: 10.1177/0301006616637433
2. 小松英彦 (2016) 色と質感，浮世絵と国絵図から見えてくるもの. 色の博物誌. 169-172, 目黒区美術館

《認知行動発達機構研究部門》

（磯田研）

1) 英文原著論文

1. Tian X, Yoshida M, Hafed ZM (2016) A Microsaccadic Account of Attentional Capture and Inhibition of Return in Posner Cueing. Frontiers in Systems Neuroscience 10:23. doi:10.3389/fnsys.2016.00023.
2. Yoshida K, Go Y, Kushima I, Toyoda A, Fujiyama A, Imai H, Saito N, Iriki A, Ozaki N, Isoda M（2016）Single-neuron and genetic correlates of autistic behavior in macaque. Science Advances 2(9): e1600558. doi:10.1126/sciadv.1600558.
3. Carelli FN, Hayakawa T, Go Y, Imai H, Warnefors M, Kaessmann H (2016) The life history of retrocopies illuminates the evolution of new mammalian genes. Genome Res 26: 301-314. doi: 10.1101/gr.198473.115.

2) 英文総説（査読あり）

1. Veale R, Hafed ZM, Yoshida M (2016) How is visual saliency computed in the brain? Insights from behaviour, neurobiology, and modeling. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 372(1714). pii: 20160113. doi: 10.1098/rstb.2016.0113.
2. Isoda M (2016) Understanding intentional actions from obserevers' viewpoints: A social neuroscience perspective. Neurosci Res 112:1-9. doi:10.1016/j.neures.2016.06.008.

（伊佐研）

1) 英文原著論文

1. Ishida A, Isa K, Umeda T, Kobayashi K, Kobayashi K, Hida H, Isa T (2016) Causal link between the cortico-rubral pathway and functional recovery through forced impaired limb use in rats with stroke. J Neurosci 36:455-467. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2399-15.2016.
2. Kato K, Sasada S, Nishimura Y (2016) Flexible adaptation to an artificial recurrent connection from muscle to peripheral nerve in man. J Neurophysiol 115:978-991. doi: 10.1152/jn.00143.2015.PMID: 26631144.
3. Kasai M, Isa T（2016）Imaging population dynamics of surround suppression in the superior colliculus. Eur J Neurosci 44:2543-2556. doi: 10.1111/ejn.13371.
4. Yamamoto T, Murayama S, Takao M, Isa T, Higo N (2017) Expression of secreted phosphoprotein 1 (osteopontin) in human sensorimotor cortex and spinal cord: Changes in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Brain Res 1655:168-175. doi: 10.1016/j.brainres.2016.10.030.
5. Tohyama T, Kinoshita M, Kobayashi K, Isa K, Watanabe D, Kobayashi K, Liu M, Isa T (2016) Contribution of propriospinal neurons to recovery of hand dexterity after corticospinal tract lesions in monkeys. Proc Natl Acad Sci USA. 114(3): 604-609. doi: 10.1073/pnas.1610787114.

《生体システム研究部門》

1) 英文原著論文

1. Darbin O, Jin X, Von Wrangel C, Schwabe K, Nambu A, Naritoku DK, Krauss JK, Alam M (2016) Neuronal entropy-rate feature of entopeduncular nucleus in rat model of Parkinson's disease. Int J Neural Syst 26: 1550038. doi: 10.1142/S0129065715500380 .
2. Horie M, Mekada K, Sano H, Kikkawa Y, Chiken S, Someya T, Saito K, Hossain MD, Nameta M, Abe K, Sakimura K, Ono K, Nambu A, Yoshiki A, Takebayashi H (2016) Characterization of novel dystonia musculorum mutant mice: implications for central nervous system abnormality. Neurobiol Dis 96: 271-283. doi: 10.1016/j.nbd.2016.09.016.
3. Darbin O, Gubler C, Naritoku D, Dees D, Martino A, Adams E (2016) Parkinsonian balance deficits quantified using a game industry board and a specific battery of four paradigms. Fronti Human Neurosci 10:431. doi: 10.3389/fnhum.2016.00431.
4. Kobayashi K, Sano H, Kato S, Kuroda K, Nakamuta S, Isa T, Nambu A, Kaibushi K, Kobayashi K (2016) Survival of corticostriatal neurons by Rho/Rho-kinase signaling pathway. Neurosci Lett 630: 45-52. doi: 10.1016/j.neulet.2016.07.020.

2) 研究関係著作

1. 南部篤, 知見聡美 (2016) DBS のメカニズム. Clinical Neuroscience 34: 210-214.

《統合生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Nakagawa K, Mochizuki H, Koyama S, Tanaka S, Sadato N, Kakigi R (2016) A transcranial direct current stimulation over the sensorimotor cortex modulates the itch sensation induced by histamine. Clin Neurophysiol 127:827-832. doi: 10.1016/j.clinph.2015.07.003.
2. Tanahashi M, Motomura E, Inui K, Ohoyama K, Tanii H, Konishi Y, Shiroyama T, Nishihara M, Kakigu R, Okada M (2016) Auditory change-related cerebral responses and personality traits. Neurosci Res 103:31-39. doi: 10.1016/j.neures.2015.08.005.
3. Sekiya K, Fukushima M, Teismann H, Lagemann L, Kakigi R, Pantev C, Okamoto H (2016) Neuro-rehabilitation approach for sudden sensorineural hearing loss. J Vis Exp e53264. doi:10.3791/53264.
4. Morita T, Kosaka H, Saito DN, Fuji T, Ishitobi M, Munesue T, Inohara K, Okazawa H, Kakigi R, Sadato N (2016) Neural correlates of emotion processing during observed self-face recognition in individuals with autism spectrum disorders. Res Autism Spectr Disord 26: 16-32. doi:10.1016/j.rasd.2016.02.011.
5. Motogi J, Sugiyama Y, Laakso I, Hirata A, Inui, K, Tamura M, Muragaki Y (2016) Why intra-epidermal electrical stimulation achieves stimulation of small fibres selectively: A simulation study. Physic Med Biol 61:4479-4490. doi: 10.1088/0031-9155/61/12/4479.
6. Inui K, Nakagawa K, Nishihara M, Motomura E, Kakigi R (2016) Inhibition in the human auditory cortex. PLoS ONE 11:e0155972. doi: 10.1371/journal.pone.0155972.
7. Kida T, Tanaka E, Kakigi R (2016) Multi-dimensional dynamics of human electromagnetic brain activity. Frontiers in Human Neuroscience 9: 713. doi: 10.3389/fnhum.2015.00713.

2) 研究関係著作

1. Tobimatsu S, Kakigi R eds (2016) "Clinical Applications of Magnetoencephalography", Springer, Tokyo. doi: 10.1007/978-4-431-55729-6
2. Okamoto H (2016) Auditory System, Clinical application. "Clinical Applications of Magnetoencephalography" (Tobimatsu S, Kakigi R eds), pp 113-128, Springer, Tokyo. doi: 10.1007/978-4-431-55729-6_6.
3. Miki K, Kakigi R (2016) Visual System, Basic function. "Clinical Applications of Magnetoencephalography" (Tobimatsu S, Kakigi R eds), pp 129-144, Springer, Tokyo. doi: 10.1007/978-4-431-55729-6_7.
4. Nakagawa K, Inui K, Kakigi R (2016) Somatosensory System, Basic function. "Clinical Applications of Magnetoencephalography" (Tobimatsu S, Kakigi R eds), pp55-72, Springer, Tokyo. doi: 10.1007/978-4-431-55729-6_3.
5. 市川寛子, 仲渡江美, 島村圭一, 金沢創, 山口真美, 作田亮一, 柿木隆介 (2016) 発達障害研究への応用—スパースモデリングによる NIRS を用いた脳活動計測におけるチャネル選択—. 電子情報通信学会誌 99: 428-433.
6. 望月秀紀, 柿木隆介 (2016) かゆみの脳内認知機構. 脊髄外科 30: 53-57.
7. 柿木隆介 (2016) ヒトにおける痛覚の脳内認知機構. 臨床評価 43: 516-522.
8. 柿木隆介 (2016) 痛みに伴う脳活動変化. "口腔顔面痛の診断と治療", 医歯薬出版, 東京, pp 24-28.
9. 柿木隆介 (2016) 疼痛の脳内認知機構. "高齢者の感覚障害：慢性疼痛を中心に", 長寿科学振興財団 pp41-52,
10. 岡本秀彦 (2016) 脳科学辞典：誘発電位および誘発脳磁界. http://bsd.neuroinf.jp/wiki/誘発反応. doi: 10.14931/bsd.6692.

《心理生理学研究部門》

1) 英文原著論文

1. Franke B, Stein JL, Ripke S, Anttila V, Hibar DP, van Hulzen KJ, Arias-Vasquez A, Smoller JW, Nichols TE, Neale MC, McIntosh AM, Lee P, McMahon FJ, Meyer-Lindenberg A, Mattheisen M, Andreassen OA, Gruber O, Sachdev PS, Roiz-Santianez R, Saykin AJ, Ehrlich S, Mather KA, Turner JA, Schwarz E, Thalamuthu A, Yao Y, Ho YY, Martin NG, Wright MJ; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium; Psychosis Endophenotypes International Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2; Enigma Consortium (Fukunaga M et al.), O'Donovan MC, Thompson PM, Neale BM, Medland SE, Sullivan PF (2016) Genetic influences on schizophrenia and subcortical brain volumes: large-scale proof of concept. Nat Neurosci 19:420-431. doi: 10.1038/nn.4228.
2. Gomez-Tames J, Sugiyama Y, Laakso I, Tanaka S, Koyama S, Sadato N, Hirata A (2016) Effect of microscopic modeling of skin in electrical and thermal analysis of transcranial direct current stimulation. Phys Med Biol 61(24):8825-8838. doi: 10.1088/1361-6560/61/24/8825.
3. Harada T, Hayashi A, Sadato N, Iidaka T (2016) Neural correlates of emotional contagion induced by happy and sad expressions. Journal of Psychophysiology 30: 114-123. doi: 10.1027/0269-8803/a000160.
4. Hashimoto R, Nakazawa T, Tsurusaki Y, Yasuda Y, Nagayasu K, Matsumura K, Kawashima H, Yamamori H, Fujimoto M, Ohi K, Umeda-Yano S, Fukunaga M, Fujino H, Kasai A, Hayata-Takano A, Shintani N, Takeda M, Matsumoto N, Hashimoto H (2016) Whole-exome sequencing and neurite outgrowth analysis in autism spectrum disorder. J Human Genetics 61: 199-206. doi: 10.1038/jhg.2015.141.
5. Hirotani M, Terry JM, Sadato N (2016) Processing load imposed by line breaks in English temporal Wh-questions. Front Psychol 7:1465. doi: 10.3389/fpsyg.2016.01465.
6. Kaiser LG, Hirokazu K, Fukunaga M, B Matson G (2016) Detection of glucose in the human brain with 1 H MRS at 7 Tesla. Magn Reson Med 76(6):1653-1660. doi: 10.1002/mrm.26456.
7. Kawakami S, Sato H, Sasaki AT, Tanabe HC, Yoshida Y, Saito M, Toyoda H, Sadato N, Kang Y (2016) The brain mechanisms underlying the perception of pungent taste of capsaicin and the subsequent autonomic responses. Front Hum Neurosci 9:720. doi: 10.3389/fnhum.2015.00720.
8. Kawamichi H, Sugawara SK, Hamano YH, Makita K, Kochiyama T, Sadato N (2016) Increased frequency of social interaction is associated with enjoyment enhancement and reward system activation. Sci Rep 6:24561. doi: 10.1038/srep24561.
9. Kawamichi H, Sugawara SK, Hamano YH, Makita K, Matsunaga M, Tanabe HC, Ogino Y, Saito S, Sadato N (2016) Being in a romantic relationship is associated with reduced gray matter density in striatum and increased subjective happiness. Front Psychol 7:1763. doi: 10.3389/fpsyg.2016.01763.
10. Kawamichi H, Yoshihara K, Sugawara SK, Matsunaga M, Makita K, Hamano YH, Tanabe HC, Sadato N (2016) Helping behavior induced by empathic concern attenuates anterior cingulate activation in response to others' distress. Soc Neurosci 11(2):109-122. doi: 10.1080/17470919.2015.1049709.
11. Koike T, Tanabe HC, Okazaki S, Nakagawa E, Sasaki AT, Shimada K, Sugawara SK, Takahashi HK, Yoshihara K, Bosch-Bayard J, Sadato N (2016) Neural substrates of shared attention as social memory: A hyperscanning functional magnetic resonance imaging study. Neuroimage 125:401-412. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.09.076.
12. Kosaka H, Okamoto Y, Munesue T, Yamasue H, Inohara K, Fujioka T, Anme T, Orisaka M, Ishitobi M, Jung M, Fujisawa TX, Tanaka S, Arai S, Asano M, Saito DN, Sadato N, Tomoda A, Omori M, Sato M, Okazawa H, Higashida H, Wada Y (2016) Oxytocin efficacy is modulated by dosage and oxytocin receptor genotype in young adults with high-functioning autism: a 24-week randomized clinical trial. Transl Psychiatry 6(8):e872. doi: 10.1038/tp.2016.152.
13. Laakso I, Tanaka S, Mikkonen M, Koyama S, Sadato N, Hirata A (2016) Electric fields of motor and frontal tDCS

in a standard brain space: A computer simulation study. Neuroimage 137:140-151.
doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.05.032.

14. Matsui T, Nakamura T, Utsumi A, Sasaki AT, Koike T, Yoshida Y, Harada T, Tanabe HC, Sadato N (2016) The role of prosody and context in sarcasm comprehension: Behavioral and fMRI evidence. Neuropsychologia 87:74-84. doi: 0.1016/j.neuropsychologia.2016.04.031.
15. Matsunaga M, Kawamichi H, Koike T, Yoshihara K, Yoshida Y, Takahashi HK, Nakagawa E, Sadato N (2016) Structural and functional associations of the rostral anterior cingulate cortex with subjective happiness. Neuroimage 134:132-141. doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.04.020.
16. Okada N, Fukunaga M, Yamashita F, Koshiyama D, Yamamori H, Ohi K, Yasuda Y, Fujimoto M, Watanabe Y, Yahata N, Nemoto K, Hibar DP, van Erp TG, Fujino H, Isobe M, Isomura S, Natsubori T, Narita H, Hashimoto N, Miyata J, Koike S, Takahashi T, Yamasue H, Matsuo K, Onitsuka T, Iidaka T, Kawasaki Y, Yoshimura R, Watanabe Y, Suzuki M, Turner JA, Takeda M, Thompson PM, Ozaki N, Kasai K, Hashimoto R (2016) Abnormal asymmetries in subcortical brain volume in schizophrenia. Mol Psychiatry 21(10): 1460-1466. doi: 10.1038/mp.2015.209.
17. Pornpattananangkul N, Hariri AR, Harada T, Mano Y, Komeda H, Parrish TB, Sadato N, Iidaka T, Chiao JY (2016) Cultural influences on neural basis of inhibitory control. Neuroimage 139:114-126.
doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.05.061.
18. Tanaka SC, Yamada K, Kitada R, Tanaka S, Sugawara SK, Ohtake F, Sadato N (2016) Overstatement in happiness reporting with ordinal, bounded scale. Sci Rep 6:21321. doi: 10.1038/srep21321.
19. Tsurugizawa T, Tokuda S, Harada T, Takahashi T, Sadato N (2016) Pharmacological and expectancy effects of a low amount of alcohol drinking on outcome valuation and risk perception in males and females. PLoS ONE 11(4):e0154083. doi: 10.1371/journal.pone.0154083.
20. Yoshihara K, Tanabe HC, Kawamichi H, Koike T, Yamazaki M, Sudo N, Sadato N (2016) Neural correlates of fear-induced sympathetic response associated with the peripheral temperature change rate. Neuroimage 134:522-531. doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.04.040.
21. Adams HHH et al. (著者 342 名; Fukunaga M を含む) (2016) Novel genetic loci underlying human intracranial volume identified through genome-wide association. Nat Neurosci19: 1569-1582. doi:10.1038/nn.4398.
22. Mathur VA, Cheon BK, Harada T, Scimeca JM, Chiao JY (2016) Overlapping neural response to the pain or harm of people, animals, and nature. Neuropsychologia 81: 265-273. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2015.12.025.

2) 研究関係著作

1. 田邊宏樹 (2016) 英語教育への脳科学的アプローチ 4 外国語学習における小脳の役割. 英語教育 64(11): 68-69.
2. 定藤規弘, 横川博一 (2016) 第 5 回社会脳―英語教育研究への新たなる挑戦. 英語教育 64(12):68-69. (分担執筆)
3. 定藤規弘 (2016) 間主観性の脳的基盤. 臨床精神病理 37(1):21-27.
4. 定藤規弘 (2016) 脳科学と精神病理 司会まえがき. 臨床精神病理 37(1):29-30.
5. Fox J, Hirotani M (2016) Detecting incremental changes in oral proficiency in neuroscience and language testing: advantages of interdisciplinary collaboration. "Trends in Language Assessment Research and Practice" (Aryadoust V, Fox J eds). Cambridge Scholars Publishing, pp 89-120.
6. 定藤規弘 (2016) PET・機能的 MRI によるアプローチ 機能地図からネットワーク解析へ 「私たち」の脳科学に向けて：2 個人同時計測 MRI 研究. 脳神経外科ジャーナル 25(5):421-426.
7. 惠飛須俊彦, 福永雅喜 (2016) Functional Connectivity による脳血管障害回復期の評価. Clinical Neuroscience 34:6:701-703.
8. 椎野智子, 宍戸恵美子, 飯尾明生, 尾崎紀夫 (2016) 統合失調症と発達障害の関連（特集 統合失調症はどこへ行くのか(2)）The association between schizophrenia and developmental disorder. 臨床精神医学 45(9):1169- 1175.
9. 中村晋之介, 尾崎紀夫, 定藤規弘, 井本敬二, 宍戸恵美子, 福村直博 (2016) 曲線をなぞる運動におけるサッケード位置の解析 An analysis of saccade positions in tracing tasks. 信学技報 116(343): 19-24.
10. Chikazoe J, Konishi S (2016) Functional neuroimaging approaches to human memory, "Memory in Social Context: Brain, Mind, and Society" (Tsukiura T, Umeda

S eds), Springer (in press).

《個別研究（村上研究室）》

1) 英文原著論文

1. Seo E, Sazi T, Togawa M, Nagata O, Murakami M, Kojima S, Seo Y (2016) A portable infrared photoplethysmograph: Heartbeat of Mytilus galloprovincialis analyzed by MRI and application to Bathymodiolus septemdierum. Biol Open 5(11):1752-1757. doi: 10.1242/bio.020909.

2) 研究関係著作

1. 村上政隆 (2016) 第 III 章 唾液腺の基礎. "唾液・唾液腺　徹底レクチャー" (日本唾液腺学会 編), 総ページ 209, 金原出版, pp 73-113.

《形態情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Sakaguchi M, Miyazaki N, Fujioka H, Kaneko O, Murata K (2016) Three-dimensional analysis of morphological changes in the malaria parasite infected red blood cell by serial block-face scanning electron microscopy. J Struct Biol 193: 162--171. doi: 10.1016/j.jsb.2016.01.003.
2. Kobayashi C, Watanabe T, Murata K, Kureha T, Suzuki D (2016) Localization of Polystyrene Particles on the Surface of Poly (N-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) Microgels Prepared by Seeded Emulsion Polymerization of Styrene. Langmuir 32: 1429--1439. doi: 10.1021/acs.langmuir.5b03698.
3. Oshima A, Matsuzawa T, Murata K, Tani K, Fujiyoshi Y (2016) Hexadecameric structure of an invertebrate gap junction channel. J Mol Biol 428:1227-1236. doi: 10.1016/j.jmb.2016.02.011.
4. Kaji T, Kakui K, Miyazaki N, Murata K, Palmer AR (2016) Mesoscale morphology at nanoscale resolution: serial block-face scanning electron microscopy reveals fine 3D detail of a novel silk spinneret system in a tube-building tanaid crustacean. Front Zool 13:14. doi: 10.1186/s12983-016-0146-0.
5. Takeuchi M, Karahara I, Kajimura N, Takaoka A, Murata K, Misaki K, Yonemura S, Staehelin LA, Mineyuki Y (2016) Single microfilaments mediate the early steps of microtubule bundling during preprophase band formation in onion cotyledon epidermal cells. Mol Biol Cell 27:1809--1820. doi: 10.1091/mbc.E15-12-0820.
6. Yamaguchi M, Yamada H, Higuchi K, Yamamoto Y, Arai S, Murata K, Mori Y, Furukawa H, Uddin MS, Chibana H (2016) High-voltage electron microscopy tomography and structome analysis of unique spiral bacteria from the deep sea. Microscopy 65:363-369. doi: 10.1093/jmicro/dfw016.
7. Negishi T, Miyazaki N, Murata K, Yasuo H, Ueno N (2016) Physical association between a novel plasma-membrane structure and centrosome orients cell division. eLife 5:e16550. doi: 10.7554/eLife.16550.
8. Okamoto K, Miyazaki N, Larsson DS, Kobayashi D, Svenda M, Mühlig K, Maia FR, Gunn LH, Isawa H, Kobayashi M, Sawabe K, Murata K, Hajdu J (2016) The infectious particle of insect-borne totivirus-like Omono River virus has raised ridges and lacks fibre complexes. Sci Rep 6:33170. doi: 10.1038/srep33170.
9. Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R , Miki M, Doan YH, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K (2016) Functional receptor molecules CD300lf and CD300ld within the CD300 family enable murine noroviruses to infect cells. Proc Natl Acad Sci USA 113(41):E6248–E6255. doi: 10.1073/pnas.1605575113.
10. Murata K, Hagiwara S, Kimori Y, Kaneko Y (2016) Ultrastructure of compacted DNA in cyanobacteria by high-voltage cryo-electron tomography. Sci Rep 6:34934. doi: 10.1038/srep34934.
11. Watanabe T, Kobayashi C, Song C, Murata K, Kureha T, Suzuki D (2016) Impact of Spatial Distribution of

Charged Groups in Core Poly(N-isopropylacrylamide)-Based Microgels on the Resultant Composite Structures Prepared by Seeded Emulsion Polymerization of Styrene. Langmuir 32:12760--12773.
doi: 10.1021/acs.langmuir.6b03172.

12. Miyazaki N, Taylor D.W, Hansman G.S, Murata K (2016) Antigenic and cryoelectron microscopy structure analysis of a chimeric sapovirus capsid. J Virol 90: 2664-2675.
doi: 10.1128/JVI.02916-15

2) その他

1. 小林千玲，村田和義，鈴木大介 (2016) 球状ウィルス様高分子複合ゲル微粒子の創製．新学術領域研究「動的秩序と機能」ニュースレター 30:4.
2. 村田和義，片山和彦 (2016) マウスノロウイルスのタンパク質感染受容体を発見．新学術領域研究「動的秩序と機能」ニュースレター 39:3.

《多光子顕微鏡室》

1) 英文原著論文

1. Fujiwara TK, Iwasawa K, Kalay Z, Tsunoyama TA, Watanabe Y, Umemura YM, Murakoshi H, Suzuki KG, Nemoto YL, Morone N, and Kusumi A (2016) Confined diffusion of transmembrane proteins and lipids induced by the same actin meshwork lining the plasma membrane. Mol Biol Cell 27:1101-1119.
doi: 10.1091/mbc.E15-04-0186.
2. Miyamoto A, Wake H, Ishikawa AW, Eto K, Shibata K, Murakoshi H, Koizumi S, Moorhouse AJ, Yoshimura Y, and Nabekura J (2016) Microglia contact induces synapse formation in developing somatosensory cortex. Nature Communications 7:12540. doi: 10.1038/ncomms12540.
3. Hedrick NG, Harward SC, Hall CE, Murakoshi H, McNamara JO, and Yasuda R. (2016) Rho GTPase complementation underlies BDNF-dependent homo- and heterosynaptic plasticity. Nature 538:104-108.
doi: 10.1038/nature19784.
4. Phengchat R, Takata H, Morii K, Inada N, Murakoshi H, Uchiyama S, and Fukui K. (2016) Calcium ions function as a booster of chromosome condensation. Scientific Reports 6, 38281. doi: 10.1038/srep38281.
5. Nakahata Y, Nabekura J, and Murakoshi H. (2016) Dual observation of the ATP-evoked small GTPase activation and Ca^{2+} transient in astrocytes using a dark red fluorescent protein. Scientific Reports 6:39564.
doi: 10.1038/srep39564.

2) その他（総説（英文，邦文），著作，邦文論文など）

1. 柴田明裕，村越秀治 （2016）細胞内発現パターンを劇的に改善した高精度 FRET センサーの開発．生物物理 56-3:181-184.
2. Murakoshi H, Yasuda R (2016) Imaging signal transduction in dendrites using genetically-encoded fluorescent proteins. Dendritets: development and disease. Springer-Verlag, Germany. 139-154.

《ウイルスベクター開発室》

1) 英文原著論文

1. Ishida A, Isa K, Umeda T, Kobayashi K, Kobayashi K, Hida H, Isa T (2016) Causal link between the cortico-rubral pathway and functional recovery through forced impaired limb use in rats with stroke. J Neurosci 36:455-467. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2399-15.2016.
2. Nagai T, Nakamuta S, Kuroda K, Nakauchi S, Nishioka T, Takano T, Zhang X, Tsuboi D, Funahashi Y, Nakano T, Yoshimoto J, Kobayashi K, Uchigashima M, Watanabe M, Miura M, Nishi A, Kobayashi K, Yamada K, Amano M, Kaibuchi K (2016) Phosphoproteomics of the dopamine pathway enables discovery of Rap1 activation as a reward signal in vivo. Neuron 89:550-565.
doi: 10.1016/j.neuron.2015.12.019.
3. Yokoi N, Fukata Y, Sekiya A, Murakami T, Kobayashi K, Fukata M (2016) Identification of PSD-95

depalmitoylating enzymes. J Neurosci 36:6431-6444. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0419-16.2016.

4. Sugaya Y, Yamazaki M, Uchigashima M, Kobayashi K, Watanabe M, Sakimura K, Kano M (2016) Crucial roles of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in the suppression of epileptic seizures. Cell Rep 16:1405-1415. doi: 10.1016/j.celrep.2016.06.083.
5. Kobayashi K, Sano H, Kato S, Kuroda K, Nakamuta S, Isa T, Nambu A, Kaibuchi K, Kobayashi K (2016) Survival of corticostriatal neurons by Rho/Rho-kinase signaling pathway. Neurosci Lett 630:45-52. doi: 10.1016/j.neulet.2016.07.020.
6. Osanai Y, Shimizu T, Mori T, Yoshimura Y, Hatanaka N, Nambu A, Kimori Y, Koyama S, Kobayashi K, Ikenaka K (2017) Rabies virus-mediated oligodendrocyte labeling reveals a single oligodendrocyte myelinates axons from distinct brain regions. Glia 65:93-105. doi: 10.1002/glia.23076.
7. Taruno A, Kashio M, Sun H, Kobayashi K, Sano H, Nambu A, Marunaka Y (2017) Adeno-associated virus-mediated gene transfer into taste cells in vivo. Chem Senses 42:69-78. doi: 10.1093/chemse/bjw101.
8. Tohyama T, Kinoshita M, Kobayashi K, Isa K, Watanabe D, Kobayashi K, Liu M, Isa T (2017) Contribution of propriospinal neurons to recovery of hand dexterity after corticospinal tract lesions in monkeys. Proc Natl Acad Sci U S A 114:604-609. doi: 10.1073/pnas.1610787114.

2) 英文総説

1. Kobayashi K, Kato S, Inoue K, Takada M, Kobayashi K (2016) Altering entry site preference of lentiviral vectors into neuronal cells by pseudotyping with envelope glycoproteins. Methods Mol Biol 1382:175-186. doi: 10.1007/978-1-4939-3271-9_12.
2. Kobayashi K, Kato S, Kobayashi K (2017) Genetic manipulation of specific neural circuits by use of a viral vector system. J Neural Transm (Vienna) *in press*. doi: 10.1007/s00702-016-1674-7.

《遺伝子改変動物作製室》

1) 英文原著論文

1. Hara H, Tagiri M, Hirabayashi M, Hochi S (2016) Multiple aster formation is frequently observed in bovine oocytes retrieved from 1-day stored ovaries. Zygote 24: 115-120. doi: 10.1017/S096719941400080X.
2. Kaneko R, Sato A, Hamada S, Yagi T, Ohsawa I, Ohtsuki M, Kobayashi E, Hirabayashi M, Murakami T (2016) Transgenic rat model of childhood-onset dermatitis by overexpressing telomerase reverse transcriptase (TERT). Transgenic Res 25: 413-424. doi:10.1007/s11248-016-9939-3.
3. Goto T, Hara H, Nakauchi H, Hochi S, Hirabayashi M (2016) Hypomorphic phenotype of Foxn1 gene-modified rats by CRISPR/Cas9 system. Transgenic Res 25: 533-544. doi:10.1007/s11248-016-9941-9.
4. Hara H, Goto T, Takizawa A, Sanbo M, Jacob HJ, Kobayashi T, Nakauchi H, Hochi S, Hirabayashi M (2016) Rat blastocysts from nuclear injection and time-lagged enucleation and their commitment to embryonic stem cells. Cellular Reprogramming 18: 108-115. doi:10.1089/cell.2015.0084.
5. Hayama T, Yamaguchi T, Kato-Itoh M, Ishii Y, Mizuno N, Umino Y, Sato H, Sanbo M, Hamanaka S, Masaki H, Hirabayashi M, Nakauchi H (2016) Practical selection methods for rat and mouse round spermatids without DNA staining by fluorescence-activated cell sorting. Mol Reprod Dev 83: 488-496. doi: 10.1002/mrd.22644.
6. Yamanaka T, Tashima K, Takahashi R, Takashima S, Goto T, Hirabayashi M, Hochi S (2016) Direct comparison of Cryotop® vitrification and Bicell® freezing onrecovery of functional rat pancreatic islets. Cryobiology 73: 376- 382. doi: 10.1016/j.cryobiol.2016.09.003.
7. Nakamura S, Uenoyama Y, Ikegami K, Dai M, Watanabe Y, Takahashi C, Hirabayashi M, Tsukamura H, Maeda KI (2016) Neonatal kisspeptin is steroid-independently required for defeminisation and peripubertal kisspeptin-induced testosterone is required for masculinisation of the brain: A behavioural study using Kiss1 KO rats. J

Neuroendocrinol 28: . doi: 10.1111/jne.12409.

8. Masaki H, Kato-Itoh M, Takahashi Y, Umino A, Sato H, Ito K, Yanagida A, Nishimura T, Yamaguchi T, Hirabayashi M, Era T, Loh KM, Wu SM, Weissman IL, Nakauchi H (2016) Inhibition of apoptosis overcomes stage-related compatibility barriers to chimera formation in mouse embryos. Cell Stem Cell 19: 587-592. doi: 10.1016/j.stem.2016.10.013.
9. Tarusawa E, Sanbo M, Okayama A, Miyashita T, Kitsukawa T, Hirayama T, Hirabayashi T, Hasegawa S, Kaneko R, Toyoda S, Kobayashi T, Kato-Itoh M, Nakauchi H, Hirabayashi M, Yagi T & Yoshimura Y (2016) Establishment of high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is regulated by the Dnmt3b DNA methyltransferase and clustered protocadherins. BMC Biology. 14: 103. doi: 10.1186/s12915-016-0326-6.
10. Hasegawa S, Kumagai M, Hagihara M, Nishimaru H, Hirano K, Kaneko R, Okayama A, Hirayama T, Sanbo M, Hirabayashi M, Watanabe M, Hirabayashi T, Yagi T (2016) Distinct and cooperative functions for the protocadherin-α, -β and -γ clusters in neuronal survival and axon targeting. Front Mol Neurosci. 9: 155. doi: 10.3389/fnmol.2016.00155.
11. Sakamoto T, Nitta T, Maruno K, Yeh Y.-S, Kuwata H, Tomita K, Goto T, Takahashi N, Kawada T (2016) Macrophage infiltration into obese adipose tissues suppresses the induction of UCP1 level in mice. Am J Physiol Endocrinol Metab 310: E676-E687. doi: 10.1152/ajpendo.00028.2015.

《行動様式解析室》

1) 英文原著論文

1. Imai H, Shoji H, Ogata M, Kagawa Y, Owada Y, Miyakawa T, Sakimura K, Terashima T, Katsuyama Y (2016) Dorsal forebrain-specific deficiency of reelin-dab1 signal causes behavioral abnormalities related to psychiatric disorders. Cereb Cortex 27(7):3485-3501.doi:10. 1093/cercor/bhv334.
2. Shoji H, Takao K, Hattori S, Miyakawa T (2016) Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. Mol Brain 9:11. doi: 10.1186/s13041-016-0191-9.
3. Matsuda I, Shoji H, Yamasaki N, Miyakawa T, Aiba A (2016) Comprehensive behavioral phenotyping of a new Semaphorin 3 F mutant mouse. Mol Brain 9:15. doi: 10.1186/s13041-016-0196-4.
4. Ohashi R, Takao K, Miyakawa T, Shiina N (2016) Comprehensive behavioral analysis of RNG105 (Caprin1) heterozygous mice: Reduced social interaction and attenuated response to novelty. Sci Rep 6:20775. doi: 10.1038/srep20775.
5. Hagihara H, Horikawa T, Nakamura HK, Umemori J, Shoji H, Kamitani Y, Miyakawa T (2016) Circadian gene circuitry predicts hyperactive behavior in a mood disorder mouse model. Cell Rep 14(12)2784-2796. doi: 10.1016/j.celrep.2016.02.067.
6. Naganuma T, Takagi S, Kanetake T, Kitamura T, Hattori S, Miyakawa T, Sassa T, Kihara A (2016) Disruption of the Sjögren-Larsson syndrome gene Aldh3a2 in mice increases keratinocyte growth and retards skin barrier recovery. J Biol Chem 291(22):11676-11688. doi: 10.1074/jbc.M116.714030.
7. Ip JY, Sone M, Nashiki C, Pan Q, Kitaichi K, Yanaka K, Abe T, Takao K, Miyakawa T, Blencowe BJ, Nakagawa S (2016) Gomafu lncRNA knockout mice exhibit mild hyperactivity with enhanced responsiveness to the psychostimulant methamphetamine. Sci Rep 6:27204. doi: 10.1038/srep27204.
8. Takao K, Shoji H, Hattori S, Miyakawa T (2016) Cohort removal induces changes in body temperature, pain sensitivity, and anxiety-like behavior. Front Behav Neurosci 10:99. doi: 10.3389/fnbeh.2016.00099.
9. Sakai K, Shoji H, Kohno T, Miyakawa T, Hattori M (2016) Mice that lack the C-terminal region of Reelin exhibit behavioral abnormalities related to neuropsychiatric disorders. Sci Rep 6:28636. doi: 10.1038/srep28636.
10. Morishita Y, Yoshioka Y, Takimura Y, Shimizu Y, Namba Y, Nojiri N, Ishizaka T, Takao K, Yamashita F, Takuma K,

Ago Y, Nagano K, Mukai Y, Kamada H, Tsunoda S, Saito S, Matsuda T, Hashida M, Miyakawa T, Higashisaka K, Tsutsumi Y (2016) Distribution of silver nanoparticles to breast milk and their biological effects on breast-fed offspring mice. ACS Nano 10(9):8180-8191. doi: 10.1021/acsnano.6b01782.

11. Okamoto K, Yamasaki M, Takao K, Soya S, Iwasaki M, Sasaki K, Magoori K, Sakakibara I, Miyakawa T, Mieda M, Watanabe M, Sakai J, Yanagisawa M, Sakurai T (2016) QRFP-deficient mice are hypophagic, lean, hypoactive and exhibit increased anxiety-like behavior. PLoS ONE 11(11):e0164716. doi: 10.1371/journal.pone.0164716.

b.　学会発表

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 118
分子神経生理研究部門 119
生体膜研究部門 120
神経細胞構築研究部門 121
神経発達・再生機構研究部門 121
細胞構造研究部門 122
細胞生理研究部門 122
心循環シグナル研究部門 124
生殖・内分泌系発達機構研究部門 126
神経シグナル研究部門 127
大脳神経回路論研究部門 128
生体恒常性発達研究部門 130
視覚情報処理研究部門 132
感覚認知情報研究部門 133
認知行動発達機構研究部門 133
生体システム研究部門 135
統合生理研究部門 137
心理生理学研究部門 138
個別研究（村上研究室） 140
個別研究（毛利研究室） 141
形態情報解析室 141
多光子顕微鏡室 142
ウイルスベクター開発室 143
遺伝子改変動物作製室 143
行動様式解析室 143
生体制御シグナル研究部門 144
動物実験センター 144

学　会　発　表

《神経機能素子研究部門》

1. 立山充博，久保義弘 (2016.3.22) Regulation of KCNK13 channel by Gi/o or Gq coupled receptors. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
2. 王 培冰，立山充博，久保義弘 (2016.3.22) Analyses of the voltage dependence and its structural determinant of the P2Y1 purinergic receptor. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
3. 陳以珊，山本友美，久保義弘 (2016.3.22) Activation mechanisms of an orphan metabotropic receptor Prrt3. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
4. Rizki Tsari Andriani, Yoshihiro Kubo (2016.3.22) Analyses of structural rearrangements of P2X2 by voltage-clamp fluorometry using fluorescent unnatural amino acid 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
5. 粂慎一郎，久保義弘 (2016.3.22) Analyses of the role of Asp727 in C-linker domain for the modulation of the slow deactivation of hERG channel. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
6. 下村拓史，久保義弘 (2016.3.23) Two voltage sensor domains of two-pore Na^+ channel 3 (TPC3) play different roles in voltage sensing. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
7. 久保義弘，北澤和寛，中條浩一 (2016.3.23) Stoichiometry and function of Kv4.2/KChIP4/DPP10 complexes. Symposium “Regulation of the function, structure and trafficking of ion channel complexes by accessary subunits” 第 93 回日本生理学会大会（札幌）
8. Yoshihiro Kubo (2016.3.26) Dynamic aspects of the structure and function of membrane proteins (Special Lecture) The 31st Joint Annual Conference of Biomedical Science (Taipei, Taiwan)
9. Yoshihiro Kubo (2016.4.15) Stoichiometry and function of Kv4.2/KChIP4/DPP10 complexes. The International Elite Forum for Cardiovascular Pesearch (Luzhou, China)
10. 塚本寿夫，久保義弘，David Farrens，小柳光正，寺北明久，古谷祐詞 (2016.6.24) 哺乳類における「非視覚」の光受容機能を支えるメラノプシンの分子基盤 第 43 回 生体分子科学討論会（名古屋）
11. Yoshihiro Kubo, Batu Keceli, Rizki Tsari Andriani (2016.7.22) Structural rearrangements of the ATP receptor channel P2X2 associated with voltage and ATP-dependent gating of the pore. Symposium “Brain’s spark: Biophysics of neurotransmitter receptors and channels” 第 39 回日本神経科学大会（横浜）
12. Yoshihiro Kubo (2016.9.28) Regulation of the function and stoichiometry of Kv4.2/KChIP4/DPP10 ion channel complexes. Symposium “Dynamic aspects of structure, function, regulation and physiological relevance of ion channels” International Conference of Physiological Sciences 2016 (Beijing. China)
13. Hisao Tsukamoto, Yoshihiro Kubo, I-Shan Chen, David L. Farrens, Mitsumasa Koyanagi, Akihisa Terakita, Yuji Furutani (2016.10.5) Spectral and biochemical characterization of mammalian melanopsins (Opn4s) and invertebrate Opn3 homologs. The 17th International Conference on Retinal Proteins (Potsdam, Germany)
14. 下村拓史，久保義弘 (2016.11.4) Two-pore Na^+ channel 3 (TPC3)の 2 つの S4 ヘリックス上の正電荷は，電位依存性に異なる貢献をする　第 63 回中部日本生理学会（岡崎）
15. 立山充博，王培冰，久保義弘 (2016.11.4) 代謝型プリン受容体 P2Y1R の膜電位依存性　第 63 回中部日本生理学会（岡崎）
16. 粂慎一郎，久保義弘 (2016.11.5) hERG チャネルの遅い脱活性化を制御する C 末端細胞内ドメイン間の相互作用様式とそのストイキオメトリーの解析 第 63 回中部日本生理学会（岡崎）
17. Oda M, Ogino H, Kubo Y, Saitoh O (2016.11.17) Molecular identification of TRPA1 from axolotl. 第 87 回日本動物学会（沖縄）
18. Oda M, Ninomiya K, Kubo Y, Saitoh O (2016.11.17) Sensitivities of Takifugu TRPA1 to chemical and thermal

stimuli analyzed in heterologous expression systems. 第87回日本動物学会（沖縄）

《分子神経生理研究部門》

1. 國澤和生（2016.2.1）Analysis of neuronal responses against disruption of neuro-glial interaction and its effect on brain functions. 第21回グリアクラブ（小樽）
2. 菊地原沙織 (2016.2.1)Bergmann glia are essential for synapse pruning in the cerebellum. 第21回グリアクラブ（小樽）
3. 吉村武（2016.2.1）GlcNAc6S-1regulates sulfation of N-glycans and myelination in the peripheral nervous system. 第21回グリアクラブ（小樽）
4. 長内康幸（2016.2.13）Oligodendrocytes myelinate axons by sensing neuronal subtypes and/or sensory inputs with individual variance in selectivity. 第8回NAGOYAグローバルリトリート（大府）
5. 橋本弘和（2016.3.18）Notochord-derived sonic hedgehog is not sufficient for the oligo d endrocyte precursor cell generation in the embryonic mouse spinal cord. 第9回神経発生討論会（東京）
6. 池中一裕（2016.5.19）Oligodendrocyte-neuron interaction in physiological and pathological statea. 第57回日本神経学会学術大会（神戸）
7. 大野伸彦（2016.6.13）2型糖尿病性近位腎尿細管障害における脂質代謝異常の顕微鏡解析　公益社団法人日本顕微鏡学会第72回学術講演会（仙台）
8. 池中一裕（2016.7.14）グリア研究の変遷と若手グリア研究者へのメッセージ 第3回グリアアセンブリ若手の会（山形）
9. 吉村武（2016.7.15）GlcNAc6ST-1 regulates sulfation of N-glycans and myelination in the peripheral nervous system. 第3回グリアアセンブ夏のワークショップ（山形）
10. 大野伸彦（2016.7.21）神経線維の極性-その形成と維持，そして破綻-　第39回日本神経科学会（横浜）
11. 大野伸彦（2016.7.23）有髄神経におけるミトコンドリア恒常性の維持機構　第2回日本ミエリン研究（横浜）
12. 清水健史（2016.8.30）Microglia-induced activation of non-canonical Wnt signaling aggravates neurodegeneration in demyelinating disorders. 14th Meeting of the Asian-Pacific Society for NEUROCHEMISTRY (クアラルンプール)
13. 國澤和生（2016.8.30）Analysis of neuronal responses against disruption of paranodal junction. 14th Meeting of the Asian-Pacific Society for NEUROCHEMISTRY (クアラルンプール)
14. 池中一裕（2016.9.9）脳白質異常と神経疾患　第59回日本神経化学会（福岡）
15. 大野伸彦（2016.9.8）髄鞘による軸索のオルガネラ動態制御とその破綻　第59回日本神経化学会（福岡）
16. 清水健史（2016.9.8）The role of mechanosensors in oligodendrocyte morphogenesis and maturation. 第59回日本神経化学会　(福岡)
17. 吉村武（2016.9.8）Sulfated N-glycans modulate myelination in the peripheral nervous system. 第59回日本神経化学会　(福岡)
18. 長内康幸（2016.9.9）Visualization of oligodendrocyte-axon interaction with a combinational injection of attenuated rabies virus and adeno-associated virus. 第59回日本神経化学会　(福岡)
19. 國澤和生（2016.9.9）Analysis of neuronal responses against disruption of paranodal junction. 第59回日本神経化学会　(福岡)
20. 半田麻衣（2016.9.24）6-sialyl-LewisC on N-glycan may be involved in microglial phagocytosis of neurons. 第6回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）（ポスター）
21. 國澤和生（2016.9.24）Analysis of neuronal responses against disruption of paranodal junction. 第6回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）（ポスター）
22. 大野伸彦（2016.11.4）オルガネラ動態の生理機能に迫る最先端3次元微細構造解析法。第63回中部日本生理学会（岡崎）
23. 菊地原沙織（2016.11.4）小脳登上線維-プルキンエ細胞間シナプスの精緻化へのグリア細胞の関与。第63回中部日本生理学会（岡崎）
24. 李佳益（2016.11.4）Exploring the factors causing remyelination arrest through studying Cystatin F gene

expression regulatory mechanism.　第 63 回中部日本生理学会（岡崎）

25. 大野伸彦（2016.11.19）SEM による生物組織の 3 次元超微形態解析の活用法と落とし穴。日本顕微鏡学会第 59 回シンポジウム（東京）
26. 清水健史（2016.12.3）Role of mechanical factors in oligodendrocyte morphogenesis and maturation.　第 21 回グリア研究会（大阪）
27. 池中一裕（2016.12.19）グリアアセンブリによる脳機能発現の制御と病態。次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム 2016　(東京)

《生体膜研究部門》

1. 横井紀彦, 関谷敦志, 深田優子, 深田正紀　(2016.2.12) Stoichiometric analysis of protein palmitoylation in the rat brain. 第 7 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府）
2. 深田優子, 横井紀彦, 関谷敦志, 小林憲太, 深田正紀（2016.3.1）PSD-95 パルミトイル化サイクルを担う酵素群の発見と機能解析. 第 5 回新潟脳研-生理研合同シンポジウム（岡崎）
3. 深田正紀, 横井紀彦, 関谷敦志, 小林憲太, 深田優子（2016.3.10）PSD-95 パルミトイル化サイクルを担う酵素群の発見と機能解析. 自然科学研究機構プロジェクト「自然科学研究における国際的学術拠点の形成～脳神経情報の階層的研究, 機能生命科学における揺らぎと決定～」（岡崎）
4. Norihiko Yokoi, Yuko Fukata, Daisuke Kase, Taisuke Miyazaki, Martine Jaegle, Keiji Imoto, Dies, Meijer, Masahiko Watanabe, Masaki Fukata（2016.3.10）Molecular Mechanisms of a familial epilepsy caused by LGI1 mutations. 第 89 回日本薬理学会年会 シンポジウム（横浜）招待講演
5. Yuko Fukata, Norihiko Yokoi, Atsushi Sekiya, Tatsuro Murakami, Kenta Kobayashi, Masaki Fukata（2016.7.3）PSD organization regulated by PSD-95 palmitoylation machinery. 10th Forum of Neuroscience（FENS）（Copenhagen, Denmark）
6. Masaki Fukata, Norihiko Yokoi, Atsushi Sekiya, Tatsuro Murakami, Kenta Kobayashi, Yuko Fukata　(2016.7.5) Postsynaptic nanodomains regulated by local palmitoylation machinery. 10th Forum of Neuroscience（FENS）（Copenhagen, Denmark）　招待講演
7. Masaki Fukata（2016.7.8）Molecular mechanisms of PSD95 (de)palmitoylation. Medizinische Hochschule Hannover,（Hannover, Germany）招待講演
8. Masaki Fukata（2016.7.11）Postsynaptic nanodomains regulated by local palmitoylation machinery. Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen（DZNE）（Magdeburg, Germany）　招待講演
9. Yuko Fukata　(2016.7.11) Genetic and acquired brain disorders due to dysfunction of an epilepsy-related LGI1. Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen（DZNE）（Magdeburg, Germany）招待講演
10. Masaki Fukata（2016.9.9）The LGI1-ADAM22 protein complex in synaptic transmission and disorders. Brain protein aging and dementia control: International workshop 2016（Nagoya, Japan）招待講演
11. Masaki Fukata（2016.10.7）Regulators of glutamate receptors and epilepsy. 第 50 回日本てんかん学会学術集会（静岡）招待講演
12. Masaki Fukata（2016.10.26）Regulatory mechanisms for AMPA receptors through PSD-95. The 47th NIPS International Symposium“Decoding Synapses”（岡崎）主催
13. Yuko Fukata, Norihiko Yokoi, Atsushi Sekiya, Tatsuro Murakami, Kenta Kobayashi, Masaki Fukata（2016.10.27）Postsynaptic nanodomains organized by local palmitoylation machinery. The 47th NIPS International Symposium “Decoding Synapses”（岡崎）
14. Norihiko Yokoi, Yuko Fukata, Daisuke Kase, Taisuke Miyazaki, Martine Jaegle, Keiji Imoto, Dies, Meijer, Masahiko Watanabe, Masaki Fukata（2016.10.27）Molecular pathogenic mechanisms of epilepsy-causative LGI1 mutations. The 47th NIPS International Symposium “Decoding Synapses”（岡崎）

《神経細胞構築研究部門》

1. 瀬藤光利（2016.12.11）最近のマスイメージングの進歩．第 37 回日本トリプトファン研究会（東京）
2. 瀬藤光利（2016.9.16）病態解析に向けたリポクオリティ研究の新展開. 第 41 回日本医用マススペクトル学会（名古屋）
3. 瀬藤光利(2016.6.9) Imaging mass spectrometry of lipids for spinal cord neuropathology．第 58 回日本脂質生化学会（秋田）
4. 瀬藤光利（2016.3.24）マスイメージングが明らかにする脂質の分布とその意義. 日本化学会 96 春季年会（京田辺）
5. 瀬藤光利（2016.2.27）リポクオリティの可視化．第 36 回白金シンポジウム（東京）
6. 瀬藤光利（2016.2.12）Development and application of imaging mass spectrometry．第 8 回 NAGOYA グローバルリトリート（名古屋）

《神経発達・再生機構研究部門》

1. Ogino T, Sawada M, Takase H, Nakai C, Herranz-Perez V, Cebrian-Silla A, Kaneko N, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K（2017.3.10-11）Emergence of multiciliated ependymal cells in the neurogenic niche of the aged zebrafish brain. 第 10 回神経発生討論会（宮城）
2. 宮本拓哉，山本誠也，金子奈穂子，澤本和延（2017. 3.7-9）脳傷害部に移動する新生ニューロン・オリゴデンドロサイト前駆細胞の挙動の解析. 第 16 回日本再生医療学会（宮城）
3. 澤本和延（2017.1.8-13）脳に内在する再生メカニズムと再生誘導技術への応用．第 12 回 Chiba Neuroresearch Meeting（千葉）
4. 澤本和延（2017.1.8-13）Migration of New Neurons for Maintenance and Repair of Adult Mammalian Brain. Keystone Symposia 2017（California, USA）
5. 澤本和延（2016.12.1-4）Neuronal migration for maintenance and repair of adult brain．サント・トーマス大学国際シンポジウム（マニラ，フィリピン）
6. 澤本和延（2016.11.29-30）基礎研究に立脚した神経系再生医療への展開. 第 39 回日本分子生物学会（横浜）
7. 澤本和延（2016.11.17）脳に内在する再生機構の解明と操作技術の開発．生体ボリュームイメージング研究部会＆生理研究会同ワークショップ（岡崎）
8. 澤本和延（2016. 10.1）iPS 細胞と神経幹細胞/神経細胞の再生．中外製薬講演会（名古屋）
9. 松本真実，澤田雅人，金子奈穂子，熊本奈都子，鵜川眞也，大野伸彦，澤本和延（2016.9.8-10）成体大脳皮質傷害脳における新生ニューロンの移動形態と足場の解析．第 38 回日本生物学的精神医学会・第 59 回日本神経化学会大会 合同年会（福岡）
10. 澤田雅人，神谷幸余，稲田浩之，田口和己，岡田淳志，郡健二郎，高坂新一，鍋倉淳一，澤本和延（2016. 9.8-10）Phagocytosis by resting microglia promotes neuronal turnover in the adult olfactory bulb. 第 38 回日本生物学的精神医学会・第 59 回日本神経化学会大会 合同年会（福岡）
11. 金子奈穂子,澤本和延（2016.9.8-10）アストロサイトとの相互作用調節による新生ニューロンの移動・機能回復の促進．第 38 回日本生物学的精神医学会・第 59 回日本神経化学会大会 合同年会（福岡）
12. 澤本和延（2016.9.8-10）Migration of new neurons for maintenance and repair of adult brain. 第 38 回日本生物学的精神医学会・第 59 回日本神経化学会大会 合同年会（福岡）
13. Ogino T, Sawada M, Takase H, Nakai C, Herranz-Perez V, Cebrian-Silla A, Kaneko N, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K（2016.8.27-30）Emergence of multiciliated ependymal cells in the neurogenic niche of the aged zebrafish brain. 14th meeting of Asian-Pacific Society for Neurochemistry（Kuala Lumpur, Malaysia）
14. Sawada M, Huang A, Hikita T, Uemura A, Sawamoto K（2016.7.20-22）A novel protrusion in new neurons regulating the migratory potential in the postnatal brain.

第 39 回日本神経科学大会（横浜）

15. Sawada M, Sawamoto K（2016.7.8-9）Mechanisms for migration and maturation of new neurons in the adult brain. The 8th Symposium of Korean Society for Developmental Neurobiologists（Incheon, South Korea）
16. 澤本和延（2016.7.8）脳梗塞における内在性神経幹細胞の活性化. 第 2 回　Stroke Treatment and Research meeting in Tokyo（東京）
17. 澤本和延（2016.6.18）脳に内在する再生機構とその操作技術. 第２回 Neuroscience-NCU（名古屋）
18. 澤本和延（2016.5.18-19）Migration and maturation of new neurons in the normal and injured brain.　第５７回日本神経学会学術大会（神戸）
19. 澤本和延（2016.4.22）脳に内在するニューロン再生機構とその操作技術：工学的アプローチの可能性. 第１２１回医工学フォーラム（京都）

《細胞構造研究部門》

1. Furuse M. (2016.9.10) Tricellular tight junctions and their associated proteins. International conference "Tight junctions and their proteins" (Berlin, Germany)
2. Izumi Y. (2016.9.10) Identifications and characterizations of novel smooth septate junction proteins in Drosophila. International conference "Tight junctions and their proteins" (Berlin, Germany)
3. Otani T, Tokuda S, Watanabe M, Furuse M. (2016.9.10) ZO-1 and ZO-2 are required for epithelial polarity in MDCK II cells.　International conference "Tight junctions and their proteins" (Berlin, Germany)
4. 泉 裕士（2016.6.16）ショウジョウバエ内胚葉上皮のセプテートジャンクションの形成機構.　第 68 回細胞生物学会大会 シンポジウム「セルシャンクションを介する細胞と場の協調 」（京都）
5. 大谷 哲久，徳田 深作，渡邊 美香，古瀬 幹夫（2016.6.17）上皮極性における密着結合の役割. 第 68 回日本細胞生物学会大会（京都）
6. Tokuda S, Furuse M. (2016.6.17) Hydrostatic pressure gradient induces stratification of simple epithelial cells. 第 68 回日本細胞生物学会大会（京都）
7. 大谷 哲久，徳田 深作，渡邊 美香，古瀬 幹夫（2016.9.24）上皮極性における密着結合の役割. 第 6 回生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム（名古屋）
8. 菅原太一 (2016.9.24) Molecular analysis of tricellular tight junction constituents using genome editing□　第 6 回 生理学研究所・名古屋大学医学系研究科 合同シンポジウム (名古屋)
9. 泉 裕士，古瀬幹夫 (2016.9.24)　ショウジョウバエ腸管上皮セプテートジャンクション形成の分子基盤. 第 6 回生理学研究所･名古屋大学医学系研究科 合同シンポジウム（名古屋）
10. Nagaoka T, Kishi M (2016.2.12) Role of planar cell polarity protein Vangl2 in synapse formation. 第 8 回 NAGOYA グローバルリトリート (名古屋)
11. Nagaoka T, Kishi M (2016.10.27) Roles of planar cell polarity protein Vangl2 in synapse formation. The 47th NIPS International Symposium "Decoding Synapses"（岡崎）

《細胞生理研究部門》

1. Derouiche Sandra（2016.2.12）Functional interaction between TRPV4 and anoctamin 1 in salivary and lacrimal glands.　第 8 回名古屋グローバルリトリート（大府）
2. 齋藤茂（2016.2.26）脊椎動物における温度感知機構の進化. 京都大学生態学研究センターセミナー（大津）
3. 内田邦敏（2016.3.22）褐色脂肪組織における温度感受性TRPチャネルの生理的役割. 第93回日本生理学会大会（札幌）
4. 橘高裕貴（2016.3.22）Transient receptor potential vanilloid 4 チャネルの新規阻害剤の同定および機能解析. 第 93 回日本生理学会大会（札幌）

5. Gupta Rupali（2016.3.22）Identification of a single amino acid residue involved in TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species specific differences. 第93回日本生理学会大会（札幌）
6. Kurganov Erkin（2016.3.22）Extracellular Ca^{2+} is required in the heat-evoked activation of green anole TRPA1. 第93回日本生理学会大会（札幌）
7. 山野井遊（2016.3.23）外用剤に含まれる2種の成分によるTRPV1とTRPA1の活性化. 第93回日本生理学会大会（札幌）
8. 富永真琴（2016.3.24）温度感受性の生理機能. 第93回日本生理学会大会（札幌）
9. 高山靖規（2016.3.24）ANO1 阻害剤の検討とそのTRPV1関連疼痛に対する効果. 第93回日本生理学会大会（札幌）
10. Derouiche Sandra （2016.3.24）Functional interaction between TRPV4 and anoctamin 1 in salivary and lacrimal glands. 第93回日本生理学会大会（札幌）
11. Sun Wuping（2016.3.24）Lack of TRPV2 impaired BATthermogenesis in mice. 第93回日本生理学会大会（札幌）
12. 富永真琴（2016.3.27）温度感受性TRPチャネルを標的とした温度療法の可能性. 日本薬学会第136回年会（横浜）
13. 富永真琴（2016.3.28）TRPチャンネルによる分泌現象の制御. 第121回日本解剖学会総会全国学術集会（福島）
14. Kurganov Erkin（2016.4.8）Extracellular Ca^{2+} is required in the heat-evoked activation of green anole TRPA1. Advances & Breakthroughs in Calcium Signaling（Honolulu, USA）
15. Suzuki Yoshiro（2016.4.8）Involvement of TRPM7 in the intercellular junction formation on mouse urothelium. Advances & Breakthroughs in Calcium Signaling（Honolulu, USA）
16. Derouiche Sandra（2016.4.8）Functional interaction between TRPV4 and anoctamin 1 in salivary and lacrimal glands. Advances & Breakthroughs in Calcium Signaling （Honolulu, USA）
17. Tominaga Makoto（2016.5.25）Functional interaction between TRP channels and anoctamin1. 6th Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channel World Congress（Isparta, Turkey）
18. Tominaga Makoto（2016.6.4）Involvement of the functional interaction between TRP channels and anoctamin1 in the pungent sensation. ISOT Satellite Symposium（東京）
19. Takayama Yasunori（2016.6.6）TRPV1-ANO1 interaction enhances HOT taste? 17th International Symposium on Olfaction and Taste(ISOT2016)（横浜）
20. Sun Wuping（2016.6.7）Absence of TRPV2 impaired BAT thermogenesis in mice. 17th International Symposium on Olfaction and Taste(ISOT2016)（横浜）
21. 富永真琴（2016.6.8）温度生物学と温度感受性 TRPチャネル. 第2回山梨医学フォーラム（中央）
22. 富永真琴（2016.6.15）温度感受性TRPチャネルの構造と生理機能. 第68回日本細胞生物学会大会（京都）
23. 高山靖規（2016.6.25）DRG ニューロンにおけるTRPV1-ANO1相互作用とメントールによるANO1阻害効果. 第38回日本疼痛学会（札幌）
24. Gupta Rupali（2016.6.25）種間多様性を利用したHC-030031 による TRPA1 の抑制機構の解明. 第38回日本疼痛学会（札幌）
25. Saito Shigeru（2016.7.5）Evolutionary trajectory of a heat sensor TRPV1 in clawed frogs inferred from multispecies comparison and ancestral protein reconstruction. Society for Molecular Biology and Evolution Conference 2016（Gold Coast, Australia）
26. 富永真琴（2016.7.6）温度感受性 TRP チャネルを介した温度感知メカニズム. 第20回睡眠科学研究講座（東京）
27. Tominaga Makoto（2016.7.29）Functional interaction between TRPV4 and anoctamin1 causes water efflux in choroid plexus epithelial cells. Physiology2016（Dublin, Ireland）
28. Takayama Yasunori（2016.7.29）Interaction of transient receptor potential vanilloid 1 and anoctamin 1 in primary sensory neurons. Physiology2016（Dublin, Ireland）
29. 富永真琴（2016.8.6）温度感受性 TRP チャネルと亜鉛による制御. 第13回日本亜鉛栄養治療研究会（大阪）
30. 齋藤茂（2016.8.26）祖先配列の再構築によるツメガエル高温センサーの機能進化過程の推定. 日本進化学会第18回大会（東京）

31. Tominaga Makoto（2016.9.9）Pungent sensation through TRP channels in the oral cavity.　27th Annual Meeting of the European Chemoreception Research Organization（ECRO2016）（Athens, Greece）
32. 富永真琴（2016.9.14）口の中で辛味と温度を感じるメカニズム．第 24 回「脳の世紀」シンポジウム（東京）
33. 富永真琴（2016.9.25）温度感受性 TRP チャネルによる温度受容の生理学的意義．第 89 回日本生化学会大会（仙台）
34. Tominaga Makoto（2016.9.26）Basic Mechanisms / Neurobiology of Acute and Chronic Pain. International Association for the Study of Pain(IASP2016)（横浜）
35. Takayama Yasunori（2016.9.29）Interaction of TRPV1 and ANO1 in DRG neurons. International Association for the Study of Pain(IASP2016)（横浜）
36. Gupta Rupali（2016.9.30）Structural basis for TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species-specific differences.　Regulation of Cell Functions by Transient Receptor Potential Channels（Herrsching, Germany）
37. 富永真琴（2016.10.1）温度感受性 TRP チャネルの構造と機能．日本脳外科学会第 75 回学術総会（福岡）
38. 橘高裕貴（2016.10.8）The molecular mechanism of itch and the involvement of TRP channels. 26th International Symposium of Itch（Tokyo)
39. Kurganov Erkin（2016.11.5）Extracellular Ca^{2+} binding to specific amino acid is required for the heat-evoked activation of TRPA1．第 63 回中部生理学会（岡崎）
40. Kittaka Hiroki（2016.11.13）Identification of the molecular target of crotamiton, an anti-itch agent. Neuroscience2016 (San Diego, USA）
41. 富永真琴（2016.11.17）温度感受性 TRP チャネルの生理機能と創薬標的としての意義．第 38 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム（名古屋）
42. Santo Shigeru（2016.11.18）Evolutionary changes in thermoTRP channels contributed to species diversity in thermal nociception in vertebrates.　The 22nd International Congress of Zoology（Okinawa, Japan）
43. 富永真琴（2016.11.20）TRP チャネルを介した痒み・痛み刺激感知機構．　第 68 回日本皮膚科学会西部支部学術大会（米子）
44. Tominaga Makoto（2016.12.4）Structural basis for inhibition of wasabi receptor TRPA1 by HC-030031. The 15th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception（福岡）
45. 富永真琴（2016.12.17）温度感知の分子メカニズム．次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム 2016（東京）

《心循環シグナル研究部門》

1. 西田基宏（2016 年 3 月 10 日）Increase in cardiac risk via electrophile-medaited activation of dynamin-related protein 1．第 89 回日本薬理学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
2. 島内司，石川達也，西田基宏（2016 年 3 月 11 日）Eco-Pharma of approved drugs focused on inhibition of mitochondrial fission．第 89 回日本薬理学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
3. Takuro Numaga-Tomita, James Putney, Yasuo Mori, Motohiro Nishida（2016 年 3 月 23 日）TRPC3 amplifies B cell receptor-induced ERK signaling via protein kinase D-dependent Rap1 activation.　第 93 回日本生理学会年会（北海道，札幌）
4. 西田基宏（2016 年 3 月 27 日）運動療法を模倣する循環器疾患治療薬の開発．第 136 回日本薬学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
5. 西田基宏（2016 年 3 月 29 日）活性イオウによる生体レドックス恒常性制御基盤の構築．第 136 回日本薬学会年会（神奈川県，パシフィコ横浜）
6. 冨田拓郎（2016 年 3 月 2 日）運動を模倣した創薬．新潟脳研シンポ（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
7. Takuro Numaga-Tomita, Naoyuki Kitajima, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida（2016 年 5 月 22 日）ROS-generating TRPC channels in cardiac remodeling. 第 9 回国際 NO 学会，第 16 回日本 NO 学会　（宮城，仙台国際センター）
8. Akiyuki Nishimura, Tomoya Ito, Takuro Numaga-

Tomita, Motohiro Nishida (2016 年 5 月 22 日) Redox-dependent Regulation of H-Ras palmitoylation. 第 9 回国際 NO 学会　第 16 回日本 NO 学会（宮城県，仙台国際センター）

9. Tomoya Ito, Akiyuki Nishimura, Takuro Tomita and Motohiro Nishida（2016 年 5 月 22 日）Suppression of adriamycin-induced cardiotoxicity by isothiocyanate. 第 9 回国際 NO 学会　第 16 回日本 NO 学会（宮城県，仙台国際センター）
10. Tsukasa Shimauchi, Takuro Numaga-Tomita, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida (2016 年 5 月 22 日) Inhibition of TRPC6 enhances endothelium function and improves peripheral arterial disease. 第 9 回国際 NO 学会　第 16 回日本 NO 学会（宮城県，仙台国際センター）
11. Sayaka Oda, Akiyuki Nishimura, Takuro Numaga-Tomita, Motohiro Nishidaa (2016 年 5 月 22 日) S-nitrosylation of NF-κB underlies down-regulation of angiotensin type 1 receptors induced by ATP in cardiac fibroblasts 第 9 回国際 NO 学会　第 16 回日本 NO 学会（宮城県，仙台国際センター）
12. Kakeru Shimoda, Ryosuke Matsukane, Tomoya Ito, Akiyuki Nishimura, Takuro Numaga-Tomita, Motohiro Nishida（2016 年 5 月 22 日）TRPC3-dependent ROS negatively regulates hypoxic stress-induced adaptive hypertrophy of rat cardiomyocytes.　第 9 回国際 NO 学会 第 16 回日本 NO 学会（宮城県，仙台国際センター）
13. 島内司，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏 (2016 年 6 月 2 日) 末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割. 第 11 回 TRP 研究会（愛知県，岡崎カンファレンスセンター）
14. 冨田拓郎，北島直幸，西村明幸，森泰生，西田基宏（2016 年 6 月 3 日）シグナル複合体プラットフォームとしての TRPC3 の役割. TRP チャネル研究会（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
15. Takuro Numaga-Tomita, Naoyuki Kitajima, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida（2016 年 7 月 11 日）TRPC3 underlies ROS-mediated cardiac remodeling International and Interdiciplinary Symposium 2016（東京都，東京医科歯科大学）
16. Akiyuki Nishimura, Caloline Sunggip, Takuro Numaga-Tomita, Motohiro Nishida (2016 年 7 月 11 日) Developmentally upregulated P2Y6 receptor promotes angiotensin II-induced hypertensive signaling. International and Interdisciplinary Symposium 2016（東京都，東京医科歯科大学）
17. Tsukasa Shimauchi, Takuro Numaga-Tomita, Motohiro Nishida (2016 年 7 月 22 日) Role of lipid-activated TRPC channels in peripheral arterial disease, The 9th KOREA-JAPAN conference on Cellular Signaling for Young Scientists（Seoul, Yonsei University）
18. 冨田拓郎，北島直幸，西村明幸，西田基宏（2016 年 7 月 28 日）細胞膜 TRPC3-NOX2 相互作用による心臓の硬さ制御．オルガネラ研究会（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
19. 西村明幸，冨田拓郎，西田基宏（2016 年 7 月 28 日）活性イオウによる H-Ras パルミトイル化の調節機構 オルガネラ研究会（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
20. 島内司，西村明幸，冨田拓郎，西田基宏　(2016 年 7 月 28 日)　Drp1－細胞骨格の相互作用による心筋ミトコンドリア品質管理. オルガネラ研究会（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
21. 冨田拓郎，松金良祐，北島直幸，西村明幸，西田基宏（2016 年 8 月 30 日）TRPC チャネルによる心筋細胞の低酸素適応　第 69 回日本酸化ストレス学会学術集会（宮城県，仙台国際センター）
22. 島内司，冨田拓郎，伊藤智哉，西村明幸，西田基宏 (2016 年 8 月 30 日)下肢虚血後の末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割. 第 69 回酸化ストレス学会（宮城県，仙台国際センター）
23. Takuro Numaga-Tomita, Naoyuki Kitajima, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida（2016 年 9 月 2 日）ROS-generating TRPC channels in cardiac remodeling. Molecular Cardiovascular Conference II（東京都，東京ドームホテル）
24. Akiyuki Nishimura, Caloline Sunggip, Takuro Numaga-Tomita, Motohiro Nishida (2016 年 9 月 2 日) Developmentally upregulated P2Y6 receptor promotes angiotensin II-induced hypertensive signaling. Molecular Cardiovascular Conference II（東京都，東京ドームホテル）
25. 小田　紗矢香，島内　司，冨田　拓郎，西村　明幸，西田　基宏（2016 年 9 月 24 日）運動による末梢循環機能回復における TRPC6 の役割. 第 6 回生理学研

究所・名古屋大学医学系研究科 合同シンポジウム（愛知県，名古屋大学）

26. 下田翔，西村明幸，Caroline Sunggip，冨田拓郎，西田基宏（2016 年 9 月 24 日）加齢に伴う AT1R-P2Y6R 複合体形成によるアンジオテンシン II 誘発性高血圧の制御．第 6 回名古屋大学・生理学研究所合同シンポジウム（愛知県，名古屋大学）
27. 冨田拓郎，島内司，西村明幸，西田基宏（2016 年 10 月 24 日）運動による虚血後の末梢循環回復効果における TRPC6 の役割　心血管膜輸送研究会（福岡県，九州大学）
28. 西村明幸，島内司，冨田拓郎，西田基宏（2016 年 10 月 24 日）活性イオウによる心筋ミトコンドリア品質管理の分子機構　心血管膜輸送研究会（福岡県，九州大学）
29. 島内司，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏（2016 年 10 月 24 日）ドキソルビシン心筋症における TRPC3/Nox2 の役割．心血管膜輸送研究会（福岡県，九州大学）
30. 西村明幸，Caroline Sunggip，冨田拓郎，西田基宏 (2016 年 11 月 4 日) 加齢に伴う AT1R-P2Y6R 複合体形成によるアンジオテンシン II 誘発性高血圧の制御 第 63 回中部日本生理学会（愛知県，岡崎コンファレンスセンター）
31. 下田翔，西村明幸，Caroline Sunggip，冨田拓郎，西田基宏（2016 年 10 月 24 日）プリン作動性受容体 P2Y6R の機能多様性とその病態生理学的意義．心血管膜輸送研究会（福岡県，九州大学）
32. 島内司，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏 (2016 年 11 月 19 日)ドキソルビシン心筋症における TRPC3/Nox2 複合体の役割. 第 130 回日本薬理学会近畿部会 (京都府，京都大学)
33. 小田　紗矢香，島内　司，冨田　拓郎，西村　明幸，西田　基宏（2016 年 11 月 19 日）末梢血流障害における運動を介した TRPC6 チャネルリン酸化機構の解明．第 130 回日本薬理学会近畿部会（京都府，京都大学）
34. 冨田拓郎，島内司，西村明幸，西田基宏（2016 年 12 月 2 日）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割．第 26 回日本循環薬理学会（長野県，信州大学）
35. 西村明幸，島内司，石川達也，冨田拓郎，西田基宏（2016 年 12 月 2 日）Drp1-細胞骨格の相互作用による心筋ミトコンドリアの品質管理　第 26 回日本循環薬理学会（長野県，信州大学）

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1. 箕越靖彦（2016.1.23）メトホルミンの代謝調節作用：AMPK と AMPK 非依存性調節機構に関する最近の知見．メトホルミンセミナー (福岡)
2. 佐藤達也（2016.2.12-13）Regulatotory role of AMPK in PVH-CRH neurons in social stress-induced alteration of food selection behavior．第 8 回 NAGOYA グローバルリトリート (大府)
3. 岡本士毅（2016.2.13）視床下部による食餌嗜好性制御機構の解明と肥満による影響．Diabetes Forun For Next Generation In 京滋・北陸 (京都)
4. 岡本士毅（2016.3.1-2）AMP-activated Protein Kinase in CRH Neurons in the PVH Controls Food Selection Behavior．第 5 回新潟脳研-生理研合同シンポジウム (岡崎)
5. 佐藤達也（2016.3.1-2）社会的ストレスによる食餌選択行動の変化に及ぼす室傍核 CRH ニューロンの AMPK による調節作用．第 5 回新潟脳研-生理研合同シンポジウム（岡崎）
6. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2016.3.11-12）社会的ストレスによる食餌選択行動の変化と室傍核 CRH ニューロンの AMPK による調節作用．第 30 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 (さいたま)
7. 三木隆司，李恩瑛，櫻井健一，箕越靖彦（2016.3.22-24）胆汁酸代謝制御による糖尿病治療．第 93 回日本生理学会大会 (札幌)
8. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2016.3.22-24）ストレスによる食餌選択行動の変化と室傍核 CRH ニューロンの AMPK による調節作用．第 93 回日本生理学会大会 (札幌)
9. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2016.5.13-14）社会的ストレスによる食餌選択行動の変化に及ぼす視床下部室傍核 CRH ニューロンの AMPK による調節作

用．第 12 回 GPCR 研究会 (東京)

10. Minokoshi Y, Sato T, Okamoto S（2016.6.10-15）Regulatotory role of AMPK in CRH neurons in the PVH in social stress-induced alteration of food selection behavior. American Diabetes Association's 76th Scientific Sessions (New Orleans, USA)
11. 岡本士毅，佐藤達也，箕越靖彦（2016.6.17.18）視床下部室傍核による食物選択行動の調節とストレス応答．食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会 (岡崎)
12. 箕越靖彦（2016.7.1）AMPK によるエネルギー代謝調節機構．第 6 回糖尿病トランスレーショナルリサーチ研究会 (弘前)
13. 岡本士毅（2016.7.1）視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調整機構．第 1 回愛知糖尿病・内分泌研究会 (名古屋)
14. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2016.8.20）社会的ストレスによる食餌選択行動の変化に及ぼす室傍核 CRH ニューロンの AMPK による調節作用．第 21 回アディポサイエンス・シンポジウム (豊中)
15. 横田繁史（2016.9.10-11）ストレプトゾトシン糖尿病の代謝異常に及ぼす骨格筋 AMPK の調節作用．臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み (岡崎)
16. Farehan Asgar，岡本士毅，箕越靖彦（2016.9.24）The role of AMP-kinase during myogenesis in C2C12 cells. 第 6 回 生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム (名古屋)
17. Minokoshi Y（2016.9.26-27）Hypothalamic control of dietary carbohydrate and fat preference．Global Summit on Obesity and Diet Management (Los Angeles, USA)
18. 岡本士毅（2016.9.28）消化の不思議．中学生のためのサイエンスセミナー (岡崎)
19. 箕越靖彦（2016.10.7-8）肥満基礎研究における今後の課題．第 37 回日本肥満学会 (東京)
20. 岡本士毅，佐藤達也，箕越靖彦（2016.10.7-8）視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調整とストレス応答．第 37 回日本肥満学会 (東京)
21. 横田繁史，箕越靖彦（2016.10.7-8）ストレプトゾトシン誘発型糖尿病の代謝異常に及ぼすマイオカインの調節作用．第 37 回日本肥満学会 (東京)
22. 岡本士毅，佐藤達也，箕越靖彦（2016.10.7-8）室傍核 CRH ニューロンは AMPK を介して社会的ストレスによる食餌選択行動の変化を制御する．第 37 回日本肥満学会 (東京)
23. 岡本士毅，佐藤達也，箕越靖彦（2016.10.14-15）視床下部室傍核 AMPK による食物選択行動の調節機構．第 43 回日本神経内分泌学会学術集会 (浜松)
24. 佐藤達也，岡本士毅，箕越靖彦（2016.10.14-15）視床下部室傍核の CRH ニューロンは AMPK を介して社会的ストレスによる食餌選択行動の変化を制御する．第 43 回日本神経内分泌学会学術集会 (浜松)
25. Minokoshi Y（2016.11.29-30）Involvement of myokines in metabolic abnormalities of streptozotocin-induced diabetes．Japan Diabetes Innovation Summit（京都）
26. 岡本士毅（2016.12.6）脳と食欲と肥満．学校保健委員会（岡崎）

《神経シグナル研究部門》

1. 歌　大介，井本敬二，古江秀昌（2016.2.6）成熟ラット脊髄膠様質における TRPA1 及び TRPV1 作動薬の作用比較-電気生理学的及び形態学的解析を用いて-．第 37 回脊髄機能診断研究会（東京）
2. 秋元 望（2016.3.1）自律神経系を介した内の中枢性制御機構．第 5 回新潟脳研-生理研合同シンポ（岡崎）
3. 古江秀昌（2016.3.10）脊髄ノルアドレリンネットワーク人為的操作と鎮痛機構の解析．第 89 回日本薬理学会（横浜）
4. 山田彬博，大澤匡弘，粂　和彦，井本敬二，古江秀昌（2016.3.23）In vivo 細胞外記録およびパッチクランプ法を用いた前滞状回皮質感覚応答の解析．第 93 回日本生理学会大会（札幌）
5. 秋元　望，箱崎敦志，河谷正仁，井本敬二，古江秀昌（2016.3.23）下部尿路カプサイシン刺激に対する in vivo 脊髄後角痛覚応答．第 93 回日本生理学会大会（札幌）
6. 古江秀昌（2016.3.24）顔面領域刺激による青斑核ノルアドレナリンニューロンの賦活化と痛み伝達の調節．第 93 回日本生理学会大会（札幌）

7. 佐竹伸一郎,井本敬二（2016.7.20-22）小脳分子層介在神経の脱分極に伴う逆行性脱興奮を仲介する Cav2 チャネルサブタイプ. Neuroscience 2016.第 39 回日本神経科学大会. (横浜)
8. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2016.7.22) Differential involvement of kinase activity of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase IIα in hippocampus- and amygdala-dependent memory - Behavioral analysis of heterozygous kinase-dead knock-in mouse. 第 39 回日本神経科学大会, Neuroscience 2016（横浜）
9. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2016.9.9) Kinase activity of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase IIα and hippocampus- and amygdala-dependent memory - Dose-response relationship revealed by the kinase-dead knock-in mouse.　第 38 回日本生物学的精神医学会・第 59 回日本神経化学会大会合同年会（福岡）
10. 山肩葉子, 柳川右千夫, 井本敬二 (2016.9.24) カルモジュリンキナーゼ IIα 活性による海馬依存性記憶の特異的制御. 第 6 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（名古屋）
11. N. Akimoto, A. Hakozaki, M. Kawatani, K. Imoto, M. Kawatani, H. Furue（2016.9.29）Spinal Nociceptive Transmission from the Lower Urinary Tract. International Association for the Study of Pain (IASP)（Yokohama, Japan）
12. A.Yamada, M. Ohsawa, K. Kume, K. Imoto, H. Furue（2016.9.29）Effects of ethanol on GABAergic synaptic transmission in the rat spinal dorsal horn. International Association for the Study of Pain (IASP)（Yokohama, Japan）
13. S. Choi, S. Kim, S. Oh, H. Furue (2016.9.29) Noradrenergic inhibition of spinal hyperexcitation elicited by cutaneous cold stimuli in rats with oxaliplatin-induced allodynia: Electrophysiological and behavioral assessments. International Association for the Study of Pain (IASP)（Yokohama, Japan）
14. D. Uta, M. Yoshimura, R. Kawatsu, K. Imoto, H. Furue（2016.9.28）Electrophysiological analysis of local anesthetic actions on nociceptive synaptic transmission in the adult rat spinal cord. International Association for the Study of Pain (IASP)（Yokohama, Japan）
15. H. Furue, L. Hickey, Y. Li, A. Pickering, K. Imoto（2016.9.28）Spinal GABAergic Synaptic Responses Elicited by Optogenetic Activation of Descending Noradrenergic System. International Association for the Study of Pain (IASP)（Yokohama, Japan）
16. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2016.10.26-28) How much kinase activity of Calmodulin kinase IIα is necessary to acquire hippocampus-dependent memory? The 47th NIPS International Symposium "Decoding Synapses"（Okazaki, Japan）

《大脳神経回路論研究部門》

1. Kawaguchi Y, Kubota Y (2016.2.12) Synapses from fast-spiking GABAergic neurons are tuned to specific postsynaptic target domains. 新学術領域「大脳新皮質構築」終了公開国際シンポジウム/International Symposium"Neocortical Organization Ⅲ"（東京）
2. Hatanaka Y, Kawasaki T, Hirata T, Kawaguchi Y (2016.2.12) PlexinA2/A4 signaling is necessary for proper termination of migration for uppermost part of layers 2/3 neurons in the mouse cerebral cortex. 新学術領域「大脳新皮質構築」終了公開国際シンポジウム/International Symposium"Neocortical Organization Ⅲ"（東京）
3. 大塚岳 (2016.3.2) 皮質回路におけるオシレーション活動. 第 5 回新潟脳研－生理研合同シンポジウム（岡崎）
4. Hatanaka Y, Kawasaki T, Hirata T, Kawaguchi Y (2016.3.3) Plexin A2/A4-Semaphorin 6A signaling is involved in termination of migration for uppermost layer neurons in the mouse cerebral cortex. International Symposium on Adaptive Circuit Shift 2016 (ACS2016): Integrative neural network linking multiple brain areas for behavioral adaptation (tentative)（京都）
5. Kawaguchi Y, Morishima M (2016.3.4) Pyramidal cell diversity and inhibition styles in the frontal cortex.

International Symposium on Adaptive Circuit Shift 2016 (ACS2016): Integrative neural network linking multiple brain areas for behavioral adaptation (tentative) （京都）

6. 窪田芳之，根東覚，野村真樹，苅部冬紀，川口泰雄 (2016.3.10-11) 大脳皮質 5 層の錐体細胞を神経支配するFSバスケット細胞のシナプス支配様式. 自然科学研究機構 3 プロジェクト合同終了シンポジウム「次ステージ機能生命科学の展望」 （岡崎）
7. 森島美絵子 (2016.3.12) 前頭皮質における錐体細胞を中心とした神経回路. 宮川博義教授退職記念シンポジウム「脳神経機能学のフロンティア」（八王子）
8. 窪田芳之 (2016.3.18) 神経科学における電顕の役割. 第 5 回大脳基底核機能研究会 （岡崎）
9. 窪田芳之 (2016.3.30) ATUMtome/SEM を使った神経組織の 3 次元再構築解析. 第 121 回日本解剖学会総会・全国学術集会 （福島）
10. Kubota Y (2016.4.12) Structurally authentic model pyramidal and non-pyramidal cells. OIST workshop 2016: Digital Representation of Neuronal Morphologies and Tissue（那覇）
11. Kubota Y, Sekigawa A, Mohamed AA, Kondo S, Karube F, Tanaka Y, Kawaguchi Y (2016.6.20) An excitatory and inhibitory synapse density on various neurons in the rat frontal cortex. EMBO Dendrites 2016 meeting (Creete, Greece)
12. Kubota Y, Kawaguchi Y (2016.7.20) GABAergic inputs to spine of striatal medium spiny neuron. 第 39 回日本神経科学大会 （横浜）
13. Hatanaka Y, Kawasaki T, Kawaguchi Y, Hirata T (2016.7.20) Proper termination of migration for uppermost part of layers 2/3 neurons requires PlexinA2/A4-Semaphorin6A signaling in the mouse cerebral cortex. 第 39 回日本神経科学大会 （横浜）
14. Ueta Y, Hirai Y, Kawaguchi Y (2016.7.21) Corticocortical cell diversity in superficial layers of the rat frontal cortex. 第 39 回日本神経科学大会 （横浜）
15. Tanaka YH, Tanaka YR, Hira R, KondoM, Terada S, Kawaguchi Y, Matsuzaki M (2016.7.21) Distinct thalamocortical inputs mediate learning and execution of self-initiated movement. 第 39 回日本神経科学大会（横浜）
16. Nonomura S, Yamanaka K, Nishizawa K, Kobayashi K, Sakai Y, Kawaguchi Y, Nambu A, Isomura Y, Kimura M (2016.7.22) Activity of dopamine D2 receptor-expressing striatal neurons during decision-making task. 第 39 回日本神経科学大会 （横浜）
17. Morishima M, Kawaguchi Y (2016.7.22) Interaction between GABAergic cells and two types of target-specific pyramidal cells in layer 5 of the rat frontal cortex. 第 39 回日本神経科学大会 （横浜）
18. Kubota Y (2016.9.28) 3D Methods from serial electron micrographs. Electron microscopy course for Master of Science Experimental & Clinical Neuroscience (Regensburg, Germany)
19. Kubota Y (2016.9.29) EM applications in neuroscience I: Cortical microcircuits. Electron microscopy course for Master of Science Experimental & Clinical Neuroscience (Regensburg, Germany)
20. Kubota Y (2016.9.30) EM applications in neuroscience II: Structural plasticity of cortical synapses. Electron microscopy course for Master of Science Experimental & Clinical Neuroscience (Regensburg, Germany)
21. Kubota Y, Kawaguchi Y (2016.11.14) GABAergic/non-GABAergic synaptic inputs to striatal medium spiny neurons. 46th annual meeting of the Society for Neuroscience (San Diego, USA)
22. Kawaguchi Y (2016.12.9) Layer 5 GABAergic circuits in the frontal cortex. The 7th International Neural Microcircuit Conference - Recent advances in the analysis of cortical microcircuits - （岡崎）
23. Kubota Y (2016.12.9) The diversity of cortical inhibitory synapses. The 7th International Neural Microcircuit Conference - Recent advances in the analysis of cortical microcircuits - （岡崎）
24. Otsuka T, Kawaguchi Y (2016.12.9) Oscillatory activities in the cortical networks. The 7th International Neural Microcircuit Conference - Recent advances in the analysis of cortical microcircuits - （岡崎）
25. Morishima M, Kawaguchi Y (2016.12.9) Interaction between GABAergic cells and two types of target-specific pyramidal cells in layer 5 of the rat frontal cortex. The 7th International Neural Microcircuit Conference - Recent advances in the analysis of cortical microcircuits - （岡崎）

26. Sohn J, Okamoto S, Kataoka N, Kaneko T, Nakamura K, Hioki H (2016.12.9) Differential inputs to the perisomatic and distal-dendritic compartments of VIP-positive neurons in layer 2/3 of the mouse barrel cortex. The 7th International Neural Microcircuit Conference - Recent advances in the analysis of cortical microcircuits - （岡崎）
27. Mohamed AA, Yamaguchi N, Hatada S, Lübke J, Kawaguchi Y, Kubota Y (2016.12.9) Conserved dimensions of dendritic trees in cortical pyramidal cell. The 7th International Neural Microcircuit Conference - Recent advances in the analysis of cortical microcircuits - （岡崎）

《生体恒常性発達研究部門》

1. 鍋倉淳一 (2016.12.16), Remodeling of Neuronal Circuits in Development and Chronic Pain: Glia-Neuron Interaction, Rutgers Departmental Seminar, Rutgers (New Jersey, USA)
2. 鍋倉淳一 (2016.12.12), 生体内シナプス長期再編におけるグリアーシナプス機能連関, AMED 課題事後評価会(東京都・豊田区)
3. 鍋倉淳一 (2016.12.10), 発達・障害による神経回路再編：神経細胞-グリア連関, Advans 研究会 2016(東京都・千代田区)
4. Nakahata Y, Eto K, Watanabe M, Murakoshi H, Kuriu T, Hirata H, Ishibashi H, Nabekura J (2016.11.27), Activation-dependent rapid postsynaptic clustering of glycine receptors in mature spinal cord neurons, The 47th NIPS International Symposium “Decoding Synapses”(岡崎市)
5. 堀内　浩, 稲田浩之, 江藤　圭, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2016.11.9), イオンセンサを用いた細胞由来アセチルコリン計測系の探索, JST-CREST 合同チームミーティング(静岡)
6. 稲田浩之, 加藤剛, 鍋倉淳一 (2016.11.4), ニューロンの興奮毒性に対するミクログリアの神経保護作用, 第 63 回 中部日本生理学会(岡崎)
7. 戸田拓弥, 鍋倉淳一 (2016.11.4), 坐骨神経損傷後の運動機能回復における KCC2 発現低下の役割, 第 63 回 中部日本生理学会(岡崎)
8. 中村佳代, 鍋倉淳一 (2016.11.4), Overexpression of K^+–Cl^- cotransporter (KCC2) promotes morphological change of spines in the mouse motor cortex in vivo, 中部日本生理学会(岡崎)
9. 穐吉亮平, 和氣弘明, 加藤大輔, 鍋倉淳一 (2016. 10.27), Microglial contact with synapse enhances synaptic activity, 第 47 回生理研国際シンポジウム「Decoding Synapses」(岡崎)
10. Inada H, Kato G, Nabekura J (2016.10.27), Microglial Contact Prevents Excess Depolarization and Rescues Neurons from Excitotoxicity, The 47th NIPS International Symposium "Decoding Synapses"第 47 回 生理研国際シンポジウム(岡崎)
11. 江藤　圭,　金　善光, 鍋倉　淳一 (2016.10.13), 慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質体性感覚野神経回路再編とグリア機能, 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会(福岡県・福岡)
12. 鍋倉淳一(2016.10.11), Cortical Synapse Remodeling in Vivo; Neuron-Glia Interaction, 6th Joint CIN-NIPS Symposium, Institute for Medical Virology/Microbiology (Tuebingen, Germany)
13. 鍋倉淳一 (2016.10.3), 大脳皮質神経回路再編：ニューロンーグリア連関, 東京大学　機能生物学セミナー(東京都・文京区)
14. 戸田拓弥, 鍋倉淳一 (2016.9.24), 坐骨神経損傷後の運動機能回復における KCC2 発現低下の役割, 第 6 回 生理学研究所・名古屋大学医学系研究科 合同シンポジウム (名古屋)
15. 中村佳代, 鍋倉淳一 (2016.9.24), K^+－Cl^-共輸送体（KCC2）の過剰発現は運動学習効率とシナプスリモデリングの増加を促進する, 第 6 回　生理学研究所・名古屋大学医学系研究科　合同シンポジウム(名古屋)
16. 稲田浩之 (2016.9.6), 発達期マウスの大脳皮質 in vivo イメージングと同期活動のダイナミクス, バイオセンサ夏季合宿セミナー(熱海)
17. 鍋倉淳一 (2016.9.3), 慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編, 第 24 回日本腰痛学会(甲

府市)

18. Eto K, Ishibashi H, Nabekura J (2016.8.25), Disruption of balance between excitation and inhibition in the primary somatosensory cortex contributes to chronic pain, The 13th Japan-Korea Joint Symposium on Brain Science, and Cardiac and Smooth Muscles(佐賀)
19. Eto K, Ishibashi H, Nabekura J (2016.7.21), Attenuation of GABA inhibition due to down regulation of K-Cl cotranspoter 2 in the primary somatosensory cortex accerelate chronic pain, The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society(横浜)
20. 中村佳代, 鍋倉淳一 (2016.7.21), Overexpression of K^+–Cl^- cotransporter (KCC2) promotes morphological change of spines in the mouse motor cortex in vivo, 第39回　日本神経科学大会(横浜)
21. 穐吉亮平, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2016.7.20), Microglial regulation of synaptic activity with their direct contacts, 第39回日本神経科学大会(横浜)
22. Toda T, Wake H, Nabekura J (2016.7.20), Role of KCC2 down-regulation for recovery after sciatic nerve injury, The 93rd The 38th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan(Japan・Yokohama)
23. 鍋倉淳一 (2016.7.15), 大脳皮質の神経回路再編：Neuron-Glia Interaction, グリアアセンブリ夏のワークショップ(山形市)
24. Miyamoto A, Wake H, Murakoshi H, Eto Kei, Nabekura J (2016.7.5), Microglia involved in neural circuit formation in postnatal mice somatosensory cortex, 10th FENS Forum of Neuroscience(Copenhagen, Danmark)
25. 江藤　圭, 鍋倉淳一 (2016.6.29), 一次体性感覚野における温度センシング機構とその経験依存的可塑的変化, 第2回温度生物学領域会議(札幌)
26. 鍋倉淳一 (2016.6.5), Remodeling of cortical circuits in chronic pain model: neuron-glia interaction in vivo, Pain Mechanisms and Therapeutics Conference(Sicily, Italy)
27. Horiuchi H, Eugenin J, Dimou L, Nabekura J (2016.5.31), Calcium signal synchronization between NG2-glia and neurons during neuronal activity modulation, Japanese-German Young Glia collaborative meeting for mutual research exchange(Homburg ,Germany)
28. Horiuchi H, Wake H, Nabekura J (2016.5), The functional analysis of microglia for neuronal homeostasis, The 2nd Young glia Meeting (Germany)
29. Haruwaka K, Wake H, Nabekura J (2016.5.29), Systemic immune condition dependent modification of neural activity, The 2nd "Young Glia" meeting, Center for Integrative Physiology and Molecular Medicine (CIPMM) (Homburg ,Germany)
30. Horiuchi H, Wake H, Nabekura J (2016.5.29), The functional analysis of microglia for neural homeostasis, Japanese-German Young Glia collaborative meeting for mutual research exchange (Homburg ,Germany)
31. 鍋倉淳一・宮本愛喜子・穐吉亮平・和氣弘明 (2016.5.19), ミクログリアよる大脳皮質シナプス再編, 第57回日本神経学会学術大会(神戸市)
32. 江藤　圭 (2016.3.1), 慢性疼痛における一次体性感覚野神経回路の変容機構, 第5回　新潟脳研－生理研合同シンポジウム(岡崎)
33. Eto K, Ishibashi H, Nabekura J (2016.3.23), The role of inhibitory neurons in the primary somatosensory cortex in chronic pain, The 93rd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. (第93回日本生理学会大会)(札幌)
34. 穐吉亮平, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2016.3.1), 大脳皮質ミクログリアによるシナプス活動制御と神経局所回路への関与, 第５回新潟脳研－生理研合同シンポジウム(岡崎)
35. 穐吉亮平, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2016.3.22), Microglia modify spatial pattern of neuronal activity through the regulation of synaptic activity, 第９３回日本生理学会大会(札幌)
36. Nabekura J (2016.3.5), Remodeling of neuronal circuits in vivo: neuron--glia interaction, International Symposium on Chemosensory signals from the oral cavity to the brain (福岡)
37. Toda T, Wake H, Nabekura J (2016.3.22), Role of KCC2 downregulation for recovery after sciatic nerve injury, The 93rd The 38th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan(札幌)
38. 宮本愛喜子, 和氣弘明, 石川理子, 村越秀治, 江藤圭, 吉村由美子, 鍋倉淳一 (2016.3.10), マウス大脳皮質発達期におけるミクログリアによるシナプス形成, ゆらぎシンポジウム(岡崎)
39. 鍋倉淳一 (2016.2.14), 生体内シナプス長期再編にお

けるグリアーシナプス機能連関， AMED「脳神経回路」領域 平成 27 年度領域会議 (東京都・中央区)

40. Toda T, Wake H, Nabekura J (2016.2.12), Early KCC2 down regulation promote behavior recovery after sciatic nerve injury， 第 8 回 NAGOYA グローバルリトリート(大府市)
41. 江藤　圭 (2016.1.28), 慢性疼痛における皮質興奮ー抑制バランス破綻の役割と新たな疼痛抑制機構の創出， AMED-Crest 合同ミーティング(甲府市)
42. 穐吉亮平, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2016.1.27), 大脳皮質ミクログリアのシナプス活動修飾とその神経回路活動への関与， CREST 合同ミーティング山梨(甲州市)
43. 堀内　浩, 稲田浩之, 江藤　圭, 和氣弘明, 鍋倉淳一 (2016.1.27), イオンセンサと 2 光子イメージングの同時計測による神経伝達全過程の可視化， CREST 合同ミーティング, (甲州市)
44. Haruwaka K, Wake H, Nabekura J (2016.1.25), Microglia sense systemic immune condition to affect on the neural activity， The 12th SOKENDAI Life Science Retreat (掛川)
45. Horiuchi H, Wake H, Nabekura J (2016.1), Role of NG2 glia for intercellular mechanosignaling， The 1st Young Glia Meeting, (東京)
46. Toda T, Wake H, Nabekura J (2016.1.25), Early KCC2 down regulation promotes motor function recovery after sciatic nerve injury， 第 12 回　総合研究大学院大学生命科学リトリート, 岡崎コンファレンスセンター(岡崎)
47. Nabekura J (2016.1.14), Remodeling of Cortical Neuronal Circuits in vivo:Neuron-Microglia Interaction， The 3rd International Symposium on Glyco-Neuroscience, 淡路夢舞台国際会議場(淡路島)
48. Haruwaka K, Wake H, Nabekura J (2016.1.10), Systemic immune condition dependent modification of neural activity, The 1st "Young Glia" meeting, Keio University (東京)

《視覚情報処理研究部門》

1. Yamamoto M, Yoshimura Y (2016.2.12) Cell-type specific neural connectivity of visual cortex revealed through trans-synaptic tracing. The 8th NAGOYA Global Retreat, (Nagoya)
2. Ishikawa AW, Komatsu Y, Yoshimura Y (2016.7.20) Visual experience-dependent and independent development of visually-evoked synchronized firing in rat visual cortex. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (Yokohama)
3. Karaki T, Kim R, Bito H, Yoshimura Y (2016.7.20) Synaptic connections are preferentially formed between cortical pyramidal neurons with similar orientation preference in both layers 2/3 and 5. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (Yokohama)
4. Yoshimura Y. (2016.7.21) Experience-dependent maturation of neural circuits and functions in the secondary visual cortex of rats. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (Yokohama)
5. Nishio N, Ishikawa AW, Yoshimura Y. (2016.7.22) Experience dependent maturation of spatial frequency tunings in excitatory and inhibitory neurons in mouse primary visual cortex. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (Yokohama)
6. Kimura R, Yoshimura Y (2016.7.22) Development of a visuomotor task useful for the analysis of interactions between neuronal activities in the visual and motor cortices of behaving rats. The 39 th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (Yokohama)
7. Yoshimura Y (2016.8.8) Experience-dependent development of fine-scale networks and feature-selective synchronization in the visual cortex. International Symposium 2016 ‘Circuit Construction in the Mammalian Brain’, (Osaka)
8. 木村梨絵, 吉村由美子 (2016.9.24) 視覚弁別課題遂行中のラット視覚野における神経活動. 第 6 回生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム， (名古屋)
9. 石川理子，吉村由美子 (2016.11.4) 大脳皮質領野間結合の経験依存的な発達. 第 63 回中部生理学会, (岡崎)

10. 唐木智充，金亮，尾藤晴彦，吉村由美子 (2016.11.4) 最適方位が類似した視覚野錐体細胞における選択的な神経結合．第 63 回中部生理学会, (岡崎)
11. Tarusawa E, Sanbo M, Okayama A, Miyashita T, Kitsukawa T, Hirayama T, Hirabayashi T, Hasegawa S, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. (2016.11.16) High reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is established under the guidance of epigenetic regulation. Society of Neuroscience 2016 (San Diego, USA)

《感覚認知情報研究部門》

1. 西尾亜希子，下川丈明，小松英彦 (2016.7.20) Temporal dynamics of responses of gloss selective neurons, 第 39 回日本神経科学大会（横浜）
2. Sanada TM, Komatsu H (2016.7.22) Responses to single colors cannot predict chromatic interaction profile in macaque area V4, 第 39 回日本神経科学大会（横浜）
3. 郷田直一 (2016.8.25) 材質を知る: 質感認知の脳内機構, 第 20 回視覚科学フォーラム (吹田，大阪)
4. Komatsu H (2016.8.30) Neural processing of color in higher cortical areas, ECVP2016（バルセロナ，スペイン）
5. 郷田直一 (2016.11.20) 視覚野における多感覚的な情報の表現, 第 8 回多感覚研究会 (東京)
6. 郷田直一 (2016.12.20) 物体材質属性の視覚認知機構 : 多感覚経験の重要性, 第 31 回生体生命工学研究会 (仙台)

《認知行動発達機構研究部門》

（磯田研）

1. 郷康広（2017.01.28）マーモセットにおける精神神経疾患関連遺伝子多様性解析．第 5 回日本マーモセット研究会（東京都港区）
2. 郷康広（2017.03.12）霊長類における精神神経疾患関連遺伝子解析と認知ゲノミクスの展望．共同利用研究会「霊長類脳科学の新しい展開とゲノム科学との融合」（愛知県犬山市）
3. Isoda M（2016.07.18）Phenotype-driven cognitive genomics: a case of an autistic monkey．PRI Mini-Symposium Recent advances in the development of nonhuman primate models for brain（愛知県犬山市）
4. 郷康広，辰本将司，豊田敦，今井啓雄，平井啓久，山森哲雄，伊佐正，藤山秋佐夫（2016.07.19）マカク属霊長類集団エキソーム解析によるニホンザルの集団遺伝学的解析．第 32 回日本霊長類学会大会（鹿児島県鹿児島市）
5. 辰本将司，臼井千夏，石川裕恵，郷康広（2016.07.19）マーモセットの血液マイクロキメリズムと遺伝的多型解析．第 32 回日本霊長類学会大会（鹿児島県鹿児島市）
6. 磯田昌岐（2016.07.20）Genetic and neuronal correlates of autistic behavior in the macaque．第 39 回日本神経科学大会（神奈川県横浜市）
7. Noritake A, Isoda M（2016.07.20）Activity of primate dopamine neurons is influenced by the prospect of others' reward．第 39 回日本神経科学大会（神奈川県横浜市）
8. Tsujimoto K, Sawada M, Fukunaga M, Yoshida M（2016.07.21）Animal model of spatial neglect in macaque monkeys．第 39 回日本神経科学大会（神奈川県横浜市）
9. 磯田昌岐（2016.07.23）サルの社会脳研究からみたドーパミンシグナル．第 31 回日本大脳基底核研究会（秋田県秋田市）
10. Yoshida M（2016.07.26）Awareness and saliency in blindsight．Neuroscience2016 Satellite Symposium（東京都目黒区）
11. 吉田正俊（2016.07.31）マカクザルを用いた半側空間無視動物モデル．第 1 回高次脳機能学とニューロリハビリテーション研究会（奈良県北葛城郡）
12. 辻本憲吾, 澤田真寛, 福永雅喜, 吉田正俊（2016.07.31）マカクザルによる半側空間無視の動物モデル．第 1

回高次脳機能学とニューロリハビリテーション研究会（奈良県北葛城郡）

13. 磯田昌岐（2016.09.10）霊長類動物を用いた社会脳研究：ニューロンは自己と他者の情報をどのように表現するか．日本学術会議「脳と意識」・「神経科学」・「脳とこころ」分科会合同　市民公開シンポジウム（東京都千代田区）
14. 辰本将司，豊田敦，今井啓雄，平井啓久，山森哲雄，伊佐正，藤山秋佐夫，郷康広（2016.09.08）マカク属霊長類集団エキソーム解析によるニホンザルの集団遺伝学的解析．日本遺伝学会大会第 88 回大会（静岡県三島市）
15. 磯田昌岐（2016.09.24）自己と他者の報酬情報処理にかかわるサルの皮質・皮質下ネットワーク．第 6 回生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム（愛知県名古屋市）
16. 辻本憲吾, 澤田真寛, 福永雅喜, 吉田正俊（2016.09.24）マカクザルによる半側空間無視の動物モデル．第 6 回生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム（愛知県名古屋市）
17. Isoda M（2016.10.10）Phenotypo-Driven Cognitive Genomics in the Macaque: A Naturally Occurring Case of Autistic Disorder．6th Joint CIN-NIPS Symposium（Tubingen, Germany）
18. Yoshida M（2016.10.11）Attention in Blindsight Monkey. 6th Joint CIN-NIPS Symposium（Tubingen, Germany）
19. Go Y（2016.10.11）Spatiotemporal gene expression trajectory in the human and non-human ape brains．6th Joint CIN-NIPS Symposium（Tubingen, Germany）
20. 辻本憲吾, 澤田真寛, 福永雅喜, 吉田正俊（2016.11.04）マカクザルによる半側空間無視の動物モデル．第 63 回中部日本生理学会（愛知県岡崎市）
21. Noritake A, Isoda M（2016.11.12）Social reward signals in primate lateral hypothalamic neurons: comparison with prefrontal and midbrain dopamine neurons．46th annual meeting of the Society for Neuroscience（San Diego, USA）
22. Ninomiya T, Nagai Y, Suhara T, Minamimoto T, Takada M, Matsumoto M, Isoda M, McCairn KW (2016.11.14) Prominent phase-amplitude cross-frequency coupling between alpha and gamma oscillations underlies motor-tic encoding in cerebro-basal ganglia-cerebellar networks．46th annual meeting of the Society for Neuroscience（San Diego, USA）
23. Tsujimoto K, Sawada M, Fukunaga M, Yoshida M（2016.11.14）Animal model of spatial neglect in macaque monkeys．46th annual meeting of the Society for Neuroscience（San Diego, USA）
24. 磯田昌岐（2016.11.21）自己と他者の報酬情報処理におけるドーパミン神経細胞の役割．第 1 回脳情報の解読と制御研究会＆第 3 回自発脳活動研究会（大分県別府市）
25. 吉田正俊（2016.12.04）フリービューイング検査を用いた眼球運動のサリエンシー解析．第 12 回 IGC 第 8 回 COCORO 合同会議（第 8 回脳表現型の分子メカニズム研究会）（東京都文京区）
26. 郷康広（2016.12.11）霊長類脳の構造・機能をささえる分子基盤解明にむけたマーモセット全脳遺伝子発現動態．第 2 回革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト・臨床研究グループ分科会（東京都文京区）
27. Isoda M（2016.12.14）Phenotype-driven cognitive genomics: a naturally occurring case of autistic disorder in the macaque．Brain/MINDS International Symposium（東京都文京区）
28. Go Y（2016.12.14）Spatiotemporal brain transcriptome architecture in the common marmoset．Brain/MINDS International Symposium（東京都文京区）
29. 磯田昌岐（2016.12.15）社会性からみた“かしこさ”の神経メカニズムと遺伝子基盤を探る．第 13 回 NBR 公開シンポジウム（東京都千代田区）
30. 吉田正俊（2016.12.27）Awareness and saliency in blindsight．大阪大学工学部浅田研究室ラボセミナー（大阪府吹田市）

（伊佐研）

1. 西村幸男（2016.01.15）脊髄損傷からの機能回復戦略．生理学研究所・和漢医薬学総合研究所研究会最先端生理学と和漢医薬学との融合（愛知県岡崎市）
2. Tohyama T, Kinoshita M, Matsui R, Kato S, Kobayashi K, Isa K, Watanabe D, Kobayashi K, Liu M and Isa T（2016.02.12）Contribution of propriospinal neurons to recovery of hand dexterity after the corticospinal tract lesion in mokeys. 第 8 回 NAGOYA グローバルリトリ

ート（愛知県東浦町）

3. 高桑徳宏（2016.03.01）Visual input pathways for reward prediction signals in dopamine neurons of blindsight monkeys．第 5 回 新潟脳研-生理研合同シンポジウム（愛知県岡崎市）
4. 西村幸男（2016.03.08）人工神経接続による運動・体性感覚の双方向機能再建に向けて．第 18 回日本ヒト脳機能マッピング学会（京都府京都市）
5. 高桑徳宏，加藤利佳子，レドグレイブ　ピーター，伊佐正（2016.03.10）中脳ドーパミンニューロンの報酬予測誤差表現に関わる視覚情報入力神経経路．揺らぎ，脳階層，ヒトとモデル動物　合同終了シンポジウム（愛知県岡崎市）
6. 西村幸男（2016.03.12）中脳辺縁系による運動制御の神経基盤．共同利用研究会「霊長類脳科学の新しい展開とゲノム科学との融合」（愛知県犬山市）
7. Yoshida M（2016.03.15）Awareness in Blindsight in Man and Monkey．8th Annual meeting of the UK Neuro-Ophthalmology Special Interest Group（London, UL）
8. 高桑徳宏，加藤利佳子，レドグレイブ　ピーター，伊佐正（2016.03.22）皮質盲視野に提示された条件刺激に対するドーパミンニューロン応答を駆動する視覚神経経路に関する研究．第 93 回日本生理学会大会（北海道札幌市）
9. 笠井昌俊，伊佐正（2016.03.23）上丘浅層における側方抑制の空間ダイナミクス．第 93 回日本生理学会大会（北海道札幌市）
10. 辻本憲吾, 澤田真寛, 福永雅喜, 吉田正俊（2016.03.23）マカクザルによる半側空間無視の動物モデル．第 93 回日本生理学会大会（北海道札幌市）
11. 西村幸男（2016.03.23）モチベーションで制御される運動パフォーマンスの神経基盤．第 93 回日本生理学会大会（北海道札幌市）

《生体システム研究部門》

1. 南部篤（2016.2.20）科学への信用· 信頼．科学知の総合化シンポジウム科学と社会（東京）
2. 佐野裕美（2016.2.25）ドーパミンニューロンに対するゾニサミドの神経保護作用～遺伝子組換えマウスを用いた基礎研究～．ハッピーフェイスセミナー（名古屋）
3. 佐野裕美（2016.3.1）ジストニアモデルマウスの筋電図解析．第５回新潟脳研− 生理研合同シンポジウム（岡崎）
4. Sano H, Tanaka KF, Nambu A (2016.3.3-4) Physiological roles of striatal projection neurons in voluntary movements. ACS2016（京都）
5. 南部篤（2016.3.6）大脳皮質ー大脳基底核ループと大脳基底核疾患．第３７回 Neuroscience Seminar Tokushima.（徳島）
6. 知見聡美, 南部篤（2016.3.10）パーキンソン病モデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核路の情報伝達異常．次ステージ機能生命科学の展望,（岡崎）
7. 南部篤（2016.3.12）パーキンソン病の病態生理について．京大霊長研共同利用研究会「霊長類脳科学の新しい展開とゲノム科学の融合（犬山）
8. 佐野裕美（2016.3.18）大脳基底核神経経路の制御における線条体投射ニューロンの役割．第５回大脳基底核機能研究会（岡崎）
9. Chiken S, Nambu A (2016.3.23) Parkinson’s disease as a network disorder. 第９３回日本生理学会大会シンポジウム「ネットワーク病としての神経・精神疾患」（札幌）
10. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A (2016.3.24) Chemogenetic control of neuronal activity in the primate subthalamic nucleus. 第９３回日本生理
11. 岡田由香，佐野裕美，小林憲太，富永真琴，南部篤，雑賀司珠也（2016.4.8）マウス神経麻痺性角膜症モデルに対する三叉神経節での TRPV4 強制発現による治療効果．第１２０回日本眼科学会総会（仙台）学会大会（札幌）
12. 南部篤（2016.4.23）ゾニサミドによるドーミン作動性ニューロンの保護作用．カテコールアミンと神経疾患研究会２０１６（品川）
13. Nambu A (2016.5.12) Abnormal basal ganglia activity in movement disorders. Stockholm-Okazaki Symposium “Multi-scale structures & dynamics of the basal ganglia”

(Stockholm, Sweden)

14. Sano H (2016.5.12) Molecular genetic approaches to understanding the physiological roles of the basal ganglia. Stockholm-Okazaki Symposium “Multi-scale structures & dynamics of the basal ganglia” (Stockholm, Sweden)
15. Wakabayashi M (2016.5.12) Thalamic oscillatory activity and tremor. Stockholm-Okazaki Symposium “Multi-scale structures & dynamics of the basal ganglia” (Stockholm, Sweden)
16. Chiken S (2016.5.12) Basal ganglia & cerebellar control of thalamocortical activity. Stockholm-Okazaki Symposium “Multi-scale structures & dynamics of the basal ganglia” (Stockholm, Sweden)
17. Hasegawa T (2016.5.12) DREADD: a chemogenetic tool to control neuronal activity and the treatment for PD. Stockholm-Okazaki Symposium “Multi-scale structures & dynamics of the basal ganglia” (Stockholm, Sweden)
18. 南部篤（2016.5.20）ネットワーク異常としてパーキンソン病を考える．第 57 回日本神経学会学術大会（神戸）
19. Kashio M, Taruno A, Sun H, Kobayashi K, Sano H, Nambu A, Marunaka Y (2016.6.8) Adeno-associated virus-mediated gene trunsduction of taste cells in vivo. 第１７回嗅覚・味覚国際シンポジウム，第５０回日本味と匂い学会大会（横浜）
20. Chiken S, Nambu A (2016.7.19) How do the basal ganglia control thalamocortical activity? Satellite Symposium of Neuroscience 2016 Basal Ganglia in Health and Disease（横浜）
21. Chiken S, Nambu A (2016.7.21) Dopaminergic transmission maintains dynamic activity changes in the basal ganglia to appropriately control movements. 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society Symposium （横浜）
22. Sano H, Tanaka KF, Nambu A (2016.7.21) Concurrent activation of striatonigral and striatopallidal neurons facilitate movements. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（横浜）
23. Dwi Wahyu Indrian, Sano H, Chiken S, Nambu A. (2016.7.21) Mechanism of L-dopa induced dyskinesia: increased movement facilitation and decreased movement termination by the basal ganglia. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（横浜）
24. Kobayashi K, Sano H, Kato S, Kuroda K, Nakamura S, Isa T, Nambu A, Kaibuchi K, Kobayashi K (2016.7.21) Functional analysis of Rho GTPase signaling in corticostriatal neurons using dual viral vector system. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（横浜）
25. 佐野暢哉，中山義久，知見聡美，南部篤，星英司（2016.7.21）小脳核電気刺激に応答する一次運動野ニューロンの活動特性．第３９回日本神経科学大会（横浜）
26. Nonomura S, Yamanaka K, Nishizawa K, Kobayashi K, Sakai Y, Kawaguchi Y, Nambu A, Isomura Y, Kimura M (2016.7.22) Activity of dopamine D2 receptor-expressing striatal neurons during decision-making task. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（横浜）
27. Horie M, Sano H, Chiken S, Mekada K, Yoshiki A, Someya T, Kobayashi K, Nambu A, Takebayashi H (2016.7.22) Analysis of a novel Dystonin spontaneous mutant mice showing dystonic-like movements. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（横浜）
28. 佐野裕美，知見聡美，長谷川拓，堀江正男，竹林浩秀，吉木淳，長谷川一子，Shashidharan P，南部篤（2016.7.23）運動異常症モデルげっ歯類•霊長類が示す運動症状．第 31 回日本大脳基底核研究（秋田）
29. 掘江正男，佐野裕美，知見聡美，小林憲太，南部篤，竹林浩秀（2016.7.23）ジストニア症状を示す Dystonia musculorum マウスにおける姿勢制御異常に関わる神経回路の解析．第 31 回日本大脳基底核研究（秋田）
30. Wongmassang W, Chiken S, Nambu A (2016.8.9) Weak correlation in pallidal neurons during voluntary reaching movement in a macaque monkey. 日本大脳基底核機能研究会（福島）
31. 知見聡美，南部篤（2016.9.24）パーキンソン病の病態生理：モデルサルにおける神経活動の記録．名古屋大学・生理学研究所合同シンポジウム．（名古屋）
32. Sano H (2016.10.10) Physiological Roles of Cortio-striatal Neurons in the Basal Ganglia. 6th Joint CIN-NIPS Symposium (Tuebingen, Germany)

33. Nambu A (2016.10.10) Somatotopy in the Basal Ganglia. 6th Joint CIN-NIPS Symposium (Tuebingen, Germany)
34. Dwi Wahyu Indriani, Sano H, Chiken S, Nambu A (2016.10.10) Mechanism of L-dopa induced dyskinesia: electrophysiological study using a mouse model. 6th Joint CIN-NIPS Symposium (Tuebingen, Germany)
35. Wakabayashi M (2016.10.26) Tremor-related thalamic activity in a parkinsonian model marmoset.生命科学リトリート 2016（山梨）
36. Sano H, Tanaka K, Nambu A (2016.10.27) Concurrent activation of striatonigral and striatopallidal neurons facilitates motor activity. The 47th NIPS International Symposium "Decoding Synapses"（岡崎）
37. Nambu A (2016.10.28) Parkinson's disease as a network disorder. 第４６回日本臨床神経生理学会学術大会（郡山）
38. 長谷川拓，知見聡美，小林憲太，南部篤（2016.11.4）化学遺伝学的手法によるマカクザル視床下核の神経活動制御. 第 63 回中部日本生理学会（岡崎）
39. Dwi Wahyu Indriani, Sano H, Chiken S, Nambu A (2016.11.4) Mechanism Underlying L-Dopa Induced Dyskinesia in Parkinson's Disease Model Mice. 第 63 回中部日本生理学会（岡崎）
40. Dwi Wahyu Indriani (2016.12.10) Electrophysiological study of a L-dopa-induced dyskinesia mouse model. 生理研研究会「行動を制御する神経ネットワーク機能の解明に向けて」（岡崎）
41. Hatanaka N (2016.12.14) GABAergic modulation of the striatal neuron activity in behaving monkeys. Japan-Sweden Joint Program Symposium "Computational Basal Ganglia"（岡崎）
42. Sano H, Tanaka K, Nambu A (2016.12.14) Motor control by striatal projection neurons. Japan-Sweden Joint Program Symposium "Computational Basal Ganglia"（岡崎）
43. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A (2016.12.14) The chemogenetic suppression of the primate STN induces abnormal involuntary movement. Japan- Sweden Joint Program Symposium "Computational Basal Ganglia"（岡崎）
44. Wakabayashi M, Hatanaka N, Nambu A (2016.12.14) Thalamic oscillatory activity and tremor. Japan-Sweden Joint Program Symposium "Computational Basal Ganglia"（岡崎）
45. Koketsu D, Nambu A (2016.12.14) Neurophysiological and Anatomical Studies of Marmoset Motor-Sensory Cortices. Japan-Sweden Joint Program Symposium "Computational Basal Ganglia"（岡崎）
46. Wongmassang W, Chiken S, Nambu A (2016.12.14) Weak correlation in pallidal neurons during voluntary reaching movement in a macaque monkey. Japan-Sweden Joint Program Symposium "Computational Basal Ganglia"（岡崎）
47. Dwi Wahyu Indriani (2016.12.14) Electrophysiological study of L-dopa-induced dyskinesia model mice. Mini international symposium on computational basal ganglia. Japan-Sweden Joint Program Symposium "Computational Basal Ganglia"（岡崎）
48. 佐野裕美（2016.12.21）線条体投射ニューロンによる運動調節機構の解明. 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム「適応回路シフト」「記憶ダイナミズム」「マイクロ精神病態」 三領域合同若手シンポジウム（東京）

《統合生理研究部門》

1. 柿木隆介 (2016.2.26-27) 痒みと痛みの脳内認知機構，教育講演，第 45 回日本慢性疼痛学会. (佐賀市)
2. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介 (2016.3.1-5) 注意制御に関わる脳内ネットワーク特性の時空周波数動態. 新潟脳研－生理研合同シンポジウム（岡崎，生理学研究所）
3. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介 (2016.3.10) 注意制御に関わる脳内ネットワーク特性の時空周波数動態. 自然科学研究機構・生理学研究所 3 プロジェクト合同 終了シンポジウム「次ステージ機能生命科学の展望」（岡崎，岡崎カンファレンスセンター）
4. Kobayashi M, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R.

(2016. 5. 13-18) Infants' recognition of caricature of mother's face. Vision Sciences Socierty16th Annual Meeting (Florida, USA)

5. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介（2016.6.9-10）触覚性注意の指選択性．第 31 回日本生体磁気学会大会（金沢）
6. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介（2016.9.23-25）手指動作における感覚運動調節機構の空間的勾配．第 71 回日本体力医学大会（岩手）
7. Kakigi R. (2016. 9. 24) Pain and itch perception in humans. Special Lecture, 16th Scientific Meeting of Asian Academy of Craniomandibular Disorders (Yokohama, Japan)
8. Kakigi R. (2016.9.25) Pain and itch perception in humans. Special Lecture, "Brain and New Pain Mechanisms: What We Know So Far and Where We're Heading", Satellite Symposium of 16thW World Congress of Pain (Tokyo)
9. Okamoto H, Kakigi R. (2016.10.1-6) Auditory evoked fields elicited by frequency-modulated sweeps. The 20th international conference on biomagnetism (Biomag2016) (Seoul, South Korea).
10. Kida T, Tanaka E, Kakigi R. (2016.10.1-6) Selectivity of tactile attention: an MEG study. The 20th international conference on biomagnetism (Biomag2016) (Seoul, South Korea)
11. Miki K, Honda Y, Takeshima Y, Watanabe S, Kakigi R. (2016.10.1-6) Differential age-related changes in N170 responses to upright faces, inverted faces, and eyes in Japanese children. The 20th international conference on biomagnetism (Biomag2016) (Seoul, South Korea)
12. Kida T (2016.10.10-11). MEG analysis of attentional modulation and control. 6th CIN-NIPS joint symposium (Tuebingen, German)
13. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介（2016.10.27-29）触覚性注意効果の分布様式：脳磁図による検証．第 46 回日本臨床神経生理学会学術大会（郡山）
14. 小林恵，柿木隆介，金沢創，山口真美，O'Toole, Alice J（2016.10.29-30）自然シーンでの人物認知の発達．第 35 回日本基礎心理学会（東京）
15. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介（2016.11.4-5）触覚性注意における指選択性：脳磁図による検証．第 63 回中部日本生理学会（岡崎）

《心理生理学研究部門》

1. 福永雅喜，八幡憲明（2016.1.23）Resting-state fMRI 概論. 包括脳MRI脳画像解析チュートリアル（東京）.
2. Yoshimoto T, Okazaki S, Sumiya M, Takahashi H, Nakagawa E, Koike T, Kitada R & Sadato N (2016.1.25) Neural substrates underlying the anorexigenic effect of intranasal oxytocin in humans. 生命科学リトリート 2015（掛川市，静岡）.
3. 福永雅喜（2016.1.27）７テスラ超高磁場 MRI でせまる脳の構造と機能．名古屋大学脳とこころの研究センターシンポジウム（名古屋，愛知）.
4. Aoki N, Sugawara SK, Hirotani M, Okazaki S, Yamazaki-Kindaichi H, Yoshimoto T, Yokokawa H, Yoshida H, & Sadato N（2016.2.12）The Enhanced consolidation of foreign word learning by verbal rehearsal. 名古屋グローバルリトリート（大府，愛知）.
5. 菅原翔 (2016.3.1) 超高磁場 fMRI に最適化した multiband GE-EPI 法の検証．第５回新潟脳研一生理研合同シンポジウム（岡崎，愛知）.
6. 岡本悠子，小坂浩隆，北田亮，関あゆみ，田邊宏樹，林正道，河内山隆紀，齋藤大輔，谷中久和，棟居俊夫，石飛信，大森晶夫，和田有司，岡沢秀彦，小枝達也，定藤規弘（2016.3.7）自閉スペクトラム症における顔認知・身体認知に関与する視覚領域の発達遅延．第 18 回日本ヒト脳機能マッピング学会（京都，京都）.
7. 定藤規弘，福永雅喜（2016.3.7）7TMRI を用いたヒト神経回路解明に向けて. 第 18 回日本ヒト脳機能マッピング学会（京都，京都）.
8. 北田亮（2016.3.10）社会的認知の神経基盤に視覚障害が与える影響. 自然科学研究機構プロジェクト「自然科学研究における国際的学術拠点の形成」3 プロジェクト合同 終了シンポジウム「次ステージ機能生命科学の展望」（岡崎，愛知）.
9. 岡田直大，福永雅喜，山下典生，越山太輔，山森英

長，安田由華，渡邊嘉之，根本清貴，橋本直樹，宮田淳，山末英典，松尾幸治，鬼塚俊明，川崎康弘，吉村玲児，鈴木道雄，武田雅俊，尾崎紀夫，笠井清登，橋本亮太，ENIGMA-SZJ（2016.3.25）統合失調症の皮質下体積のメタアナリシス. 第 11 回日本統合失調症学会（前橋，群馬）.

10. 越山太輔，福永雅喜，岡田直大，山森英長，安田由華，藤本美智子，山下典生，藤野陽生，渡邊嘉之，住吉チカ, 住吉太幹, 笠井清登, 橋本亮太（2016.3.25）統合失調症の皮質下体積と認知・社会機能の相関解析．第 11 回日本統合失調症学会（前橋，群馬）.
11. Fukunaga M, Sadato N (2016.4.16) Ultra High Field MRI of Human Brain Structure and Function. The 75th Annual Meeting of the Japan Radiological Society (Yokohama, Japan).
12. Sugawara SK, Fukunaga M, Hamano Y, Kuribayashi H, Sadato N (2016.4.16) Ultra High Field MRI of Human Brain Structure and Function. The 75th Annual Meeting of the Japan Radiological Society (Yokohama, Japan).
13. 惠飛須俊彦，福永雅喜（2016.6.10）回復期脳卒中患者における半側空間無視と画像所見との関連．第 53 回日本リハビリテーション医学会学術集会（京都，京都）.
14. 當山峰道，里宇明元，伊佐正（2016.6.10）サル皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復における脊髄固有ニューロンの寄与. 第 53 回日本リハビリテーション医学会学術集会（京都，京都）.
15. 越山太輔，福永雅喜，岡田直大，山森英長，安田由華，藤本美智子，山下典生，藤野陽生，渡邊嘉之，笠井清登，橋本亮太（2016.6.11）統合失調症の皮質下体積と認知機能との相関解析．第 11 回 IGC 第 7 回 COCORO 合同会議（東京）.
16. Nakagawa E, Makita K, Shimada K & Sadato N (2016.6.30) Gray matter volume in the caudate nucleus is related to second language fluency: a VBM study. OHBM 2016 Annual Meeting (Geneva, Switzerland).
17. Kawamichi H, Sugawara SK, Hamano YH, Sadato N (2016.7.20) High frequency of social interaction is perceived as social reward represented in the ventral striatum. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama, Japan).
18. Okamoto Y, Kitada R, Arai S, Kochiyama T, Ishikawa S, Sadato N, Okazawa H, Kosaka H (2016.7.20) Distinct neural representation of perspective of hand in the lateral occipito-temporal cortex. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama, Japan).
19. Koike T, Abe S, Bosch-Bayard J, Sadato N (2016.7.21) Neural basis of sharing attention during eye contact : Hyperscanning fMRI study. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama, Japan).
20. Tohyama T, Kinoshita M, Kobayashi K, Isa K, Watanabe D, Kobayashi K, Liu M and Isa T (2016.7.21) Contribution of propriospinal neurons to recovery of hand dexterity after corticospinal tract lesions in monkeys. The 39th Annual Meeting oh the Japan Neuroscience Society（Yokohama, Japan）.
21. 近添 淳一，Lee H Daniel，定藤 規弘，Adam K Anderson (2016.7.21) 味覚の神経基盤．Neural correlates of taste in the human brain. The 39th Annual Meeting oh the Japan Neuroscience Society（Yokohama, Japan）.
22. Nagashima K, Aizawa Y, Tsunakawa M, Nakata H, Harada T, Sadato N (2016.7.22) Brain regions involved in thermal perception. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama, Japan).
23. Sadato N (2016.7.22) Neural substrates of face-to-face communication through eyes : an approach with hyperscanning fMRI. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama, Japan).
24. Shishido E, Okazaki S, Imoto K, Sadato N, Fukumura N, Ozaki N (2016.7.22) Analysis of eye-movement when drawing a line. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Yokohama, Japan).
25. Sadato N (2016.7.26) Shared attention and inter-individual neural synchronization in the human right inferior frontal gyrus. The 31st International Congress of Psychology (Yokohama, Japan).
26. Yoshioka A, Tanabe HC, Koike T, Nakagawa E, Sumiya M, Okazaki S, Sadato N (2016.7.27) The neural substrates of feature-based joint attention using a hyperscanning functional MRI. The 31st International Congress of Psychology (Yokohama, Japan).
27. Tanabe HC, Yoshioka A, Koike T, Okazaki S, Sadato N (2016.7.28) Core neural substrates of joint attention using

hyperscanning functional MRI. The 31st International Congress of Psychology (Yokohama, Japan).

28. Kitada R (2016.8.19) Brain networks for haptic object recognition. The 2nd International Workshop on Neuroimaging and Human Connectomics (Beijing, China).
29. 定藤規弘（2016.9.4）コミュニケーション能力の神経基盤：イメージング手法によるアプローチ．分子から心まで観るバイオイメージング（名古屋，愛知）．
30. Yamamoto T, Oida T, Natsukawa H, Hilschenz I, Ito Y, Kobayashi T（2016.9.11）Ultra-Low Field MRI with Optically Pumped Atomic Magnetometer: Hyperpolarized ^{129}Xe Imaging. 第 44 回日本磁気共鳴医学会大会（大宮，埼玉）．
31. 定藤規弘（2016.9.16）子どもの育ちに活かすほめ脳科学からのアプローチ．みらいエンパワメントカフェ（東京）．
32. 北田亮（2016.9.17）触覚による物体認識の神経メカニズム-視覚障害者の身体部位知覚を例として-．日本特殊教育学会自主シンポジウム「触覚と特別支援教育（1）-触図認知と触覚教材・教具作り」（新潟）．
33. 北田亮（2016.9.23）ベルベット錯触の神経基盤．公益財団 中山隼雄科学技術文化財団第 23 回研究成果発表会（東京）．
34. 吉本隆明，岡崎俊太郎，近添淳一，角谷基文，高橋晴香，中川恵理，小池耕彦，北田亮，岡本士毅，矢田俊彦，小坂浩隆，定藤規弘（2016.9.24）ヒトの満腹時の甘味に対する選好性の神経基盤の検討．第 6 回生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム（名古屋，愛知）．
35. Chikazoe J. (2016.10.10) The human gustatory cortex revealed by multivoxel patter analysis. 2016CIN-NIPS Symposium (Tubingen, Germany).
36. Tohyama T, Kinoshita M, Kobayashi K, Isa K, Watanabe D, Kobayashi K, Liu M and Isa T. (2016.11.12) Contribution of propriospinal neurons to recovery of hand dexterity after corticospinal tract lesions in monkeys. Society for Neuroscience's 46th Annual Meeting (San Diego, USA).
37. Hamano YH, Sugawara SK, Sadato N (2016.11.15) Dynamic change of the parieto-premotor network during early motor sequence learning: an fMRI study. Society for Neuroscience's 46th Annual Meeting (San Diego, USA).
38. Sugawara SK, Hamano YH, Sadato N (2016.11.15) Reactivation of declarative memory system is essential for the enhancement of the sequential motor skill. Society for Neuroscience's 46th Annual Meeting (San Diego, USA).
39. 近添淳一（2016.12.11）快・不快の脳内表現．日本情動学会第 6 回大会「情動と教育」:一般公開シンポジウム「情動の視点から教育を考える」（神戸, 兵庫）．
40. 定藤規弘（2016.12.15）コミュニケーション能力の神経基盤：イメージング手法によるアプローチ．医用画像と物理シュミレーションの融合による電磁界の医療応用と安全性評価技術の最新動向（名古屋，愛知）．

《個別研究（村上研究室）》

1. 橋本貞充，成田貴則，村上政隆（2016 年・12 月・1 日）灌流ラット顎下腺の血管系の可視化とムスカリン刺激による変化．第 61 回日本唾液腺学会（文教学院　文京区　東京都）
2. Wei MX, Ding W, Xie L, Ping H, Wei F, Murakami M（2016 年・12 月・1 日）Effects of Chinese herb HQ on salivary fluid secretion by isolated and perfused rat submandibular glands．学会名 The 4th International Symposium in honor of Niels Stensen (Okazaki Conference Hall, Okazaki, Aichi, Japan)
3. Hashimoto S, Murakami M, Narita T, Sato M, Shibukawa Y (2016 年・12 月・1 日) Visualization of microcirculation and paracellular pathway in the perfused submandibular gland. The 4th International Symposium in honor of Niels Stensen (Okazaki Conference Hall, Okazaki, Aichi, Japan)
4. Derouiche S, Takayama Y, Murakami M, Tominaga M (2016 年・11 月・29-12 月 1 日) Functional interaction between TRPV4 and TMEM16A/anoctamin 1 contributes to stimulated saliva and tear secretion. The 4th International Symposium in honor of Niels Stensen (Okazaki

Conference Hall, Okazaki, Aichi, Japan)

5. Murakami M, Wei F, Narita T, Fukushima-Matsuki M, Hashimoto S, Shibukawa Y, Sato M, Steward MC. (2016 年･11 月･29-12 月 1 日) Microcirculation and paracellular fluid secretion in the perfused submandibular gland of the rat. The 4th International Symposium in honor of Niels Stensen (Okazaki Conference Hall, Okazaki, Aichi, Japan)
6. Murakami M (2016 年･11 月･29 - 12 月 1 日) Development of salivological view through 20 years of Stensen symposia. The 4th International Symposium in honor of Niels Stensen (Okazaki Conference Hall, Okazaki, Aichi, Japan)
7. 村上政隆，魏飛，魏睦新，成田貴則，杉谷博士(2016 年・10 月・14-15 日)唾液分泌に及ぼす漢方薬の影響。天然薬物研究方法論アカデミー第 19 回岡崎シンポジウム(Okazaki Conference Hall, Okazaki, Aichi, Japan)
8. Derouiche S, TakayamaY, Murakami M, Tominaga M (2016 年・4 月・7-9 日) Functional interaction between TRPV4 and TMEM16A/ANO1 contributes to stimulated saliva and tear secretion, Caclium signalling meeting, (Hilton Hawaiian Village, Honolulu, Hawaii, USA)
9. Yamashita N, Kunii C, Tateno Y, Kuma M, Murakami M, Ishikawa T. (2016 年・3 月・22-24 日) Pharmacological evaluation of the role of the Ca2+-dependent BK and IK channels in the fluid secretion in the rat submandibular gland. The 93rd Japan Physiolgical Society meeting. (Saporo Convention Center,Sapporo, Hokkaido)
10. Derouiche S, TakayamaY, Murakami M, Tominaga M (2016 年・3 月・22-24 日) Functional interaction between TRPV4 and angiotensin I in salivary and lacrimal glands. The 93rd Japan Physiolgical Society meeting. (Saporo Convention Center,Sapporo, Hokkaido)
11. Derouiche S, TakayamaY, Murakami M, Tominaga M (2016 年･2 月･12-13 日) Functional interaction between TRPV4 and angiotensin I in salivary and lacrimal glands. The 8th Nagoya Global retreat. (Aichi Health Plaza, Nagoya, Aichi)

《個別研究（毛利研究室）》

1. Mohri T, Landowne D (2016･9･17) Analysis of electrical responses and phenomena accompanying them in Japanese echinoderm eggs at fertilization. Joints events of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th meeting of Zoological Society of Japan（Okinawa, Japan）

《形態情報解析室》

1. 村田和義（2016.6.14）超高圧電子顕微鏡トモグラフィーの生物応用. 日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会（仙台）
2. Song Chihong，片山和彦，村田和義（2016.6.14）クライオ電子顕微鏡単粒子解析によるマウスノロウイルスの構造解析. 日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会（仙台）
3. 角田潤，村田武士，上野博史，飯野亮太，村田和義（2016.6.14）腸内連鎖球菌 V-ATPase のクライオ位相差電顕単粒子構造解析. 日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会（仙台）
4. 永谷幸則，村田 和義，木森 義隆，永山 國昭（2016.6.14）ゼルニケ位相差電子顕微鏡法の位相板位置ずれの大域的な事後補正. 日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会（仙台）
5. 山口正視，山田博之，樋口公孝，山本悠太，荒井重勇，村田和義，森裕子，古河弘光（2016.6.14）深海のらせん菌のストラクトーム解析と超高圧電子顕微鏡による観察. 日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会（仙台）
6. 森山陽介，宮崎直幸，村田和義，臼田信光（2016.6.14）SBF-SEM による肝臓ペルオキシソームの増殖過程の三次元超微形態解析. 日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会（仙台）
7. 宇畑雄哉，山崎順，桑原隆亮，村田和義，保田英洋，森博太郎（2016.6.14）電子線透過率補正を用いた密

度定量 TEM トモグラフィー．日本顕微鏡学会第 72 回学術講演会（仙台）

8. 松下敦子，Finlay Stewart，宮崎直幸，村田和義，蟻川謙太郎（2016.7.22）連続ブロックフェイス走査電顕(SBF-SEM)によるアゲハ視葉板カートリッジ内シナプス連絡の解析．日本光医学・光生物学会（京都）
9. 村田和義（2016.7.30）ネガティブ染色法の基礎．日本顕微鏡学会サマースクール（京都）
10. Kazuyoshi Murata（2016.8.19）Molecular assembly of viruses: boundaries between life and materials. OIIB Summer School（Okazaki）
11. 村田和義（2016.9.6）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．日本バイオイメージング学会大 25 回学術集会（名古屋）
12. Kazuyoshi Murata（2016.9.25）Single Particle Zernike Phase Contrast Cryo-Electron Microscopy Combined with Direct Detector for Analyzing Membrane Proteins and their Dynamics. 第 89 回日本生化学会大会（仙台）
13. Jun Tsunoda, Chihong Song, Fabiana Lica Yakushiji, Takeshi Murata, Hiroshi Ueno, Junichi Takagi, Ryota Iino, Kazuyoshi Murata（2016.10.26）Single Particle Analysis of EhV-ATPase by Zernike-phase contrast cryo-Electron Microscopy. 47th NIPS International Symposium（Okazaki）
14. Akito Nakao, Keizo Takao, Koji Ohira, Naoyuki Miyazaki, Kazuyoshi Murata, Tsuyoshi Miyakawa（2016.11.12）Three-dimensional analysis of dendritic spines and mitochondria in dentate gyrus granule cells in Schnurri-2 knockout mice, an animal model for schizophrenia. Society for Neuroscience（San Diego, USA）
15. Daisuke Yamauchi, Yasuko Kaneko, Daisuke Tamaoki, Keita Goto, Ichirou Karahara, Kazuyoshi Murata, Akihisa Takeuchi, Kentaro Uesugi, Yumie Takahara, Tomonori Nakai and Yoshinobu Mineyuki（2016.11.12）Folded structure of cell surface in dry seeds: real or artifact?. 日本顕微鏡学会第 59 回シンポジウム（東京）
16. Chihong Song, Motohiro Miki, Reiko Todaka, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata（2016.11.25）Structural Analyses of Murine Norovirus VLPs by Cryo-Electron Microscopy Single Particle Analysis. 第 54 回日本生物物理学会大会（つくば）
17. Jun Tsunoda, Chihong Song, Fabiana Lica Yakushiji, Takeshi Murata, Hiroshi Ueno, Junichi Takagi, Ryota Iino, Kazuyoshi Murata（2016.11.25）Single Particle Analysis of EhV-ATPase by Phase-contrast cryo-Electron Microscopy. 第 54 回日本生物物理学会大会（つくば）

《多光子顕微鏡室》

1. 柴田明裕，村越秀治　（2016.2.25）新規光応答性 CaMKII の開発とシナプス可塑性研究への応用. 自然科学研究機構プロジェクト　合同シンポジウム「脳神経情報の階層的研究」「機能生命科学における揺らぎと決定」（愛知）
2. 柴田明裕，村越秀治　（2016.7.22）Development of a photo-activatable CaMKII for the study of synaptic plasticity. 第 39 回日本神経科学大会（神奈川）
3. 村越秀治　（2016.7.24）光操作とイメージングによる細胞内単一経路シグナル伝達解析に向けて．第 1 回ルミノジェネティクス研究会（静岡）
4. 村越秀治　（2016.9.5）2 光子蛍光寿命イメージングによるシナプス内生化学反応の可視化と操作．第 25 回日本バイオイメージング学会（愛知）
5. 村越秀治, 柴田明裕, 安田涼平, 鍋倉淳一（2016.9.16）神経細胞内シグナル伝達の光操作と分子活性イメージング（愛知）
6. 柴田明裕，村越秀治　（2016.9.24）Development of a genetically encoded photo-activatable CaMKII. 第 6 回生理研・名大合同シンポジウム（愛知）
7. Hideji Murakoshi　（ 2016.10.27 ） Spatiotemporal manipulation and imaging of signaling molecules in dendritic spines. The 47th NIPS International Symposium "Decoding Synapses"（Aichi）
8. 柴田明裕，村越秀治　（2016.12.2）Development of a genetically encoded photo-activatable CaMKII and its application to the study of synaptic plasticity. 第 39 回日本分子生物学会（神奈川）

《ウイルスベクター開発室》

1. Kenta Kobayashi, Hiromi Sano, Shigeki Kato, Keisuke Kuroda, Shinichi Nakamuta, Tadashi Isa, Atsushi Nambu, Kozo Kaibuchi, Kazuto Kobayashi（2016 年 7 月 21 日） Functional analysis of Rho GTPase signaling in corticostriatal neurons using a dual viral vector system. 第 39 回日本神経科学大会（横浜市）

《遺伝子改変動物作製室》

1. 田島 和弥, 山中 貴寛, 佐藤 美月, 平林 真澄, 保地 眞一. (2016.5.14) 卵丘細胞層ダウンサイズ後にガラス化保存した卵核胞期ウシ卵母細胞の蘇生能力. 第 57 回日本卵子学会 (新潟)
2. 後藤 哲平, 原 弘真, 保地 眞一, 中内 啓光, 平林 真澄. (2016.5.19) 腎発生関連遺伝子 Sall1 をノックアウトしたラットの表現型解析. 第 63 回日本実験動物学会 (川崎)
3. 原 弘真, 後藤 哲平, 滝澤 明子, Melinda Dwinell, 保地 眞一, 中内 啓光, 平林 真澄. (2016.5.19) 雄性発生胚ならびに雌性発生胚からの半数体ラット ES 細胞株の樹立. 第 63 回日本実験動物学会(川崎)
4. Hirabayashi M, Hara H, Goto A, Takizawa A, Dwinell MR, Hochi S, Nakauchi H. (2016.7.18) Haploid ES cell lines derived from androgenetic and parthenogenetic rat blastocysts. The 49th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction (San Diego, CA, USA)
5. Goto A, Hara H, Sato H, Hochi S, Nakauchi H, Hirabayashi M. (2016.7.19) Mouse thymus generated in Foxn1 mutant rats by blastocyst complementation. The 49th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction (San Diego, CA, USA)
6. 田島 和弥, 久保 友紀, 平林 真澄, 保地 眞一. (2016.9.12) ガラス化 GV 期ウシ卵丘卵子複合体を成熟培養した後の卵細胞質内脂肪滴動態について. 第 109 回日本繁殖生物学会 (相模原)
7. 山中 貴寛, 田島 和弥, 高橋 理央, 後藤 哲平, 高島 誠司, 平林 真澄, 保地 眞一. (2016.9.13) 外径が異なるウシ卵核胞期卵丘卵子複合体ならびにラット膵ランゲルハンス島のガラス化耐性. 第 109 回日本繁殖生物学会 (相模原)
8. 後藤 哲平, 山口 智之, 佐藤 秀征, 原 弘真, 小林 俊寛, 中内 啓光, 平林 真澄. (2016.9.15) 膵臓欠損ラット体内で再生したマウス iPS 細胞由来膵島の糖尿病誘発モデルマウスへの移植. 第 109 回日本繁殖生物学会 (相模原)
9. 香月 康宏, 小林 カオル, 平林 真澄, 久世 治朗, 佐久間 哲史, 阿部 智志, 橋本 真里, 墳崎 靖子, 千田 直人, 梶谷 尚世, 嵩原 昇子, 香月 加奈子, 山本 卓, 千葉 寛, 押村 光雄. (2016.10.14)ヒト薬物代謝予測のためのマウス人工染色体とゲノム編集によるヒト化 CYP3A ラットの作製. 第 31 回日本薬物動態学会 (松本)
10. Sosonkina N, Takizawa A, Prokop JW, Goto T, Grzybowski M, Geurts A, Hirabayashi M, Lazar J, Jacob HJ. (2016. 10.20) Functional characterization of a point mutation in the MAPK1 gene in a patient with undiagnosed disease. The 66th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (Vancouver, Canada)
11. 山中 貴寛, 高橋 理央, 田島 和弥, 高島 誠司, 後藤 哲平, 平林 真澄, 保地 眞一. (2016.11.11) ラット膵島の保存に対する Cryotop®ガラス化法と Bicell®凍結法の適性比較. Cryopreservation Conference 2016 (岡崎)

《行動様式解析室》

1. Hattori S, Shoji H, Takao K, Miyakawa T (2016.5.28-29) Mouse Behavioral Phenotype Database. INCF Japan International Workshop: Advances in Neuroinformatics (和光)

2. Murano T, Hagihara H, Miyakawa T (2016.7.3) Transcriptomic immaturity of hippocampus and prefrontal cortex in patients with alcoholism. 第 46 回日本神経精神薬理学会年会 (Seoul, Korea)
3. Murano T, Hagihara H, Miyakawa T (2016.7.4) Transcriptomic immaturity of hippocampus and prefrontal cortex in patients with alcoholism. 30th CINP（The International College of Neuropsychopharmacology）World Congress (Seoul, Korea)
4. Takao K (2016.7.20) Mice model can greatly mimic the behavioral and molecular characteristics of schizophrenia patients. 第 39 回日本神経科学大会 (横浜)
5. 村上拓冬, 奥田耕助, 小林静香, 深谷昌弘, 高雄啓三, 渡邉紀, 萩原舞, 阪上洋行, 水口雅, 宮川剛, 真鍋俊也, 田中輝幸 (2016.7.22) CDKL5 controls postsynaptic NMDA receptor localization and regulates memory, emotion and seizure susceptibility. 第 39 回日本神経科学大会 (横浜)
6. 大橋りえ, 高雄啓三, 宮川剛, 椎名伸之 (2016.7.22) Comprehensive behavioral analysis of RNG105 heterozygous mice: reduced social interaction and attenuated response to novelty. 第39回日本神経科学大会 (横浜)
7. 小清水久嗣, 萩原英雄, 宮川剛 (2016.7.22) Contrasting expression patterns of inflammation-related genes in mouse models of depression and psychosis. 第 39 回日本神経科学大会 (横浜)
8. 萩原英雄, 大平耕司, 宮川剛 (2016.7.22) Transcriptomic evidence for dematuration of the mouse frontal cortex and hippocampus by chronic antidepressant treatment. 第 39 回日本神経科学大会 (横浜)
9. 上野浩司, 横内美保子, 石原武士, 末光俊介, 高雄啓三, 宮川剛, 岡本基（2016.7.21）Altered Perineuronal net expression in autistic-like behavior in FcγRIIB knockout mice. 第 39 回日本神経科学大会 (横浜)
10. Yamaguchi Y, Hattori S, Takao K, Okumura Y, Suenaga S, Ishii I, Honda A, Ogawa M, Usui S, Miyakawa T (2016.11.12) Tutorial contents on neuroinfomrmatics platforms. 46th Annual meeting of Society for Neuroscience (San Diego, USA)
11. Murano T, Miyakawa T (2016.11.13) Transcriptomic immaturity of the hippocampus and prefrontal cortex in patients with alcoholism. 46th Annual meeting of Society for Neuroscience (San Diego, USA)
12. Bhandari P, Parajuli LK, Takao K, Miyakawa T, Kobayashi Y, Tanaka KF, Shigemoto R (2016.11.13) Role of R-type calcium channel (Cav2.3) in medial habenula to interpeduncular nucleus pathway. 46th Annual meeting of Society for Neuroscience (San Diego, USA)
13. Nakao A, Takao K, Ohira K, Miyazaki N, Murata K, Miyakawa T (2016.11.14) Three-dimensional analysis of dendritic spines and mitochondria in dentate gyrus granule cells in Schnurri-2 knockout mice, an animal model for schizophrenia. 46th Annual meeting of Society for Neuroscience (San Diego, USA)
14. 高雄啓三 (2016.11.26) マウスはやはりヒト炎症性疾患のモデルになる －バイオインフォマティクス的手法によるマウスモデルの再評価－. 第 54 回日本生物物理学会年会 (つくば)

《生体制御シグナル研究部門》

1. 宮澤　直美，佐藤　幸治，川野　竜司（2016 年 12 月 20 日）電気化学計測による匂い物質の検出．第３回サイボウニクス研究会（神奈川県横浜市）

《動物実験センター》

1. 野口和浩，浦野　徹（2016.4）九州支部における他の実験動物関連団体との連携の現況とその将来像。日本実験動物技術者協会第 2 回東海北陸支部総会（三重）

2. Urano T（2016.8）The latest information on the regulation of the relevant animal experiments in Japan. 2016 International Symposium for Southern China Laboratory Animal Sciences, Guangzhou（China）
3. 乾　守裕，王振吉，廣江　猛，矢田　徹，伊藤昭光，浦野　徹（2016.9）サル類飼育施設害虫対策における総合防除管理の有効性。第 50 回実験動物技術者協会総会（川越）
4. 窪田美津子，王振吉，神谷絵美，太田里美，大麻孝志，杉村俊英，藤田涼太郎，廣江　猛，伊藤昭光，浦野　徹（2016.9）*Pasteurella pneumotropica* の感染事故対策と除菌効果の報告。第 50 回実験動物技術者協会総会（川越）
5. 浦野　徹（2016.10）動物実験・実験動物を取り巻く科学界の動向－最近の国内事情―。京都大学霊長類研究所シンポジウム（犬山）
6. 浦野　徹（2016.10）実験動物飼養保管基準の解説書の改正などに関する最新情報と今後の課題。第 9 回実験動物ジョイントセミナー・イン九州（北九州）
7. 乾　守裕，王振吉，廣江　猛，矢田　徹，伊藤昭光，浦野　徹（2016.11）実験動物施設屋内サル飼育室におけるオオチョウバエ発生事例。第 32 回日本ペストロジー学会（栃木）
8. Wang C-C, Kubota M, Kamiya E, Hiroe T, Ito A, Urano T（2016.11）Control and elimination strategies of *Pasteurella pneumotropica* from a mouse barrier facility in Japan. 14th The Chinese-Taipei Society of Laboratory Animal Sciences (CSLAS) Annual Meeting（Taipei）
9. Wang C-C, Inoue T, Yamane I, Kobayashi A, Ito A, Urano T（2016.11）The veterinary care and husbandry for common marmosets (*Callithrix jacchus*). 14th The Chinese-Taipei Society of Laboratory Animal Sciences (CSLAS) Annual Meeting（Taipei）
10. 浦野　徹（2017.1）「動物愛護管理法」の過去・現在・未来。NPO 法人動物実験関係者連絡協議会第 5 回シンポジウム（東京）
11. 浦野　徹（2017.1）なぜ大学等で動物実験に関する外部検証を受けなければならないのか？。動物実験の外部検証・平成 29 年度の実施準備に向けた事前説明会，公益社団法人日本実験動物学会主催，文部科学省後援（東京）
12. 浦野　徹（2017.3）なぜ大学等で動物実験に関する外部検証を受けなければならないのか？。動物実験の外部検証・平成 29 年度の実施準備に向けた事前説明会，公益社団法人日本実験動物学会主催，文部科学省後援（大阪）

【一般共同研究報告】

一般共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. 新規構造を有したイソギンチャク由来ペプチド性神経毒の作用機構に関する研究 150
2. 哺乳類カリウムチャネルの機能を制御するドメイン間相互作用の解析 150
3. 電位依存性カリウムチャネルによる情動制御機構の解明 151
4. 陸上進出に伴う環境変化と動物のもつ体性感覚受容の仕組み 152
5. 生物多様性に基づくイオンチャネル・受容体機能と生理的役割の解析 152
6. 神経変性疾患に伴う TRPV4 陽性アストロサイトの異常化 153
7. 新規レクチン複合体を用いたマウス脳における生理活性糖鎖の探索 154
8. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用 154
9. グリア細胞の発生機構の解析とその代謝基盤を支える分子機構の変化の解析 155
10. マウス大脳皮質の樹状突起の形態と局所回路形成 156
11. 自由行動下動物の脳機能計測に向けた埋植型デバイスによるイメージングシステムの開発 156
12. 視線制御に関与するニューロン・神経回路特性 157
13. 抑制性神経細胞における CTCF および Pcdhγ の機能解析 158
14. 改変型狂犬病ウイルスを用いた海馬の投射型 GABA ニューロンの網羅的検討 158
15. 弁別学習の遂行における大脳基底核直接路・間接路のニューロン活動 159
16. ジストニア様症状を示す遺伝子改変マウスの病態解析 159
17. 電気刺激法を用いた運動野ネットワークの解析 160
18. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核のニューロン応答 160
19. ウイルスベクターを用いた味細胞遺伝子導入法による味覚受容分子メカニズム解析 161
20. 前頭皮質の領野間投射回路解析 162
21. 前頭皮質深層細胞のシナプス結合解析 162
22. アストロサイト集合体の密度変化に伴うカルシウム同期の秩序解析 162
23. 室傍核オキシトシン・CRH ニューロンの多機能発現機構 163
24. 真核生物における RNA 分解制御機構の解明 164
25. 昆虫視覚系におけるヒスタミン駆動性 Cl^-チャネルの機構解析 164
26. 高速原子間力顕微鏡による温度感受性チャネルの機能動体の解明 165
27. TRPV1 が脳の炎症・発熱経路に果たす役割 165
28. 感染随伴疼痛学の創成 166
29. 温度感受性を有する侵害受容チャネルの生理機能とその制御メカニズムの解明 167
30. ジストニア・偏頭痛病態モデル Atp1a3，Atp1a2 遺伝子ヘテロ欠損マウスのシナプス機能解析 167
31. 成体新生ニューロンによる海馬神経ネットワークの制御機序 168
32. 味蕾細胞ネットワークによる情報処理機構の統合的解析および数理モデルの構築 169
33. マウスノロウイルスの高分解能構造解析 169
34. 低温位相差電子顕微による黄色ブドウ球菌ファージの 3 次元構造解析とその感染機構の解析 170
35. 位相差電子顕微鏡を用いた SFTSV 構成タンパク質の構造解析 171
36. PBCV-1 ファイバー状構造体の低温位相差顕微鏡による観察 171
37. Exploring the energy barrier for RNA polymeraseIII conformation change by Zernike phase plate cryo-EM(ZEM) 172
38. 新規蚊媒介性ウイルスの三次構造解析 173
39. 唾液腺水輸送関連タンパク質の翻訳後修飾による機能制御 173

1. 新規構造を有したイソギンチャク由来ペプチド性神経毒の作用機構に関する研究

本間智寛（東海大学短期大学部）
粂　慎一郎，陳　以珊，下村拓史，久保義弘（生理学研究所）

イソギンチャクのペプチド毒は, Na^+やK^+チャネルへの薬理学的作用が注目されており，研究用試薬としての利用や，多発性硬化症などの治療薬としての開発が進んでいる。代表者はこれまでに，上皮増殖因子（EGF）様の新規ペプチド毒をはじめ，従来の分類には当てはまらない一次構造を有したペプチド性神経毒をサワガニに対する毒性を指標にして，数多く単離してきた。本研究ではこれら新規ペプチド毒の詳細な作用機構を電気生理学的手法により解明し，研究用試薬あるいは医薬品のリード化合物としての有効利用を図ることを目的として行った。

本年度は，すでに単離に成功している新規ペプチド毒（イボハタゴイソギンチャク由来の SHTX I, II, ジュズダマイソギンチャク由来の Ha III，ヒメニチリンイソギンチャク由来の Pl II，*Cribrinopsis* sp.由来の Jiibo V，*Metridium* sp.由来の Metridin 様ペプチド）の 6 成分を精製し，アフリカツメガエルの卵母細胞に各種イオンチャネル（Kv1.2, Kv3.4, hERG, GIRK1/2）を発現させ，新規ペプチド毒による機能阻害や機能修飾を 2 本刺し膜電位固定法で解析した。その結果，イボハタゴイソギンチャク由来の SHTX I, II の 2 成分に，Kv1.2 チャネルに対する機能阻害が認められた。得られた阻害曲線をヒルプロットにより解析したところ，SHTX I（n=6）は IC_{50} 81.4±13（nM），ヒル係数 1.09±0.37, SHTX II（n=5）は IC_{50} 1073±118（nM），ヒル係数 1.18±0.17 と算出された。SHTX I, II の一次構造の違いは 6 残基目が Hyp か Pro の違いのみであるにも関わらず，このように IC_{50} に大きな差が生じたことは，構造活性相関の観点から非常に興味深い。また SHTX I, II は，そのアミノ酸配列の特徴から，イソギンチャクのペプチド毒の中で一群の新規ファミリーを形成しており，代表者は他に類似した構造を有する毒成分をいくつか単離している。いずれも，サワガニに対する毒性が個々に異なっていることから, 今後これらのファミリーの Kv1.2 チャネルに対する阻害能の強さを比較検討し，構造活性相関の解明を行う予定である。

また並行して, アッセイに供する新規ペプチド毒, ターゲットとするチャネルの種類をさらに増やして, 各種チャネルを機能阻害あるいは機能修飾するペプチド毒の探索も引き続き進めていく予定である。

2. 哺乳類カリウムチャネルの機能を制御するドメイン間相互作用の解析

古谷祐詞，塚本寿夫（分子科学研究所）
久保義弘（生理学研究所）

カリウムチャネルは，基本的にカリウムイオンを選択的に透過し，ナトリウムイオンを透過しない。カリウムチャネルが高いイオン選択性を示すメカニズムについては，原核生物カリウムチャネルの一種 KcsA の X 線結晶構造解析から，選択フィルタと呼ばれる部位の主鎖のカルボニル基がカリウムイオンに「ぴったり」配位することによる，と理解されている。実際, 哺乳類カリウムチャネル（Kir2.2, Kv1.2 など）の選択フィルタ部位も KcsA と同じ立体構造を示すため，このメカニズムは普遍的であると考えられている。

一方，いわゆる漏洩チャネルとして知られる 2 ポア型カリウムチャネル TWIK-1 は，電気生理学的解析からカリウム選択性が低く，ナトリウムイオンも透過することが知られている。ところが TWIK-1 の結晶構造においても，選択フィルタ部位の形状は KcsA と同一である。

本研究課題では, TWIK-1 のカリウム選択性が低くなっているメカニズムを明らかにするために, 精製した TWIK-1 に対して，溶液中のイオン種をカリウムからナトリウムに置換したときの赤外吸収変化，特に主鎖のカルボニル基の分子振動を反映するアミド I 領域の変化を解析し

た。その結果，カリウム条件において TWIK-1 でも KcsA の場合と同じ波数（1680 cm^{-1}）に振動バンドが見られ，このバンドを，選択フィルタとカリウムイオンとの相互作用を反映する「指紋バンド」として同定した。しかし，カリウムイオンとナトリウムイオンの割合を変化させた際に，TWIK-1 の「指紋バンド」は，カリウムイオン濃度の低下に伴い減衰しやすいことを見出した。さらに TWIK-1 のカリウム選択性を高めた変異体では，このバンドのカリウム親和性も大きくなった。つまり選択フィルタのカリウム親和性の低下が，TWIK-1 のイオン選択性が弱めていると考えられた。

また，TWIK-1 のイオン選択性は，細胞外環境によって変化することが知られており，細胞外ドメインが細胞外環境を感知することが示唆されている。そこで細胞外ドメインを欠失させた TWIK-1 変異体を作製し，それらが哺乳培養細胞で野生型と同様に発現することを確認した。今後この細胞外ドメイン欠失変異体についても赤外分光解析などを行い，細胞外ドメインと選択フィルタ部位がどのように TWIK-1 のイオン選択性を制御するのかを明らかにしていく。

3. 電位依存性カリウムチャネルによる情動制御機構の解明

貝淵弘三，坪井大輔（名古屋大学大学院　医学系研究科）
下村拓史，久保義弘（生理学研究所）

情動とは，喜び，怒り，悲しみ，恐怖，不安というような激しい感情の動きである。快情動行動が発現する際，ドーパミンによって側坐核の D1R（タイプ 1 ドーパミン受容体）−中型有棘神経細胞が興奮性の低い状態から高い状態へと遷移することで神経回路が作動し快情動行動が発現する。近年，私どもは新規リン酸化プロテオミクス法を用いてドーパミンが制御する情動制御シグナルを同定した（Nagai et al., Neuron, 2016）。快情動学習および記憶過程においてドーパミンは D1R 受容体を通じて PKA/Rap1/MAPK シグナル伝達経路を活性化することで，神経活動を調節していた。ドーパミンにより誘引される MAPK カスケードの活性化は直接的に神経膜興奮性を制御していることが明らかになったが，膜興奮性制御に関わる分子基盤は明らかになっていなかった。

本共同研究では，情動発現に関わる線条体の中型有棘神経細胞の膜興奮性を制御する細胞内シグナル機構を解明するべく，電位依存性カリウムチャネルの MAPK リン酸化修飾作用について検討した。予備的解析データから私どもは MAPK が Kv7 ファミリーK^+チャネルサブユニット KCNQ2 をリン酸化することを明らかにしていたことから，当該チャネルに着目して解析を行った。アフリカツメガエル卵母細胞にヒト KCNQ2(Q2) および KCNQ3(Q3)の cRNA を注入し，発現させたイオンチャネル電流を二本刺し膜電位固定法により測定した。野生型 KCNQ チャネルは既報（Nakajo et al, J Physiol, 2005）と類似の電位依存性の電流が観察された。当該条件下において Raf キナーゼの共発現は Q2/3 ヘテロチャネルの活性化曲線に影響を及ぼした。この影響は MEK（Raf キナーゼの下流因子）阻害剤の付加により消失した。更に私どもはリン酸化プロテオミクス解析から MAPK により修飾を受ける Q2 リン酸化部位を同定した。MAPK による KCNQ2 リン酸化の生理的意義を検討するため，野生型またはリン酸化部位欠損 Q2 変異体を発現させた卵母細胞を用いて電気生理学的解析を行った。野生型 Q2 チャネルに比べて，変異型 Q2 チャネルでは，Raf キナーゼの共発現の効果が消失していた。これらの結果は，MAPK カスケードが KCNQ チャネルの活性化を制御することを示していた。

4. 陸上進出に伴う環境変化と動物のもつ体性感覚受容の仕組み

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

外界刺激の主要なセンサーである TRPV1 や TRPA1 といった TRP チャネルは, 脊椎動物の水中から陸上への進出に伴い，劇的な生存環境の変化に適応する為，大きく機能変化を獲得したと考えられる。しかし，その機能変化の詳細は明らかにされていない。本研究では，TRPV1 及び TRPA1 を中心に陸生化に伴う機能変化を明らかにする。これまでのメダカ及びフグの TRPA1 の解析により, 水中生活する魚類の TRPA1 は閾値が不明確で徐々に高温活性化される特性を持ち，高温閾値を持つ陸上動物型 TRPA1 とは異なることが示唆されている。

本年度は，まず真骨魚類メダカの 2 種の TRPV1（olTRPV1a と b）に注目した。チャネル配列の系統関係から TRPV1 と TRPV2 は, 両生類以上で分岐したもので, 魚類のもつ TRPV1 は TRPV2 分岐前の TRPV1/2 と考えられている。しかもメダカには, 2 種存在する。そこで, それらがどのような機能を持ち, なぜ2種存在するのか, 機能解析を行った。カエル卵母細胞を用いた二本刺し膜電位固定法により 3 種の侵害刺激性化学物質(カプサイシン，2-APB，酸)に対する応答を解析した。すると，カプサイシンにはどちらも応答しなかったが，2-APB と酸に対しては olTRPV1b のみが応答した。哺乳類 TRPV2 は, 浸透圧変化によって活性化されることが示されているので，もし魚類 TRPV1 が TRPV2 の分岐前の TRPV チャネルであれば, この TRPV2 の機能を有している可能性が考えられる。そこで，次に二本刺し膜電位固定法により高張液と低張液に対する応答を解析した。結果，高張液に対して olTRPV1b のみ応答する傾向があり，同様の傾向がラット TRPV1 にはみられずラット TRPV2 にみられた。今後, 詳しい検討が必要であるが, olTRPV1b に四肢動物の TRPV2 の機能があることが示唆された。また, 温度に対する応答性の解析が更に必要であるが，メダカの 2 種の TRPV1 は大きく機能が異なることが考えられた。

有尾両生類アホロートルの TRPA1（axTRPA1）についても，新たに c DNA を単離し機能解析を行った。EST 情報しか存在しなかった為, axTRPA1 の EST 配列の発現をアホロートル後根神経で検出し，その配列を基に完全長 cDNA を取得した。次に，アホロートルとニシツメガエル TRPA1 の化学物質応答性について比較解析した。結果, 代表的なリガンドへの応答性は両者類似していたが, methyl anthranilate に対しては，axTRPA1 のみ応答性を示した。更に，axTRPA1 の温度応答性を解析した結果，高温応答が検出され，41℃付近に高温閾値を持つことが示された。即ち，有尾両生類 TRPA1 は，既に陸上動物型の高温センサー機能を獲得していると考えられた。

5. 生物多様性に基づくイオンチャネル・受容体機能と生理的役割の解析

岡村康司（大阪大学大学院 医学系研究科），岡戸晴生 (東京都医学総合研究所)
小野富三人（大阪医科大学），加藤総夫（東京慈恵会医科大学）
青木一郎（名古屋大学大学院 理学研究科）
久保義弘（生理学研究所）

本研究はイオンチャネル・受容体機能を生物間で比較し，その動作原理の共通項や多様性を明らかにすることを目的とした。

岡村グループは，マウスとゼブラフィッシュの電位依存性 H^+チャネル（VSOP）を比較し，電気生理学的性質の差異を見出した。また亜鉛感受性に 10 倍以上の差異があり血清中の亜鉛濃度の動物種間の違いと相関していた（論文投稿中）。

岡戸グループは尾索動物ホヤの AMPA 型 Glu 受容体 ciGluA について解析を行い，これが神経胚期から発現しており，この発現を抑制すると光受容器官形成と変態が阻害されることを見いだした。形態形成を司る AMPA 型

グルタミン酸受容体の新奇機能として論文発表した。

小野グループはゼブラフィッシュで筋肉型ACh受容体ε,γサブユニットのダブルノックアウト個体を作成し,これらは遅筋と速筋で興味深い発現型を示した。また電位依存性 K^+チャネル KCNQ1 を常時開状態に固定するKCNE3についても解析を行い,ゼブラフィッシュではその機能が失われていることを見出した。更にマウスとの比較により，上記機能に重要な領域を同定した。興味深いことにこれらの領域がシーラカンスで保存され，シーラカンス KCNE3 が KCNQ1 制御副サブユニットとして機能することを電気生理学的に示した。

加藤グループは，ラットの脳幹スライス内の骨格筋支配運動ニューロンにおいて，代謝ストレス負荷に対するシナプス応答を比較解析し，代謝ストレスによって舌下神経ニューロンと顔面神経ニューロンではIPSC(Gly) 頻度のみが選択的に増加し，動眼神経ニューロンではIPSC(GABA) 頻度のみが増加することを明らかにした。これらの運動ニューロン間の差異が運動ニューロン変性疾患などにおける NMDA 受容体電流を介した脆弱性の差異の背景機構である可能性が示され，論文発表した。

青木グループの研究では，線虫の温度走性行動を指標とした順遺伝学的スクリーニングから, K^+チャネルの機能獲得型の変異を得た。そこで，変異体と野生型のチャネルのコンダクタンスを比較するため HEK293T 細胞に線虫 K^+チャネルを発現し whole cell patch clamp 法で電流を記録した。その結果から，実際に遺伝学的解析に基づいた予測と一致し変異体のチャネルは野生型よりも大きいコンダクタンスを持つことが示された。

6. 神経変性疾患に伴う TRPV4 陽性アストロサイトの異常化

柴崎貢志，杉尾翔太（群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野）
加納雄一朗，池中一裕（生理学研究所分子神経生理部門）

中枢神経系には神経細胞だけでなく，神経細胞の数倍のグリア細胞が存在する。特に，アストロサイトは神経細胞と機能連関していると想定され，近年の研究で積極的に神経情報伝達に貢献することがわかってきた。しかしながら，グリア細胞を用いた研究の進展は，神経研究に比べるとまだまだ発達段階にあり，グリア細胞の機能解析・分子レベルの研究の推進が急務である。そして，神経細胞とグリア細胞の研究成果が融合してこそ，脳機能を制御する分子メカニズムの実体を明らかとすることが出来る。

アストロサイトが放出する重要なグリオトランスミッターとして ATP が同定されている。しかし，どのようなアストロサイトが ATP を放出するのか？あるいは，どのようなタイムコースで放出が行われるのかは全く不明であった。生理学研究所（池中一裕教授の研究室）には，ATPイメージングを可能とする超高感度画像取得システムが生理学研究所共同利用機器として導入され，リアルタイム ATP イメージングが行われている。

培養アストロサイトを用いたこれまでの研究から，柴崎・池中は, 海馬において TRPV4 活性化依存的にごく限られたアストロサイト集団からATP放出が惹起されることを明らかにした（Shibasaki et al. J. Biol. Chem. 2014，JPS 2016）。また，柴崎・池中は，TRPV4 活性化→VNUT 含有小胞への放出シグナルというカスケードを経てアストロサイトのATP放出が引き起こされることも見いだした（投稿準備中）。柴崎・杉尾は網膜ミュラーグリアに発現する TRPV4 が網膜剥離時の神経細胞死に関与することを見いだしている。そこで，柴崎・杉尾・加納・池中は ATP イメージングシステムの検出感度向上を行い, 網膜ミュラーグリアの ATP 放出をモニタリングした。網膜ミュラーグリアに内在性 TRPV4 リガンドの 5`,6`-EET 投与すると，TRPV4 活性化に伴いウェーブ上の ATP 放出が出現した。この応答はこれまでにアストロサイトで観察されていた ATP 放出とは全く異なり, 全てのミュラーグリアが高濃度のATPを一気に放出する特徴的な様式であることを突き止めた（日本眼科学会，日本神経化学会にて発表）。柴崎・杉尾はミュラーグリアが放出した ATP が神経細胞死を惹起する可能性を見いだしており，今後は網膜剥離の病態悪化抑制に関する検討を行う予定である。

7. 新規レクチン複合体を用いたマウス脳における生理活性糖鎖の探索

西河　淳（国立大学法人東京農工大学大学院農学研究科）
中澤千秋（国立大学法人東京農工大学大学院農学府）

研究目的

脳の発生、発達過程において細胞表面糖鎖の構造や発現量が変化し、それが生理的に重要な役割を持つことが次第に明らかになりつつあるが、未だ詳細は不明な点が多い。ボツリヌス毒素由来のレクチン複合体は、従来のレクチンと認識する糖鎖構造が異なることや多量体を形成しているため糖鎖結合力が強いことなどが示唆されている。そこで本研究では、この新規ツールを用いて、新たな細胞表面糖鎖構造変化を探索し、その生理的な役割を解明することを目的として共同研究を開始した。

研究方法と結果

過去の研究に於いて我々はボツリヌス毒素由来のレクチン複合体構成成分の立体構造や糖鎖結合能を明らかにしており、レクチンの糖鎖結合部位のアミノ酸置換により異なる糖鎖を認識する変異体の創出も行っている。これら変異体を組み合わせて創造した新規レクチン複合体は、1 分子の複合体中に糖鎖構造認識･結合サイトを最大で 15 箇所持ち、しかも個々のレクチンに糖鎖認識の異なる変異レクチンを用いれば、結合する糖鎖構造を様々なものにマニピュレートすることが出来る。

本研究では、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定したマウス脳の凍結切片をスライドガラスに貼付したものに対して、予め蛍光標識した上記の種々の変異レクチン複合体を作用させ、蛍光顕微鏡で観察することにより、脳の発達過程や部位特異的に反応する変異レクチン複合体のスクリーニングを行った。

その結果、小脳白質のランビエ絞輪に特異的に結合するレクチン複合体が見つかった。

今後は、このレクチン複合体の認識する糖鎖構造をレクチンアレイ等を利用して詳細に検討し、そのような糖鎖を持つ糖タンパク質やプロテオグリカン、糖脂質等のランビエ絞輪に特異的に発現、存在している生理的意義を検討していく予定である。

8. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用

等　誠司（滋賀医科大学医学部）
山中龍也（京都府立医科大学医学部）
正木　勉，森下朝洋（香川大学医学部）

糖タンパク質に結合するN結合型糖鎖は，細胞間相互作用やシグナル伝達などにおいて様々な役割を演じている。中枢神経の発生・分化の過程や，病変に伴って糖タンパク質糖鎖の組成は大きく変動するが，その詳細な動態や意義についてはまだ充分に解明できていない。本共同研究は糖鎖関連遺伝子群の発現解析と糖鎖分析とを通じて中枢神経系の発生・分化の過程の糖鎖変化を網羅的に把握し，それを基に様々な神経疾患と糖鎖変化の関連を解析することを目的とする。

平成 27 年度までに, 時空間特異的な発現の見られる糖鎖関連遺伝子群を同定し, その中から α 1,3 フコース転移酵素遺伝子 Fut10 遺伝子が発生・発達期のマウス脳において神経幹/前駆細胞が集積している脳室周囲に強く発現すること，未分化な神経幹/前駆細胞が発現する LewisX は主に Fut10 が生合成することを報告した。さらに，神経幹細胞や ES 細胞で Fut10 をノックダウンすると, 未分化性が維持できず，不適切な分化を誘導することから，Fut10/LewisX は幹細胞の未分化性に関わると考えられるが, その分子メカニズムは不明であった。平成 28 年度は，テトラサイクリンシステムを用いて Fut10 の過剰発現を，CRISPR/Cas9 システムを用いて Fut10 のコンディッショナルノックアウト（cKO）をすることができる ES 細胞の

樹立を行った。Fut10 過剰発現によって LewisX を含む糖タンパク質が増加することが確認されたので，池中研究室が所持する 3 次元 HPLC 分析システムを駆使してその糖鎖の分子実態を解析している。Fut10 cKO については，ホモの ES 細胞がまだ得られていないので，次年度以降ホモ Fut10 cKO ES 細胞や，Fut9 KO マウスから樹立した ES 細胞を用いて Fut9::Fut10 ダブル KO ES 細胞の樹立を目指す。平行して，Fut10 の神経発生における役割を解明するため，共同研究としてコンディッショナルノックアウトマウスを作製中である。Fut10 遺伝子のターゲッティングベクター構築を完了し，ES 細胞に形質導入して正しく組み換わりのおきた ES 細胞のスクリーニングを行っている。今後，陽性クローンの ES 細胞を用いてキメラマウスの作製を進め，ノックアウトマウスを作出する予定である。

9. グリア細胞の発生機構の解析とその代謝基盤を支える分子機構の変化の解析

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）
竹林浩秀，備前典久（新潟大学 医学部解剖学第二教室）
渡辺啓介（新潟大学 医学部解剖学第一教室）

グリア細胞は，神経細胞の機能を補助するのみならず，積極的に神経機能に関わる事が近年明らかとなっている。このグリア細胞，神経細胞による機能的回路網の形成は，発生・発達期に起こると考えられる。グリア細胞の発生機構は，グリア細胞がどの脳領域で生まれて目的の領域まで移動していくか，あるいはグリア細胞としての機能をどの時点で獲得するかなどが不明であり，これらの知見は神経細胞と比較して解析が遅れている。本共同研究では，生理学研究所の池中一裕教授と共同で，グリア細胞の発生と発生機構に関するメカニズムの解析を行った。

我々は，グリア発生における細胞内代謝経路の変化に着目した。グリア細胞のうち，アストロサイトはグリコーゲン代謝を行う中枢神経系の唯一の細胞種である。このグリコーゲン代謝が発生期の終脳でどのような時系列変化を示すかを解析した。その結果，発生後期の終脳背側・腹側の境界領域においてグリコーゲンは豊富に存在していることが明らかとなった。また，グリコーゲン利用酵素の阻害剤を新生仔期の側脳室に投与するとアストロサイト系譜細胞の細胞増殖が減少することを明らかとし，報告した（Gotoh et al., J Cereb Blood Flow and Metab, 2016）。

更に，視神経のオリゴデンドロサイトはニワトリを用いた解析では脳の第三脳室底部に由来することが明らかとなっている。しかしマウスの視神経におけるオリゴデンドロサイトの起源は明らかとなっていなかった。オリゴデンドロサイト前駆細胞のマーカーである PDGFRα や，Olig2 といった分子の発現を解析したところ，第三脳室の底部にはオリゴデンドロサイト前駆細胞の分布は認められなかった。そのため，脳内にある視神経のオリゴデンドロサイト前駆細胞をレトロウイルスや，Olig2-CreER 遺伝子改変マウスを用いた時期特異的 Cre-loxP 系によって標識し，視神経オリゴデンドロサイトの出現様式を調べた。その結果，マウスでは視神経のオリゴデンドロサイトが Preoptic area に由来することが明らかとなり，これを報告した（Ono et al., Brain Struct Funct , 2017）。

現在，前者のプロジェクトでは発生期におけるグリコーゲンの細胞内局在を明らかとするため，後者のプロジェクトではマウスやニワトリにおける視神経オリゴデンドロサイトの発生における微細構造を解析するため，3D-SEM を用いた電子顕微鏡解析を行うことを計画している。このため，分子神経生理部門　池中一裕教授，大野伸彦准教授と引き続き共同で解析を行っている。

10. マウス大脳皮質の樹状突起の形態と局所回路形成

下郡智美（理化学研究所 脳科学総合研究センター）
足澤悦子，吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

神経回路形成には樹状突起と軸索を介したシナプス接続が必要である。樹状突起の本数，形態，枝分かれの状態は，正しい回路形成に大きく影響を及ぼすと考えられている。これまでの我々の研究から，マウス大脳皮質の有棘星状細胞の樹状突起の形態を形成するための分子メカニズムを明らかにしているが（Matsui et al., 2013），実際に過剰な樹状突起を形成した時に起こる神経回路異常の実態はまだ解明されていない。そこで，本研究では本来ならば除去される樹状突起を残したままでどのような回路形成を起こすのか，電気生理学を用いて明らかにする。まず，子宮内遺伝子導入法を用いて，安定して大脳皮質の有棘星状細胞への遺伝子導入を行える事を確認した後，Btbd3 shRNA コンストラクトを導入した。Btbd3 遺伝子のノックダウンによって生じる過剰な樹状突起がシナプスを形成しているのか，その場合にはどの繊維とシナプス結合しているのかを明らかにするために以下の実験を行った。まず, Btbd3 がノックダウンされた有棘星状細胞にバイオサイチン注入することによって詳細な形態を観察したところ，本来ならば除去されているはずの樹状突起上に正常な樹状突起とほぼ同数のスパインを確認した。

これは，過剰な樹状突起にも入力がある事を示唆している。そこで次にこの過剰な樹上突起がどの神経細胞とシナプス結合をしているのかを明らかにするため，大脳皮質内の並列している細胞を caged glutamate を用いて刺激し, Btbd3 がノックダウンされた有棘星状細胞での EPSC を調べたところ変化は見られなかった。次に，視床軸索から入力を受けているのかを明らかにするために，視床にチャネルロドプシンを AAV ウィルスで発現させる試みを行った。この際に有棘星状細胞が本来入力を受ける視床核 VPM を避けて，ウィルスを視床核 POm に限局して発現させる必要があることから，その技術開発を行っている。また，網羅的に過剰な樹状突起への入力を調べるために，本来は有棘星状細胞に入力しない視床の様々な領域を刺激して，有棘星状細胞の EPSC を調べる方法を行えるように，視床軸索繊維が切断されない視床／大脳皮質スライスを作成する条件検討を行っている。今後はこれらの技術を用いて，過剰な軸索への入力元を明らかにしていく。

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

須永圭紀，白石愛香里，藤本光輝，笹川清隆，太田　淳
（奈良先端科学技術大学院大学）

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

まず第 1 に，前年度に脳表計測用イメージングデバイスの課題であった励起光漏れによる撮像領域の減少を抑えることを狙い，黒色の遮光フィルタを導入した埋植型イメージングデバイスを開発した。励起光源である LED 付近の撮像領域が飽和してしまいやすく，本来広範囲の脳機能イメージングが可能な特性を活かせていないことが課題となっていた。今回，遮光フィルタを導入したことにより励起光漏れを従来の 10%以下にまで低減するこ

とに成功し，広範囲イメージングが可能となった。

第 2 に，新たに開発した埋植型イメージングデバイスを用いて，実際に神経活動計測に伴う GCaMP 蛍光反応の観察実験に適用した。本研究の最終目標は自由行動中のマウスに対する脳神経活動計測を実現することである。本研究ではその前段階として，本デバイスを用いて GCaMP 蛍光反応がリアルタイムで観察可能であることを実証するため麻酔下マウスに対し実験を行った。本実験では，埋植型イメージングデバイスを麻酔下のマウス脳視覚野に固定し，視覚刺激に伴う GCaMP 蛍光強度変化反応を観察した。マウス前方に設置したモニターから出力される視覚刺激前後の蛍光強度を測定したところ，視覚刺激に伴う GCaMP 蛍光強度変化の観察に成功した。前年度に行ったフラビン蛋白蛍光イメージング実験では困難であった，リアルタイムイメージングでの観察を実現した。

現在は行動下マウスの脳神経活動の実現に向けた実験系の構築を進めつつ，視覚野の脳表部だけでなく脳の断面方向の GCaMP 蛍光イメージング実現を目指し，デバイスの開発に取り組んでいる。今後，これまでに確立してきた実験系を元に改良を重ねつつ，実際に行動下 GCaMP 蛍光イメージング実験を行う予定である。

12. 視線制御に関与するニューロン・神経回路特性

齋藤康彦（奈良県立医科大学）
吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

脳幹の内側前庭神経核（MVN）や舌下神経前位核（PHN）は水平性の視線制御に関与することが知られている。MVN や PHN からの指令は外転神経核や動眼神経核を介して外眼筋へ伝えられている。MVN からの同側性投射は抑制性ニューロンが，対側性投射は興奮性ニューロンが担っており，一方，PHN では同側性投射は興奮性ニューロンが，対側性投射は抑制性ニューロンが担っていると考えられている。しかし，これらの知見は断片的な実験結果を組み合わせたものにすぎず，MVN や PHN から外眼筋への投射経路を直接調べた研究はない。そこで，本研究ではシナプスを一つだけ乗り越えて逆行性に運ばれる改変型狂犬病ウイルス（Rabies ウイルス）を用いて，蛍光タンパクを発現する Rabies ウイルスとエンベロープタンパク質をコードしたヘルパーウイルス（アデノ随伴ウイルス）を外眼筋に投射している外転神経核ニューロンの神経終末に共感染させることで，外転神経核ニューロンを介して MVN や PHN ニューロンを蛍光標識させ，MVN や PHN から外眼筋への投射経路を明らかにすることを目的とする。抑制性ニューロンの同定のために VGAT-Venus ラットを用いるため，赤色の蛍光タンパク（mCherry または tdTomato）を発現する Rabies ウイルスを作製し，Venus と赤色蛍光タンパクとの 2 重標識の有無を検討する計画である。

本年度は，外直筋へ投与したアデノ随伴ウイルス（AAV6-EF1α-FLEX-TVA mCherry，以下 AAV6）が外転神経核ニューロンの軸索終末に取り込まれ，細胞体まで逆行性に運ばれるかについて検討した。生後 6 週齢の Long-Evans ラットにイソフルランの吸入麻酔を施し，ガラス電極を用いて外直筋に AAV6 を注入した。外転神経核で Cre を発現させるため，2 週間後に同じラットを麻酔下において外転神経核に別のアデノ随伴ウイルス（AAV2-CMV-Cre）を注入した。7 週間の生存期間の後，かん流固定し，脳組織標本を蛍光顕微鏡で観察した。その結果，外転神経核において mCherry を発現するニューロンが，想定より少なかったが，観察された。このことは，AAV6 が外転神経運動ニューロンの軸索終末に取り込まれたことを示す。抗 Cre 抗体で免疫染色したところ，多くの外転神経核ニューロンにおいて Cre の発現が確認された。したがって，外転神経核で mCherry 発現ニューロンの数を増やすためには，AAV6 の投与方法のさらなる改良が必要であることが明確になった。

13. 抑制性神経細胞における CTCF および Pcdhγ の機能解析

平山晃斉，谷垣宏美，有賀理瑛，八木　健（大阪大学）
足澤悦子，吉村由美子（生理学研究所）

近年，細胞を特徴づける遺伝子発現には，エピゲノム情報に基づき染色体が適切な三次元構造（高次染色体構造）を形成する必用があることが明らかとなってきた。DNA 結合因子 CCCTC（CTCF）は，この高次染色体構造形成に働くこと，発達障害や統合失調症で *CTCF* 遺伝子領域に変異が認められることが報告されている。本研究では，抑制性神経細胞における CTCF の役割を明らかとするため，抑制性神経細胞特異的に CTCF を欠損させたマウス(CTCF -cKO)を作製し，解析をおこなった。

CTCF -cKO マウスは発育不全を示し，生後 1 週間以降から手足の硬直や痙攣発作が観察され，生後 1 ヶ月以内に死亡した。免疫組織化学法を用いて大脳皮質体性感覚野の抑制性神経細胞の分布を解析したところ，Ⅱ/Ⅲ層からⅣ層にかけた分布に異常を認めた。次に，生後 2 週齢のマウスから作製した急性スライス標本を用いて，4 層に刺激電極を置き，Ⅱ/Ⅲ層の興奮性神経細胞に対する抑制性の入力をホールセルパッチクランプ法により取得した。その結果，CTCF -cKO マウスでは evoked IPSC の振幅低下が認められた。

中枢神経系では，クラスター型プロトカドヘリン(c-Pcdh)が CTCF により制御されていることが明らかとなっている。そこで, Pcdhγ を大脳皮質の抑制性神経細胞で欠損したマウス（Pcdhγ-cKO）を作製して解析をおこなったところ，Pcdhγ-cKO マウスでも発育不全が認められ，生後 1 ヶ月以内に死亡した。体性感覚野の抑制性神経細胞の分布を解析した結果，CTCF -cKO で認められた変化と同様の傾向を示した。また，体性感覚野の切片標本を作製してホールセル記録を行ったところ，Pcdhγ-cKO マウスでも evoked IPSC の振幅低下が認められた。

共同研究により CTCF および Pcdhγ が抑制性シナプスの形成に重要な役割を果たしていることを示す結果が得られたため，今後はシナプス形成の詳細な解析を進めていく。

14. 改変型狂犬病ウイルスを用いた海馬の投射型 GABA ニューロンの網羅的検討

大篭友博（九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野）

我々は最近カイニン酸投与による側頭葉てんかんモデルにおいて，海馬のみならず内外側中隔核においてミクログリアが活性化していることを見出した。古典的なトレーサーを用いた先行研究から，海馬の抑制性神経細胞は内外側中隔核への投射路が証明されており，海馬錐体細胞発火の同期化に重要であるといわれている。しかしながら古典的なトレーサーは投与部位近傍に存在する神経細胞に対して非特異的に取り込まれるため，シナプス後部の神経細胞の性質について特定することが不可能である。本研究では優れた越シナプストレーサーである改変型狂犬病ウイルスを用いて，どのタイプの海馬抑制性神経細胞が，どのタイプの内外側中隔核神経細胞に投射しているのか，その 1 対 1 対応関係を明らかにすることを最終目標とした。本研究では狂犬病ウイルス G タンパク質と赤色蛍光タンパク質 RFP を発現するアデノ随伴ウイルスと，G タンパク質遺伝子領域を GFP 遺伝子に置き換えた改変型狂犬病ウイルスを使用して実験を行った。予備検討として，各ウイルスの単独感染実験を行った。アデノ随伴ウイルス，改変型狂犬病ウイルスをそれぞれ 8 週令マウス海馬 CA1 領域の錐体細胞層を標的として圧注入し，それぞれ 14 日後・4 日後に 4%PFA＋0.05%グルタルアルデヒド溶液で灌流固定を行った。アデノ随伴ウイルス単独感染では錐体細胞のほか，上昇層の抑制性細胞（O-LM 細胞と思われる）の細胞体において RFP のシグナルが観察され，興奮性細胞・抑制性細胞の両者に感染性を示すことが明らかになった。改変型狂犬病ウイルスの単独感染では錐体細胞に大部分の感染が認められ，抑制性細胞に対してはほとんど感染が見られなかった。また注入部位近傍に投射軸索を進展していると予想される領域（大脳皮質や対側海馬）においても興奮性細胞の

一部が GFP 陽性となっていた。次に，両者のウイルスを二重感染させる実験を行った。アデノ随伴ウイルスの感染から 14 日後に改変型狂犬病ウイルスを同領域に対して圧注入し，4 日後に灌流固定を行った。その結果，単独感染と同様にアデノ随伴ウイルスに由来する RFP シグナルは興奮性細胞・抑制性細胞の両者に対して認められたのに対して，改変型狂犬病ウイルスに由来する GFP シグナルはほとんど興奮性細胞に対してのみ認められた。今後，Cre リコンビナーゼ発現マウスを使用した細胞種特異的な感染実験が必要であると考えられるが，改変型狂犬病ウイルスの逆行性感染には，上位神経細胞の種類によって感染選択性がある可能性がある。

15. 弁別学習の遂行における大脳基底核直接路・間接路のニューロン活動

小林和人（福島県立医科大学医学部附属生体情報伝達研究所生体機能研究部門）
佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）

パーキンソン病における認知障害の一症状として観察される弁別学習の障害は，大脳基底核回路の中心的な構造である線条体の関与が示唆されているが，線条体における詳細な制御機構は明らかにされていない。これらの解明は，認知障害の新しい治療法へとつながる基盤となることが期待される。本研究では，背側線条体に由来する直接路を含むものと，間接路を含むものの 2 種類の神経回路に注目し，かつ遺伝子組換えラットを用いて，ニューロン活動の生理学的解析を行う。そして，2 種類の神経回路が持つ役割や機能分化について明らかにすることを目的とした。

我々が開発したイムノトキシン細胞標的法（immunotoxin-mediated cell targeting, IMCT）は，遺伝子発現の特異性に基づいて特定の神経細胞タイプを誘導的に損傷させる技術である（Kobayashi et al., 2012）。IMCT を用いて直接路または間接路を選択的に除去することで，各々の投射ニューロンの活動を区別して解析することが可能となる。

H28 年度は，線条体間接路を構成する GABA 作動性神経細胞特異的にイムノトキシンの標的分子であるヒトインターロイキン-2 受容体 α サブユニット（IL-2R）が発現する D_2R-IL2R ラットを用いた，線条体間接路の選択的除去を誘導するイムノトキシンの処置条件（濃度・注入量・脳座標）を確立した。さらに，直接路の選択的除去を誘導するため，線条体直接路を構成する GABA 作動性神経細胞に D_1R 陽性細胞と同じく選択的に発現する，P 物質前駆体（tachykinin, Tac1）に着目し，Tac1 陽性細胞に選択的に Cre 酵素を発現する Tac1-Cre ラットを作製し，蛍光タンパクに対する抗体を用いた三重免疫染色を実施した。解析の結果，線条体直接路を構成する GABA 作動性神経細胞特異的に，Cre 酵素を高発現するラットを数系統得ることができた。

16. ジストニア様症状を示す遺伝子改変マウスの病態解析

竹林浩秀，堀江正男，ホサイン イブラヒム，酒井知史（新潟大学）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

Dystonia musculorum (*dt*) マウスは，*Dystonin* (*Dst*) 遺伝子の変異により，感覚神経変性および四肢や体幹の異常な捻転運動などのジストニア様症状を示す。*dt* マウスの神経症状の原因となる *Dst* アイソフォームは末梢神経系と中枢神経系に広く発現している。*dt* マウスの末梢神経系における感覚神経変性は出生後に進行するが，ジストニア様症状に関与する中枢神経系の異常についてはほとんどわかっていない。我々は *dt* 変異マウスにおけるジストニア様症状発現に関わる脳領域や神経回路を明らかにするため，解剖生理学的な解析を行っている。

本年度は，理化学研究所バイオリソースセンターで樹立された，*dt* マウスに良く似た神経症状を示す自然発生ミュータントマウスについての解析を進めた。連鎖解析により，自然発生突然変異マウスの原因遺伝子は 1 番染

色体上の *D1Mit373, D1Mit410* マーカーの近くに存在することがわかった。近傍に *Dst* 遺伝子が存在することから，*Dst* 遺伝子トラップマウス（Dst^{Gt} マウス）と自然発生突然変異マウスを掛け合わせたところ，コンパウンドヘテロマウスは，*dt* マウスと同様の運動障害，感覚神経変性を示した。すなわち，アレリズムテストにより，自然発生突然変異マウスの原因遺伝子は *Dst* であることが明らかとなり，本アリールを Dst^{23Rbrc} と呼ぶ事にした。変異解析を行ったところ，プラキンドメインに終止コドンが生じるナンセンス変異を同定した。さらに，Dst^{23Rbrc} ホモマウスの表現型解析を行い，上肢の骨格筋の筋電図を測定では，主動筋と拮抗筋の同時収縮を観察し，ジストニアの特徴を示すことを明らかにした。次に組織学的解析を行ったところ，後根神経節や脊髄の一部の神経細胞にニューロフィラメントの異常蓄積が観察された。さらに，脳幹の網様体や前庭神経外側核などの運動性神経核や感覚性の三叉神経感覚核のニューロン細胞体で，異常なニューロフィラメントの蓄積が検出された。これらの神経細胞の機能異常により，運動障害が起こっている可能性が考えられた。以上の結果を論文発表した（Horie *et al*, Neurobiol Dis　96:271-283, 2016）。

今後は，Dst^{Gt} アリールを用いて Cre 組換えによるコンディショナル実験を行い，運動障害に関わる脳領域や神経回路について調べていく予定である。

17. 電気刺激法を用いた運動野ネットワークの解析

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

前頭葉には複数の運動関連領野があり，これらが運動遂行にあたって中心的な役割を果たす。解剖学的研究により，前頭葉と小脳を初めとする皮質下部位との連絡様式が明らかになってきている。こうした大脳皮質―皮質下ネットワークが運動関連領野の機能遂行にあたり重要であると考えられる。そこで，その機能様式を明らかとすることを目指して本研究は実施された。特に小脳との運動関連領野との連関に注目した。

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

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

２）スパイク活動については，活動増加と活動減少が記録された。

３）小脳核の刺激に応答するスパイク活動が記録される細胞は局所場電位の応答極性にかかわりなく存在していた。

１）の結果は先行研究をサポートする。３）の結果は小脳から入力を受ける細胞が皮質の浅層から深層にかけて広く存在することを示す。また，小脳核－視床－大脳皮質系は興奮性伝達物質を主として使用しているので，２）の抑制性応答が記録されたのは想定外であった。小脳から入力を受ける細胞の活動は運動実行時に複雑な興奮抑制応答を示すことが今回明らかとなっており，小脳入力によって駆動された興奮抑制応答によってこうした活動が形成されている可能性が示唆された。

18. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核のニューロン応答

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

大脳皮質－大脳基底核－視床－大脳皮質回路は，運動系ループ，連合系ループ，辺縁系ループなどの並列した回路が存在していると考えられており，その機能異常と疾患との関連が明らかになりつつある。運動系ループに

関連したパーキンソン病やジストニアがその代表であるが，強迫性障害や薬物依存のような精神疾患も辺縁系ループとの関連が示唆されており，DBS による機能回復が期待されている。本研究では，辺縁系ループに関わる大脳基底核ニューロンの神経生理学的解析を行うことにより，ヒト疾患の治療に役立てることを目的としている。

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

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

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

19. ウイルスベクターを用いた味細胞遺伝子導入法による味覚受容分子メカニズム解析

加塩麻紀子，樽野陽幸（京都府立医科大学・細胞生理学部門）
佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）
小林憲太（ウイルスベクター開発室）

味覚は摂食行動を変化させる感覚現象であるが，その細胞・分子レベルでの味物質受容から行動につながる詳細なメカニズムについては未解明な点が多い。その障壁として，味覚受容に関わる分子の機能を in vivo で評価するための遺伝子導入技術が難しい点があげられる。本年度は，味覚の分子メカニズム解明への応用を目的とし，ウイルスベクターを用いた味細胞への高効率遺伝子導入技術を確立した。

各種セロタイプのアデノウイルス（AAV-1, -2, -5, -6, -DJ, DJ/8）およびレンチウイルスを用い，GFP 発現を指標とした導入効率の最適化を行った。マウスを十分な麻酔下で背臥位に固定し，茸状乳頭が存在する舌前部領域の上皮下に微小ガラスキャピラリーを用いて GFP 発現ウイルスベクターを注入，刺入部位を縫合ののちマウスを回復させた。感染後に，麻酔下にて灌流固定により舌組織を採取し，抗 GFP および抗味細胞マーカー抗体を用いた免疫組織学的解析を行ったところ，AAV-DJ を用いた場合に最も高率に GFP 発現が認められた。さらに，Ⅰ～Ⅲ型味細胞それぞれへの遺伝子導入効率を，Ⅱ型味細胞マーカー（PLCβ2）およびⅢ型味細胞マーカー（aromatic l-amino acid decarboxylase, AADC）を指標として評価した結果，Ⅰ～Ⅲ型いずれの味細胞にも GFP 発現が認められた。

本研究の成果より，マウス味細胞への遺伝子導入法として，アデノウイルスベクターを用いた手法が有効であること，Ⅰ～Ⅲ型いずれの味細胞種に対しても遺伝子導入が可能であることを明らかにすることができた。本検討で得られた成果は，以下の通り本年度に論文発表済みである。

発表論文

Akiyuki Taruno*, Makiko Kashio*, Hongxin Sun, Kenta Kobayashi, Hiromi Sano, Atsushi Nambu and Yoshinori Marunaka (2017) *Equally contributed. **Adeno-Associated Virus-Mediated Gene Transfer into Taste Cells In Vivo.** Chemical Senses 42(1):69-78

20. 前頭皮質の領野間投射回路解析

植田禎史（東京女子医科大学・医学部）

ラットの前頭皮質を構成する二次運動皮質において，2/3 層の錐体細胞は主に同側の一次運動皮質や側頭部の嗅周皮質，そして反対側の二次運動皮質へ投射する。層特異的なマーカー分子の発現パターンによって二次運動皮質の 2 層と 3 層を同定し，同側の一次運動皮質，嗅周皮質，または反対側の二次運動皮質への蛍光逆行性トレーサー注入によって標識された二次運動皮質の皮質投射細胞タイプの層分布パターンと共局在を定量的に解析した。また，逆行性トレーサーによる標識の後にスライス標本を作製し，蛍光顕微鏡下で同定したそれぞれの皮質投射細胞タイプからホールセル記録を行い，バイオサイチンを注入し，記録後の錐体細胞をパラホルムアルデヒドで固定した。固定切片は ABC－ニッケル DAB 反応を用いて記録細胞を可視化し，標本を作製した。その後，ニューロルシダを用いて PC 上で樹状突起形態を三次元的に再構築した。これらの手法を用いて，電気生理学的性質または樹状突起形態が皮質投射細胞タイプによって異なるかを解析した。

さらに，これらの皮質投射細胞タイプ間の局所結合性を調べるため，２種類の逆行性トレーサーによる同時標識と，２細胞からの同時ホールセル記録を行い，皮質投射細胞タイプ間の神経結合特性の解析を進めた。

21. 前頭皮質深層細胞のシナプス結合解析

苅部冬紀（同志社大学研究開発推進機構）
藤山文乃（同志社大学脳科学研究科）

前年度までの共同研究により，ラット大脳皮質運動野の 6 層興奮性錐体細胞間のシナプス結合について電気生理学的に明らかにした。一方，6 層の視床投射細胞が抑制性細胞に対して好んでシナプス結合をするかどうかについて，これまでの報告でははっきりした結論が出ていない。本年度は，この点を明らかにするために，スライスホールセル記録により 6 層視床投射細胞を標識した脳切片を染色し，視床投射細胞の樹状突起と軸策を光学顕微鏡下で三次元的に再構成した。この切片から，さらに超薄切片を作成し，包埋後免疫組織化学法により GABA 作動性抑制性細胞を金属粒子により標識し，電子顕微鏡観察を行うことを試みた。

従来通りの染色標本で，ATUMtome を使い，超薄切片を作成し，postembedding GABA immunohistochemistry 処理し，走査型電子顕微鏡観察を行った。0.1% Triton-X100 でエッチング処理をするため，コントラストが低く観察に難があった。そこで，ブロック金属染色法をより強いものに変更した。

これらの結果，ほぼ良好な標本を得ることに成功し，現在，詳細な観察を行っている。

22. アストロサイト集合体の密度変化に伴うカルシウム同期の秩序解析

桂林秀太郎（福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室）
鍋倉淳一，和氣弘明，江藤　圭（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

高次脳機能を有する高等動物ほど，脳内のグリア細胞の数が多い。その多数を占めるアストロサイトが欠除すると，シナプス伝達は低下する。即ち，アストロサイトが必要十分な集合体を構築して機能することが，高次脳機能を発揮するために重要と言える。本共同研究では，アストロサイトが有するカルシウム発火とアストロサイ

トの数（n）の変化の相関関係を明らかにすることを目的とした。具体的には，300 μm 四方のドット状培養エリアにアストロサイトをランダムに播種し，アストロサイトの核周辺におけるカルシウム発火が，周囲のアストロサイト数に依存した同期性を有するか否かを明らかにし，その秩序を探った。

マイクロ培養デバイスを用いたドット状アストロサイト培養モデルの作製は次の通りである。

ニューロンの足場となるグリア細胞：マウス由来の大脳皮質アストロサイトをドット状に培養した。アストロサイト培養は，既に確立されている方法に準拠した。アストロサイト培養面積を制御するために，申請者らが独自に開発した『マイクロ培養デバイス』を用いて 300 μm 四方のドット状アストロサイト培養を行った。

ドット状アストロサイト数とカルシウム同期の相関性を見るために，蛍光指示薬の Oregon Green BAPTA-1 をドット状アストロサイトに取り込ませ，自発的に発色する蛍光を観察した。カルシウム発火の頻度およびの周囲のアストロサイトとのカルシウム発火の同期性に関する一連の解析は, Metamorph および ImageJ を使って行った。

結果，培養アストロサイトのカルシウム発火のタイミングがつかめず, 画像取得条件の設定に時間を費やした。特に本実験では培養エリアの細胞密度をランダムに変えていることから，最終的にどのように群分けして秩序をまとめられるかが不明であった。さらににカルシウム応答の特性，特に同期性について解析する必要があり，引き続き研究を継続する予定である。

23. 室傍核オキシトシン・CRH ニューロンの多機能発現機構

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

1. 絶食/再摂食に伴い, 室傍核オキシトシン（Oxt）ニューロンへのシナプス入力がダイナミックに変動することを見出している。そこで本研究では, 室傍核 Oxt ニューロンへのシナプス入力を仲介するシグナル分子の検索を行い，摂食亢進作用を示す神経ペプチドである Neuropeptide Y（NPY）を見出した。NPY 添加は，絶食負荷と同様に， Oxt ニューロンへの興奮性シナプス入力を減弱させた。この作用の機序として，c AMP の低下，NMDA 受容体の減少を見出した。
2. げっ歯類は夜行性であり, 明期には摂食を停止する。光による摂食停止の脳内機序を検討した。光照射は概日リズム中枢である視索上核のバソプレッシン(VP) ニューロンを活性化し，VP ニューロンが室傍核 Oxt ニューロンに投射して活性化する結果, 摂食を抑制することを明らかにした [1)]。
3. 室傍核内因性の Nesfatin-1/NUCB2 の役割を明らかにするため，Nesfatin-1/NUCB2 を shRNA を用いて室傍核特異的にノックダウンしたマウスを作成し, 解析した。本マウスでは，CRH 発現には変化が見られず，明期特異的に Oxt 発現・分泌低下と過食を示し，体重が増加した。室傍核 Nesfatin-1/NUCB2 は Oxt を介して摂食・体重を抑制していることを明らかにした [2)]。
4. Oxt ニューロンの投射経路を明らかにするために, Oxt ニューロン特異的チャネルロドプシン発現マウスを作成し，複数の領域への投射を観察した。

1) Santoso P, Nakata M, Ueta Y, Yada T. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2017;ajpendo.00338.
2) Nakata M, Gantulga D, Santoso P, Zhang B, Masuda C, Mori M, et al. Endocrinology. 2016;157:2322-2332.

24. 真核生物における RNA 分解制御機構の解明

細田　直（名古屋市立大学大学院薬学研究科）

mRNA 分解機構は遺伝子発現制御の一翼を担うことが明らかになってきた。mRNA の 3'末端ポリ A 鎖短縮は mRNA 分解の律速段階であり，その調節において重要な役割を果たす。近年，体細胞においてポリ A 鎖は短縮のみならず伸長によっても mRNA 動態を制御しうることが見出された。この細胞質ポリ A 鎖伸長は，当初は動物の初期胚発生段階に限られた現象と位置づけられていたものの, 全ての体細胞が保有する機構であり, 特定の mRNA に対して細胞環境に応じて起動すると想定されているものの，その分子機構については未解明である。

転写と共役して起こるポリ A 鎖伸長において機能する正準ポリ A ポリメラーゼに加え，それ以外で機能する非正準ポリ A ポリメラーゼ PAPD 7 種（PAPD1～7）が知られている。これらの機能分担について明らかにすることを目的として相互作用因子を比較検証した。HEK293T 細胞に Flag タグを付加した PAPD を導入し，抗 Flag 抗体を用いた免疫沈降法により相互作用因子を単離しショットガンシークエンスにより網羅的に同定した。ポリ A 鎖結合蛋白質 PABP, RNA ヘリカーゼ DDX5, DDX7, DHX9，DDX17，MOV10 が各 PAPD に共通して同定された。ポリ A 鎖伸長において PABP が介在する二次構造をほどく分子機構の存在が示唆された。さらに RNA 結合蛋白質 LARP，PCBP，IGF2BP，RBMX，RBM39 が PAPD 特異的に同定された。これらは配列特異的 RNA 結合蛋白質であることから，mRNA の 3'非翻訳領域に結合して特定の mRNA のポリ A 鎖を伸長すると想定された。そこで，mRNA の 3'非翻訳領域 MS2 結合 RNA 配列にこれら RNA 結合蛋白質を繋留したときの mRNA 動態について解析したところ，ポリ A 鎖の伸長および mRNA の安定化が観察された。PAPD によるポリ A 鎖伸長は，3'非翻訳領域に結合する RNA 結合蛋白質を介してターゲット mRNA 選択的に遺伝子発現を正に制御すると示唆された。細胞周期 S 期およびストレス環境下においては, mRNA 特異的にポリ A 鎖が伸長する現象が知られている。これら現象において，同定した RNA 結合蛋白質が機能するかどうか明らかにすることが今後の課題である。

25. 昆虫視覚系におけるヒスタミン駆動性 $C1^-$チャネルの機構解析

蟻川謙太郎，赤司寛志，陳　姵如（総合研究大学院大学）
富永真琴（細胞生理研究部門）

複眼で受容された視覚情報は，第一次視覚中枢（視葉板）で視細胞から二次ニューロン（LMC）へと伝達される。ショウジョウバエの視細胞では，神経伝達物質のヒスタミンが LMC のヒスタミン作動性塩素イオンチャネル（以降 HCL）を活性化することで高次の視覚情報処理が始まる。ハエとチョウの比較解剖や行動学的解析から，チョウは非常に優れた色覚を持つことがわかっている。

我々はアゲハをモデルとし，チョウ類視覚系における優れた波長情報処理のメカニズムを調べている。その一環として LMC への情報伝達に重要な HCL に着目，①アゲハ HCL（PxHCLA と PxHCLB）をコードする遺伝子配列の決定，②アゲハ HCL の分子系統解析，そして③アゲハ HCL の電気生理学的解析（パッチクランプ法）を行なった。

配列解析の結果，2 種の HCL はハエやハチの HCL と単系統群を形成した。同定したアゲハ HCL は目的の分子であると考えられる。

アゲハ視葉板における神経伝達物質候補としては, ヒスタミンに加え GABA，D-/L-グルタミン酸，チラミン，セロトニンがある。これらの伝達物質候補に対するアゲハ HCL の反応を調べた。結果, いずれのチャネルもヒスタミンと GABA によって活性化された。PxHCLA と PxHCLB のヒスタミンに対する EC_{50} は, それぞれ約 20 μM と 6 μM だった。GABA に対する EC_{50} は極めて高いようで，それぞれ約 15 mM と 2 mM 付近とみられる。この点については，現在もひきつづき解析を行っている。

いずれにしても，PxHCLB は PxHCLA よりも感受性が高いと思われる。また，アゲハ HCL は二つの神経伝達物質候補に反応するものの，GABA と比べてヒスタミンに対する感受性は非常に高かった。ショウジョウバエ HCLA と HCLB のヒスタミンに対する EC_{50} はそれぞれ 25 μM と 14 μM と報告されており，アゲハ HCL の EC_{50} と近いことから，HCL のヒスタミンに対する反応は進化的に保存されていると考えられる。しかし，ハエでは GABA は HCLB のみを活性化するため，PxHCLA が GABA にも反応するとすれば，ハエ HCLA とは異なる機能を担う可能性もある。アゲハ視葉板には GABA を含む LMC や遠心性ニューロンがあり，これらが作る神経回路における PxHCLA と PxHCLB の機能が注目される。

26. 高速原子間力顕微鏡による温度感受性チャネルの機能動体の解明

内橋貴之，足立　慧（金沢大学理工研究域）
富永真琴（細胞生理研究部門）

温度感受性 TRP チャネルはヒトでは 11 報告されており，活性化温度閾値も様々である。低温電子顕微鏡を用いた単粒子解析によって，2013 年に TRPV1 の，2015 年に TRPA1 の原子レベルでの構造が明らかにされた。2016 年には，脂質 nanodisc に埋まった TRPV1 の構造が明らかにされ，熱によるイオンチャネル開口のメカニズムがていしょうされたが，いまだ，どのようにして温度刺激がチャネル開口をもたらすかに関してコンセンサスは得られていない。そこで，精製 TRPV1 チャネルを脂質 nanodisc に埋め込み，高速原子間力顕微鏡を用いて熱による TRPV1 開口の可視化を試みた。まず，岡崎統合バイオサイエンスセンターで TRPV1 タンパク質を精製して，金沢大学に送った。金沢大学では，高速原子間力顕微鏡計測における温度制御システムを確立させた。脂質 nanodisc に埋め込んだ TRPV1（4 量体）の動きを観察し始めたところである。HEK293T 細胞に発現させた単一チャネル電流記録や liposome パッチでは，早い開閉を示すチャネル動態（flickering opening）が観察されており，「高速」とは言え原子間力顕微鏡で観察できるか危ぶまれていたが，高速原子間力顕微鏡を用いて熱刺激によるチャネル構造の変化があるかもしれない，という画像を得ることができた。今後，温度制御法，TRPV1 タンパク質精製法を refine して，高画質映像を得られるようにしていきたい。また，カプサイシンによる開口との差異も検討していきたい。

27. TRPV1 が脳の炎症・発熱経路に果たす役割

稲垣春那，宗岡詩織，宮田清司（京都工芸繊維大学大学院・応用生物学系）
富永真琴（細胞生理研究部門）

Transient receptor potential（TRP）チャネルは，温度・化学物質・物理的刺激を受容する感覚受容体であるとともに，カルシウムイオンなどの陽イオンを透過させることで情報伝達を担うことが知られている。我々の共同利用研究において，血液脳関門を欠く脳室周囲器官の GFAP 陽性細胞が TRPV1 特異的に存在し，血液情報を感知するだけでなく，炎症性の発熱に関与することを報告している（Mannari et al., Glia 2013; Yoshida et al., Scientific Reports 2016）。カプサイシンは，TRPV1 agonist で，世界中で多くの食物に使用されているが，その脳内への作用についてはほとんど明らかになっていない。よって，本年度は，カプサイシンの経口投与による体温変化とその脳内機構について明らかにすることを目的とした。

カプサイシンを，マウスに経口投与すると，濃度依存的な一過性の体温低下を引き起こした。1〜2 度の体温低下は，投与後数時間持続したが，行動量，飲水量，摂食

量には顕著な変化は認められなかった。カプサイシン経口投与による体温低下は，脳内 TRPV1 agonist 投与の場合と極めて類似していた。次に，細胞活動マーカーである Fos を用いて，カプサイシン経口投与による脳内活性化経路を調べた。カプサイシン経口投与は，脳室周囲器官，体温調節部位である視索前野，ならびに迷走神経の統合中枢である孤束核の神経細胞に顕著な Fos 発現が観察された。さらに，これらの神経核におけるアストロサイトにも発現が認められた。

以上の結果より，カプサイシン経口投与は脳の神経やグリア細胞を活性化して，体温低下を引き起こすことが明らかになった。今後は，プサイシンによる体温低下が脳内の TRPV1 を直接活性化によるのか, あるいは求心性の迷走神経によるのか明らかにする。さらに，血管拡張や血流量を調べることで，カプサイシンによる体温低下のメカニズムを解明する予定である。

28. 感染随伴疼痛学の創成

丸山健太（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）
富永真琴（細胞生理研究部門）

我々は, 皮膚や骨に分布する Nav1.8 イオンチャネル陽性痛覚神経が真菌感染を直接感知すると同時に，真菌感染によって誘発される炎症や骨破壊を強力に抑制する機能を持っていることを発見した。

1. Nav1.8イオンチャネル陽性痛覚神経は皮膚のみならず骨にも分布している。
2. Nav1.8 イオンチャネル陽性痛覚神経を遺伝学的に除去したマウスの後肢に真菌細胞壁の成分であるβ-グルカンまたはグラム陰性菌細胞壁の成分であるLPSを皮下注射すると，前者の場合には激しい炎症が惹起されて足の骨が溶けてしまうが，後者の場合には対照群と比べて殆ど変化がない。
3. Nav1.8 イオンチャネル陽性痛覚神経には β-グルカン受容体である Dectin1 が発現しており，痛覚神経における Dectin1 は「からし」の受容体である TRPV1 や「わさび」の受容体である TRPA1 を活性化することでCGRPの産生を促す。
4. TRPV1 や TRPA1 を欠損するマウスでは，β-グルカンを後肢に皮下注射したあとの血中 CGRP の上昇がみられず，激しい炎症が惹起されて足の骨が溶ける。
5. Nav1.8 イオンチャネル陽性痛覚神経より分泌されたCGRPは破骨細胞にcAMPを誘導することでアクチンの脱重合を促進し，破骨細胞の融合や活性化を阻害する。
6. Nav1.8 イオンチャネル陽性痛覚神経より分泌されたCGRPはβ-グルカンで刺激されたマクロファージのNF-κB 活性化を転写因子 Jdp2 の誘導を介して抑制する。

この研究によって，痛覚神経は真菌感染を直接感知すると同時に，感染の際の炎症と骨破壊を強力に抑制していることが浮き彫りとなった。また，本研究によって真菌性炎症がCGRP-Jdp2経路を介して抑制されていることが遺伝学的手法を用いることでクリアに示された。これらの知見は，我々の痛覚に対する概念を拡張するのみならず，痛覚神経による骨自然免疫抑制メカニズムにインスパイアされた新しい抗炎症剤や骨保護制剤の開発につながるものである。尚，本研究成果の一部は国際誌に受理され，印刷中である（Maruyama, Takayama et al, *Cell Reports* 2017, accepted）。

29. 温度感受性を有する侵害受容チャネルの生理機能とその制御メカニズムの解明

太田利男，段上大輔，高橋賢次（鳥取大学・農学部）
齋藤　茂，富永真琴（細胞生理研究部門）

Transient Receptor Potential Ankyrin 1（TRPA1）は種々の刺激性化学物質や温度に対するセンサーとして機能する非選択的陽イオンチャネルであり，主に知覚神経に発現しているため炎症性疼痛や神経因性疼痛との関連性が報告されている。これまでTRPA1チャネルの温度感受性や薬物応答性には動物種間差があることが示されており，哺乳類においては齧歯目と霊長目間で顕著な差が報告されている。しかしながら，これまでウサギ目TRPA1の機能は明らかにされていない。そこで本研究では，ウサギ（*Oryctolagus cuniculus*）TRPA1（oTRPA1）の温度感受性及び薬物反応性について検討した。ウサギ背根神経節よりoTRPA1遺伝子をクローニングし，HEK293細胞に異所性に発現させたoTRPA1（oTRPA1-HEK）チャネル並びにウサギ背根神経節より単離した知覚神経細胞を用いて，oTRPA1の機能について検討した。TRPA1は高いCa透過性を有することから，本実験では主にCaイメージング法によりチャネル活性を細胞内Ca濃度（$[Ca^{2+}]_i$）変化として解析した。

oTRPA1のアミノ酸配列は，哺乳類他種と80%以上の相同性を有していた。TRPA1アゴニストであるAITCおよびmentholはoTRPA1-HEKの$[Ca^{2+}]_i$を濃度依存性に増加させた。oTRPA1はマウスホモログとは異なり，高濃度のmentholにより抑制されなかった。oTRPA1-HEKは冷刺激により$[Ca^{2+}]_i$増加反応が生じ，この反応は細胞外Ca除去及び選択的TRPA1阻害薬によって抑制された。これまでの報告ではマウスTRPA1の第5膜貫通領域にあるglycineはmenthol及び冷感受性を担うことが示されている。しかし，これと相同部位にあるoTRPA1のvaline874をglycineに置換してもmentholや冷刺激に対する反応性は変化しなかった。oTRPA1の活性化閾値温度は細胞周囲の温度増加によって上昇した。ウサギ知覚神経細胞において，AITC感受性ニューロンの約60%が冷感受性を有していた。

以上の成績より，ウサギ目TRPA1は齧歯目と同様に冷温受容器として機能すること，更にoTRPA1には新規のmenthol感受性及び冷感受性アミノ酸が存在する可能性が示された。それ故，oTRPA1の機能的特徴の解析は温度感知の進化過程やTRPA1を介した神経障害誘発性冷過敏や冷アロデニアのメカニズムを解明する有力な情報を提供すると考えられる。

30. ジストニア・偏頭痛病態モデル *Atp1a3*，*Atp1a2* 遺伝子ヘテロ欠損マウスのシナプス機能解析

池田啓子（兵庫医科大学 医学部 生物学）
（現所属：国際医療福祉大学 医学部 生理学）
佐竹伸一郎（生理学研究所 基盤神経科学研究領域 神経シグナル研究部門）

ナトリウムポンプは細胞膜内外のNa^+とK^+の濃度勾配の形成に関る能動輸送酵素である。本酵素はαとβの2つのサブユニットから構成され，マウス脳ではα1－3の3種類のサブタイプが発現している。近年ヒトにおいて，α2ならびにα3サブユニット遺伝子の突然変異は，様々な中枢神経系障害を引き起こすことが明らかとなった。例えば，α3サブユニット遺伝子の突然変異は急速発症型ジストニアパーキンソニズム，小児交互性片麻痺，CAPOS症候群の，α2サブユニット遺伝子の変異は家族性片頭痛の発症要因となる。本研究は，α3サブユニットとα2サブユニットの遺伝子ヘテロ欠損マウス（*Atp1a3*$^{+/-}$, *Atp1a2*$^{+/-}$）を電気生理学的・生化学的手法を用いて解析し，これら神経疾患の病態・発症機序を解き明かすことにより，新規治療法の開発につなげることを目的とした。

Atp1a3$^{+/-}$の解析結果：興奮性シナプスの反復活動に伴う，神経伝達物質グルタミン酸（Glu）のシナプス外漏出

は，小脳平行線維 - プルキンエ細胞間シナプスにおいて長期抑圧（LTD）の確立に必須のプロセスと考えられている。興奮性アミノ酸輸送体 EAAT が担う Glu 回収機構は，ナトリウムポンプにより形成された Na^+/K^+濃度勾配を Glu 輸送の駆動力とし, LTD に重要な影響をおよぼす。これまでに，*Atp1a3*$^{+/-}$において小脳 LTD が惹起されないこと，この消失した LTD が EAAT 阻害薬によって回復することなどを見出している。今年度，ケージ化 Glu を小脳スライスに適用し，*Atp1a3*$^{+/-}$バーグマングリアの EAAT 電流が著しく増強していることを発見した。*Atp1a3*$^{+/-}$では，グリア細胞における Glu 回収の過剰亢進に伴い，シナプス外への Glu 漏出が阻害されることにより，LTD が消失したと結論した。また，成体小脳 P2 膜画分にて免疫沈降実験を行い，EAAT4 とα3 サブユニットの共役を野生型と *Atp1a3*$^{+/-}$の間で比較した。EAAT4 とα3 サブユニットの共沈降は確認できた。現在 α3 サブユニットの沈降量について *Atp1a3*$^{+/-}$と野生型の間で差があるかどうかを, 精製シナプトソームでの沈降を試みる他，電気生理学実験に使用している幼若齢の小脳を用い検討を行っている。

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

31. 成体新生ニューロンによる海馬神経ネットワークの制御機序

神野尚三（九州大学 大学院医学研究院 神経解剖学分野）

1) 成体海馬神経新生の制御機序を明らかにするため，フィトエストロゲンの一種であるダイゼインを初老期メスマウスに投与し，免疫蛍光多重染色とオプティカルダイセクター法による定量解析と，三次元再構築による形態解析を行った。一連の研究によって，フィトエストロゲンの一種であるダイゼインが，認知に関わる背側領域優位に成体海馬神経新生現象を促進することを明らかにし, Neuropharmacology 誌上で報告した。また，この成果は，Oncotarget 誌の Editorial にも取り上げられた。
2) GFP 発現レトロウィルス（独自に作製）をマウス海馬の歯状回に圧注入し，成体新生ニューロンの特異的な標識に取り組んでいる。しかしながら，これまでにテストした数種類のウィルスは何れも，既存の顆粒細胞やグリア細胞まで標識される結果に終わっている。このため，Sox2-Cre マウスの導入を検討している。
3) オプトジェネティクスに習熟した当教室の吉田史章准教授と共に（昨年 9 月に赴任），ChR2 と GFP を組み込んだアデノ随伴ウィルス（Penn Vector Core から購入）を大脳皮質に圧注入を行ったマウスの頭部にレーザーを照射し，レスポンスを得ることに成功した。現在は，所内対応者の古江教授の指導を受け，同ウィルスを神経回路特異的に導入したマウス海馬の歯状回顆粒細胞層に電極を刺入し，in vivo 傍細胞記録を行うことに取り組んでいる。また, 海馬を含む切片を作成し，カルシウムイメージングを行うシステムのセットアップも進めている。
4) 申請者は以前に，加齢に伴い成体海馬の新生ニューロンが減少することを報告している。本研究では，腸内細菌叢の加齢変化が関わっている可能性を検討するため，加齢マウスに乳酸菌の一種であるラクトバチルス・アシドフィルスを投与し，成体海馬における神経幹細胞の密度や新生顆粒細胞の分化・成熟に生じる変化の検討を進めている。これまでに，腸内細菌叢の改変を行った加齢マウスでは，成体海馬の新生顆粒細胞が増加し，分化が促進されることを見出している。その一方で，若年マウスの海馬ではラクトバチルス・アシドフィルスの神経新生の促進作用は認められなかった。現在，所内対応者の古江教授の指導を受け，腸内細菌叢の改変による海馬神経回路の活動性の変化をどのように捉えるのか，検討を進めている。

32. 味蕾細胞ネットワークによる情報処理機構の統合的解析および数理モデルの構築

大坪義孝，立野勝巳（九州工業大学　生命体工学研究科）

味蕾細胞ネットワークによる情報処理機構を解明するため，主に in vivo での神経活動を測定するための技術取得と数理モデルを用いた解析を行った。具体的には，全身深麻酔下のラット脳幹および脊髄神経細胞から in vivo で細胞外記録をおこない，皮膚への感覚刺激による神経活動を記録した。感覚刺激に対して領域依存的な神経活動を呈し，また，その応答は刺激強度に依存して増大した。繰り返しの感覚刺激に対しても，ほぼ安定した神経活動の応答が得られるなど再現性ある安定した神経活動の記録も可能となった。また，脳幹からの記録においても安定した活動電位の記録を得ることが可能となった。味神経の情報を受け取る孤束核では，甘味，苦味などさまざまな味情報がどのように伝達され，情報処理されるのか，また，末梢では味蕾細胞ネットワークによる情報処理が行われることを現在まで示してきたが，味蕾における情報処理と中枢における情報処理との関連，即ち，味蕾細胞ネットワークー中枢間での統合機構など未だ不明な事が多い。従って今後引き続き，この in vivo 記録法の技術を活かし，延髄孤束核からの神経活動を記録・解析し，上述課題の解明を進める予定である。数理モデル化については，まずは既存のデータを用いた解析を行うため，体性感覚，痛覚刺激に対する脊髄シナプス応答に対する数理モデルを作製した。ラットに痛覚刺激を呈示すると同時に刺激部位周辺をなでることで感覚細胞の神経応答が変化する結果が示されていたため，それらの実験データを解析し，数理神経細胞モデルを作製した。計算機シミュレーションの結果，積分発火型の神経細胞モデルで実験結果を説明できるなど本共同研究が遂行でき，且つ，今後の様々な感覚情報処理機構の理解に有用な基礎的モデルの構築ができた。

33. マウスノロウイルスの高分解能構造解析

片山和彦，戸高玲子（北里大学大学院感染制御科学府）
ソン　チホン，村田和義（生理学研究所）

ノロウイルスやロタウイルスに代表されるウイルス感染による下痢症は，世界中で年間数百万人規模の感染者を出し，大きな社会問題となっている。特にノロウイルスは，病原性発現機構を研究するためのモデル動物，効率良くウイルスを増殖させるための培養細胞がないため，現在有効な治療法が見つかっていない。本研究では，唯一培養細胞で安定して増殖させることが可能なマウスノロウイルス（MNV）を用いて，その三次元構造をクライオ電顕により解析し，ノロウイルスの感染メカニズムを明らかにしたいと考えている。また，我々のグループはバキュロウイルス発現システムを用いてウイルス様中空粒子（Virus Like Particle: VLP）を作製することにも成功しており，これを完全な感染性粒子（Virion）と比較することにより，ノロウイルスにおけるすべての構造タンパク質の所在を明らかにすることを目指している。

まず，MNV の構造タンパク質 VP1 ゲノムのみを昆虫細胞で発現させ，得られた MNV-VLP をクライオ電子顕微鏡で単粒子構造解析し，高分解能のキャプシドのマップを得た。このマップをもとにホモロジーモデリングを行い MNV VP1 の分子モデルを作製した。この分子モデルを別途解析した感染型粒子（Virion）に当てはめることにより，Viron と VLP の構造の違いを推定した。現在の分解能では，VP1 以外の構造タンパク質の所在については，明らかにできなかった。

今回得られた MNV-S7 株の構造を, 2010 年にアメリカのグループにより報告された MNV-1 株の構造（Katpally et al., JVI 2010）と比較したところ，先端の P ドメインの構造に違いが見られた。遺伝子型による構造の変化が起っていることが予想された。

我々の研究グールプは同時に MNV の感染レセプターの研究を進展させており，RAW 細胞膜にある CD300lf, CD300ld 分子が MNV 粒子を細胞内に取り込むレセプター

として機能することを発見した（Haga et al., PNAS 2016）。CD300lf 分子の分子構造は X 線構造解析によって解かれていたため，本研究で明らかにした MNV キャプシドタンパク質との分子ドッキングシミュレーションを行った結果，CD300lf は，MNV の P ドメイン二量体が組合わさる側面に結合することが示された。この領域は MNV-S7 株では大きく空いており，S7 株の方がより感染性が高い構造になっていることが示唆された。

今後はさらに，モノクローナル中和抗体などの認識部位などについても，クライオ電顕単粒子構造解析によって明らかにしていく予定である。

34．低温位相差電子顕微による黄色ブドウ球菌ファージの 3 次元構造解析とその感染機構の解析

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

１．はじめに

化学療法の代替療法の可能性の一つとして細菌ウイルス（ファージ）の溶菌活性を利用した感染症治療法，いわゆるファージ療法がある。ファージ S6，S13’は，薬剤耐性で問題となる黄色ブドウ球菌を効率良く除菌可能な治療用候補ファージである。低分子化合物の化学構造と同様に治療用ファージの詳細な情報は重要である。しかしながら，構造情報や吸着に関する情報は少ない。それゆえ，本研究では，MRSA 感染症に対するファージ療法の研究開発を目的とし，（I）S6，S13’の構造解析，および，（II）S13’のレセプター結合タンパク質の解析を行った。

２．方法と材料

(I) ファージを宿主菌存在下で大量増殖後，CsCl 密度配超遠心法によりファージの精製を行った。氷包埋法により作製した試料を，低温位相差電子顕微鏡を使用し観察した。

(II) 大腸菌を利用して組み換えレセプター結合タンパク質を作製した。細胞壁タイコ酸の側鎖にある N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）を遺伝子組み換えにより欠損させた黄色ブドウ球菌とその相補株を作製した。ファージ吸着，レセプター結合タンパク質の結合に関して検討した。

３．結果と考察

(I) ファージ S6 の構造解析の結果，頭部直径は～120 nm であり，T=25 の対称性を持つことが判明した。この構造は，エルシニア菌ファージ φR1-37，緑膿菌ファージ φKZ，青枯病菌ファージ φRSL1 などグラム陰性菌に感染する巨大ファージの頭部構造に類似していた。また，ファージ S6 は尾部先端に 70 nm の針状構造を有することが明らかとなった。

つぎに，ファージ S13’の構造解析を行った。頭部直径は～45 nm であった。単粒子構造解析法，電子線トモグラフィー法により 3 次元構造構築を行った結果，T=4 の対称性を持つことが判明した。

現在，2 つのファージに関して頭部構造，尾部構造ともに解析を進めている最中である。

（II）細胞タイコ酸の α-O- GlcNAc，β-O- GlcNAc，また O- GlcNAc を欠損させた黄色ブドウ球菌と相補株に対して，細胞タイコ酸の β-O- GlcNAc を欠損した場合，ファージは吸着できなくなることが明らかになった。同様に，組み換えレセプター結合タンパク質使用し細菌に対する結合を検討した結果，細胞タイコ酸の β-O- GlcNAc を欠損した場合結合ができなくなることが明らかとなった。（Uchiyama et al., Journal of General Virology, 2017, accepted）

４．まとめ

以上の様に，治療用候補ファージ S6，S13’の構造や吸着に関する情報が収集され始めている。今後，ファージ構造と吸着に関する解析を進めていく予定である。

35. 位相差電子顕微鏡を用いた SFTSV 構成タンパク質の構造解析

中道優介（大阪大学 蛋白質研究所）

Bunyaviridae 科に分類される *Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus* (SFTSV, genus *Phlebovirus*) は，マダニより分離され，ヒトに対して高い病原性を示す致死性のウイルスである。SFTSV は 2011 年に中国の研究者により報告され (Yu *et al*., *N. Engl. J. Med.,* 364(16), pp. 1523–1532, 2011)，本邦では 2013 年に初めて患者が確認された (Takahashi *et al*., *J. Infect. Dis*., 209(6), pp. 816–27, 2014) 。本邦において，少なくとも 158 人の SFTS 患者が報告されており，患者の年齢中央値は 74 歳であった（国立感染研究所ホームページより引用）。このことから，高齢患者の重症化リスクが高いと考えられるが, 若年層の不顕性感染も含め, 潜在的な感染リスクは不明である。現在, SFTSV 感染症の治療法は対症療法のみで，有効な薬剤やワクチンの開発が急務である。ワクチン開発には SFTSV の立体構造の情報が必要不可欠であるが, ウイルスの危険性 (BSL3) から, 生のウイルスをそのまま解析に用いることは不可能である。そこで, 遺伝子を内包しない空の SFTSV 様粒子や SFTSV 由来のタンパク質を作製し，位相差電子顕微鏡での撮像・構造決定を目指した。

SFTSV を含む *Bunyaviridae* 科ウイルスは, 一部にアンビセンス配列を含む 3 分節のマイナス鎖 RNA (L, M, S segments) を有するエンベロープウイルスである。M segment にコードされるエンベロープタンパク質は, 翻訳後修飾により N 末端領域と C 末端領域を構成する糖タンパク質 Gn と Gc にプロセッシングされる。本研究では，昆虫培養細胞にて全長の M-segment を発現させる，または Gn と Gc を共発現させる手法によりゲノムを内包しない SFTSV 粒子の作製を試みた。Gc 単体での発現には成功し分子内ジスルフィド結合を有することを確認した。M-segment 全長での発現と Gn と Gc の共発現では粒子構築はできなかった。今後は発現系の変更（哺乳細胞での発現）と Gn 単体の調製に着手する。

36. PBCV-1 ファイバー状構造体の低温位相差顕微鏡による観察

東浦彰史（大阪大学蛋白質研究所）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

PBCV-1 (Parmecium bursaria chlorella virus-1) は Phycodnaviridae 科 Phycodnavirus 属のウイルスでクロレラを宿主とする。自然界の淡水中に広く分布しており，約 400kbp ものゲノムを有する直径約 2000Å の巨大な球状ウイルスであり，電子顕微鏡による単粒子解析により正二十面体対称を有することや，外殻状の特徴的な突起構造などが報告されている。PBCV-1 のゲノムにはゲノムの複製系，転写系，翻訳系，各種代謝系，イオンチャネルなど，約４００種類の蛋白質がコードされており，カプシド内側に脂質二重膜を保持するという構造的特徴を有していること等から，まるで小さな細胞のような特徴を有している。これまでに PBCV-1 表面にファイバー状の構造体が存在することを示唆する報告はなされていたが結論を得るには至っていない。

本研究では，ファイバー状構造体を低温位相差電子顕微鏡で詳細に観察し，その存在を明らかにすると共に，他の大型ウイルス群（**nucleocytoplasmic large DNA viruses:** NCLDV）に見られるファイバー状構造体との比較より生科学的意義を考察することを目的としている。

これまでの観察より低温位相差電子顕微鏡で PBCV-1 表面のファイバー状の構造体を明瞭に観察することに成功している。もうひとつの目的である PBCV-1 の３次元結晶化を目指したファイバー除去を各種酵素処理により試みたが，よい結果は得られていない。さらに，低温位相差電子顕微鏡により撮影したファイバー状構造体のイメージを手がかりに同定実験を進めているが，その同定には至っていない。

37. Exploring the energy barrier for RNA polymeraseⅢ conformation change by Zernike phase plate cryo-EM(ZEM)

Yi-min Wu, Jen-wei Chang, Chun-hsiung Wang, Wei-hau Chang
（Institute of Chemistry, Academia Sinica, Taipei, Taiwan）
Naoyuki Miyazaki, Kuniaki Nagayama, Kazuyoshi Murata
（National Institute for Physiological Sciences）

RNA polymerase III (pol III), a 17 subunit protein complex, is an essential enzyme that synthesizes transfer RNA in eukaryotic cells. Although cryo-EM structure of pol III of 3.9 Å has been available recently, the energy landscape of pol III in solution is yet to be explored. To this end, we used Zernike phase contrast cryo-electron microcopy (cryo-ZEM) to image pol III, followed by 3D classification by the RELION algorithm. Here, by using cryo-ZEM we successfully resolved multiple conformations of pol III, each of which to 9 Å. Our finding suggests the TFIIE-like and TFIIF-like component of pol III play crucial role in modulating the conformations of pol III.

Saccharomyces cerevisiae RNA polymerase III is a 17-subnit enzyme complex. Compared to RNA polymerase II, it has five additional subunits as transcription initiation factors of RNA polymerase. Besides, pol III works as a fast action enzyme compared to pol II. Although the cryo-EM structure of pol III is recently available, it does not tell why pol III could be a more efficient enzyme.

Previously, we have used cryo-ZEM to facilitate a structural study of pol II by enhancing the contrast with a phase plate. We processed the pol II cryo-ZEM images by a recently released maximum-likelihood algorithm implemented in RELION (Scheres, 2012), which allows for classifying the structure via variance of conformation, to be able to divide the cryo-ZEM data of pol II into various conformations, providing the first evidence that suggest pol II can adopt multiple conformations in solution. Here, we parallelly set out to investigate the structure(s) of pol III in solution to understand whether the enzymatic efficiency of pol III is correlated with the conformations it can take. Remarkably, pol III can indeed adopt multiple conformations as pol II does, while the conformation is restricted due to the presence of the TFIIE-like and TFIIF-like subunits associated with pol III.

Reference

1. Hoffmann, N. *et al*. Molecular structures of unbound and transcribing RNA polymerase III. *Nature* **528,** 231-236 (2015).
2. Scheres S.H. RELION: implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination. *J Struct Biol.* **180,** 519-530 (2012).

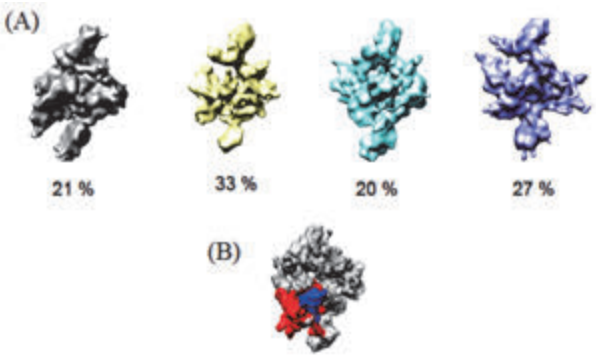
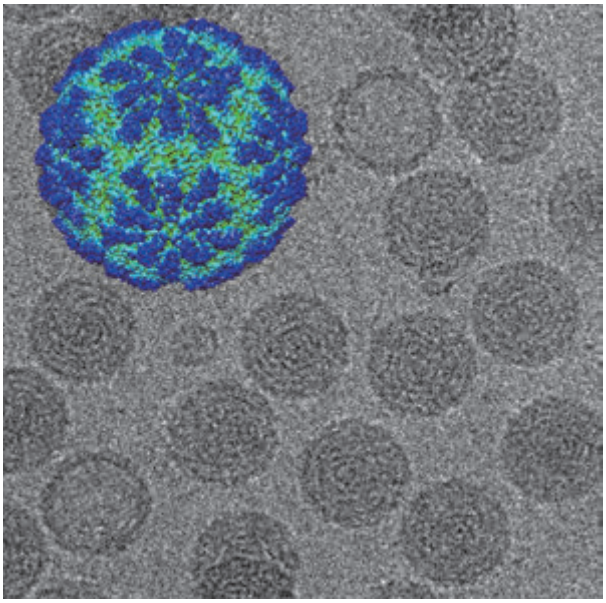


Fig. 1. Comparison of cryo-ZEM structures of pol III with its cryo-CEM structure. (A) Various classes of equally populated form of pol III resolved by ZEM and (B) only one dominant structure obtained by CEM. A gallery of various RNA polymerase II-Spt5 complexes

38. 新規蚊媒介性ウイルスの三次構造解析

岡本健太，Janos Hajdu（ウプサラ大学）
宮崎直幸，村田和義（自然科学研究機構 生理学研究所）

新規に同定された蚊媒介性ウイルスである，正二十面体様の Omono River Virus (OmRV) を研究対象とし，クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析を進めてきた。その結果として， 8.3 Å (FSC 0.143 cutoff) の分解能で OmRV の三次構造を構築する事にはじめて成功した (Okamoto et al., Sci Rep, 2016) 。OmRV はトチウイルス様ウイルスに属しており，その構造は系統学的に近縁のトチウイルスに関連していると考えられる。本共同研究で明らかとした OmRV の構造から，トチウイルス様ウイルスに共通した新規表面構造を明らかにした。この表面構造は，トチウイルスは有していなかった。原生動物や真菌に感染するトチウイルスは，細胞外に放出されない細胞内感染機構により増殖することが知られている。一方で，蚊やエビのような多細胞の後生生物に感染するトチウイルス様ウイルスは，細胞表面への結合や細胞膜貫通といった細胞外感染機構を利用している。我々が明らかにしたトチウイルス様ウイルスの新規表面構造は，トチウイルスが進化の過程で獲得した細胞外感染機構に関係していると考えられた。以上の結果は，これまで不明であったトチウイルス様ウイルスの感染機構を，ウイルス構造進化という新たな側面から明らかにする事に繋がった。トチウイルス様ウイルスは，エビや魚の養殖に深刻な被害を与える事が報告されており，本研究の今後の応用に期待される。



図：本研究で解き明かした OmRV の三次構造モデル

39. 唾液腺水輸送関連タンパク質の翻訳後修飾による機能制御

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

唾液腺腺房部における水輸送は，細胞内を経由する経細胞輸送系と細胞間密着部を経由する傍細胞輸送系を介して行われる。経細胞輸送には水チャネル（AQP）や塩素イオンチャネルが，また，傍細胞輸送にはタイト結合タンパク質の関与が考えられている。申請者らは唾液腺の水分泌におけるタンパク質の翻訳後修飾について明らかにすることを目的とし，リン酸化シグナルについて検討を行っている。

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) は様々な細胞機能に関わるリン酸化シグナルである。MAPK 経路としては主として ERK 経路，p38 MAPK 経路，JNK 経路の 3 種類の検討が進められている。また ERK の活性化には MAPK-ERK kinase (MEK) を介することが報告されている。唾液腺腺房細胞においては，分泌刺激により MEK/ERK 経路の活性化が報告されている。そこで，初代培養線維芽細胞をモデルとして用いて，G タンパク質共役型受容体活性化と MEK/ERK 経路の関連を検討した。

細胞刺激としてブラジキニン（BK）を用いたところ，ERK1/2 のリン酸化が認められ，阻害剤により Gq/11 を介することが明らかとなり，G タンパク質共役型受容体活性化シグナルのモデルと考えた。MEK および ERK の阻害剤により BK 誘導性 ERK1/2 リン酸化は抑制された。BK 誘導性 ERK1/2 リン酸化は Protein kinase C (PKC) 阻害剤，特に novel PKC 阻害剤により抑制された。そこで，novel PKC である PKCδ および PKCε をノックダウンしたところ，BK 誘導性 ERK1/2 リン酸化は PKCε のノックダウン細胞で抑制され，さらに PKCε 活性化剤により促進されたことから，PKCε による ERK1/2 活性制御が示唆された。さらに，リン酸化 ERK1/2 およびリン酸化 PKCε の細胞内局在を検討したところ，両リン酸化タンパク質は BK 刺激に依存して，時間依存的に核へ移行することが認められた。この移行は MEK, ERK および novel PKC 阻害薬により抑制された。以上の結果より，Gq/11 共役型受容体活性化により PKCε が活性化され，それが ERK1/2 の活性化と核への移行を促進することが明らかとなった。この経路の唾液腺腺房細胞における分泌，特に傍細胞輸送への関与について検討中である。

【計画共同研究報告】

計画共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. アクティブゾーンタンパク質 CAST の標的蛋白質の同定 ……179
2. 自己免疫性脳炎における自己抗体の標的蛋白質の同定 ……179
3. 動物モデルへの双方向性計測操作による発振現象の理解 ……180
4. ドーパミン受容体遺伝子操作マウスを用いた運動制御機構の解析 ……180
5. 電気生理学的手法を用いたビオプテリン部分欠乏マウスにおける運動障害発症機構の解析 ……181
6. 光刺激法を用いた大脳基底核神経回路機能の解析 ……181
7. 大脳基底核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理学的解析 ……182
8. ミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いた脳動脈瘤形成における超微細形態変化の解明……182
9. 脳特異的な MITOL ノックアウトマウスの形態学的解析 ……183
10. SBF-SEM を用いた髄鞘の軸索機能調節機序の解析 ……183
11. 甲状腺乳頭癌細胞の核形態　- SBF-SEM による 3 次元解析 - ……184
12. 軸索におけるミトコンドリアと滑面小胞体の相互作用の超微形態学的検討……185
13. 2 型糖尿病性上皮細胞障害に対する SGLT 阻害剤（フロリジン）の薬理作用の解明 ……185
14. 高脂肪食摂取下における腸管粘膜防御機能と吸収機構に関するメカニズムの解明……186
15. SBF-SEM を利用した消化管 GLP-1 分泌細胞の絶食に伴う微細構造変化の解析……187
16. 連続ブロック表面 SEM によるカエル舌の茸状乳頭上皮に分布する神経の三次元構造解析 ……187
17. 成体脳内における新生ニューロンの高速移動を制御する超微細構造の解析……188
18. 連続ブロック表面－走査電子顕微鏡（SBF-SEM）による各種細胞微細構造の立体構造解析 ……189
19. 細胞分裂過程を 1 細胞丸ごとレベルで 3 次元構造解析するための技術開発……189
20. 精子の形態形成過程における精子細胞とセルトリ細胞間で見られる細胞膜および細胞内膜性構造物の三次元的構造解析 ……190
21. 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……191
22. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの解析……192
23. メカノ作動性分子を標的としたドラッグリポジショニング研究……192
24. 循環ショック時の自律神経調節における TRP チャネルの役割……193
25. 生体リズムを制御する温度感知機構の解明……194
26. 骨格筋細胞の可塑性発現における温度受容体の役割解明……194
27. 脂肪細胞における UCP1 発現制御における TRP チャネルの機能解析 ……195
28. 脳損傷に対する局所脳冷却の開発と分子的解析……196
29. 咀嚼刺激と高次機能の連関メカニズムの解明……196
30. 胎生期の脳形成過程におけるミクログリアの動態と機能の解明……197
31. 灰白質の髄鞘の生理的機能意義の探索および関与分子の同定……197
32. 中枢神経症状を伴うリソソーム酵素欠損症モデルマウスのミクログリアの活性化イメージングと発症制御機構の解明 ……198
33. 小脳をモデルとした抑制性ニューロンの数の制御メカニズム……199
34. ラット遺伝子の BAC クローンへのレコンビナーゼ Cre-ER の組込みと作製したトランスジェニックラットの組織化学・細胞生物学的研究 ……199

35．生殖を制御する脳内メカニズム解明のための遺伝子改変モデルの作製とその解析……200
36．ヒストン H2B ユビキチンリガーゼ Bre1a の神経幹細胞における機能の解析……201
37．神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの機能解析……201
38．血管壁内の細胞外マトリックスの 3 次元超微細構造計測……202
39．真核生物鞭毛の動力源である蛋白質ナノモーター「ダイニン」の鞭毛軸糸中での構造変化のカルシウムによる影響の解析……203
40．マウス海馬苔状線維シナプスの微細構造の形態形成におけるアファディンの多様な役割の解析……204
41．イネ萎縮ウイルスの構造構築機構の解明……205
42．社会行動の分子神経基盤の理解に向けて：仲間感覚神経システムの 3D 構造の研究……206
43．原核細胞内に存在するユニークなチューブ構造の解析……207
44．連続ブロック表面 SEM による感覚ニューロン系の 3 次元超微形態解析……207
45．マラリア原虫感染赤血球におけるマウレル裂の 3D 構造解析……208
46．SBF-SEM を用いた小型甲殻類の比較形態学……209
47．微小管のアセチル化制御における新規鞭毛輸送(IFT)タンパク質 MIP-T3 の分子機能解析……209
48．鳴禽類ソングバードを用いた時空間制御を与える遺伝子発現系の開発と行動実験への応用……210
49．光遺伝学を用いた霊長類の視覚運動制御神経回路の機能操作……210
50．従来型解析にバイオインフォマティクスを取り入れた新規長鎖遺伝子の機能解明……211
51．アデノ随伴ウィルス（AAV）を用いた神経系の発生および恒常性維持に関わる分子機構の解析……211
52．随意性眼球運動系の神経回路の障害と再編……212
53．ウイルス遺伝子工学による島皮質—腹外側線条体神経路の意欲における役割の解明……212
54．開口放出部構成蛋白質によるシナプス形成及びその機能解析……213
55．逆行性ウィルスベクターを用いた体液恒常性維持神経回路の解析……213
56．ウィルスベクターを用いた集中的リハビリテーションの作用機序の検討……214
57．ウイルスベクターを用いた経路選択的遺伝子操作による霊長類神経回路の機能解析……215
58．皮質・基底核・視床回路を解析する研究……215
59．海馬シナプスにおける入力側依存性左右差の形成機構……216
60．豊かな環境飼育によるマウス・ラットの脳微小形態の変化……216
61．3 次元走査型電子顕微鏡（SEM）を用いた進行性糸球体疾患の荒廃に至る動態の解析研究……217
62．骨盤内臓刺激による脊髄後角ニューロンの興奮性変化について……218

1. アクティブゾーンタンパク質 CAST の標的蛋白質の同定

大塚稔久，萩原　明（山梨大学，大学院総合研究部，医学域）
横井紀彦，深田優子，深田正紀

CAST は，脳神経系に強く発現する細胞骨格分子であるが，その活性化制御機構に関してはほとんど明らかになっていない。実際に，ドメイン構造としてはコイルドコイル領域が分子全体を占め，酵素反応に関わるようなドメインを有していないため，構造からの機能の推測も困難である。そこで，本研究では，主として生化学的手法を用いて，CAST の上流または下流に位置する分子群を同定し，シグナル伝達系の全容解明を目指す。申請者らは，これまでに，CAST が神経終末のアクティブゾーンに高度に濃縮していることを見出していることから，アクティブゾーンを含むシナプス結合画分をラットもしくはマウス大脳から生化学的に精製し，マス・スペクトル法を用いて個々の分子を同定する。同定した分子群については，CAST との相互作用を生化学的に進めるとともに，免疫沈降実験などにより in vivo での結合が見出されたものについては，相互作用を阻害するなどして電気生理学的な解析も進める。

今年度は，ラット大脳を出発材料とし，生化学的分画を行うことにより神経終末アクティブゾーンを高度に濃縮した画分をタンパク量 18.9 mg 相当取得した。また CAST 免疫沈降を多数行うために必要な CAST 抗体を作成するために，CAST 特異的なアミノ酸領域を抗原としてウサギに免疫した。得られた抗 CAST 抗血清を抗原アフィニティー精製し，CAST 抗体を 15.0 mg 取得した。この抗体を用いてラット大脳シナプス膜分画の免疫沈降を行い，SDS-PAGE で分離後銀染色を行ったところ，CAST により共免沈されたバンドが複数検出された。しかしながら，質量分析でタンパク質を同定するにはまだバックグラウンドが高いため，現在バッファーの塩濃度や界面活性剤の組成を検討している。今後の目標は相互作用タンパク質の同定を行い，各因子の cDNA を作成し，in vitro での相互作用を確認する予定である。

2. 自己免疫性脳炎における自己抗体の標的蛋白質の同定

木村暁夫，吉倉延亮（岐阜大学大学院医学系研究科）
横井紀彦，深田優子，深田正紀

近年，自己免疫性脳炎患者より，NMDA 受容体や AMPA 受容体などの神経シナプス膜表面蛋白を標的抗原とする自己抗体の報告が相次いでなされており，これらの自己抗体は診断ならびにその後の治療法の選択に極めて有用なバイオマーカーである。一方，臨床においては，既知の自己抗体を有さない自己免疫性脳炎患者を度々経験することがある。これら患者の血清・髄液を用い，ラット・マウスの培養神経細胞を抗原とする免疫沈降法により，抗原抗体複合物を検出し，質量分析装置を用い標的抗原蛋白質を同定することを目的とした。また，同定した自己抗体を検出する cell based assay 系の確立を行う。対象患者は，当科（岐阜大学神経内科・老年内科）に入院した自己免疫性脳炎患者とし，実験に用いる検体は，通常の診療行為で採取した血清・髄液を用いる。

平成 28 年度は，自己免疫性脳炎の 53 名の血清と 8 名の髄液および健常者の血清を用いて，ラット海馬初代培養神経細胞を用いた免疫染色を行い，新たに 8 名の患者の血清中に神経細胞・神経膠細胞膜表面に発現する抗原蛋白を認識する自己抗体が存在することを確認した。今後，同細胞を抗原とした免疫沈降法により，標的蛋白質を抽出し，質量分析により蛋白名の同定を行う予定である。また，上記患者血清を用いて，COS7 細胞に LGI1 抗原を発現させた cell based assay 法により抗 LGI1 抗体の検出も行った。

今後，引き続き別の患者血清を用いてラット海馬初代培養神経細胞を用いた免疫染色と免疫沈降および質量分析により新規自己抗体の同定を行う予定である。また

同時に，cell based assay 法により，平成 28 年度に同定した標的蛋白質を認識する自己抗体の特異性の検証を行い，新たな自己免疫性脳炎のバイオマーカーの確立を目指す予定である。

3. 動物モデルへの双方向性計測操作による発振現象の理解

虫明　元，渡辺秀典（東北大学大学院医学系研究科生体システム生理学分野）
知見聡美，佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）

霊長類を動物モデルとして神経活動の発振現象の発生メカニズムとその機能的意義を理解することを目指す。任意のタイミングにおける特定の神経活動の制御による効果的な脳波の修飾を可能にするために光遺伝学的手法を用いた。

ウイルスベクタによってサル一次運動野に光感受性遺伝子（channelrhodopsin family）を導入・発現させた（ニホンザル，オス 2 頭，メス 1 頭）。ウイルスベクタ注入については注入用ガラス電極に記録電極を合体させることで神経活動の高密度部位にベクタ注入を可能にした。注入前に電流刺激電極を用いて注入予定部位における筋の神経支配を同定した。また計測に先立ち刺激用光ファイバと記録電極を微細重合させた特殊オプトロードを自作した。光感受性遺伝子導入の実証は光刺激応答による機能的確認と目的遺伝子と共に導入される蛍光タンパク発現の解剖学的確認をもって判定した。また対照実験として電流刺激を実施した。実験においてウイルスベクタ注入及び刺激応答記録はキシラジンによる沈静とケタミンによる麻酔下で実施し，動物に過負荷がないように十分な注意をもって行った。

まず注入遺伝子の発現を確認するために，ベクタ注入後 1 カ月から 5 カ月間の光刺激応答を計測した。神経活動は局所電位または Unit 活動として光刺激と同期した。結果の追証のために延べ 3 頭目のサル（総ベクタ注入４１箇所）に対して光刺激応答が記録された。また光刺激応答部位について電流刺激応答を行い，刺激部位の神経活動の活性を評価した。 本成果はニホンザルの一次運動野における光感受性遺伝子導入・発現を示す。

4. ドーパミン受容体遺伝子操作マウスを用いた運動制御機構の解析

笹岡俊邦，小田佳奈子，中尾聡宏（新潟大学脳研究所 動物資源開発研究分野）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

運動の制御には大脳基底核の神経回路であるＤ１ドーパミン受容体（D1R）を介する直接路およびＤ２ドーパミン受容体（D2R）を介する間接路が重要な役割を持つ。直接路・間接路の機能を個別に理解するため，ドキシサイクリン（Dox）による発現制御法を用いて成熟期に D1R または D2R を欠損させる遺伝子操作マウスを作製し，運動制御や学習記憶行動における直接路・間接路の役割を解明し，パーキンソン病の運動障害の理解を深め，治療方法の開発に発展させることを目的とする。

私たちが新たに開発した D1R ノックダウン（KD）マウスを用いて，D1R を欠損させると，ホームケージ内の自発運動量の減少を示した。in vivo における大脳基底核神経細胞の電気生理学的性質の解析方法により，直接路ニューロンの投射先である脚内核（EPN）と，間接路ニューロンの投射先である淡蒼球外節（Gpe）の活動を記録したところ，大脳皮質の電気刺激による運動指令は大脳基底核の３つの経路により基底核出力部（脚内核）に達し，正常では３相性（興奮－抑制－興奮）の神経活動として出力されるところ，D1R 欠損の場合は抑制が見られないことが認められた。この結果から，D1R を介する情報伝達は，「直接路」を通る信号の伝達と，運動の発現に不可欠であること，一方，大脳基底核の自発的神経活動は，D1R 欠損状態であっても基底核出力部において変化しないことを見出した。この結果は「直接路」を通る信号の動的な伝達の減少

がより本質的な変化であることを示した。

また，ロタロッドによる協調運動の学習試験，受動的回避試験による忌避学習と記憶の試験を行ったところ，成熟期の D1R KD マウスに Dox 投与で D1R 欠損とすると, D1R ストレート欠損マウスよりも成績が低下し, Dox 投与停止で D1R 発現を回復した時期には, 行動解析の成績が回復したことから, 成熟期に D1R を介する直接路の情報伝達が，学習及び記憶に重要であることが解った。

併せて，D1R KD マウスと同様の方法により Dox で D2R 発現が調節可能な D2R ノックダウンマウスを作成しており, 間接路に関する機能の理解のため, D1RKD マウスと同様の解析を行う予定である。

5. 電気生理学的手法を用いたビオプテリン部分欠乏マウスにおける運動障害発症機構の解析

一瀬　宏（東京工業生命理工学院）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

パーキンソン病における運動障害は，線条体におけるドーパミン欠乏により引き起こされると考えられている。テトラヒドロビオプテリン（BH4）は，ドーパミン生合成律速酵素であるチロシン水酸化酵素の補酵素として, ドーパミン合成に必須な化合物である。

セピアプテリン還元酵素（SPR）は，BH4 生合成の第３段階に働く酵素である。*Spr* を欠損するマウス（*Spr*-KO マウス）は，脳内 BH4 量が野生型の約 4 分の 1 に低下しており部分的 BH4 欠乏状態にある。このマウスの脳内ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンは野生型の 10% 以下に低下しており, 運動量が少なく加齢とともに前肢の震えが現れる。*Spr*-KO マウスに現れるフェノタイプが，ヒトのパーキンソン病と同様な症状と考えて良いのかについて検討するため, 大脳基底核における神経活動の変化を解析している。

これまでの解析から, 大脳皮質運動野の電気刺激により淡蒼球内節で現れる三相性の電位変化（興奮->抑制->遅い興奮）のうち，抑制が野生型に比べて *Spr*-KO マウスで弱くなっていることを見出している。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ターンについても検討し，野生型と比べて異常な神経活動が *Spr*-KO マウスで増加していた。これらのデータの解析を進めながら，データの解釈や先行文献との相違について検討した。

さらに，*Spr*-KO マウスの運動障害発症にドーパミン欠乏だけでなく, ノルアドレナリンやセロトニンの欠乏も関与しているか検討するために, モノアミンニューロン特異的にビオプテリン欠乏を起こすことができるマウスの作製・入手を検討している。

6. 光刺激法を用いた大脳基底核神経回路機能の解析

籾山俊彦，鈴木江津子，西條琢真（東京慈恵会医科大学・医学部）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

大脳基底核，特に黒質―線条体ドーパミン系の障害によってパーキンソン症候群や舞踏病に代表される運動異常が観察される。これら運動異常の発症機序を理解するためには，線条体におけるシナプス伝達を解析することによって，神経回路の同定とその機能を解明する必要がある。本研究では，光感受性チャネルである channelrhodopsin 2 を線条体の medium spiny neuron（MSN, GABA 性）に発現しているマウス線条体スライスを用いて，光刺激法を導入して MSN から, アセチルコリン性介在ニューロンへのシナプス伝達機構，および，ムスカリン受容体を介する修飾機構の解析を行なった。 光刺激により，アセチルコリン性ニューロンから GABA 性抑制性シナプス後電流（IPSCs）が誘発され，この IPSCs は，ムスカリン性受容体アゴニストであるカルバコールによって濃度依存性に抑制された。カルバ

コールによる IPSCs 抑制作用は，ムスカリン性受容体 M1 サブタイプのアンタゴニストによって拮抗され，さらに，細胞内の M1 受容体を介することが示唆された。

7. 大脳基底核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理学的解析

和中明生，辰巳晃子（奈良県立医科大学 解剖学第二講座）
佐野裕美，南部　篤（生体システム研究部門）

マウスに自発運動を負荷することで基底核間接路に属する淡蒼球におけるアストロサイトの形態変化を誘導することができた（Tatsumi et al. Front. Cell. Neurosci. 10:165, 2016）が，これは神経活動がアストロサイトに影響を及ぼした結果と考えられる。そこで人為的にアストロサイトの機能変化を誘導することで基底核回路の活動が変わるか否かについて光遺伝学的手法を用いて検討することをした。上記の検討に用いた Olig2-CreER マウスの淡蒼球或いは黒質網様部に AAV-CMV-Flex-ChR2−EYFP を注入し，タモキシフェン誘導をすることで同部位のアストロサイトに ChR2 を発現させることを試みたが，この系での蛋白発現量が充分ではないことが判明した。これを受けて，チャネル蛋白の発現細胞特異性，部位特異性が劣る GFAP-Cre マウスの片側黒質網様部に AAV-CMV-Flex-ChR2 ウイルスを注入，同部位でのアストロサイトでの充分量の発現を確認した。同部位に向けて光ファイバーを挿入し，青色レーザー光を照射する実験を行った。行動はシリンダーテスト（ビーカーにマウスを入れた状態でのビデオ撮影を行い，回転，立ち上がり行動などを記録）を用いた。5 分間の馴化の後に 30 分のレーザー照射，30 分の噎照射を行い，各ブロックでの最初の 5 分間の行動を評価した。レーザー照射により，照射側とは反対の方向（以下反対側）への動きが有意に減少し，照射側への緩徐な動きが観察された。左右の基底核回路の活動バランスが崩れた可能性が考えられたので，さらにレーザー照射ブロックにおいてアポモルフィン（ドーパミン受容体アゴニスト）を投与したところ，照射側への明らかな回転運動が誘発された。以上の行動変化はアストロサイトの光遺伝学的活動変化が神経回路活動に影響を与えている可能性を示唆するものであり，同系での基底核回路神経核群，大脳皮質運動野における神経活動の電気生理学的解析を行う予定である。

8. ミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いた脳動脈瘤形成における超微細形態変化の解明

小関宏和（東京女子医科大学 東医療センター 脳神経外科）
大野伸彦（生理学研究所 分子細胞生理研究領域 分子神経生理研究部門）
志茂　聡（健康科学大学 健康科学部 作業療法学科）
青木友浩（京都大学 医学研究科 次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点）

脳動脈瘤は，死亡率が 50%に及ぶくも膜下出血の主因となる疾患であり，病態形成進展機序の理解に基づいて適切に治療することが社会的に重要である。近年，脳動脈瘤の病態形成機序が血流ストレス依存的疾患であり，一方ではマクロファージに制御される慢性炎症疾患であるという概念が確立しつつあるが，血流ストレスが脳動脈瘤壁に認められる弾性板の断裂や血管壁の退行性変化，そして炎症細胞浸潤をもたらす機序については依然不明である。我々は，Serial Block-Face Scanning Electron Microscope（SBF-SEM）を用い，脳動脈瘤形成過程での血流ストレスによる内皮細胞の形態変化や弾性板断裂過程につき 3 次元的に微細構造を確認することでこれら

の点を明らかとすることを目的として研究を行った。

まず，ラットの片側の総頚動脈結紮と高血圧誘導によって反対側の脳血管分岐部の血流ストレスを上昇させる。こうして作製した脳動脈瘤モデル動物を用いて，非手術例，術後 5 日目の早期病変，術後 30 日目の後期病変の脳動脈瘤サンプルを採取し，それぞれ SBF-SEM で観察した。

その結果，内弾性板が機械的に断裂するのではなく，虫食い状に変性しており，同時に内皮細胞と血管平滑筋層の間の物質交換やシグナル伝達を担う myoendothelial junction が増加していくことがわかった。内皮細胞においては脳動脈瘤形成に伴って種々のサイトカインやケモカイン，細胞接着因子などが発現することが知られている一方で，脳動脈瘤壁での平滑筋細胞の脱落の機序については諸説あるものの，今までに明確な報告はない。内皮細胞と平滑筋細胞との interaction が平滑筋細胞の脱落にも関与している可能性もあり，今後さらなる検討が必要である。

また，内皮細胞間の gap junction が開大しており，その両端の細胞質内に比較的大きな小胞を認めることを確認した。これに関しては，先述した内皮細胞から発現する種々の関連物質の細胞内局在や動脈瘤病変内での発現の局在を詳細に解析していく予定である。

また，ヒトの脳動脈瘤サンプルを，未破裂脳動脈瘤の手術患者から採取し，SBF-SEM の撮像を終えたところであり，次年度に継続して解析を行う予定である。

9. 脳特異的な MITOL ノックアウトマウスの形態学的解析

長島　駿，柳　茂（東京薬科大学生命科学部分子生化学研究室）
大野伸彦（生理学研究所 分子生理研究系 分子神経生理研究部門）

ミトコンドリアはエネルギー産生，脂質の生合成，細胞死の制御を担う重要な細胞小器官である。ミトコンドリアは単独ではなく，他のオルガネラと協調して機能する。特にミトコンドリアと小胞体の接着（mitochondria associated ER membrane :MAM）がミトコンドリアの機能維持に重要であることが明らかになりつつある。我々はこれまでに培養細胞を用いて，ミトコンドリアの外膜に局在するユビキチンリガーゼ MITOL がミトコンドリアダイナミクスや MAM 形成を制御することを報告した。さらに，MITOL を脳特異的に欠損したマウスを作製し，海馬神経細胞におけるミトコンドリアの形態およびミトコンドリアと MAM の形態の解析を進めた。Serial block-face scanning electron microscopy（SBF-SEM）を用いて得られた連続画像を 3 次元再構築し，ミトコンドリアの形態や MAM の増減を比較した結果，MITOL を欠損した神経細胞体において，ミトコンドリアの体積，複雑性の減少が認められた。さらに MITOL 欠損神経細胞では，MAM の減少が示唆された。

本申請研究では，より詳細に MITOL の欠損が及ぼすミトコンドリアと MAM の形態の変化を確認するために，軸索と樹状突起に局在するミトコンドリアと MAM についても細胞体と同様に解析を行った。その結果，細胞体と同様に MITOL を欠損した軸索と樹状突起のミトコンドリアは小さく，MAM 形成数も少ないことが明らかとなった。また，MITOL を欠損した樹状突起では数珠状の構造をとるものが認められた。この数珠状の形態異常は神経変性疾患の樹状突起において認められることから，MITOL の欠損はミトコンドリアと MAM の形態異常を引き起こした結果，神経変性を引き起こす可能性が示唆された。今後は，MITOL 欠損によるミトコンドリアの形態異常，MAM の減少と神経変性の関連について解析を進める。

10. SBF-SEM を用いた髄鞘の軸索機能調節機序の解析

林　明子，馬場広子（東京薬科大学 薬学部 機能形態学教室）

有髄神経の軸索は髄鞘によって覆われている。髄鞘は，軸索の絶縁による跳躍伝導発生のみでなく，軸索上の

チャネルなどの機能分子の局在化，軸索径や輸送の調節など様々な面から軸索の機能調節に関わっていると考えられる。本研究では，先端電子顕微鏡技術を用いて詳細な形態観察を行うことにより，髄鞘による軸索機能調節機序を明らかにすることを目的とする。

髄鞘異常を示す遺伝子改変動物として硫酸化糖脂質スルファチド欠損（CST 欠損）マウスの坐骨神経および小脳の軸索と髄鞘の解析を継続している。本年度は特に，末梢神経において硫酸化糖鎖付加 P0 タンパク質の髄鞘形態・維持への役割に着目し，SBF-SEM を用いて GlcNAc6ST-1 欠損マウス坐骨神経の立体構造を正常マウスと比較し髄鞘の軸索機能維持における硫酸化糖鎖の関与を検討した。この硫酸化糖鎖を有する P0 タンパク質の髄鞘における局在や機能はほとんど分かっていない。SBF-SEM での解析の結果，GlcNAc6ST-1 欠損マウスでは，髄鞘のランビエ絞輪隣接部分（paranode）にある髄鞘・軸索間結合部分の形態に異常が見られるものや，軸索側に腫脹した髄鞘に圧され非常に細くなっている軸索も観察された（Sci Rep. 2017; 7: 42257.）。

以上，本研究により末梢神経における正常な髄鞘の形成や軸索の形態に対する P0 タンパク質の硫酸化糖鎖付加の重要性が明らかとなった。髄鞘関連遺伝子の改変動物や脱髄モデル動物の神経系を SBF-SEM を用いて３次元的に解析することにより，髄鞘の変化が軸索に与える影響を今後より詳細に明らかにできると考えている。

11. 甲状腺乳頭癌細胞の核形態　- SBF-SEM による 3 次元解析 -

加藤良平（山梨大学総合研究部医学域人体病理学講座）
大野伸彦（自然科学研究機構生理学研究所分子神経生理研究部門）
井上朋大（山梨大学総合研究部医学域人体病理学講座）

目的: 乳頭癌は甲状腺から発生する悪性腫瘍の中では最も頻度が高く，女性に多い，リンパ節転移が多い，予後が良好などの臨床的特徴が知られている。現在，乳頭癌の組織細胞診断は，組織構造よりも腫瘍細胞の核所見によって規定されている。すなわち 1)核の溝 nuclear groove (NG)，2)核内細胞質封入体 intranuclear cytoplasmic inclusion (INCI)，3)スリガラス状核 ground glass nuclei (GGN) である。しかしながら，特徴とされるこれらの核所見は，主として切片上における 2 次元的局面（割面）での観察によるもので，実際の核形態の特徴を知るには 3 次元的観察が必須である。そこで，今回我々は，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡 serial block-face scanning electron microscopy (SBF-SEM) を用いて乳頭癌細胞核の断面を連続的に撮影し，その画像をモニター上に再構築して 3 次元的に観察した。

材料・方法: 山梨大学医学部附属病院で外科的切除された甲状腺乳頭癌組織を，4%Paraformaldehyde と 0.5%Glutaraldehyde の混合液で固定後，エポン包埋した。観察には SBF-SEM を用い，厚さ 80nm で，500 枚程度の連続切片画像を撮影した。撮影した画像の解析には画像解析ソフト（Fiji/Image J と Amira5.0）を用いた。

結果: SBF-SEM にて撮像した 3 次元イメージ画像では，甲状腺乳頭癌核は，正常甲状腺の濾胞上皮細胞と比較し，核表面の不整や陥入がより明瞭であり，核の長径・体積・表面積・真球度は有意に低い値を示した。INCI には外部との交通を伴うもの（Open INCI）と伴わないもの（Closed INCI）がみられた。封入体には，内部が細胞小器官に乏しいものや，dense core をもった顆粒をもつものが散見されたが，何れも Closed INCI のみでみられた。

まとめ: SBF-SEM を用いて，核の陥入像や核内封入体を観察し，それらの形成過程における変化を 3 次元的にとらえることに成功した。すなわち，核の陥入像から Open INCI となり，Closed INCI が形成されることが示唆された。今後は，核内封入体と封入体内に存在する細胞小器官との関連についてさらに検討し，乳頭癌細胞の特徴とされる核形態の意義について考察を加えたいと考えている。

12. 軸索におけるミトコンドリアと滑面小胞体の相互作用の超微形態学的検討

寺田信生（信州大学大学院医学系研究科 保健学専攻医療生命科学分野）
大野伸彦（自然科学研究機構 生理学研究所　分子神経生理部門）
Nguyen Huy Bang，Thai Truc Quynh，Yang Sui（山梨大学大学院総合研究部 解剖学講座分子組織学教室）

Mitochondria associated membranes（MAM）と呼ばれる小胞体とミトコンドリアの相互作用は脂質合成などを介してミトコンドリア機能維持に重要な役割を果たしている。こうした相互作用やミトコンドリアの恒常性維持の破綻は，ミトコンドリアの機能異常を介して，軸索の正常な機能や生存を障害する可能性が高い。そこで本研究では髄鞘蛋白の過剰発現による慢性脱髄マウスモデル（PLPtg）を用いて，脱髄に伴う小胞体とミトコンドリアの相互作用の変化をミクロトーム組み込み式走査型電子顕微鏡を用いて解析し，軸索の変性に関わる可能性について検討した。5 ヵ月齢の野生型マウスではほとんどの軸索に髄鞘形成が認められたが，PLPtg マウスの視神経ではほとんどすべての軸索に髄鞘が観察されず，ほぼ完全な脱髄が認められた。PLPtg の脱髄軸索においては野生型の有髄軸索に比較して，ミトコンドリアの体積の増加に伴い，MAM の総面積の有意な増加が見られた。MAM の密度(接着領域数/単位面積)に変化はなく，個々の MAM の面積の増加が認められた。一方で 1 カ月齢の野生型と PLPtg マウスでは MAM の面積に大きな変化はみられなかった。以上の結果から，MAM の密度と各 MAM の面積が別個に調節されており，慢性的な脱髄にともなって MAM の面積を増大させることでミトコンドリアと小胞体の相互作用の強化が惹起されることが示唆された。現在，この相互作用の調節を行っている分子機構の検討を進めている。

13. 2 型糖尿病性上皮細胞障害に対する SGLT 阻害剤（フロリジン）の薬理作用の解明

笹野公伸（東北大学大学院医学系研究科 病理病態学講座 病理診断学分野）
齊藤　成（自然科学研究機構 生理学研究所 脳機能計測・支援センター 電子顕微鏡室）
高木孝士（東北大学大学院医学系研究科 病理病態学講座 病理診断学分野）
大野伸彦（自然科学研究機構 生理学研究所 分子生理研究系 分子生理研究部門）

SGLT 阻害剤は糖尿病治療薬として用いられており，血糖降下作用に加え，血圧低下・心臓脳血管イベントの減少が期待されている。一方で，糖尿病性腎障害への治療効果や近位尿細管上皮細胞内の脂質代謝に及ぼす影響は不明な点も多い。

本研究では，高脂肪食負荷による２型糖尿病マウスモデルを用いて，糖尿病性近位腎尿細管障害における脂質代謝異常と SGLT 阻害剤（Phlorizin）投与の薬理効果を検証した。4 週齢雄野生型マウス（C57BL6J）に 20 週齢まで通常食（STD）もしくは高脂肪食（HFD）を与え，２型糖尿病モデルマウスでは，体重増加と高血糖及び高脂肪血症が認められた。LC-MS 解析にて３群各３匹（STD-Vehicle・HFD-Vehicle・HFD- Phlorizin）の腎臓組織皮質領域でのリン脂質の定量解析を行った。解析には，各群の平均分布を重量補正して比較した。電子顕微鏡解析（SBF-SEM・STEM-EDX）では，灌流固定後に腎組織を採取し，還元オスミウムを用いる OTO 法とウラン・鉛のブロック染色，電顕樹脂包埋したものを用いた。SBF-SEM による連続断面画像を取得後，超薄切片を作成し STEM-EDX による元素分析定性マッピングを行った。顕微ラマン分光にて，腎臓組織の凍結切片上の成分分析を行った。

LC-MS 解析の結果，STD-Vehicle（284,396 pmol/mg）の Sphingomyelin が HFD-Vehicle（137,903 pmol/mg）と HFD-Phlorizin（148,872 pmol/mg）の２群に比べ高い分布傾向を示した。SBF-SEM の解析結果では，STD-Vehicle に対し HFD-Vehicle の近位尿細管（S1～S3 領域）で，ミトコンドリア（Mt）の断片化が認められた。HFD-Vehicle の S2 領域を中心に高電子密度のオートファゴソーム様構造（At）が認められた。面白いことに，At が近位尿細管の管腔側に脱落する形態像も認められた。HFD-Phlorizin では，Mt

体積は増加し At は減少した。一部の S2 領域で大型の空砲形成が起き，ライソゾームと融合した形態像が認められた。HFD-Vehicle の S2 領域の At を STEM-EDX 元素分析定性マッピングを行った結果，At にはリンの強い集積が認められた。顕微ラマン分光解析により，リンが集積した At に Sphingomyelin とほぼ同一の Raman spectrum のピークが確認された。

野生型マウスに高脂肪食を与えることで，２型糖尿病性近位尿細管障害を惹起し，近位尿細管（S1～S3 領域）で Mt の断片化と S2 領域の At にリン脂質（Sphingomyelin）の異常蓄積を起きることが明らかになった。細胞外膜に多く存在する Sphingomyelin が細胞内の At に取り込まれ，SGLT 阻害剤により除去される機構が示唆された。

14. 高脂肪食摂取下における腸管粘膜防御機能と吸収機構に関するメカニズムの解明

志茂　聡（健康科学大学 健康科学部作業療法学科）
齊藤　成（自然科学研究機構 生理学研究所 脳機能計測・支援センター 電子顕微鏡室）
村松　憲（健康科学大学 健康科学部理学療法学科）
大野伸彦（自然科学研究機構 生理学研究所 分子生理研究系 分子神経生理研究部門）

糖尿病神経障害により引き起こされる下痢や便秘は，日常生活動作や QOL の低下を招き，臨床上で大きな問題となっている。これらの発症機序として，腸管細菌叢の異常増殖や自律神経障害による小腸運動機能障害などが考えられているが，その病態や成因については未だ不明な点が多い。本研究の目的は，腸管粘膜防御機能および吸収機構において重要な役割を果たす，アウエルバッハ神経叢を連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて 3 次元的再構築をおこなうことにより，高脂肪食摂取下における腸管吸収機構のメカニズムを解明することである。

実験には 4 週齢から高脂肪食の給餌を開始し，20 週齢まで飼育された 2 型糖尿病モデルマウス（高脂肪食群）を用いた。一部は糖吸収阻害薬であるフロリジンを組織採取の前日および当日に皮下投与した。対照群として通常食で飼育された同週齢のマウス（通常食群）を使用した。試料作製は，麻酔下で還流固定もしくは浸漬固定後，OTO 法によるブロック染色をおこない樹脂包埋した。これらの試料を SBF-SEM を用いて，連続断層像を取得した。画像解析は Amira5 および TrackEM2 によるセグメンテーションをおこない，アウエルバッハ神経叢内における軸索内の Varicosity およびシナプス集積の計測および解析をおこなった。さらに，軸索内のミトコンドリアの体積および表面積を各群で比較検討した。その結果，通常食群に比較して高脂肪食群で平均体重増加と平均血糖値上昇がみられ，フロリジン投与後は高脂肪食群でのみ血糖値降下を認めた。形態学的解析では，通常食群においてアウエルバッハ神経叢内の軸索での Varicosity に多数のシナプス集積を認めた。一方，高脂肪食群では軸索径の減少を認め，Varicosity のシナプス集積はほとんどみられなかった。しかし，フロリジン投与後は Varicosity に多数のシナプス集積とともに，軸索側枝の増加がみられた。

これらの結果から，高血糖状態がアウエルバッハ神経叢における Varicosity のシナプス動態の異常を惹起すること，さらに，糖吸収阻害薬フロリジンが軸索に保護的に作用する可能性が示唆された。今後の課題として，ミトコンドリアの解析では小型のミトコンドリアのセグメンテーションに耐えうる解像度が不足していたため，切削間隔および撮像条件の再検討が必要となった。

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

渡邉敬文（信州大学農学部動物生体機構学研究室）
亀谷清和（信州大学基盤研究支援センター機器分析部門）
大野伸彦（自然科学研究機構生理学研究所分子生理研究系分子神経生理研究部門）

グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）は摂食抑制作用のある内分泌ホルモンであり，食餌刺激で消化管の GLP-1 分泌細胞（L 細胞）から分泌される。平成 27 年度までの研究により，絶食によって GLP-1 含有顆粒が小さくなること，複数の顆粒が集合した歪な顆粒が出現すること，また，空胞状の構造物が多数現れることを確認し，オートファジー機構の関与が示唆された。そこで，平成 28 年度は GLP-1 とリソソームを蛍光二重染色した共焦点レーザー顕微鏡での観察により GLP-1 分泌顆粒の分解とオートファジー機構の関連を解析した。また，平成 27 年度は金コロイド銀増感法による免疫染色と SBF-SEM を組み合わせた手法による GLP-1 分泌顆粒の 3 次元的解析方法を確立したが, SBF-SEM 観察時に銀標識物の脱落の可能性を有識者から指摘されたため, SBF-SEM 観察前のサンプルを FE-SEM の反射電子像と EDS により観察し解析方法の検証を行った。

GLP-1 分泌顆粒を含む L 細胞とリソソームの共局在率の解析では，絶食群の陰窩に存在する L 細胞に増加傾向が認められた。SBF-SEM 観察用に作製したサンプルは FE-SEM の反射電子観察下において金コロイド銀増感標識部位は陽性像として検出され，EDS 解析でも銀の集積を認めたことから，金コロイド銀増感法と SBF-SEM を組み合わせた本手法は有用であることが確認された。

透過型電子顕微鏡観察により，分泌刺激を受けない L 細胞にはリソソームが出現し, リソソームと接する GLP-1 含有顆粒は分解され小さな顆粒として観察されることが示唆された。また，EDS 解析の結果から SBF-SEM 観察で認めた歪な顆粒は複数の GLP-1 含有顆粒の集合により形成されたものであることが証明された。オートファゴソームを介さずに選択的に内分泌顆粒を分解する機構はクリノファジーと言われている。腸のパネート細胞においても本研究と同様にクリノファジーによる分泌顆粒の分解と分泌顆粒の集合が電子顕微鏡観察により報告されている。以上より，絶食により分泌されない GLP-1 分泌顆粒はクリノファジー機構により分解される可能性が示唆された。

本研究の成果は，第 72 回日本顕微鏡学会学術講演会で発表した。今後は論文に纏めて公表する予定である。

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

田所　治（松本歯科大学口腔解剖学講座）
大野伸彦，Huy Bang Nguyen（自然科学研究機構生理学研究所分子神経生理研究部門）
齊藤　成（自然科学研究機構生理学研究所電子顕微鏡室）
安藤　宏（松本歯科大学生物学講座）

本年度は，カエル舌の茸状乳頭上皮における神経の構造解析を行なった。また，substance P（SP）で免疫標識した上皮内神経を，３次元的に観察を行なうための試料作製にも取り組んだ。

「茸状乳頭上皮の表層における神経の構造解析」では，神経の末端は舌の自由面からおよそ 100 nm 深いところに達していたことが分かった。神経の内部には小胞が豊富にみられたが，ミトコンドリアはさほどみられなかった。3D 再構築では，神経は紡錘形を呈しており，自由面に向かって細長く伸びる３つの細胞質突起によって囲まれていたことが明らかとなった。自由面からおよそ 6 μm 深いところでは，神経が著しく括れており，括れたところの直上と直下には，Varicosity 様の形態がみられた。

「SP で免疫標識した上皮中の神経を，３次元的に観察

を行なうための試料作製」では，固定液の調製，切片の作製法と適切な厚さ，SP 抗体の至適濃度，抗体の浸透時間，洗浄液，DAB 発色，オスミウム固定に関する検討を繰り返し行ない，免疫反応と構造の保持に良好な条件を探った。透過型電子顕微鏡による観察では，SP 神経の末端は，自由面からおよそ 100 nm 深いところにみられ，内部には小胞が観察された。SP 神経の末端は，自由面に向かって伸びる細長い細胞質突起に密接しており，突起の上を覆っていた。Varicosity 様の形態も時折観察された。

以上の結果の一部は論文として公表し，所属する学会においてポスター発表を行なった。

今後は，SP で免疫標識を施した上皮内神経を連続ブロック表面 SEM によってセグメンテーション･3D 再構築を行い，味覚器における SP 神経の機能的意義について考察を加えたいと考えている。

17. 成体脳内における新生ニューロンの高速移動を制御する超微細構造の解析

澤本和延，金子奈穂子，澤田雅人，松本真実（名古屋市立大学）
大野伸彦（山梨大学）
古瀬幹夫（生理学研究所）

側脳室周囲組織である脳室下帯では，成体でも持続的にニューロンが産生されている。産生された幼若な新生ニューロンは移動能が高く，嗅球まで高速で移動したのち成熟し，嗅覚神経回路の可塑性に寄与する。また傷害後には，損傷部に移動してニューロン再生に寄与する。これまでに，この移動を制御する様々な分子が報告されてきたが，実際に新生ニューロンがどのように周囲組織・細胞と接し，移動に必要な足場を形成しているのかは不明である。本研究では，走査型３D 電子顕微鏡を用いて，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，成体脳内での高速移動制御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新生ニューロンの移動を制御する微細突起の形態解析

我々は，新生ニューロンが嗅球で移動を停止する際に，微細な突起を形成することを見いだした。この突起の形成位置・周囲組織や成熟ニューロンとの空間的関係を 3D-SEM を用いた 3 次元再構築法を行いて解析した（Sawada et al, submitted）。

②移動する新生ニューロン間の接触の解析

新生ニューロンは，嗅球への生理的な移動経路での移動の際に，鎖状の細長い細胞塊を形成し，互いを足場として移動している。傷害部への移動の際にも類似の細胞塊を形成するが，このときの新生ニューロン同士の接触に質的・量的な変化が存在するかは分かっていなかった。我々は脳梗塞モデルマウスを用いて，脳室下帯から傷害部へ細胞塊を形成して移動している新生ニューロン間の接着構造・細胞間隙の形成を 3D-SEM を用いた 3 次元再構築法を行いて定量的に解析した（Matsumoto et al, in preparation）。

③脳梗塞部へ移動する新生ニューロンと活性化アストロサイトの接触の解析

脳梗塞部への移動中に，新生ニューロンは高頻度に活性化アストロサイトに接している。3D-SEM・3 次元再構築法を用いた解析により，新生ニューロンとの接触面において活性化アストロサイトの表面構造が変化していることが示された（Kaneko et al, submitted）。

④霊長類であるコモンマーモセットの正常・脳梗塞後の脳内を移動する新生ニューロンにおいて，同様の解析を行うためサンプル作製・撮像条件の検討を開始した。

18. 連続ブロック表面－走査電子顕微鏡（SBF-SEM）による各種細胞微細構造の立体構造解析

深澤有吾，石川達也（福井大学・医学部・脳形態機能学分野）

SBF-SEM をはじめとする高分解能型 SEM による構造解析法は，生体組織の立体的な微細構造情報を従来法に比較して精緻に効率良く取得できる利点を持つ。そこで本研究課題では，生理研 3View-SEM（Merlin）により，①大脳皮質発生過程における神経幹細胞の新規細胞突起構造，②ニワトリ層状核細胞の樹状突起上シナプス分布，③大脳皮質内アストロサイトの層構造特異的な形態，④マウス海馬内シナプス結合構造の多様性と共通構造特性」の解析などを明らかにすることを目的とした。また，⑤免疫標識された試料を 3 次元観察するノウハウの蓄積を目指し，生理研 Merlin と名古屋大学 FIB-SEM 機 Scios との観察特性の違いについても検討した。

④マウス海馬内シナプス結合構造の多様性と共通構造特性の解析では，同一試料から種々のシナプス結合の前後構造を Merlin 及び Scios の両装置で撮影し，画像を比較検討した。その結果，Merlin は観察面積と組織中の特定部位の観察が行える点で優れ，Scios は Z 方向の分解能とシナプス後肥厚の同定精度の点で優れていた。この解析では，観察した全てのシナプス種で，前構造の体積とシナプス小胞の数，シナプス後スパイン体積とシナプス後肥厚（PSD）の面積が有意な正の相関を持ち，その相関直線の傾きが，シナプス結合種毎に固有であることが明らかとなった。また，シナプス前構造（体積やシナプス小胞数）とシナプス後構造（スパインの体積等）との間にも相関する組み合わせが見つかり，シナプス前後が構造的協調性の元に構築されていることが示唆された。現在，精神疾患モデルマウスの観察も行っており，近々に論文を投稿する予定である。その他の課題は，国内研究者の依頼に応じて試料作製と画像取得を行っている課題であり，主に生理研 Merlin を用いて観察を行い，共同研究者らと共に解析した。課題③については既に投稿し，①②については論文執筆中である。

⑤免疫標識組織試料の 3 次元観察に向けた技術基盤を構築するため，両機種で撮影した画像を比較した。タンパク質用電子染色は Scios の方がコントラスト良く検出でき，免疫反応の可視化にも優れていた。種々の検討により，この Scios の免疫標識画像撮影における優位性は，電子線走査による帯電が起き難く，長時間の信号検出が行える点によることが判明したので，導電性樹脂による試料包埋で，Merlin による観察でも高コントラストのタンパク質局在像と免疫標識像が得られることが示唆された。

19. 細胞分裂過程を 1 細胞丸ごとレベルで 3 次元構造解析するための技術開発

岩根敦子（国立研究開発法人理化学研究所 生命システム研究センター）
大野伸彦（山梨大学 大学院総合研究部医学域基礎医学系 解剖分子組織学教室）

細胞や組織内の重要なイベントを可視化するために，近年，様々な顕微鏡が開発されている。その中で電子顕微鏡観察は標的分子並びに細胞小器官だけでは無く，それを取り囲む環境を含めた超微細構造を可視化出来る利点がある。空間分解能が理論的には試料の厚さに影響を与えない生理学研究所に有る MERLIN 3View 装着のスキャン電子顕微鏡（SBF-SEM）と三次元再構築法を用いて最小限度の細胞小器官を有するシゾンを生命の基本である細胞分裂過程のモデル生物として選び，細胞丸ごとレベルで超微細構造解析を行っている。今年度は，今まで，FIB-SEM を用いて得られたモデルと照らし合わせ，各顕微鏡の特性を活かした結果の比較検討を行った。

FIB-SEM 計測（Quanta, FEI 社）での約 16 時間での計測では平均 10 細胞の情報に比べ，10 倍以上の構造情報が得られたものの，一細胞毎の構造情報を取り出し，三次元構造可視化ソフトである Amira で詳細な解析をした結果，25 nm～50 nm でのダイアモンドナイフの切削間隔からは色素体内のチラコイド膜やグリコーゲンなどの

小粒子並びに細胞分裂に重要な役割を担っていると考えられ，FIB-SEM 観察では時々刻々その姿を変える細胞内小器官であるペロキシソームの形の変化には十分に対応出来ず，50 細胞以上のセグメンテーション解析をしたものの残念ながらこれ以上の解析を行うことを断念せざるおえなくなった。そこで今年度途中より，標的構造体として動物細胞の分化へとシフトさせた。具体的にはマウス横紋筋芽細胞株である C2C12 細胞が骨格筋細胞へと分化に伴い機能を得ていく過程を構造面からアプローチする系の立ち上げを行った。適切な基板上で生育した C2C12 細胞にウマ血清を用いて骨格筋への分化を促し，分化開始前，また 3 日後，5 日後，7 日後の細胞を得た。汎用性の光学顕微鏡による明視野観察で分化前に単核であった細胞は 3 日目以降徐々に多核の細胞へと変化し，5 日目にはその一部は自動拍動運動を示し，細胞自体も太く大きな変化示した。分化誘導 5 日目と分化誘導前の細胞を化学固定し，染色，樹脂包埋し，SBF-SEM により連続二次元画像を取得し，Amira を用いて三次元再構築を行ったプレリミナリーではありますが，結果を以下に示す。また，大野先生にご協力頂き，申請者本人も SBF-SEM 観察の指導をうけました。

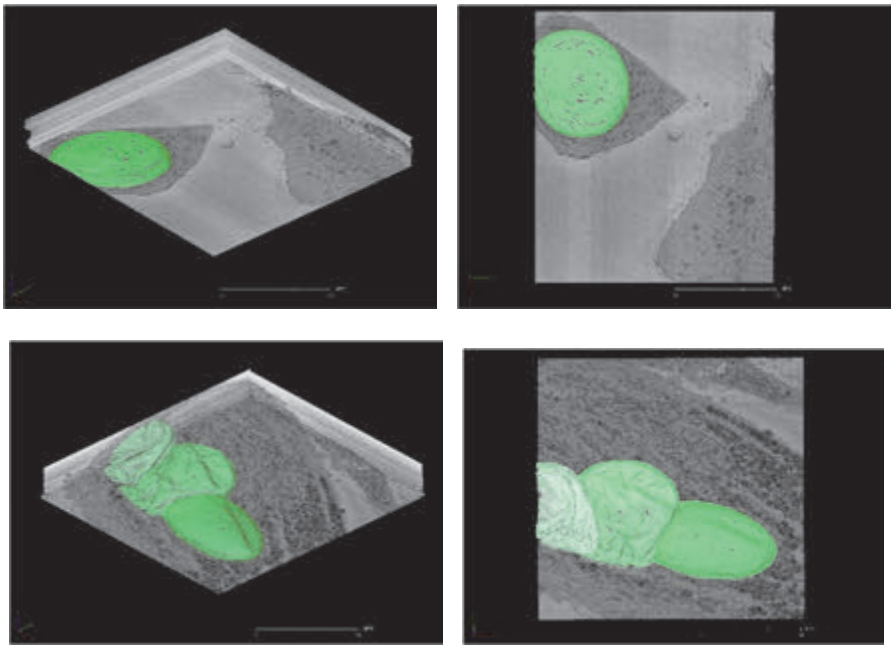


図 1 ：C2C12 細胞（上段は分化誘導前，下段は分化 5 日目）緑色の部分は核膜をセグメンテーション抽出。左右は同じ細胞を異なる角度からの表示したもの。筋分化に伴い，多核化状態に加え，ミトコンドリアの形状変化や繊維状構造体が確認された。

20. 精子の形態形成過程における精子細胞とセルトリ細胞間で見られる細胞膜および細胞内膜性構造物の三次元的構造解析

若山友彦（熊本大学大学院生命科学研究部・生体微細構築学分野）
大野伸彦（生理学研究所・分子神経生理研究部門）

精子形成は，精祖細胞の有糸分裂，精母細胞の減数分裂，精子細胞の形態変化（精子完成）からなる。精子完成では，精子細胞とセルトリ細胞の細胞膜を介する作用が重要であり，透過型電子顕微鏡により種々の微細構造が解明された。その一つは，伸長精子細胞の先端部を取り囲むセルトリ細胞の細胞膜直下にアクチン線維束とこれを細胞膜とサンドイッチする小胞体からなる apical ectoplasmic specialization（apical ES）である。apical ES は，円形精子細

胞を細長い細胞にする構造物と考えられている。精子の三次元構造は明らかにされているが，apical ES の三次元構造は十分に分かっていない。精子の形態形成を理解する上で，apical ES の三次元構造の解明は重要である。ラット精巣では，step 9 以降の精子細胞に対応するセルトリ細胞に apical ES が認められる。そこで，10 週令のラットより精巣を採取し，細切して固定し，FIB/SEM 観察用のエポン包埋標本を作製した。標本を観察し，SEM の連続画像を取得した。得られた画像データは，FIJI（ImageJ）を用いて TIFF 画像に変換して軸合わせをし，step 9 以降の精子細胞の先端部とこれを取り囲むセルトリ細胞の部位を画像解析した。FIB/SEM 観察では，細胞骨格であるアクチン線維を観察できないため，小胞体に着目することで apical ES の全体像を捉えることにした。step 9 の前半には apical ES を認めないが，中期になると精子細胞の先端部を取り囲むように小胞体が出現する。この小胞体は，従来に言われていた網目構造ではなく，ひと続きのシート構造であった。step 14 では，精子細胞の先端部を覆う小胞体の背側部に小さな孔のみを見るが，腹側部には比較的大きな孔を認めた。排精に近い step 19 の精子細胞では，小胞体の腔が狭くなり，また，精子細胞の腹側部から突起状の tubulobulbar complex（TBC）見られた。この TBC は，精子細胞の頭部からセルトリ細胞内に伸びる。セルトリ細胞内の複数の小胞体が，この TBC と平行に走行した。本研究により，網目構造だと考えられていた apical ES を構成する小胞体がシート構造であることが分かり，また，TBC と平行に走行する小胞体も見られることが分かった。

21. 多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンのターンオーバーを制御する微小環境の可視化解析

澤本和延，澤田雅人，荻野　崇（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野）

哺乳類の脳室下帯では，成体でも神経幹細胞が存在し，生涯にわたり新生ニューロンを産生している。産生された新生ニューロンは，嗅覚の一次中枢である嗅球へと移動し，抑制性介在ニューロンとして成熟する。一方，古いニューロンは細胞死を起こしており，嗅球では抑制性ニューロンが常に入れ替わることで嗅球神経回路を維持している。過去の研究では，生きた動物で同一ニューロンを長期間追跡することが困難であったため，ニューロンのターンオーバーの制御機構は十分に研究されていなかった。我々は以前，生理学研究所生体恒常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生体イメージング法を確立し，嗅覚入力による嗅球ニューロンのターンオーバーの時空間的制御を報告した（Sawada et al., ***J Neurosci***, 2011）。しかし，その詳細な制御メカニズムは不明である。そこで本研究では，ニューロンのターンオーバーが生じる周囲の血管およびグリアとの関係に着目し，確立した生体イメージング法を発展させて，ニューロンのターンオーバーが生じる微小環境とその制御機構を in vivo で解析することを目的とした。

これまでに，ニューロンと血流の同時生体イメージング法を用いて，ニューロンのターンオーバーと血流の関係を解析した結果，新生ニューロンの定着は血流の多い血管の近傍で生じることが明らかになった。新生ニューロンの定着における嗅覚入力の役割を解析するため，カルシウム指示薬を経鼻注入して嗅細胞に導入し，嗅覚刺激装置と組み合わせたカルシウムイメージング法を確立した。さらに，嗅覚刺激に応じて活性化した糸球体では血流が上昇することを明らかにした。現在は，本イメージング法を用いて，嗅覚入力依存的な嗅球糸球体活性化と血流増加，新生ニューロンの定着の関係を解析中である。

ミクログリアは脳内の免疫細胞であり，死細胞を貪食することで周囲の微小環境の恒常性を維持する。これまでに，嗅球ミクログリアによる死細胞の貪食が嗅覚入力の影響を受けることを明らかにした。現在，ミクログリアによる死細胞の貪食を抑制する実験系を確立し，新生ニューロンの定着に与える影響を解析中である。

以上の結果は，血流やミクログリアが嗅球ニューロンのターンオーバーを調節することで，嗅球神経回路の可塑性を制御している可能性を示唆している。

22. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの解析

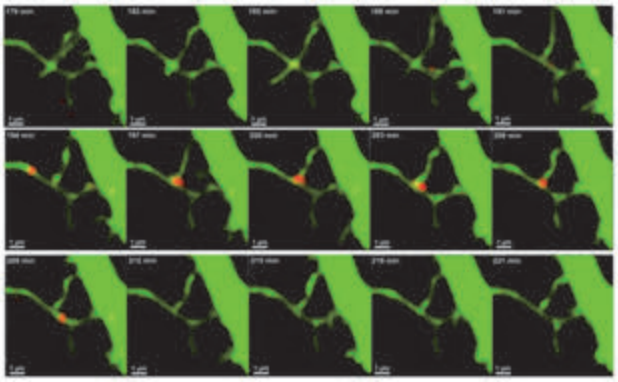
松下健一郎，八木　健（大阪大学 大学院生命機能研究科 時空生物学講座 心生物学研究室）
中畑義久，和氣弘明，鍋倉淳一（生理学研究所 基盤神経科学研究領域 生体恒常性発達研究部門）

本研究では，クラスター型プロトカドヘリン（以下，cPcdh）によるシナプス形成メカニズムを明らかにすることを目標に研究を行った。神経回路の形成は，脳の発達段階における重要なプロセスであり，cPcdh は，マウスで 58 種類のアイソフォームを持つ細胞接着分子であり，ホモフィリックな接着活性による特異的な相互作用が知られている。これまでに，cPcdh 欠損マウスの解析により，神経回路の異常が認められており，cPcdh はシナプス形成メカニズムにおいて重要な役割を果たしていると考えられている。しかし，実際にシナプス形成過程において cPcdh がどのような挙動をしているのかは明らかになっていない。そこで本研究では，マウスの神経細胞に cPcdh の発現ベクターを遺伝子導入し，経時的イメージングによって cPcdh 分子及び神経細胞の動態を解析した。

実験には，58 種類の cPcdh をすべてノックアウトしたマウス（cPcdh 全欠損マウス）と野生型マウスを用いて行った。胎生 16 日目の胎児から海馬神経細胞を分散処理した後，エレクトロポレーション法によって cPcdh の 1 アイソフォームである Pcdh-γA3 を発現するベクター（C 末端に tdTomato を蛍光標識）と eGFP の発現ベクターを導入した。この処理を全欠損および野生型マウスの神経細胞に対して行い，播種直前の状態で生理学研究所に輸送し，培養および観察を行なった。観察は培養後 7 日，14 日，21 日にそれぞれ行ない，cPcdh 分子の動態を tdTomato，神経細胞の動態を GFP の蛍光によって検出し，1 つの視野について 2 分毎に画像を取得して経時的なイメージング解析を行なった。

実験の結果として，コントロールである野生型の神経細胞では，培養後 7 日目のサンプルにおいて，神経細胞の突起の伸縮が視野内の各所で観察された（図参照）。

また，軸索とフィロポディアが Pcdh-γA3-tdTomato を介して接着する瞬間の観察も行うことができた。この接着点では，Pcdh-γA3-tdTomato がや 20 分程留まり，その後，接着点が安定し，フィロポディアの運動が弱まった。このことから Pcdh-γA3 分子は細胞の接点に輸送され，シナプス形成の初期における神経細胞の接着に関与することが示唆された。培養後 14 日目でも突起の伸縮は頻繁に見られ，培養後 21 日目では伸縮が終わり，ほとんど動きが見られなかった（図参照）。一方，cPcdh 全欠損の神経細胞では，培養後 7 日目は野生型と同様に突起が良く動いていたが，突起同士の接触は観察出来ず，また 14 日目ですでに突起の伸縮が終了していた。また，これまでに cPcdh タンパク質が，シナプス成熟因子であるニューロリギント結合してることも明らかとなった。



23. メカノ作動性分子を標的としたドラッグリポジショニング研究

津田　誠，齊藤秀俊，山下智大，白鳥美穂，高露雄太（九州大学大学院薬学研究院）
下田　翔，黒原　健，渡嘉敷彩音（九州大学薬学部）

筋萎縮性の疾患は予後不良で難治性であり，有効な治療法の確立が急務とされている。本研究では，筋細胞（心筋・平滑筋・骨格筋）のメカノ作動性膜タンパク分子として働く TRP チャネルやプリン作動性受容体が，痛みや

かゆみの発症にも関与することに着目し，これら分子を標的とするケミカルツールの探索を目的とするスクリーニング系の構築を行った。TRPチャネルについては，平滑筋細胞の収縮型への筋分化に対する負の制御因子となることに着目し，GFP 融合型 SM22α タンパク質の安定化を指標にした細胞評価系を構築した。GFP-SM22α を安定発現した細胞株では，TGFβ 刺激により有意な傾向増加が認められ，TRPC6 チャネル遺伝子欠損によっても同様の蛍光増加が認められた。TRPC3/6 チャネル阻害活性が報告されている 7 種類の化合物を用いて再現性を調べたところ，2 種類の化合物だけが蛍光増強作用をもつことが明らかとなった。これら 2 化合物は確かにマウス下肢虚血後の末梢循環障害を有意に改善させた。以上の結果から，TRPC チャネル阻害活性と平滑筋細胞の筋分化が相関するわけではないことが示された。

一方，P2Y6 受容体を安定発現させたラット心筋細胞株 H9c2 をガラスベースディッシュに播種しても何ら応答が見られなかったものの，機械的伸展刺激用のシリコンラバーディッシュ上に播種したときだけ自発的な Ca^{2+} 振動（オシレーション）を発生させることを明らかにした。P2Y6 受容体には細胞外ループ上にインテグリンと相互作用しうる RGD 配列が存在し，RGD を RGE に変異させることで P2Y6 受容体を介した自発的な Ca^{2+} 振動や機械的伸展刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇がほぼ完全に抑制された。これらの結果は，P2Y6 受容体の細胞外 RGD 配列が P2Y6 受容体に依存した Ca^{2+} シグナリング活性化に重要であることを強く示唆している。さらに，P2Y6 受容体の唯一の阻害化合物 MRS2578 が親電子性の高いイソチオシアネート基を２つ持つことに着目し，機能性食品に含まれるイソチオシアネート化合物 20 種類を用いて P2Y6 受容体阻害活性の検討を行った。その結果，イソチオシアネート基を 1 分子中に 1 つ含むものよりも２つ含む化合物のほうが高い P2Y6 阻害活性を示す傾向があることを見出した。イソチオシアネート化合物は機械的伸展刺激により惹起される心筋細胞の持続的な Ca^{2+} 濃度上昇を有意に抑制した。しかしながら，P2Y6 受容体の細胞外ドメインに 4 つのシステイン残基が存在するものの，イソチオシアネート基とこれらシステインとの化学反応（親電子修飾）は観察されなかった。以上の結果から，イソチオシアネート化合物は P2Y6 受容体を化学修飾非依存的に抑制する可能性が示された。

24. 循環ショック時の自律神経調節における TRP チャネルの役割

谷田　守（金沢医科大学 医学部 生理学Ⅱ講座）
富永真琴（細胞生理研究部門）

循環ショック（出血性ショック，アナフィラキシーショック）時では，防御機構として自律神経系が働くことがわかっている。本研究では，循環ショック時の自律神経調節に関与する可能性が高く，感覚神経に発現する Transient Receptor Potential Vanilloid 1（TRPV1）チャネルの役割について明らかにすることを目的とした。

麻酔下マウスの腎臓交感神経活動（RSNA），血圧及び心拍数を電気生理学的方法で計測して，出血性低血圧を引き起こした。出血直後に RSNA は増大し，その後，有意に低下する二相性の反応を示した。また心拍数も有意に低下した。この RSNA 及び徐脈は迷走神経切除や TRPV1 阻害剤である capsazepine 静脈内前投与によって消失した。また TRPV1 ノックアウトマウスで出血性低血圧による RSNA 及び徐脈反応が消失した。さらに出血直後の RSNA 増大作用は迷走神経切除と動脈圧受容器切除によって消失した。これらの実験事実より，マウス出血性低血圧直後の RSNA 増大作用は動脈圧受容器反射を介している一方で，出血ショック時の RSNA 抑制反応は求心性迷走神経系の TRPV1 チャネルを介していることが示唆された。

卵白アルブミン皮下投与で感作したマウスを麻酔下で抗原を静脈内投与するとアナフィラキシーショックが惹起される。本研究では，麻酔下マウスでアナフィラキシーを惹起すると，抗原投与直後から投与後 1 分まで血圧上昇とともに RSNA 抑制反応が観察され，その後，4 分より血圧は低下した。また RSNA は 15 分に投与前置に復した後，進行性に増大した。また心拍数は抗原投与直後から増大した。アナフィラキシーによる RSNA 増

大反応と心拍数増大反応が圧受容器切除により消失したが，アナフィラキシーによる RSNA の二相性反応は迷走神経切除や TRPV1 ノックアウトマウスでも残存していた。これらの実験事実から，マウスアナフィラキシー低血圧における RSNA 及び心拍数増大反応は迷走神経求心路や TRPV1 チャネルではなくて，圧受容器反射を介していることが示唆された。

25. 生体リズムを制御する温度感知機構の解明

太田　航，吉村　崇（名古屋大学大学院生命農学研究科）
富永真琴（生理学研究所）

地球上に棲む生物では，原核生物から真核生物に至るまでのほぼすべてにおいて，行動や遺伝子発現，ホルモン分泌などの自発的なリズム現象が観察される。このような性質を「生体リズム」といい，中でも睡眠覚醒サイクルのように約 24 時間周期で繰り返されるものを「概日リズム」と呼ぶ。概日リズムの周期を環境変化の周期と一致（同調）させることは，食物の獲得効率，あるいは捕食者との遭遇リスクなどを予測する形で自らの生存確率の向上に貢献する優れた適応戦略である。ほとんどの生物において，概日リズムの主な同調因子は明暗サイクル（光）であることから，生体リズムに対する光の影響については多くの知見が残されている一方で，光と並んで毎日周期的に変化する環境要因である「温度」の影響については，多くの謎が残されている。そこで本研究では，生体リズムを制御する温度感知機構を明らかにすることを目的とした。

昨年度までの共同研究において，環境温度変化が「マスキング反応」と呼ばれる，急激な環境変化に対する適応行動を誘導することを発見した。また，数種類の TRP チャネル欠損マウス（TRPV1, V3, V4, M2, M8 それぞれを欠損）を用いて，この現象を制御する温度センサーを探索した結果, 2 つの TRP チャネル欠損マウスにおいて，温度変化に対する応答性の低下を見出した。しかし，これらの 2 種類のいずれにおいても，単独の欠損では温度変化への応答性が完全に消失した訳ではなかったことから，今年度はこれら 2 つの TRP チャネルのダブルノックアウトマウスを作製し，マスキング反応に及ぼす影響を検討した。

作出に成功したダブルノックアウトマウスを用いて，環境温度変化により誘導されるマスキング反応を定量的に評価した結果，それぞれのシングルノックアウトと比較して有意な差こそ認められなかったものの，環境温度変化への応答性がより低下する傾向が認められた。この結果は，環境温度によるマスキング現象には 2 つの TRP チャネル以外の温度センサーも関与している可能性を示唆すると同時に, 少なくともこれら 2 つの TRP チャネルの関与を支持するものとなった。

現在は，温度入力からマスキング反応の誘導へとつながる神経回路の解明を目的とし，環境温度変化によるマスキング反応時に活性化する神経核の化学的破壊実験を進めている。

26. 骨格筋細胞の可塑性発現における温度受容体の役割解明

後藤勝正（豊橋創造大学大学院健康科学研究科）
内田邦敏，富永真琴（細胞生理研究部門）

骨格筋細胞は外的刺激に応じた収縮を行うことで，自身の機能や形態を適応させる大きな可塑性を持つ。骨格筋収縮に伴い骨格筋細胞内に熱ショックタンパク質が発現することから，熱刺激は骨格筋細胞の可塑性発現の制御因子として機能することが示唆される。これまで温熱刺激が筋肥大や損傷骨格筋の再生，萎縮筋の再成長を引き起こすことを確認したが，温度受容体の関与は不明である。そこで本研究では，骨格筋可塑性発現における

熱刺激受容における温度受容体 TRPV1 および TRPV4 の生理的役割を追究することを目的とした。

実験には，TRPV1 欠損マウス，TRPV4 欠損マウスならびに野生型マウス（C57BL/6N）を用いた。まず，TRPV1 欠損マウスおよび野生型マウスを用いて，廃用性筋萎縮とその後の再成長に対する TRPV1 欠損の影響を検討した。両マウスに対して，2 週間の後肢懸垂を負荷して，廃用性筋萎縮を惹起した。2 週間の後肢懸垂後に通常飼育に戻して後肢への荷重を再開し，2 週間飼育することでヒラメ筋および足底筋に廃用性萎縮と再成長を惹起させた。その結果，TRPV1 を欠損するとヒラメ筋では廃用性萎縮による筋重量の低下が増大した。また，再荷重時負荷による萎縮筋の再成長が TRPV1 欠損により部分的に抑制された。一方，足底筋では，廃用性萎縮に TRPV1 欠損の影響は認めなかったが，再荷重による再成長が TRPV1 欠損により部分的に抑制された。また，TRPV4 マウスを用いて，機能的過負荷による代償性筋肥大における TRPV4 欠損の影響を検討した。TRPV4 欠損マウスに対して，ヒラメ筋および足底筋の共同筋である腓腹筋腱を切除して，ヒラメ筋および足底筋を機能的過負荷状態にすることで代償性に肥大させた。ヒラメ筋では，2 週間の過負荷の影響は認めなかったが，4 週間の過負荷により有意な筋肥大が観察された。足底筋では，過負荷 2 週間後ですでに有意な筋重量の増大が観察された。

以上の結果より，TRPV1 は機械的負荷の増減を検出し，筋タンパク合成あるいは分解を変調させる機能に関わることが示唆された。一方，TRPV4 は少なくとも機械的刺激増大による筋タンパク量の増加には関与しないことが示唆された。今後さらに細胞内シグナル伝達系を含めた詳細な解析を進め，骨格筋の可塑性発現における温度受容体の役割の全貌解明を目指したいと考えている。

27. 脂肪細胞における UCP1 発現制御における TRP チャネルの機能解析

河田照雄，後藤　剛，Kim Minji（京都大学大学院農学研究科）
内田邦敏，富永真琴（細胞生理研究部門）

褐色脂肪細胞に特徴的な高い熱産生能は，ミトコンドリア内膜上に特異的に存在するプロトンチャネルである脱共役タンパク質 1（UCP1）の機能に依存する。様々な TRP チャネルの活性化には，脂肪組織における UCP1 発現を増加させるものが存在し，肥満症に対する新たな予防・治療の標的として，TRP チャネルを介した褐色脂肪組織機能調節が注目されている。本研究は，特に食品由来油脂による TRP チャネル活性化と褐色脂肪細胞機能の関連性について明らかにすることを目的として行った。

昨年度までの共同研究において，n-3 系多価不飽和脂肪酸，エイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸摂取時に TRPV1 依存的な褐色脂肪細胞機能亢進が惹起されることを明らかにしてきた。今年度は，これまでの共同研究によって見出した TRPV1 活性化作用を有する腸内細菌によってリノール酸から代謝生産される脂肪酸，KetoA（10-keto-12c-18:1）の TRPV1 活性化を介した生理機能についても検討を行った。

KetoA の長期摂取は，野生型マウスでは褐色脂肪組織機能の亢進を惹起し，抗肥満作用を示したが，TRPV1 欠損マウスでは本作用は認められず，KetoA 摂取による TRPV1 依存的な褐色脂肪組織機能の活性化および抗肥満作用が示唆された。

KetoA エチルエステル（KetoA-Et）の経口単回投与が脂肪組織中の UCP1 発現に与える影響について検討したところ，KetoA-Et 投与後により肩甲骨間褐色脂肪組織および鼠蹊部白色脂肪組織中の UCP1 発現量の増加が認められた。KetoA-Et 単回投与による UCP1 発現亢進は TRPV1 欠損マウスでは観察されず，TRPV1 機能を介したものであることが明らかとなった。また，β-アドレナリン受容体アンタゴニスト存在下においても KetoA-Et 投与による UCP1 の発現亢進作用が消失したことから，KetoA-Et 投与は交感神経活動亢進作用を介して，UCP1 発現量を増加させるものと推察された。更に，KetoA-Et 投与による UCP1 発現亢進は消化管における迷走神経切除によって消失したことから，KetoA は消化管の TRPV1 によって受容され，求心性迷走神経を介して，交感神経活動の亢進を惹起し，褐色脂肪組織機能を亢進させることが示唆された。

28. 脳損傷に対する局所脳冷却の開発と分子的解析

鈴木倫保，藤山雄一
（山口大学大学院医学系研究科 システム統御医学系学域 脳・神経病態制御医学領域 脳神経外科学分野）
富永真琴（細胞生理研究部門）

脳神経外科分野では重症頭部外傷に対して脳低温療法を施行しているが，現状では全身を冷却するために合併症が多く侵襲が高いという問題がある。そのため，山口大学では脳局所冷却の脳損傷患者への応用を目指して研究している。本研究では，体温や脳温等のマウス生理学的パラメーターを同時にモニタリングしつつ局所脳温度を自由に調節可能な実験系の構築，並びに温度センサー分子である温度感受性 TRP チャネルに着目し，温度生物学を用いた中枢神経損傷に対する局所脳冷却の分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。

マウスを用いた局所脳損傷モデルの歴史は長い。しかし，実際の損傷部位の脳温度を直接測定し，かつ脳温を自在に変化させうる実験系はいままでにない。マウス深部体温を一定に保ちつつ，かつ損傷部位の脳温をペルチェ素子によって自在に変化させうる実験系の構築を行った。

構築したマウス局所温度制御系を用い，局所脳損傷後の損傷部位に対して 25℃～40℃の範囲で 3 時間温度を維持し，1 週間後の損傷面積を検討した。深部体温と同じ脳温である 37℃群に比較して，25℃，30℃の局所脳冷却群の損傷面積は有意に小さかった。これは局所脳冷却の脳保護作用を示したものである。

TRPM2 欠損マウスと TRPV4 欠損マウスを用いた局所脳損傷実験を，局所脳温を一定とした系で行った。TRPM2，TRPV4 の欠損マウスでの損傷面積は，野生型マウスの損傷面積と比較して有意に小さかった。これは TRPM2，TRPV4 チャネルが脳保護作用に関与している可能性を示したものである。

局所脳冷却を可能とする動物実験系の確立と局所脳損傷に対する局所冷却効果の証明をすることができた。今後，局所脳冷却が実際に neuron に作用しているのかそれとも glia に作用しているのかを解明することを目標とする。また，局所冷却は温度を介した現象であり，温度感受性 TRP チャネルの関与は間違いない。チャネルを介した分子メカニズムを明らかにすることで将来の臨床医学で「全身冷却から局所脳冷却療法へのシフト」を目指していく。

29. 咀嚼刺激と高次機能の連関メカニズムの解明

中島友紀，福島由香乃，井上　維
（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学分野）

成長期における軟食飼育による咀嚼刺激の低下は，海馬や脳神経系の発育を妨げ認知機能や学習障害を引き起こすと言われている。しかし，その詳細な神経回路基盤や関連分子に関しては明らかになっていない。本研究では軟食飼育環境が記憶学習関連部位である海馬での分子伝達経路・組織組成に影響を与えることを生化学・組織学・行動学的な手法を用い，そのメカニズムを総合的に明らかにすることを目的とする。

現在までに報告者は離乳期から成長期にかけて粉末飼料飼育による咀嚼刺激を低下させたマウスにおいて，顎顔面組織の成長発育，さらには記憶・学習機能に影響を与えることを発見していた。今回の共同研究によって記憶・学習を司る脳領域である海馬の解析から，咀嚼刺激の変化が神経活動やシナプス形成，神経栄養因子（brain derived neurotrophic factor: BDNF）の発現に影響し，神経細胞の維持に関わることを発見した。さらに咀嚼刺激による神経活動の変化を大脳皮質辺縁系第一運動野と第一感覚野で比較したところ，第一運動野優位に影響を及ぼすことが明らかとなった。

以上より成長期に咀嚼刺激が低下すると，顎骨や咀嚼筋の成長が阻害され，さらには脳内で神経活動やシナプス形成が低下し，神経細胞数が減少する事によって記

憶・学習機能が障害されることが明らかになった。

本研究成果は，認知症や記憶・学習機能障害の予防において咀嚼機能の維持または強化が有効であることを示唆する。将来，咀嚼機能と脳機能を結びつけるメカニズムがさらに詳細に解明されることによって，記憶・学習機能障害の新たな治療法や予防法の分子基盤が確立されることが期待される。

30. 胎生期の脳形成過程におけるミクログリアの動態と機能の解明

宮田卓樹，服部祐季，齋藤加奈子，川添亮太郎，野口奈美子
（名古屋大学大学院医学系研究科）

従来，脳形成に関しては，ニューロンやグリア細胞，その前駆細胞など，神経外胚葉由来の細胞群を対象に研究が進められてきたが，脳原基には免疫系の細胞も存在すると近年理解されるようになった。免疫細胞のうち，ミクログリアは成体脳において脳内環境の管理，神経回路の構造リモデリングを支えることが示唆されているが，胎生期におけるその機能は不明である。そこで，胎生期の脳形成におけるミクログリアの動態および神経系細胞との相互作用の意義を明らかにし，新しい理解を得ることを目指す。これまで，取り出した脳原基をスライスし，培養下で共焦点レーザー顕微鏡によるライブ観察を進めてきたが，組織の切断や血管の破綻による影響が否めなかった。そこで，より生体内の状況を模した観察を遂行する為，二光子レーザー顕微鏡を用いて，母体につながったまま胎仔脳内のライブ観察を行う手法を新たに確立し，神経系前駆細胞や免疫系細胞の動態を捉えることが求められる。今年度，まず母体の管理（保温器による体温維持，吸入麻酔の条件）を整備するとともに，観察条件を最適化することをめざし，胎児の観察条件と固定等の手法の検討を行ったが，母体の子宮の可動域を増すための外科的手術法，固定方法が確立され，観察の際に問題であった母体・胎仔由来の揺動をほぼ完全に抑えることができた。CX3CR1-EGFP Tg マウスを用いたミクログリアの観察では，特定の層からより深部へ向かう移動，あるいは逆に脳膜方向に向かう移動，さらには接線方向に移動するものなど，部域や発生ステージに応じて多様な移動様式が観察された。

31. 灰白質の髄鞘の生理的機能意義の探索および関与分子の同定

和氣弘明（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）
村松里衣子（大阪大学大学院医学系研究科分子神経科学）

オリゴデンドロサイトは，脳と脊髄から成る中枢神経系のグリア細胞の一種である。オリゴデンドロサイトは脳脊髄に広く分布しており，白質のオリゴデンドロサイトは神経軸索を取り囲み，髄鞘を形成している。髄鞘は，跳躍伝導の制御や内部の神経軸策への栄養供給を担う構造物であるため，白質のオリゴデンドロサイトの構造的/機能的障害は，精神疾患など種々の疾患の発症や悪化に関与すると指摘されている。灰白質にもオリゴデンドロサイトは分布しているが，白質のオリゴデンドロサイトと比較すると髄鞘形成に対する寄与度は低い。そのため，白質のオリゴデンドロサイトと灰白質のオリゴデンドロサイトは機能的に異なる役割を持つ可能性が推察されているが，その実体については不明な点が多く残されている。

本研究では，白質のオリゴデンドロサイトと灰白質のオリゴデンドロサイトの違いが，跳躍伝導の制御の差を生みだすものと想定し，本年度は，白質と灰白質のオリゴデンドロサイトの差を抽出することを目的とした。白質と灰白質のオリゴデンドロサイトを個体から純度高く採取することが技術的に困難なため，まずは in vitro で，神経細胞

の細胞体からの距離で白質と灰白質を模擬する実験系を構築した。神経細胞とオリゴデンドロサイトの共培養を行うため，神経細胞側はマウスの大脳皮質の explant culture を用いた。神経突起の伸長を確認後，同培養へ，マウス脳由来のオリゴデンドロサイト前駆細胞（Oliogodendrocyte precursor cells, OPCs）を加えた。OPC 播種の２日後に，T3 等を含む培地へ置換し，人為的に OPC をオリゴデンドロサイトへ分化させた。オリゴデンドロサイトへの分化を形態学的に確認後，explant を取り出し，explant から伸長していた突起の中央にメスで切れ込みを入れ，遠位の細胞をそぎ落とした後に細胞を回収（近位群，白質を模擬），または近位の細胞をそぎ落とした後に細胞を回収（遠位群，灰白質を模擬）した。回収後，各群の細胞から市販のキットを使用して遺伝子を回収できること確認した。今後は，この条件で採取した遺伝子の発現変動を解析し，群間で差がある遺伝子が白質と灰白質のオリゴデンドロサイトの機能の差を担うか，検討していきたい。

32. 中枢神経症状を伴うリソソーム酵素欠損症モデルマウスのミクログリアの活性化イメージングと発症制御機構の解明

伊藤孝司（国立大学法人徳島大学）
和氣弘明（国立大学法人神戸大学）

ガラクトシアリドーシス（Galactosialidosis, GS）は，リソソーム酵素のカテプシン A（Cathepsin A, CTSA）の遺伝子変異が原因で，カルボシキペプチダーゼとしての触媒活性（CathA 活性）と，リソソーム内で糖鎖分解酵素のノイラミニダーゼ 1（NEU1）と β-ガラクトシダーゼ（GLB1）と多酵素複合体を形成に基づく，NEU1 の活性化及び GLB1 のプロテアーゼによる生理的分解からの保護機能が遺伝的に欠損する常染色体劣性遺伝病である。本疾患は，CathA，NEU1 及び GLB1 活性の同時低下，NEU1 の基質である末端シアル酸含有糖鎖の患者組織への過剰蓄積及び中枢神経症状などをはじめとする多様な全身症状を伴って発症する先天性代謝異常症である。本疾患の発生頻度は，10 万人出生児当り 1 人程度であるが，日本人に多く，世界での症例報告の 60%程度が日本人症例で占められている。また日本人若年・成人型症例の 90%以上で共通して，少なくとも一方の CTSA 対立遺伝子に，第 7 イントロンの 5’スプライス部位の第 7 エキソンのスキッピングを起こす 1 塩基置換変異があり，CTSA 欠損症の病因になっている。

本共同研究では，最近作成した，マウス Ctsa 遺伝子の第 6 イントロンの 5’スプライス部位のコンセンサス配列に塩基置換を導入し，スプライシング異常を誘導する変異ノックインマウスを用い，同マウスが，GS と同様の病態や臨床症状を示すが否かを検討した。その結果，本変異のホモ接合体は，生後，5 週齢頃から，しゃっくりに似た，ミオクローヌス様の痙攣や，顔貌の異常，四肢の浮腫，脊椎の変形などの GS 患者と極めて類似した症状を発症することが明らかになり，GS モデルとして有用であることが示された。

また 5 週齢以降のホモマウスの脳内では，小脳をはじめ，CD68 陽性のミクログリアの活性化が亢進しており，同マウスの中枢神経症状との関連が示唆された。さらに，ヒト CTSA 遺伝子を絹糸腺組織で高発現する組換えカイコの繭から精製したヒト CTSA 前駆体タンパク質を，10 週齢の GS モデルマウスの脳室内に投与すると，1 週後には，ミクログリアの活性化を抑制することが明らかになり，中枢神経症状に対する治療効果が期待された。今後は，本 GS マウスの脳内ミクログリアの活性化及び CTSA 補充による制御機構を解明していく予定である。

33. 小脳をモデルとした抑制性ニューロンの数の制御メカニズム

金子涼輔（群馬大学大学院医学系研究科）
平林真澄（生理学研究所）

我々の脳神経系において「抑制性ニューロンの数」は適切に制御されている。例えば，抑制性ニューロン数の異常は精神疾患の一因となる。さらに，進化の過程で霊長類は抑制性ニューロン数が増加した。これらは高次脳機能発現における抑制性ニューロンの「数」制御の重要性を示唆する。しかし，その「数」制御メカニズムには未解明な部分が多い。

本研究では申請者らの知見「プロトカドヘリンγ(Pcdh-g）欠損マウスにおける小脳抑制性インターニューロン数の半減」（未発表）のメカニズムを解明し，抑制性ニューロン数の人為的操作方法を開発する。これにより，精神疾患の新たな治療法を開発すると共に霊長類脳の進化機構の一端を解明する。

今年度は以下２つのサブテーマを進めた。（１）小脳抑制性ニューロン特異的遺伝子発現操作実験系の開発，（２）小脳抑制性ニューロン数の制御メカニズム解明。

サブテーマ１では，まず小脳抑制性ニューロンに特異的に発現する遺伝子 Laminin B1 をデータベース検索により同定した。次いで，本遺伝子を含む細菌人工染色体（BAC）を購入した。現在は Cre 組み換え酵素およびテトラサイクリン応答性遺伝子発現制御因子 tTA を挿入するべく本 BAC を改変している。完成後はトランスジェニックマウス作製のためマウス受精卵へ導入する。

サブテーマ２では，どの細胞タイプにおける Pcdh-g が小脳抑制性インターニューロン数の制御に関わるかを調べた。そのため，小脳の各細胞タイプ特異的な Cre マウスと Pcdh-g flox マウスとを交配した。今年度はプルキンエ細胞特異的に Pcdh-g を欠損するマウスが得られた。本マウスを灌流固定後，脳切片を作製し，組織学的に解析した。その結果，本変異型マウスの小脳抑制性インターニューロン数は野生型マウスと同程度であった。本結果は，プルキンエ細胞における Pcdh-g は小脳抑制性ニューロン数の制御への寄与は低いことを示唆している。今後は，顆粒細胞特異的 Pcdh-g 欠損マウスを作製し，同様に解析する予定である。

34. ラット遺伝子の BAC クローンへのレコンビナーゼ Cre-ER の組込みと作製したトランスジェニックラットの組織化学・細胞生物学的研究

加藤幸雄（明治大学農学部）
加藤たか子（明治大学研究知財戦略機構）
平林真澄（生理学研究所）

下垂体は，多数のホルモンを合成する主要な内分泌組織であり，それらのホルモンを合成する細胞は時空間的に発現する多数の転写因子や増殖因子によって，幹・前駆細胞の増殖と分化が進行する事で出来上がる。本研究課題は，それらの幹・前駆細胞から，下垂体が形成される機構を明らかにする事である。

下垂体には遺残腔の第一層と，生後になって実質層に点在する様に形成される未分化細胞のクラスターの幹細胞ニッチが存在する。幹・前駆細胞に特徴的な因子である PROP1，PRRX1，PRRX2，S100β を指標として，下垂体のニッチの形成や維持，細胞供給システムの解明を目的に研究を進めている。我々は，昨年度に，下垂体前葉の酵素処理液からプロテアーゼ耐性の細胞塊を形成する画分を分析し，それらが未分化な細胞塊であり，ホルモン産生細胞へと分化する事を報告した。また，第４の胚葉と言われる神経堤細胞や，PRRX1 や PRRX2 を発現している間葉系細胞が下垂体前葉に侵入し，ホルモン産生細胞や血管系細胞となっていることを明らかにした。こうした下垂体形成過程を解明するために，幹・前駆細胞に特徴的な因子である PROP1，PRRX1，PRRX2，

S100β を指標とした細胞系譜を解析するために，組換え体ラットを用いた実験を展開している。

本年度は，一昨年からの問題点について基本的な検討と，系統維持にほとんどの時間を使った。その問題とは，マウスの系の様なタモキシフェンによる誘導が出来なかった事である。タモキシフェンの使用最高濃度を確かめて，摘出した下垂体に投与したが誘導は確認できなかった。調べてみると，ラットでは，タモキシフェンを活性型である水酸化タモキシフェンに転換する酵素活性が低いことが原因と考えられた。水酸化タモキシフェンは高価であり，先ず，*PRRX1* 発現細胞を使った評価系の開発を行った。検討の結果，尻尾の切断組織をゼラチンコートしたウエルで組織培養を行い遊走して増殖した繊維芽細胞に *PRRX1* が発現している事を確認できた。この開発した系を使って CreER 依存的な *PRRX1-VENUS* 発現の確認を開始したところである。

過年度から系統維のための繁殖にも問題を生じている点については，CreER 依存的な *PRRX1-VENUS* 発現が確認できた時点で，人工繁殖などの方法を試み，当初の目的を完成させたい。

35. 生殖を制御する脳内メカニズム解明のための遺伝子改変モデルの作製とその解析

東村博子，上野山賀久，大蔵　聡，井上直子，家田菜穂子（名古屋大学大学院生命農学研究科）
前多敬一郎，松田二子（東京大学大学院農学生命科学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

本研究ではラット，マウス，スンクス，ヤギといった神経内分泌学研究に重要な意義をもつ実験動物の遺伝子改変モデルを作成し，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，キスペプチンを中心とした生殖機能を制御する脳内メカニズムの解明をめざしている。

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二つの重要なイベントを制御すると考えられている。視床下部内のふたつのキスペプチンニューロンの集団のうち，弓状核に位置する集団が卵胞発育を制御し，視索前野に位置する集団が排卵を制御するという仮説に基づき，ふたつのキスペプチンニューロン集団の生理的役割を明らかにする目的で，Cre/loxP システムによる *Kiss1* コンディショナルノックアウトラットの作製，Cre/loxP システムによるキスペプチンニューロン特異的な Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs（DREADD）発現ヤギの作製を進めた。

ラット *Kiss1* 遺伝子座に Cre リコンビナーゼとエストロジェン受容体の融合蛋白質を導入した *Kiss1*-CreERT2 ラットを新たに 3 系統作製した。それらの表現型を Cre リコンビナーゼ誘導性に緑色蛍光蛋白質 Venus を発現する遺伝子改変ラットとの交配により得た産仔を用いて現在検討中である。また，ラット *Kiss1* 遺伝子座を loxP で挟んだコンストラクトを導入した ES 細胞を選抜し，胞胚腔に挿入してキメララットを作製した。現在，8 匹の雄キメララットを野生型ラットと交配して，組み換え *Kiss1* 遺伝子の生殖系列移行を確認している。

また，Transcription Activator-Like Effector Nucleases（TALEN）を用いて，培養ヤギ胎子線維芽細胞において，*KISS1* 遺伝子座への Cre リコンビナーゼ遺伝子の相同組換えを行い，スクリーニングにより相同組み換えに成功した 3 個のクローンを得た。今後，これらの細胞核の移植により，キスペプチンニューロン特異的に Cre リコンビナーゼを発現する遺伝子改変ヤギの作製を目指す。

36. ヒストン H2B ユビキチンリガーゼ Bre1a の神経幹細胞における機能の解析

等　誠司（滋賀医科大学医学部）
平林真澄（生理学研究所）

神経幹細胞は，発生過程に沿って，神経幹細胞自身の増殖期→神経細胞産生期→グリア細胞産出期と，性質を大きく変化させる。この過程には，エピゲノム修飾が深く関与すると考えられるが，その分子機構は不明な点が多い。我々は最近，神経幹細胞の未分化性の維持に関与し，しかも細胞周期を制御している因子として，ヒストン H2B ユビキチンリガーゼ Bre1a を同定した。本研究では，Bre1a の機能解析を行うことにより，哺乳類の初期発生や神経発生におけるエピゲノム修飾の意義やその制御機構を明らかにする。

我々はこれまでに，トラップライン ES 細胞を用いた Bre1a ノックアウトマウスを作製し，解析してきたが，胎生早期致死であったため，神経発生における Bre1a の機能を解析できなかった。また，リークによる Bre1a 発現がみられた点が問題であった。そこで本年度は，① Bre1a の過剰発現/機能喪失 ES 細胞を新たに樹立し，Bre1a の機能解析，② Bre1a コンディッショナルノックアウトマウスを作製，③ 神経幹細胞特異的な Bre1a 過剰発現トランスジェニックマウスを作製，の３つの研究計画を進めた。①については，テトラサイクリンシステム（過剰発現）および CRISPR/Cas9 システム（機能喪失）を利用して ES 細胞を樹立し，未分化状態と分化条件での遺伝子発現パターンを比較した。Bre1a 発現を変化させることで，胚葉分化の運命決定が影響を受けることを明らかにした。②については，必要なベクター類の構築を終了し，遺伝子組換え ES 細胞の樹立→キメラマウスの作製を行っている。③に関して，神経幹細胞特異的な *Nestin* プロモーター/エンハンサー下で Bre1a を発現するトランスジェニックマウス（Nestin-Bre1a-IRES-EGFP tg）の作製を行ったが，成体脳において期待通りの発現が得られなかった。そのため，戦略を変更してテトラサイクリンシステムによる誘導型の Bre1a 過剰発現マウスを作製し，胚の初期発生や神経発生における Bre1a の役割を解析する予定である。

動物の取り扱いは滋賀医科大学の動物実験指針に従い，マウス解析時においては麻酔薬の腹腔内投与などによる苦痛軽減に努めた。

37. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの機能解析

八木　健，平林敬浩，平山晃斉，小神野翔平（大阪大学）
平林真澄，三宝　誠，山内奈央子，足澤悦子（生理学研究所）

クラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）遺伝子はゲノム上で，Pcdhα，Pcdhβ，Pcdhγ 遺伝子クラスターを形成している。マウスではこれまでに Pcdhα が 14 分子種（α1-α12, αC1, αC2），Pcdhβ が 22 分子種（β1-β22），Pcdhγ が 22 分子種（γA1-γA12, γB1, γB2, γB4-γB8, γC3-γC5）が，存在することが知られており，いずれの分子種も一回膜貫通型タンパク質で中枢神経系において強く発現している。これら 58 種のアイソフォームから構成される cPcdh は個々の神経細胞で差次的発現し，各分子は分子種特異的な細胞接着活性を有することから神経回路形成における神経細胞の個性化に寄与していることが示唆されている。本研究では，その cPcdh の分子的多様性がシナプス形成時の細胞選択や機能的神経回路形成にどのように関与しているかを明らかにすることを目的として，種々の cPcdh 遺伝子改変マウスを作製，iPS 細胞株樹立によるキメラマウス作製を行い解析した。

全ての cPcdh 遺伝子を欠損させたノックアウトマウス（cPcdh 全欠損マウス）は，生後まもなく死亡してしまうため，生体における神経回路形成における同遺伝子の機能解析が不可能であった。そこで，この cPcdh 全欠損マウス胚から線維芽細胞を初代培養し，この細胞に山中因子を発現するレトロウイルスを発現させることによ

り，cPcdh 全欠損 iPS 細胞株を樹立した。この cPcdh 全欠損 iPS 細胞を C57BL/6 胚に移植することによりキメラマウスを作製し，Pcdh 全欠損となっている神経細胞の分布や機能を解析した。その結果，脳幹網様体では，Pcdh 全欠損となる神経細胞がほとんど認められなかった。しかし，皮質，海馬，小脳，線条体，視床では，Pcdh 全欠損神経細胞が分布していることが明らかとなった。

また，これまでに Pcdhγ に存在する γC3-γC5 がマウス生存に必須であることが報告されている。これら３種の Pcdhγ の中でどの分子種が必須であるのかを明らかにする目的で，CRISPR/Cas9 系を利用し γC3, γC4 遺伝子ノックアウトマウスの作製を行い解析した。その結果, γC4 がマウス生存に必須であることが明らかとなった。

今後，これらの遺伝子改変マウスについて詳細な解析を行うことにより，神経回路形成における cPcdh 遺伝子の分子的多様性の意義を明らかにする計画である。

38. 血管壁内の細胞外マトリックスの 3 次元超微細構造計測

杉田修啓（名古屋工業大学）
松本健郎（名古屋大学）
宮崎直幸，村田和義（生理学研究所）

細胞周囲の細胞外マトリックスには様々な種類と構造があり, 細胞の周囲に存在して力学環境を細胞に提供している。この細胞外マトリックスは細胞機能に影響する重要な要素であり，例えば，培養した間葉系幹細胞は，基質弾性率が高いと骨原性の，低いと神経原生の，中間程度では筋原生の細胞へ分化している（A.J. Englar et al., Cell 126(4), 677-89, 2006）。大動脈の細胞外マトリックスにはエラスチンを主とする弾性線維が多い。この弾性線維は，主に同心円状かつ層状に存在するが，この層状構造以外にも，層間に走る弾性線維が存在することが報告されてきた。我々も 2 光子顕微鏡で弾性線維を観察し，内膜側に特殊な構造がある印象を得てきたが, 詳細な形状観察は困難であった。そこで，Serial Block Face-Scanning Electron Microscope（SBF-SEM）を用いた観察により, 大動脈内弾性線維の詳細構造の解明を目指した。

日本白色家兎を安楽死させた後, 開胸して胸大動脈を剥離し, 頸動脈からパラホルムアルデヒドとグルタルアルデヒドを導入して生理圧範囲内（100 mmHg）で灌流加圧固定した。摘出後に胸大動脈をさらに固定した後，酢酸ウラン溶液やアスパラギン酸鉛水溶液による電子染色・エタノール上昇系による脱水を順次行い，レジンに包埋し，ガラスナイフ, ダイヤモンドナイフを用いて平面だしを行い, SBF-SEM にて観察した。

SBF-SEM による観察実施以前には，2 光子顕微鏡で観察されたような内膜側での特殊なエラスチン線維構造が観察されると予想した。しかし，実際の SBF-SEM 観察ではそのような構造は観察されず, 現在もその理由は不明である。一方，SBF-SEM では細い弾性線維も明瞭に観察されており, これらの弾性線維は外膜側より内膜側で半径方向線維が多い様子が見られた。血管を厚肉円筒管と仮定すると, 内圧負荷時には内膜側程半径方向に大きい応力が加わるため, 圧力による外力に適応して半径方向に多く線維が存在している可能性が示唆された。また，平滑筋細胞が弾性線維内に食い込んで両者が密接に相互作用している様子や, 組織内の細胞核内のユークロマチンの様子が観察されるなど，当初の目的は達成できていないが，新たな知見も多く得られている。今後も当初の目的を別法で検討しつつ，SBF-SEM により得られた新たな知見をもとに研究の新展開を検討したい。

39. 真核生物鞭毛の動力源である蛋白質ナノモーター「ダイニン」の鞭毛軸糸中での構造変化のカルシウムによる影響の解析

今井　洋（大阪大学大学院理学研究科）
真行寺千佳子（東京大学大学院理学系研究科）
村田和義，ソン チホン（自然科学研究機構）

真核生物の精子は，卵まで泳ぐことにより受精する。精子の鞭毛の内部には，ダイニンと呼ばれる蛋白質があり，これが細胞内の化学的なエネルギーであるATPを加水分解して，力学的なエネルギーに変換することで，鞭毛運動の原動力を生み出している。鞭毛の内部は，９本のダブレット微小管がある。遊泳運動を行う精子鞭毛の９本のダブレット微小管の上のダイニンの活性が，局所的にどのように調節されているのかを構造学から研究することが本研究の最終的な目標である。

実験材料は，海産生物のウニの精子を用いた。

ウニ精子鞭毛が海水中で泳いでいる条件で，FEI 社製の Vitrobot を使い，ろ紙で余分な溶液を取り除き，グリッド上で，急速に凍結した。その結果，ウニ精子が，電子顕微鏡のグリッドのカーボン膜に，海水中で泳いでいる精子では考えられないような波形で，張り付いてしまっていた（図１）。鞭毛の波形が海水中の波形と同じであれば，特定のダブレット微小管上のダイニンの活性が高い状態が保っていると言える。しかし，波形が大きく崩れていては，それが言えない。

そこで，凍結方法を工夫することにした。高圧凍結機を利用すると，厚みのある水溶液（例えば，数百マイクロメートル）であっても，氷の結晶ができずに，凍結することができることが知られている。この条件であれば，グリッドに張り付かずに，海水中を運動している精子を凍結できる可能性がある。

そこで，遊泳しているウニ精子がその波形を保った状態で，高圧凍結機で凍結を行えるかどうかを検討した。高圧凍結の後，凍結置換法により，化学固定を行い，樹脂に包埋して，切片を切り出し，電子顕微鏡で観察した。しかし，樹脂の中で精子はランダムな向きを向いているために，切片の中では，鞭毛のごく一部しか観察できず，全体の波形が未だにつかめていない（図２）。今後，樹脂から，連続切片を切り出し，それを観察することで，波形の全体像を捉えたい。もし，波形が遊泳時と同じであれば，トモグラフィーでダイニンの構造を研究したい。

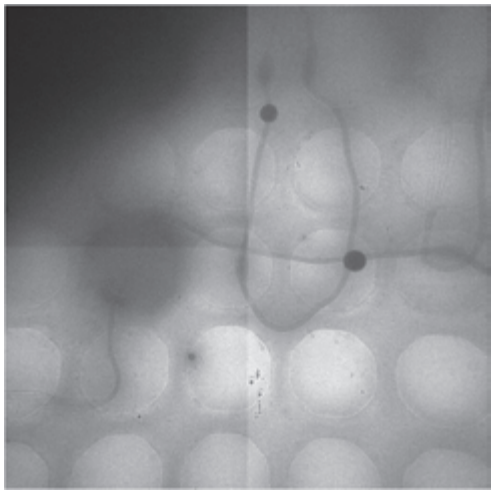


図１　常圧で，グリッド上で凍結したウニ精子鞭毛のクライオ電子顕微鏡像（ソンさん撮影）。波形が遊泳時の波形とは全く異なることが観察できた。

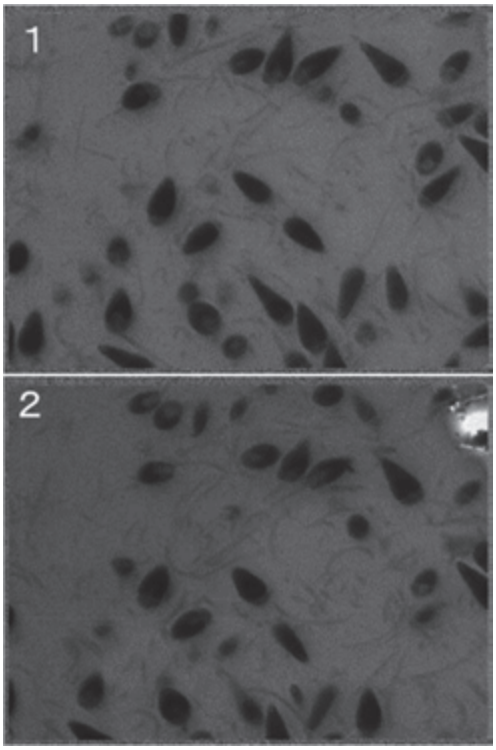


図２　高圧凍結後に凍結置換して樹脂包埋したウニ精子鞭毛の切片の透過電顕像（200 nm の厚さで連続２枚の切片）。（ソンさん撮影）。鞭毛のごく一部の波形しか見えず，全長の波形を観察はできていない。

40. マウス海馬苔状線維シナプスの微細構造の形態形成における アファディンの多様な役割の解析

溝口　明，藤原武志，王　淑杰，垣内愛加
（三重大学大学院医学系研究科神経再生医学・細胞情報学講座）
崔　煌植（三重大学医学部）

概要

海馬苔状線維シナプスは学習と記憶に関与していることがよく知られていた。海馬苔状線維シナプスの形成と機能発現における，アファディンの微細構造と機能を解析した。海馬苔状線維終末と錐体細胞の樹状突起が形成する巨大シナプスのプンクタアドヘレンシアジャンクション（PAJ）は，上皮細胞のアドヘレンスジャンクション（AJ）と同様に，ネクチン，アファディン，カドヘリンが濃縮している。アファディンを欠損したマウスの海馬では PAJ を構成分子，シナプス終末で機能分子，シナプス後肥厚部（postsynaptic density: PSD）を構成分子の集積が低下していた。さらに，走査型電子顕微鏡像の立体再構築から，① プレシナプスによるポストシナプスのスパインの包み込みが不十分になる，② スパインの分岐の複雑さが正常の半分程度に低下する，③ シナプス小胞のうち，アクティブ・ゾーン（active zone: AZ）から 100 nm 以内に局在し，活動電位到来によりすぐに開口分泌可能な小胞のプールが減少することがわかった。シナプスの形成も不全であった。このことから，アファディンはシナプスの形成と機能を制御する重要な分子であることがわかった。アファディン分子は，興奮性シナプスの前性と後性の機能を制御していることを明らかにした。

背景

神経シナプスは神経細胞間の特殊な細胞間接着であり，その特異性と可塑性の制御には細胞間接着分子が重要な役割を果たしている。アファディンとネクチンは上皮細胞や線維芽細胞の細胞間の接着装置である AJ に局在する接着分子として機能している。一方，海馬 CA3 野で苔状線維終末と錐体細胞の樹状突起が形成するシナプスの PAJ は上皮細胞の AJ に構造と機能が類似しており，前シナプス側にネクチン-１が，両側にアファディンが局在している。ネクチン-１のノックアウトマウスでは，この PAJ の数が減少し，正常なシナプスが形成されない。また，アファディンを欠損したマウスの解析により，シナプス結合の維持にはアファディンは必須ではないが，シナプスの再構成に関与することを示唆されている。

内容

マウス海馬の歯状回顆粒細胞の軸索である苔状線維の終末と CA3 錐体細胞の樹状突起との間で形成される海馬苔状線維シナプスに着目し，大脳皮質と海馬のアファディンを特異的に欠損させたマウスの苔状線維シナプスの形態構造変化を生理学研究所の Serial block-face scanning electron microscopy（SBF-SEM）による連続切片作製と 3 次元立体再構築を行うことにより，海馬苔状線維シナプスの形態構造変化を 3 次元的に解析する。すでに afadin ノックアウトにより海馬苔状線維シナプスの形態構造変化が著しく変化するデータを本共同利用研究で得ていた。アファディンを欠損させたマウスの海馬 CA3 野の苔状線維シナプスでは，PAJ の構成分子の集積はほぼ消失し，シナプス前終末の AZ と PSD の構成分子の集積が低下していた。アファディンを欠損させた苔状線維シナプスではプレシナプスによるポストシナプスのスパインの包み込みが不十分になる（図１）。スパインの分岐の複雑さが低下する（図２A, C）。また，AZ の前シナプス膜（図２，緑）から 100 nm 内に存在する放出可能プールのシナプス小胞（synaptic vesicle: SV，黄色）の数も約半分に減少していた（図２B, D）。以上のことから，アファディン分子はマウス海馬苔状繊維シナプスの形成においても重要な役割を果たしていることが示唆された。

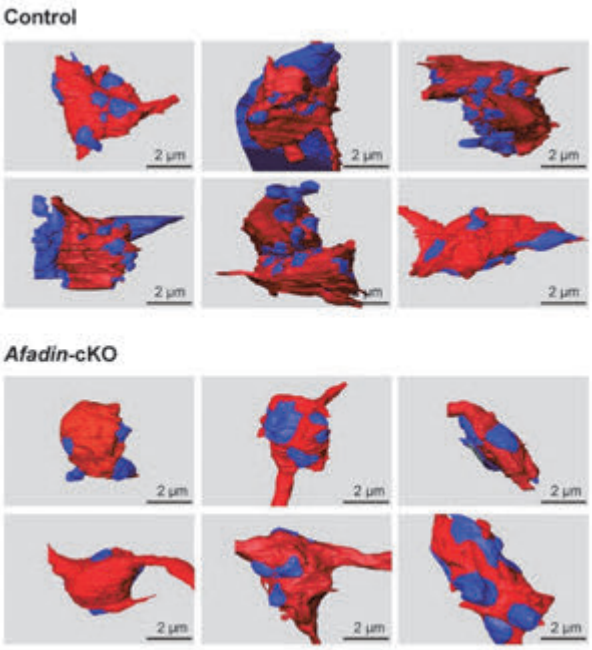


図１　アファディン欠損苔状線維とスパインの３次元立体再構築

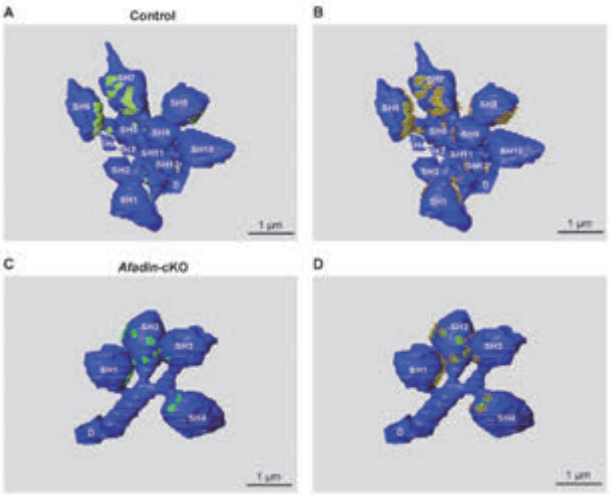


図２　アファディン欠損苔状線維シナプスの電子顕微鏡像の３次元立体再構築

41. イネ萎縮ウイルスの構造構築機構の解明

宮崎直幸，東浦彰史，中道優介，堤　研太，中川敦史（大阪大学蛋白質研究所）
村田和義（生理学研究所）

イネ萎縮ウイルス（Rice dwarf virus: RDV）は，レオウイルス科に属す２重殻のキャプシドを持つ直径約 70 nm の球状ウイルスである。本ウイルスが感染したイネは，成長が著しく阻害され，穀物の収穫量が激減する。そのため，RDV の蔓延は，多大な経済的な損失と食料危機へとつながる可能性がある。我々は，RDV の構造構築機構を解明することで，RDV に対する効果的な防除法の開発等を目指している。これまでに，我々は，X 線結晶構造解析法により決定したキャプシドの原子構造情報を基にして，２重殻のキャプシドの階層的な構造構築機構のモデルを提唱してきた。しかし，実際に我々が提唱したモデルの妥当性を実験的に証明することは出来ていなかった。そこで，我々はキャプシドが形成される途中の段階を捉えることによって，我々の提唱したモデルが正しいかどうか検証することにした。

２重殻の RDV のキャプシドは，正二十面体対称をもっており，内殻と外殻は，それぞれ，120 の P3 タンパク質と 260 の P8 タンパク質３量体から主に構成されている。我々の提唱したモデルでは，外殻の構造構築は，内殻が形成された後に内殻の正二十面体対称の３回軸のところに３量体外殻タンパク質が結合することで開始し，そこを起点にして，外殻タンパク質の３量体同士が平面的に内殻の外側にそって会合していくことによって，完全な外殻が形成されると考えていた。そこで，外殻タンパク質の３量体同士の相互作用を阻害することで，外殻の形成が最初の段階で止まった，キャプシドの形成中間体が得られるのではないかと考えた。３量体同士の相互作用を阻害するために，P8 タンパク質の C 末端に GFP を融合した P8 変異体をデザインして，バキュロウイルス発現系を用いて作製した。そして，その変異体を RDV の内殻粒子に結合させて，形成された粒子の構造を位相差クライオ電子顕微鏡単粒子構造解析法によって決定した。その結果，外殻タンパク質変異体は，内殻の３回軸のところにだけ結合しており，その他の場所には全く結合していなかった。この結果は，我々が提唱していたモデルと完全に一致し，我々の提唱したモデルが正しかったことを今回初めて実験的に証明することができた。

42. 社会行動の分子神経基盤の理解に向けて：仲間感覚神経システムの 3D 構造の研究

尾崎まみこ（国立大学法人 神戸大学）

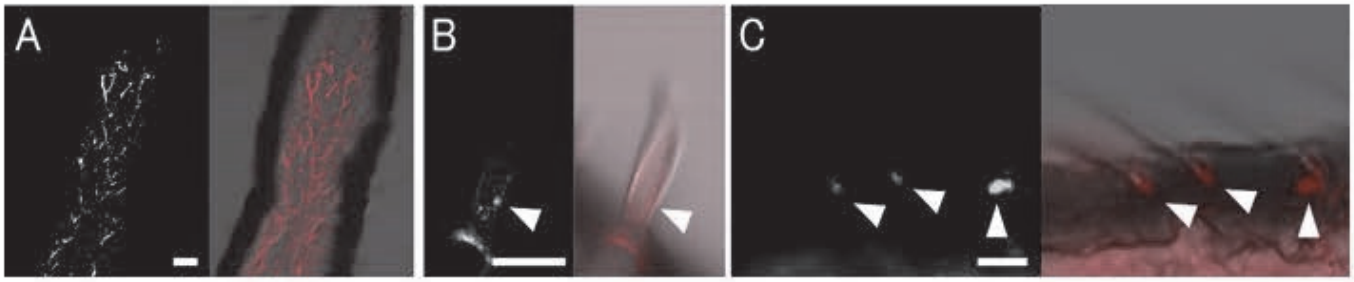
社会の形成・維持には“仲間識別感覚”の発達が不可欠である。私たちは，生理学研究所と共同で，真社会性昆虫であるクロオオアリ（*Camponotus japonicus*）を用いて，その巣仲間識別フェロモン感覚子（Ozaki et al., Science 2005）に注目し，100 個以上の化学感覚受容神経を擁する当該感覚子内部の 3D 標準モデルを作成すること，感覚受容神経突起に見出された特徴的な瘤状サブセルラー構造を調べて，当該感覚子内に格納されている受容神経相互の連絡の可能性を明らかにすることを目的に研究を行った。

1）巣仲間識別フェロモン感覚子の 3D マップの作成については，通常の樹脂包埋をした働きアリの触角組織上で，当該感覚子を形態的に特定し，SBF-SEM で検鏡・データの取得を行った。その結果，クチクラ装置内の化学感覚受容神経突起の走行の形態と特徴を明らかにし，良好な 3D モデルを作成することができた。また，2）新規に見出された感覚子内の受容神経突起の瘤状サブセルラー構造の機能的な形態の調査については，ギャップジャンクション構成タンパク質であるイネキシン抗体を用いた組織免疫学的実験を併用して行うことができた。

該感覚子の 3D モデル構築を進めるにあたり，状態の良い連続表面の画像データから，当該感覚子内の 100 個以上の嗅神経に由来する感覚突起の様子が明らかになった。個々の突起は途中分岐せず間歇的に瘤状のサブセルラー構造を作って緩やかな螺旋を描いた束となり，この瘤状になった部分で感覚突起の膜どうしが近接していた。この構造上の特徴から近接部位で電気的なカップリングが起きている可能性が生じてきた。

そこで，電気的カップリングによる感覚子内神経ネットワークの存在を実験的に裏付けるとともに，当該感覚子の仲間識別センサとしての機能性を効果的に説明できる数理モデルを作って 100 個の神経を擁する並列等価回路の方程式を解く研究に着手した。

一方で，クロオオアリの触角に発現する 5 種類のイネキシン遺伝子を特定し，それぞれのイネキシンに対する抗体を作製し，innx3 が感覚子内ネットワークを形成することを突き止めた（図）。抗 innx3 抗体を使った電気シナプスの証明と共に，受容体分子の局在証明も抗体を使って同時に行うことが可能なので，それぞれの抗体を作製しながら，電子顕微鏡レベルの実験計画を策定している。



図．クロオオアリ触角と触角上の感覚子におけるイネキシンンの局在
A：抗 innex2抗体標識（細胞体クラスター周辺に標識）
B：抗 innex3抗体標識（瘤構造付近に標識）
C：抗 innex8抗体標識（微小管装置に標識）
左：蛍光顕微鏡像；右：微分干渉顕微鏡像　バーは10μm

43. 原核細胞内に存在するユニークなチューブ構造の解析

洲崎敏伸，陳　林，長尾賢杜，小林真弓，ソン チホン（神戸大学大学院理学研究科）
古賀博則（石川県立大学生物資源環境学部）
中鉢　淳（豊橋技術科学大学エレクトロニクス先端融合研究所）

中鉢らは，昆虫細胞内より，世界で初めて「オルガネラ様防衛共生細菌」を発見し，*Candidatus* Profftella armatura（*Betaproteobacteria*, 以下 *Profftella*）と命名している。さらに，*Profftella* の細胞内には直径約 200 nm のチューブ様構造が多数存在することも見出したが，その構造の詳細や機能は不明である。そこで本研究では，（１）チューブ様構造の細胞内での正確な立体配置を把握し，次いで（２）単離したチューブ様構造の分子構築を明らかにすることを目的とした。そのために，生理研にある SBF-SEM やクライオ位相差電子顕微鏡などを総合的に用いて構造解析を進めた。

チューブ様構造は，生理研の超高圧電子顕微鏡を用いた解析により，ねじれた繊維状構造により構成されていることがわかった。また，この構造は予想以上に長く，細胞内で複雑にからまりあっていることもわかった。そこで本研究では，細胞内全域にわたる SBF-SEM 観察を行い，この構造の正確な細胞内配置を決定した。その結果，*Profftella* の大きさは様々で，チューブ状構造の数と長さも細胞によって多様であった。小さいチューブ構造１本を持っている小細胞もあり，４４本を持つ巨大な細胞もあった。また，これらのチューブ構造に分岐は観察されず，すべて一本鎖の繊維構造であった。さらにチューブ構造は DNA の AT 配列の副溝に結合する蛍光色素 Hoechst33342 で染色されたことから，チューブ構造はDNA を含む核様体構造であることが強く示唆された。

44. 連続ブロック表面 SEM による感覚ニューロン系の 3 次元超微形態解析

高浪景子，佐藤慧太，坂本浩隆（岡山大学 大学院自然科学研究科・理学部附属臨海実験所）
村田和義（生理学研究所・脳機能計測センター・形態情報解析室）

Gastrin-releasing peptide (GRP)/GRP receptor が知覚神経系において，痒み感覚を特異的に伝達することが報告された（Sun and Chen, 2007, *Nature*）が，この脊髄 GRP 系についての微細構造レベルでの組織学解析が未だなされていない。そこで，我々は免疫組織化学法を用いて，成熟ラットの脊髄知覚神経系における GRP の発現解析を行った結果，一次感覚ニューロンの少数の小型細胞に GRP 免疫陽性が確認され，脊髄後角最表層においても，GRP 免疫陽性線維が確認された。また，脊髄後根神経切除術の結果から，脊髄後角に発現する GRP 免疫陽性線維は主に一次感覚神経由来であることが示唆された。また，透過型電子顕微鏡を用いた免疫電子顕微鏡解析では，脊髄後角最表層において，明調性小胞や有芯性小胞を多く含む神経軸索終末に GRP 免疫陽性を多く認めた（Takanami *et al*., 2014, *Journal of Comparative Neurology*）。さらに，超高圧電子顕微鏡（H-1250M）を用いて解析を実施し，GRP 免疫陽性神経末が数珠状構造を示していることを見出した（Satoh *et al*., *Neuroscience Letters*, 2015; Satoh *et al*., *Data in Brief*, 2015）。

ここで，従来の電子顕微鏡による感覚ニューロンのシナプス構造解析は，一連の連続切片作成が技術的に難しいため，二次元的であり，ひとつの軸索に対するシナプス形成数，含有される神経伝達分子の種類，刺激による伝達分子の放出形態の詳細が不明であった。そこで，目的分子を標識する免疫電子顕微鏡法と連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）法とを組み合わせ，感覚ニューロンネットワークの微細構造レベルでの立体再構築を行った。SBF-SEM で用いられる重金属染色法（NCMIR METHODS FOR 3D EM）を試料作製に応用すると，GRP 免疫陽性シグナルと細胞膜構造の両方の可視化が可能となり，GRP 含有神経終末に対するシナプス構造解析が可能となった。得られた画像の三次元再構築を

行い，GRP で標識される神経終末は連続したバリコシティ構造を示し，バリコシティ部分に GRP 免疫陽性およびミトコンドリアの集積がみられた。また，痒みを伝達する神経終末に対するポストシナプスの構成要素の解析を行い，樹状突起・細胞体・有芯性小胞を含む神経終末・グリア細胞などの多数の構成要素によるシナプスの被覆がみられた。想定していたよりもグリア細胞による痒み伝達シナプスの被覆の割合が多かったため，今年度は主にこのグリア細胞の形態学解析を行った。脊髄後角に発現するグリア細胞として，アストロサイト・ミクログリアが考えられるが，脊髄後角最表層における各グリア細胞と GRP 陽性線維の局在を蛍光抗体法により調べた。その結果，脊髄後角におけるアストロサイトの局在は密であり，GRP 陽性線維との多くのインタラクションが見られた。一方，アストロサイトに比べミクログリアの局在は疎であり，一部突起の近傍に GRP 陽性線維の発現がみられた。次に，SBF-SEM による各グリア細胞の超微三次元構造を確認するために，アストロサイトとミクログリアのマーカー抗体を用いて，包埋前免疫電顕法を実施した。シグナルを得られた試料の表層から連続画像のセグメンテーションを行った結果，ミクログリアに比べ，アストサイトでは微細な突起の伸長が多くみられた。今回の観察では，免疫陽性を得る目的で試料を薄く作製したが，グリア細胞の全体の構造をみるためには，より広範囲の観察と試料作製が必要であることが分かった。今後は，生理的な痒みの伝達機構を明らかにするために，痒みを誘発した際の脊髄後角 GRP 神経終末の微細構造変化の解析を進めていく予定である。

45. マラリア原虫感染赤血球におけるマウレル裂の 3D 構造解析

坂口美亜子，金子　修（長崎大学熱帯医学研究所）
宋　致弘，村田和義（生理学研究所）

マラリアは亜熱帯や熱帯地方に見られる蚊媒介性の熱帯病であり，年間約 70 万人の死者が報告されている。マラリアを引き起こす原虫（*Plasmodium*）の中で熱帯熱マラリア原虫（*P. falciparum*）は特に症状が重篤化しやすいため，ワクチンの早急な開発が必要とされている。*P. falciparum* は蚊の吸血の際にヒト体内へと侵入し，細胞侵入型のメロゾイトが赤血球に感染する。原虫は寄生胞膜と呼ばれる膜に包まれた状態でリング，トロホゾイト，シゾントへと発育し，シゾント内で分裂し形成された新たなメロゾイトが血流へ放出されて次の赤血球に感染し，ヒト体内で増殖を繰り返していく。このような宿主赤内期において，*P. falciparum* は感染した赤血球細胞質内にマウレル裂と呼ばれる膜状構造を形成して病原性発露に関与する原虫分子の輸送を行い，また赤血球表面にノブと呼ばれる突起構造を形成して血管内皮細胞の表面に対する接着分子を発現し，赤血球全体の構造を改変していく。

昨年度は *P. falciparum* の宿主赤内期の各発育ステージにおける原虫及び感染赤血球全体の画像を SBF-SEM により取得し，三次元的な微細構造解析及び定量解析を行った。そして，本年度はヒトに自然感染するサルマラリア原虫 *P. knowlesi* について同様の微細構造解析及び定量解析を行うために，再び SBF-SEM を用いて原虫及び感染赤血球全体像を撮影した後，セグメンテーションを行った。その結果，*P. knowlesi* 原虫や核はステージが進むにつれ体積が増大し，一方で赤血球の細胞質は原虫のヘモグロビン消化と老廃物の放出により体積が減少する様子が見られ，*P. falciparum* の解析結果と同様であった。また，*P. knowlesi* 感染赤血球全体の体積や表面積についてはステージ初期から後期まで継続的に減少が見られたが，*P. falciparum* の場合では感染赤血球全体の体積はステージ中期で一時的な増大を示し，表面積では各ステージで変化が見られないため異なる結果となった。これらの相違は *P. knowlesi* と *P. falciparum* の赤血球外からの栄養吸収のメカニズムの違いや，感染赤血球の表面におけるステージ後期の原虫由来の突起構造の有無の差によることが予想される。

46. SBF-SEM を用いた小型甲殻類の比較形態学

A. Richard Palmer，梶　智就（University of Alberta）

本年度の滞在は２月２２日～３月３１日であり，この期間での短期目標としてHeterorhabdidae科カイアシ類における腺構造の解析を掲げた。Heterorhabdidae は外洋性カイアシ類であり主に黒潮流域に生息する。この科のうち祖先的系統は粒子食者であり派生的系統は毒針を用いて狩りを行う肉食性と，その摂餌戦略に見事な進化的勾配が見られることが知られ，漸進進化による進化的新機軸獲得の良いモデルケースとして考えられている。派生系統とされる Heterorhabdus 属は, その毒針に充填すべく上唇にある毒腺から毒液を分泌する。対してその祖先系統とされる Disetta 属において毒腺は無く, 代わりに消化腺状構造が上唇に確認されている。この消化腺から毒腺への機能変化に伴う腺構造の進化的変化を段階的に追うことが本解析の目的である。

昨年１０月黒潮流域にて行われた航海調査において, 共同研究者に委託しカイアシ類の捕獲, 船上でのグルタルアルデヒド固定を行った。この航海において Heterorhabdus 属, Mesorhabdus 属, Heterostylites 属, Neorhabdus 属, Disseta 属，が得られ，Heterorhabdidae 科の進化系列を再構成するに十分な試料構成となった。

このようにして得られた試料を生理研電子顕微鏡室にて SBF-SEM を用いて観察するべく染色，樹脂包埋を行った。当初は浸透性に優れると思われた Spurr 樹脂を用いたが，うまく浸透せず SBF-SEM 撮影中に組織破片が剥離し試料面を覆う事態となったため再検討を行い, すでに実績のある Durcupan を用いたところ撮影に成功した。

Heterorhabdus 属，Mesorhabdus 属，Heterostylites 属について腺構造の詳細なスキャンを得，その一部において光学解析室所蔵の三次元解析ソフト Imaris を用いた画像解析，三次元サーフェイスモデル作成を行ったところ，腺細胞とそこからつながるダクト開口部との関係性が部分的に明らかになった。Neorhabdus 属，Disseta 属については，試料サイズが大きすぎ SBF-SEM の有効視野範囲に収まりきらなかったため，現在２光子顕微鏡にて補完データを取得中である。

47. 微小管のアセチル化制御における新規鞭毛輸送(IFT)タンパク質 MIP-T3 の分子機能解析

北里海雄（長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科）
村越秀治（生理学研究所 脳機能計測・支援センター）

微小管のアセチル化制御は様々な細胞生理機能の調節と多くの癌や神経疾患等の分子病態制御において極めて重要であり，脱アセチル化酵素 HDAC6 がその重要な制御因子である。本研究では，2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた可視化解析により，新規鞭毛輸送（IFT）タンパク質 MIP-T3 が HDAC6 に結合することを見出し，さらに HDAC6 の活性制御への関与を示唆する結果が得られた。次に, HDAC6 による微小管アセチル化制御における MIP-T3 の役割を調べた。MIP-T3 と HDAC6 はいずれも微小管結合タンパク質であり, α-Tubulin の 40 番リジン残基（K40）がアセチル化できない変異体 K40R は MIP-T3 と HDAC6 の両タンパク質との結合を有意に抑制したことから，K40 のアセチル化は HDAC6 と MIP-T3 の微小管との結合に重要な役割を果たしていると考えられた。さらに，MIP-T3 と α-Tubulin との結合は HDAC6 による K40 の脱アセチル化によって抑制され，一方，MIP-T3 は HDAC6 による α-Tubulin の脱アセチル化を抑制していることを示唆するデータを得ることができた。

MIP-T3 と HDAC6 との結合は時間的・空間的に定量解

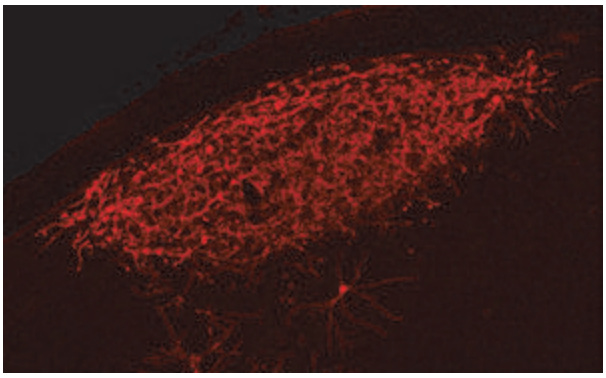
析を行ったところ，高度アセチル化 Tubulin で形成される中心体（centrosome，or MTOC）において両者が強く結合していることが認められ，MIP-T3 と HDAC6 の相互作用は微小管形成のダイナミクスや細胞分裂への影響が示唆された。実際，MIP-T3 の細胞での過剰発現は細胞周期を G2/M アレストに誘導し，MIP-T3 と HDAC6 との分子間作用は微小管のアセチル化制御やダイナミクス調節を介して細胞周期の制御に重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした（現在，これらの結果をまとめた論文を作成中）。

48. 鳴禽類ソングバードを用いた時空間制御を与える遺伝子発現系の開発と行動実験への応用

和多和宏（北海道大学 大学院理学研究院 生物科学部門）

本研究は，音声発声学習の学習臨界期制御きこうメカニズムの理解を目指し，時期特異的・細胞タイプ特異的なウイルス発現系を用いて，特にエピジェネティクス動態に着目した研究を進めていくことを目的としている。このために，鳴禽類ソングバード脳内の歌神経核内の投射神経特異的な遺伝子発現操作を可能にするためアデノ随伴ウイルス AAV と Cre-loxP システムを利用し，音声発声学習臨界期制御に関わる遺伝子群の人為的な発現制御実験を進めている。

鳴禽類ソングバードは，発声学習とその発声生成のために機能特化した神経回路ソングシステムを脳内にもつ。このソングシステムは，大きく２つの回路によって形成される。発声運動回路と大脳-基底核-視床ループ回路である。これらの神経回路網は，鳥類のみならずヒトを含む哺乳類においても保存されている。このソングシステム回路は，構成歌神経核間の投射入力・受容の連結によって形成されている。前年度でのウイルスベクター開発室の小林憲太准教授との計画共同研究から得られた知見をもとに，H28 年度では，ソングバード脳内の歌神経核間で安定して逆行性感染能をもつアデノ随伴ウイルス AAV9 を用い，Cre リコンビナーゼ・flex ベクターによる 2 重感染によって，運動前野に相当する歌神経核 HVC の大脳基底核投射神経細胞特異的な遺伝子発現制御系を確立することができた。これまでに安定して，歌神経核 HVC の 50~70%の基底核投射神経に特異的な遺伝子発現改変が可能になっており，これまでに報告があった研究例のなかでも高い選択性かつ発現率を実現できている。現在 DREDD システム等の細胞興奮性を制御する方法を用いて，発声パターン学習，時系列シークエンス生成への影響を検証する実験を継続実施している。



49. 光遺伝学を用いた霊長類の視覚運動制御神経回路の機能操作

木下正治（弘前大学 大学院医学研究科）
小林憲太（生理学研究所 ウィルスベクター開発室）

中脳にある上丘のニューロンは視覚刺激に対して応答を示す。上丘のニューロンへ視覚情報を伝達する経路として，網膜の神経節細胞から上丘へ直接の神経投射経路，および網膜－外側膝状体－大脳皮質一次視覚野（V1）

を経由して上丘へ至る経路があることが知られている。上丘浅層ニューロンの視覚性応答は視線を対象に向けるといった，視覚－運動情報変換に関与している可能性が示唆されている。しかしこの視覚性応答が網膜からの直接入力あるいは V1 を経由した入力のどちらに依存しているかについては明らかにされていない。

本研究においては，実験動物にヒトに近い視覚情報処理を行っていると考えられている健常なマカクザルを用い，行動課題遂行中のサルに対して光遺伝学的な手法を用いて V1 から上丘浅層への神経伝達を選択的にミリ秒オーダーの精度で遮断することで，上丘ニューロンに対するこの神経経路の機能を明らかにすることを目的としている。

Ｈ２８年度は，前年度に引き続きマカクザルに対する行動課題の訓練などを行い，さらに神経伝達遮断に用いるオプシン遺伝子とウイルスベクターについての検討，およびウイルスベクター注入方法の検討と改善などを行った。

50. 従来型解析にバイオインフォマティクスを取り入れ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）

この 20 年間で神経の軸索ガイダンス（神経回路形成）に関する研究は大いに進展し，分子基盤の多くが解明されてきた。軸索ガイダンスにおいて中心的な役割を果たす分子は，軸索を誘引する分子と反発する分子であり，これまでにさまざまな分子が同定されてきた。しかしながら，未だにその神経回路形成を担う分子実体が不明なものも多く，誘引・反発分子も含めた，分子メカニズム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（mF1 と mF2 と命名）がコードする分泌型タンパク質が，神経系で何らかの重要な機能を持つことを見出してきている。これらの分子の中枢神経系および末梢神経系での機能の解明が本研究の目的である。

現在，アデノ随伴ウイルスベクター（AAV）を用いて，マウスおよびニワトリの mF1 または mF2 遺伝子の全長 cDNA を組み込んだ遺伝子ベクターを作製し，導入効率を検討している。具体的には，これらのウイルスベクターをマウス・ニワトリ胚の脊髄，脳実質および，神経系を取り巻く間葉組織に注入し，それぞれでの導入効率を調べている。十分な導入効率が得られたのちに，各種神経軸索における変化の有無を解析する予定である。

さらに今後は，マウスおよびニワトリの mF1・mF2 の shRNA を発現する AAV も作製し，これらの遺伝子の発現抑制が神経回路形成にどのような影響を及ぼすのか，詳細に解析する予定である。

51. アデノ随伴ウィルス（AAV）を用いた神経系の発生および恒常性維持に関わる分子機構の解析

堀江正男，矢野真人，備前典久，染谷拓郎，酒井知史，竹林浩秀（新潟大学）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

我々は，昨年度に引き続き，神経系の発生および恒常性維持に関わる分子機構を明らかにするために，アデノ随伴ウィルス（AAV）を用いて以下の２つの実験を行った。

１つ目の実験として，Cre 組換え酵素を発現するウイルス（AAV Cre）と緑色蛍光タンパク（GFP）を発現するウイルス（AAV GFP）を，成体マウスの中枢神経系に注入する事により，*Dystonin (Dst)* 遺伝子の部位特異的ノックアウトマウス（*Dst* cKO マウス）の作製を行った。その結果，*Dst* 変異マウスの運動症状の一部である姿勢異常を再現することに成功した。しかし，明らかな捻転運

動は見られなかった。*Dst* 遺伝子の機能欠損マウスである *dystonia musculorum* マウスは生後 10 日目程度で捻転運動を伴う運動障害を生じることから，今後は新生仔の時期に AAV ウイルス注入を行い，*Dst* cKO マウスの作製を行い，捻転運動を伴う運動障害が出現するかどうかを調べる予定である。

２つ目の実験として，エレクトロポレーション法によるマウス胎児脳への強制発現実験によってオリゴデンドロサイトの分化を促進することが示唆されている因子，OBP2 の AAV による強制発現実験を行った。OBP2 と GFP を発現する AAV（AAV OBP2-IRES-GFP）とコントロール AAV（AAV IRES-GFP）を作成し，それぞれの AAV を成体マウス脳内に注入し，強制発現実験を行った。OBP2 の発現によって，オリゴデンドロサイトのマーカーであるミエリン関連遺伝子の発現上昇が認められた。現在，FLEX タイプの OBP2 発現ウイルスも作成して，オリゴデンドロサイト特異的に Cre を発現する Cre ドライバーマウスに AAV FLEX-OBP2 ウイルスを感染させることにより，オリゴデンドロサイト系譜特異的に OBP2 を発現する実験を計画している。

52. 随意性眼球運動系の神経回路の障害と再編

高橋真有（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

申請者らは，サッケード眼球運動生成・停止機構の詳細な神経回路を，ネコ・サルで，電気生理学的方法と解剖学的方法を用いて明らかにしてきた。これまでの研究により，サッケード座標系が従来の水平・垂直でなく三半規管座標系であることを示し，さらに両側上丘間に交連性抑制に加えて強い興奮性交連結合が存在することを発見した。そこでこの上丘頭側部に存在する上丘間の交連性抑制と交連性興奮の機能を明らかにするため，この経路を選択的に遮断することが望まれたが，従来の薬物的方法ではそれが不可能であった。そこで，本研究では，伊佐（現京都大学）らが，ウィルスベクター開発室と共同で開発した２種類のウィルスベクターを用いた２重感染法と DREADD 法を組み合わせた経路選択的シナプス遮断法を用いて，経路選択的に上丘交連結合の障害を起こし眼球運動のセントラルドグマといわれる「Listing の法則」の神経機構を解明することを目的とした。

実験は，マカクサルに 12 方向のサッケードを訓練し，サッケード中の上丘の神経活動を記録することと，微小電流刺激を用いてサッケードを誘発することにより，上丘の頭側部の垂直性サッケードがコードされている部位を同定し，正確に注入部位を決めた。左上丘に高性能逆行性レンチウィルスベクター，右上丘に新たに開発した順行性の AAV ベクターを注入した。その後２重感染が完成するのを待ちながら，サッケードの訓練などを再開した。その間，共同研究者の伊佐教授が生理学研究所から京都大学へ異動となったので，サルを京都大学へ移管し，以後の実験は京都大学で行っている。この突然の移動のため，新たにサル慢性実験用のセットを構築する必要が生じたため，実験予定が延長せざるを得なかったが動物実験棟でのサル P2 実験の許可がおり実験の継続が可能となった。現在２週間に１度のペースで CNO を投与し，選択的経路遮断前後の眼球運動を記録し，選択的に遮断された経路の機能的役割の解析を進めている。今後，神経生理学的実験と組織学的検索を行い，上丘間交連結合の機能を明らかにしたい。

53. ウイルス遺伝子工学による島皮質—腹外側線条体神経路の意欲における役割の解明

田中謙二，木村　生，Youcef Bouchekioua
（慶應義塾大学医学部　精神・神経科学教室）

我々はこれまでに腹外側線条体に分布するドパミン受容体２型陽性 medium spiny neuron（D2-MSN）が意欲の調節に関与していることを見いだしてきた。腹外側線条体は島皮質から密な投射を受けているが，この島皮質

ー腹外側線条体神経路が意欲の調節に関与しているかはいまだ不明である。

本共同研究では，遺伝子改変マウスとアデノ随伴ウイルス（AAV）を用いて島皮質ー腹外側線条体神経路の解剖学的知見を確認し，同経路を遺伝子工学を用いて操作することで，島皮質ー腹外側線条体 D2-MSN の意欲に対する役割を明らかにすることを目的とした。

腹外側線条体 D2-MSN の意欲に対する役割を回路レベルで明らかにするために，以下の①～③の実験をおこなった。

①Rbp4-Cre マウスの島皮質に AAV_{DJ} CAG-DIO-EGFP を注入し，免疫染色法を用いて島皮質ー腹外側線条体神経路を同定した。

②Rbp4-Cre マウスの島皮質に AAV_{DJ} CAG-DIO-ArchT/EGFP を注入し，腹外側線条体を行動実験中に光照射して意欲的行動の変化を観察した。

③Emx1-Cre マウスの島皮質に AAV_{DJ} CAG-DIO-ChR2/EYFP を注入し，腹外側線条体を行動実験中に光照射して意欲的行動の変化を観察した。

ウイルス遺伝子工学によって経路特異的な光操作が可能になり，島皮質-腹側線条体神経路が意欲行動を抑制していることを明らかにすることが出来た。

54. 開口放出部構成蛋白質によるシナプス形成及びその機能解析

萩原　明，大塚稔久（山梨大学大学院総合研究部・医学域）
小林憲太（生理学研究所・ウイルスベクター開発室）

神経細胞の情報伝達を支えるシナプスにおいて，前シナプス開口放出部からの伝達物質の放出量や頻度はシナプスの伝達効率を決定する重要な要素の一つである。本研究では，この開口放出部に局在する蛋白質群（CAZ 蛋白質）として同定された CAST/ELKS ファミリーに着目し，その機能解析からシナプスの形成・維持及び伝達制御のメカニズム解明を目指すものである。

目に入力した光刺激は網膜・視細胞において神経情報へと変換され，さらに双極・水平細胞での修飾を経て神経節細胞によって脳の視覚中枢へと伝達される。この視細胞から双極・水平細胞へのシナプスにおいて，発生時期から ELKS を欠損させてもシナプスや網膜の構造及び情報伝達機構への影響はほとんどみられなかった。さらに本解析では，網膜の層構造やシナプスが形成されたのち ELKS が欠損した場合の影響を調べるため，アデノ随伴ウィルスによる視細胞特異的な ELKS 欠損系の構築を行った。前年度の条件検討より，AAV5 型のウィルス（AAV5-CAGGS-Cre）を 4 週齢の ELKS fl マウスの subretinal 領域に注入することで成熟した視細胞に Cre を発現させ ELKS 欠損を誘導できることを確認した。その結果，成熟した視細胞から ELKS を消失させると，視細胞が変性しシナプスが消失することがわかった。さらにファミリータンパク質である CAST を欠損させたシナプスにおいてさらに ELKS を消失させると，より顕著に視細胞が変性することが分かった。これらのことから，CAST/ELKS ファミリーがシナプスの維持に重要な役割を担っていること，またシナプスにおける伝達制御機構の障害が視細胞の脱落，すなわち網膜変性疾患の発生機序に関与していることが示唆された。

55. 逆行性ウィルスベクターを用いた体液恒常性維持神経回路の解析

野田昌晴，檜山武史（基礎生物学研究所）
小林憲太（生理学研究所）

動物が水と食塩水を自由に選択できる状態にして，それぞれの摂取量を解析すると，脱水状態では，飲水量が飛躍的に増加するのに比べ塩水の摂取量は伸びない。逆に塩欠乏状態では，塩水の摂取量が増加し飲水量は増えない。本研究では，このように体液状態に応じて口渇感や塩欲求が選択的に制御される仕組みについて解析し

た。脱水時や塩欠乏時には，体内でレニン・アンジオテンシン系が賦活される。また，アンジオテンシン II（Ang II）を脳室内に投与すると，水分と塩分，いずれの摂取量も増加する。このことから，口渇感や塩欲求の制御に脳の Ang II シグナルが関与していると考えられる。

Ang II 受容体は，脳弓下器官(SFO)や終板脈管器官（OVLT）を含む，脳室周囲器官に多く発現している。両神経核のグリア細胞には，ナトリウム（Na^+）レベルセンサーである Na_x チャンネルも発現している。本研究では，これまでに，逆行性ウィルスベクターを用いて神経経路選択的に光感受性タンパク質を発現し，その活動を光操作した時に塩分摂取や飲水量に生じる影響を調べた。その結果，SFO の AT1a 発現ニューロンうち，分界条床核腹側部に投射するものが塩欲求を，OVLT に投射するものが口渇感を制御していることがわかった。それぞれを塩ニューロン，水ニューロンと命名した。

本年度，体液状態に応じて水と塩に対する欲求が選択される仕組みを明らかにするため，SFO を含む脳の急性スライスを用いて電気生理学的な解析を行った。塩ニューロンにシナプス結合を形成している GABA ニューロン(抑制性)について調べたところ，Na^+依存的に活性化し，その活性化には Na_x が必要であった。Na^+上昇時の GABA ニューロンの活性化に伴って塩ニューロンは抑制され，発火頻度が減少した。一方，水ニューロンにシナプス結合を形成している GABA ニューロンについて調べたところ，生体内ペプチドの一種であるコレシストキニン（CCK）によって活性化し，水ニューロンの活動を抑えることがわかった。塩欠乏時には SFO の CCK レベルが上昇していたことから，水ニューロンの活動が抑制されているものと考えられた。

以上の成果は Nature Neuroscience 誌に報告した（Matsuda et al., Nat Neurosci. 2017, 20:230-241）。

56. ウィルスベクターを用いた集中的リハビリテーションの作用機序の検討

飛田秀樹，石田章真（名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経生理学分野）
小林憲太（生理学研究所ウィルスベクター開発室）

脳卒中後には損傷脳においてある程度の自発的な再編成が生じ，運動機能の回復が生じる。これに対し，集中的なリハビリテーションは損傷後の中枢神経系の再編を促進し，それにより運動機能回復を増進すると考えられている。我々はこれまでに，内包出血モデルラットを用いた検討を行い，麻痺肢の集中使用により出血同側の皮質赤核路が増加し，同経路が集中使用による運動機能回復と因果関係を有していることを，ウイルスベクターの二重感染による選択的経路遮断法（Kinoshita et al., Nature, 2012）を用いて示した（Ishida et al., J Neurosci. 2016）。本年度はこれを受け，皮質赤核路のリハビリテーションにおける役割をより明確化させるため，皮質赤核路の選択的遮断を様々なタイミングで行い，運動機能回復への影響を確認した。

方法として，Wistar 系雄性ラットに対し，出血同側の赤核にレンチウィルスベクター（NeuRet-TRE-EGFP.eTeNT）を，運動野にアデノ随伴ウイルスベクター（AAV1-CaMKII-rtTAV16）を注入した。その後，内包出血を生じさせ，麻痺肢の集中使用を行わせた。この実験系において，(1) 集中使用実施中～，(2) 集中使用実施直後～　のタイミングでドキシサイクリンを経口投与することで皮質赤核路を選択的に遮断し，運動機能への影響を確認した。

その結果，(1) 集中使用実施中に皮質赤核路を遮断した場合は，運動機能は問題なく回復した。それに対し (2) 集中使用実施直後に皮質赤核路を遮断すると，一旦回復した運動機能が再度悪化することが示された。加えて，(2) では皮質赤核路が増加していたのに対し，(1) では皮質赤核路の増加は認めず，代わりに皮質網様体路の増加が認められた。

以上の結果から，内包出血後の麻痺肢集中使用において，皮質赤核路は早期より運動機能回復に重要な役割を果たすことが示された。加えて，皮質赤核路が遮断されている場合は速やかに他の経路（皮質網様体路など）を介した代償が起こりうる事が示された。これらの知見は，皮質脊髄路損傷時には脳幹運動核を介したリレーが有用な代償経路になることを示すものであり，脳卒中後リハビリテーションの作用機序を鑑みる上で重要なものであると考えられる。

57. ウイルスベクターを用いた経路選択的遺伝子操作による霊長類神経回路の機能解析

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，そのために，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，さらに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，それをげっ歯類やマカクザルおよびマーモセットに遺伝子導入して効果を検証する研究を推進することを目的とした。

今年度，新たに腹側被蓋野（VTA）や前脳基底部（BF）から皮質への投射経路を光遺伝学的技術によって操作することにより，この経路の機能回復における役割を明らかにする実験を開始した。まず，ラットを用いて，VTA に順行性 AAV ベクターを注入して皮質への投射経路を確認し，非常に広い範囲の皮質への投射を確認した。次に高性能逆行性レンチウイルスベクターの改良型に加え，新規発想に基づく逆行性ウイルスベクターや新たに海外で報告された逆行性 AAV ベクターをウイルスベクター開発室で精製し，これらとチャネルロドプシンやクリムゾン R を搭載した AAVC ウイルスベクターを Cre-loxP 系を使った二重感染法を用いて組み合わせた。これらをラットの VTA から皮質への投射経路で二重感染により発現させ，その組織学的検索により最適と思われる組合せの探索を開始した。その結果，新規逆行性ウイルスベクターの有用性をはじめ，多くの系での二重感染が確認できたので，今後，その効率について詳細を解析し，今後ラットでの比較実験結果に基づき，マカクザルへのウイルス注入実験を開始したい。

58. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究

藤山文乃（同志社大学大学院 脳科学研究科）

ドーパミンニューロンは運動機能や認知機能の調整のみならず学習や報酬系にも深く関与しており，その制御の解明については重要課題である。近年，大脳基底核の淡蒼球外節細胞がドーパミン細胞群である黒質緻密部に投射することが報告されたが，淡蒼球外節のどのニューロンが投射し，どのように作用するかは解明されていなかった。

本研究では，PV-Cre ラットを使用し，Cre 依存的に蛍光タンパクを発現するアデノ随伴ウィルスベクター（共同研究で作成していただいたもの）を感染させ，淡蒼球外節の中でもパルブアルブミンを持つ細胞だけを赤の蛍光タンパクで可視化することで，神経終末が黒質緻密部の特定の領域のドーパミンニューロンに優位に分布することを明らかにした。さらに光遺伝学を用いて，淡蒼球外節のパルブアルブミン細胞の活性化によって黒質緻密部のドーパミンニューロンが強く抑制されることが電気生理学的に証明された。この結果によって，運動や学習における大脳基底核の理解，黒質緻密部ドーパミンニューロンの変性疾患であるパーキンソン病の病態への理解の進歩が期待できる。

この研究は，生理学研究所 行動・代謝分子解析センターの小林憲太准教授との共同研究であり，共著としてとして国際誌に論文発表した（Oh Y-M, Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, Takada M, Uchigashima M, Watanabe M, Nishizawa K, Kobayashi K, Fujiyama F. Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations. Brain Structure and Function, in press. doi: 10.1007/s00429-016-1346-2）。

59. 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 CA1 領域錐体神経細胞シナプスにおいて, 入力側が右側か左側かによって PSD サイズやグルタミン酸受容体密度が異なる事を発見した。さらに，分離脳マウスモデルを用いて新奇環境探索によって右歯状回優位に c-fos 発現が認められることを見出した。また別のグループより離乳後 6 週間にわたり enriched environment 下でラットを飼育することによって右側のみで CA1 領域錐体神経細胞シナプスが 2 倍に増加する事が報告された。これらシナプス前部に依存性の左右差とシナプス後部に依存性の左右差の関係は不明であった。そこで, wild-type BL6 マウスを用いて，enriched environment によるシナプス数増加がマウスでも再現されるかどうか，右側のみの増加があれば左右の入力側に依存するものであるかどうかを調べた。まず，enriched environment によるシナプス数はマウスでも右側のみで有意に増加する事が明らかとなった。このために神経終末に早く輸送される VAMP2-venus を発現する AAV ウィルスを作製し，これをマウスの左右の CA3 にそれぞれ注入することによって，VAMP2-venus の蛍光を左右で比較した。まずコントロールマウスの CA1 で認められた神経終末の蛍光強度を比較したところ，左右いずれの側の注入においても，同側に投射する CA1 領域におけるシナプス数が約６０％を占め, 反対側からの投射は残りの４０％であった。ところが, enriched environment 下で飼育したマウスでは, 右側に注入したものについてはコントロールと同様であったのに対し，左側に注入したマウスでは同側と反対側のシナプスがほぼ同じ割合となっていた。電子顕微鏡によって測定したシナプスの絶対数を用いて計算したところ，enriched environment 下で飼育したマウスでは，左側 CA3 から右側 CA1 投射するシナプスのみが４０％増加し，その他の投射には有意な変化がないことが明らかとなった。さらにこのような右脳優位のシナプス増加は入力側依存性左右差を遺伝的に欠損している *iv* mutant mouse では失われている事が明らかとなった。以上の結果は，入力側依存性左右差が空間記憶の継続的刺激によるシナプス結合長期増強の右脳優位性に必須である事を示しておりヒト高次脳機能の左右差との関連が興味深い。

60. 豊かな環境飼育によるマウス・ラットの脳微小形態の変化

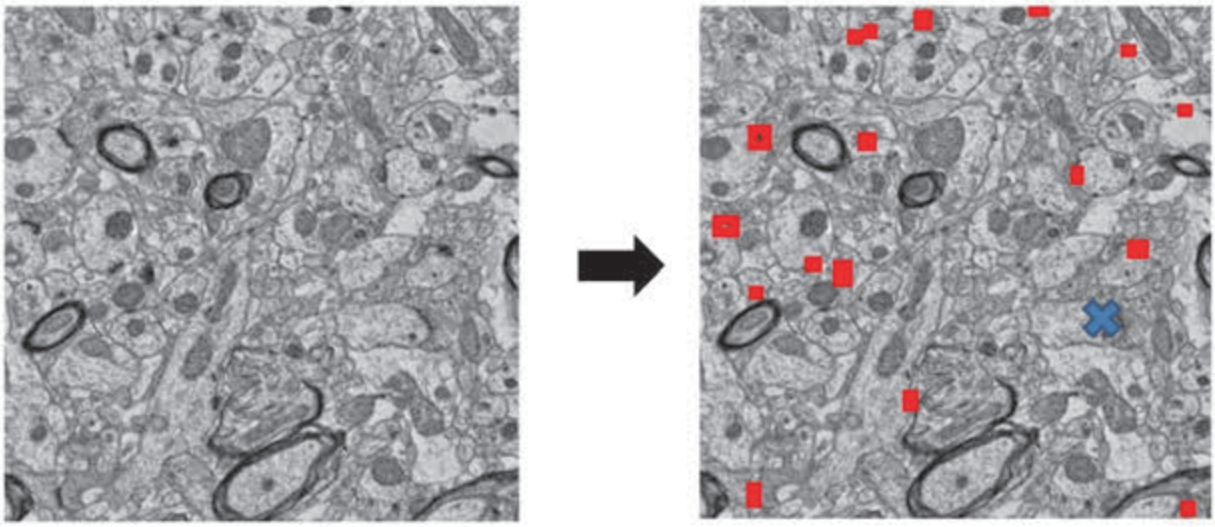
篠原良章（理化学研究所神経グリア回路研究チーム）

ラットやマウスを豊かな環境で４週間ほど飼育すると，海馬では錐体細胞の肥厚化が起こる他に，シナプス数の増加・ガンマ波の振幅の増大が左右非対称に見られる（Shinohara et a., *Nat Commun* (2013)）。さらに，豊かな環境で海馬に生じる形態変化を網羅的に観測するため，生理学研究所の serial bloc-face SEM 電顕を用いることにした。

電顕の画像データは問題なく得られたものの，この過程で，撮影された膨大な画像データを処理し，目に見える形の定量的なデータ（シナプスの数や密度，細胞内オルガネラの局在など）を抽出する過程に非常に長い時間と大きな労働力が必要であることに気づいた。500 枚程度のシリアル画像を撮影するのは 1-2 日で終わるが，解析には２ヶ月程度要した。そのため，今まで通常型の TEM 画像を解析する時に用いていた Matlab のスクリプトを流用することを考え，現在も生理研の大野先生と引き続き共同研究を行っている。この Matlab スクリプトは, 通常の TEM 画像に対しては，80-85%以上の確度でシナプスを認識（図１: 図で正しく認識できたものは赤四角, 認識しなかったものは青で×マーク）し，手作業なら１週間程度を要した電顕デジタル画像のシナプスのマーキングが 10 分程度で行えるようになった。さらに，シナプスと認識した部位をデジタルデータとして残せるため，人力を用いた画像判定と比較して，データの保存や誤認

識の評価にも適している。つまり，解析法の自動化は，私のみではなく，この装置を用いる他の神経科学者にとっても有益であると考えている。

現在，このコードを 3 次元の連続切片データでのシナプス抽出にも使えるように拡張を行っているところであり，また，細胞内ミトコンドリアの抽出にも適応しようとしている。2017 年度後半には，深層学習を用いた画像の自動判定も行いたい。ちょうど今年に入って深層学習を用いた電顕画像解析の方法について記載した論文が出ており，（Dorkenwald et al., Nature Methods (2017)），シリアル電顕を使用する際の画像解析の自動化は世界的な趨勢になると考えている。



61．3 次元走査型電子顕微鏡（SEM）を用いた進行性糸球体疾患の荒廃に至る動態の解析研究

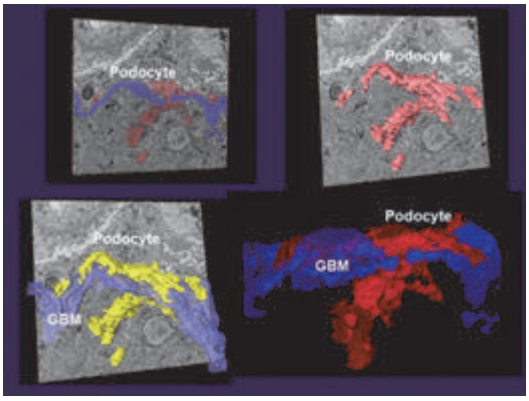
城　謙輔（東北大学大学院・医学系研究科・病理病態学講座・病理診断学分野）
髙木孝士（昭和大学 電子顕微鏡室）
永井将哲（成田記念病院 腎・糖尿科）
齊藤　成（自然科学研究機構・生理学研究所・脳機能計測・支援センター・電子顕微鏡室）
大野伸彦（自然科学研究機構・生理学研究所分子生理研究系・分子神経生理研究部門）

これまで１４症例の糸球体腎炎が SBE-SEM 法により撮影され，そのうち，IgA 腎症（急性活動性症例４例，慢性進行性症例２例），ループス腎炎（2 症例）について，構成細胞を色づけした後，立体構成（Segmentation）により解析した。

その結果，第１の知見として，IgA 腎症とループス腎炎において，足細胞が糸球体基底膜を貫きメサンギウム基質に嵌入し，さらにメサンギウム細胞に接触していることが確認された（図１）。一方，メサンギウム細胞は糸球体基底膜の緻密層直下の内皮下腔に間入し，メサンギウム基質が増加している所見があった。足細胞とメサンギウム細胞がメサンギウム間入時に直接接触している所見は，世界で初めての知見であり，メサンギウム細胞によるメサンギウム基質の産生が足細胞との細胞間接触により誘導されている可能性が示唆された（足細胞・メサンギウム細胞連関仮説）。第 2 に，IgA 腎症の分節性菲薄基底膜病変は臨床的にミクロ血尿を招来すると言われている。そのため，菲薄基底膜病変を追跡して，糸球体基底膜の破壊に繋がるかどうか解析した。その結果，メサンギウム基質に近い領域の糸球体基底膜において，足細胞の細胞突起が糸球体基底膜を貫き，内皮側へ進展している所見が確認された。そのため，従来，内皮細胞と見なされている細胞の一部が足細胞の細胞突起である可能性が示唆された。足細胞は VEGF（vascular endothelial growth factor:血管内皮細胞増殖因子）を産生し，糸球体基底膜を介して内皮細胞を保護していると言われていた。

今回の観察で，足細胞と内皮細胞に直接の接触があることが判明した一方，上皮細胞の細胞突起が血液成分に直接曝されている所見は新しい知見である。第 3 にマクロファージが糸球体毛細血管内に浸潤したとき，糸球体基底膜へ直接傷害する可能性を疑ったが，現在のところ，直接の傷害の現場は確認されていない。

呈示した図 1 では，メサンギウム基質の位置が不明瞭で，現在，その完成を準備中である。足細胞嵌入による糸球体基底膜破壊の最初の機序は不明である。



62. 骨盤内臓刺激による脊髄後角ニューロンの興奮性変化について

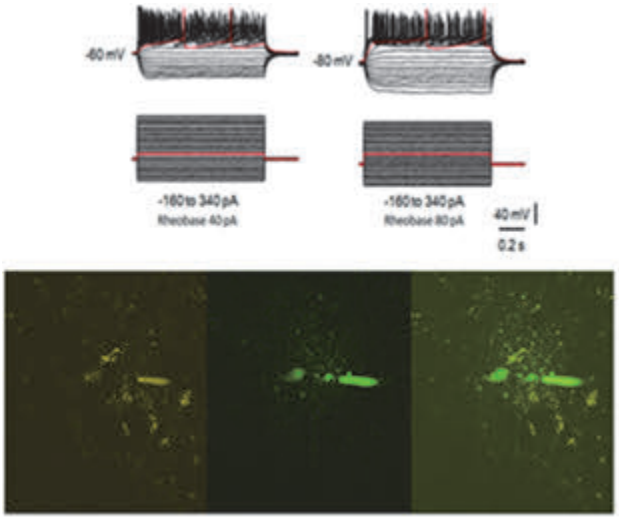
河谷正仁（秋田大学大学院医学研究科・器官統合生理学講座）
斎藤和輝，河谷昌泰（秋田大学医学部）

膀胱や直腸からの知覚は腰仙部後角のニューロンを介し，脊髄あるいは脳幹を介する反射をおこす。介在ニューロン，上行ニューロンを経て自律神経節前ニューロン（SPN）に至るネットワークの存在と知覚入力の種類による神経活動の差や会陰部や尿道からの入力を伝える陰部神経による骨盤神経反射の修飾機構を検討する。

本年度は生理学研究所生体恒常性発達部門で脳および脊髄からの興奮情報収集の技術獲得や，秋田大学に設置されている二光子顕微鏡下でのパッチクランプ記録装置を本研究テーマに使用するための設定変更を行い，研究を開始した。骨盤臓器を支配する SPN はラット L6-S1 分節の脊髄中間層中央部の中心管横と側索ごく近い灰白質の端に存在する。また，尿道および黄門括約筋は前角の運動ニューロン群の一部により支配される。DiI にて SPN 内の節前神経を標識し蛍光観察を行ったが発達に伴う脊髄内の線維の著しい増加により，DiI はわずかに観察されるにとどまったため，脊髄スライス標本での条件を再検討した。

秋田大学でアダルト脊髄のスライスを作成し二光子顕微鏡下でのパッチクランプ記録を行った。上記のトラブルはあったものの，200 um まで薄くした切片では DiI による標識を観察できた。細胞内 Alexa 注入により樹状突起，軸索もある程度観察できたため，脊髄内の他のニューロンとの位置関係を明らかにできると期待している。臓器入力が絶たれていることが Vitro 実験での限界ではあるが，SPN への後角ニューロンからの興奮の流れや，薬理学な興奮性及び抑制性の入力の検討を実施する計画している。

今後，脊髄ネットワークの検討を行うため，vivo での SPN 同定の方法を確立し，生体恒常性発達部門と共同で 2 光子顕微鏡を用いた腰仙髄脊髄後角のイメージングと電気生理学的検討を行い，膀胱尿充満（骨盤神経）と尿道の会陰刺激（陰部神経）による骨盤内臓器制御の神経回路機構を明らかとする予定である。



10 week で骨盤神経叢へ DiI（10 μM）を注入し，二週間後にスライスを作成し記録を行った。

【超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告】

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告

〔 目　　次 〕

1. 超高圧電子顕微鏡を用いた細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析 ····· 222
2. 昆虫細胞内共生細菌の特異なチューブ様微細構造の解析 ····· 222
3. 組織化学的手法を応用した細胞小器官の三次元構造観察 ····· 223
4. 網膜と視覚野ニューロンの電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応 ····· 224
5. 超高圧電子顕微鏡観察法によるタンパク質巨大分子複合体の形成機構の解明 ····· 224
6. 原生生物タイヨウチュウ類の微小管調節機構の解明 ····· 225
7. コンピュータトモグラフィー法によるラット脊髄神経化学解剖の 3D 解析 ····· 226
8. 低温超高圧電子顕微鏡法を用いた CD38 の *in situ* 膜局在の解明 ····· 227
9. 超巨大アメーバウイルスの内部構造解析 ····· 227
10. 3D reconstruction of cells generating melanin ····· 228

1. 超高圧電子顕微鏡を用いた細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析

唐原一郎（富山大学大学院理工学研究部），篠筒公隆（富山大学理学部）
竹内美由紀（東京大学大学院農学生命科学研究科）
峰雪芳宣（兵庫県立大学大学院生命理学研究科），村田和義（生理学研究所）

筆者らは，植物の細胞骨格・オルガネラなどの細胞レベルから，組織・器官レベルまでの三次元構造のダイナミクスの解析を目指している。組織・器官レベルとして，X 線 CT を用いて，乾燥種子の非侵襲形態解析を行うことで，乾燥種子においては細胞壁の折りたたみ構造が観察され，種子発芽時の吸水による急速な体積増大に備えたものである可能性が示唆された。この細胞壁の折りたたみ構造が真実の構造か否かを検証するため，比較的厚い切片で広範囲に観察できる超高圧電子顕微鏡を用いた観察に取り組んでいる。シロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.の Col-0 株の乾燥種子をグルタールアルデヒドで 12 時間 4℃で前固定の後，en bloc 染色として二重オスミウムによる Ellisman らのプロトコルを一部修正して行い，試料を調製・包埋した。そこから 1 μm の厚さの切片を切り，今回は post staining を行わず，金粒子（今回は径を 150 nm とした）の塗布とカーボンコートを施した後，胚軸部の切片を加速電圧 1,000 kV での超高圧電子顕微鏡（H-1250m，日立）観察に供した。昨年度は胚軸の皮層細胞を主軸に対して横断面（横断切片）を観察し，縦断壁（longitudinal wall）に入る軸方向の折りたたみを確認できたの対して，本年度は縦断面（縦断切片）を観察した。皮層および内皮細胞に着目し，撮影倍率は 1000 倍で-56º から 56º まで 2º ステップで回転させて傾斜画像を撮影し，傾斜画像からの立体再構成を行った。

その結果，まず post staining を行わなくてもプロテインボディや細胞壁も十分に観察できることがわかった。横断壁（transverse wall）において軸に垂直な方向の折りたたみを観察することができた。縦断切片においても縦断壁は見えるが，縦断壁では軸に垂直な方向の折りたたみは観察されなかった。細胞壁によって折りたたまれ方が異なっている可能性も考えられた。

2. 昆虫細胞内共生細菌の特異なチューブ様微細構造の解析

中鉢　淳（豊橋技術科学大学エレクトロニクス先端融合研究所）
福田康弘（東北大学農学研究科），洲崎敏伸（神戸大学大学院理学研究科）

昆虫細胞内より世界で初めて発見された「オルガネラ様防衛共生体」*Candidatus* Profftella armatura (*Betaproteobacteria*, 以下 *Profftella*)の細胞内に，ユニークなチューブ状構造が存在することが，我々の先行研究から明らかとなった。この構造は，直径が約 200 nm で，*Profftella* の細胞内に複数存在する。原核生物で同様の構造は知られておらず，*Profftella* の特異な生理・生態学的機能との関連が期待される。そこで SBF-SEM を用いて予備的な解析を行ったところ，*Profftella* 細胞自体が細長く，それに沿って走る当該構造体も予想以上に長いチューブ状形態を取ることが判明した。しかし，分解能の制約から，その構造の詳細は不明であった。

そこで本研究では，昨年度に引き続き超高圧電子顕微鏡を用いて高分解能観察を行い，電子線トモグラフィー法を適用することで，この構造体を構成するサブユニットの立体配置の解明を目指した。具体的には，ゲッキツ上で飼育した半翅目昆虫ミカンキジラミ(*Diaphorina citri*; キジラミ上科，キジラミ科)を解剖し，*Profftella* を収納する共生器官「バクテリオーム（bacteriome: 菌細胞塊）」より常法により樹脂包埋試料を作製し，得られた厚さ 1 μm の厚切り切片を，生理学研究所に設置されている超高圧電子顕微鏡 H-1250M による電子線トモグラフィー解析に供し，*Profftella* 細胞内のチューブ様構造について高分解能３次元立体構造解析を行った。

その結果，これまでは単に厚さ約 100 nm の均質な構造と思われていたチューブ構造の壁は，実際は 5 本ない

し6本の繊維構造（プロトフィラメント）により構成されていることがわかった。また，昨年度の解析ではプロトフィラメントはゆるい左巻きらせんを示すようにねじれて配向していると推定していたが，実際は下図で示すように，右巻きらせんを描いていることがわかった。

Proffiella の細胞内部に見いだされたチューブ様微細構造体の粘土模型。超高圧電子顕微鏡を用いた立体構造解析により、このチューブ構造は直径約 200 nm であり、その壁は右巻きらせんを描き、ねじれて配向する 5 本ないしは 6 本の直径約 100 nm のプロトフィラメントから構成されていることがわかった。

3. 組織化学的手法を応用した細胞小器官の三次元構造観察

臼田信光（藤田保健衛生大学 医学部），野田　亨（藍野大学 医療保健学部）
森山陽介（藤田保健衛生大学 医学部），村田和義（自然科学研究機構 生理学研究所）

超高圧電子顕微鏡により細胞構造を観察する際，組織化学的染色により電子密度高く標識を行い細胞小器官の立体構造を効率よく観察し，さらに連続ブロック表面走査型電子顕微鏡 SBF-SEM の併用により，細胞全体についての 3 次元構造観察に進めることを計画した。ペルオキシゾーム，ミトコンドリアについて超高圧電顕観察を行ってきたが，本年度は Golgi 装置について，肝細胞・膵臓腺房細胞・小腸吸収上皮細胞と培養細胞を材料として検討した。組織化学の方法としては，免疫組織化学（mannosidase, TGN）とともに古典的還元オスミウム法（ZIO）法を行った。これら標本について超高圧電顕観察を行ったところ，染色の均一性と反応産物のコントラストの高さの視点から，肝臓の ZIO 染色標本の観察に注力した。

【材料と方法】ラット肝組織をグルタルアルデヒド固定後，ZIO染色液で染色し，脱水，樹脂包埋した。1 μm切片を光学顕微鏡で，0.1 μm切片を通常電顕（JEM1010　加速電圧100 kV），2-5 μm切片を超高圧電顕（H-1250M　加速電圧1000 kV）で観察し，同一樹脂ブロックをSEM用標本台に装着し，SBF-SEM（3View2-Marlin　加速電圧1.2 kV）で切削表面から反射電子像を捉えて画像取得し，連続断面像から肝細胞の三次元構造を再構築した。

【結果】光顕では，黒色の反応産物が核と毛細胆管の近傍に観察され，通常電顕観察により，層板の構造から Golgi 装置であることが確認された。超高圧電顕によると，一部の Golgi 装置は核から毛細胆管まで大きく連続した構造として観察された。開始した SBF-SEM 観察では，透過型電顕像と同等の分解能とコントラストで画像が得られ，肝細胞全体における Golgi 装置の配置が明らかになりつつある。

【結論】ZIO 染色は電子密度高く Golgi 装置を標識した。超高圧電顕とともに SBF-SEM を併用する観察において，組織化学的な染色法が細胞小器官の 3 次元構造観察に有用であることが示された。

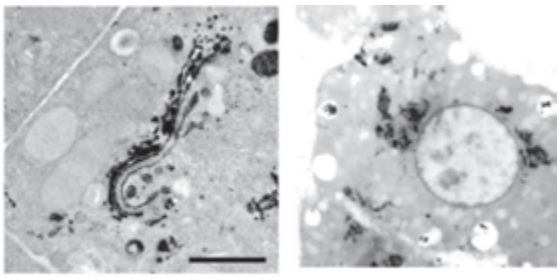


図 1　図 2

肝細胞を ZIO 染色を行い電顕観察を行った。図 1：通常電顕写真（切片厚 0.1 μm，観察倍率 30,000 倍，バー：1 μm），図 2：超高圧電顕写真（切片厚 2 μm，観察倍率 10,000 倍）。

4. 網膜と視覚野ニューロンの電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応

日髙　聰（藤田保健衛生大学医学部生理学教室）
村田和義（形態情報解析室），南部　篤（生体システム研究部門）

脳神経系で電気シナプスの機能に着目し，網膜神経節細胞間のギャップ結合と視覚野ニューロンでのギャップ結合の微細形態と電気シナプスの生理機能との関係を調べた。生後間もないラットの視覚野・錐体細胞で電気生理学実験の時に Lucifer Yellow や Neurobiotin を注入して発色すると樹状突起間のギャップ結合による接触形態を解析できる。また小型のサル・コモンマーモセットの網膜や視覚野ニューロンの細胞形態とギャップ結合の微細形態を調べ，その結果をげっ歯類のものと比較すれば，霊長類の神経系での電気シナプスの生理機能を探索できる。

生後 10 日のラット視覚野の錐体細胞間で，電気生理学実験から電気シナプスの機能を解析し，Lucifer Yellow を注入して発色した所, Lucifer Yellow で染まった錐体細胞群が観察された（図 1）。同型の細胞が樹状突起で接触していた。そこでのギャップ結合の存在の有無を超高圧電子顕微鏡で調べている。また，生後 7 ヶ月のコモンマーモセットを灌流固定し，網膜と脳組織を摘出して，網膜と視覚野におけるギャップ結合の構造を超高圧電子顕微鏡で解析することが本研究の目的である。ギャップ結合細胞間チャネルの形態構造を観察するために，コモンマーモセットの網膜と脳組織をエポン樹脂に包埋し，厚さ 1 μm 切片を作成し，1,000 kV の加速電圧で超高圧電子顕微鏡下で観察した。超高圧電子顕微鏡の試料ステージの傾斜によって 2º づつ +60º で撮影し，**IMOD** プログラムを用いてその立体再構成を行って，コモンマーモセット視覚野の錐体細胞の形態を解析した。コモンマーモセット視覚野の錐体細胞の形態が超高圧電子顕微鏡で観察された（図 2）。またギャップ結合蛋白 connexin36 の細胞内ドメインに対する抗体（Hidaka et al., 2004）を利用して, 抗体反応性を調べた結果, コモンマーモセットの網膜と視覚野でギャップ結合の存在を示すギャップ結合斑 puncta が観察された。ギャップ結合斑 puncta を超高圧電子顕微鏡で調べ，コモンマーモセットの網膜と視覚野とでギャップ結合の存在を実証して行く。

参考文献：Hidaka, S., Akahori, Y. and Kurosawa, Y. (2004) ***Journal of Neuroscience*** Vol 24 (No 46): pp 10553 – 10567.

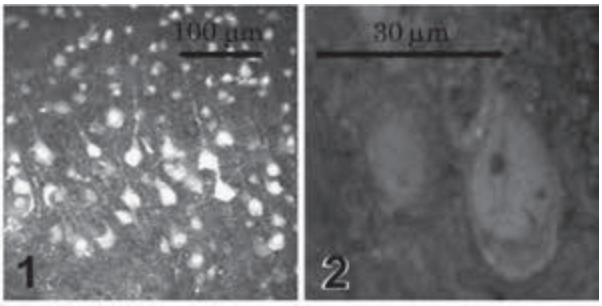


図 1.　Lucifer Yellow で染まった生後 10 日ラット視覚野の錐体細胞のレーザー共焦点顕微鏡像。
図 2.　生後 7 ヶ月のコモンマーモセット視覚野の錐体細胞の超高圧電子顕微鏡像，厚さ 1 μm 切片，加速電圧 1,000 kV。

5. 超高圧電子顕微鏡観察法によるタンパク質巨大分子複合体の形成機構の解明

増村威宏，佐生　愛（京都府立大学大学院生命環境科学研究科）
宋　致宏，村田和義（生理学研究所）

【目的】

イネ種子形成過程では，複数の疎水性タンパク質・プロラミンを集積する難溶性のプロテインボディタイプ I（PB-I）と，酸・アルカリ可溶性のタンパク質・グルテリンをブロック状に集積するプロテインボディ II（PB-II）が同一の胚乳組織内部で形成されるが，その形成機構には不明な点が多く残されている。本研究では，超高圧電子顕微鏡解析手法を取り入れて，植物種子が作り出すタンパク質巨大分子複合体・プロテインボディの構造を明らかにすることで，その構造上の特徴，および複合体の

形成機構を明らかにすることを目的とした。

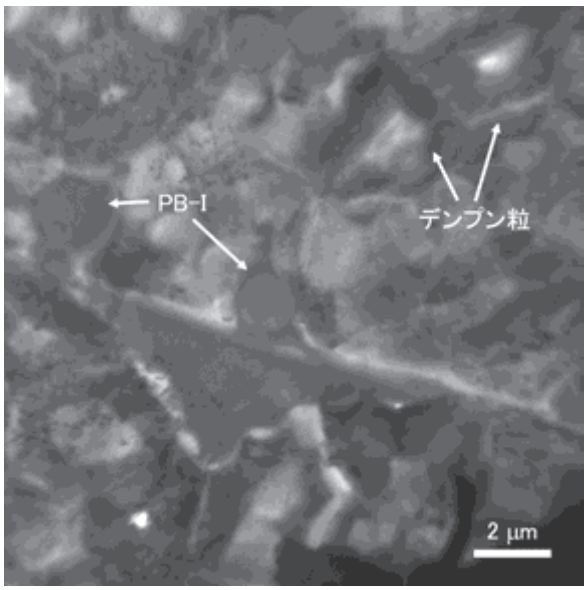
【方法】

植物用に改変した SBF-SEM 観察用 OTO 法（27 年度に報告済）で電子染色を施し LR White で樹脂包埋した日本晴イネ種子サンプルを用いて，厚さ 500 nm の切片を作製してグリッドに乗せた。切片の表裏両面を 2% 酢酸ウラニル溶液で 2 時間ずつ染色し，超高圧電子顕微鏡を用いた観察を行った。

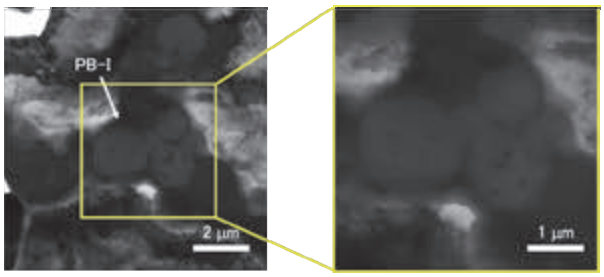
【結果】

観察の結果，角張った形態のデンプン粒と球状顆粒の PB-I は判別可能であったが，PB-II は正確に判別することが難しかった（図 1）。球状構造を示す PB-I について拡大して観察を行った（図 2）。通常の透過型電子顕微鏡で見られるような電子密度の低い球状顆粒が観察されたが，観察視野中に見られたほとんどの PB-I は明瞭性が欠けており，PB-I に特徴的な内部の層状構造の詳細な観察を行うことは困難だった（図 2）。

今回の観察では，構造物の明瞭な像が得られず，また PB-I 内部の詳細な構造は残念ながら観察出来無かった。この原因として挙げられるのは，サンプルの固定剤の選択と包埋の樹脂の種類の選択である。当研究室では，通常の透過型電子顕微鏡を用いており，今回の試料も免疫電子顕微鏡観察に特化したサンプル調製法である，パラホルムアルデヒドのみの固定を行った後に LR White による包埋を行っていた。超高圧電子顕微鏡観察で明瞭な形態観察像を得るには，グルタールアルデヒドと四酸化オスミウムによる固定や，Suppr low viscosity embedding kit 等のエポキシ樹脂を用いた樹脂法埋法を行う必要があると考えられ，今後改善が必要であることが判った。



（図 1）超高圧電子顕微鏡を用いた胚乳組織観察像



（図 2）PB-I の拡大像

6. 原生生物タイヨウチュウ類の微小管調節機構の解明

安藤元紀（岡山大学大学院教育学研究科）
池田理佐（岡山大学大学院環境生命科学研究科）
ソン チホン，村田和義（生理学研究所）

タイヨウチュウの微小管束を内包する軸足は，急速な収縮・再伸長を示す場合があり，その速度は，一般的な微小管の脱重合・重合のしくみでは説明できないほど急速である。我々はタイヨウチュウにおけるこのユニークな細胞運動系に着目して解析を行ってきた。これまでの解析から，タイヨウチュウの軸足直径は 100 nm 以上の厚みがあり，従来の透過型電子顕微鏡観察では，1 個体の細胞体に着目して軸足微小管動態の全体像を明らかにすることは困難であった。本研究では超高圧電子顕微鏡を用いてタイヨウチュウの微小管とその修飾タンパク質を含む三次元構造解析を行うことを目的とした。

超高圧電顕用サンプルとして *Actinophrys sol* および

Polyplacocystis contractilis の２種類のタイヨウチュウを用いた。それらの生物を遠心後，グルタルアルデヒドおよびオスミウムによる二重固定後，脱水，樹脂包埋した。300 nm の厚さで超薄切片を作成し電子染色後，超高圧電子顕微鏡を用いて観察を行った。

どちらのサンプルにおいても軸足微小管束を観察できたが，立体構築像の取得には至らなかった。その原因のひとつとして，立体構築を行うのに十分なコントラストを有していなかったことが考えられる。

今後，試料作製時にブロック染色を適用することで，立体構築可能な試料を作製していく。また，2 種類のタイヨウチュウそれぞれに対して軸足収縮・伸長を保持した固定を行い，軸足収縮前後における微小管動態を比較していく予定である。

7. コンピュータトモグラフィー法によるラット脊髄神経化学解剖の 3D 解析

坂本浩隆，高浪景子，越智拓海，佐藤慧太（岡山大学・大学院自然科学研究科・理学部附属臨海実験所）
村田和義（生理学研究所・脳機能計測センター・形態情報解析室）

我々はこれまでに，脊髄（腰髄）に存在する gastrin-releasing peptide（GRP）ニューロン系が雄優位な脊髄内局所神経ネットワークを構築し，勃起，射精などの雄の性機能を調節していることを見出した（Sakamoto *et al*., 2008, ***Nature Neuroscience***）。さらに我々は，GRP ニューロンから球海綿体脊髄核や仙髄副交感神経核への投射について，超高圧電子顕微鏡を用いたコンピュータトモグラフィー・三次元立体再構築法により超微形態学的に明らかにしてきた。（Sakamoto *et al*., ***Endocrinology***, Oti *et al*., 2012, ***Histochemistry and Cell Biology***）。

2007 年，同じ脊髄内ではあるが，異なるポピュレーションの GRP ニューロンが痒み感覚を特異的に伝達することが報告された（Sun and Chen, 2007, ***Nature***）。一方，我々は，超高圧電子顕微鏡に連続表面走査型電子顕微鏡で用いられる特殊な重金属染色法を応用することで，シナプス構造，ミトコンドリアや細胞膜といった細胞内構造を明瞭に観察することに成功している。今回，この手法を用いた超高圧電子顕微鏡コンピュータトモグラフィー法により，痒み感覚を司る神経ネットワークの解析を試みた。その結果，ラット頸髄後角表層の，GRP 免疫陽性ニューロン軸索終末において，シナプス構造とそれを介して接続する樹状突起が三次元的に観察された（図）。これらの成果を第 57 回日本組織細胞化学会 総会・学術集会シンポジウム「組織細胞化学を用いた神経系研究の up-date： 分子・神経内分泌動態の組織細胞化学的可視化」において発表し，好評を博した。

今後は，痒みの伝達機構を明らかにするために，生理的に痒みを誘発した際，脊髄後角 GRP 神経軸索終末の微細構造変化をコンピュータトモグラフィー・三次元立体再構築法を用いて，解析を進めていく予定である。

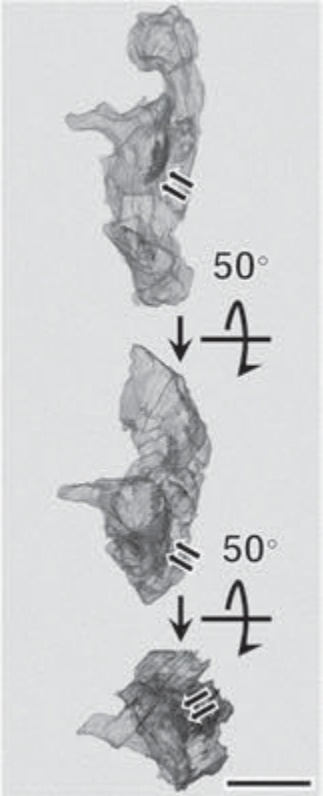


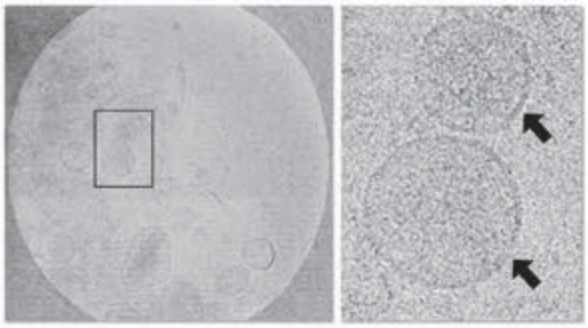
図: ラット頸髄後角表層に観察されたシナプス構造の立体再構築像。GRP 免疫陽性反応を起点として，コンピュータトモグラフィー法による三次元再構築を行った。その結果，GRP 免疫陽性を示す軸索と樹状突起によって形成されるシナプスが三次元的に可視化された。（スケールバー ＝1 μm）。

8. 低温超高圧電子顕微鏡法を用いた CD38 の *in situ* 膜局在の解明

高浪景子，坂本浩隆，越智拓海，佐藤慧太（岡山大学・大学院自然科学研究科・理学部附属臨海実験所）
村田和義（生理学研究所・脳機能計測センター・形態情報解析室）

オキシトシン分泌の制御分子候補として，リンパ球の増殖を活性化する膜タンパク質である CD38 の関与が報告されている（D. Jin *et al*., 2007, *Nature*）。CD38 は細胞膜上に存在し，ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD）からサイクリック ADP リボース（cADPR）を合成する。合成された cADPR は，小胞体膜上に存在するリアノジン受容体に結合し，小胞体からのカルシウム流出を促し，オキシトシンの開口分泌を誘導するものと考えられている。しかしながら，オキシトシン・ニューロンにおける CD38 の *in situ* 膜局在は不明である。そこで本研究では，低温超高圧電子顕微鏡（電顕）法を用いて，CD38 の *in situ* 膜局在を明らかにすることを目的とする。

研究代表者のラットを用いた予備的な免疫電顕，および生化学的な解析から，CD38 はニューロン細胞体の膜構造に加えて，オキシトシン分泌顆粒の膜上にも存在する，という非常に興味深い結果を得ている（投稿準備中）。本研究では，ラット視床下部−下垂体系における CD38 の *in situ* 膜局在について低温超高圧電顕法を用いて 3 次元的に解析する。まず，限外ろ過法によりオキシトシン・ニューロンに由来する分泌顆粒画分サンプルを調整する。本サンプルを低温電顕で観察してみた結果，分泌顆粒まるごとを単離サンプルとして効率良く観察することに既に成功した（図参照）。今後は，精製サンプルに対して CD38 免疫染色（2 次抗体にコロイダルゴールドを使用）を施し，氷包埋後，超高圧電顕下，連続傾斜像を撮影し，トモグラフィー解析に供する予定である。これらの解析から，ラットにおける CD38 の *in situ* 膜局在とその 3 次元的なタンパク質・配置について考察する。本研究ではさらに，*ex vivo* で高カリウム刺激を行った直後に同様の解析を行い，開口分泌の際，CD38 の *in situ* 膜局在が変化するかどうかも検討したい。



図： ラット下垂体後葉から単離した‘分泌顆粒まるごと’の低温電顕像（未固定，無染色，氷包埋）。

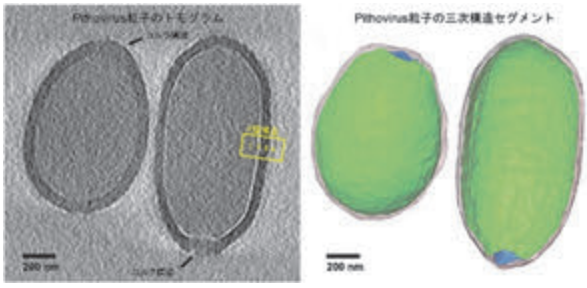
9. 超巨大アメーバウイルスの内部構造解析

岡本健太，Hemanth KN Reddy，Martin Svenda（ウプサラ大学）
Chihong Song，宮崎直幸，村田和義（自然科学研究機構 生理学研究所）
Chantal Abergel，Jean-Michel Claverie（エクスマルセイユ大学）

単細胞生物であるアメーバに感染するウイルスは，細菌に匹敵する超巨大な構造と遺伝子を持つ。巨大ウイルスが持つ遺伝子の一部は，古細菌，真核生物，真正細菌のそれぞれから獲得したと考えられる。その一方で，大部分の遺伝子はどの生物ドメインやウイルスとも相同性がなく，新たな第 4 の生物ドメインを形成するという報告もあり，生物の根幹を知る上で重要な研究対象である。また，巨大ウイルスは，従来のウイルスの定義を覆すような，様々な酵素を自ら発現している。これら巨大ウイルスは多種多様な蛋白質で構成されていることが報告されている一方で，自身の粒子にどのような構造物を含有しているかは未知であった。しかしながら，これらのウイルス粒子は 700 nm を超える厚みを持っており，標準的なクライオ電子顕微鏡では電子線の透過性の限界により内部構造を解析することが困難であった。

本共同研究では，巨大アメーバウイルスである正二十

面体様の Mimivirus と卵形の Pithovirus sibericum を超高圧顕微鏡の電子線透過率とトモグラムによる三次元構築により，未知の内部構造を解き明かすことを目的にした。その結果から Mimivirus と Pithovirus sibericum の三次構造をはじめて構築する事に成功した（論文投稿中）。Pithovirus は，非常に柔軟な四層構造に覆われており，その先端は特徴的な周期構造を形成していた。遺伝子が局在している領域には，シングルコピーの遺伝子だけでは説明できないほどの密度の物質で充填されていた。また，位相差クライオ顕微鏡の解析から，粒子内部には細胞のように膜により区分けされている可能性が示唆された。このような巨大ウイルスの構造的な特徴は，ウイルスと細胞の境界を曖昧にしていた。また，ウイルスとは何かを再定義する必要性に一石を投じる結果となった。



10. 3D reconstruction of cells generating melanin

Choi Hyosun，Boram Kim，Mun Ji Young（Eulji University）

There is a global trend of increase in demand for 3 dimensional electron microscopy (3DEM) based on molecular resolution. In this study, currently available 3D reconstruction techniques of electron microscopes (electron tomography, serial section analysis) were used to study the melanosome transfer of hyper-pigment disease in human skin.

Melanocytes in skin are cells that synthesize and store the melanin pigment in unique membrane bound organelles termed melanosomes. They transfer their melanin to surrounding keratinocytes. With the help of its dendritic projections, each melanocyte provides melanin to approximately 36 keratinocytes. After transfer, melanin is transported to the apical face of the keratinocyte nucleus, where it protects against UV damage. This symbiotic system is called the epidermal melanin unit. However, the actual transfer of melanosomes into keratinocytes and the keratinocyte-melanocyte interactions during the transfer process are not well characterized (Van et al., 2006). The possible mechanism of melanosome transfer can be divided to endocytosis, cytophagocytosis, Shedding phagocytosis, and membrane fusion (Wu et al., 2014). In this study, we observed serial images of epidermal melanin unit to characterize melanin transfer mechanism.

As methods for serial section electron microscopy, serial block face scanning election microscopy (SBF-SEM) technique, which automatically block-face imaged with a diamond knife placed inside SEM (3VIEW and Volume scope) or with focused ion beam SEM (FIB/SEM) were used. In our results, we showed each techniques (3VIEW, VS, and FIB) are useful for study of melanocytes in biopsied human skin. 3VIEW and VS showed advantage for observing whole epidermis layer, and FIB was good for narrow specific area. Through 3D reconstruction of melanocyte and adjacent keratinocyte, we supported endocytosis theory in human tissue. And then, 61 serial images between melanocytes and keratinocytes were obtained at 2° degree intervals in JEM2200FS (JEOL, Japan, installed at NIPS), and alignment and tomogram were carried by ETOMO. In the tomogram, we could investigate whether the melanosome between melanocyte and keratinocyte has a membrane or not. The membrane is expected to be phagocytosis (Wu et al., 2014), and if the membrane is not shown in the melanosome, it would support endocytosis theory. In this study, it is characterized to be endocytosis because the membrane is not visible in the tomogram (Figure 1).

Our result will help to unravel the mechanisms behind a wide range of human pigmentary disease, seborrheic keratosis in which melanin transfer is maximized, will be investigated for further work.

Reference

1. Van D K et al., 2006. The quest for the mechanism of melanin transfer. Traffic 7(7):769-78.

2. Wu X and Hammer JA. 2014. Melanosome transfer: it is best to give and receive. Curr Opin Cell Biol.29:1-

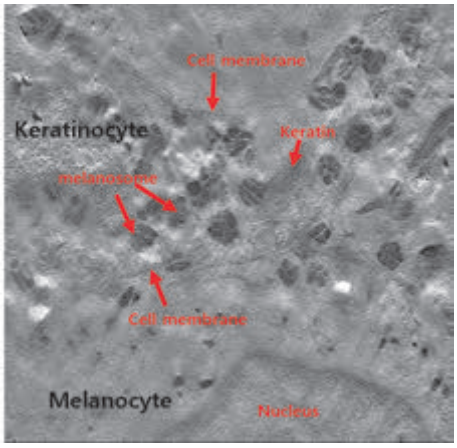


Fig. 1. One section from tomogram of human epidermis. Tomogram images were processed by ETOMO to reveal whether the melanosome between melanocyte and keratinocyte has membrane or not. The melanosome without membrane supported endocytosis theory for melanosome transfer.

【生体機能イメージング共同利用実験報告】

生体機能イメージング共同利用実験報告

〔 目　　次 〕

1. マカクザルの脳構造撮影 234
2. 運動イメージの形成に関わる神経機構の解明 234
3. 温熱感覚に関わるヒト脳の時空間的神経ネットワークの解明 235
4. 注意と物体認識に関する脳磁場信号の計測 235
5. 共同運動課題時の複数名同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る 236
6. オキシトシンによる食欲調節 237
7. 社会的接触による感情的サポートの神経基盤の解明 237
8. 温熱的快適感の脳内形成機序の探索 238
9. 表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤 239
10. オノマトペ自動生成システムで作成された言語音による脳活動計測 240
11. クロスモーダルな感覚情報の脳内表現様式の解明 240
12. 語用論的解釈の神経基盤ー発話における意図的不調和の処理過程に着目して 241
13. 共感性と情動の相互作用にかかわる脳内機構 242
14. スポーツと脳構造 243
15. トレーニングとコンディショニングによる脳構造の変化 243
16. 脊髄損傷後の非ヒト霊長類の中枢回路の大規模再編過程の 7T MRI による解析 244
17. 視線を介した対面相互作用の実時間性が学習に及ぼす影響： ２個体同時計測 MRI を用いた検討 244
18. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明 245
19. 社会的疲労の神経基盤研究 245
20. 課題成功率向上のための呼吸活動依存的な脳内メカニズムの解明 246
21. 聴性定常反応に及ぼす音刺激変化の影響 247
22. MEG を利用した聴覚時空間的脳活動の検討 247
23. 脳磁図による運動視知覚の神経基盤の解明 248
24. 耳鳴り患者における聴覚誘発脳磁場反応の周波数特異性 249
25. 脳波・脳磁場計測による単語処理過程における形態素の役割の検討 249
26. MRI を用いた大脳基底核新経路の検証 250
27. 神経アミノ酸マッピングのための化学シフトイメージングの確立 251
28. 眼球運動の機能的ネットワークの解析 251
29. ヒト視覚警報野の発見と機能・構造の解明 252
30. 直管ファントムを用いた 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の基礎的検討 252
31. 双方向性計測操作による発振現象の理解のための非ヒト霊長類動物モデルの開発 254

1. マカクザルの脳構造撮影

鯉田孝和（豊橋技術科学大学 エレクトロニクス先端融合研究所）
小松英彦，郷田直一（生理学研究所 感覚認知情報研究部門）

提案代表者は，視覚認知に関わる神経基盤を理解するために，覚醒下マカクザルから脳神経細胞の活動を記録する実験を行っている。

提案代表者が開発している神経電極，豊橋プローブをサルの脳に慢性留置するにあたって，電極の位置や大脳皮質の組織変化を捉える必要がある。大脳皮質との位置関係を観察するためには MRI での計測が好ましい。ただし，MRI では金属を含む物質の計測はアーティファクトを引き起こし画像に歪みが生じるという問題がある。歪みを減らすためには，電極や配線，コネクターの材料の選定と，頭部に設置する際の位置関係が極めて重要な問題になる。そこで本年度はどのような材質をどの程度の量用いるとアーティファクトが深刻になるか検討を行った。

開発している電極には，直径 5 μm の Si の骨格ならびに 1mm 角の平面基板に Ti, Pt のメッキ処理が施され，先端には Pt をボーラス状に加工したプラチナブラックがとりつけられている。これらは 1 μm 以下の厚さのメッキであることから質量は小さく影響は最小限であることが予想される。ワイヤーは直径 50 um の白金線を用いる。コネクター部位は複数の候補があり，フィルムケーブルを接続するヒロセ FPC コネクタ，オスメス型の微細ポートを持つ omnetics，IC チップに広く用いられる 2.54 mm ピンコネクタがある。以上のデバイスを MRI 装置内で測定しアーティファクトがどれだけ生じるかを定量的に見積もるための疑似脳（ファントム）の準備と設置方法，さらに MRI 撮像シーケンスについて議論を行い，計測可能な段階にまで進めることができた。今後引き続きデバイスの MRI 計測ならびに，動物に埋め込んだ状態での計測を予定している。

2. 運動イメージの形成に関わる神経機構の解明

和坂俊昭（名古屋工業大学）

運動イメージ時は，運動遂行に関連する多くの脳領域が活動するが，実際の身体部位の運動が表出しない脳内における内的な運動の遂行である。この時，イメージ内の運動に対して運動の行為主が自己であるという運動主体感を感じている。運動主体感の形成には，筋を収縮させるための運動情報と，身体部位からの感覚情報の統合が重要である。しかし，運動イメージ時には感覚情報が存在しない。そこでイメージする運動に関連する感覚方法を補助的に提示してやりながら，運動イメージを行うことで，運動イメージの形成に対してどのような効果があるのかを脳機能計測を用いて調べた。

運動イメージと実際の運動遂行における感覚情報の働きを調べるために，脳磁図を用いて様々な指の運動時における体性感覚領域の活動を測定した。運動条件は，手掌の上で 2 個のボールを時計回りに回転させるボール回し条件，手掌上のボールを握る条件，グーとパーをくりかえる条件，ボールを持たずにボールを持っているように指を動かす条件であった。これまでに筋収縮時の一次体性感覚野の活動は減少することが報告されているが，手掌上でボールを回転させるボール回し条件においては，その活動が他の手指の運動条件と比較して有意に増大することが明らかとなった。この結果は，手指の巧緻的運動では，運動の制御に対する体性感覚系の働きが，単純な運動とは異なっていることを示唆している。そこで，このボール回し課題における運動イメージについて検討した。

ボール回しの運動イメージ時に，あらかじめ撮影していたボール回しの映像と触覚刺激を与えて運動イメージをすることを繰り返すと，運動イメージ時の α 波の脱同期化が増大することが明らかとなった。以上のことから，運動イメージ時に感覚情報を補助的に提示することで，運動イメージに関する脳領域を強く賦活し，運動イメージの促進を促す可能性が示唆された。

3. 温熱感覚に関わるヒト脳の時空間的神経ネットワークの解明

中田大貴，芝﨑　学（奈良女子大学 研究院生活環境科学系）

Medoc 社製の PATHWAY という温冷刺激装置を用い，温熱刺激と痛覚刺激に関する脳反応を計測した。被験者 12 名（平均 21.8 歳）を対象として，脳波誘発電位を記録した。皮膚表面温度として 30℃，35℃，40℃をそれぞれベースラインとし，そこから 41℃の温熱刺激を与える「Warm 条件」，30℃，35℃，40℃のそれぞれのベースラインから 46℃の温熱刺激を与える「Hot 条件」，30℃，35℃，40℃のそれぞれのベースラインから 51℃の温熱痛覚刺激を与える「Pain 条件」とした。30℃，35℃，40℃のベースラインは，それぞれ 30℃課題，35℃課題，40℃課題とした。各課題とも 5 刺激とし，3 課題あるので，計 15 刺激を 1 セットとした。1 つの条件につき，4 セットを行った。刺激の際に主観的な温かさ・痛みを Visual Analogue Scale にて評価してもらった。脳波は Cz から記録し，解析対象は刺激後 180-750 ミリ秒で記録される N2 成分のピーク潜時，380-1400 ミリ秒で記録される P2 成分のピーク潜時，ならびに N2 成分と P2 成分の差分を表す N2-P2 成分の振幅とした。それぞれの指標に関し，分散分析を行った。

実験の結果，Pain 条件において，同じ 51℃の温熱痛覚刺激を与えているにも関わらず，N2-P2 成分の振幅は，皮膚表面温度が 40℃である 40℃課題において，30℃課題，35℃課題よりも有意に大きくなった（それぞれ $p < 0.001$）。しかし Hot 条件においては，皮膚の表面温度と N2-P2 成分の振幅には関係が無く，各課題での有意な差は認められなかった。Warm 条件では，皮膚表面温度が 40℃である 40℃課題において，N2 成分と P2 成分は検出できなかった。また，30℃課題，35℃課題において，N2-P2 成分の振幅の差が無く，各課題での有意な差は認められなかった。これらの振幅の大きさと Visual Analogue Scale は相関していた。Pain 条件における P2 成分のピーク潜時は，40℃課題の方が 30℃課題，35℃課題よりも有意に速くなった（それぞれ $p < 0.001$，$p < 0.05$）。

これらの結果から，51℃の温熱痛覚刺激が与えられる Pain 条件では，表面温度（ベースライン）が高いほど，脳反応が大きく，主観的な痛みも大きくなることが示された。その理由については現在のところ不明であるが，46℃の温熱刺激では見られなかったことから，痛覚特有の反応であると考えられる。また P2 成分の潜時も表面温度が 40℃の際に最も速くなったことから，表面温度は温熱痛覚の認知処理時間にも影響を及ぼすと考えられる。

4. 注意と物体認識に関する脳磁場信号の計測

野口泰基，喜多伸一，松本絵理子（神戸大学）

本研究課題の目的は，注意や物体認識に関する脳磁場信号の時空間的変化を明らかにすることである。本年度は主に視覚の物体認識に注目し，以下に挙げる 2 つの実験を行った。

(1) 視覚刺激の規則性処理に関わる神経反応の分析：

フラクタル図形や黄金比彫像など，特定の「ルール」や「規則性」に従って描かれた視覚刺激に対して，ヒトは心地よさや美しさを感じることが知られている。この現象の神経メカニズムを探るため，黄金比に基づいて構築された物体刺激と，そうでない刺激への脳反応を比較した。その結果，刺激の規則性（美的要素）の有無は最初に視覚腹側野（後頭葉→側頭葉経路）の神経反応に影響を与えたのち，数十ミリ秒後には視覚背側野（後頭葉→頭頂葉経路）の活動を変化させた。これらの結果は，腹側野から背側野へと投射する経路横断的な神経回路が，視覚刺激の規則性分析や審美的処理に重要な役割を果たしていることを示唆する（論文投稿中）。

(2) 運動準備中における時間錯覚の神経メカニズム：

近年の心理学・行動学的研究により，視覚と運動はその時間的側面において相互作用を起こすことが知られ

ている。つまり運動準備中に提示された視覚刺激の長さ（主観時間）は，そうでない時に提示された視覚刺激の主観時間よりも長く感じる。我々の直近の研究により，この時間錯覚は，運動準備に伴う注意や覚醒度の上昇では説明できないことも示された。そこで本計画では脳磁図の優れた時間分解能を活かし，この錯覚の神経メカニズムを調べた。その結果，視覚刺激の提示によって誘起された視覚性神経反応と，運動準備に伴う高次運動野からの神経シグナルが，時間感覚の形成を主導する内側前頭野（時間知覚領域）において相互作用を起こしていることが示された。視覚と運動の組み合わせ効果が第 3 領域（時間知覚領域）で生じていることを示す結果であり，時間錯覚を引き起こす新しい神経メカニズムを示唆する（論文準備中）。

5. 共同運動課題時の複数名同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る

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）

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共同運動課題では,「社会的手抜き効果」に代表されるような，理論的には決して効率的とはいえない集団特有の協応状態が形成される。これらの特性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，2 名での研究例は少数ながら存在するものの，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。本研究では共同課題時の複数名(最大 3 名)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，単純な力調整課題でも mentalizing system 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。我々の他の研究により，このような力調整課題においても 3 人になると社会性の影響が強くなることが示されているため，2016 年度は 3 台の MRI 装置を同期して駆動し，かつ 3 台の非磁性握力計からの信号を同期して記録する系の作成を試みた。

本年度は 1 台の 3T-MRI の不調により，当初計画を変更し，2 台の 3T-MRI と，別棟の 7T-MRI の組み合わせによる実験系への変更が必要となった。また，当初はインターネットを介して視覚刺激や開始信号の同期を行う予定であったが，インターネットの時間的制約や信頼性の問題から，想定よりもこの設定が困難であることが明らかとなってきた。これらの問題により，fMRI 測定の実施に関しては当初計画より遅れが生じているが，その間に実験課題やプロトコルの調整が進められ，2 人課題時に生じた疑問点や問題点も克服できるよう改善が加えられた。今後 3 台間の実験系の同期環境を整備し，2017 年度中に 3 者からのデータ取得, 解析を行う予定である。

6. オキシトシンによる食欲調節

矢田俊彦，中田正範（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）
小坂浩隆（福井大学こどものこころの未来発達研究センター）
吉本隆明，定藤規弘（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）

食行動には，エネルギー代謝調節を目的としたホメオスターシス系摂食行動と，食の嗜好性と快感に依存した報酬系摂食行動の二つがある。それぞれの食行動に関連する神経核も異なり，ホメオスターシス系摂食は視床下部により，報酬系摂食は腹側被蓋野および側坐核が関与する。近年の研究では，視床下部室傍核のオキシトシンニューロンは重要なホメオスターシス系摂食調節の重要な摂食抑制ニューロンである事が明らかになっており，オキシトシンの摂食抑制作用は肥満治療の点で臨床的に注目されている。オキシトシン点鼻治療の有用性は自閉症を含む精神疾患で明らかになりつつある。このことはオキシトシンが報酬系摂食の調節にも重要である可能性を示唆するものである。本研究ではオキシトシン点鼻による報酬系摂食の抑制効果の検証とその脳内作用メカニズムを解明する事を目的として，自然科学研究機構生理学研究所 MRI 装置を用いて，オキシトシン・プラセボを用いた cross-over design, 二重盲検法による fMRI 実験を健常・正常体重の成人男性の被験者に行った。

昨年度までに，実施した食欲の行動指標を用いた予備実験により，満腹時に食欲を起こす物をデザート，空腹時に食欲を起こす物を主食に分類し，それぞれを報酬系とホメオスターシス系の食欲の誘発食として規定した。昨年度に引き続き本年度は，3T MRI (Verio, SIEMES)を使用し検査データの集積を進めた。ボランティアで募集した試験者は，前日夕食時以降絶食の条件で，デザート/主食の写真/絵を見せて, それに対する脳の応答を, fMRI を用いて計測した。その後，オキシトシンまたはプラセボを点鼻投与し, 再度デザートおよび主食の写真/絵を見せて, それに対する脳の応答を, fMRI を用いて計測した。本研究は二重盲検法による投与を行ったため，投与情報の開示を行い，データの解析を行った。

本研究で，報酬系摂食調節に関連する神経回路の一部を明らかにした。さらにオキシトシン点鼻による報酬系摂食調節の抑制作用の有無を明らかにし，オキシトシン点鼻の抗肥満作用の解明に寄与した。

7. 社会的接触による感情的サポートの神経基盤の解明

荻野祐一（群馬大学・大学院医学系研究科）
川道拓東（群馬大学・医学部）
北田　亮（生理学研究所・心理整理学研究部門）

ヒト社会は, 他者との連関である社会的紐帯を基本単位として構成されている。社会的紐帯を介することで，ヒトは他者と社会的に触れ合うこと（社会的接触）ができる。社会的接触の重要な効果としては, 感情的サポートを通じて，自己が置かれた苦境を乗り越えることができること（Mikulincer et al., 2003）などがある。これは社会的接触により陰性感情反応が減弱することにより実現されると考えられる（Coan et al., 2006, Kawamichi et al., 2015）。

今年度，我々は，感情的サポートを行うための社会的接触として，個人間の身体的接触を取り上げ，その神経基盤の実験的検討を行った。実験においては，生理学研究所の Siemens 社製 3 T MRI を用いて，親密な関係にある男女ペア（交際関係：８組１６名，２０．３歳±０．３歳），あるいは，女性ペア（友人同士：９組１８名，２０．５歳±０．３歳）の身体的接触によって惹起される脳活動を計測した。

実験条件としては，ペアが身体的接触をする条件（P: Pair），および，ペアと同性の実験者が身体的接触をする条件（E: Experimenter）の二つを課した。この時に，実験参加者には知らせずに, 両条件ともに実験者が触れることで触れ方の違いはキャンセルアウトした。実験においては,

身体的接触により惹起される感情の主観的評価（７件法〔１：とても陰性，７：とても陽性〕）を実施した。

結果として，指先に触れた場合に，親密者による接触が有意に陽性感情を惹起することを確認した（男女ペア：E 条件: 4.6±0.2/P 条件: 6.0±0.2。女性ペア：E 条件：4.3±0.2/P 条件: 6.1±0.1）。今後は，本実験により得られた脳活動データの解析を加速し，社会的接触による神経基盤の解明を目指す。

8. 温熱的快適感の脳内形成機序の探索

永島　計（早稲田大学 人間科学学術院）
中田大貴（奈良女子大学 生活環境科学部）
原田宗子（広島大学大学院 医歯薬保健学研究院感性イノベーション拠点）
定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

1. 背景

温度に関わる感覚の客観評価，脳の責任領域の同定のために，機能的核磁気共鳴画像法（functional Magnetic Resonance Imaging; fMRI）が用いて実験を行なった。先行研究では温度感覚と温熱的・快不快感が異なる責任領域にある可能性が提示されている。しかし，前年度までに我々が行なった一連の実験では，末梢及び全身の温度条件，温度感覚の心理学的評価の違いによらず，局所温度刺激時に共通した脳領域が活動している可能性が示唆された。このため，今年度は，局所温度刺激実験を追加完了し，この実験仮説を検証し，研究を完成することを目標とした。

2. 方法

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

3. 結果・考察

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

興味深いことに，行動実験の結果では，全身を冷却した場合に局所温度と快感不快感の申告値は，高い相関を取ることにある（P<0.01）。この結果を元に解析すると，不快感に関しては，内側前頭前皮質や前補足運動野が，快感に関しては，前帯状回，線条体が関与している可能性が示唆された。

fMRI の解析では，全ての全身温度刺激を行なった実験を通して両側体性感覚野，左島皮質，内前頭皮質，縁上回，帯状回，内側前頭皮質を含む比較的広範囲な脳活動が見られた（図１）。

また，局所温度刺激では，右体性感覚野，両側の島皮質，中前頭皮質，帯状回，内側前頭皮質に脳活動が見られた。これらの領域は温度の質に関わらず，外界からの温度刺激そのものを処理する領域と判断された（図２）。

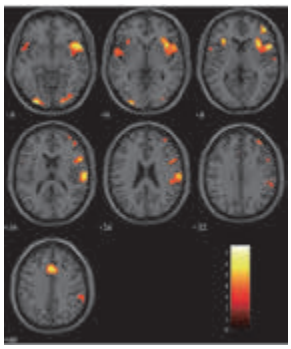


図 1

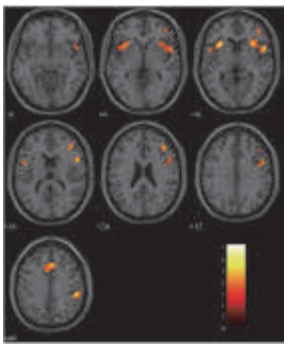


図 2

9. 表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤

田中章浩（東京女子大学 現代教養学部心理学専攻）
髙木幸子（常磐大学 人間科学部コミュニケーション学科）
田部井賢一（三重大学 大学院医学系研究科認知症医療学講座）
原田宗子（広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 感性イノベーション拠点）
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）

他者の情動を適切に知覚することは，円滑な社会的コミュニケーションをおこなう上で非常に重要である。Tanaka et al. (2010, Psychol Sci) は表情と音声の視聴覚統合様式に文化差があることを初めて明らかにし，日本人はオランダ人よりも声優位性が高いことを心理実験によって示した。本研究ではこの知見を踏まえ，日本人とオランダ人の実験参加者を対象に, fMRI を用いて視聴覚情動知覚の文化差の神経基盤を検討している。

1) 平成 27 年度までの研究概要

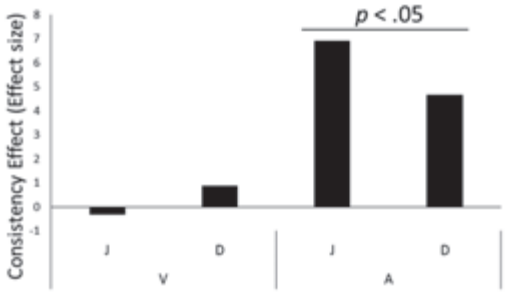
実験では日本人とオランダ人参加者に，視聴覚動画刺激（日本人およびオランダ人による喜びと怒りの情動表現）を提示し，顔と声の情動価（一致／不一致）を操作した。参加者は顔または声のいずれかに注意を向けて，2 肢強制選択（喜び／怒り）で情動を判断した。上記に加えて，視覚／聴覚単独提示の条件も設けた。

分析の結果，行動データは Tanaka et al. (2010)の先行研究と同様の結果を示した。そこで，この文化差が脳のどの領域の活動差に基づいて生じるのかを明らかにするため，イメージングデータの解析をすすめてきた。具体的には，左右の一次視覚野（BA17）と一次聴覚野（BA42）を関心領域とした ROI 解析を実施し，顔と声の情動価が不一致な刺激を呈示した場合, 文化によらず声に注意を向ける課題では視覚野の活動に, 顔に注意を向ける課題では聴覚野の活動に抑制がかかることが明らかになった。

2) 平成 28 年度の研究成果

平成 28 年度は，日蘭の文化差を生み出す神経基盤についてより詳細な知見を得ることを目的としてイメージングデータの解析をすすめた。具体的には一次視覚野（BA17）/一次聴覚野（BA42）/TVA/FFA を関心領域とした ROI 解析を実施した。分析では, 各領域における Effect size から一致性効果（不一致条件時の正答率から一致条件時の正答率を引いた値）を算出し，従属変数とした。分析の結果，文化差は声注意課題時の左一次視覚野および顔注意課題時の左一次聴覚野の活動において認められ，TVA および FFA の活動には差がなかった。こうした結果は, 不一致条件での活動抑制は BA17 や BA42 といった低次処理領域で生じ，このときの活動には文化差がみられるが，TVA や FFA といった高次処理領域では低次処理領域ですでに抑制された視聴覚情報を処理するために文化差が生じなかったと解釈できる可能性がある。

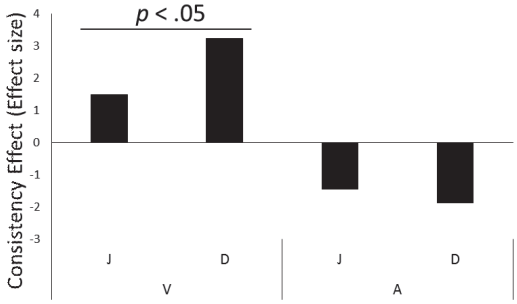
今後は，上述の可能性を踏まえ，日蘭の文化差を生みだす神経基盤についてより詳細な知見を得るために引き続きイメージングデータ解析をおこなう予定である。



Task (V: Visual (face) Task; A: Auditory (voice) task)

Figure 1. 一次視覚野(BA17)における課題および文化ごとの活動

Figure1には，課題および実験参加者の文化（J: 日本人; D: オランダ人）ごとのEffect Sizeから算出した一致性効果を示した。一次聴覚野においては，声注意課題時に顔から受ける影響には文化差があることが示唆された。



Task (V: Visual (face) Task; A: Auditory (voice) task)

Figure 2. 一次聴覚野(BA42)における課題および文化ごとの活動

Figure2には，課題および実験参加者の文化（J: 日本人; D: オランダ人）ごとのEffect Sizeから算出した一致性効果を示した。一次聴覚野においては，顔注意課題時に声から受ける影響には文化差があることが示唆された。

10. オノマトペ自動生成システムで作成された言語音による脳活動計測

坂本真樹（電気通信大学）

言語は，言葉の音素と意味の恣意的な結び付きにより成り立っているとされるが，「ブーバ・キキ効果」のように音と意味には，恣意性以上の何らかの関係性がある。この音と意味との関係性が音象徴（Sound Symbolism）である。近年，音象徴の脳内ネットワークについて調べる研究が行われるようになってきている。例えば，音象徴と視覚刺激の Interaction によって，その特性を検討する研究は行われてきている。しかし，音象徴と触覚刺激の Interaction を用いて，その特性を検討する研究は行われていない。そこで本研究課題の目的は，音象徴と触覚処理の Interaction が生じる神経基盤の同定である。

本研究では，触知覚の中でもとくに，硬さ／柔らかさに着目した。著者の研究室では，「きらきら」「さらさら」といったオノマトペ（擬音語・擬態語の総称）を，新奇語も含め，自動的に生成するシステムを保有している。本実験の準備として，このシステムを用いて，「硬い」が特徴的な新奇オノマトペと「柔らかい」が特徴的な新奇オノマトペを作成した。さらに，音韻を無作為に組み合わせた無意味語を作成した。予備実験によって，「硬い」新奇オノマトペは有意に硬い，「柔らかい」オノマトペは有意に柔らかい印象を人に与えることを確認した。同様に，無意味語は硬い／柔らかいについて顕著な印象を人に与えないことを確認した。また，空圧を用いて MRI 室外からシリンダーを制御し，被験者の指へ一定の圧力と時間で触素材を押し当てる刺激装置を作成した。最後に，硬さ/柔らかさが 4 段階に異なる素材を選定した。

右利きの健常者 67 名を対象に下記の 2 つの fMRI 実験を実施した。最初の実験では，触覚による硬さ分類に関わる神経基盤を同定するため，32 名が脳活動測定中に指に触れた素材の硬さ/柔らかさを分類した。その結果二次体性感覚野や島部の活動が硬さ/柔らかさに関連していることが分かった。次に，音象徴と触覚処理の Interaction に関わる神経基盤を同定するため， 35 名が脳活動を測定中に，触れた素材と見たオノマトペから感じる硬さ/柔らかさが一致するかどうかを判断した。この結果については現在解析を進めているところである。

11. クロスモーダルな感覚情報の脳内表現様式の解明

宮脇陽一，野崎　恵（電気通信大学 情報理工学研究科）
衞藤祥太（電気通信大学 情報理工学部）
神谷之康（京都大学情報学研究科）
高橋陽香，青木直哉，角谷基文，北田　亮，定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

感覚野の情報処理は，単一の感覚モダリティだけでは閉じず，視覚，聴覚，触覚などの複数の感覚器から得た情報が相互作用することにより，統一された知覚表象が獲得されている。このような異種感覚間の情報相互作用には，高等生物が生息環境に適応する過程で獲得してきた，複数情報を統合し補完する巧みな情報処理手法の普遍原理を理解するための重要なヒントが隠されているに違いない。そこで本研究では，機能的磁気共鳴画像（fMRI）計測法によってヒト脳活動を計測することにより，大脳皮質感覚野における異種感覚情報の相互作用および統合過程を調べ，ヒト脳内での異種感覚情報の表現様式を解明することを目的とする。

平成 28 年度では，昨年度から引き続き，触覚刺激情報のクロスモーダルな脳内表現について着目して研究をすすめた。昨年度までの研究により，示指，中指，薬指の三指先端部の同時触覚刺激時の脳活動計測実験を計 10 名の被験者に対して完了している。今年度はこれらの計測データの解析を多側面から進めた。具体的には，脳活動部位の同定に加え，マルチボクセルパターン解析として線形／非線形判別分析，サーチライト解析，表現類似度解析などを順次実施した。またマルチボクセルパターン解析に特化した体動成分の除去手法の開発およ

びその適用試験も行った。これと並行して，実験結果の公刊に必要な追加データの計測を実施した。

その結果，触覚刺激時における体性感覚野ならびに頭頂間溝の脳活動からは大部分の被験者において触覚刺激を予測することが可能であったにも関わらず，第一次視覚野の脳活動からは全ての被験者において触覚刺激を予測が不可能であった。この結果は昨年度までの実験ならびに一部の解析において確認していた結果と一貫しており，触覚刺激時における第一次視覚野の脳活動と触覚刺激の情報表現との関連性が低い可能性をより強く示唆する結果となった。以上の結果を体系的にまとめ，論文として公刊を行う予定である。

12. 語用論的解釈の神経基盤ー発話における意図的不調和の処理過程に着目して

松井智子（東京学芸大学国際教育センター）
内海　彰（電気通信大学大学院情報理工学研究科総合情報学専攻）
中村太戯留（慶應義塾大学環境情報学部）

語用論的な解釈をする際には，内側前頭前野および，扁桃体や尾状核などの皮質下領域が重要な役割を果たす可能性が報告されている（内山他, 2012）。内側前頭前野は社会性の認知と関連する可能性が指摘されている（Amodio & Frith, 2006）。扁桃体は，一般的には自動的な危険の予測と回避を司る部位と考えられているが，ネガティブな刺激のみならず，ポジティブな刺激にも関与することから，両者の共通点，すなわち主体にとって関連性のある情報かどうかの感知に関与している可能性が提案されている（Sander 他, 2003）。また，扁桃体は，関連性の感知をしながら，皮質ネットワークの連係を図っている可能性も提案されている（Pessoa & Adolphs, 2010）。

本研究は発話を構成する情報間の不調和の処理には，脳内の感情処理および認知処理のネットワーク間の協働が重要な役割を果たすと仮定し，非字義的な表現の語用論的解釈の神経基盤を検証することを目的とする。具体的には，(A)「皮肉における発話内容とプロソディの不調和処理の神経基盤を探る」と (B)「面白さを誘発する隠喩的表現における不調和処理の神経基盤を探る」の２つを進めている。

(A) 皮肉に関して，文字刺激を用いた研究では内側前頭前野や扁桃体の重要性が報告されている（内山他, 2012）。一方，音声刺激を用いた我々の昨年度までの結果では左下前頭前野が重要な役割を果たす可能性が示唆されている（松井他, 2016）。そこで，本年度は韻律という手掛かり情報の役割を探るための刺激の検討作業を進めた。具体的には，棒読みを韻律の統制条件として位置づけ，韻律がある場合とない場合との差の検討を目的とした刺激（図１）の作成作業を進めた。

(B) 比喩に関して，内側前頭前野と尾状核の重要性が報告されている（内山他, 2012）。一方，面白さを誘発する際には扁桃体が重要な役割を果たす可能性も提案されている（Vrticka 他, 2013）。そこで，本年度は皮質下領域が不調和解消において重要な役割を果たしている可能性を先行研究に基づいて検討する作業を進めた。

来年度は，これらの検討をもとに実験と解析を実施し，語用論的な解釈をする際に，どのような不調和処理の機制が関与するのかに関する考察を進める予定である。

引用文献

Amodio, D. M., & Frith, C. D. (2006). Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, **7**(4), 268-277.

Matsui, T., Nakamura, T., Utsumi, A., Sasaki, A. T., Koike, T., Yoshida, Y., Harada, T., Tanabe, H. C., & Sadato, N. (2016). The role of prosody and context in sarcasm comprehension: Behavioral and fMRI evidence. *Neuropsychologia*, **87**, 74-84.

Pessoa, L., & Adolphs, R. (2010). Emotion processing and the amygdala: from a “low road” to “many roads” of evaluating biological significance. *Nature Reviews Neuroscience*, **11**(11), 773-783.

Sander, D., Grafman, J., & Zalla, T. (2003). The human amygdala: an evolved system for relevance detection. *Reviews in the Neurosciences*, **14**(4), 303-316.

Uchiyama, H., Seki, A., Kageyama, H., Saito, D. N., Koeda, T., Ohno, K., & Sadato, N. (2006). Neural substrates of sarcasm:

a functional magnetic-resonance imaging study. *Brain Research*, **1124**(1), 100-110.

Vrticka, P., Black, J. M., & Reiss, A. L. (2013). The neural basis of humour processing. *Nature Reviews Neuroscience*, **14**(12), 860-868.

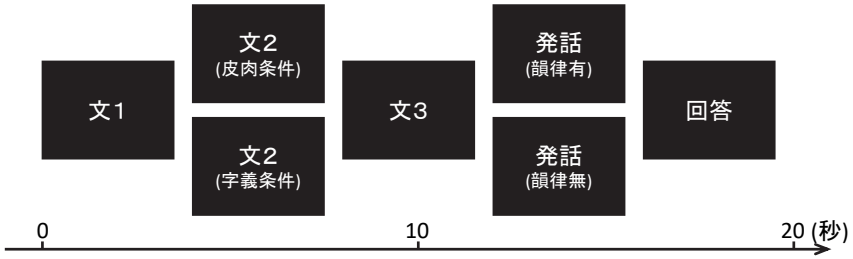


図１：韻律がある場合とない場合との差の検討を目的とした刺激構成(案)

13. 共感性と情動の相互作用にかかわる脳内機構

飯高哲也（名古屋大学・大学院医学系研究科）

自閉スペクトラム症（ASD）の症状として，共感性の低下や不適切な情動反応がある。ASD の病態解明には，共感性と情動の相互作用にかかわる脳内機構を探ることが重要である。安静時 fMRI により計測される脳活動は，その非侵襲性から ASD の脳病態をさぐる上で重要な手法である。本研究では米国の多施設共同研究より多数例の安静時 fMRI データを入手し，ASD と健常発達（CTL）の脳機能を解析した。

全部で 5 施設のデータ（すべて男性）を，MRI 装置の種類により 3 群に分割した。各群の被験者数は G 群 89 名(ASD/CTL, 44/45)，P 群 76 名(38/38)，S 群 79 名(45/34)であった。平均年齢（SD）は ASD 群が 11.1 (2.6)歳，CTL 群が 10.5 (2.5)歳であった。安静時 fMRI データは, SPM12 および DPARSFA を用いて前処理がなされた。さらに 90 個の脳領域から信号値の時系列データを抽出し，領域相互の信号値の相関係数を計算した。各被験者における相関行列に対して，サポート・ベクター・マシン（SVM）を用いた 2 群判別を行った。

2 群判別と特徴抽出の結果，4005 個の結合性のうち 24 個により ASD 群と CTL 群を高精度で判別できることが分かった。精度はそれぞれ G 群で 86%，P 群で 85%，S 群で 90%であった。複数の領域において，結合性の値は ASD の症状尺度得点（ADOS total score）と有意（$p<0.05$）な負の相関があった。

本研究では SVM を用いた判別と特徴抽出により, ASD と CTL を少数の結合性を用いて判別することが可能であった。その精度は MRI 装置の種類による差が少なかった。本研究結果は多施設共同研究におけるデータ解析の困難性を，低減することに貢献すると考えられる。今回の結果から前頭・側頭領域における半球間結合の障害が, ASD の脳病態の一つとして考えられた。症状評価尺度得点と結合性に有意な負の相関があることから，結合性の減弱が重症度と関連する可能性が示唆された。

今年度は下記の論文が発表された。

Pornpattananangkul N, Hariri AR, Harada T, Mano Y, Komeda H, Parrish TB, Sadato N, Iidaka T, Chiao JY, Cultural influences on neural basis of inhibitory control. Neuroimage, 139, 114-126, 2016

14. スポーツと脳構造

荒牧　勇[1]，宮原祥吾[2]，森戸勇介[1]，原田健次[2]，新海陽平[2]，彦坂幹人[1]
（[1]中京大学，[2]中京大学大学院）

近年，脳構造が運動・認知スキルや気質・性格と関連するという報告が相次いでいるが，スポーツと脳構造の関係を報告したものはあまりない。本研究は，スポーツ選手の脳の構造画像を 3 テスラ MRI で撮像し，スポーツと脳構造の関係を解明することを目的とし，様々なスポーツ競技種目の集団を対象に，競技特性，経験年数，競技内のポジション・種目別による脳構造の特徴を調べ，特定スポーツへの取り組みが脳構造の発達に及ぼす影響を明らかにする。今年度は，野球のピッチングのコントロール能力を説明する脳構造を明らかにすることを目標とした。

C 大学野球部のピッチャー9 名（右利き）に対し，的の中心点を狙った右投げ投球，左投げ投球をそれぞれ 30 球ずつ行わせた。右投げ条件，左投げ条件それぞれについて，的中心からの平均距離を計算した。

すべての被験者の T1 強調 MRI 脳画像を計測し，VBM 解析を行い，それぞれの条件の的中心からの距離と脳灰白質容積の相関を計算した。

その結果，右投げ条件においても，左投げ条件においても，的中心からの平均距離が小さい人ほど，つまり投球コントロール能力が高いほど，右頭頂葉の灰白質容積が有意に大きいことが明らかとなった。頭頂葉は，空間的な運動制御に重要な役割を果たす脳部位であるが，投球コントロール能力にも頭頂葉の発達が重要であることが示唆された。ただし，被験者数が 9 名と少ないことから，今後，被験者数を増やして本実験結果を検証する必要があると考えられる。

15. トレーニングとコンディショニングによる脳構造の変化

荒牧　勇[1]，森戸勇介[1]，宮原祥吾[2]，原田健次[2]，新海陽平[2]，彦坂幹人[1]
（[1]中京大学，[2]中京大学大学院）

近年，一定期間の運動介入が脳の構造を変化させることが報告されるようになった。例えば Erickson らは，高齢者の有酸素トレーニングが海馬の灰白質容積を増加させ，記憶機能を向上させることを示した（2011, PNAS）。本研究の目的は，どのような身体への介入が，どのような脳構造変化とそれに伴う脳機能変化をもたらすかについての知見を蓄積・整理し，脳の健康を維持・向上させるための手段を開発することである。このため，高磁場 MRI を用いて脳構造画像を計測し，脳局所の灰白質容積を調べる **Voxel-Based-Morphometry (VBM)** の手法により，様々なトレーニングやコンディショニングが脳構造をどのように変化させるかを明らかにする。今年度は姿勢制御系への影響が期待されるカスタムメイドインソールの一定期間の着用が，脳構造にどのような影響を及ぼすかを調べた。

被験者は 15 名の成人男性であった。各被験者の 3 次元足底計測を基にカスタムメイドインソールを作成し，1 か月間の着用を依頼した。1 か月のカスタムメイドインソール介入の前後に，重心動揺計による足圧中心動揺と T1 強調脳画像を計測した。

その結果，まず，重心動揺について，カスタムメイドインソール着用直後は，特に横方向の動揺が，もとから靴に入っていたインソール着用時よりも大きかった。これは不慣れなカスタムメイドインソールが姿勢制御系に悪影響を及ぼしたものと考える。しかし，1 か月のカスタムインソールの着用により，横方向への動揺は有意に小さくなり，新しいカスタムメイドインソールへの適応が見られた。一方で，T1 強調脳画像の VBM 解析の結果，姿勢制御に重要な役割を果たすとされる小脳中部の灰白質容積が，1 か月のカスタムメイドインソール着用により有意に増加していた。これは，新しいインソールに姿勢制御系を適応させるために小脳中部が関与し，その結果，小脳中部の灰白容積が増大したものと考えられる。

16. 脊髄損傷後の非ヒト霊長類の中枢回路の大規模再編過程の 7T MRI による解析

伊佐　正，Zenas Chao，岡田知久（京都大学大学院医学研究科）
當山峰道，定藤規弘（生理学研究所心理生理学研究部門）

マカクザルにおいて頚髄レベルで皮質脊髄路を損傷すると，手指の巧緻運動は障害を受けるが，訓練によって数週間で回復を見せる。我々の研究グループは，その回復過程において，脊髄だけでなく，大脳皮質運動関連領域，さらには側坐核などの辺縁系において大規模な回路の再編が起きることを陽電子断層撮影装置（PET）や皮質脳波（ECoG），局所電場電位の解析によって明らかにしてきた（Nishimura et al. Science 2007; Sawada et al. Science 2015）。しかし，それぞれの脳部位の機能を明らかにすることはできたものの，脳の大規模回路にどのような変化が起きているかは不明であった。そこで本研究では，皮質脊髄路損傷を受けたマカクザル（ニホンザル）の機能回復過程における麻酔下安静時 MRI データを高磁場 7T MRI で取得し，機能回復に伴う大規模回路の再編がどのように起きるかを解析することを計画した。しかし，7T 機でサルを撮影するためのコイルの導入が遅れたので，昨年度は，現在稼働中の 3T MRI（Allegra, SIEMENS）を用いて，麻酔深度の調整を含めた撮像条件検討を行い，日内及び日別撮像間で再現性の高いデータを得ることに成功した。その上で，上肢到達把持運動の訓練を行ったサル２頭に対して，第６/７頚髄間で亜半切を行い皮質脊髄路を損傷させて，継時的な行動評価と MRI 計測を行った。その内１頭は，損傷された神経細胞軸索の伸展を抑制する分子を阻害する抗体（RGM 抗体）の投与により，軸索の伸展ならびに機能回復を促した。その結果，RGM 抗体を投与されたサルは，コントロール抗体の投与を受けたサルに比べて，手指巧緻運動の回復が始まるのが早く，また４ヶ月後の回復到達度も高かった。今後は，サルの頭数を増やして，RGM 抗体投与群と非投与群の行動データ，ならびに MRI データを集積させ，比較解析を進めることで，脊髄損傷後の脳における大規模回路再編の詳細を明らかにする。

17. 視線を介した対面相互作用の実時間性が学習に及ぼす影響：２個体同時計測 MRI を用いた検討

板倉昭二（京都大学），佐藤　徳（富山大学）
浅田晃佑（東京大学），小池耕彦（生理学研究所）

他者と円滑に付き合う能力を社会能力と呼び，社会生活をおくる上で必須の能力で，言語性・非言語性のコミュニケーション能力を基盤とした高次脳機能と捉えられる。その萌芽過程として想定されている要素的機能のうち，アイコンタクト（見つめ合い）と共同注意は，乳児の言語学習の前提として注目されている。発達心理学的実験によると，相互作用の実時間性が重要であるとされているが，どのようなメカニズムで学習が促進されるのかは明らかではない。本研究では，アイコンタクトが音声学習に及ぼす影響の脳内機構を，成人を対象とした非侵襲的脳機能画像法を用いて解析することを目的とする。

そのための基礎実験として，34 名の健常被験者を対象に，2 台の高磁場磁気共鳴断層装置（静磁場強度 3 テスラ, Verio, Siemens）を用いて BOLD（Blood Oxygen Level Dependent）法による脳血流の２個体同時計測を行った。その際頭部用コイルを装着した状態で，被験者の目と口をビデオカメラにより撮影し，これをリアルタイムで相手被験者に提示した。遅延回路を用いてリアルタイム性を制御した対照条件と比較することにより，視線を介した対面相互作用の実時間性による神経活動変化を定量評価した。その際に，瞬きを含む目の動きの時系列データに対して２変数自己相関モデルを用いることにより，相手からの影響の強さを Noise contribution ratio（NCR）として定量した。

その結果，実時間性の消失する対照条件において NCR

は消失し，実時間性は視線の相互作用により担われていることが明らかとなった。一方小脳と前帯状回に実時間特異的な脳賦活を認めた。さらに前帯状回と前部島の間の機能的結合は，実時間条件において増強していた。salience network を形成する前帯状回と前部島は，小脳とともに，実時間性相互作用を表象するネットワークを形成すると考えられた。

18. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明

中村仁洋，麻生俊彦，石井　徹
（京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター）

睡眠と覚醒，意識と無意識の境界が如何にコントロールされているか，は脳科学領域に残された大きな課題の一つである。睡眠覚醒及び睡眠ステージの分類は 1968 年の R&K criteria 発表以来, 脳波所見を元に行われている。しかし，それら個々の脳波所見を生じる脳活動については未解明の部分が多く, 覚醒/睡眠を生み出す神経基盤や調節機構については未だ謎のままと言える。そこで本研究では，睡眠判定の gold standard であり高い時間分解能を有する脳波と, 高い空間分解能を有する MRI の同時計測手法を用い，覚醒から睡眠の各段階を調節する脳機能に迫ることを目的とした。

18-35 歳の健康な男女を対象として被験者募集を行った。当初夜間睡眠時に実験を行う予定としていたが，安全・検査体制について検討を重ねた結果，まずは午睡実験を行う計画に変更した。自然睡眠中の脳活動計測を 3TMRI（Siemen 社 verio）及び脳波計測装置（BrainProducts 社 BrainAmp）により行い，MRI の連続撮像は 1 時間を超えない範囲とした。長時間の身体固定や騒音等に起因する負荷が予測される為，MRI 禁忌事項につき十分問診を行うと共に，マットレス，耳栓・ヘッドホン等使用により負担を最大限軽減する工夫を凝らした。心拍呼吸数計測装置を用いて被験者の状態を常時把握し，常時医師が同席し不測の事態に備えた。

覚醒から睡眠 NREM stage1 に入る際の脳活動・脳内ネットワークの変化に焦点をあて，リアルタイムの脳波判定により stage shift が起きた時点で被験者に覚醒を誘導する方法を導入した。7 名（女性 3 名，平均 22.0±4.2 歳）の健康被験者に対し EEG-fMRI 同時計測を行い，この方法でデータの同時収集が可能であること，目的とするステージ変化時の解析が個人解析レベルで可能であることが確認できた。記録中の問題点として，連続撮像中に脳波計本体が熱を帯びやすくなることが挙げられた。multiband 法を用いた TR1 秒以下での撮像により RF 負荷が大きくなることも一因と考え，対策を講じている。

解析においては，睡眠ステージの指標となる特異的脳波所見と対応した脳活動及び覚醒睡眠/睡眠段階の切り替えに伴う脳活動や脳内ネットワークの変化の分析を重点的に行っている。今後被験者数を増やし，グループ解析を進めることを目標とする。

19. 社会的疲労の神経基盤研究

渡辺恭良，佐々木章宏，水野　敬，渡辺恭介
（国立研究開発法人 理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター）
定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所）

疲労は肉体的・精神的活動の結果，特に過度の活動の結果，生じる機能低下状態と定義され，精神的ストレスの蓄積によっても生じる。長時間の認知課題などの疲労負荷で惹起される急性の精神的疲労によって副交感神経活動が低下し交感神経活動が亢進することが知られており，疲労と自律神経系の密接な関連が示唆されてい

る。また他者から評価を受けるなどの社会的ストレスが主観的な不安感を増大させるのみならず心拍数を上昇させるなど，社会的ストレスもまた自律神経系に影響をおよぼすことが知られている。これらのことから社会的ストレスが自律神経系への作用を通じて疲労や疲労感に影響を及ぼすと考え，他者との関わりによる社会的ストレスが生じる環境の中で課題を遂行している際の疲労感の変化について検討した。

18 名の健常被験者は見知らぬ他者に観察されている環境下で，疲労誘発課題として 30 分間連続して行った。疲労誘発課題には数字をコンピューターのディスプレイ上に連続して呈示し，新たな数字が呈示されるごとにその数字と二つ前に呈示された数字の異同を回答する 2 バック課題を行った。疲労誘発課題の前後には数字と平仮名のターゲットを探索しボタン押しを行う modified advances trail making test（mATMT）の E 課題，visual analog scale（VAS）による疲労評価を行った。

VAS 評定の結果から主観的疲労感の有意な増大を認め，疲労誘発課題の妥当性が認められた。さらに，観察者がある条件でのみストレスの評定値が有意に増大する一方で，観察者が不在の際には有意な意欲の低下と眠気の増大を認めた。これらの結果は，他者の存在が精神的ストレスを増大させた一方で他者が不在である際には課題に対する「飽き」が生じることが示唆された。本研究から他者に観察されるようなストレスだけでなく，単純作業の繰り返しなどによる飽きによっても疲労感が増大することが示唆された。今後，機能的 MRI 研究を実施することにより，疲労感を増大させる心理的要因の機序を明らかにする。

20. 課題成功率向上のための呼吸活動依存的な脳内メカニズムの解明

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）

日本古来より禅や仏教で実践されている呼吸の整え，調息は，さまざまな社会活動における課題遂行の成果向上に重要な役割を果たすと考えられている。事実，随意的な呼吸制御を司ると示唆されている前頭前皮質は，判断・意思決定において重要な領域であることが知られている。これまで我々は，呼息期と吸息期それぞれに課題提示を同調させたとき，課題成功率の有意な違いを見出した。これは，呼息期と吸息期で脳内の課題遂行メカニズムに違いがあることを示唆している。本研究では，呼息期または吸息期における課題遂行における前頭前皮質を中心とする賦活パターンを fMRI で計測し，呼吸活動による課題遂行の向上効果を明らかにすることを目的とした。

これまで我々の実施した心理生理実験では，課題遂行時の呼吸位相の効果により，課題の正解率が異なることを見出したが，その研究では，記憶過程と弁別過程を含む複雑にデザインされた課題であったため，どの認知および記憶のコンポーネント（例えば，エンコーディング，想起，行動の抑制制御など）が呼吸位相の効果により影響を受けて課題の正解率を変えたかが明らかでなかった。そこで，これらの呼吸位相の効果をより明確にするために，fMRI 計測に取り掛かる前段階として，再度，予備実験および課題デザインの簡素化を実施した。40 名の被験者を対象に，見本合わせ記憶課題を用いた行動実験と呼吸位相の関連を解析した結果，正解率 80.0 ± 1.3 % の課題条件下で，特に想起時の呼吸位相に特異的な課題成功率の変化（5%, p=0.008）を見出した。今後は，これらの心理生理実験によって得られた知見をもとに，特定の呼吸位相に合わせた課題提示とそれ以外の位相での課題提示の比較を行うデザインにて fMRI 計測を実施し，それらの神経基盤を明らかにしていく。

21. 聴性定常反応に及ぼす音刺激変化の影響

元村英史（三重大学医学部附属病院精神科神経科）
乾　幸二（統合生理研究部門）

連続する音の途中で音特性（周波数，音圧，音源位置など）を突然に変化させると脳活動が誘発される。変化発生から 50-250 ms 遅れてみられる中・後期活動は脳波・脳磁図を用いて明瞭に捉えることができる。我々はこの脳活動の振幅及び潜時は変化させる音の物理的変化量に依存することを明らかにした（Inui et al., 2010）。更に，この脳活動は test-retest 信頼性が高く，取り巻く環境に対する聴覚変化応答についての神経生理学的指標になると考え，健常者を対象として不安傾向が強い人ほどこの脳活動強度が大きいことを報告した（Tanahashi et al., 2016）。

周期的な音刺激を呈示することによって刺激呈示後まもなく周期性の活動である聴性定常反応（auditory steady state response: ASSR）が誘発される。周期的な音刺激に突然の音刺激変化を加えることによって，この ASSR の位相に速化がみられ，再び定常状態に戻ることが知られている。今回，我々は，音特性変化の物理的変化量と ASSR の位相のずれについて着目した。25 ミリ秒の純音（800 Hz, 70 dB）を連結した音刺激をインサートイヤホンから呈示し 40-Hz ASSR の挙動を解析した。

刺激呈示開始から 500 ms 以降の音圧を上げる(+2, +4, +7, +10 dB)，あるいは周波数を変化させる(810, 820, 840, 880 Hz)と，ASSR の位相の速化を捉えることができ，この速化の程度は音圧，周波数ともにベースラインである 800 Hz および 70 dB からの物理的変化量が大きいほど，この速化は強く認められた。

我々が研究を進めてきた変化関連脳活動や膨大な成果が報告されている mismatch negativity とともに，突然の音特性変化による ASSR の位相速化も変化応答の神経生理学的指標になると考える。

22. MEG を利用した聴覚時空間的脳活動の検討

根本　幾（東京電機大学 情報環境学部）
田中慶太（東京電機大学 理工学部）
柴　玲子（東京電機大学 情報環境学部）

本研究は，人が社会とのインタラクションを営む上で重要となる聴覚の高次聴覚機能に対して時空間分解に優れた MEG を利用することで，行動と脳機能を対応させ，脳内の活動部位と部位間の結合によって行動が解釈できるようにすること目的として以下のような成果を得た。

1. MEG 被験者（20-40 歳，健常者）15 名程度。MEG を用い，和音や和声進行を AM 変調（20 Hz 変調周波数）した刺激を用い，ASSR を測定した。ASSR の振幅は不協和の強い和声ほど大きくなった。
2. MEG 被験者（20-40 歳，健常者）15 名程度。多義的な旋律を AM 変調（40Hz）した刺激を用いて ASSR を測定し，旋律を構成するのに関わったと思われる音に対する ASSR の振幅が小さくなる傾向が見られたが，まだ結果は不明確である。
3. MEG 被験者（20-40 歳，健常者）15 名程度。オクターブ錯聴聴取時の MEG を計測し，錯聴または非錯聴グループの聴覚野の応答を比較することで錯聴に関連した脳活動を検討した。その結果，第一次聴覚野の応答で，その違いが見られた。
4. MEG 被験者（20-40 歳，健常者）15 名程度。両方の耳に異なる周波数で変調した言語音を同時に呈示し（両耳分離聴テスト），変調周波数で計測された MEG を抽出することで，どちらの耳から入った情報であるか特定した（聴覚情報のタグ付け）。その結果，両耳から異なる言語音が提示されたとき多くの被験者は，右耳の情報をより多く聴取することが明らかなり，左の聴覚野の活動が大きくなった。また言語音に注意しない非

注意条件でも，聴覚野の脳活動から右耳優位の結果が得られた。

5. MEG 被験者（20-40 歳，健常者）15 名程度。視覚的情動画像（IAPS）をランダムな順番で呈示すると同時に，聴覚刺激（AM 変調音）を呈示し，視覚的情報画像が，聴覚野に及ぼす影響を検討した。その結果，覚醒価の低い画像に比べ，高い画像で，ASSR の振幅が有意に増加した。このことから，情動の覚醒価が，聴覚野の活動の抑制機能に影響を及ぼした可能性を示唆される。

以上の結果より，MEG を利用することで，聴覚情報の時空間的側面をとらえることが可能となり，両耳分離聴や錯聴など，複雑な聴覚情報処理の心理学的な知見を根拠となる情報を提供する。

23. 脳磁図による運動視知覚の神経基盤の解明

今井　章，高瀬弘樹（信州大学学術研究院人文科学系）
田中慶太，内川義則（東京電機大学理工学部）
岡本秀彦（自然科学研究機構生理学研究所／現 国際福祉医療大学生理学教室）

本研究の目的は，時間・空間分解能に優れる脳磁図（MEG）を取得し，運動視知覚の神経基盤を特定することによって運動視成立のメカニズムに迫ろうとすることであった。運動視は，輝度や速度などの視覚情報が主に空間視経路によって処理されて成立すると考えられている。一方，1 次視覚野からの情報は同時に物体視経路へも伝えられていることから，運動刺激の物体的特徴を処理するため物体視経路も賦活しているはずであるが，このことを運動視における情報処理の観点から明らかにした研究はまだない。そこで本研究では，両眼立体視が成立する刺激（3D 刺激）を提示することで物体視経路をより強く賦活させ，運動視における物体視経路と空間視経路の関係を MEG 計測により調べることにした。運動視は時間的に速く生ずるため，時間分解能に優れる MEG 計測が神経基盤探索には最適である。

本研究では，まず磁気シールド室内で 3D 刺激を安定的に提示できる方法について検討した。その方法として両眼立体視を採用し，レンチキュラー方式による 3D 画像が提示できるモニターと，それに対応したグラスを装着して 3D 画像提示中の脳磁界（MEG）計測をまず試みた。その結果，モニターによるノイズ成分が混入することが明らかになったが，これらのノイズ成分は定常性の成分であることから，実際の実験協力者からデータを取得する際には，この定常成分を減算することで本来の生体信号成分が抽出できることが確認された。

そこで，健常成人の実験協力者 6 名に対して，以下の 4 条件下において MEG 計測を行った。すなわち，①1 つの 3D 画像刺激を空間的に離れた 2 箇所に交替提示させることにより，仮現運動が最適に生起し明瞭な運動感が得られる 3D 最適条件，②3D 刺激を空間的に離れた 2 箇所に同時に提示する 3D 同時条件，③2D 刺激を用いて仮現運動が最適に生起し明瞭な運動感が得られる 2D 最適条件，および④2D 同時条件であった。

上記の 4 刺激呈示条件は 1 つの 1 セッションにおいて 1 条件とし，1 条件につき最低でも 80 回の加算平均波形が得られるように提示した。各セッション間には約 3 分程度の休憩を入れた。

予備的分析の結果，明瞭な運動感が得られた最適条件において特徴的な MEG 賦活応答が，後頭部から側頭部，前頭部へと伝えられる様子が確認できた。また，3D 刺激と 2D 刺激に対する差異は明確には認められなかった。

24. 耳鳴り患者における聴覚誘発脳磁場反応の周波数特異性

高橋真理子，関谷健一（名古屋市立大学）

本年度は昨年度に引き続き被験者の検索，脳磁図を用いた計測を行い，結果をまとめて論文を投稿，受理された。

本研究の目的は聴力低下の影響を排除したうえで，自覚的耳鳴がヒト聴皮質における側方抑制の低下と関連しているという仮説を立証することである。この為我々は脳磁計を用いて聴力閾値に左右差の無い片側耳鳴患者に対し，神経間の抑制を反映しているといわれる周波数特異性を他覚的に計測した。

対象は両側の純音聴力検査閾値に左右差の無い片側性耳鳴患者とし，それぞれの患者に脳磁計の計測前に，純音聴力検査，ピッチマッチ検査を施行した。

提示音はそれぞれの患者の耳鳴周波数の純音（TS）およびその周辺周波数を白色雑音より除去した周波数除去雑音を用いた。周波数除去雑音は両側，TS は片側より 2 つの EAR 条件下（耳鳴耳，非耳鳴耳）に提示した。その結果，周波数除去雑音下 TS を耳鳴耳提示，非耳鳴耳提示，TS のみ耳鳴耳提示，非耳鳴耳提示の 4 種類の条件で各 150 回ずつ計測を行い，得られたデータに加算平均を行った。

結果は，聴力閾値に関しては全周波数で耳鳴耳と非耳鳴耳間に有意差は認めなかった。また耳鳴周波数における耳鳴側と非耳鳴側の聴力閾値も有意差を認めなかった。周波数除去雑音および各 EAR 条件におけるそれぞれの N1m 値に対し反復計測分散解析を行ったところ周波数除去雑音による効果は有意差が得られ($p=0.03$)，同様に周波数除去雑音および EAR での相互影響に関しても有意差が得られた($p<0.01$)。N1m 値は Noisy に比し Silent の方が有意に大きく，周波数除去雑音の効果は耳鳴耳で大きかった。

以上の結果は, MEG を用いた耳鳴耳に関わるマクロレベルの周波数特異性の神経活動が聴力左右差の無い片側耳鳴患者では低下していることを示している。これは抑制神経ネットワークの病理学的変化が耳鳴の知覚に重要な役割を果たしていると考え得る。また，今回の結果は現在非常に困難とされている自覚的耳鳴の他覚的評価法の開発に寄与すると考えられる。

Sekiya et al., Broadened population-level frequency tuning in the auditory cortex of tinnitus patients. J Neurophysiol. 2017, 117:1379-1384

25. 脳波・脳磁場計測による単語処理過程における形態素の役割の検討

井田佳祐（早稲田大学大学院文学研究科）
日野泰志（早稲田大学文学学術院）
木田哲夫（生理学研究所統合生理研究部門）

昨年度に続き，ヒトが複数の形態素で構成される語を読む際の形態素の処理について検討するため，マスク下プライミングパラダイムを使用した語彙判断課題遂行中の脳波を測定した。これまでの英語や漢字熟語を刺激とした研究では，ターゲットとなる語と形態素を共有する語をプライムとして閾下提示すると，無関連語を閾下提示した場合に比べて反応時間が短くなることが報告されている。また，英語を使用した研究では，ターゲット提示のおよそ 250 ミリ秒前後で無関連プライム提示時の脳波が，形態素共有プライム提示時と比べて陽性方向へシフトする N250 効果が観察されている。本研究では，同様の N250 効果が漢字熟語やカタカナ複合語においても観察されるかどうかを検証した。

実験参加者は 16 名の右利きの成人男女であった。ターゲットとなる漢字熟語・カタカナ複合語（e.g., 丸太，バスガイド）各 164 語に対し，形態素共有プライム（e.g., 丸，バス）と無関連プライム（e.g., 悪，ノー）を用意した。また，漢字二字の非語，および二つの関連のない形態素を組み合わせて作成したカタカナ非語を各 164 語使用した。漢字熟語とカタカナ複合語は別ブロックで提示

した。実験参加者には画面上に提示される文字列が実在する語であるかどうかを迅速かつ正確に判断し，“語”ボタンと“非語”ボタンとを押し分けるよう教示した。各試行は 500 ミリ秒のフォワードマスク（##########）の提示によって開始された。その後，プライムが 50 ミリ秒，バックワードマスク（＆＆）16 ミリ秒が提示され，最後にターゲットが提示された。脳波測定には 128ch 脳波計を使用し，ターゲット提示の 100 ミリ秒前から 1000 ミリ秒後までの脳波を測定し，表記（漢字・仮名）とプライム条件（形態素共有・無関連）ごとに加算平均した。

行動データでは，漢字熟語とカタカナ複合語のいずれにおいても，形態素共有プライムによる有意なプライミング効果が観察された。一方，脳波データでは，漢字熟語においては有意な N250 効果が観察されたものの，カタカナ複合語では N250 効果が観察されなかった。こうした結果は，漢字熟語とカタカナ複合語の初期段階の処理の相違を反映しており，漢字熟語を読む際には，形態素レベルの処理が介在するが，カタカナ複合語を読む際には，形態素レベルの処理が介在しない，もしくは検出しにくいものである可能性がある。今後，本研究の結果をまとめたものを論文として報告する予定である。

26. MRI を用いた大脳基底核新経路の検証

吉田篤司
（理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター・
機能構築イメージングチーム・基礎科学特別研究員）

大脳基底核は赤信号なら止まる，青信号なら進む，というようなルールに従った運動の制御や，学習を通して獲得する認知機能に関与するとされている。基底核は大脳皮質や視床，脳幹など脳内の多くの部位と解剖学的な連結があるが先行研究から 3 つの経路（直接路，間接路，ハイパー直接路）が機能的に重要と考えられてきた。しかし申請者はサルの行動課題遂行中に神経活動記録を行った研究から上記の 3 つの経路のうち間接路に存在する神経細胞に 2 種類の異なる活動パターンが存在することを発見し，これまでの 3 経路と別の第 4 の経路が存在している可能性を提唱した。本研究は，第 4 の経路の機能の存在を，ヒトで明らかにすること目的とし，健常被験者を対象として学習と組み合わせた課題遂行中の機能的磁気共鳴画像法（以下 fMRI）を行う。学習が必要な条件と必要のない条件下で行動課題（運動を実行する課題と運動を抑制する課題）を行わせ，大脳基底核領域のどの部分が活動しているかを検出し，サルと同様に第 4 の経路が存在する可能性があるかどうか，そして存在するならば直接路，間接路，ハイパー直接路と合わせた 4 つの経路がそれぞれどのような役割を担っているのかを明らかにする。

課題には提示されたターゲットと同側のボタンを押す課題（congruent 課題），反対側のボタンを押す課題（incongruent 課題），いずれのボタンも押さない課題（NoGo 課題）という 3 つの行動課題を用いる。課題は 2 つのブロックで構成される。一つのブロックでは，被験者が見たことのない複数の視覚刺激を用意し，提示される視覚刺激と行うべき行動のルールは事前には明示されないため，試行錯誤により視覚刺激と選択すべき行動の連合学習を行う必要がある。それに対して，別のブロックではどの視覚刺激が提示されたときにどの課題を行うか，事前にルールを明示するため，連合学習は必要としない。これらの 2 つの条件下で 3 つの課題を行っている最中の fMRI 撮像を行う。これにより学習を必要とする運動時に活動する脳領域と学習を必要としない運動時に活動する脳領域を探索することができ，申請者が提唱する経路を含めた 4 つの経路の役割を明らかにする。今年度は視覚刺激提示プログラムを用いて課題を作成した。次年度は MRI 撮像パラメータを調整し，調整終了後被験者の募集を行い，撮像を行っていく予定である。

27. 神経アミノ酸マッピングのための化学シフトイメージングの確立

梅田雅宏[1]，樋口敏宏[2]，河合裕子[1]，村瀬智一[1]
（[1]明治国際医療大学 医療情報学，[2]明治国際医療大学 脳神経外科学）

【目的】超高磁場 7 テスラ MR 装置 は一般臨床用装置として普及している 3 テスラ MR 装置と比較して，2-3 倍の感度の向上が期待できる。さらに高磁場化の利点として，核磁気共鳴スペクトル（MR スペクトロスコピー）の周波数分解能向上がある。このため，7 テスラ MR 装置では 3 テスラにおいて周波数分解能が不十分なため困難であった神経アミノ酸の分離観測が期待されている。本研究は，これまでの MR 装置では実現できなかった脳内代謝物質の分布を安定的にマッピングする手法の確立を目的としている。一般に領域選択法で得られる MR スペクトロスコピーでは，神経アミノ酸の共鳴周波数の違いに由来する選択領域の不一致が生じ，そのずれが無視できない。一方，化学シフトイメージング（chemical shift imaging ：CSI）法ではこの問題が解決されることが分かっており，CSI 法を利用することにより代謝物質のマッピングを行う事が可能である。このため，超高磁場装置での CSI 法の確立を目指し，計測法，解析法の開発および改良について検討する。

【結果】生理学研究研が所有する 7 テスラ MR 装置（Magnetom 7T, Siemens）を用いて，特にボクセルサイズ，領域選択の精度，背景磁場および励起磁場の不均一性に依存するスペクトル定量精度に注目し，ファントムを用いて，NAA（N-アセチル-アスパラギン酸），グルタミン酸，GABA（γ アミノ酪酸）などの神経アミノ酸を，抗酸化物質として働くアスコルビン酸の NMR スペクトルを確認した。さらに，ヒトの後頭葉の 25 mm×25 mm×15 mm の単一領域を 7 m 秒のエコー時間で計測したスペクロルを LCModel で分析したところ，3 テスラ MR 装置で計測した場合と比較して高い信頼性で GABA 信号の分離計測ができた（図 1）。

今後はヒトデータの例数を増やして GABA などの脳内の微量成分の測定信頼性を確認し，CSI 法による計測とデータ分析方法の確立を目指す。

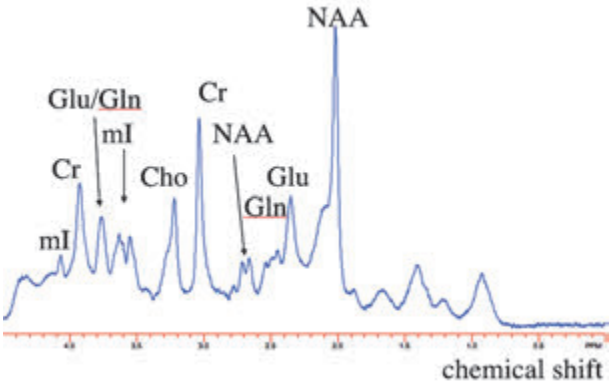


図 1

28. 眼球運動の機能的ネットワークの解析

三浦健一郎（京都大学大学院医学研究科）
福永雅喜，山本哲也（自然科学研究機構生理学研究所）

眼球運動の神経機構は神経科学において古くからの研究対象であり，動物を用いた研究から多くのことが明らかになっている。しかし，ヒトの眼球運動の神経機構に関する知見は断片的であり，動物から得られている解剖学的，生理学的知見との対応関係が未だに不明確である。その問題を解決するためには，ヒト被験者を対象とした眼球運動の神経機構の研究が必須である。ヒトにおいては，神経・精神疾患に関連して眼球運動の異常が認められることが多く，疾患の客観的診断指標の候補として注目されている。また，その神経機構の解明は病態メカニズムの理解にも繋がることが期待できる。本研究では，MRI を用いて，ヒトの眼球運動制御に関わる機能ネットワークを解明することを目的とする。

本年度の研究では，ヒト健常成人被験者を対象として，

滑動性眼球運動課題遂行中の機能的 MRI の解析を行った。視覚刺激はコンピュータグラフィックスによって作成・呈示され，被験者はスクリーンに投影された視覚刺激をミラー越しに見た。視標として灰色の背景の中を動くランダムドットパッチを用い，被験者はその視標を見続けるように指示された。動く視標の追跡と静止視標の固視を１分あるいは２分毎に交互に行っている間の眼の画像と機能的 MRI の同時測定を行った。機能的 MRI の解析では，眼球運動課題に関連する機能ネットワークを抽出するために，独立成分分析を用いることによって空間的にコヒーレントな成分を分離した。

MRI 内で撮像した眼の画像データを解析した結果，被験者の時々刻々の眼球位置および速度を安定して算出でき，被験者が画面上を動く視標を所期のとおり追跡できていたことが確認された。課題遂行中の機能的 MRI の独立成分分析の結果からは 100 以上の成分が抽出された。それらの独立成分のうち，追跡と注視の時間区間に一致した変動が顕著であった成分として，一次視覚野と MT+（Middle Temporal）野に強い信号が分布する成分，MT+ 野と前頭眼野に強い信号が分布する成分が認められた。

今後，他の独立成分について詳細に検討すると共に被験者を増やして結果の再現性を確かめる。さらに，機能的ネットワークと眼球運動の定量的特徴との関係，衝動性眼球運動の制御に関わる機能的ネットワークの解明，滑動性追跡眼球運動と衝動性眼球運動の機能的ネットワークの差異等について明らかにする計画である。

29. ヒト視覚警報野の発見と機能・構造の解明

山本洋紀（京都大学大学院人間・環境学研究科）

大脳には猛獣の姿のようなストレッサーに対処するための適応系が備わり，その中核は扁桃体にあると考えられている。本研究の目的は，『扁桃体以外にも，感覚的ストレッサーを処理する未発見の領野がヒト大脳の帯状回峡に存在し，視覚警報野と呼びうる機能特性を持つ』という仮説を検証することである。これが実証されれば，大脳ストレス適応系の理解を刷新すると同時に，後頭葉内側面の脳機能理解の鍵となりうる。本発見は，将来，脳機能障害（パニック障害，アルツハイマー型認知症）の診断・治療に繋がることが期待できる。視覚警報野と予想される帯状回峡はとても狭い領域で，その直上には異なる機能を持つと思われる脳梁膨大後皮質が隣接している。そこで，研究所保有の 7 テスラ MRI 装置を用いて本研究目的に資する高解像度・高精度の脳構造および機能画像撮像法を確立し，近傍領域との機能的，解剖学的相違を明らかにする。

初年度は被験者 1 名を対象に，脳構造の撮像パラメータのチューニングと警報野を同定するための機能像の撮像を行った。現在，構造画像および機能画像の解析を遂行中である。

30. 直管ファントムを用いた 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の基礎的検討

礒田治夫[1]，福永雅喜[2]，福山篤司[3]，石黒健太[3]，水野　崇[3]，小森芳秋[4]，田嶋駿亮[5]
（[1]名古屋大学脳とこころの研究センター，[2]自然科学機構生理学研究所
[3]名古屋大学大学院医学系研究科，[4]シーメンスヘルスケア㈱，[5]名古屋大学医学部保健学科）

1. 背景

血管病変の発生や進行には血流動態が関係している。血流動態を評価する方法として，3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法（3D cine Phase Contrast [PC] MRI）があり，正確に血流動態を評価するためには 3D cine PC MRI の 3 軸（Slice, Readout, Phase encode 方向）の速度エンコード精度が正しいことが必要である。7T MR 装置は 3T MR 装置よりも静磁場強度が強く，高 SNR のデータが得られることが期待できる。本研究の目的は 3T MR 装置と 7T MR 装置を用いて自作ファントムの 3D cine PC

MRI を撮像し，3 軸速度エンコード精度を検証するとともに，装置間の精度を比較することである。

2．方法

1 辺 10 cm のアクリル製立方体の立体対角に内径 7 mm のアクリル製直管を挿入した自作ファントムを作成した。自作ファントムと流量計を含む閉鎖流路を作成し，ポンプを用いて模擬血液を循環させた。名古屋大学の 3T MR 装置（MAGNETOM Verio 3T, Siemens）と生理学研究所の 7T MR 装置（MAGNETOM 7T, Siemens）で閉鎖流路上の自作ファントムを 3D cine PC MRI で撮像した。3T MR 装置の撮像ではシークエンスを 2 種類用いた。撮像で得られたデータを血流解析ソフトで解析し，3 軸速度成分の断面平均流速と最高流速を算出した。撮像の際，流量計で流速を経時的に測定し，最高流速の基準値とした。

3．結果

3-1．3 軸速度成分の断面平均流速

7T MR 装置で得られた 3 軸速度成分の断面平均流速は 3T MR 装置のそれらと比較して一致しなかった（Fig. 1）。

3-2．3 軸速度成分の最高流速

7T MR 装置で得られた 3 軸速度成分の最高流速は 3T MR 装置のそれらと比較して一致しなかった（Fig. 2）。また，3T MR 装置・7T MR 装置の結果ともに，基準値よりも過小評価された。

4．考察

3 軸速度成分の断面平均流速・最高流速ともに 7T MR 装置の結果は 3T MR 装置の結果と比較して一致度は低かった。これは，7T MR 装置は 3T MR 装置よりもファントム部分での磁場の均一性が良くなかったことと，パラメータ設定の検討が不足していたことが考えられた。磁場の均一性が良くなかった原因としては，ファントムの形状・大きさ・材質が適切でなかったことが考えられた。

また，最高流速は流量計で得られた基準値よりも過小評価された。これは部分体積効果によって生じたものと考えられる。

5．結語・今後の方向性

今回の実験環境では，7T MR 装置の 3D cine PC MRI の 3 軸速度エンコード精度は 3T MR 装置の精度と同等でなかった。今後，磁場均一性を保つ最適なファントムについて検討し，最適なパラメータ設定の検討も行った上で，実験を実施する必要がある。

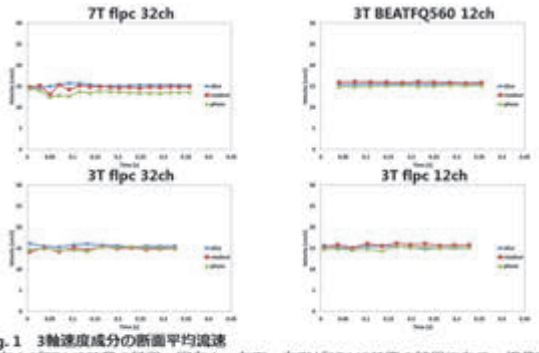


Fig. 1　3軸速度成分の断面平均流速
図左上が7T MR装置の結果，図右上・左下・右下が3T MR装置の結果である。撮像断面は全て横断であり，Sliceエンコード方向が頭尾方向・Readoutエンコード方向が前後方向・Phaseエンコード方向が左右方向である。7T MR装置で得られた3軸速度成分の断面平均流速は3T MR装置のそれらと比較して一致していない。

Fig. 1

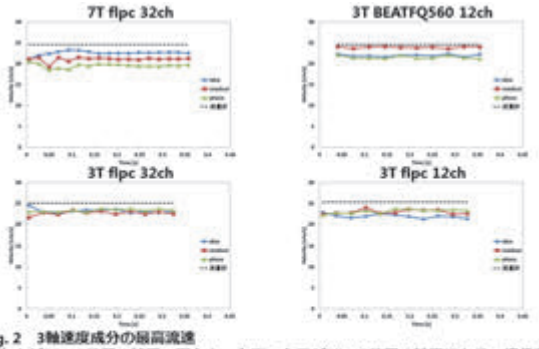


Fig. 2　3軸速度成分の最高流速
図左上が7T MR装置の結果，図右上・左下・右下が3T MR装置の結果である。撮像断面は全て横断であり，Sliceエンコード方向が頭尾方向・Readoutエンコード方向が前後方向・Phaseエンコード方向が左右方向である。破線は流量計で実測した基準値である。7T MR装置で得られた3軸速度成分の最高流速は3T MR装置のそれらと比較して一致していない。また，3T MR装置・7T MR装置の結果ともに，基準値よりも過小評価されている。

Fig. 2

31. 双方向性計測操作による発振現象の理解のための非ヒト霊長類動物モデルの開発

虫明　元，渡辺秀典（東北大学大学院医学系研究科生体システム生理学分野）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

計測・操作技術を駆使することで神経活動の発振現象の発生メカニズムとその機能的意義を理解することを目指し，非ヒト霊長類の動物モデルを開発する。本研究では光遺伝学的手法を用いて神経活動の任意制御を試みる。ウイルスベクタによってサルの中枢神経系に光感受性遺伝子（channelrhodopsin family）を導入・発現させる。実験に先立ち脳の形態を記録し，ベクタ注入部位を決定するため MRI により脳画像を撮影した。実験訓化前のニホンザル 2 頭（オス: 8.6kg, メス: 6.8kg）について深麻酔下にて脳画像撮影を実施した。得られた脳画像を使用し，各サルについてベクタ注入予定部位である一次運動野を同定した。

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔 目　　次 〕

１．生体界面研究会　（代表者：日比野　浩　2016 年 7 月 4 日－7 月 5 日）..... 258

２．生体多元シグナルダイナミクスの計測と操作　（代表者：尾藤晴彦　2016 年 9 月 15 日－9 月 16 日）..... 271

３．膜システムの機能的・構造的統合　（代表者：老木成稔　2016 年 9 月 8 日－9 月 9 日..... 276

４．天然薬物研究方法を考える若手の会　（代表者：浜田幸宏　2016 年 10 月 15 日）..... 284

５．視知覚の総合的理解を目指して － 生理学，心理物理学，計算論
（代表者：本吉　勇　2016 年 6 月 9 日－6 月 10 日）..... 294

６．シナプス伝達の細胞分子調節機構　（代表者：坂場武史　2016 年 11 月 21 日－11 月 22 日）..... 304

７．行動を制御する神経ネットワーク機能の解明に向けて
（代表者：松本正幸　2016 年 12 月 9 日－12 月 10 日）..... 313

８．上皮膜輸送調節蛋白の異常と病態生理学の融合　（代表者：河原克雅　2016 年 11 月 24 日－11 月 25 日）..... 323

９．大脳皮質の機能原理を探る　（代表者：宋　文杰　2016 年 12 月 7 日－12 月 8 日）..... 331

10. 第 6 回社会神経科学研究会『社会のなりたちを支える内分泌学』
（代表者：菊水健史　2016 年 11 月 24 日－11 月 25 日）..... 335

11. 神経回路研究と精神疾患研究の連合による情動機構解明
（代表者：関口正幸　2016 年 10 月 17 日－10 月 18 日）..... 340

12. 第 1 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会　（代表者：佐々木　努　2016 年 6 月 17 日－6 月 18 日）..... 347

13. 臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み　（代表者：山内敏正　2016 年 9 月 10 日－9 月 11 日）..... 358

14. 心臓・血管系の包括的な機能統合研究　（代表者：松岡　達　2016 年 10 月 24 日－10 月 25 日）..... 368

15. 生体の応答多様性に関わる TRP チャネルからのメッセージ「TRPs and SOCs　～脂質シグナルのアクセプター～」
（代表者：森　誠之　2016 年 6 月 2 日－6 月 3 日）..... 387

16. オルガネラネットワークの制御機構とその生理的意義
（代表者：富澤一仁　2016 年 7 月 28 日－7 月 29 日）..... 400

17. 温熱生理研究会　（代表者：永島　計　2016 年 8 月 29 日－8 月 30 日）..... 418

18. 痛みの理解を目指した先端的アプローチ　（代表者：津田　誠　2017 年 1 月 30 日－1 月 31 日）..... 429

19. 電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス　～ 限界を超えるための顕微鏡技術 ～
（代表者：深澤有吾　2016 年 11 月 16 日－11 月 17 日）..... 448

20. 体内エレメントの探索的研究と新技術の開発　（代表者：小原圭吾　2016 年 10 月 13 日－10 月 14 日）..... 452

１．生体界面研究会

2016 年 7 月 4 日－7 月 5 日
代表・世話人：日比野　浩（新潟大学）
所内対応者：久保義弘（生理学研究所）

（１）多機能ナノプローブを用いた単一細胞イメージング及び細胞内 mRNA 局在化の評価
○周　縁殊[1]，梨本裕司[2]，井田大貴[3]，高橋康史[1,4]，福間剛士[1]，珠玖　仁[5]，末永智一[3,6]
([1]金沢大学・理工学域・電子情報学系・ナノ計測工学，
[2]京都大学大学院・工学研究科マイクロエンジニアリング，
[3]東北大学大学院・環境科学研究科・環境生命機能学，
[4]JST さきがけ，[5]東北大学大学院・工学研究科・応用化学，
[6]東北大学・原子分子材料科学高等研究機構)

（２）胃酸分泌細胞の頂端膜界面の構造と機能
藤井拓人[1]，清水貴浩[1]，高井まどか[2]，高橋康史[3]，○酒井秀紀[1]
([1]富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学，
[2]東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学，
[3]金沢大学・理工学域・電子情報学系・ナノ計測工学)

（３）ダイヤモンド電極による *in vivo* 測定を指向したオキシトシンの電気化学測定
○浅井　開[1]，栄長泰明[1,2]（[1]慶應義塾大学・理工学部・化学科・無機物性化学，[2]JST-ACCEL）

（４）ダイヤモンド微小電極を用いた薬物動態とその生理効果の生体内同時計測
○緒方元気[1]，任　書晃[1]，楠原洋之[2]，栄長泰明[3, 4]，日比野　浩[1]
([1]新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学分野，
[2]東京大学大学院・薬学系研究科・分子薬物動態学，
[3]慶應義塾大学・理工学部・化学科・無機物性化学，[4]JST-ACCEL）

（５）非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の糖鎖治療法開発への基礎的検討
○鎌田佳宏，三善英知（大阪大学大学院・医学系研究科・機能診断科学講座・分子生化学）

（６）KCNQ1 チャネル分子複合体による多彩な細胞シグナル応答
○黒川洵子[1]，児玉昌美[1]，永森收志[2]，福田　俊[1]，金井好克[2]，古川哲史[1]
([1]東京医科歯科大学・難治疾患研究所・先端分子医学研究部門・生体情報薬理学，
[2]大阪大学大学院・医学系研究科・生体システム薬理)

（７）アストロサイトの生体膜を介したイオン輸送機構のシミュレーション解析
○村上慎吾[1]，倉智嘉久[2]，赤羽悟美[1]
([1]東邦大学・医学部・医学科・生理学／統合生理学分野，
[2]大阪大学大学院・医学系研究科・分子細胞薬理)

（８）互いに″逆″の電荷配置の極性頭部を持つ脂質の分子間相互作用解析
○相川達男，横田圭亮，近藤剛史，湯浅　真（東京理科大学・理工学部・工業化学科）

（９）リン脂質およびリン脂質ポリマーとタンパク質の相互作用
○高井まどか[1]，島内寿徳[2]
([1]東京大学大学院・工学系研究・バイオエンジニアリング／マテリアル工学科，
[2]岡山大学大学院・環境生命科学研究科・資源循環学)

（10）和周波発生分光法によるバイオマテリアル界面の水分子構造解析とタンパク質吸着の研究

○野口秀典[1]，高井まどか[2]，魚崎浩平[1]
（[1]国立研究開発法人物質・材料研究機構　国際ナノアーキテクトニクス研究拠点（WPI-MANA），
[2]東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学）

（11）脂質膜の構造と物性に関する理論的研究

川口一朋，○長尾秀実（金沢大学・理工研究域・数物科学系・バイオ科学）

（12）メカノトランスダクションと生体界面：MS チャネル活性化における脂質/水，および接着分子/細胞骨格との相互作用

○曽我部正博（名古屋大学大学院・医学系研究科・メカノバイオロジー）

（13）人工細胞系構築の試み

○鈴木宏明，岡野太治（中央大学・理工学部・精密機械工学科）

（14）Amyloid-β の膜結合・構造変化・凝集過程に対する脂質膜曲率の効果

○池田恵介，杉浦裕樹，中野　実（富山大学大学院・医学薬学研究部・生体界面化学）

（15）リソソームトランスポーター・GLUT6 の機能解析

○水野忠快，伊藤拓也，楠原洋之（東京大学大学院・薬学系研究科・分子薬物動態学）

（16）内耳上皮様組織における界面のイオン動態とその生理機能

○任　書晃，日比野　浩（新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学分野）

（17）円二色性の時間変化から見た二重らせん DNA と薬剤間相互作用とそのダイナミクス

○荒木保幸，黒沼　慎，佐藤岳人，坂本清志，和田健彦
（東北大学・多元物質科学研究所・生命機能制御物質化学研究分野）

（18）生体親和性高分子を用いた細胞膜界面物性検出蛍光プローブの創製

○高井まどか，寺村裕治，久代京一郎
（東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学）

（19）PEG 結合リン脂質型蛍光分子プローブの細胞膜表層 pH イメージングツールとしての有用性の検討

○大垣隆一[1]，寺村裕治[2]，林　大智[1]，永森收志[1]，高井まどか[2]，金井好克[1]
（[1]大阪大学大学院・医学系研究科・生体システム薬理，
[2]東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学）

（20）外部物理刺激に対するミトコンドリア活性応答の計測

○梅田倫弘[1]，川島実紗[1]，上田　雅[1]，榎本純悟[1]，迫園創和[1]，長崎秀昭[1]，太田善浩[2]
（[1]東京農工大学・工学部・機械システム工学科，[2]東京農工大学・工学部・生命工学科）

【参加者名】

栄長泰明（慶應義塾大学），浅井　開（慶應義塾大学），曽我部正博（名古屋大学），黒川洵子（東京医科歯科大学難治疾患研究所），酒井秀紀（富山大学），藤井拓人（富山大学），水野忠快（東京大学），赤羽悟美（東邦大学），村上慎吾（東邦大学），近藤剛史（東京理科大学），相川達男（東京理科大学），川村優実（東京理科大学），横田圭亮（東京理科大学），大倉葉月（東京理科大学），野口秀典（物質・材料研究機構エネルギー・環境材料研究拠点），三善英知（大阪大学），鎌田佳宏（大阪大学），周　縁殊（金沢大学），高橋康史（金沢大学），井田大貴（東北大学），梅田倫弘（東京農工大学），池田恵介（富山大学），鈴木宏明（中央大学），荒木誠吾（中央大学），荒木保幸（東北大学），高井まどか（東京大学），寺村裕治（東京大学），久代京一郎（東京大学），長尾秀実（金沢大学），川口一朋（金沢大学），日比野　浩（新潟大学），任　書晃（新潟大学），澤村晴志朗（新潟大学），緒方元気（新潟大学），樋口大河（新潟大学），佐藤　満（新潟大学），野々村頼子（新潟大学），堀　かりん（新潟大学），太田　岳（新潟大学），金井好克（大阪大学），永森收志（大阪大学），

大垣隆一（大阪大学），小林泰良（豊田中央研究所），山口喬弘（豊田中央研究所），幸田勝典（豊田中央研究所），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），陳　以柵（生理学研究所），粂　慎一郎（生理学研究所），Rizki Tsari Andriani（生理学研究所），Sandy Blin（生理学研究所）

【概要】

従来の医・生物学は，細胞内や形質膜，そしてバルク細胞外液で生ずる事象を主な対象としてきた。結果として示された多様な生命現象やその成立機構は，種々の病因の解明にも貢献した。しかし，成因不明の生体機能や難病は未だ多く，かつてない概念に基づく研究が必要である。最近，これまで注目されてこなかった細胞外液と形質膜との間の境界相である“界面”の物質環境の破綻が，直接の病因となる例が見出されてきた。そこで本研究会では，異分野間の共同研究を介して，この『生体界面』の生理的意義と病態を解明し，次世代の医療に資する生体機能学および病態生理学を樹立することを目的としている。界面現象の制御因子である，イオン，水，膜脂質などを対象として共同研究が進んでおり，今回は，その成果が中心に発表された。酒井は，胃酸分泌細胞の界面構造を高橋・珠玖の電気化学プローブ顕微鏡でより簡便かつ確実に観察するために，初代培養細胞を確立した。野口は，高井が組成を変化させた擬似膜を題材に，界面の水構造を和周波波分光法で解析し，その性質とタンパク質吸着の相関関係を示した。長尾は，高井らの実験結果をもとに，界面の水密度やイオン分布をシミュレーションし，それらが膜組成により影響されることを理論的に示した。金井は，高井の界面特異的 pH 指示蛍光プローブを培養細胞に適用し，その有用性を検証した。以上の成果に加え，電気化学プローブ顕微鏡などがより界面に最適化されてきた事実を鑑みると，昨年に比べ研究が進んでいると評価された。曽我部教授による特別講演では，機械的刺激に反応する MscL チャネルの構造や開口の仕組み，そして類似した他のチャネルの機能などが紹介され，これらと界面現象との強い共役も指摘された。研究会の最後には，参加者全員で界面研究の方向性が討議され，異分野の理解を進めるため，若手を中心とした勉強会の開催が提案された。

（1）多機能ナノプローブを用いた単一細胞イメージング及び細胞内 mRNA 局在化の評価

○周　縁殊[1]，梨本裕司[2]，井田大貴[3]，高橋康史[1,4]，福間剛士[1]，珠玖　仁[5]，末永智一[3,6]
（[1]金沢大学・理工学域・電子情報学系・ナノ計測工学，
[2]京都大学大学院・工学研究科マイクロエンジニアリング，
[3]東北大学大学院・環境科学研究科・環境生命機能学，
[4]JST さきがけ，[5]東北大学大学院・工学研究科・応用化学，
[6]東北大学・原子分子材料科学高等研究機構）

細胞は，必要とされる場所で効率よくタンパク質を合成するために，mRNA を特定な場所に配置する。この現象を mRNA 局在化と呼ぶ。今まで蛍光標識手法を用いて，線維芽細胞や神経細胞など極性を持つ非対称細胞における mRNA 局在化の報告が多数あった。その中，長い突起を持つ神経細胞における mRNA の局在は脳の学習記憶に大きく関与すると予想される。私たちは細胞内 mRNA 局在化の定量解析を目指し，細胞の形状イメージング及びそれに基づく特定位置での mRNA 回収ができる多機能ナノプローブを開発した。具体的には，先端を nm オーダーに微細化したガラス θ 管の両サイドに水相と電解質有機溶液をそれぞれ充填した。まず正の電位を印加し，イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）の原理で水相のイオン電流から細胞形状と高さ情報のイメージング像を取得した。イメージング像から回収したい場所にプローブを移動し，膜穿刺と負の電位を印加することで細胞内 mRNA を回収した。マウス線維芽細胞 3T3-Swiss albino を用いて，細胞核及び周辺部仮足それぞれの mRNA を回収し，外部で PCR を用いて解析した。その結果，線維芽細胞の移動に関連する仮足に局在する β-actin

mRNA の検出に成功した。さらに，回収量の安定化や実行時間の短縮などに着目し，システムの改良を行った。

（2）胃酸分泌細胞の頂端膜界面の構造と機能

藤井拓人[1]，清水貴浩[1]，高井まどか[2]，高橋康史[3]，○酒井秀紀[1]
（[1]富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学，
[2]東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学，
[3]金沢大学・理工学域・電子情報学系・ナノ計測工学）

胃酸分泌細胞の頂端膜の構造と機能の解明のために，初代培養胃酸分泌細胞の構築を行った。まず，反転させたラット胃をプロナーゼ処理し，胃粘膜細胞を単離後，オプティプレップを用いた密度勾配遠心により胃酸分泌細胞に富む画分を調製した。その後，マトリゲル上で培養することにより，初代培養胃酸分泌細胞を効率的に高純度で得ることができた。胃酸分泌細胞は，1 週間以上維持可能であった。我々はこれまでに，胃プロトンポンプ（H^+,K^+-ATPase）が，KCl 共輸送体の KCC4，および Cl^-/H^+交換輸送体の ClC-5 と機能共役することを見出している。培養胃酸分泌細胞を免疫染色したところ，胃プロトンポンプの分布は，KCC4 およびエズリンの分布と部分的に一致した。また，ClC-5 を培養胃酸分泌細胞に外因的に遺伝子導入し，タンパク質を強制発現させることができた。胃酸分泌細胞を，膜透過処理を行わない条件で免疫染色を行ったところ，細胞膜表面において部分的に胃プロトンポンプのシグナルが観察できた。したがって初代培養胃酸分泌細胞の頂端膜が外液に露出している可能性が示唆された。

（3）ダイヤモンド電極による *in vivo* 測定を指向したオキシトシンの電気化学測定

○浅井　開[1]，栄長泰明[1,2]（[1]慶應義塾大学・理工学部・化学科・無機物性化学，[2]JST-ACCEL）

ホウ素をドープした導電性ダイヤモンド薄膜（BDD 電極）は，優れた電気化学特性に加え，高い耐久性および生体適合性などの特徴をもつことから，生体内での安定した高感度リアルタイム測定を可能とする電極材料として期待できる。 そこで，BDD 電極を使った生体内物質の検出を目的とし，母子間の愛着行動との関連などが報告されている神経伝達物質オキシトシン[1]の測定に取り組んだ。

生体内測定で必要となる BDD マイクロ電極について，既存のエポキシ樹脂を用いた絶縁方法が有する化学的・物理的な脆弱性を克服すべく，ガラスのみによる新規絶縁手法を開発した（図 1）。脳内での測定を踏まえるとペプチドホルモン・バソプレシンとの選択性が必要となるが，製膜されたままの水素終端化した BDD（H-BDD）では両者ともほぼ同一の電気化学的挙動を示した。一方，+3 V, 20 分間の陽極酸化により酸素終端化した BDD（O-BDD）を用いると両者の間に明確な違いが生じた（図 2）。これは，測定条件の pH 7.4 において両分子が有する電荷の大きさが異なるために，それら分子と負に分極した O-BDD 表面との間に働く静電相互作用の違いによるもの考えられる。さらに，陽極酸化を施した BDD マイクロ電極を用いることで，定電位測定による分析において再現性よい選択的な測定を実現し，オキシトシンの選択的な測定の可能性を示した。

1. Shen, H. The hard science of oxytocin. *Nature* **522,** 410–412 (2015).

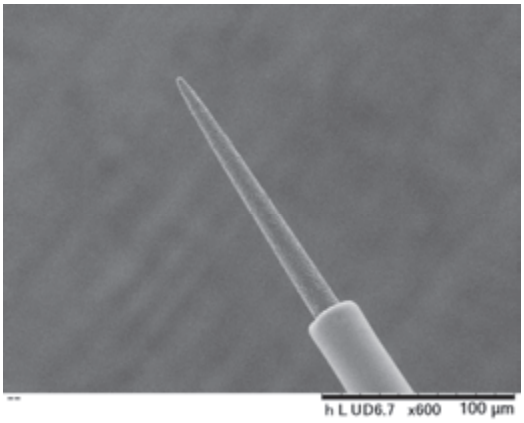


図 1

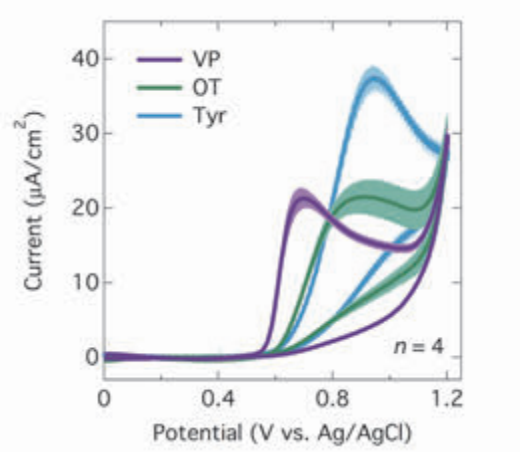


図 2. オキシトシン（OT）とバソプレシン（VP）のサイクリックボルタモグラム.

（4）ダイヤモンド微小電極を用いた薬物動態とその生理効果の生体内同時計測

○緒方元気 [1]，任　書晃 [1]，楠原洋之 [2]，栄長泰明 [3, 4]，日比野　浩 [1]
（[1] 新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学分野，
[2] 東京大学大学院・薬学系研究科・分子薬物動態学，
[3] 慶應義塾大学・理工学部・化学科・無機物性化学，[4]JST-ACCEL）

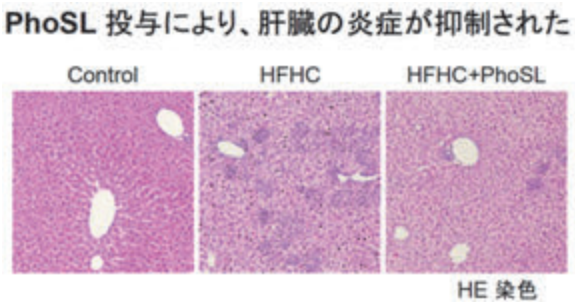
生体に投与した薬物が，各々の臓器の微小領域に如何に分布しどのような濃度変化を示すかを経時間的に観測することは，その化合物の性質や薬理作用を理解する上で重要である。現在，薬物濃度動態を把握するには，体液や臓器を採取し，それらの標本を体外の分析器にかける必要がある。しかし，従来法では，臓器・組織内の“局所”における薬物動態を，「生体内」にて正確かつ長時間に渡りリアルタイムで追尾することは困難である。この解決のため，次世代素材「ダイヤモンド」から成る微小電極を搭載した計測系を創出した。モデル薬物として，ループ利尿薬ブメタニドを使用した。この薬物は小児てんかん等の神経疾患にも使用され始めている一方で，聴覚に必須な内耳体液の特殊電位環境を破綻させ，難聴を誘引する。そこで，モルモット内耳蝸牛とラット脳において，この装置により薬物濃度と電気生理現象の変化を追尾した。ダイヤモンド微小電極と共に，電位を測定するガラス微小電極を生モルモットの内耳体液空間へ挿入し，ブメタニドを静注した。その結果，迅速なブメタニドの濃度上昇と，それに少し遅延した内耳体液電位の降下が観察された。ラット脳内では，薬物濃度上昇に伴った脳神経活動の低下がガラス微小電極によって追尾された。この局所生体計測基盤は，薬物濃度動態とその効果を同時に捉えることが可能であると結論づけられた。

（5）非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の糖鎖治療法開発への基礎的検討

○鎌田佳宏，三善英知（大阪大学大学院・医学系研究科・機能診断科学講座・分子生化学）

【目的】近年，糖鎖が様々な疾患発症や病態に関与することが明らかになってきた。我々はフコシル化という糖鎖修飾について永年研究しており，ヒト非アルコール性脂肪肝炎（NASH）患者で血中フコシル化タンパクが

上昇していることを報告した。さらに日本固有のキノコからコアフコースを特異的に認識するレクチン PhoSL を最近発見した。今回，PhoSL が生理活性を有し，NASH 進展抑制作用を有することを見いだしたので報告する。【方法】雄マウスに高脂肪高コレステロール食（HFHC 食）を 4 週間投与することにより，NASH モデルを作成した。普通食群，HFHC 食群，HFHC 食投与群に週 2 回 PhoSL を 10 μg/匹を腹腔内投与した HFHC+PhoSL 群で比較した。またマウスマクロファージ様細胞株 RAW 細胞を用いてアポトーシスを検討した。【成績】HE 染色にて HFHC 群では肝内に強い炎症細胞浸潤，線維化進展を認めたが HFHC+PhoSL 群では抑制されていた。また，HFHC+PhoSL 群では F4/80 陽性細胞が減少していた。以上より HFHC 群で悪化していた NASH が PhoSL 投与により改善していることがわかった。In vitro では PhoSL により，RAW 細胞アポトーシスが亢進していた。【結論】コアフコース特異的レクチン PhoSL はマクロファージのアポトーシスを誘導することで NASH 進展を抑制することが示唆された。



（6）KCNQ1 チャネル分子複合体による多彩な細胞シグナル応答

○黒川洵子[1]，児玉昌美[1]，永森收志[2]，福田　俊[1]，金井好克[2]，古川哲史[1]
（[1]東京医科歯科大学・難治疾患研究所・先端分子医学研究部門・生体情報薬理学，
[2]大阪大学大学院・医学系研究科・生体システム薬理）

KCNQ1 分子は電位依存性 K^+チャネル α サブユニットであり，興奮性細胞や分泌細胞等，ユビキタスに分布している。近年の分子遺伝学的研究により，KCNQ1 の遺伝子異常は先天性ＱＴ延長症候群や先天性感音難聴の原因となる他，SNP が２型糖尿病と関連している報告がある。心筋においては，KCNQ1 は，心室筋活動電位の再分極相に寄与する遅延整流性 (I_{Ks}) チャネルとして機能しており，様々な細胞内シグナルに応答してチャネル活性が大きく変化する事を特徴とする。これまで，我々は，交感神経系刺激や性ホルモンによる調節との関連について，心筋 KCNQ1 タンパク質に結合した分子との複合体が重要であることを示してきた。今回，KCNQ1 タンパク質の役割をより包括的に理解するために，結合分子を網羅的に調べ新規の分子メカニズムの探索を行った。方法としては，α-MHC プロモーターにより心筋特異的に KCNQ1 分子を発現させたトランスジェニックマウスの心臓標本を用いて，KCNQ1 抗体による免疫沈降を行い，共沈降物のプロテオミクスにより分子複合体を探索した。パスウェイ解析を経て結合因子を選定し，さらにイヌおよびモルモット心臓標本で内因性 KCNQ1 と候補分子の結合を確認した。また，細胞表面シグナル分子との結合も検出されたことから，界面における KCNQ1 分子複合体を介したシグナル調節が存在する可能性が示された。

（7）アストロサイトの生体膜を介したイオン輸送機構のシミュレーション解析

○村上慎吾[1]，倉智嘉久[2]，赤羽悟美[1]
（[1]東邦大学・医学部・医学科・生理学／統合生理学分野，
[2]大阪大学大学院・医学系研究科・分子細胞薬理）

脳の細胞外環境は生理的条件下ではほぼ一定に保たれているが，虚血や血糖値低下などの病的条件下では，神経細胞の細胞膜を介したイオンなどの流出入に変化が生じて，細胞外カリウム濃度が上昇し，神経細胞死を招くことがある。アストロサイトには，脳内の細胞外環境の恒常性を維持して神経細胞死を防ぐ機構，すなわち，１）過度の細胞外カリウム濃度の上昇を防ぎ細胞外カリウム濃度の恒常性を維持する機構（カリウムバッファリング），２）水輸送を介して細胞内外の空間の体積の恒常性を維持する機構，３）pH の過度の変化を防ぐ機構，が存在すると考えられている。しかし，カリウム濃度や pH を実験的に測定するだけでは，詳細な動態を明らかにすることは出来ず，これらの機構の機序はいまだ議論の的である。そこで，これらの機序を明らかにする目的で，我々はアストロサイトのシミュレーション・モデルを作製した。このモデルには上記の機序に関与していると考えられている主要なイオンチャネルやトランスポーターが組み込まれており，このモデルで計算を行うことで様々な条件下における水・イオンの挙動や細胞体積の変化の解析を行うことができる。我々は，このモデルを用いて，細胞外カリウム濃度の上昇に対するカリウムバッファリングの機構，アストロサイトの体積変化，pH 動態などの解析を行い，アストロサイトによる神経細胞外環境の恒常性維持の機序を明らかにした。

（8）互いに"逆"の電荷配置の極性頭部を持つ脂質の分子間相互作用解析

○相川達男，横田圭亮，近藤剛史，湯浅　真（東京理科大学・理工学部・工業化学科）

脂質は水に不溶の両親媒性分子であり，水中では様々な形状の分子集合体を形成する。もっとも身近な例ではあるが，細胞膜の基本構造はシート状の脂質二分子膜である。近年では，脂質の分子集合体は，生体材料を設計するうえでも重要な構成要素として認識されている。例えば，ベシクルと呼ばれる脂質二分子膜の小胞体は，薬剤輸送キャリアとしての応用されている。本研究における最大の目標は，脂質分子集合体に積極的に相互作用する分子をデザインし，その相互作用を詳細に解析することで，脂質分子集合体をベースとした生体材料設計に新たな指針を提示することである。動物細胞に広くみられるリン脂質として，ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）が挙げられる。当研究グループでは，DPPC の極性頭部であるホスファチジルコリン(PC)と逆の電荷配置の極性頭部をもつ脂質（ジパルミトイルスルホベタイン； DPSB）を合成し，これらの混合単分子膜において，両脂質が自発的に混合し，互いに引力的な相互作用を有していることを，単分子膜の表面圧-面積（π-A）等温線測定から明らかにした。リン脂質と相互作用しやすい分子の設計として，極性頭部がリン脂質に対して逆の電荷配置を有していることが重要であると考えられた。

（9）リン脂質およびリン脂質ポリマーとタンパク質の相互作用

○高井まどか[1]，島内寿徳[2]
（[1]東京大学大学院・工学系研究・バイオエンジニアリング／マテリアル工学科，
[2]岡山大学大学院・環境生命科学研究科・資源循環学）

タンパク質の吸着を抑制する材料として，細胞膜のリン脂質極性基，ホスホリルコリン(PC)基を模倣した MPC ポリマーがある。タンパク質吸着抑制効果には，ポリマーの膜厚や密度，界面に形成される水分子の吸着状態が重要である。本研究では，分子鎖長の効果を明らかにするため，単分子膜(PC-SAM)とリン脂質ポリマー(Poly(MPC))の表面におけるアルツハイマー病由来アミロイド β タンパク質のアミロイド形成挙動を検討した。

Poly(MPC)は表面開始型原子移動ラジカル重合法によりガラス上に作製した。PC-SAM は PC 基をもつ分子をシランカップリング反応によりガラス上に固定化して作成した。X 線反射率測定により，膜厚と密度を算出し，PC-SAM は，2 nm, 1.7 chains/nm^2，Poly(MPC)は 10 nm, 0.3 chains/nm^2 であった。アミロイド形成挙動は，蛍光プローブチオフラビン-T を混合し 37 ℃で全反射蛍光顕微鏡により観察した。

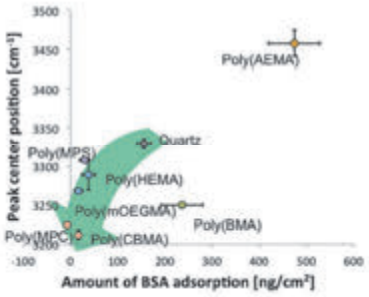
PC-SAM では48時間後にアミロイド形成が見られたが，Poly(MPC)ではみられなかった。蛍光一分子追跡法から側方拡散係数Dを算出した。PC-SAM では$D = 1.32\times10^{-3}$ μm^2/s, Poly(MPC)では 0.87×10^{-3} μm^2/s であった。これらから横方向ゆらぎより，縦方向ゆらぎがアミロイド形成を強く阻害していることが示唆された。

（10）和周波発生分光法によるバイオマテリアル界面の水分子構造解析とタンパク質吸着の研究

○野口秀典[1]，高井まどか[2]，魚崎浩平[1]
（[1]国立研究開発法人物質・材料研究機構　国際ナノアーキテクトニクス研究拠点（WPI-MANA），
[2]東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学）

バイオマテリアルでは生体物質と接触する界面の制御が重要となる。材料表面へのタンパク質吸着および吸着によって誘起される構造変化によって，望ましくない生体反応を誘起してしまうことから，タンパク質吸着の抑制が必要となる。バイオマテリアル表面とタンパク質との間の相互作用（疎水性相互作用，静電的相互作用，水素結合など）は，バイオマテリアル表面の水分子が重要な役割を果たす。しかし，そのメカニズムは完全には解明されていない。本研究では，界面選択的な和周波発生（SFG）分光法を用い，界面水分子とタンパク質吸着との関連を解析した。

石英基板上に親水性，疎水性，アニオン性，カチオン性，双性イオン性のポリマーブラシを作製した。作製した表面への等電点の異なる 3 種類のタンパク質，ウシ血清アルブミン（BSA），リゾチームの吸着量を水晶振動子マイクロバランスにより測定した。SFG 分光法により界面水分子を構造解析した。水分子の分子内カップリングの影響を除くため，重水と軽水の混合溶液と接触させた界面を測定した。OH 伸縮振動領域（3000～3800 cm^{-1}）においてひとつのピークが観測された。SFG ピークの中心位置と BSA の吸着量の関係を図に示した。ピーク位置が低波数側ほど，タンパク質吸着量は少なかった。従って，強い水素結合を有する界面水分子がタンパク質吸着を抑制することが示唆された。



タンパク質吸着量と界面水のピーク波数との関係

（11）脂質膜の構造と物性に関する理論的研究

川口一朋，○長尾秀実（金沢大学・理工研究域・数物科学系・バイオ科学）

中性の PC を頭部に持つ脂質に対して，-1 の電荷のある PS を頭部に持つ脂質により構成される二重膜は，その物性が大きく変化する。また，DOPS のアシル鎖は DOPC よりも秩序化している。PS 基の配向は水に対する感受性が低いが，一方で水分子の配向はより強くなる。DOPS の方が曲げ弾性率が高い。このように，共通のアシル鎖を持っていても頭部が異なることで，脂質二重膜の構造や物性が異なる。

そこで，界面付近における水分子やイオン，糖鎖や生体物質の振る舞いが脂質二重膜に与える影響を明らかにするため，脂質膜の構造と物性を理論的に研究した。POPC 純粋膜を作成し，全原子分子動力学シミュレーションを用いて二重膜界面付近における水分子およびイオンの分布を調べた。界面では水分子密度がバルク水分子密度より大きかった。バルク状態に比べ脂質膜界面での水分子やイオンの構造や動態特性が異なると示唆された。また，界面付近では，界面垂直方向への水分子の配向が観測された。このことから POPC 界面付近では水分子が配向を持ちながら集積することにより，膜界面構造を形成し，静電的にシールドしていることが推測された。

また，POPS 純粋膜に関する構造と物性をシミュレーションした。全原子分子動力学シミュレーションを用いて POPS 二重膜界面付近における水分子およびイオンの分布を調べ，POPC および POPS の構造と物性の違いを示した。

（12）メカノトランスダクションと生体界面：
MS チャネル活性化における脂質/水，および接着分子/細胞骨格との相互作用

○曽我部正博（名古屋大学大学院・医学系研究科・メカノバイオロジー）

非感覚細胞の機械受容チャネル(MSC)が発見されて約 30 年が経過し，いくつかの興味深い活性化機構や役割が分かってきた。ここでは細菌 MSC である MscL の，蛋白質高次構造に基づく詳細な開口機構と，接着性細胞のアクティブタッチ（基質硬度の感知）における MSC の役割について紹介する。

MscL は，細胞外に頭を突き出したヘアピン状の 2 回膜貫通 α-ヘリックス（TMH）が両足を半径方向に向けて環状に会合した筒状のホモ 5 量体である。内側 TMH は，ヘアピンが斜めに開くように傾いて隣同士が交差し，五角形のポア最狭部（ゲート）を構成する。脂質膜の張力は脂質-外側 TMH 間の界面相互作用を介して内側 TMH に伝わり，内側 TMH 間の交差界面をずらすことでチャネルの開口を導く。何れの界面相互作用においても水分子が重要な役割を果たしている。

接着性細胞の MSC（TRP チャネル？）は，細胞膜と基質の界面で，接着分子-アクチンストレス線維（SF）と機械的にカップルしたユニットを形成し，基質硬度の感知を担っている。SF の自発的な定長収縮が基質を引張することによって，基質の硬さに比例した張力が SF に発生し，これが Ca^{2+}透過性 MSC を活性化する。接着分子は標的基質の認識と機械的固定，SF は基質引長と MSC への力の伝達，MSC は SF 張力の細胞内 Ca^{2+}濃度への変換という役割を分担することでアクティブタッチを実現している。

（13）人工細胞系構築の試み

○鈴木宏明，岡野太治（中央大学・理工学部・精密機械工学科）

真核細胞では，有糸分裂により複製したゲノムを正確に娘細胞に分配するが，大腸菌などの原始的な細胞においても，複製されたゲノムはほぼ正確に２つの娘細胞に分配される。従来は，細菌においても，複製されたゲノムを菌体の両極に導くタンパク質が働いていると考えられていたが，最近では，DNA の弾性やエントロピー的効果のみでも等分配されるとの見方が有力となってきた。本研究では，モデル生体膜であるジャイアントリポソームの分裂様変形を細胞分裂に見立て，内封した細菌ゲノムサイズの DNA が娘リポソームに分配される物理的要因を調べた。

ジャイアントリポソームにゲノムサイズの DNA 分子と，細胞内の混雑環境を模擬するための PEG 分子を封入した。この系に浸透圧ショックを与え，膜が細胞分裂様の変形をする際の DNA の挙動を観察した。与えた浸透圧差および DNA と共封入した PEG の濃度に依存して，親リポソームから出芽した娘リポソーム内に DNA が封入される確率が変化した。浸透圧差が大きい場合は，膜が局所的かつ速いバディングを起こし，娘リポソーム内に DNA が封入されなかった。一方，浸透圧差が小さい場合は，親リポソームが大局的かつ遅く変形し，DNA が均等に分配される様子が見られた。一方，リポソーム内に PEG が比較的高濃度で存在する場合は，浸透圧差が大きい条件でも，娘リポソームに DNA が入り込む様子が確認された。

（14）Amyloid-β の膜結合・構造変化・凝集過程に対する脂質膜曲率の効果

○池田恵介，杉浦裕樹，中野　実（富山大学大学院・医学薬学研究部・生体界面化学）

アルツハイマー病患者脳内におけるアミロイド β タンパク質（Aβ）の凝集・沈着および毒性体の形成は，疾患の発症メカニズムにおいて重要な過程であると考えられている。近年，脂質膜が Aβ をその表面へ集積させ，構造変化を誘導することで Aβ 凝集を促進することが報告されている。これまでに Aβ と脂質膜との相互作用に脂質組成が及ぼす影響が主に調べられており，負電荷を持った脂質やコレステロール，糖脂質 GM1 ガングリオシドなどの特定の脂質分子あるいはゲル相などの脂質膜の相状態が関与することが示唆されている。一方，Aβ が細胞外の小胞であるエキソソームや，細胞内の多胞体(multi vesicular body, MVB)中の脂質膜小胞を介して蓄積し，細胞毒性を発揮することが報告されていることから，Aβ が粒径の小さい脂質ベシクルに選択的に相互作用する可能性が指摘されている。これに関して最近，粒径の小さい脂質ベシクルが粒径の大きいベシクルに比べて Aβ のアミロイド線維形成を有意に促進することが報告されたが，そのメカニズムの詳細は明らかでない。そこで本研究では，Aβ－脂質膜間結合パラメータ，脂質膜上の Aβ 構造変化およびアミロイド線維形成のキネティクスに及ぼす脂質ベシクルの粒径あるいは膜曲率の効果を検討した。その結果，脂質ベシクルが高い正の曲率を持つとき，Aβ 結合，構造変化および凝集が促進されることを明らかにした。

（15）リソソームトランスポーター・GLUT6 の機能解析

○水野忠快，伊藤拓也，楠原洋之（東京大学大学院・薬学系研究科・分子薬物動態学）

トランスポーターは脂質二重膜を介した低分子の物質輸送を司る重要な膜タンパク質である。しかしながら 400 を超えるトランスポーターのうち，機能・生理学的な重要性が明らかになっていないものは三割に上る。機

能未知トランスポーターの機能を解明することは，当該トランスポーターが局在する界面により隔てられた二つのコンパートメント間における重要な物質輸送を新規に見出すことに他ならず，生命現象や病態メカニズムの理解，ひいては新規創薬標的の発見につながるものと期待される。このような背景のもと現在 SLC2 ファミリーに属するトランスポーター，SLC2A6 を解析した。本トランスポーターは様々な疾患の基礎病態となる炎症時に発現変動するトランスポーターとして見出した。これまでの検討により，SLC2A6 はマクロファージにおいて炎症刺激により mRNA レベルが 30 倍程度と著名に上昇し，そのノックダウンにより炎症性サイトカイン IL1β の細胞外への分泌が増加することが明らかとなった。本トランスポーターはリソソーム膜に局在することが確認されたことから，本トランスポーターは炎症時に発現変動し，リソソーム膜を介した物質輸送を制御することで炎症反応制御に関与しているものと推察された。

（16）内耳上皮様組織における界面のイオン動態とその生理機能

○任　書晃，日比野　浩（新潟大学大学院・医歯学総合研究科・分子生理学分野）

内耳蝸牛は，空気の振動である音を電気信号へと変換する聴覚の末梢臓器である。蝸牛を満たす体液である内リンパ液は，+80 mV の高電位を常に示す。この「内リンパ液高電位」は，聴覚に必須である。蝸牛の側壁には，血管条と呼ばれる上皮様組織があり，この内部には Intrastrial Space (IS)と呼ばれる細胞外空間が含まれる。複雑な細胞膜に取り囲まれた IS は，幅が 15 nm と狭いので，生体界面と言える。近年，我々は，微小ガラス電極をこの IS に刺入することで, IS における電位（IS 電位）及びイオン濃度を生体内で計測してきた。その結果，K^+ 濃度の動態が IS 電位を決定し, 内リンパ液高電位を規定することを示した。

さらに，計測された IS の電位の K^+濃度の動態の成立機構を理解するため，我々は等価回路モデルを用いて理論的解析を進めた。実験結果をほぼ再現することに成功した。しかし，モデル化の過程に於いて，単位面積当たりの IS の体積をほぼ細胞のサイズと同等に設定する必要があった。したがって，生体固有の界面イオン分布制御の存在が示唆された。

（17）円二色性の時間変化から見た二重らせん DNA と薬剤間相互作用とそのダイナミクス

○荒木保幸，黒沼　慎，佐藤岳人，坂本清志，和田健彦
（東北大学・多元物質科学研究所・生命機能制御物質化学研究分野）

生体分子であるタンパク質や核酸は，その構成要素であるアミノ酸やヌクレオチドがキラリティを持つだけではなく，それらが形成する高次構造に由来したキラリティが生じる。生体分子の高次構造はその機能と直結しており，その構造情報を時々刻々と検出することで，生体分子の機能の追跡が可能となると期待される。キラリティを検出する手法として広く用いられている円二色性（CD）測定は，そのままでは時間分解測定法と組み合わせることが困難であり，我々は，キラリティをリアルタイムで検出し，生体関連分子の構造情報を時間依存的に検出することを目指し，新たな円二色性（CD）の時間分解測定法の開発を行っている。我々は，キラルな試料が楕円偏光の楕円率を変化させることに着目し, Jones 行列法により CD 測定を楕円偏光の楕円率変化から求める理論式を導出し，それをもとに時間分解 CD 測定を行ってきた。一方 Muller 行列法による本手法の解析は CD と同時に円複屈折（CB）が同時に観測される可能性を示唆するが, 実験条件を整えることで, CB の寄与がほぼ無視できることが判明した。CD および CB の実測定を通して, 我々の CD 測定における CD 及び CB の寄与を Muller

行列法による解析結果を含め再考察し，これまでの CD の時間変化から見た二重らせん DNA と薬剤間のダイナミクスは，実験誤差の範囲で CD のみの寄与のみであると結論した。

（18）生体親和性高分子を用いた細胞膜界面物性検出蛍光プローブの創製

○高井まどか，寺村裕治，久代京一郎
（東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学）

緒言：

細胞膜近傍の細胞外領域の物質動態が生命現象，疾病に関与することが最近見出されている。しかしながら，細胞外のナノメートルという微小領域での物質動態を正確に捉えるイメージング技術は発展途上である。我々は，細胞膜界面の状態を検出する蛍光プローブの開発を行っている。本発表では，細胞膜分子と，細胞外イオンを検出する 2 種類の蛍光プローブについて紹介した。

細胞膜外シアル酸認識蛍光ナノ粒子イメージングプローブ：

細胞膜上に存在するシアル酸に注目し，その発現量を可視化する蛍光プローブを創製した。これは，生体親和性に優れるリン脂質ポリマーで被覆され，シアル酸と特異性を有するレクチンが結合したナノ粒子である(Fig.1)。細胞膜のシアル酸と特異的に結合したナノ粒子の蛍光輝度とシアル酸の発現量は相関が得られ，細胞外領域の機能解析に用いることができた。

細胞膜動態検出蛍光プローブ：

リン脂質にポリエチレングリコール(PEG)を結合した PEG-Lipid は，細胞膜を構成するリン脂質への親和性が高く細胞膜に導入される。そこで，PEG-Lipid にイオン感受性蛍光分子を結合させることでイオン動態を検出するイメージングプローブとして機能することを期待し，pH 応答性をもつ fluorescein isothiocyanate (FITC)で蛍光標識したプローブを作製した。

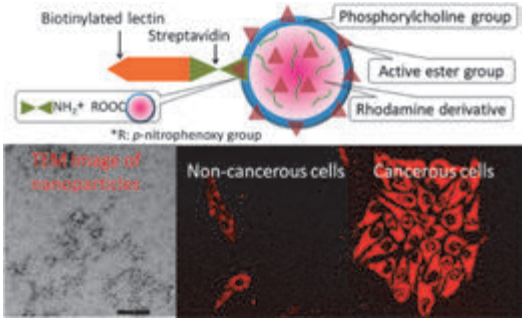


Fig. 1. Design of imaging nanoprobe.

（19）PEG 結合リン脂質型蛍光分子プローブの細胞膜表層 pH イメージングツールとしての有用性の検討

○大垣隆一[1]，寺村裕治[2]，林　大智[1]，永森收志[1]，高井まどか[2]，金井好克[1]
（[1] 大阪大学大学院・医学系研究科・生体システム薬理，
[2] 東京大学大学院・工学系研究科・バイオエンジニアリング／マテリアル工学）

様々な生命現象において細胞膜表層の微小領域の pH の重要性が知られている。例えば，粘液で被覆された小腸上皮細胞近傍の不攪拌水層は，プロトンを保持することでペプチドや薬物の物質輸送に寄与する。このような細胞膜表層 pH の時空間的広がりやその意義の解明には，汎用性の高い計測ツールの開発が必須である。我々は，pH 感受性蛍光色素 Fluorescein isothiocyanate（FITC）を結合したポリエチレングリコール（PEG）結合リン脂質型蛍光分子プローブの，細胞膜表層 pH イメージングツールとしての有用性を検討した。蛍光分子プローブを様々な pH のバッファー溶液に懸濁し，蛍光強度比（448 nm と 488 nm 励起）を測定した結果，リンカーおよびリン脂

質との結合によって FITC の pH 依存的な蛍光特性が損なわれないことを確認した。蛍光分子プローブでヒト胃印環細胞癌 KATOIII 細胞を処理して共焦点レーザー顕微鏡による観察をおこなったところ，細胞膜において高い FITC の蛍光が検出された。細胞外液の pH を酸性から弱アルカリの範囲で段階的に変化させながら画像を取得して解析を行った結果，蛍光強度比は各 pH に固有の値を示した。またその蛍光強度比の変化は可逆的であった。以上より，PEG 結合リン脂質型蛍光分子プローブは細胞膜表層 pH の経時的な可視化ツールとして有用であると考えられた。

（20）外部物理刺激に対するミトコンドリア活性応答の計測

○梅田倫弘 [1]，川島実紗 [1]，上田　雅 [1]，榎本純悟 [1]，迫園創和 [1]，長崎秀昭 [1]，太田善浩 [2]
（[1] 東京農工大学・工学部・機械システム工学科，[2] 東京農工大学・工学部・生命工学科）

我々は, これまでに生体組織へ物理刺激として数十 nN 程度の外力を印加しながらその活性を蛍光色素によって評価する装置を開発してきた [1)]。先端を円錐台状に加工した光ファイバーをカンチレバー状に成形させて，生体試料に接触させ，そのカンチレバーの変位を計測することで試料への印加力を設定した。それと同時に，蛍光色素励起レーザーと共焦点顕微鏡を組み合わせた光学系を試料下部に配置して，外力に対するミトコンドリアの応答を蛍光色素による光学的手法により評価した。

ミトコンドリアは, 生体エネルギーの元である ATP 合成を担う重要な小器官である。特に，心筋細胞や血管内皮細胞などは拍動などの周期的物理ストレスに晒されており，ミトコンドリアにもその影響が考えられる。そこで，開発した装置により 100 nN 以下の応力を加えながら膜電位感受性蛍光色素による膜電位を計測した結果，50 nN 以下の外力によって活性化することが明らかとなった.

また, ミトコンドリアは ATP 産生とともに活性酸素種 (ROS)を発生させることもよく知られている。そこで，我々はミトコンドリアに外力を印加したときの ROS の発生状況を開発した装置で計測した。ROS 蛍光色素として MitoSoxRed を用いて印加力に対する蛍光強度を計測した結果，40 nN 程度の外力で ROS 発生を促進するアンチマイシン濃度 1.2 μM と同程度の蛍光強度の増加がみられた.

1） Y. Li, S. Honda, K. Iwami, K., Y. Ohta, N. Umeda, “Analysis of mitochondrial mechanical dynamics using a confocal fluorescence microscope with a bent optical fibre”, ***J. Microsc.,*** 206, 140-151, (2015).

２．生体多元シグナルダイナミクスの計測と操作

2016 年 9 月 15 日－9 月 16 日
代表・世話人：尾藤晴彦（東京大学）
所内対応者：久保義弘（生理学研究所）

（１）膜電位感受性蛍光タンパク質を用いた生体活動イメージング
〇坂本雅行[1,2]，阪東勇輝[2]，Taekyung Kwon[2]，Samuel Kim[2]，Darcy Peterka[2]，Vincent Pieribone[3]，井上昌俊[1]，尾藤晴彦[1]，Rafael Yuste[2]
（[1]東大・院医・神経生化学, [2]Columbia University NeuroTechnology Center, [3]Yale School of Medicine）

（２）再構成膜によるチャネル研究：非対称膜と配向再構成
岩本真幸，角野　歩，〇老木成稔（福井大・医・分子生理学領域）

（３）破骨細胞における電位依存性 H^+チャネルの内因性調節機構：無機リン酸の役割
〇久野みゆき，李　光帥，三浦克之，日野佳子，森浦芳枝，川脇順子，酒井　啓
（大阪市大・院医・分子細胞生理学）

（４）酸性 pH 検出蛍光プローブの開発および HER2 の細胞内取り込みスクリーニングへの応用
〇浅沼大祐，伊佐真幸，並木繁行，廣瀬謙造（東大・院医・神経生物学）

（５）カルシウムから見た細胞機能
〇飯野正光（[1]東大・院医・細胞分子薬理学，[2]日大・医・細胞分子薬理学）

（６）神経細胞内シグナル伝達の光操作と分子活性イメージング
〇村越秀治[1]，柴田明裕[1]，Ryohei Yasuda[2]，鍋倉淳一[1]（[1]生理研，[2]Max Planck Florida Institute）

（７）光学的「観察」と「操作」による大脳皮質局所回路・情報コーディング様式の解明
〇揚妻正和[1,2,3]，Jordan P. Hamm[3]，佐藤一誠[4]，永井健治[2]，Rafael Yuste[3]
（[1]JST さきがけ，[2]阪大・産業科学研究所，[3]Columbia University Dept. of Biology，[4]東大・院新領域）

（８）m2 ムスカリン性アセチルコリン受容体を介したシグナル伝達のダイナミクスとその制御
陳　以珊，〇古谷和春，倉智嘉久（阪大・院医・分子・細胞薬理学）

（９）成熟マウス大脳皮質における mGluR を介した経験依存性シナプス維持機構
〇大久保洋平[1]，久保田　淳[1]，三上義礼[1]，金丸和典[1]，関谷　敬[1]，飯野正光[1,2]
（[1]東大・院医・細胞分子薬理学，[2]日大・医・細胞分子薬理学）

【参加者名】

揚妻正和（大阪大学），長澤雅裕（群馬大学），中川祐子（群馬大学），久野みゆき（大阪市立大学），李　光帥（大阪市立大学），倉智嘉久（大阪大学），古谷和春（大阪大学），老木成稔（福井大学），廣瀬謙造（東京大学），浅沼大祐（東京大学），飯野正光（日本大学），大久保洋平（東京大学），村越秀治（生理学研究所），喜多村和郎（山梨大），上田（石原）奈津実（名古屋大学），尾藤晴彦（東京大学），藤井　哉（東京大学），坂本雅行（東京大学），竹本さやか（名古屋大学），坂口怜子（京都大学），平野　満（京都大学），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），陳　以珊（生理学研究所），粂　慎一郎（生理学研究所），Rizki Tsari Andriani（生理学研究所）

【概要】

本研究会では，細胞局所ドメイン，単一細胞，活動集団，全個体などにおける多元シグナルの同時計測技術に

よる計測における独自の方法論を開発したエキスパートを一同に集め，新たな細胞活動計測・操作法の現状について討論し，基幹的基盤技術のブレークスルーの戦略を議論した。

具体的には，神経細胞，破骨細胞や試験管内再構成を含めた多様な実験システムにおいて，シグナル伝達測定を試みている演者の講演を通じ，タンパク質・膜動態やタンパク質相互作用・膜電位などの生体ダイナミクスを精密測定する先端技術について紹介いただいた。その結果，１）膜動態，２）プロトン動態，３）カルシウム動態，４）細胞集団シグナル動態など多方面の研究成果について討議が進展した。生体シグナルダイナミクスの計測と操作が真に定量的なサイエンスとなるためには，多くのハードルが未だ存在することが確認された。特に，新規可視化システムを活用した生体シグナルダイナミクスの計測・操作技術が今後本当に花開くためには，細胞内外の事象を可視化・操作プローブ（いわばソフトウェア）の進歩と同時に，光学系を含む測定・操作工学（いわばハードウェア）の進展が不可欠であること，また細胞集団のダイナミクスを取り扱うためには自由度の高い多変数データをとり扱う生体情報工学の重要性が増していること，などが 2 日間の討論より明らかになった。

（1）膜電位感受性蛍光タンパク質を用いた生体活動イメージング

〇坂本雅行 [1,2]，阪東勇輝 [2]，Taekyung Kwon[2]，Samuel Kim[2]，Darcy Peterka[2]，
Vincent Pieribone[3]，井上昌俊 [1]，尾藤晴彦 [1]，Rafael Yuste[2]
（[1] 東大・院医・神経生化学, [2]Columbia University NeuroTechnology Center,
[3]Yale School of Medicine）

脳内の神経活動をリアルタイムに計測する方法として，神経細胞の電気的活動を光学シグナルに変換し画像化（イメージング）する技術が広く用いられている。近年では，細胞内カルシウムイオン濃度の変動を記録するカルシウムイメージングに加えて，膜電位感受性蛍光タンパク質を用いた膜電位イメージングが注目されている。ところが，遺伝子でコードされた膜電位センサー（Genetically encoded voltage indicator）を用いたイメージングは，培養細胞を用いた *in vitro* の系が中心で，生体（*in vivo*）での適用についてはほとんど報告がなされていなかった。今回，我々は新規膜電位センサー（ArcLight-MT）をマウス大脳皮質視覚野のニューロンに導入し，２光子励起顕微鏡を用いた *in vivo* 膜電位イメージングの実験系の確立をおこなった。その結果，新規膜電位センサーは視覚刺激に対する電位変化を 1 細胞レベルの解像度を保ったまま検出可能であることが明らかとなった。さらには，カルシウムイメージングでは観察することができなかった閾値以下の神経活動（UP state）の検出にも成功した。

（2）再構成膜によるチャネル研究：非対称膜と配向再構成

岩本真幸，角野　歩，〇老木成稔（福井大・医・分子生理学領域）

チャネルは細胞膜上でどのようにして機能を生み出すのか。その物理化学的基盤を明らかにする上で *in situ* のチャネルでは系が複雑で，利用できる方法論も限られる。そこで単純な膜組成での実験や高分解能の測定法が適用できる再構成膜での実験が必要になってくる。再構成膜の中でチャネル機能を測定するために最近，液滴 2 重膜法が開発された。私達はこれをさらに発展させた接触液胞 2 重膜法（Contact Bubble Bilayer [CBB]法）を開発した。この方法を使い KcsA カリウムチャネルの膜脂質依存性を検討したところ，膜内葉の負荷電リン脂質が

チャネル開口を維持することを明らかにし，またチャネルの脂質センサーを同定することができた。一方，膜に埋め込まれたチャネルの構造を明らかにするために原子間力顕微鏡（AFM）は有力な方法であるが，チャネル蛋白質を再構成する際，オリエンテーションがランダムになってしまう。そこで一方向の向きに再構成する方法を開発した。チャネルの向きを確認するために，カリウムチャネルのブロッカーである agitoxin-2（AgTx-2）の結合を AFM で観察した。AgTx-2 が細胞外に結合した状態を AFM で捉え，チャネルの向きが証明された。この方法によりチャネルの細胞外側と細胞内側の構造を観察できた。

（3）破骨細胞における電位依存性 H^+チャネルの内因性調節機構：無機リン酸の役割

○久野みゆき，李　光帥，三浦克之，日野佳子，森浦芳枝，川脇順子，酒井　啓
（大阪市大・院医・分子細胞生理学）

電位依存性 H^+ channel は，破骨細胞膜に発現する H^+ efflux 経路である。しかし，H^+ pump (V-ATPase)が酸分泌の主体としての機能的意義を確立しているのに対し，H^+ channel の役割は十分に理解されていない。その理由のひとつは，破骨細胞の H^+ channel 活性化を促進する内在性因子が特定されていないことである。骨の無機基質を構成する hydroxyapatite（リン酸カルシウム）の分解によって骨吸収窩では Ca^{2+} と共にリン酸(Pi)が増加する。高 Ca^{2+} は破骨細胞機能を抑制するが, Pi には抑制/促進の両側面が報告されている。今回，私達は RAW 細胞由来破骨細胞を用いて，H^+ channel に対する細胞外 Pi の効果を調べた。細胞外 Pi 濃度の増加に伴い，conductance の増加，gating の促進，activation curve の過分極シフトが起こり H^+ efflux が増大した。gating 促進は，conductance 増加に比べより低濃度の Pi で生じ, PKC の inhibitor (GF109203X, staurosporine)で部分的に抑制されたことから，チャネルリン酸化の関与が推測された。細胞外 Pi は活性酸素（ROS）産生も増強した。Pi のチャネル活性増進効果を手がかりに，破骨細胞における H^+ channel の役割が重要であることが明らかになった。

（4）酸性 pH 検出蛍光プローブの開発および HER2 の細胞内取り込みスクリーニングへの応用

○浅沼大祐，伊佐真幸，並木繁行，廣瀬謙造（東大・院医・神経生物学）

ヒト上皮成長因子受容体 2（HER2）は卵巣がんや乳がんなどの患者で過剰発現が認められ，予後の不良と強い相関がある。HER2 を過剰発現するがんの治療戦略として，HER2 の細胞内取り込みや分解による受容体シグナルの遮断は有望である。本研究では，既存のプローブと比較して光褪色耐性や酸性 pH 検出のダイナミックレンジが格段に優れた蛍光プローブの開発を基に，HER2 の細胞内取り込み作用を高感度かつ特異的に評価可能なハイスループットスクリーニング手法を構築した。受容体は細胞内に取り込まれるとエンドソームやリソソームなどの酸性細胞小器官へと輸送される。そのため，受容体に酸性 pH 検出蛍光プローブを特異的に標識することにより，受容体の細胞内取り込みに応じて蛍光強度の増大が生じる。本研究ではこれらの蛍光変化を指標として HER2 の細胞内取り込み作用を評価し，約 155,000 化合物のライブラリーから 3 種類のヒット化合物を取得した。いずれの化合物も HER2 の細胞内取り込み作用を顕著に示しただけでなく，HER2 の分解を引き起こした。開発した酸性 pH 検出蛍光プローブは，受容体やリガンドのエンドサイトーシスの可視化ツールとして有用であることが明らかとなった。

（5）カルシウムから見た細胞機能

○飯野正光（東大・院医・細胞分子薬理学，日大・医・細胞分子薬理学）

江橋節郎によって Ca^{2+}結合タンパク質「トロポニン」が骨格筋で発見され，Ca^{2+}が細胞内メッセンジャーとして広く認められてから 50 年ほどになる。トロポニン後の Ca^{2+}研究の最初の 10〜20 年は，筋収縮や開口放出などでの意義が知られるだけであった。その後，Ca^{2+}シグナルは，免疫，シナプス可塑性，発生など様々な機能との関連が明らかになり，Ca^{2+}が制御する細胞機能の数は爆発的に増加した。というより，おそらく全ての細胞においてCa^{2+}は何らかの機能に関与すると言っても言い過ぎではないかもしれない。Ca^{2+}は，カルモジュリン（トロポニンの類縁分子）を代表とする様々なCa^{2+}結合タンパク質を介して機能を発揮するが，Ca^{2+}が細胞内で多様な時空間動態を取り得ることもCa^{2+}の多機能性の要因となっていると言える。我々は，特に細胞内 Ca^{2+}ストアからの Ca^{2+}放出機構に着目して研究を進めてきた。これによって，Ca^{2+}放出の基本的性質が明らかになった。ひき続き，Ca^{2+}放出基本機構の理解に根ざし，これを切り口として細胞機能，とりわけ中枢神経系の機能を解析し，その一端が解明された。

（6）神経細胞内シグナル伝達の光操作と分子活性イメージング

○村越秀治 [1]，柴田明裕 [1]，Ryohei Yasuda[2]，鍋倉淳一 [1]
（[1] 生理研，[2]Max Planck Florida Institute）

我々は海馬神経細胞をモデルとして，シナプス可塑性機構を細胞内シグナル伝達の観点から調べている。特に，シグナル伝達の操作が可能な光応答性分子を独自に開発し，これを FRET（分子活性化）イメージングと組み合わせることにより新規の現象や機能を明らかにしたいと考えている。最近我々は，Phototropin1 の LOV2 ドメインを用いることで，青色光または 2 光子励起で CaMKII の活性を 1 ミクロンの空間分解能と秒レベルの時間分解能で可逆的に操作することができる光応答性 CaMKII の開発に成功した。この分子を用いることで，CaMKII 活性化がスパインの可塑的変化の惹起に必要十分であることを明らかにしたので，本発表ではこれについて報告したい。また予備的データではあるが，光応答性 CaMKII を 2 光子蛍光寿命イメージングによる FRET イメージングと組み合わせることで，これまで取得不可能であった単一シグナル経路の時空間分布を知ることが脳組織内の神経細胞で，しかも単一シナプスレベルで可能になってきた。

（7）光学的「観察」と「操作」による大脳皮質局所回路・情報コーディング様式の解明

○揚妻正和 [1,2,3]，Jordan P. Hamm[3]，佐藤一誠 [4]，永井健治 [2]，Rafael Yuste[3]
（[1]JST さきがけ，[2] 阪大・産業科学研究所，[3]Columbia University Dept. of Biology，[4] 東大・院新領域）

大脳皮質は，知覚，随意運動，思考，記憶など，様々な脳の高次機能を担っており，これまでに広く研究の対象とされてきた。脳機能とそれに伴う情報処理機構を理解する上で，そこで働く遺伝子を理解しただけでは不十分であり，個々の細胞レベルでの理解に加え，神経「群」としてのレベルでの活動を包括的に理解することが必要である。特に大脳皮質では，群としての同期的な活動が情報処理において必須である事が知られており，しかし同時に過剰な同期性はてんかんなどを引き起こすなど問題となる。したがって，同期性の正確な制御は正常

な脳機能を担うために非常に重要である。その背景を受け，私はこれまで光学的アプローチによる神経群活動の「観察」・「制御」を通して，大脳皮質局所神経回路における情報処理機構の解明を進めてきた。特に今回は，それら神経群の同期性制御に重要だと考えられてきた「パルブアルブミン（PV）陽性の抑制性神経」が，実際の情報処理においてどのような役割を担うかを中心にお話しさせて頂きたい。

（8）m2 ムスカリン性アセチルコリン受容体を介したシグナル伝達のダイナミクスとその制御

陳　以珊，○古谷和春，倉智嘉久（阪大・院医・分子・細胞薬理学）

m2 ムスカリン性アセチルコリン受容体（m2R）は G 蛋白質共役型受容体であり，三量体 G 蛋白質の Gα あるいは Gβγ サブユニットを介して細胞機能を制御する。心臓では，Gβγ を介して G 蛋白質活性化カリウムチャネルを活性化することでアセチルコリンによる心臓徐脈に関与する。この m2R によって引き起こされる細胞内シグナル伝達のダイナミクスを解析し，その分子機構の理解を目指した。m2R は生理的なリガンドであるアセチルコリンの他に種々の薬物によっても活性化されるが，細胞応答の大きさは薬物の種類によって異なる。その機構を解析した結果，まず，m2R に対するその部分活性化薬の結合は，従来から知られた G 蛋白質シグナルを活性化する作用に加えて，Gα サブユニットの GTPase 活性を増強する G 蛋白質調節蛋白質（RGS）4 の働きを引き出し，G 蛋白質シグナルを抑制する作用を併せ持つことが分かった。そしてこの抑制作用の強弱が，部分活性化薬の細胞応答の大きさを規定していることが明らかになった。さらに，細胞膜電位もこのシグナル伝達系を制御する重要なファクターのひとつであることを見出した。m2R の変異体を用いた解析から，m2R の膜電位依存的構造変化はシグナル伝達のダイナミクスを理解する上で重要だと考えられた。本研究から，m2R によって活性化される G 蛋白質シグナルのダイナミクスの分子機構とその精緻な制御が明らかになった。

（9）成熟マウス大脳皮質における mGluR を介した経験依存性シナプス維持機構

○大久保洋平[1]，久保田淳[1]，三上義礼[1]，金丸和典[1]，関谷　敬[1]，飯野正光[1,2]
（[1]東大・院医・細胞分子薬理学，[2]日大・医・細胞分子薬理学）

感覚などの経験入力に依存して惹起される大脳皮質可塑性は，動物が周囲の環境へ適応するための基盤である。幼若期のみならず成熟期においても経験依存性の可塑性が観察されるが，その機構には不明な点が多い。本研究では，成熟マウス大脳皮質における，ヒゲ切除依存性の可塑性を解析した。五日間のヒゲ切除により，ヒゲ入力に対応する大脳バレル皮質の第 4 層–第 2/3 層シナプスにおいて，前シナプス放出確率の低下が惹起された。このヒゲ切除依存性の放出確率低下は，5 型代謝型グルタミン酸受容体（mGluR5）の positive allosteric modulator の投与により阻害され，放出確率が維持された。さらに，ヒゲを切除しないマウスに対して mGluR5 の negative allosteric modulator を投与したところ，前シナプス放出確率低下を再現することができた。さらに，後シナプス側の第 2/3 層錐体細胞選択的に，イノシトール三リン酸（IP_3）分解酵素の過剰発現によって mGluR5 に共役する IP_3 産生を阻害したところ，前シナプス放出確率低下を再現することができた。以上より，成熟マウスにおいては，ヒゲ入力により第 2/3 層錐体細胞において mGluR5–IP_3 シグナルが持続的に活性化されることで，なんらかの逆行性機構を介して前シナプス機能が維持されており，この維持機構の遮断がヒゲ切除依存性の可塑性をもたらすことが強く示唆される。

３．膜システムの機能的・構造的統合

2016 年 9 月 8 日－9 月 9 日
代表・世話人：老木成稔（福井大学）
所内対応者：久保義弘（生理学研究所）

（１）角化細胞の接触阻害におけるアクトミオシン収縮力の役割
○平田宏聡 [1,2]，曽我部正博 [1]（[1] 名古屋大学大学院･メカノバイオロジーラボ，[2] R-Pharm Japan）

（２）ミトコンドリア Na^+-Ca^{2+}交換輸送体 NCLX を介した B リンパ球細胞機能制御
○竹内綾子 [1]，金　鳳柱 [2]，疋田正喜 [3]，松岡　達 [1]
（[1] 福井大学学術研究院医学系研究部門　統合生理学
[2]Seoul National University Dental Hospital Clinical Dental Research Institute
[3] 秋田大学理工学部生命科学科分子細胞生理学）

（３）嗅覚情報変換チャネルを修飾する物質探索
○竹内裕子，倉橋　隆（大阪大学大学院・生命機能研究科）

（４）破骨細胞のプロトン flux 機構
○久野みゆき，酒井　啓，李　光帥，森浦芳枝，日野佳子，川脇順子
（大阪市立大学大学院医学研究科分子細胞生理学）

（５）膜蛋白質動態の大規模解析を可能とする自動化 1 分子計測
○廣島通夫 [1,2]，安井真人 [1]，小塚　淳 [1]，佐甲靖志 [2]，上田昌宏 [1]
（[1] 理研 QBiC 細胞シグナル動態研究グループ，[2] 理研 佐甲細胞情報研究室）

（６）光熱変換ナノ材料による TRPV1 の光活性化
○中辻博貴，沼田朋大，諸根信弘，John E. Heuser，森　泰生，今堀　博，村上達也
（富山県立大学工学部生物工学科医薬品工学，
京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻分子生物化学分野，
京都大学大学院工学研究科分子工学専攻光有機化学分野，京都大学物質細胞統合システム拠点）

（７）光学顕微鏡技術の新展開：膜超分子モーターへの先進的な応用
○西坂崇之（学習院大学・理学部）

（８）Double-Barreled Pore Structure of the TMEM16A Calcium-Activated Chloride Channel
○TSUNG-YU CHEN
（Center for Neuroscience and Department of Neurology, University of California, Davis）

（９）哺乳類カリウムチャネル TWIK-1 の機能特性と，赤外分光を用いたイオンとの相互作用の解析
○塚本寿夫 [1]，中條浩一 [2,3]，久保義弘 [2]，古谷祐詞 [1]
（[1] 分子科学研究所･生体分子情報研究部門，
[2] 生理学研究所･神経機能素子研究部門，[3] 大阪医科大学･医学部･生理学教室）

（10）KCNE タンパク質による KCNQ1 チャネルの機能修飾機構とそれを検出する試み
○中條浩一 [1,2]，久保義弘 [2]，小野富三人 [1]
（[1] 大阪医科大学･医学部･生理学教室，[2] 生理学研究所･神経機能素子研究部門）

（11）hERG K^+チャネルの遅い脱活性化の，C 末端細胞内領域の構造基盤
○粂　慎一郎，久保義弘（生理学研究所･神経機能素子部門）

（12）Kir2.1 チャネルの細胞外 K^+に依存する透過と開閉のメカニズム
○柳（石原）圭子，鷹野　誠（久留米大学医学部 生理学講座 統合自律機能部門）

（13）原核生物由来ナトリウムチャネル NavAb における選択性フィルターを構成する残基の役割
○入江克雅，芳賀ゆかり，中村　駿，藤吉好則（名古屋大学･細胞生理学研究センター）
（14）チャネルを流れるイオンと水：ナノチューブの水・ナノ空洞の水
○老木成稔，炭竈享司，松木悠佳，岩本真幸（福井大学学術研究院医学系部門･分子生理学）

【参加者名】

曽我部正博（名古屋大学），平田宏聡（名古屋大学），相馬義郎（慶應義塾大学），廣島通夫（理化学研究所），佐甲靖志（理化学研究所），竹内綾子（福井大学），柳（石原）圭子（久留米大学），入江克雅（名古屋大学），村上達也（富山県立大学），中辻博貴（富山県立大学），老木成稔（福井大学），岩本真幸（福井大学），炭竈享司（福井大学），角野　歩（福井大学），久野みゆき（大阪市立大学），中條浩一（大阪医科大学），藤原祐一郎（大阪大学），倉橋　隆（大阪大学），竹内裕子（大阪大学），Chen Tsung-Yu（University of California），古谷祐詞（分子科学研究所），塚本寿夫（分子科学研究所），黒井邦巧（分子科学研究所），西坂崇之（学習院大学），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），陳　以柵（生理学研究所），粂　慎一郎（生理学研究所），Rizki Tsari Andriani（生理学研究所）

【概要】

生理研研究会「膜システムの機能的・構造的統合」では生理学のみならず生物物理学や最先端測定技術領域などからも若い人材を招き，チャネル分子から匂い応答，さらには実験法の人工知能による応用まで多彩なトピックスについて活発な討論を繰り広げることができた。研究対象はイオンチャネルの原子レベルのイオン透過・選択性から分子構造レベルの研究，さらに受容体・細胞膜・細胞レベルの研究まで広くカバーした。また測定法としても電気生理学をはじめ，結晶構造解析・一分子測定・分光学・シミュレーション・新しい顕微鏡など多彩な結果が発表され，他に例のない研究会になった。特に，イオンチャネルの分子レベルの研究では日本でこの研究会よりも深く議論される場はないと推察できる。これをもとに生理学の本道である生体機能のダイナミクスという共通項を基盤として深い議論が交わされた。参加者の専門領域が少しずつ異なるので，非常に緊張感をもった，相互に実り多い議論が交わされた。今後このメンバーの中から共同研究が育っていくことが期待される。発表・討論時間を十分にとったことで異なるバックグラウンドの研究者がお互いに理解することができた。討論も十分かみ合ったものであり，討論の時間が不足したと感じるほど，熱心な議論が繰り広げられた。外国人の参加も有意義であった。来年に向けてこの議論の輪を広げられるような新しいメンバー，特に若い研究者の参加を要請したい

（1）角化細胞の接触阻害におけるアクトミオシン収縮力の役割

○平田宏聡[1,2]，曽我部正博[1]（[1]名古屋大学大学院･メカノバイオロジーラボ，[2]R-Pharm Japan）

細胞密度の調節は組織の恒常性および器官サイズの制御に不可欠である。その主要な機構として，細胞稠密化による増殖の抑制（接触阻害）が知られている。上皮系細胞の接触阻害は，細胞間接着分子である膜蛋白質 E-カドヘリンが隣接細胞間で結合することにより引き起こされる。一方で，細胞内外の力学因子（アクトミオシン収縮力や細胞外基質弾性など）も稠密状態での細胞増殖に大きな影響を与えることが明らかになってきた。しかし，これらの力学因子がどのように E-カドヘリン同士の結合と協働して細胞増殖を調節するのか，その仕組みは不明である。本研究では，角化細胞をモデルとして，接触阻害における E-カドヘリン結合とアクトミオシン収縮力の役割を調べた。予想通り E-カドヘリン結合は角化細胞の接触阻害に必要であったが，接触阻害にはアク

トミオシンの活性も必要であり，アクトミオシンを阻害した条件では E-カドヘリン結合は細胞増殖をむしろ促進した。稠密状態の角化細胞は細胞頂端面近傍に顕著なアクトミオシン束のネットワークを形成し，その束端は E-カドヘリンによる細胞間接着構造に結合していた。アクトミオシン束と E-カドヘリンとの結合を阻害すると，細胞増殖が促進された。アクトミオシンにより生じる引張力の効果を調べるため，内在性のアクトミオシン活性を阻害した上で細胞外から E-カドヘリンに引張力を負荷したところ，細胞増殖は抑制された。これらの結果から，アクトミオシンによる E-カドヘリン接着構造への引張力の負荷が，角化細胞の増殖抑制に寄与するものと考えられた。

（2）ミトコンドリア Na^+-Ca^{2+}交換輸送体 NCLX を介した B リンパ球細胞機能制御

○竹内綾子[1]，金　鳳柱[2]，疋田正喜[3]，松岡　達[1]
（[1]福井大学学術研究院医学系研究部門 統合生理学
[2]Seoul National University Dental Hospital Clinical Dental Research Institute
[3]秋田大学理工学部生命科学科分子細胞生理学）

我々は，ミトコンドリア Na^+- Ca^{2+}交換輸送体 NCLX が，ミトコンドリアー（筋）小胞体クロストークを介して培養心筋細胞の拍動リズムや B リンパ球細胞の抗原受容体刺激に対する応答を制御することを報告した (Kim et al., *J Physiol*, 2012; Takeuchi et al., *Sci Rep*, 2013)。本研究では，B リンパ球の重要な機能のひとつである細胞遊走・走化に着目し，NCLX の寄与を調べた。siRNA による NCLX ノックダウンおよび NCLX ヘテロノックアウト B リンパ球細胞では，ランダムな動きが増大する一方，ケモカイン（CXCL12）に対する走化性は抑制された。NCLX ノックダウン・ノックアウト細胞では細胞内 Ca^{2+}濃度が増大すること，Ca^{2+}により制御される Rac1 の局在化やアクチン重合が増大することが，ランダムな動きの増大に寄与すると示唆された。一方，これらの細胞では CXCL12 によるミトコンドリアの局在化が認められないことが，走化性の消失に関与すると考えられた。

（3）嗅覚情報変換チャネルを修飾する物質探索

○竹内裕子・倉橋　隆（大阪大学大学院 生命機能研究科）

ワインで風味阻害を起こす 2,4,6-Trichloroanisole (TCA) が低濃度で嗅覚情報変換チャネルを抑制することは既に報告した。同様に風味の低下した多様な飲食品から TCA が検出されたので，チャネル抑制が幅広く風味を阻害する可能性が考えられる。そこで風味減少の全てが TCA のみに起因するかどうかをパッチクランプによる細胞実験と化学分析による物質検索，定量によって検証した。嗅細胞の応答抑制は，含有される TCA の効果より 1000 倍高い値を示し，実際の抑制は TCA 以外の物質が主因であることが明らかとなった。GC-MS を用いて，揮発成分による抑制がない食品と高い食品で TCA に類似した構造・効果を持つ物質の差分スクリーニング，物質同定を行ったところ，後者には新規の抑制物質が非常に高い濃度で含まれていた。見いだされた物質は農薬として食品に添付されたものであり，CNG チャネル阻害も確認されたので，風味低下を説明できる。従来，農薬使用においては安全性や基準値の設定ばかりが注視され，飲食品の風味に影響を与える可能性は完全な盲点であった。これは飲食品の風味減少が風味（匂い物質）そのものの減衰によるという従来の固定観念に人々が固執したことによる。近年明らかとされた嗅覚マスキングや風味阻害物質という新概念により，飲食品の質や QOL 上昇に係わる改良点を根底から見直すことになろう。

（4）破骨細胞のプロトン flux 機構

○久野みゆき，酒井　啓，李　光帥，森浦芳枝，日野佳子，川脇順子
（大阪市立大学大学院医学研究科分子細胞生理学）

破骨細胞は酸と酸性下で活性化される蛋白分解酵素を分泌して骨を溶解する。破骨細胞の機能調節の根幹は酸（H^+）動態の制御であると言っても過言ではない。骨溶解は，骨代謝の一端を担う重要な生理機能であるが，その程度が過ぎれば，骨粗鬆症に代表される「骨破壊」を引き起こすことになる。すなわち生理機能の亢進が病態へとつながる一例であり，「適度な機能状態」を保つために多様な feedback system が構築されている。私達は，電気生理学的に定量可能な electrogenic transfer を中心に，破骨細胞膜の H^+ flux 機構を解析し，既知のプロトンポンプ(Vacuolar H^+-ATPase, V-ATPase)，電位依存性プロトンチャネル以外にも H^+ flux 機構が存在することを示唆した。酸性環境で活性化される“H^+ leak”もそのひとつであり，破骨細胞においては，活性化条件の異なる複数の H^+ flux 機構の共存が，H^+動態の feedback 調節に寄与しているのではないかと推測している。未知の部分が多く残されているが，H^+ leak 機構を中心に，現時点での研究結果を報告する。

（5）膜蛋白質動態の大規模解析を可能とする自動化 1 分子計測

○廣島通夫[1,2]，安井真人[1]，小塚淳[1]，佐甲靖志[2]，上田昌宏[1]
（[1]理研 QBiC 細胞シグナル動態研究グループ，[2]理研 佐甲細胞情報研究室）

細胞膜上における蛋白質動態を理解するために，個々の分子について実時間で直接観察可能な 1 分子計測法は非常に有効な手法である。しかしこの手法では，焦点合わせなど顕微鏡操作に技量が求められるほか，蛍光ラベルされた分子の密度が計測に適当な細胞を探す必要があるうえ，データから有用な情報を取り出す解析方法の選択など，専門的な経験や知識が必要であることが多く，計測効率の向上を妨げている。

そこで，顕微鏡ステージへの試料プレートの搬送から焦点合わせ，計測に適当な細胞の探索，リガンドや薬剤の添加，画像取得から分子動態の解析に至る手順全てを自動化した機器を開発した。自動化にあたっては，ロボット技術や機械学習理論を取り入れた。また，ステージ上でプレートを長距離移動させても，高倍率対物レンズとの間のオイルが不足しないよう，オイルの自動供給装置も組み込んだ。

この機器を用いて，GFP と融合させた上皮成長因子受容体（EGFR）の細胞膜での分子動態を，プレートの 60 ウェル全てで自動計測をおこなった。また，リガンドの結合が，膜上での EGFR の側方拡散に変化を生じさせることを利用し，ウェル間でリガンド添加の有無を完全に見分けることにも成功した。このことは，種々の膜蛋白質の動態解析を効率良く大規模におこなうこと，また，分子機能に影響を与える薬剤を，分子動態を通じてスクリーニングすることが可能なことを示している。

（6）光熱変換ナノ材料による TRPV1 の光活性化

○中辻博貴，沼田朋大，諸根信弘，John E. Heuser，森　泰生，今堀　博，村上達也
（富山県立大学工学部生物工学科医薬品工学，
京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻分子生物化学分野，
京都大学大学院工学研究科分子工学専攻光有機化学分野，京都大学物質細胞統合システム拠点）

光を用いた細胞機能制御は，高い時空間分解能を持つ優れた細胞工学手法として optogenetics が開発されるなど盛んに研究が行われている分野である。本研究で我々は，生体透過性の高い近赤外光を吸収する光熱変換ナノ材料である金ナノロッド（AuNR）を用いることで熱感受性のイオンチャネル TRPV1 の光制御を目指した。しかし，その実現のためには AuNR の細胞表面への接着と細胞膜障害性を抑える必要がある。そこで，我々は AuNR の表面修飾に着目し様々な表面修飾剤で AuNR を被覆し比較評価を行った。その結果，膜傷害性・接着量の点で変異型高比重リポタンパク質が最も優れていることを見出した。TRPV1 発現細胞にこの AuNR を作用させ，近赤外光を照射することで速やかな Ca^{2+}細胞内流入が確認された。この現象は TRPV1 発現・AuNR 処理・光照射の全てに依存的であり，光照射された AuNR が細胞膜の透過性を上げることなく TRPV1 を加熱したことが示唆された。本手法は TRPV1 を内因性に発現する初代培養神経細胞にも適用可能であり，新たな光による細胞機能制御法として期待できる。

（7）光学顕微鏡技術の新展開：膜超分子モーターへの先進的な応用

○西坂崇之（学習院大学）

細胞が生命の最小単位として成立するためには，先ず外界から自身を孤立したシステムとして切り離す必要がある。それを実現しているのが生体膜である。そしてこのシステムと外界の間で行われる，情報とエネルギーのやり取りは，膜に局在する数々の機能を持った膜蛋白たちが担っている。この視点に立つと，彼らは生命をシステムとして成り立たせている主役級のデバイスと呼べるだろう。

これらデバイスの働いている姿をありありと画像化することは，生命を直接理解する究極のアプローチと言える。本研究グループでは，さまざまな原理と特徴を持つさまざまな光学顕微鏡技術によって，蛋白質が１分子のレベルで機能する様子をダイレクトに可視化する方法論を展開してきた。本講演では，生体のエネルギー通貨である ATP によって駆動される特徴的な膜蛋白の動作を紹介する。

１）ATP 合成酵素の構造変化の検出。F_1-ATPase は ATP 合成酵素の部分複合体であり，$\alpha_3\beta_3\gamma$ サブユニット複合体は世界最小の回転モーターとして機能する。蛍光色素１分子をマーカーとして，このモーターのエンジン部分であるβのダイナミックな構造変化を検出した。

２）アーキアのべん毛は見かけバクテリアに似ているが，その基部にあるモーターはまったく別のサブユニット構成・構造をしている。生命科学の未踏の領域であるこのアーキアモーターの研究基盤の構築を行った。

（8）Double-Barreled Pore Structure of the TMEM16A Calcium-Activated Chloride Channel

○TSUNG-YU CHEN（Center for Neuroscience and Department of Neurology, University of California, Davis.）

The TMEM16 family members are categorized into two functional groups: Ca^{2+}-activated anion channels and phospholipid scramblases. Recently, X-ray crystallographic studies have revealed the molecular structure of a TMEM16

member (nhTMEM16), including the dimeric nature of the molecule and the locations of critical acidic residues that form the calcium-binding site. The nhTMEM16 structure, however, does not provide definitive information regarding the pore architecture of TMEM16 molecules. We have exploited the effect of mutating those acidic residues forming the Ca^{2+}-binding site, and constructed covalently-linked tandem dimers of TMEM16A, in which the Ca^{2+}-binding affinities of the two subunits differ significantly. The dose-response curves of such tandem dimers suggest that the two subunits of the TMEM16A channel appear to be activated independently. We also took advantage of the I-V curve rectification of the channel containing a mutated pore residue, and paired the pore residue mutation with the mutation that alters Ca^{2+} affinity in the same or different channel subunit. The results demonstrated that activation of different subunits appears to be associated with the opening of different pores. These results suggest that the TMEM16A Ca^{2+}-activated Cl^- channel may adopt a "double-barrel" pore architecture, similar to that found in CLC channels/transporters.

（9）哺乳類カリウムチャネル TWIK-1 の機能特性と，赤外分光を用いたイオンとの相互作用の解析

〇塚本寿夫[1]，中條浩一[2,3]，久保義弘[2]，古谷祐詞[1]
（[1]分子科学研究所・生体分子情報研究部門，
[2]生理学研究所・神経機能素子研究部門，[3]大阪医科大学・医学部・生理学教室）

カリウムイオンを選択的に透過するカリウムチャネルは，細胞の膜電位を生み出すために重要である。カリウムチャネルが高いイオン選択性を示すメカニズムについては，主に細菌のカリウムチャネル KcsA の結晶構造に基づいて，選択フィルタと呼ばれる部位とイオンとの相互作用様式から理解されている。最近，溶液中のイオン種を交換する際の赤外吸収スペクトルの変化から KcsA とイオンとの相互作用を解析する手法が報告され (Furutani et al., 2012, 2015)，イオン交換に伴う主鎖カルボニル基の微細な構造変化を解析することが可能となった。

現在までに，哺乳類が持つ種々のカリウムチャネルの結晶構造も多数解かれた結果，高いカリウム選択性を示すチャネルのみならず，ナトリウムイオンを透過しうることが知られている two-pore 型カリウムチャネル TWIK-1(KCNK1, K2P1)でも，選択フィルタ部位の構造が保存されていることが明らかになった。そこで今回私たちは，TWIK-1 の「緩い」イオン選択性が生み出されるメカニズムを理解するために，野生型および選択フィルタ部位の変異体について，リポソームに再構成した精製タンパク質を用いて，イオン選択性を評価すると共に，イオン種の交換に伴う赤外吸収スペクトル変化を比較した。得られた結果から，TWIK-1 の特異なイオン選択性が生じるメカニズムについて考察する。

（10）KCNE タンパク質による KCNQ1 チャネルの機能修飾機構とそれを検出する試み

〇中條浩一[1,2]，久保義弘[2]，小野富三人[1]
（[1]大阪医科大学・医学部・生理学教室，[2]生理学研究所・神経機能素子研究部門）

電位依存性カリウムチャネルの一種である KCNQ1 は，１回膜貫通型のタンパク質 KCNE によってその性質を大きく変える。例えば KCNE1 はゲーティングと電位依存性に大きく影響することで，KCNQ1 チャネルを開きにくくする。一方 KCNE3 が共発現すると，KCNQ1 チャネルは電位依存性をほぼ失い，常時開いたカリウムチャネルになる。したがって，同じファミリーに属するタンパク質でありながら，KCNE1 と KCNE3 は KCNQ1 に対してそれぞれ真逆に作用するといえる。最近の Voltage clamp fluorometry などの実験により，KCNE1 および

KCNE3 が実際に電位センサーの動きをそれぞれ変化させ，その結果 KCNQ1 チャネルの開閉状態の平衡に影響を与えていることが明らかになってきた。しかしながら，KCNE1 と KCNE3 がなぜ真逆の作用を持つのか，その仕組みについてはよくわかっていない。

我々は最近ゼブラフィッシュの KCNQ1, KCNE1 オーソログ（*zKcnq1*, *zKcne1*）をそれぞれクローニングし，その機能を解析した。zKcnq1 と zKcne1 の組み合わせでは，ヒトの KCNQ1-KCNE1 チャネルと同様，非常に遅いゲーティングを持つ電流を発現した。興味深いことに，zKcnq1 とヒト KCNE1 の組み合わせでは，KCNQ1＋KCNE3 のような常に開状態のチャネルになり，ヒト KCNQ1 と zKcne1 の組み合わせでは KCNQ1＋KCNE1 よりもさらに開きにくいチャネルに変化した。以上のことから，KCNQ1 と KCNE1 の相互作用について，ヒトと魚類の間に互換性がないことがわかったが，それと同時に KCNQ1 と KCNE タンパク質の相互作用と機能修飾の多様性について理解するための，新たな手掛かりとなると考えられた。

（11）hERG K^+チャネルの遅い脱活性化の，C 末端細胞内領域の構造基盤

○粂　慎一郎，久保義弘（生理学研究所 神経機能素子部門）

電位作動性 K^+チャネルファミリーの hERG チャネルは，脱活性化が極めて遅く，これには細胞内ドメインの関与が知られている。このうち，C 末端側細胞内領域に存在する C リンカードメイン（CLD）と，それに続く環状ヌクレオチド結合相同ドメイン（CNBHD）も，遅い脱活性化の制御に重要であることが示唆されてきた。我々はこれまでに，CLD の Asp727 と CNBHD の Arg752 が，静電的に相互作用しており，この相互作用が遅い脱活性化の制御に重要であることを明らかにした。また，CLD の Arg696 と CNBHD の Asp767 間の相互作用も示した。

本研究では，これらの相互作用が起きているのがサブユニット間かサブユニット内かを確認することを目的として，いずれかの場合のみ静電相互作用できる組み合わせとなるように変異を導入した二種類のタンデムコンストラクトを作製し，ツメガエル卵母細胞を用いた電気生理学的解析を行った。その結果，どちらの相互作用においても，サブユニット内相互作用のみが想定されたタンデムコンストラクトでのみ，遅い脱活性化が観察された。また，同様にタンデムコンストラクトを用いて，静電相互作用のペアの数を変化させた際の脱活性化への影響を解析した。その結果，静電相互作用が少なくなるにつれて脱活性化が加速したことから，相互作用の個数に依存した制御機構が示唆された。

（12）Kir2.1 チャネルの細胞外 K^+に依存する透過と開閉のメカニズム

○柳（石原）圭子，鷹野　誠（久留米大学医学部 生理学講座 統合自律機能部門）

強い内向き整流性を示す Kir2.1 チャネルは，心筋の静止電位を決定し，神経の興奮性を制御する K^+チャネルである。このチャネルは構造上，膜電位センサーを持たない２回膜貫通型ファミリーに属し，強い内向き整流性をもたらす開閉機構は，有機カチオンである細胞内ポリアミンによる電位依存性ブロックによるとされている。このチャネルは細胞外に K^+が無い状態で完全に抑制され（K^+-free 抑制），K^+透過性は細胞外 K^+濃度のほぼ平方根に比例して増加することが知られている。また細胞外 K^+濃度が変化すると，チャネル開閉の電位依存性は K^+の電気化学ポテンシャル勾配に依存してシフトすることも知られている。これらの現象は，細胞外 K^+濃度の変動（高 K^+血症，低 K^+血症）や，虚血に伴う細胞内 K^+減少に対する心筋や神経機能の変化を理解する上で重要であるが，そのメカニズムは未だ十分に解明されていない。昨年の研究会において我々は Kir2.1 の K^+-free 抑制は細

胞内ポリアミンの作用で生じることを示し，チャネルはK^+を含まない細胞外液中で開いていることを報告した。本研究会では，さらに Kir2.1 の K^+の透過性と開閉機構の細胞外 K^+依存性について最近得られた知見を報告したい。

（13）原核生物由来ナトリウムチャネル NavAb における選択性フィルターを構成する残基の役割

○入江克雅，芳賀ゆかり，中村　駿，藤吉好則（古屋大学･細胞生理学研究センター）

膜電位感受性ナトリウムチャネル（Nav）による Na^+イオンの選択的な透過は神経細胞の軸索上での活動電位の伝播という神経情報伝達の中心的な役割を担っている。我々は，Nav の Na^+イオン選択性の分子基盤の理解を目指し，単純な構造を持つ原核生物由来 Nav（NavBac）の一種である NavAb の X 線結晶構造解析を行っている。

NavBac の選択性フィルターを構成するアミノ酸配列は“TLESW”である。これらの残基の主鎖及び側鎖が水溶液中では水和イオンとして存在する Na^+イオンの水和水の代わりとなることで，Na^+イオンの選択的な透過が可能になると考えられている。しかしながら，選択性フィルターのどの原子が水和水の代わりとして機能するかは確定されていない。そこで，様々なイオンを含む条件での選択性フィルター内の電子密度の違いを調べた。結晶構造において，選択性フィルターが形成するイオン透過経路内では，加えたイオンの半径と水和水との交換速度の違いに応じて電子密度の違いが観測された。

得られた構造に基づきこれらの残基の変異体のイオン透過活性を解析することで，イオン半径を選別する残基と水和水の代わりの酸素を担う残基を同定したのでこれについて報告する。

（14）チャネルを流れるイオンと水：ナノチューブの水・ナノ空洞の水

○老木成稔，炭竈享司，松木悠佳，岩本真幸（福井大学学術研究院医学系部門･分子生理学）

カリウムチャネルは，イオンや水分子が一列になって透過する細い領域（選択性フィルタあるいはナノチューブ）と数十個の水分子で満たされたナノ空洞が連なってポアを形成する。チャネルを流れるイオンは単独では流れず，水の流れを伴っている。とくにナノチューブではイオンと水の流れが連動する。様々なカリウムチャネルの水／イオン流束比測定によってイオン透過の共通性が明らかになり，従来の knock-on 機構が成り立たないことを示した。この仮説に代わる新しい透過機構を探るために，分子動力学シミュレーションによって得られたイオン軌跡を解析するための新しい方法（event-oriented 法）を確立した。その結果，ナノ空洞には最大一個のイオンしか占有せず，ナノ空洞に一個のイオンが入るとナノチューブ内のイオンが動き始めることが明らかになった。これはナノ空洞内の水分子がイオンを完全に遮蔽しないことによる。プロトン透過ではナノチューブ内の水分子はさらに重要な役割を果たす。Polytheonamide B チャネルは内径 4 Å，長さ 45 Å のナノチューブ構造を持ち一価陽イオンを透過する。プロトンの透過性は他の一価陽イオンの数十倍に達し，プロトンジャンプ（Grotthuss）機構であることがわかる。単一チャネル電流記録でプロトン透過に整流性があることを発見した。この整流性の原因はポア内の水分子が配向を逆転させる過程で起こることを解明した。

４．天然薬物研究方法を考える若手の会

2016 年 10 月 15 日

代表・世話人：浜田幸宏（愛知医科大学病院 薬剤部 室長）

所内対応者：池中一裕（生理学研究所 分子神経生理研究部門）

（１）唾液腺分泌の生理学と漢方薬の作用

村上政隆（自然科学研究機構 生理学研究所）

（２）潰瘍性大腸炎の寛解期から活動期に至るバイオマーカーの検索

○楠　欣己（くすのき よしき）[1]，五十嵐信智[1]，落合　和[1]，杉山　清[1,2]

（[1] 星薬科大学薬動学教室，[2] 星薬科大学食品動態学研究室）

（３）大黄甘草湯の連日投与による腸内微生物叢に与える影響と下剤活性変化

○髙山健人（たかやま けんと）[1]，井上雄平[1]，宮地りな[1]，川村彩佳[1]，篠原沙緒里[1]，

髙重朱未[1]，田淵紀彦[2]，福長将人[2]，岡村信幸[1]

（[1] 福山大学薬学部 漢方薬物解析学研究室，[2] 福山大学薬学部 分子微生物学研究室）

（４）慢性咳嗽に八味地黄丸の効果を認めた咳喘息の一例

○服部知洋，矢久保修嗣*，上田ゆき子*，相馬正義*，橋本　修

（日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野，内科学系総合内科･総合診療医学分野*）

（５）月経関連片頭痛に対する加味逍遥散の予防効果の検討

○仁平敦子，佐光一也，溝渕雅広，阿部剛典，中原岩平（中村記念病院 神経内科）

（６）大建中湯の薬理作用機序解析を目的とした胃運動減弱モデル動物（機能性ディスペプシアモデル）の確立

押　範之 (おし のりゆき)，橋本和樹，今井　拓，田嶋公人，○堀江俊治

（城西国際大学 薬学部 薬理学研究室）

（７）漢方方剤「香蘇散」の社会的ストレス誘発うつ様行動および脳内炎症に及ぼす影響

○伊藤直樹[1]，廣瀬栄治[2]，石田達哉[3]，堀　厚[1,4]，永井隆之[1,2,5]，小林義典[1,3]，清原寛章[1,2,5]，

及川哲郎[1]，花輪壽彦[1,4]，小田口　浩[1]

（[1] 北里大学東洋医学総合研究所，[2] 北里大学大学院感染制御科学府，

[3] 北里大学薬学部，[4] 北里大学大学院医療系研究科，[5] 北里大学北里生命科学研究所）

（８）香蘇散煎剤及び慢性社会的敗北ストレスの免疫系に対する作用の解析

○廣瀬栄治（ひろせ えいじ）[1]，伊藤直樹[2]，及川哲郎[2]，永井隆之[1,2,3]，小田口　浩[2]，清原寛章[1,2,3]

（[1] 北里大学大学院感染制御科学府，[2] 北里大学東洋医学総合研究所，[3] 北里大学北里生命科学研究所）

（９）エピジェネティクスに注目した漢方薬，生薬の脳・精神機能改善作用のメカニズム解析

○荒木良太（あらき りょうた），矢部武士（摂南大学 薬学部 複合薬物解析学研究室）

（10）アルツハイマー型認知症モデル動物の空間記憶障害および行動・心理症状に対する発酵オタネ人参の効果

○長尾昌紀[1]，森山博史[2]，久保田直樹[2]，藤田柊平[2]，山野　聡[2]，構木結花[2]，

渡辺拓也[1,2]，窪田香織[1,2]，桂林秀太朗[2]，岩崎克典[1,2]

（[1] 加齢脳科学研究所，[2] 福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室）

（11）ピオグリタゾン誘発末梢性浮腫に対する五苓散の効果

○条　美智子，柴原直利（富山大学 和漢医薬学総合研究所 漢方診断学分野）

（12）五苓散による血管内皮細胞の遊走抑制作用

○村上一仁（むらかみ かずひと），堀江一郎，礒濱洋一郎（東京理科大学薬学部・応用薬理学研究室）

（13）フラボノイドの一酸化窒素産生抑制作用に関する検討

○蒋　文君（しょう ぶんくん），高宮知子，北中進，飯島　洋（日本大学薬学部）

（14）新規モルヒネ生産システムの構築を目指したベルベリン資化性菌によるベルベリン分解能の解析

○石川和樹（いしかわ かずき）[1]，武田尚[1]，笠井大輔[2]，若菜大悟[1]，佐藤文彦[3]，福田雅夫[2]，細江智夫[1]
（[1] 星薬科大学 薬化学教室，[2] 長岡技術科学大学 環境微生物工学研究室
[3] 京都大学大学院 生命科学研究科 統合生命科学専攻 細胞全能性発現学講座）

（15）十全大補湯によるがん免疫抑制に関わる骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）の分化および機能の薬理学的調節

○斎藤賢治（さいとうけんじ），今野真理子，堀江一郎，礒濱洋一郎
（東京理科大学 薬学部 応用薬理学研究室）

【参加者名】

髙山健人（福山大学薬学部 漢方薬物解析学研究室），長尾昌紀（福岡大学 脳加齢科学研究所），蒋 文君，飯島 洋（日本大学薬学部生体機能化学研究室），田代眞一（病態科学研究所），清原寛章，永井隆之，出野智史，山中恭平，佐藤仁一，出原麻由，伊藤寛文，廣瀬栄治，中村友紀（北里大学・北里生命科学研究所・和漢薬物学研究室），伊藤直樹（北里大学・東洋医学総合研究所・臨床研究部），楠　欣己（星薬科大学薬動学教室），石川和樹（星薬科大学薬化学教室），仁平敦子（中村記念病院 神経内科），斎藤賢治，村上一仁，堀江一郎，礒濱洋一郎，（東京理科大学薬学部 応用薬理学研究室），条美智子（富山大学和漢研漢方診断学），荒木良太（摂南大学 薬学部 複合薬物解析学研究室），堀江俊治（城西国際大学 薬学部 薬理学研究室），松本すずか，稲葉健二郎（総合相模更生病院 薬剤部），赤瀬朋秀（日本経済大学大学院 経営学研究科），矢久保修嗣（日本大学医学部内科学系総合内科･総合診療医学分野），田中久貴（医療法人社団 北樹会病院 内科），安田勝彦（関西医科大学総合医療センター 産婦人科），堀井周文，吉田翔太（クラシエ製薬㈱ 漢方研究所 分析研究グループ），里　史明，酒井寛泰（星薬科大学 疾患病態解析学），篠原精一（㈲朋成），小松靖弘（㈲サン自然薬研究所），山下弘高（岐阜薬科大学 薬理学研究室），吉﨑克明（秋田リハビリテーション学院 理学療法学科），奥野憲治（武田薬品工業㈱），服部知洋（日本大学医学部 内科学系呼吸器内科学分野）

【概要】

平成28年度10月15日（土）の1日間，生理学研究所コンファレンスセンターにて研究会を開催した。研究会開催に際しては天然薬物研究方法論アカデミーコアメンバーを中心に演題を募集したところ，他施設からも多く発表希望が寄せられ，本研究会への関心の高さがうかがわれた。

単一成分からなる一般薬剤と異なり，天然薬物は多成分系で多臓器への薬理作用があると推定されるため，その作用機序解明には，天然薬物に適した独自の研究方法が必要とされている。 さらにその研究に携わる若手研究者が年々減少しており，この分野で若手研究者の育成が急務となっている状況である。基礎医学から臨床に至るまで多角的な視野で天然薬物の作用機序解明していく必要がある。実際，本研究会においてはIn vitroで唾液腺を直接刺激する漢方薬の探索に始まり，漢方薬の腸内微生物叢への影響，漢方薬作用解析のための新しい動物モデル開発，行動解析，漢方薬からの新規薬剤の開発などのIn vitroやvivoの基礎研究，創薬，また漢方処方の新規適応の可能性に関する臨床報告と，漢方薬の作用解明に関する多彩な研究成果が報告された。当日の研究会には42名の参加者があり，15題の研究発表に対して制限時間を超えて多くの質疑が行われた。討論の中から得られた知見をもとに，各研究の今後の発展と共に，新たな天然薬物研究基盤の確立に至ることを期待したい。

（1）唾液腺分泌の生理学と漢方薬の作用

村上政隆[1]，魏 飛[2]，魏 睦新[3]，成田貴則[4]，杉谷博士[4]
（[1] 自然科学研究機構生理学研究所，[2] 南京薬科大学，[3] 南京医科大学，[4] 日本大学 生物資源科学部）

唾液分泌減少は，喉が乾き，掠れ声となり，食物を飲込み難く，食物の味も分からなくなる。副交感神経刺激薬は水分分泌を起こすが，他の臓器にも刺激効果が現れ副作用となる。漢方薬の中に副作用を含まず唾液分泌効果のある物質を見つければ，有用な薬物の利用に繋がる。

我々はラット灌流顎下腺を作成し血管灌流を行い，分泌導管にも挿管し，唾液を電子天秤秤量皿においたカップに溜まる唾液の重量を一定時間ごとに測定し，分泌速度を計算した。唾液分泌刺激の対照として，ムスカリン受容体刺激薬カルバコール（CCh）で刺激し，薬物を洗い流した後，漢方薬の単独効果を５分間測定し，続いてCCh刺激を重畳して増強効果を検討した。漢方薬として，玄参，地黄，沙参，天花粉，葛根など 20 種類を用いた。うち 15 種類で唾液分泌増強が観察された。増強は１）持続期全般を緩やかに増強する，２）持続期にも継続して増強し最大となり，転じて急速に低下し低値を保つ，３）持続期に継続して増強し最大値の後緩やかに減少する，３種類に分類され，３パターンは漢方薬の分類に対応する傾向があった。さらに単独で分泌を誘発した丹参（danshen, DS）について検討したので報告する。

漢方薬の探査実験を通じて，分泌細胞にのみ影響する薬物はむしろ稀であり，単一細胞レベルで観察された事象が複合細胞系（臓器など）に当てはまるかどうかは血管系を含む灌流腺で確認する必要がある。

（2）潰瘍性大腸炎の寛解期から活動期に至るバイオマーカーの検索

○楠　欣己（くすのき よしき）[1]，五十嵐信智[1]，落合　和[1]，杉山　清[1, 2]
（[1] 星薬科大学薬動学教室，[2] 星薬科大学食品動態学研究室）

【背景】潰瘍性大腸炎（UC）は，大腸粘膜に潰瘍が生じる活動期と症状が消失する寛解期を繰り返す完治が困難な疾患である。我々は，寛解期から活動期に移行するステップを予防する方法論を見出す目的で，UC 寛解期の病態を評価することができるバイオマーカーの検索を行った。具体的には，肝臓の薬物代謝酵素 cytochrome P450 （CYP）に着目し，UC の病態と CYP の発現変動を調べた。

【方法および結果】UC モデルは，マウスに 3.5％デキストラン硫酸ナトリウム水溶液を飲水させることにより作製した。UC マウスの肝臓における CYP1A, CYP2C, CYP2D，CYP2E および CYP3A の発現量は，いずれも大腸の病変が最も重篤な 10 日目（活動期）において著明に低下していた。それに対して，大腸病変が消失する 50 日目（寛解期）では CYP2C のみ発現低下が認められた。また，この発現低下の原因として考えられる血中リポ多糖（LPS）は，CYP2C と類似の挙動を示した。これらの結果は，CYP2C および LPS が UC の寛解期のバイオマーカーとなり得ることを示している。

【結論】本研究の結果から，健常な状態における UC の予兆（未病）を知るためのバイオマーカーに CYP2C や血中 LPS がなり得るものと考える。これらのバイオマーカーは，活性の穏やかな漢方薬や天然物の UC に対する効果を評価するために有用と考えられる。

（3）大黄甘草湯の連日投与による腸内微生物叢に与える影響と下剤活性変化

○髙山健人（たかやま けんと）[1]，井上雄平[1]，宮地りな[1]，川村彩佳[1]，篠原沙緒里[1]，
髙重朱未[1]，田淵紀彦[2]，福長将人[2]，岡村信幸[1]
（[1] 福山大学薬学部 漢方薬物解析学研究室，[2] 福山大学薬学部 分子微生物学研究室）

本研究では食餌内容により腸内微生物叢のパターンを変化させ，大黄甘草湯（DK）の連日投与による腸内微生物叢に与える影響と下剤活性の変化を検討した。ddY系マウス（４週齢）に高炭水化物（HC），高脂肪（HF），高タンパク質（HP）および高繊維飼料（HFB）を１週間摂取させ，DK やセンノシド A（SA）を連続５日間経口投与して下剤活性の変化を評価した。同時に試料投与前に糞便を採取して terminal restriction fragment length polymorphism（T-RFLP）を用いて腸内微生物叢の変動を検討した。HC 飼料摂取下で，SA 投与群の下剤活性は投与３日目から有意に抑制したが，DK 投与群の下剤活性は維持された。この傾向は HF 飼料摂取下における下剤活性の変化においても確認された。HP 飼料摂取下では，いずれの群も下剤活性に有意な変化は認めなかった。HFB 飼料摂取下では，DK の下剤活性は投与２，３日目に有意な抑制を受け，投与５日目には１日目と同等までに下剤活性が回復した。一方腸内微生物叢はどの試料投与においても投与翌日から大きく変化している。この変化は下剤により多くの腸内細菌が便と排泄され，食餌内容の偏りにより腸内微生物叢の乱れ（dysbiosis）が生じたためと推測される。特に HC および HF 飼料摂取下においては，いずれも Bacteroides の存在割合が増加する傾向を認めた。

（4）慢性咳嗽に八味地黄丸の効果を認めた咳喘息の一例

○服部知洋，矢久保修嗣*，上田ゆき子*，相馬正義*，橋本　修
（日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野，*内科学系総合内科・総合診療医学分野）

【緒言】咳嗽で受診する症例は多い（2 ヶ月以上継続する場合を慢性咳嗽と定義）。症例によっては漢方薬の著効例もあり，咳嗽診療での漢方薬の役割は重要である。

【目的】慢性咳嗽に対する八味地黄丸の有用性等を検討する。

【症例】38 歳，女性。既往歴　35 歳　慢性咳嗽，咳喘息，花粉症。

【現病歴及び経過】平成 2X 年 5 月 25 日 1 週間咳が止まらずと受診。聴診や胸部 X-P 異常なし。既往歴も考慮し気管支炎，咳喘息と診断，抗生剤，β2 刺激薬貼付剤，ロイコトリエン受容体拮抗薬（LTRA），麦門冬湯等を処方。6 月 8 日再診。18 時から咳がひどくなるとのこと，高用量ICS/LABA を開始, 麻杏甘石湯に変更。15 日再診。普段の呼吸で胸痛あり，咳ができない。職場が替わり，コミュニケーションは完全でない。咳発作の継続と判断，経口ステロイドを 3 日間処方，柴朴湯に変更。以降も咳発作が継続，経口ステロイドを 2 回処方，効果と徐々の改善あり。7 月 6 日再診。夕方の咳は持続。上記漢方薬の効果を認めず，長期咳嗽や職場移動等による身体疲弊を考慮，腎虚と判断し八味地黄丸を処方。13 日再診，内服 3 日目から夕方の咳はほぼ消失。効果ありと判断し内服を継続。以降，八味地黄丸を徐々に減量，9 月終わりに廃薬。減量中から現在まで 3 回感冒症状あり，対症療法で改善。現在も ICS/LABA，LTRA，抗アレルギー薬は継続し安定している。

【考察】難治性咳嗽に八味地黄丸の効果を認める場合があり，作用機序の解明が必要と考えられた。

（5）月経関連片頭痛に対する加味逍遥散の予防効果の検討

○仁平敦子，佐光一也，溝渕雅広，阿部剛典，中原岩平（中村記念病院 神経内科）

月経関連片頭痛は，症状が重篤で発作期間が長引きやすく治療抵抗性である。一方，加味逍遥散は冷え症，月経不順，月経困難，更年期障害に効果のある漢方薬である。月経関連片頭痛症例に加味逍遥散を処方し，頭痛予防効果を検討した。対象は 2016. 5 月から 7 月頭痛外来再来を受診した月経関連片頭痛の診断にて加味逍遥散を服用している 37 例（女性）である。処方前後の頭痛頻度，程度について後方視的に検討した。その結果 2 例は下痢のため内服を中止した。35 例の平均年齢は 39.4（15-53）歳，前兆のない片頭痛が 26 例であった。加味逍遥散処方前の頭痛頻度は平均 8.7（3-21）回/月，そのうち，排卵期や月経周辺の発作が 5.9（1-17）回/月，重症度は寝込むほどが 10 例, 家事, 仕事に支障ありが 25 例であった。処方後最も改善した時期の頭痛頻度は平均 5.1（1-10）回/月，排卵期・月経周辺の発作が 3.2（1-9）回/月，重症度が楽になったと答えたのは 25 例であった。頻度も重症度も変わらない症例は 4 例, 悪化したのは 1 例であった。改善がみられた 30 例の効果発現時期は 4.1（1-10）カ月であった。このうち 2 か月以内に効果が見られたのは 9 例であった。月経関連片頭痛は対照群が「女性，月経」と限定され，漢方薬の評価を行いやすい。加味逍遥散の効能に頭痛はないが，月経関連片頭痛の予防に加味逍遥散が有効である可能性がある。

（6）大建中湯の薬理作用機序解析を目的とした胃運動減弱モデル動物（機能性ディスペプシアモデル）の確立

押　範之（おし のりゆき），橋本和樹，今井　拓，田嶋公人，○堀江俊治
（城西国際大学 薬学部 薬理学研究室）

大建中湯は下部消化管だけでなく胃など上部消化管への薬理作用も期待されている。我々は大建中湯の胃運動作用が評価できる覚醒下マウスの 13C 呼気テスト法を確立した。動物は ddY 系雄性マウス 6〜9 週齢を用いた。13C 標識酢酸（6.4 mg/kg）は肝代謝の結果 13CO2 として呼気中に排泄される。この呼気を酢酸投与後 90 分間採取，標準ガス（95%O2＋5%CO2）との 13C 量の差から胃運動の変化を測定した。ワサビ辛味成分アリルイソチアシネート（AITC: 1〜100 mg/kg），大建中湯（30〜1000 mg/kg）は経口投与，胃腸運動改善薬であるイトプリド（30, 100 mg/kg），モサプリド（1 mg/kg），および，ネオスチグミン（30 μg/kg）は皮下投与した。正常マウスで大建中湯の胃運動亢進作用は検出できず，AITC を用いて胃運動減弱モデルマウスを作製した。AITC は肉眼的な胃粘膜傷害性を生じず機能性ディスペプシアの症状を呈した。本モデルで各種胃腸運動改善薬は，低下した胃運動を回復させた。大建中湯 100 mg/kg を経口投与したところ，最大作用，最大作用発現時間，総胃運動量というパラメータにおいて胃運動の回復作用を示した。しかし，その程度は胃腸運動改善薬に比して弱いものであった。今回確立した胃腸運動減弱モデルを用いることで漢方薬のマイルドな作用を検出することができた。

（7）漢方方剤「香蘇散」の社会的ストレス誘発うつ様行動および脳内炎症に及ぼす影響

○伊藤直樹[1]，廣瀬栄治[2]，石田達哉[3]，堀厚[1,4]，永井隆之[1,2,5]，小林義典[1,3]，清原寛章[1,2,5]，
及川哲郎[1]，花輪壽彦[1,4]，小田口浩[1]
（[1]北里大学東洋医学総合研究所，[2]北里大学大学院感染制御科学府，
[3]北里大学薬学部，[4]北里大学大学院医療系研究科，[5]北里大学北里生命科学研究所）

【背景と目的】これまでに我々は，環境ストレス誘発うつ様モデルマウスを用いて，漢方方剤香蘇散（KS）の抗うつ様効果並びにその作用機序の一部を明らかにしてきた。しかし，社会的ストレス誘発抑うつ様症状に対する KS の有効性は定かではない。そこで，社会的ストレスモデルとして頻用されている chronic social defeat stress（CSDS）モデルを用いて，抑うつ様行動並びに脳内炎症反応に対する KS の効果を解析した。

【方法】CSDS モデルマウスは，10 日間（10 分間/日）の social defeat stress 負荷により作製した。KS（1 g/kg/day）は 12 日間経口投与し，social interaction 試験の社会性接触行動の変化により抑うつ様行動を評価した。灌流固定後脳を採取し，Iba1，CX3CR1，NLRP3 に対する抗体を用いて免疫染色を行い，各種陽性細胞数を計測した。また，マウス脳由来培養 microglia から LPS 刺激により産生される IL-6 を測定した。

【結果】CSDS 負荷による社会性接触行動の低下は，KS 投与により抑制された。CSDS 負荷でで増加した海馬 Iba1 陽性細胞（microglia）は，KS 投与によって抑制された。また，CSDS 負荷で認められた海馬 CX3CR1 陽性細胞（抗炎症型 microglia）の減少は，KS 投与によって増加した。一方，CSDS 負荷で増加した NLRP3 陽性細胞（炎症型 microglia）は，KS 投与で減少しなかった。さらに，CSDS 負荷によって増強された培養 microglia からの IL-6 産生は，KS 投与により抑制された。

【考察】KS は社会的ストレスで誘発される抑うつ様行動に対して改善効果を発揮し，その効果には社会的ストレス誘発脳内炎症反応の抑制が一部関与している可能性が示された。

（8）香蘇散煎剤及び慢性社会的敗北ストレスの免疫系に対する作用の解析

○廣瀬栄治（ひろせ　えいじ）[1]，伊藤直樹[2]，及川哲郎[2]，永井隆之[1,2,3]，小田口浩[2]，清原寛章[1,2,3]
（[1]北里大学大学院感染制御科学府，[2]北里大学東洋医学総合研究所，[3]北里大学北里生命科学研究所）

【目的】臨床で抑うつ症状に処方される香蘇散（KS）は，免疫関連疾患の食餌性蕁麻疹にも処方され，免疫系に対する作用が抗うつ効果に関連する可能性がある。そこで，慢性社会的敗北ストレス（CSDS）と KS の免疫系に対する作用をうつ様モデルマウスを用いて検討した。【方法】CD-1 マウス（リタイヤ，♂）にテストマウス（C57BL/6 及び BALB/c，8 週齢，♂）を攻撃させることによりモデルを作製した。うつ様状態は強制水泳試験（FST）と social interaction 試験（SIT）により評価し，KS 煎剤は 1 g/kg/day で 10 日間経口投与した。行動試験後，血清と気管支肺胞洗浄液（BALF）を採取し総抗体価を ELISA で，また，脾臓細胞を調製し，ConA または LPS 存在下で培養した培養上清のサイトカイン量を ELISA で測定した。【結果】C57BL/6 では CSDS により有意に延長した FST の無動時間が KS により有意に短縮し，CSDS により有意に減少した SIT の接触行動が KS により有意に増加した。BALB/c では KS により FST の無動時間が有意に短縮し，SIT の忌避行動が有意に減少した。また，CSDS 負荷 C57BL/6 由来脾臓細胞では ConA 刺激で IL-1β 産生が有意に増加し，LPS 刺激で IL-6 産生が有意に増加した。BALB/c では LPS 刺激で IL-6 産生が有意に増加し，KS 投与で ConA 刺激での IL-6 産生が有意に減少した。C57BL/6 で CSDS により低下した血清総 IgG が KS により有意に回復し，BALB/c で BALF 総 IgG が CSDS により有意に低下した。【考察】CSDS 及び KS が全身免疫系に影響を与える可能性が示唆された。

（9）エピジェネティクスに注目した漢方薬，生薬の脳・精神機能改善作用のメカニズム解析

○荒木良太（あらき　りょうた），矢部武士（摂南大学 薬学部 複合薬物解析学研究室）

本研究ではコルチコステロン（CST）慢性投与マウスを用いて，エピジェネティクス機構を指標とした，漢方薬（帰脾湯 : KH）や生薬（オンジ : OJ）の作用機序解明を試みた。CST 慢性投与マウスは，7 週齢の ddY 系雄性マウスに 1 日 1 回 14 日間 CST（40 mg/kg）を皮下投与することで作製した。KH（1000 mg/kg）と OJ エキス（20 mg/kg）は 1 日 1 回 14 日間，CST 投与と同時にマウスに経口投与した。このマウスで，行動解析と海馬における神経新生，神経栄養因子の遺伝子発現，DNA のメチル化の解析を行った。CST 慢性投与マウスの強制水泳試験の無動時間増加に対して，KH および OJ エキスは改善作用を示した。神経新生減少に対して，KH は改善作用を示したが OJ エキスは改善作用を示さなかった。一方，神経栄養因子 GDNF の mRNA 発現量減少に対して，KH は改善作用を示さず，OJ エキスは改善作用を示した。CST 慢性投与は GDNF 遺伝子プロモーター領域における DNA メチル化を増加させた。このメチル化増加に対して，KH は改善作用を示したが OJ エキスは改善作用を示さなかった。KH は CST 慢性負荷による神経新生抑制および GDNF 遺伝子 DNA メチル化を予防する作用を有するものと推測された。一方で，OJ は神経新生や DNA メチル化には影響を与えないものの, GDNF の発現を誘導する作用を有するものと考えられた。

（10）アルツハイマー型認知症モデル動物の空間記憶障害および行動・心理症状に対する発酵オタネ人参の効果

○長尾昌紀[1]，森山博史[2]，久保田直樹[2]，藤田柊平[2]，山野　聡[2]，構木結花[2]，
渡辺拓也[1,2]，窪田香織[1,2]，桂林秀太朗[2]，岩崎克典[1,2]
（[1] 加齢脳科学研究所，[2] 福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室）

アルツハイマー型認知症（ATD; Alzheimer-type dementia）は早期予防対策が最重要で，近年サプリメントによる ATD の発症予防や進行抑制が注目され始めている。オタネ人参はサプリメントとして販売されており，認知症に有効であることが期待されているが，科学的根拠は少ない。我々はこれまでの研究から，ATD モデルラットで空間記憶障害と行動・心理症状である不安，徘徊様行動を示すことを明らかにしている。本研究でオタネ人参の発酵活性化合物（FG: Fermented Ginseng ; 長瀬産業から提供）が ATD モデルラットの病的行動変化に有効であるか検討した。Wistar 系雄性ラットに 10 分間の全脳虚血を処置した後，amyloid-β 1-42 凝集体の 7 日間脳室内投与を行って ATD モデルラットを作製した。脳虚血処置後に FG を 1 日 1 回 7 日間経口投与した。記憶の評価は水迷路課題を，不安様行動は高架式十字迷路課題を，徘徊様行動は 24 時間自発運動量を用いて評価した。ATD モデルラットは空間記憶の障害，不安様行動の増加と徘徊様行動の増加を示した。これらの変化に対して, FG 投与は改善効果を示した。これは ATD の記憶障害だけでなく，行動・心理症状に対しても FG は有効であることが示唆された。従って，FG の摂取により ATD の発症予防や進行抑制が期待される。

（11）ピオグリタゾン誘発末梢性浮腫に対する五苓散の効果

○条　美智子，柴原直利（富山大学 和漢医薬学総合研究所 漢方診断学分野）

五苓散は電解質異常改善効果や腎保護作用を併せ持つ漢方方剤である。ピオグリタゾンはインスリン抵抗性改善薬であるが，末梢性浮腫，電解質異常や糖尿病悪化の危険性も指摘されている。我々は 8 週齢の雄 GK ラットに塩酸ピオグリタゾンを胃ゾンデにて経口投与し，通常飼料（Cont 群・PGZ 群），あるいは 0.5%および 1%に調製した五苓散エキス粉末含有飼料（0.5%GRS 群・1%GRS 群），スピロノラクトン含有飼料（Spi 群）を 8 週間投与した。経過中は一週間毎に体重・食餌摂取量，血糖値を測定し，投与期間終了後に血液，尿，腎臓を採取し，腎機能パラメータ，腎組織中のチャンネル及びトランスポータータンパク質発現量を検討した。腎機能パラメータの 1 つである BUN は Cont 群に比べ PGZ 群・Spi 群・1%GRS 群では有意に低下した。飲水量および尿量は，PGZ 群・Spi 群と比較し，五苓散投与により有意な減少を示した。血糖値の経時的変化を検討したところ，第 5 週目～6 週目の血糖値は, Spi 群, 0.5%および 1%GRS 群が Cont 群に比べて有意に減少していた。五苓散群の腎皮質における AQP3 タンパク質発現量は Spi 群と比較して有意に低下した。五苓散はピオグリタゾンによる多飲多尿の悪化を改善し，その効果はスピロノラクトンと同等であると考えらる。ピオグリタゾンと五苓散の併用療法は糖尿病に対して有効である可能性が示唆された。

（12）五苓散による血管内皮細胞の遊走抑制作用

○村上一仁（むらかみ かずひと），堀江一郎，礒濱洋一郎（東京理科大学薬学部・応用薬理学研究室）

【背景・目的】五苓散は代表的な利水薬であるが，近年では, 本方剤が慢性硬膜下血腫の再発を著明に抑制するという臨床報告がなされている。慢性硬膜下血腫の病態では, 未熟な血管の新生とその破壊が繰り返されることで血腫の肥大を来たし増悪する。従って，再発予防には，脆弱な血管の新生を抑制することが重要であるため, 血管内皮細胞の遊走に対する五苓散の作用を調べた。

【方法】実験標本には，ヒト血管内皮細胞株 HUVEC 細胞を用い，本細胞の遊走能は Scratch Assay 法で調べた。また，タンパク質の発現は western blot 法にて検出した。

【結果・考察】HUVEC 細胞の遊走は，血管内皮増殖因子 (VEGF) によって亢進されたが，五苓散の処理濃度依存的に抑制され，最大濃度ではコントロールの約 50%と著明な抑制作用を示した。また，VEGF 受容体の下流シグナルである ERK のリン酸化は五苓散によって抑制された。細胞遊走の抑制は ERK 阻害薬である U0126 にも認められたことから，五苓散の作用は少なくとも一部，VEGF シグナルの抑制を介していると考えられた。一方，水チャネル aquaporin-1 (AQP1) も内皮細胞の遊走に重要であるが，五苓散はこの AQP1 発現も有意に減少させることが分かった。これらの成績は，五苓散を用いた慢性硬膜下血腫の再発予防の実効性を裏付けるとともに, 血管新生が関わる他の疾患への五苓散の適用を示唆する重要なデータであると考えている。

（13）フラボノイドの一酸化窒素産生抑制作用に関する検討

○蒋　文君（しょう ぶんくん），高宮知子，北中　進，飯島　洋（日本大学薬学部）

【背景】我々は，マクロファージにおける一酸化窒素産生抑制を指標として，抗炎症作用が知られている生薬から NO 産生抑制活性を持つフラボノイドを単離し，それらのフラボノイドの分子構造と抑制活性には相関があることを

見出した。より広い多様性を求めてフラボノイドを合成しその活性を検討した。合成標的骨格として，構造活性相関モデルから活性を持つであろうと推定されたフラボン（chromen-4-one）と，天然からは活性物質が得られ難いフラボノノール（3-hydroxychroman-4-one）を選んだ。

【方法及び結果】フラボノイドの合成 : フラバノノールについてはキラルカラムでエナンチオマーを分けた。NO 産生抑制試験 : マクロファージ様 RAW264.7 細胞に LPS/IFN-γ 及び試験体を加え，16 時間培養後，上清を採取し遊離した NO2-量を Griess 法により測定し，NO 産生抑制率を求めた。フラバノノールはラセミ体として合成されることに着目し, エナンチオマーを分離しそれぞれの活性を比較した。NO 産生抑制結果には明確な立体特異性が見出された。（2R,3R）体は天然フラバノノールに一般的な立体異性体であるが，（2S,3S）異性体よりも強い抑制効果を示した。特に(2R,3R)-2’,3’-dihydroxy 体に最も強い抑制効果があった。

【結論】フラボノイドの構造活性相関モデルから設計したフラボン誘導体が高い活性を示したことに加え, フラボノノールが示す抑制活性には立体特異性があった。このことは, マクロファージ細胞には, フラボノイドが標的とする生体分子が存在する可能性を強く示唆する。

（14）新規モルヒネ生産システムの構築を目指したベルベリン資化性菌によるベルベリン分解能の解析

○石川和樹（いしかわ かずき）[1]，武田尚 [1]，笠井大輔 [2]，若菜大悟 [1]，佐藤文彦 [3]，福田雅夫 [2]，細江智夫 [1]
（[1] 星薬科大学 薬化学教室，[2] 長岡技術科学大学 環境微生物工学研究室
[3] 京都大学大学院 生命科学研究科 統合生命科学専攻 細胞全能性発現学講座）

モルヒネを含むオピオイド類は，臨床上重要な医薬品であるが，これらの工業的合成方法は確立しておらず，未だにケシ由来の天産品に依存している。当研究室では，オピオイド類の安定生産を目的に，同じ生合成経路を有するベルベリン（BBR）を原料とする，微生物を利用した新しい生産システムの構築している。演者らは，既に単離した BBR 資化性菌 Sphingobium sp. BD3100 株および Rhodococcus sp. BD7100 株の BBR 分解能を利用して BBR をモルヒネと共通する生合成中間体に変換し，モルヒネの生産を目指した検討をした。BBR の分解産物を同定するため，2 種の BBR 資化性菌による BBR の分解挙動を分析した。分解産物は, NMR により同定した。また，BBR 分解に関与する遺伝子を特定するため，トランスポゾンベクターにより，BD7100 株の BBR 分解能が欠損した遺伝子変異株を作製し，BBR 分解遺伝子の同定を試みた。両菌株による BBR 誘導体の分解産物として，新規化合物を含む 7 種の構造を決定した。また，BD7100 株の BBR 分解能欠損株 TA140 株の取得に成功し，BBR の脱メチレン化に関与する遺伝子 brdA を特定した。2 種の BBR 資化性菌の BBR および BBR 誘導体の分解経路の一部を明らかにした。分解産物の構造からモルヒネの生合成中間体の生産に繋がる酵素の存在が示唆された。

（15）十全大補湯によるがん免疫抑制に関わる骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）の分化および機能の薬理学的調節慎重

○斎藤賢治（さいとう けんじ），今野真理子，堀江一郎，礒濱洋一郎
（東京理科大学 薬学部 応用薬理学研究室）

十全大補湯などの補剤が免疫系を活性化し，がん転移を抑制できることはよく知られている。しかし，補剤の詳細な作用機序は未だ不明である。一方，近年，骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）と呼ばれる細胞群が注目されている。MDSC は T 細胞やマクロファージの増殖・機能を抑制し，特に担がん状態での免疫能の低下と密接な関係にある。そこで本研究では，補剤がこの MDSC に作用するのではないかという仮説のもと，in vitro および in

vivo の実験を行った。

雄性 C57BL/6J マウスから単離した骨髄細胞を IL-6, GM-CSF を含む培地で 4 日間培養し，MDSC へと分化誘導した。薬物は本培養系の培養液に添加し，MDSC は CD11b，Gr-1 両陽性細胞として flow cytometry で検出した。

十全大補湯は in vitro での骨髄細胞から MDSC の分化を濃度依存的（0.1-1 mg/ml）に抑制し，同時に免疫抑制因子である arginase-1 mRNA 発現を減少させた。また，脾臓より単離した T 細胞との共培養実験から，十全大補湯存在下に培養した MDSC では T 細胞増殖抑制能が有意に減弱し，十全大補湯は骨髄細胞から機能的な MDSC への分化を直接抑制すると考えられた。十全大補湯の各構成生薬の作用も調べたところ，本作用の一部には茯苓が重要であると考えられた。さらに, in vivo の実験でも，肺がん転移モデルマウスの骨髄および脾臓の MDSC は顕著に増加したが，十全大補湯の経口投与により，この増加が抑制された。これらの成績は，十全大補湯の免疫調節作用に MDSC の分化抑制が一部関わることを示唆している。

５．視知覚の総合的理解を目指して ー 生理学，心理物理学，計算論

2016 年 6 月 9 日－6 月 10 日

代表・世話人：本吉　勇（東京大学大学院総合文化研究科）

所内対応者：小松英彦（生理学研究所）

（１）周辺視野における視覚情報の時空間統合

寺尾将彦（山口大学時間学研究所）

（２）異種感覚入力によって生じる視知覚への抑制効果

日高聡太（立教大学現代心理学部）

（３）身体意識と身体近傍空間

松宮一道（東北大学電気通信研究所）

（４）視覚機能の初期発達と脳内機構の実験的検討

楊　嘉楽（東京大学・日本学術振興会）

（５）サッケード眼球運動前後の視空間定位の連続性に関わる神経機構

稲場直子（北海道大学大学院医学研究科・医学部医学教育推進センター）

（６）変視症の定量化

松本長太（近畿大学医学部）

（７）両眼立体視を支える２つの計算過程とその神経メカニズム

藤田一郎（大阪大学大学院生命機能研究科）

（８）脳から視覚イメージを解読する

神谷之康（京都大学大学院情報学研究科）

（９）視知覚を生み出す脳活動　-操作的手法を用いた検討-

天野　薫（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター）

(10) 畳込みニューラルネットワークのより良い学習へ向けて：多様体上の最適化手法

岡谷貴之（東北大学大学院情報科学研究科）

(11) 多感覚的な素材質感の脳内表現とその形成

郷田直一（生理学研究所）

(12) メダカの視覚認知　～バーチャルリアリティによる行動解析～

渡辺英治（基礎生物学研究所）

(13) 視覚質感認識とその制御

河邉隆寛（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

(14) 物体の視覚記憶を司るマカクザル大脳皮質の局所回路と大域ネットワークのメカニズム

平林敏行（放射線医学総合研究所）

【参加者名】

寺尾将彦（山口大学），稲場直子（北海道大学），松宮一道（東北大学），藤田一郎（大阪大学），日高聡太（立教大学），松本長太（近畿大学），楊　嘉楽（東京大学），神谷之康（京都大学），天野　薫（情報通信研究機構），岡谷貴之（東北大学），渡辺英治（基礎生物学研究所），河邉隆寛（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），平林敏行（放射線医学総合研究所），本吉勇（東京大学），西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），南　宇人（大阪大学），田村秀希（豊橋技術科学大学），平松千尋（九州大学），田村　弘（大阪大学），鯉田孝和（豊橋技術科学大学），篠森敬三（高知工科大学），塩入　諭（東北大学），金子寛彦（東京

工業大学），三輪拓馬（東京工業大学），門野泰長（東京工業大学），張　奇（東京工業大学），宮西雄太（東京工業大学），斉藤亮太（東京工業大学），前田悠貴（東京工業大学），三好秀佳（東京工業大学），湯淺健一（情報通信研究機構），佐藤宏道（大阪大学），岡嶋克典（横浜国立大学），村瀬健二（東京工業大学），正岡明浩（近畿大学），若井宏平（㈱クリイノ創研），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），若山曉美（近畿大学），高橋里佳（近畿大学），小原慶太郎（理化学研究所），福島邦彦（ファジィシステム研究所），二瓶裕司（豊橋技術科学大学），小林　葵（近畿大学），山口真美（中央大学），金沢　創（日本女子大学），氏家悠太（中央大学），佐藤夏月（中央大学），鶴見周摩（中央大学），村上孝輔（中央大学），岡崎那耶（近畿大学），村上郁也（東京大学），佐藤多加之（理化学研究所），西田知史（情報通信研究機構），藤田瑞希（大阪大学），大石浩輝（大阪大学），鶴原亜紀（航空医学実験隊），高村優作（畿央大学），鈴木一隆（浜松ホトニクス），稲吉宏明（産総研），田島大輔（東京工業大学），MARIO FREDRICKO（東京工業大学），中山拓哉（東京工業大学），高橋啓介（愛知淑徳大学），古田みなえ（愛知淑徳大学），山田幸奈（愛知淑徳大学），中山遼平（東京大学），小濱剛（近畿大学），井出正和（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），馬場孝之（㈱富士通研究所），伊藤嘉房（藤田学園），勝又綾介（帝京大学），竹村浩昌（情報通信研究機構），仲田穂子（東京大学），岡部昌子（（元）大同大学建築学科），髙橋伸子（愛知淑徳大学），河島則天（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），佐藤雅之（北九州市立大学），南　哲人（豊橋技術科学大学），堺　浩之（豊田中央研究所），萩尾華子（名古屋大学），鈴木　航（国立精神・神経センター），中村遥香（東京工業大学），木村匠吾（東京工業大学），岸　紗綾（愛知淑徳大学），佐藤弘美（工学院大学），村井祐基（東京大学），山崎大暉（京都大学），久保俊明（三菱電機株式会社），行松慎二（中京大学），小島伸俊（花王㈱）

以下，生理学研究所

近添淳一，谷川　翼，西東倫太郎，加藤利佳子，唐木智充，長谷川拓，山本勇祐，吉田正俊，吉村由美子，佐治俊幸，小松英彦，郷田直一，横井　功，眞田尚久，西尾亜希子，馬場美香

【概要】

平成 28 年度生理学研究所研究会「視知覚の総合的理解を目指して-生理学，心理物理学，計算論」は，平成 28 年 6 月 9，10 日に岡崎コンファレンスセンター中会議室において開催された。生理学・脳計測 6 件，心理物理学・動物行動学・眼科学 7 件，計算論 1 件の合計 14 件の講演があり，参加者は 106 名であった。初日は，まず寺尾氏が周辺視における時空間情報統合が眼球運動制御に及ぼす効果を報告した。次に日高氏が聴覚や触覚入力による視覚処理の抑制について論じた。松宮氏は身体に張り付く視覚表現を例証する心理物理実験を紹介した。楊氏は質感や色カテゴリ認知の生後発達に関する研究を紹介した。稲場氏は視覚世界の連続性を支える神経基盤に関する生理学知見を紹介した。松本氏は変視症の定量的計測に関する新しい効率的な手法を紹介した。藤田氏は両眼立体視に関わる相関計算と対応計算という二つの処理について論じた。神谷氏は fMRI 信号から夢や mind wandering の内容をデコードする研究について紹介した。天野氏は DecNef 法に基づく色知覚の制御とアルファ波の個人差や電気的操作による知覚意識の変容について紹介した。岡谷氏は深層学習に基づく視覚認知をめぐる諸問題の現状と展望を論じた。郷田氏は視覚と触覚に基づく質感知覚の脳内表現に関する研究を紹介した。渡辺氏は画像の操作と行動解析に基づきメダカの視覚認知機構に迫る研究を紹介した。河邉氏は動的な質感認知の仕組みとそれを応用したメディア技術を紹介した。平林氏は物体の連合学習と視覚記憶の基盤となる側頭葉神経回路のダイナミクスを紹介した。研究の対象とアプローチが多様であり互いにインスパイアされるところの多い非常に有意義な研究会であった。

（1）周辺視野における視覚情報の時空間統合

寺尾将彦（山口大学 時間学研究所）

私たちの視野のほとんどは空間解像度の低い周辺視野で占められている。位置信号は網膜上で時空間的に散在しており，荒い空間解像度の周辺視野では位置情報は曖昧になりやすい。不安定な位置情報は安定的な知覚や効率的な眼球運動制御に致命的であるにもかかわらず，普段我々は位置の曖昧性に気づく事はない。位置の曖昧性を補償する何かしらの巧妙な情報処理が視覚系には存在しているはずである。これに関して，今回周辺視野での位置知覚や眼球運動制御に時空間的に複数の位置信号を平均化した位置情報が利用される事を示す幾つかの研究を報告する。近年，周辺視野ではある刺激の見かけの位置はその近傍に存在する他の刺激の位置との間の平均的な位置として知覚される現象が報告された(Greenwood et al, 2009)。報告者はこの現象を利用し幾つかの知見を得た。まず，この空間的な平均化が知覚だけでなくサッカードの位置計算にも利用されることを見出した。これは空間的平均化が知覚とサッカードの両方で利用できる処理過程で生じることを示唆している。この平均化のサッカードへの影響は潜時が 70-140ms と短い場合でも認められた。これは，平均化が非常に素早く成立することを示唆する。さらに，対象と近傍刺激が同時に存在するときだけでなく，近傍刺激が時間的に後から呈示された場合でも見かけの位置の空間的平均化が生じることを見出した。これはある時間的な広がりをもって位置情報が空間的に平均化されることを示している。また，この逆行的な平均化の効果はサッカードでも認められた。驚くべきことに，後から呈示された近傍刺激がサッカードのオンセット直前（40-80 ms）であってもこの効果は認められた。これはサッカードのオンセット直前でサッカードのための位置情報の参照が行われることを示唆している。これらの結果は周辺視野では複数の位置信号をある時空間的な窓で素早く要約することで，位置の曖昧性を解消し安定的な知覚や眼球運動制御を実現していることを示唆している。

（2）異種感覚入力によって生じる視知覚への抑制効果

日高聡太（立教大学現代心理学部心理学科）

隣人の声が別の音（例えば電車の走行音）によって聞こえなくなるように，ある感覚情報は，同一感覚上における別の入力によって抑制される。こうした知覚的な抑制効果は，個々の感覚情報に対する脳内の神経活動が直接的に相互作用することで生じることが指摘されている。近年，異なる感覚情報に応答する細胞群が感覚連合領域のみならず感覚皮質領域にも存在すること，またある感覚入力（例えば視覚）が別の感覚（例えば聴覚）領域の活動を抑制することも報告されている。このことから異種感覚間で知覚的な抑制効果が生じると考えられるが，人を対象とした心理実験では報告されていなかった。

我々は，手に提示された触覚入力によって視覚方位弁別成績が低下するという視覚的な抑制効果を新たに見いだした。この効果は，視触覚入力を空間的に一致した位置に提示した時，また時間的に近接して提示した時に選択的に生じた。さらに，聴覚入力によっても同様の視覚抑制効果が生じ，現象特性が触覚による視覚抑制効果と極めて類似することも確認した。また，触覚による視覚抑制効果に関わる脳活動を, fMRI を用いて検討した。視触覚刺激が空間的に一致せず抑制効果が生じ得ない場面では，刺激の提示によって視覚領域および体性感覚領域に相当する領域の活動が上昇した。一方，視触覚刺激が空間的に一致し抑制効果が生じ得る場面では，視覚，体性感覚，感覚連合，および皮質下領域において活動の低下がみられた。また，視触覚刺激が空間的に一致する場面において，抑制効果が生じた群では，効果が生じなかった群に比べ，視覚および体性感覚領域の一部に活動の増加がみられ，体性感覚領域の活動変化量と視覚抑制効果の強度との間には正の相関があることも分かった。

以上の知見から，異種感覚入力による視知覚の抑制効果は知覚的な処理段階において生じ，複数感覚入力に伴う抑制的および促進的な神経活動の相互作用が現象に寄与することが示唆された。

（3）身体意識と身体近傍空間

松宮一道（東北大学電気通信研究所）

私たちは，自分の手を使って様々な物体を操作する。もし，見えている自分の手を自分の手と認識できないなら，手作業を上手く実行することができないことは容易に想像がつくだろう。実際に，前頭葉や頭頂葉に損傷を受けた患者は見えている自分の手が自分のものでないように感じることが報告されており，この手の身体意識を失うと日常の手作業に重大な支障をきたすことが指摘されている。しかし，これまで手の身体意識に関する研究は，単に手を見せるだけで手技操作を伴わない状況で研究が行われてきたため，手の身体意識が手の行動制御においてどのような役割を持つのかに関する解明はほとんど進んでいない。本研究では，運動残効を利用して，動かしている手に対して生じる身体意識と手の周囲の動き知覚の関係を調べた。運動残効は，ある一定の視覚的な動き（順応刺激）をしばらく観察した後，物理的に静止したパターン（テスト刺激）を見ると，テスト刺激が順応刺激と反対方向に動いているように知覚される現象である。この現象は，通常，順応刺激とテスト刺激が網膜上で同じ位置にあるときに生じる。しかし，我々は，順応刺激とテスト刺激が見ている手に対して同じ位置に呈示されていれば，網膜上で刺激の位置が一致していなくても運動残効が生じることを発見した。さらに，この運動残効は，見えている手を自分の身体の一部であると感じ，かつ，能動的にその手を動かしているときだけ生じた。これらの結果は，見えている手に対して身体意識があると，その手の周囲で生じる運動残効が手に対する位置の選択性を持つことを示している。これは，自己の手と感じる手を能動的に動かすことが手中心座標系の空間知覚表象を誘発していることを意味する。このような空間知覚表象は手の周囲にある物体に向けて手を動かす際に効率的な知覚表象となるため，身体近傍の物体とのインタラクションにおける身体意識の機能的役割を示唆している。

（4）視覚機能の初期発達と脳内機構の実験的検討

楊　嘉楽（東京大学・日本学術振興会）

我々が日常に体験している複雑な視知覚世界は，どのように形成されるのだろうか。その発達プロセスを解明するため，発表者はこれまで，乳児を対象とした実験を行ってきた。本発表では，以下の 2 つの研究成果を中心に報告する。

視覚系では複雑な画像から不変項を抽出すると同時に，照明や視点に依存する情報を無視することにより，知覚の恒常性が成立する。例えば，成人では光沢感の変化が容易に検出できる一方で，照明環境を反映する映り込みの変化に気づかない。このような情報処理の発達過程を明らかにするため，生後 3-8 ヶ月の乳児を対象に，物体の光沢の変化に対する感度と，映り込みパタンの変化に対する感度を，選好注視法により検討した。実験の結果，3-4 ヶ月児は映り込みの変化を検出できたのに対し，5-6 ヶ月以降で検出不可能となった。一方で，光沢の変化は 7-8 ヶ月にならないと検出できないという，相補的発達過程が示された。このことから，物体の高次特徴を処理する能力を獲得する以前の段階にある 3-4 ヶ月児は，成人が無視する局所的な画像情報に反応し，特殊な「前-恒常性視覚（pre-constancy vision）」を持つことが示唆された（Yang et al., 2015, *Current Biology*）。

言語による影響が強いと言われてきた「カテゴリカル色

知覚」に対し，言語獲得前の乳児で色カテゴリに関わる脳内処理が存在することを NIRS（近赤外分光法）で示すことができた。実験では，生後 5-7 ヶ月児と成人を対象に，左右後側頭領域の脳血流反応を計測した。その結果，成人も乳児も，色カテゴリ内の色の変化と比べ，色カテゴリ間の色の変化を観測する際に，Oxy-Hb が上昇することが判明した。さらに，色カテゴリの変化に伴って生起する脳活動反応は，後側頭領域と初期視覚野とで異なることが示された。これらにより，言語獲得前の乳児に色カテゴリが存在し，カテゴリカル色知覚は言語と独立した生理学的基盤を持つことが示唆された（Yang et al., 2016, *PNAS*）。

（5）サッケード眼球運動前後の視空間定位の連続性に関わる神経機構

稲場直子（北海道大学大学院医学研究科・医学部医学教育推進センター）

眼を動かすと，眼球運動の前後で網膜に映った外界の視覚像の位置はずれる。しかし，私たちは，このような視覚的なギャップを感じず，連続して安定した外界を知覚している。この眼球運動に関わらず，安定でかつ連続した視知覚をつくりだす脳内メカニズムを解明するため，サッケード眼球運動課題遂行中のサルの MT 野（Middle Temporal Area）および MST 野（Medial Superior Temporal Area）から視覚ニューロンの活動を記録・解析した。MT 野と MST 野のニューロンの多くは，受容野内に動く視覚刺激を呈示すると，刺激の動く方向に選択的な応答を示す。そこで本研究では，「眼が動く前の視覚情報」と「動いた後の視覚情報」に対するニューロンの応答を切り分けるため，視覚刺激をサッケードの直前に消し，サッケード後に再帰性の視覚入力がない環境下で，MT/MST ニューロンの活動パターンがどのように変化するのかを調べた。その結果，MST 野には，眼の動きが終わった時点で，「その瞬間に見えている視覚情報」のみならず，「眼が動き出す前に受容野の中にあった情報」に関連した活動（memory remapping 応答）を示すニューロンが存在することが明らかになった。一方，MST 野に直接情報を送っている MT 野からは，再帰性の視覚入力がない環境下で活動を示すニューロンは記録されなかった。この結果は，「眼が動く前に記憶された視覚情報」がサッケード後に MST 野で想起され，MT 野から MST 野に供給される「眼が動いた後の視覚情報」との統合が起こっていることを示唆する。さらに，MST 野で観察された memory remapping 応答は，サッケード後の眼球位置に応じて活動のゲインが変化することが明らかになった。したがって，本研究により，MST 野が，眼の動きの前後で生じる 2 枚のずれた網膜像を，眼が動く前と後の眼球位置情報を使うことにより補正し，統合することで，滑らかで連続した視覚世界の維持に関与している可能性が強く示唆された。

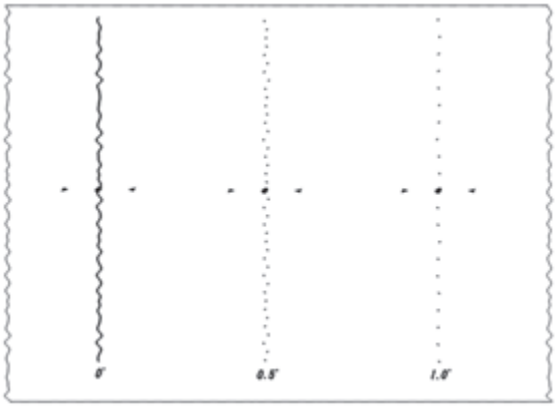
（6）変視症の定量化

松本長太（近畿大学医学部眼科学教室）

種々の黄斑疾患において，視細胞あるいはその外節の規則正しい配列が乱れると，外界と視中枢間の精密な空間的対応が崩れ，物体の形状が変形して見える変視症が現れる。特発性黄斑上膜，特発性黄斑円孔，加齢黄斑変性，中心性漿液性網脈絡膜症など種々の黄斑疾患では，視力低下，中心視野障害のほかに，この変視症が重要な自覚症状の一つとなっている。変視症は，黄斑疾患の早期発見，経過観察のみならず患者の日常生活における QOL にかかわる極めて重要な臨床症状である。多くの良好な視力を有する黄斑疾患の患者が，実際には合併する変視症のため，その視機能に満足していないことは決して珍しいことではない。日常診療においては古くから格

子状の図から構成される Amsler Charts を用いて変視症の有無を定性的に検出してきた。しかし，Amsler Charts では患者の変視を定量的に評価することは困難であった。

我々は，変視症が自覚できる図形の要素を単純化することで，直線では明確に自覚できる変視が，細かな点線から荒い点線に順次変えていくことで消失することを見出した。この原理を利用して変視症を視力のような数値で定量化することを目的とし，M-CHARTS®を開発した。M-CHARTS®を用いることにより，種々の黄斑疾患の変視症をきわめて短時間に簡便に定量評価可能となった。M-CHARTS®から得られた変視量は，日常生活における不自由度とも相関し，変視量が 0.5 以下であれば患者の変視に対する不自由度はほぼ消失し，逆に変視量が 1.0 を超えると，両眼開放下でも変視が残存する症例が増え，様々な日常生活での不自由を訴えることがわかった。本講演では，変視症のメカニズム，定量化の原理と臨床応用について報告する。



変視症のシミュレーション
直線，細かな点線，荒い点線に同一の水平方向のゆがみを加えている。点線が荒くなるほど変視は自覚できなくなる。

（7）両眼立体視を支える２つの計算過程とその神経メカニズム

藤田一郎（大阪大学大学院生命機能研究科，脳情報通信融合研究センター）

二つの目で見る世界は縦・横に加えて奥行きのあるものとして知覚される。これが可能なのは，右目に映る像と左目に映る像の小さな位置ずれ（両眼視差）を脳が検出し，それを奥行きに変換するからである。

両眼視差の最初の検出は，一次視覚野（V1）において，個々の神経細胞の左右眼受容野に投影される像の間の相互相関を計算することで実現される（相関計算：視差エネルギー計算）。この計算は，葉の生い茂った木のような繰り返しのある視覚刺激では偽の両眼視差をも検出してしまうが，それに惑わされることなく，私たちは奥行き構造をただ一つ知覚する。そのためには，偽の両眼視差に対する細胞反応を排除し，左右の目で正しく対応する視覚特徴の両眼視差だけを伝える過程（対応計算）が必要である。

奥行きの意識的知覚には，対応計算のみならず，相関計算も直接に貢献する。たとえば，ヒトもサルも，輝度反転ランダムドットステレオグラム（aRDS : 左右の目に提示されるドットの輝度が反転している RDS）に対しては，両眼視差で定義される奥行きとは逆向きの奥行きを感じる。相関計算が aRDS の左右像の逆相関を検出し，それが奥行き知覚に反映されるからである。ヒトの奥行き判断は相関計算と対応計算の出力の重み付け加算で決まる。小さな視差，ゆっくりした時間変化の刺激では対応計算の貢献が大きく，大きな視差，速い時間変化の刺激では相関計算の貢献が大きい。

平坦な RDS 面のような単純な刺激に対しては，フィードフォワード型の非線形計算が，相関シグナルを対応シグナルへ変換することができる。このような変換は，腹側経路に沿って徐々に進み，V4 野の細胞集団レベルの活動は完全に対応問題を解決している。一方，背側経路 MT 野は，単一細胞も細胞集団も相関シグナルと対応シグナルの中間的な表現となっている。これらの領域で行われている２つの計算過程が，視覚刺激の時間的・空間的性質に応じて適応的にリクルートされることで，奥行きの知覚が担われると提唱する。

（8）脳から視覚イメージを解読する

神谷之康（京都大学大学院情報学研究科）

機械学習を用いた脳イメージングデータの解析は近年急速に普及し，ブレイン・デコーディング と呼ばれる新しい分野を生み出した。この方法は，脳画像の多数の画素パターンから心理状態を予測したり，脳・精神疾患のバイオマーカーを作成するために用いられ，単変量解析を各画素で繰り返す従来の手法（mass univariate analysis）からの大きなパラダイムシフトをもたらした。脳イメージング研究は，これまでの脳マッピングや確認分析的な方法論から，予測的な科学に脱皮しようとしているのである。私のグループでは，詳細で多様な心の状態の解読を目指して，機械学習モデルを用いたデコーディング手法の開発を行っている。本講演では，脳活動パターンから視覚イメージを解読する方法の変遷をたどりながら，神経科学における機械学習の利用の現状と展望を議論する。また，近年進歩が著しい深層ニューラルネットワークを用いた新しいアプローチを紹介する。大規模画像データを用いた深層学習から得られる多層の画像特徴とヒトの脳活動パターンの関係から，多様なイメージ情報を解読する方法を概説する。

（9）視知覚を生み出す脳活動　-操作的手法を用いた検討-

天野　薫（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター）

脳活動の操作により視知覚に因果的に寄与する脳活動を明らかにした二つの研究を紹介する。

一つ目の研究では，デコーディッドニューロフィードバック（DecNef）法を用いて第一次，第二次視覚野（V1/V2）の脳活動を操作し，色と方位を連合させた（Amano et al., Current Biology, 2016）。DecNef 法は特定の情報に対応した神経活動を非侵襲的に誘起する方法で，近年注目を集めている（Shibata et al., Science 2011）。本研究では，まず始めに赤黒縞と緑黒縞に対する脳活動を fMRI で計測し，V1/V2 の活動から画像の赤尤度（0-1 の連続値）を求める色デコーダーを作成した。続いて３日間のニューロフィードバックトレーニングを行った。ここでは，白黒の縦縞刺激を呈示している際の V1/V2 活動の赤尤度をオンラインで計算して被験者に丸のサイズとしてフィードバックした。被験者にはこのフィードバックを出来るだけ大きくするよう教示し，フィードバックの意味について一切知らさなかった。トレーニングの結果，白黒縦縞刺激に対する V1/V2 活動の赤尤度が増大した。その後の心理実験により縦縞刺激に対する色心理測定関数が他の方位に比べて有意に赤方向にシフトしていることが示された。さらにオフライン解析で，V1/V2 以外の領域の寄与が限定的であることが示されたため，主として V1/V2 において色と方位の連合が生じたことが示唆された。

二つ目の研究では，アルファ波周波数の被験者内，被験者間変動および電気刺激による操作を用いて，アルファ波が視覚情報処理のタイミングを決めていることを明らかにした。8-13 Hz 程度の脳律動であるアルファ波は，注意などの認知機能と相関して変化することが報告されているものの，情報処理において具体的にどのような機能を果たしているかは分かっていない。我々は，輝度境界と隣接して運動する等輝度境界が揺れて知覚されるジター錯視（Arnold and Johnston, 2003）に基づき，アルファ波が視覚情報処理のクロックとして機能している可能性を提案してきたが（Amano et al., 2008），アルファ波とジター錯視の関係は相関の域を出ず，アルファ波がジター錯視の原因なのか付帯現象なのかは分かっていない。本研究では，まずアルファ周波数の被験者間変動および被験者内変動に応じてジター周波数が変化することを示した。さらに経頭蓋電気刺激を与えながら MEG 計測と心理実験を同時に行い，アルファ波の周波数の操作に伴いジター周波数も変化することを実証した。これらの結果は，脳内に元々存在するアルファ波のリズムでジター錯視が生じていることを示唆している。MEG

のコヒーレンス解析に基づき，視覚領域間の情報伝達がアルファ波の特定の位相で行われている可能性についても議論する。

（10）畳込みニューラルネットワークのより良い学習へ向けて：多様体上の最適化手法

岡谷貴之，OZAY Mete（東北大学大学院情報科学研究科）

深層学習の登場は，コンピュータによる画像認識の性能を飛躍的に向上させた。その中核に，多層の畳込みニューラルネットワーク（CNN）と，大量の学習データを用いたその教師あり学習がある。物体認識を学習した多層 CNN は，霊長類の腹側視覚皮質路に似た振る舞いを示すことも報告されており，コンピュータビジョンと計算論的神経科学は今までになく距離が近くなっている。

CNN の研究は現在，応用の急速な開拓の他，主に二方面から行われている。ひとつはその理解，すなわち，なぜ CNN はそれほどまでに高性能なのかを説明しようとする試みである。もう一つは，CNN の学習方法を改良する試みである。

CNN の学習では，古くからある誤差逆伝播法（勾配効果法）が未だ中心的な役割を果たしているが，最近，様々な改良方法が提案されている。バッチ正規化（batch normalization）や，重みの初期化あるいはその学習中の正規化（weight normalization）などである。これらの方法は確かに効果的だが，それは経験的に確かめられているに過ぎず，裏付けとなる数理的な根拠ははっきりしない。さらに，最近までに多数提案されている方法のうち，どれとどれを採用すればよいかは，実験的にしか決められない。この意味で，ニューラルネットは従来にもまして，「黒魔術」の度合いを強めているかのようである。

本講演では，以上を踏まえ，最近までに提案された複数の学習方法を，統一的に扱うことのできる枠組みを提案する。まず，これら最近の研究の共通の背景に，多層ネットの重みの冗長性，すなわち同じ入出力関係を与えるネットの重みが無数にあり，その上でそれをどのように制約できるか，あるいはすべきか，という問題があることを指摘する。その上で，重みの空間に多様体構造を定義し，これを明示的に使って重みの最適化を行う方法を考える。上述のような従来方法の多くは，この方法論の範疇で説明できる。さらに，今まで知られていない多様な制約を導入し，それぞれの有効性を調べることも可能になる。なお，この研究の延長線上に，CNN がなぜそれほどまでに高性能なのかという問いに，何らかの答えを導くことも視野に入れている。その辺りの今後の展望についても示したい。

（11）多感覚的な素材質感の脳内表現とその形成

郷田直一（生理学研究所 感覚認知情報研究部門，総合研究大学院大学 生命科学研究科）

我々は様々な物体を見るだけでその素材を認識し，その手触りや重さなどについても理解する。このような素材の視覚認識には主として脳の腹側視覚経路が関わっており，ヒトにおいては，高次腹側視覚野の一部（側副溝前部），サルにおいては V4 や下側頭皮質後部 (PIT) が特に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。この高次視覚野は，素材の視覚的情報に加え，硬さや重さといった一部の触覚的情報についても表現している可能性がある。このような多感覚的な素材情報の脳表現はどのようにして形成されるのであろうか？素材の硬さや重さといった触覚的特徴は本来視覚情報のみから得られない。一つの考えは，長期にわたる日常的視触覚経験を通して，様々な素材の視覚的特徴と触覚的特徴との統計的関係が学習され，その結果として，多感覚的な素材情報表現が形成されるというものである。このような考えに基づき，我々の研究グループは，長期

にわたる単純な視触覚経験によって様々な脳領域の素材情報表現はどのような影響を受けるのかをサルを対象とした fMRI 実験により検証した。２頭のサルに，単純な視触覚経験課題（物体把持課題）を通して９カテゴリの素材の手触りを充分に経験させ，その経験前後において，素材観察時の脳活動を計測した。この経験課題においては，サルは単に物体を見て掴むことが必要であり，視覚的特徴と触覚的特徴の連合を記憶することは要求されない。マルチボクセルパターン解析を用いて視触覚経験前後の脳情報表現について解析したところ，PIT は，長期的な視触覚経験の結果，素材の視覚的特徴のみでなく触覚的特徴をも表現するように変化することが明らかとなった。すなわち，経験後には，手触り（滑らかさ，硬さ，冷たさなど）の似た素材に対しては似た反応パターンを示し，手触りの違う素材に対しては異なった反応パターンを示す。本結果は，視覚野の情報表現に視覚以外の感覚経験も重要な影響を与えること，及び，視覚的特徴と触覚的特徴との連合は統計的に学習されうることを示唆する。

（12）メダカの視覚認知　～バーチャルリアリティによる行動解析～

渡辺英治（基礎生物学研究所 神経生理学研究室）

多くの魚類において，色や形などの形態学的*情報*が同種他個体への社会的接近行動に寄与することが示されてきている。私たちの研究グループでは，先端的なバーチャルリアリティ技術を用いて，電子計算機上でバーチャルメダカを作製し，これをメダカに提示することによって色や形などの形態学的情報だけでなく大域的な動き（移動軌跡）や局所的な動き（体軸や尾ひれ）など運動情報をも含めた統合的な情報が社会的接近行動に与える影響を分析している。バーチャルメダカの各パラメーターを変化させて通常のメダカとは部分的に異なる刺激を呈示したところ，いずれの場合もバーチャルメダカへの近接時間が減少が観察された。この結果は，形態情報だけでなく運動情報も社会的接近行動を引き起こしていることを示唆している。次に形態情報をすべて取り去り，運動情報だけを残しメダカを６つの点だけで表現したバーチャルメダカを作製した。これは認知心理学の分野でバイオロジカルモーションと呼ばれる視覚刺激で，ヒトの場合同種他個体の高度な認知を引き起こすことが知られる。このバイオロジカルモーションにおいてもメダカ強くを惹きつける効果が観察されたことから，視覚における運動情報の重要性が再確認された。またバイオロジカルモーションの各パラメーターを変化させたところ，バーチャルメダカのときと同じく，いずれの場合も視覚刺激への近接時間が減少した。これらの結果から，私たちはメダカは同種他個体の不自然なパラメーターを検出する視覚システムを持っているのではないかと推定している。また本講演では，被食者となるミジンコの電子計算機モデルによるメダカの捕食行動の研究や，バーチャルリアリティとメダカのリアルタイムインターラクション技術の開発についてもお話をする予定にしている。

（13）視覚質感認識とその制御

河邉隆寛（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

視覚情報を制御することにより，技術者はユーザーにとってリアリティの高い映像情報を表示するための技術を提案することができるはずだ。一方で，どの視覚情報を制御すればどの知覚的体験に結びつくか，という問題はそう簡単に解くことができない。なぜなら，知覚的体験は多層でかつ複雑に入り組んでおり，制御すべき視覚情報もまた然りであるからである。本研究では，視覚質感の認識という知覚体験に注目し，それを制御するた

めの視覚情報制御手法について議論する。まず我々は，透明液体の認識に関係する視覚情報の解明に取り組んだ。透明液体は光の屈折に基づいてその背後にある画像情報を変形させる。我々は，屈折に基づく動的な変形が透明液体の存在を認識するための手掛かりであることをつきとめた。また，その画像変形内に含まれている変形時空間周波数が透明液体認識を左右する情報であること，更には，特定の帯域の変形時空間周波数が存在する際に人間は透明液体を認識することも分かった。結果に基づいて画像変形の時空間周波数を操作することにより，透明液体印象を静止画像に与えることが可能となった。次に我々は，実世界のシーンを錯覚的に変形させることにより，そのシーンに液体印象を与える光投影技術を開発した。この技術では，ビデオプロジェクタを用いて対象に動的な輝度情報を投影する。この動的な輝度情報は，静止対象に動きの印象を与えることができるよう調整されている。この輝度情報の時空間パタンを工夫することで，あたかも屈折によって実世界が変形しているように錯覚させることができ，その結果として実世界に透明液体印象をもたらすことができる。本技術は液体印象だけではなく，静止対象が変形しているような印象や，肖像画の表情が変化するような印象を与えることも可能である。本技術は，「紙なのに動くポスター」などこれまでに存在しえなかった視覚情報表示手法へつながり，広告・アートといった分野への波及が期待される。

（14）物体の視覚記憶を司るマカクザル大脳皮質の局所回路と大域ネットワークのメカニズム

平林敏行（量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所）

霊長類において，大脳皮質下部側頭葉は腹側視覚経路の最終段にあたり，物体についての視覚表象，並びに視覚長期記憶の貯蔵や想起を司る脳領域として知られている。これまで，サルを用いた神経活動記録により，この領域において物体についての視覚長期記憶の表象や想起に関わる単一ニューロン活動が見られる事が報告されてきた。しかし，これらのニューロンが互いにどのような「回路」を形成し，どういった計算原理によってそれらの活動を成立させているかという問題については，上記の単一ニューロン活動の報告以来，20 年以上に渡って未解明のままであった。そのような問いに答えるには，これまでのように個々のニューロン活動を別々に記録するのではなく，複数のニューロン活動を同時に記録し，機能ニューロン間の情報伝達を調べるのが一つの方法として考えられる。そこで本研究では，図形間の連想記憶課題を遂行中のマカクザルにおいて，下部側頭葉から多細胞同時記録を行い，Granger 因果性解析 (Hirabayashi et al., *J. Neurosci.* 2010) 及び相互相関解析 (Hirabayashi et al., *J. Neurosci.* 2005) を用いて，単一ニューロン間の機能的結合の強さと「向き」を求めた。これにより，課題遂行中の局所神経回路内における，連想記憶に関連したニューロン間の情報伝達とそのダイナミクスを解析し，連想記憶の「表象」と「想起」のそれぞれに関わる側頭葉神経回路の計算原理を明らかにした。本研究会では，まず連想記憶を思い出している際の局所神経回路の動作 (Hirabayashi et al., *Neuron* 2013) と，その回路動作に関する側頭葉領野間の相違 (Hirabayashi et al., *J. Neurosci.* 2014）について紹介する。さらに，連想記憶の神経表象が，側頭葉における 2 つの領野に渡る階層的な計算原理によって生成される，という新しい仮説を支持する結果（Hirabayashi et al., *Science* 2013）について紹介する。そして最後に，現在進めている機能イメージングと遺伝学的手法の融合による，視覚記憶を支える前頭葉—側頭葉ネットワークについての研究を中心に，物体に関する記憶想起を巡る認知神経回路研究の今後の方向性について議論したい。

６．シナプス伝達の細胞分子調節機構

2016 年 11 月 21 日－11 月 22 日
代表・世話人：坂場武史（同志社大学）
所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（１）大脳皮質局所回路の *in vivo* オール光機能解析
小泉　協（東北大学）

（２）片眼遮蔽により視覚野の興奮性シナプス伝達に誘発される可塑的変化
杉村岳俊（奈良県立医科大学）

（３）トリ層状核における低電位活性化型カルシウムチャネルの発現とその役割
深谷亮太（名古屋大学）

（４）カリックス型シナプス前終末におけるシナプス小胞膜および小胞タンパク質の協調的取り込みの調節
岡本悠志（同志社大学）

（５）分界条床核における GluD1/Cbln1 複合体は，結合腕傍核由来神経終末との接着形成に必須である
今野幸太郎（北海道大学）

（６）シナプス形成因子 Cbln1 の非運動性学習における役割の解析
大塚信太朗（慶応義塾大学）

（７）樹状突起スパイン内分子動態解析
小橋一喜（東京大学）

（８）Ca^{2+}シグナリングの可視化プローブの開発と多重イメージング
藤井　哉（東京大学）

（９）高速超解像・１分子顕微鏡の開発と応用
岡田康志（東京大学・理化学研究所）

（10）幼若ラット calyx of Held シナプスにおける NMDA 受容体依存性シナプス前抑制
大島知子（国立障害者リハビリテーションセンター）

（11）シナプス小胞内 pH イメージングによる抑制性伝達物質充填機構の解析
江頭良明（同志社大学）

（12）Vesicular GABA uptake can be a rate limiting Step for the Recovery of Inhibitory Neurotransmission from Activity-Dependent Synaptic Depression
山下愛美（同志社大学）

（13）EGTA によるナノドメイン Ca の抑制
中村行宏（東京慈恵医科大学）

（14）シナプス小胞放出特性と連関する超分子集合体の可視化解析
坂本寛和（東京大学）

（15）１細胞実時間分泌計測及び１細胞選択的回収法による免疫細胞の不均一性の解析
上村想太郎（東京大学）

【参加者名】

神谷温之（北海道大学），今野幸太郎（北海道大学），小泉　協（東北大学），八尾　寛（東北大学），持田澄子（東京医科大学），中村行宏（東京慈恵会医科大学），大塚信太朗（慶應義塾大学），野澤和弥（慶應義塾大学），柚崎通介（慶應義塾大学），岩崎広英（東京大学），上村想太郎（東京大学），小橋一喜（東京大学），坂本寛

和（東京大学），藤井　哉（東京大学），渡邉貴樹（東京大学），岡田康志（東京大学・理化学研究所），林　康紀（理化学研究所・京都大学），大島知子（国立障害者リハビリテーションセンター），鷹合秀輝（国立障害者リハビリテーションセンター），久場博司（名古屋大学），深谷亮太（名古屋大学），松原崇紀（名古屋大学），山下貴之（名古屋大学），片上茂樹（岐阜大学），齋藤康彦（奈良県立医科大学），杉村岳俊（奈良県立医科大学），江頭良明（同志社大学），岡本悠志（同志社大学），川口真也（同志社大学），北川真子（同志社大学），坂場武史（同志社大学），堀　哲也（同志社大学），御園生裕明（同志社大学），緑川光春（同志社大学），山下愛美（同志社大学），高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学），王　振吉（生理学研究所），長内康幸（生理学研究所），佐竹伸一郎（生理学研究所），石川理子（生理学研究所），唐木智充（生理学研究所），木村梨絵（生理学研究所），足澤悦子（生理学研究所），宮下俊雄（生理学研究所），山浦　洋（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所）

【概要】

シナプスは，神経細胞間の情報伝達を担う重要な部位である。また，伝達効率は可塑性を持ち，発達や学習記憶の細胞分子基盤であると考えられている。この分野ではすでに生理学，解剖学，分子生物学，遺伝学などとの融合が進んでおり，さらに光学の応用などによって，分子メカニズムの解明が顕著に進んでいる。またシナプス機能の破綻と精神神経疾患との関連で synaptopathy という学問分野が創成されつつあり，医学研究とも密接な連関をもちながら，国内外の神経科学における重要な研究分野であり続けている。本研究会は毎年，生理学研究所において開催されてきたが，本年度も 2016 年 11 月 21 日，22 日に生理学研究所で開催され，国内研究者 47 名が集い，口頭発表 13 題と，特別講演２題（東京大学大学院理学系研究科・岡田康志先生および上村想太郎先生）が行われ，最新の研究に関する議論が行われた。特別講演では，細胞分子レベルの神経科学と関連し，また生命科学一般への普遍性の高い最先端の顕微鏡技術に関する研究者の講演を選んだ。また，口頭発表では，若手の発表を中心とし，古典的な電気生理学を用いたシナプス機能および可塑性機能の解析，独自性の高い蛍光プローブやイメージング手法の開発とそれらを用いたシナプス・神経回路機能の解析，感覚系におけるシナプス・神経細胞の機能的な役割，あるいは日本で独自に発見された分子の機能解析など多彩な発表があり，日本のシナプス研究分野あるいは細胞神経科学研究分野が独自性をもって研究を進めているとの印象を得た。さらに，懇親会では，シニアの研究者と若手研究者との交流がおこなわれた。研究会を継続するために世話人会を組織すること，また学会とは異なる方向性を持つべく若手を中心とした発表としたが，来年度以降も修正を加えつつ同様の方向にすることになった。

（1）大脳皮質局所回路の *in vivo* オール光機能解析

小泉　協（東北大学）

哺乳類の大脳新皮質は層構造を持っており，各層特有の結合様式によって構築されたネットワークの機能に関しては未だ不明な点が多い。今回我々は，皮質神経回路の計算論理を調べるため，光刺激と Ca^{2+}イメージングを用いて，実際に生体内で皮質各層への様々な入力に対する各層からの出力を計測するシステムを構築した。

複数層同時に Ca^{2+}イメージングを行うために，皮質に挿入された反射プリズムを介して顕微鏡観察を行った。これにより層に垂直な画像を得ることができることに加え，プリズム表面付近であれば，脳表から深い部位に光を照射する場合でも生体組織による光の散乱が小さい。次に LED からの光をダイクロイックミラーで反射させ可視化領域内へ投射するシステムを構築し，大脳皮質側面への時空間パターン光照射を実現した。

今回は光感受性チャネルと Ca^{2+}蛍光センサーをマウスの S1 に発現させ，各細胞の時空間刺激パターンごとの

応答を確認した。このことから，生体内皮質における入力の制御と出力の計測を光により行うことが可能であると示唆された。

今後，層特異的，また細胞種特異的に光感受性チャネルを発現させることで，大脳皮質局所回路の機能的構築が，さらに解明されることが見込まれる。

（2）片眼遮蔽により視覚野の興奮性シナプス伝達に誘発される可塑的変化

杉村岳俊（奈良県立医科大学）

片眼遮蔽による眼優位性の可塑的変化は経験依存的発達の神経機構の解析に広く使われてきたが，視覚野のシナプス伝達に生じる可塑的変化は未だとらえられていない。ラット視覚野では，感受性期に片眼遮蔽すると遮蔽 3 日で遮蔽眼刺激に対する反応の減弱が出現し，遮蔽 6 日には非遮蔽眼刺激に対する反応の増強も見られる。本研究では，神経活動依存的な遺伝子発現プロモーターを用いて同側（非遮蔽）眼刺激に反応する視覚野細胞をあらかじめ蛍光標識した視覚野スライス標本に，ケージドグルタミン酸を用いるレーザースキャン光刺激法を適用して，片眼遮蔽により視覚野 2/3 層錐体細胞の興奮性シナプス伝達に生じる可塑的変化を解析した。遮蔽 3 日で見られる主な変化は遮蔽眼優位細胞に出現し，2/3 層及び 4 層細胞刺激により誘発される unitary EPSC（uEPSC）の数の減少であった。遮蔽 6 日で見られる主な変化は非遮蔽眼優位細胞に出現し，2/3 層細胞刺激により誘発される uEPSC の数の増加と，2/3，4，5 層細胞刺激により誘発される uEPSC の振幅の増大であった。また，EPSC の量子振幅に顕著な変化は見られなかったが，遮蔽 6 日で 4 層細胞刺激により非遮蔽眼優位細胞に誘発される EPSC の量子振幅が増大した。以上の結果から，片眼遮蔽により 2/3 層錐体細胞への興奮性シナプス伝達に生じる可塑的変化は主にシナプスの数あるいは伝達物質の放出確率の変化によるものと考えられる。

（3）トリ層状核における低電位活性化型カルシウムチャネルの発現とその役割

深谷亮太，山田　玲，久場博司（名古屋大学）

音の方向を知る手がかりである両耳間時差（ITD）は，脳幹の聴覚ニューロンが左右からの興奮性シナプス電位（EPSP）の同時検出器として働くことで，コードされる。鳥類では，層状核（NL）において，ITD が検出される。NL ニューロンは特定の周波数（CF）の音に強く応答する。CF によって，NL ニューロンの樹状突起形態や膜の電気的な性質が異なり，これにより，NL での正確な ITD 検出が可能になる。本研究では，低電位活性化型カルシウム電流（LVA I_{Ca}）に着目し，NL におけるこのチャネルの CF ごとの発現やその働きを調べ，LVA I_{Ca} が ITD 検出にどのように関わりうるかを電気生理学的に検討した。

孵化後ニワトリの脳幹スライスを用いて，NL ニューロンからのホールセルパッチクランプ記録と 2 光子 Ca イメージングを行ったところ，LVA I_{Ca} が低い CF（low CF）の NL ニューロンの樹状突起に多く存在することが分かった。そこで，EPSP に対する LVA I_{Ca} の効果を薬理学的に検討したところ，LVA I_{Ca} が EPSP の大きさを増強することが明らかとなった。また，この効果は，生理的な高頻度のシナプス入力に対して，入力の開始直後でのみ見られた。

low CF NL ニューロンにおいて，LVA I_{Ca} は音入力の開始直後に EPSP を増強し，ITD 検出の感度を高めると考えられた。また，シナプス入力で活性化された LVA I_{Ca} が細胞内の Ca^{2+} 濃度を上げることで，このニューロンのもつ長い樹状突起の形成や維持にも関わる可能性が示唆された。

（4）カリックス型シナプス前終末におけるシナプス小胞膜および小胞タンパク質の協調的取り込みの調節

岡本悠志（同志社大学）

シナプスにおいて，神経伝達物質はシナプス小胞が形質膜に融合することによって放出される。持続的なシナプス伝達を維持するためには，膜融合したものと同等の形質膜および小胞タンパク質の取り込み（エンドサイトーシス）が必要不可欠である。膜容量測定法と pH 感受性蛍光色素（anti-synaptotagmin2-cypHer5E）を用いた pH イメージングを組み合わせ，カリックス型シナプス前終末で小胞膜および小胞タンパク質の取り込みを同時測定し，両者の動態を比較した。遅いエンドサイトーシスを誘発した場合，膜と synaptotagmin2 は同時に取り込まれた。速いエンドサイトーシスを誘発した場合，synaptotagmin2 は膜と共に取り込まれたが，エンドサイトーシスされたオルガネラ内の再酸性化速度が低下した。このことは 2 つの異なるエンドサイトーシス経路があることを示唆する。Calmodulin 阻害剤あるいは Ca^{2+}-calmodulin-Munc13-1 シグナル伝達経路の阻害により，膜の取り込みは損なわれない一方で，synaptotagmin2 の取り込みのみが損なわれた。これらの結果は，小胞膜と小胞タンパク質の協調的なエンドサイトーシスが刺激依存的または Ca^{2+}依存的に制御されていることを示唆する。

（5）分界条床核における GluD1/Cbln1 複合体は，結合腕傍核由来神経終末との接着形成に必須である

今野幸太郎 [1]，森　さくら [1]，崎村建司 [2]，柚崎通介 [3]，渡辺雅彦 [1]
（[1] 北海道大学，[2] 新潟大学，[3] 慶應義塾大学）

グルタミン酸受容体 GluD1 は高次脳機能領域に豊富に発現する。GluD1 は情動表出に深く関わる脳領域の一つである分界条床核（BST）に特に高密度に発現している。背外側 BST の亜核の 1 つである oval BST（ovBST）において GluD1 はクラスター状に分布しているが，詳細な局在やシナプス形成への関与は不明である。初めに GluD1 の局在解析を行った結果，GluD1 クラスターは神経終末と細胞体および樹状突起との間に形成される接着構造の後部に選択的な局在が認められた。次に GluD1 クラスターに入力する神経終末の神経化学特性を解析した結果，その多くは小胞性アセチルコリン輸送体（VAChT）および小胞性グルタミン酸輸送体 2（VGluT2）の２種類の神経化学マーカーを発現するコリン作動性/グルタミン酸作動性終末であった。続いて，GluD1 クラスターに入力する神経核を同定するために ovBST に逆行性トレーサーを注入した結果，橋の結合腕傍核において逆行性に標識された細胞が認められ，標識細胞はコリン作動性/グルタミン酸作動性であることが明らかとなった。さらに，標識細胞において GluD1 のリガンドの一つである Cbln1 の発現も認められた。最後に GluD1 および Cbln1 遺伝子欠損マウスを用いて，ovBST における VAChT/VGluT2 共陽性終末数の変化を検討した結果，それぞれの遺伝子欠損マウスにおいて VAChT/VGluT2 共陽性終末数の著明な減少が認められた。以上の結果から，ovBST において GluD1 は Cbln1 を介して結合腕傍核との神経回路構築に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

（6）シナプス形成因子 Cbln1 の非運動性学習における役割の解析

大塚信太朗（慶應義塾大学）

C1q ファミリーに属する補体分子である Cbln1 は，小脳顆粒細胞軸索終末から放出され，プルキンエ細胞スパインに発現するデルタ 2 型グルタミン酸受容体(GluD2)と結合し，顆粒細胞－プルキンエ細胞シナプスの形成および可塑

性を制御する。しかし Cbln1 は小脳に局在するため，おもに運動制御に関わる分子であると考えられてきた。しかし近年，さまざまな精神疾患に Cbln1/GluD が関連することや, GluD2 を欠損したヒトが重篤な認知機能障害を示すことが相次いで報告された。また Cbln1 の mRNA は嗅内皮質や脳梁膨大皮質など, 認知機能を司る前脳にも発現することが分かってきた。しかし，どこに発現する Cbln1 が，どのような形で認知機能を制御するかはよく分かっていない。そこで，我々は Cbln1 を欠損させたマウスが非運動性学習に異常を示すか調べた。恐怖条件付け試験を用いて恐怖学習を解析したところ，Cbln1 欠損マウスは学習の獲得と保持･想起の両方が著しく低下していることが判明した。また高感度抗 Cbln1 抗体を用いた免疫組織化学染色により，Cbln1 は小脳だけでなく，海馬や脳梁膨大皮質など非運動性学習に関わる前脳にも微量ながら存在することが判明した。そこでこれら前脳と小脳に発現する Cbln1 がどのように恐怖学習を制御するか調べるため, それぞれの領域選択的に Cbln1 遺伝子を欠損させたマウスを作製し，解析を行った。その結果，前選択異的 Cbln1 欠損マウスは正常に恐怖学習を獲得できたが，獲得した学習を保持/想起する能力が低下していた。一方で，小脳選択的 Cbln1 欠損マウスは学習の獲得が低下していたが，保持・想起には有意な異常は見られなかった。以上のことから，恐怖学習のプロセスにおいて, 小脳の Cbln1 は学習の獲得に必要であり，獲得された情報の保持・想起には前脳の Cbln1 が機能することで, 恐怖学習に必須の役割を果たしていることが明らかとなった。

（7）樹状突起スパイン内分子動態解析

小橋一喜 [1]，井上康博 [2]，岡部繁男 [1]
（[1] 東京大学，[2] 京都大学）

樹状突起スパイン内での分子動態を定量的に測定することは，定常状態あるいは可塑性誘導時のシナプス後部分子や細胞骨格の動態を理解する上で重要である。スパイン内には，シナプス後肥厚部，アクチン線維，細胞内小器官が存在している。これらの細胞内構造はスパイン内での分子動態を制御しており，一方でスパイン内での分子動態は細胞内構造の安定性に影響していると予想される。このような制御機構が実際にスパイン内で起こっているかを理解するためには，スパイン内での分子動態を直接測定する必要がある。蛍光退色後回復法（FRAP）や光変換タンパク質を利用した類似の測定法を用いることで，スパインネックを介したスパインと樹状突起シャフトの分子交換速度を測定することは出来るが，スパイン内部での分子拡散自体を測定することはできない。そこで，わたしたちは画像相関法を用いたスパイン内分子拡散測定の可能性を検討した。さらに，薬剤処理やプローブを変化させることでみかけの拡散がどのように変化するかを調べた。

（8）Ca^{2+}シグナリングの可視化プローブの開発と多重イメージング

藤井　哉，井上昌俊，尾藤晴彦（東京大学）

記憶・学習などの高次脳機能には，Ca^{2+}流入によって引き起こされるシグナル伝達が重要な役割を果たしており，いつ，どの神経細胞のどの細胞内ドメインにおいて活性化されるのかを明らかにすることが高次脳機能の生化学的基盤の理解に非常に重要な課題である。しかし，神経細胞における Ca^{2+}シグナル伝達の時空間的な活性化パターンについてはほとんど解明されていない。そこで, 我々は Ca^{2+}/CaM 依存的リン酸化酵素（CaM キナーゼ）や Ca^{2+}/CaM 依存的脱リン酸化酵素（カルシニューリン）が活性化に伴ってコンフォメーションを変化させることを利用し，酵素活性を可視化できる FRET プローブを新規に開発した。また，近年開発された長波長蛍光

タンパク質やストークスシフトの大きな蛍光タンパク質を用いることで，紫外光による光操作を行いながら二つの FRET プローブを同時に計測することが可能な dFOMA 法を開発した。dFOMA 法を利用することで，神経入力と細胞内シグナルの間の入出力特性を明らかにするとともに，シナプスにおける CaM キナーゼおよびカルシニューリンの活性化の時空間パターンを明らかにすることで，神経細胞における生化学的な情報処理機構の一端を明らかにした。また，最近開発した赤色 Ca^{2+} インディケーターなど，多重イメージングを可能にするための蛍光プローブと，それらを用いた多重イメージングによる神経情報処理機能への応用を紹介する。

（9）高速超解像・1 分子顕微鏡の開発と応用

岡田康志（東京大学・理化学研究所）

精製した個別タンパク質の構造および細胞･個体レベルでの生理的機能については，多数の知見が蓄積されている。しかし，この両者の階層を繋ぐことは容易ではない。私たちは，細胞の中で機能するタンパク質分子を直接計測すること，タンパク質分子が生理機能を発現する場である複合体や細胞内小器官などの微細構造とその動態を計測し理解することが，重要であると考え，そのための技術を開発し，細胞内物質輸送の研究に応用してきた。

今回は，その中から高速超解像顕微鏡と高速一分子顕微鏡の 2 つの顕微鏡法について紹介したい。前者は，軸索輸送小胞の計測を目標として開発した顕微鏡である。スピニングディスク式共焦点顕微鏡の光学系をベースにした独自手法の開発により，時間分解能 10 ms（100FPS），空間分解能 100 nm を達成することに成功した。後者は，細胞質を自由拡散する蛍光タンパク質分子の一分子イメージングを可能とする手法で，結合反応速度定数（kon）を細胞内で計測することを目標として開発してきた。

本講演では，両手法の原理を概説し，得られた画像や結果について紹介することで，cellular neuroscience 特に synapse の研究への応用の可能性について議論したい。

（10）幼若ラット calyx of Held シナプスにおける NMDA 受容体依存性シナプス前抑制

大島知子，鷹合秀輝（国立障害者リハビリテーションセンター）

NMDA 型グルタミン酸受容体は中枢神経系において多様な役割を担っており，シナプス後部だけでなくシナプス前終末にも発現している。またシナプス前終末に発現している NMDA 受容体の活性化は神経伝達物質放出を制御していることが示唆されている。我々は中枢神経系にあるグルタミン酸作動性のシナプス前終末の NMDA 受容体の活性化が，カルシウム電流の減少を引き起こすことを見出した。この現象は GluN2 サブユニット依存的に起こり，これにより活動電位依存的神経伝達物質放出を抑制していることが分かった。しかしながらシナプス前末端に投与した Ca キレーターの BAPTA や GTP アナログの GTPγS は NMDA 受容体依存的カルシウム電流抑制を阻害せず，シナプス前終末のカルシウム濃度と G タンパク質の関与は否定された。グルタミン酸再取り込阻害剤存在下での連続刺激実験では，カルシウム電流減少を減弱させたことから，内在的グルタミン酸がシナプス前末端の NMDA 受容体を活性化することが示唆された。

（11）シナプス小胞内 pH イメージングによる抑制性伝達物質充填機構の解析

江頭良明（同志社大学）

抑制性神経伝達物質である GABA のシナプス小胞への充填は，小胞膜上の液胞性 H^+-ATPase により形成される H^+の電気化学的勾配を駆動力とした二次輸送であり，輸送体として VGAT が知られている。これまで，伝達物質の小胞充填機構の研究は，精製したシナプス小胞や輸送体タンパク質を再構成した脂質膜を用いて行われてきたが，GABA の取込み機構については，H^+との対向輸送とする説と Cl^-との共輸送とする２つの説が提唱されるなど，解決されていない。この矛盾の１つの原因としては，生理的環境下での pH 勾配や小胞内外のその他のイオン組成が分かっておらず，研究ごとに測定条件が異なっていたことが挙げられる。従って，機能的なシナプスで小胞内イオン環境を記述することが求められてきた。特に，駆動力となる H^+の挙動は重要である。

生きたニューロンでシナプス小胞内の pH をモニターするためには，小胞タンパク質に pH 感受性の蛍光タンパク質を融合させたプローブが有用である。中でも super-ecliptic pHluorin (SEP)の融合タンパク質は複数種類が報告されている。しかし SEP の pKa は 7.1 と比較的高く，小胞内 pH の定量には適さない。そこで，pKa が 6.5 の mOrange2 を synaptophysin に融合した新規プローブ (syp-mOr)を作成した。この syp-mOr の有用性及び興奮性シナプス小胞での H^+の挙動はすでに報告している。

抑制性シナプスを区別するために，VGAT-Venus トランスジェニックマウスから培養海馬ニューロン作成し，syp-mOr による小胞内 pH 測定を行った。グルタミン酸性小胞が pH5.8 であるのに対して GABA 性小胞は pH6.4 と有意に高かった。さらに，刺激によるエクソサイトーシス後の蛍光変化を測定したところ, GABA 性小胞では，エンドサイトーシスに続いて，静止状態での pH よりも深くなる酸性化とその後のゆっくりとしたアルカリ化が生じていることが明らかとなった。GABA の充填と小胞内 pH 動態との関連を調べるために，VGAT の conditional KO を行ったところ，静止状態の pH が 6.0 へと小さくなり, またエンドサイトーシス後の二相性の pH 変動も見られなくなった。これらの結果は，GABA/H^+対向輸送モデルを支持するとともに, 小胞からの GABA の持続的な漏えいがあることを示唆している。さらに，エンドサイトーシス後の pH 変化を *VGAT*$^{+/+}$と *VGAT*$^{-/-}$の間で比較することで，GABA の取込み速度を見積もった。放出可能な小胞プールのほぼ全て（全体の約 50%）を動員するような刺激の後では，生理的な温度であっても時定数で 25 秒を要することが分かった。この結果は，高頻度発火時には GABA の充填が小胞の再利用に追いつかない可能性を示している。

（12）Vesicular GABA Uptake can be a Rate-Limiting Step for the Recovery of Inhibitory Neurotransmission from Activity-Dependent Synaptic Depression

山下愛美，堀　哲也（同志社大学）
高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学）

単離したシナプス小胞を用いた生化学的手法により，神経伝達物質がシナプス小胞に充填されるには数分～数十分かかることが報告されている。しかしその速度では，高頻度刺激下においては，伝達物質の充填が追い付かず，伝達物質の充填過程が律速になっている可能性がある。充填速度を正確に測る方法は今までになかったが，細胞内神経伝達物質 uncaging 法により，興奮性シナプスにおける神経伝達物質補充速度を，スライス標本上にて測定する方法が確立された（Hori and Takahashi, Neuron, 2012）。しかし，抑制性シナプスに関しては，実験系が確立しておらず，今までに測定された例はなかった。そこで, 抑制性神経伝達物質である GABA がシナプス小胞へ充填される速度の測定を試みた。小脳スライス標本を用いて，抑制性介在細胞とプルキンエ細胞から同時ホー

ルセル記録を行い，uncaging 法および電極内のガラス細管から既知の濃度の GABA を注入する細胞内灌流法を組み合わせることにより，GABA の充填速度がグルタミン酸の充填速度と比べると非常に遅いことが判明した。また，高頻度発火時において，GABA の充填速度が回復速度を決定している可能性も示唆された。

（13）EGTA によるナノドメイン Ca の抑制

中村行宏（東京慈恵会医科大学）

シナプス前末端における電位依存性 Ca チャネルとシナプス小胞の距離は，Ca キレータ EGTA によるシナプス伝達抑制作用をもとに推定され, EGTA がシナプス伝達を抑制する場合は Ca マイクロドメイン（＞100 nm）によって，抑制がない場合は Ca ナノドメイン（＜100 nm）によってシナプス小胞の開口放出が誘発されると考えられてきた。しかし，この解釈の理論的背景となる linearized buffer approximation は Ca 濃度勾配の定常状態が即時に成立することを前提としており, 活動電位によって誘発される速い Ca^{2+}流入に対してはこの前提が成立するか検討の余地があった。我々は，シナプス前末端の Ca 拡散およびシナプス小胞開口放出シミュレーションを行い, EGTA による開口放出抑制作用を予測した。その結果，Ca チャネル近傍に位置する小胞の開口放出抑制率は Ca チャネルの単一チャネル電流の振幅や開口時間によって変化することが示された。Ca チャネルの開口時間が 1ms 以下の場合，Ca チャネルから 20 nm の距離の小胞の開口放出は EGTA によって部分的に抑制され，EGTA は Ca ナノドメインを抑制すると結論された。EGTA の作用の有無にのみ基づいて Ca チャネル－小胞間距離を推定することは適切でなく，実験データの解釈にあたっては Ca チャネル電流の振幅と持続時間を考慮する必要がある。

（14）シナプス小胞放出特性と連関する超分子集合体の可視化解析

坂本寛和（東京大学）

化学シナプスにおける神経伝達物質放出の強度は，1) シナプス小胞放出部位の個数，2) 放出確率及び 3) 充填される神経伝達物質の量の三つの特性によって決まる。しかしながら，これらの特性がどのような分子メカニズムよって実装されているのか不明である。我々は，単一シナプスグルタミン酸イメージングと超解像イメージングを組み合わせることで，シナプス小胞放出部位の個数及び放出確率を決定する超分子メカニズムを明らかにした。3D-STORM 顕微鏡を用いた観察によって，Munc13-1 は海馬培養神経細胞シナプスにおいて 10 個以上の分子で構成される 50~100 ナノメートルの超分子集合体として離散的に存在し, syntaxin-1 とナノメートルスケールで共局在していることが分かった。シナプスあたりの Munc13-1 超分子集合体の個数はグルタミン酸イメージングで定量した機能的な放出部位の個数と一致しており, Munc13-1 超分子集合体がシナプス小胞放出部位であることを示している。また，Cav2.1 と Munc13-1 超分子集合体との距離はシナプス毎に異なっていたが，この距離が近いシナプスほど放出確率が高い傾向がみられた。今回の研究結果は，ナノサイズの超分子構造とシナプスの機能的側面とを結びつけた重要な成果であるため，生理研研究会「シナプス伝達の細胞分子調節機構」にて発表を行った。

（15）１細胞実時間分泌計測及び１細胞選択的回収法による免疫細胞の不均一性の解析

上村想太郎（東京大学）

細胞は外部の刺激に応答することで時々刻々と細胞の表現型を変化させることが一般的に知られている。特に免疫細胞の一部では刺激応答によって細胞間相互作用に必要なシグナルとしてインターロイキンなどの炎症性サイトカインなどを細胞内から細胞外へ分泌することが特徴的である。近年，１細胞計測の進歩により同種の免疫細胞に対して一様に刺激を与えても分泌応答が個々の細胞毎に大きくばらつくことがわかってきた。

我々は全反射照明による局所蛍光検出とサンドイッチ蛍光イムノアッセイを組み合わせ，生きた１細胞から分泌された分子をリアルタイムに検出することが可能な分泌実時間動態観測可能な実験系を構築・改良し，これらの現象を高分解能のシグナルで長時間生きたまま，さらに１つのチップにおいて４つの条件で同時に計測することに成功した。

我々は今回，理化学研究所の茂呂和世らにより発見された全く新しい免疫細胞（Moro K *et al.*, *Nature*, 463, 540-544 (2010)）である 2 型自然リンパ球（Group 2 innate lymphoid cells（ILC2s））を用いた。無刺激，IL-2 存在下，IL2/IL-25 存在下，IL-33 存在下の 4 条件にそれぞれ置かれたマウス ILC2 からの IL-13 サイトカイン分泌を同時観察した。その結果，分泌開始時間は刺激後 30 分から数時間に及び，非常にばらつくことがわかった。さらに IL-33 存在下では全体の約 40%の細胞から数回にわたる断続的な分泌動態が観察され，IL-2/IL-25 存在下では全体の約 10%の細胞から一過的な IL-13 分泌が観察された。この結果から分泌応答は細胞毎に分泌量だけでなく，分泌開始時間，分泌回数など様々な点で不均一性があることが明らかとなった。一様に刺激を同じタイミングで与えているのになぜこのような不均一性が生まれるのかを調べるために我々は個々の細胞の分泌応答を観察し，分泌開始直後の細胞のみを選択的に回収した場合と刺激開始から一定時間後の細胞を回収した場合で分泌タンパク質をコードしている mRNA の量を RT-qPCR 法によって比較定量した。その結果，分泌開始直後に細胞を回収した場合にのみ mRNA 量と分泌量との間の相関を見出すことができたことから，細胞内情報の時間変動が非常に速いことを示唆することができた。本講演ではこれらの mRNA 量と分泌動態との関係性について紹介し，さらに我々の技術の応用の可能性についても議論する。

７．行動を制御する神経ネットワーク機能の解明に向けて

2016 年 12 月 9 日－12 月 10 日

代表・世話人：松本正幸（筑波大学・医学医療系）
所内対応者：南部　篤（生体システム）

（１）行動ゴールの達成における前頭葉-大脳基底核連関
中山義久（東京都医学研）

（２）カテゴリに基づく論理的思考と行動制御の神経機構
細川貴之（東北大）

（３）ラットにおける視空間作業記憶の神経機構
小山　佳（東北大）

（４）時間情報処理における小脳の役割
植松明子（北大）

（５）環境に適した判断を支えるサル頭頂葉の神経活動
須田悠紀（玉川大）

（６）Neural pathways to induction visually guided saccades after V1 lesion
Rikako Kato（Kyoto University）

（７）Electrophysiological study of a L-dopa-induced dyskinesia mouse model
Dwi Wahyu Indriani（生理研）

（８）随意運動におけるサル脊髄一次感覚ニューロンの活動
戸松彩花（国立精神・神経センター）

（９）中脳ドーパミンニューロンの報酬予測誤差表現に寄与する視覚情報入力神経経路に関する研究
高桑徳宏（京大）

(10) サル中脳ドーパミンニューロンによる自己および他者の報酬情報表現
則武　厚（関西医大）

(11) サル DREADD システムを利用し報酬価値情報の処理経路を探る
藤本　淳（放医研）

(12) 皮質線条体路による意思決定の制御機構　-神経回路選択的な操作システムの開発から-
吉岡　望（福島県立医大）

【参加者名】

松本正幸（筑波大学），高田昌彦，宮地重弘，上園志織，田辺創思（京都大学霊長類研究所），菊田里美（東邦大学），小山内　実，筒井健一郎，細川貴之，小山　佳，孫　祖文，関　俊樹（東北大学），吉岡　望，加藤成樹（福島県立医科大学），西村幸男，加藤利佳子，高桑徳宏（京都大学），宇賀貴紀（山梨大学），星　英司，佐野暢哉，中山義久，横山　修，石田裕昭（東京都医学総合研究所），南本敬史，藤本　淳（量子科学技術研究開発機構放射線医学総合研究所），竹谷隆司，植松明子（北海道大学），須田悠紀（玉川大学脳科学研究所），戸松彩花（国立精神・神経医療研究センター神経研究所），則武厚（関西医科大学），水谷晃大（愛知学院大学）

【概要】

脳は，眼や耳などの感覚器官を通して外界の情報を受け取り，血糖値や水分濃度など体内の情報をモニターし，それらを統合，認識，記憶と照合することによって適切な行動を決定・発現する。このような脳のプロセスを解

明しようとするシステム神経科学は，各脳領域の神経活動がどのような情報をコードし，その活動が動物の行動をどう制御するのかに注目してきた。その一方，近年，個々の脳領域だけではなく，各領域をつなぐネットワークの役割に注目した研究が急速に増えつつある。このような研究は，光遺伝学やイメージング技術など，目的の神経ネットワークの活動を操作・可視化する革新的な手法の開発によって大きく発展した。特に近年は，齧歯類や他の小型動物に限られていたこれらの技術が，より大型の霊長類モデル動物にも適用が可能になりつつあり，革新的技術を用いて高次脳機能を解明しようとするシステム神経科学の動向に注目が集まっている。本研究会では，知覚や認知，情動，運動制御などを研究対象とする新進気鋭の若手システム神経科学者に最新の成果を持ち寄ってもらい，その方向性などを議論し，今後の研究の発展につなげることを目的とする。

（1）行動ゴールの達成における前頭葉・大脳基底核連関

中山義久（東京都医学総合研究所 前頭葉機能プロジェクト）

前頭葉は大脳基底核とループ回路を形成し，ゴール指向的行動に関与することが示唆されている。しかし，複数存在する前頭葉領域の役割の差異や，前頭葉と大脳基底核がどのように連関してゴール指向的行動が達成されているのかは不明な点が多い。本研究では，外側前頭前野の腹側部（vlPFC）および背側部（dlPFC），運動前野背側部の前方部（pre-PMd）と後方部（PMd），運動前野腹側部（PMv），帯状皮質運動野尾側部（CMAc），一次運動野（M1）および大脳基底核の淡蒼球（GP）の８領域を対象として，ゴール指向的行動における関与を検討した。ゴール指向的行動が，ゴールを決定すること（たとえば「赤信号を見て止まる」）と，適切なアクションを選択すること（たとえば「ブレーキレバーを握る」あるいは「ブレーキペダルを踏む」）によって達成されるとみなすことができることに着目し，以下のような行動課題を作成した。まず画面に指示刺激として図形（黄色い四角形や青いプラスなど）を提示し，次に選択刺激として 2 つ横に並んだ灰色の四角形のペアを提示する。選択刺激が白色に変わったら，左右の四角形のうち適切な方に到達すると報酬が与えられる。左右のどちらが正解であるかは，指示刺激によって指示される（たとえば黄色い四角形なら右，青いプラスなら左）。選択刺激は試行によって画面の左右方向のランダムな位置に提示される。これらの特徴によって，ゴール（到達ターゲットの相対的な左右位置）の決定およびアクション（到達運動の方向）の選択や実行の過程を時間的に分離し，検討することが可能となった。この課題を遂行中のサルから細胞活動を記録したところ, 1) 指示刺激の視覚的特徴を反映する細胞, 2) 指示刺激が指示するゴールを反映する細胞, 3) アクション決定を反映する細胞, 4) アクションの準備や実行に関与する細胞が記録された。細胞活動集団について，行動要素（ゴールやアクションなど）に対する選択性と，行動課題中の細胞活動の変動のパターン（クラスター分析）について解析を行った。その結果，1) 指示刺激の視覚的特性の処理は主に vlPFC が関与する, 2) ゴールの決定およびアクションの選択やそれらの情報の保持には主に vlPFC，dlPFC，pre-PMd，PMd が関与する, 3) アクションの準備･実行には主に PMd, PMv, M1 が関与する，4) CMAc はアクションの内容によらず動作全般の実行に関与する，5) GP はゴールやアクションの決定に関与するがそれらの情報の保持には関与しない，ということを示唆する結果が得られた。これらの結果は，ゴール指向的行動において前頭葉が大脳基底核と連携し，それぞれの領域が特異的な関与をすることを示唆する。

（2）カテゴリに基づく論理的思考と行動制御の神経機構

細川貴之（東北大学大学院生命科学研究科 脳情報処理分野）

霊長類をはじめとする高等脊椎動物は，経験した事象（環境刺激）とその結果の関係を学ぶことで，将来起こることを予測し，環境に適応する能力をもっている。さらに複数の動物種において，同様の事象を何度も経験するうちに共通する特徴をもつ刺激同士をグループ（カテゴリ）として認識するようになることが報告されている。異なるものを共通性に基づいてグループ化することは論理的思考能力の１つであり，そのような論理的思考の発達過程は人間の子供において詳しく調べられてきた。しかし論理的思考がどのような神経メカニズムによって実現されているのかはまだよく分かっていない。

我々は論理的思考に関係する神経メカニズムを調べるため，提示された視覚刺激のカテゴリと現在のルールに基づいて，どの結果（ジュースもしくは食塩水）が与えられるかを予測する必要がある「グループ逆転課題」をサルに訓練した。この課題には，同じ結果を予告する複数の刺激をカテゴリとして認識することでトップダウン的に行動を適応させることができる「全体逆転」と，そのようなカテゴリの情報を使うことができない「部分逆転」という２つの条件があった。実際サルは，全体逆転において，１つの刺激で結果との関係性が変化したことを経験すると，その他の刺激に対しては予測的に行動を切り替えるようになった。

我々は，経頭蓋磁気刺激法（Transcranial magnetic stimulation: TMS）によって前頭連合野のいくつかの領域を低頻度刺激したとき，グループ逆転課題の成績がどのような影響を受けるかを調べた。低頻度（1 Hz）の TMS を行うと，ターゲットにした脳領域の活動が抑制されることが知られており，非侵襲的に脳機能を阻害することができる。前頭連合野外側部（46 野および 12 野）を TMS によって機能阻害すると，全体逆転における素早い行動適応に障害が見られた。一方，前頭連合野の背側部（9 野）を機能阻害した場合はそのような障害は見られなかった。部分逆転においてはいずれの場合も行動成績の低下は見られなかった。これらの結果は前頭連合野外側部（主溝周辺部）がカテゴリに基づくトップダウン的な行動制御に関与していることを示唆している。

（3）ラットにおける視空間作業記憶の神経機構

小山　佳（東北大学 大学院生命科学研究科）

視空間作業記憶については，主にサルを使った電気生理学的測定や機能阻害実験，およびヒトの脳機能イメージングにより，前頭連合野や頭頂連合野が重要な役割を果たしていることが明らかになっている。一方で，げっ歯類の脳において，視空間作業記憶がどのように実現されているのか，霊長類と同様の視空間作業記憶のための神経機構があるのかどうかについては，いまだ不明な点が多い。本発表では，私たちが最近行っている，げっ歯類の視空間作業記憶機構を調べるための研究を紹介する。

まず，ラットの視空間作業記憶を調べる為に，霊長類で標準的に用いられてきた遅延反応課題を，頭部を固定されたラットに訓練したところ，2 か月以内に 70%以上の正答率で課題を遂行することができるようになった。次に，課題の訓練が完了したラットの内側前頭前野，および頭頂皮質から単一ニューロン活動記録を行った。その結果，内側前頭前野の背側部（dmPFC），および後頭頂皮質（PPC）に，課題の遅延期間に，手がかり刺激の位置や運動の方向に選択的で持続的な活動を示す細胞が多数存在することを見出した。また，これらの領域の神経活動をムシモールの注入によって抑制したところ，dmPFC の阻害が，遅延期間の長さに依存的な課題成績の低下を，PPC の阻害が，遅延期間の長さに非依存的な課題成績の低下を引き起こすことを見出した。これらの結果は，げっ歯類においても，霊長類と同様に，PFC および PPC が視空間作業記憶の実現に重要な役割を果たし

ていること，特に dmPFC がその保持にかかわっていることを示唆している。

さらに，最近私たちが独自開発した，細胞外から電気的活動の記録を行った細胞に，蛍光タンパク質の遺伝子を電気的に注入することにより標識を行う，新規な細胞標識法を用いて，視空間作業記憶の保持とかかわりが深いと考えられている，遅延期間に持続的な活動を示すニューロンの組織学的な解析を行った。その結果，これらのニューロンは，主に３層および５層の錐体細胞で，線条体に投射するものが多いことを見出した。この結果は，視空間作業記憶の保持とかかわりが深いと考えられている遅延期間の持続的発火には，前頭前野－線条体を結ぶ閉回路が関与していることを示唆するものである。

（4）時間情報処理における小脳の役割

植松明子（北海道大学医学研究科）

近年，神経心理学研究や脳画像研究により，小脳が時間情報処理に関与していることが示唆されている。以前我々は，繰り返し刺激のタイミングを予測するようにサルを訓練し（Oddball 課題），サルの小脳歯状核から神経活動を記録した（Ohmae et al., J Neurosci, 2013）。このとき記録した神経活動は，繰り返し刺激に応答した発火頻度の増減を示し，その程度は刺激が繰り返されるに従い強くなるという特徴を持っていた。加えて，記録部位の不活化ではタイミング予測を必要とする行動が遅延した。これらの結果から，神経活動がタイミング予測に関与していることが明らかになったが，具体的に行動のどの側面にこの信号が使われているかは検証の余地があった。そこで今回，①神経活動とタイミング予測の因果関係を調べるための微小電気刺激実験と②神経活動の生成に小脳がどのように関与しているかを明らかにするための微量薬物注入実験を行った。

行動課題は先行研究と同様に oddball 課題を用いた。この課題では，サルがスクリーン中央の固視点を見つめると右または左に視標が提示される。サルが固視を続けると，固視点の周囲に視覚刺激が一定の時間間隔で繰り返し提示される。繰り返し刺激は，約 3〜5 秒後ふいに一つ欠落する。この欠落を検出するとサルは視標に向かって目を動かす。欠落検出のためには，サルは次の視覚刺激提示のタイミングを予測しなければならない。

第 1 の実験では，微小電気刺激により小脳歯状核の神経活動を一過性に高めて，反応時間の変化を調べた。刺激提示間隔 (ISI)，150，400，600 ms の条件下で，oddball の直前 100〜200 ms 前に電気刺激の結果，すべての ISI 条件で反応時間が有意に短縮した(t-test, $p < 0.05$)。この効果は両側性であった。また，ISI 400 ms の条件下で，電気刺激のタイミングを 100 ms ずつ早めていったところ，電気刺激のタイミングに対して反応時間の短縮の度合いは線形ではなかった。さらに，繰り返し刺激の早期の電気刺激では眼球運動は生じなかった。以上の結果から，小脳歯状核での神経活動は，単なる眼球運動開始シグナルではなく視覚刺激の提示タイミングを反映しており，この信号が下流で欠落検出に用いられていることが示唆された。第 2 の実験では，歯状核への橋核からのグルタミン酸性の入力と小脳皮質プルキンエ細胞からの GABA 性の入力を薬理学的に遮断し，その前後で歯状核の神経活動変化を記録した。GABA 性入力の遮断には GABAA 受容体拮抗薬の gabazine，グルタミン酸性入力の遮断には AMPA 型受容体拮抗薬である NBQX と NMDA 型受容体拮抗薬である CPP を用いた。gabazine の投与によって神経活動のベースラインの上昇と繰り返し刺激に対する感覚応答の減少傾向が見られた。一方，NBQX と CPP 投与では神経活動のベースラインの変化と感覚応答の変化は各ニューロンによって異なっていた。今回，これまでに得られた知見を発表する。

（5）環境に適した判断を支えるサル頭頂葉の神経活動

須田悠紀（玉川大学脳科学研究所）

膨大な情報に満ちた外界から，必要な情報を取り出し適切な判断を下すことは，生きる上で必要不可欠な能力である。しかし，異なる環境下では判断に必要な情報は必ずしも不変ではない。ある時には必要であった情報が別の環境では不要なものとなりうる中，ヒトはどのようにしてその時々の環境に応じた判断を下すことが出来るのだろうか。

頭頂葉 LIP 野では，判断に必要な情報の蓄積及び閾値への到達に伴う判断の確定というプロセスが確認されている。我々は，判断に必要な情報がそれぞれ異なる運動方向弁別課題と奥行き弁別課題を使ったタスクスイッチ課題を用いて，サル頭頂葉 LIP 野の活動が異なる環境下でどのように変化するのか調べた。その結果，LIP 野神経細胞の build-up 活動は，ドットの動きと奥行きのいずれに対しても，課題遂行に必要な情報となった場合にのみ刺激強度依存的に変化することを明らかにした。その一方で，サッケード運動直前においては行っている課題や刺激強度に関わらず同程度の活動に収束した。これら結果は，LIP 野神経細胞が課題環境に応じて必要な情報をダイナミックに蓄積し，どこに目を向ければよいのか判断していることを示唆する。

さらに，我々は，この環境適応的な判断能力へ及ぼす NMDA 受容体の働きを明らかにするため，同様のタスクスイッチ課題を行っている際の LIP 野神経活動が NMDA 受容体拮抗薬ケタミンの全身投与によりどのように変化するのか調べた。その結果，運動方向弁別課題において，課題に不必要な奥行き情報に対する感度が，行動成績と LIP 野活動いずれにおいてもケタミン投与に伴って上昇することを明らかにした。さらに，視覚刺激からサッケード運動までの反応時間は，ケタミン投与に伴い刺激強度非依存的に一定時間遅れ，LIP 野 build-up 活動の開始時間の遅延と相関関係にあることも明らかにした。これら結果は，環境適応的な判断における不必要な情報処理の感度調節，および判断に必要な情報の蓄積活動の開始に NMDA 受容体が関与する可能性を示唆する。

（6）Neural pathways to induction visually guided saccades after V1 lesion

Rikako Kato（Graduate School of Medicine, Kyoto University）

The damage to the primary visual cortex (V1) causes loss of the subject's visual awareness in the affected visual field; the subject cannot "see" anything. However, some patients have an ability to localize the visual target by eye movements or forearm reaching without visual awareness. This phenomenon is called 'blindsight'.

To identify the neural pathways for induction of visually guided saccades after V1 lesion, we conducted a series of experiments as follows. First, to test whether the retinotectal pathway, direct projection from the retina to superior colliculus (SC), contributes to visually guided saccades after V1 lesion, we inactivated the SC of monkeys with unilateral V1 lesion by microinjection of muscimol and analyzed the effects on visually guided saccades. After ipsilesional SC inactivation, the monkeys failed to localize the target at the spatial representation of the injection site on the SC retinotopic map. This result suggested that retinotectal pathway is a critical gate of visual information after V1 lesion. Second, to identify the brain area associated with visually guided saccade after V1 lesion, we measured regional cerebral blood flow (rCBF) using a Positron emission tomography (PET) while monkeys with V1 lesion performed visually guided saccades. Before V1 lesion, the highest association with visually guided saccades was found in the occipital cortex. The cluster included several visual areas, V1, V2, V3, V4 and STP. However, after V1 lesion, significant associations in early visual cortices of ipsilesional hemisphere disappeared except V3 and MST/MT. Highest association in the ipsilesional hemisphere was found

in the lateral intraparietal area (LIP). To test whether LIP neurons respond to the visual stimulus and yield a presaccadic activity after V1 lesion, we recorded single unit activity of LIP neurons while the monkeys with V1 lesion performed visually guided saccade task. Ipsilesional LIP neurons showed visual responses to the visual target in the affected visual field and presaccadic activity for the saccade toward the affected visual field. And, we examined the effects of LIP inactivation by muscimol injection on the visually guided saccade after V1 lesion. Ipsilesinal LIP inactivation caused a deficit of visually guided saccade peformances. And, inactivation of contralesional LIP also impaired visually guided saccades to a target in the affected visual field, while saccades towards the intact visual field remained unaffected. Thus, LIP of both sides causally contributed to the visually guided saccades to the target in the affected visual filed. Taken together, V1 lesion caused a loss of many visual pathways via V1 and a relative contribution of LIP to the control of visually guided saccades was significantly enhanced; presumably mediated pathways via SC and MST/MT.

（7）Electrophysiological study of a L-dopa-induced dyskinesia mouse model

Dwi Wahyu Indriani，Hiromi Sano，Satomi Chiken，Atsushi Nambu
（生理研 生体システム）

L-dopa induced dyskinesia (LID) refers to abnormal involuntary movements (AIMs), including movements with dystonic posture, choreiform, or stereotypic features. LID is one of major complications after long-term use of L-dopa treatment in advanced stage of Parkinson`s disease (PD). PD is neurodegenerative disease resulting from the degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta. Therefore, dopamine replacement therapy with oral administration of L-dopa remains as the standard treatment for PD. To elucidate the mechanism of LID, we examined spontaneous neuronal activities of the basal ganglia (BG) and motor cortex-induced response patterns in the BG, especially globus pallidus (GP, external segment of the globus pallidus in primates) and substantia nigra pars reticulata (SNr) of LID mice under awake state. PD mice were made by injecting 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the right medial forebrain bundle (MFB). Then, PD mice were injected intraperitoneally with L-dopa for 11 days, resulting in development of LID. Neuronal activities of GP and SNr neurons were recorded from control (sham-lesioned mice), PD (6-OHDA lesioned mice), dyskinesia-off (at least 24 hours after last L-dopa injection), and dyskinesia-on (20-120 minutes after L-dopa injection, when mice develop dyskinesia) conditions. Spontaneous neuronal activities of GP and SNr neurons showed a little difference between control, PD, dyskinesia-off, and dyskinesia-on conditions. In the GP, cortically evoked late excitation was increased during PD and dyskinesia-off, but it was decreased during dyskinesia-on. In the SNr, cortically evoked inhibition and late excitation were decreased during PD. Similar responses with increased inhibition can be seen during dyskinesia-off, suggesting latent changes after repetitive L-dopa treatment. During dyskinesia-on, cortically evoked inhibition was prolonged, and late excitation was reduced in the SNr. Cortically evoked excitation, inhibition and late excitation are considered to be mediated by the hyperdirect, direct, and indirect pathways, respectively. Thus, LID can be explained by increased facilitatory signal for movements through the direct pathway and decreased stop signal through the indirect pathway.

（8）随意運動におけるサル脊髄一次感覚ニューロンの活動

戸松彩花（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所）

脊髄は各筋への出力の最終中継地であると同時に，末梢感覚入力の最初の中継地である。特に霊長類からヒトに見られる精緻な手の運動制御に関しては，入力と出力が相互作用する最初の場所として，脊髄を含む神経回路が非常に重要な役割を担っていると考えられる。この脊髄内や脳幹，大脳皮質を含めた神経回路の機能解明のために多くの研究がなされ，各種反射のメカニズムに関しては教科書的な基礎知識が豊富であるが，随意運動の制御にこれらがどう関わっているかについては未だに謎が多い。

この問題へのひとつのアプローチとして，我々は手首の屈曲／伸展運動を遂行中のサルの脊髄（C5-T1）より一次感覚介在ニューロン（末梢神経から直接入力を受ける脊髄介在ニューロン）の活動を記録し，運動制御のフェイズ（安静期，準備期，随意的運動期，受動的運動期）を手がかりにその特徴を比較した。対象とした末梢神経は，純粋な筋神経である橈骨神経深枝，純粋な皮膚神経である橈骨神経浅枝，筋と皮膚の混合神経である正中神経であった。これらの支配領域は相対しており，橈骨神経は手背側伸筋群，正中神経は手掌側屈筋群である。

その結果，随意運動期に関しては，以下の３点の知見が得られた。（１）入力する末梢神経が異なると，随意運動中の一次感覚介在ニューロン活動の至適方向も異なる。（２）随意運動中には，筋神経から一次感覚介在ニューロンへの刺激効果が上昇する。関ら（2003）は，皮膚神経入力が随意運動中にシナプス前抑制を受けることを報告しており，筋神経はその逆となっている可能性がある。（３）筋神経入力を受ける一次感覚介在ニューロンの中には，支配筋の伸張に感度が高いものと，支配筋の収縮に感度が高いものという，対照的な機能をもつサブグループが存在する。

以上より，サルの上肢の一次感覚介在ニューロンは，皮膚／筋，伸筋側／屈筋側などの末梢入力に応じた活動特性を示すだけでなく，随意運動の制御中に機能を組織的に分担していると言える。すなわち，脊髄で最初に感覚入力を受ける介在ニューロン群は，単なる感覚情報の中継点ではなく，運動制御に積極的な役割を果たす重要なモジュールなのである。発表では上記以外の結果も交え，一次感覚介在ニューロンの活動特性を総合的に紹介させていただきたい。

（9）中脳ドーパミンニューロンの報酬予測誤差表現に寄与する視覚情報入力神経経路に関する研究

高桑徳宏（京都大学医学研究科）

動物は物事の関連性を学習する連合学習を頻繁に行っており，特に臭いや音などの感覚情報とそれに続く報酬や罰などの結果の関係性に関する学習は古典的条件付けと呼ばれる。古典的条件付けの成立にはドーパミン(DA)ニューロンの活動が重要とされている。大脳基底核黒質緻密部(SNc)または腹側被蓋野(VTA)の DA ニューロンは自分が予想している報酬などの結果と実際に得られた結果の差，報酬予測誤差をコードしていると考えられている。特に報酬や罰などを予測させる感覚刺激(多くの実験では視覚刺激が用いられている)に対しては，その刺激が予測させる結果の価値を反映した大きさの応答をする。しかし，目から入力された視覚刺激がどのような神経経路により伝達され，DA ニューロンに到達するかはまだ分かっていない。

Peter Redgrave らの一連の研究により，サルを含む複数種類の哺乳類で進化的に古い視覚システムである上丘から中脳 DA ニューロンへの直接投射の神経経路があること，そして齧歯類を用いた麻酔下の実験により上丘を経由する視覚情報により DA ニューロンの応答を誘発することが可能であることが示された。しかし，この神経経路による視覚情報が学習の成立や DA ニューロンにおける報酬予測誤差の応答に寄与しているかは明らかではない。そこで，本研究では片側第一次視覚野を損傷した非ヒト霊長類(ニホンザル)を対象に実験を行い，上丘

を経由する視覚情報と視覚刺激を引き金にした連合学習，さらに DA ニューロンの応答との因果関係を検証した。

本実験でサルが行う古典的条件付け課題では，サルは画面中央を注視することが求められ，将来の報酬を予測させる条件刺激(CS)は周辺視野に提示される。さらに，量の多い報酬(LR)と量の少ない報酬(SR)をそれぞれ予測させる場所によって区別される 2 種類の CS を使用した。

これらの CS を第一次視覚野損傷の影響を受けた損傷視野に提示することで，入力される視覚情報は第一次視覚野を介さない(主に上丘を介すると考えられる)視覚経路のみによって伝達される。この損傷視野に提示された CS を手掛かりに, 将来の報酬との関係を学習することが可能であるのか，さらに中脳 DA ニューロンから単一ユニット記録を行うことにより上丘を経由する視覚情報による DA ニューロンの活動を調べた。加えて，上丘を経由する視覚情報とこれらの連合学習・DA ニューロンの応答との因果関係を調べるため，上丘に GAVAA レセプターのアゴニストである muscimol を注入し, 神経活動の抑制を行い，この学習により獲得された行動と DA ニューロンの応答への影響をそれぞれ検証した。

今回の発表では上記の一連の研究から得られた結果から得られた，上丘を経由する視覚情報の機能的な役割に関する結果を報告したい。

（10）サル中脳ドーパミンニューロンによる自己および他者の報酬情報表現

則武　厚（関西医科大学 生理学第二講座）

報酬は，生体が対象へ接近するか・しないかを決定づける主要因であり，個体の生存確率に関わる行動の動機づけや学習において重要な役割をはたす。これまで，一個体内における報酬情報処理の解明に主眼が置かれていたが，進化の過程においては，個体の生存確率に影響する要因として「他者」が非常に重要な役割を果たしている。特に霊長類（ヒトやサル）では，他の哺乳類と比べ集団サイズが大きく，複雑な社会的階層構造が存在している。そのため，報酬情報処理を一個体内だけで論じるには不十分であり，他者という環境要因がどのように自己の報酬情報に影響するのかを検討する必要があろう。しかし現時点では他者の報酬情報をも考慮したシステム生理学研究は少ない。特に皮質下における神経活動については多くの点が未解明である。

そこで，自己と他者が得られる報酬確率を操作した社会的な枠組みを用いた古典的条件づけをサルに行い，中脳のドパミン（dopamine, DA）ニューロンから単一細胞外神経応答を記録した。中脳 DA ニューロンは，実際に得た報酬と予測した報酬の誤差である報酬予測誤差を表現すると考えられているが，他者という環境要因がどのように自己の報酬情報表現に影響を与えるのかは，未だ解明されていない。そこでこの条件づけでは，自然界において餌は有限でその獲得をめぐり他者とは競合関係にあることを模し，他者が餌を手に入れた場合には餌が手に入らないように設定した。2 頭のサルを対面して座らせ，その間に置かれているモニタ上に視覚刺激を呈示し，各サルに異なる報酬確率を同時に知らせた。条件づけは 2 つの異なる文脈から成っており，ある条件づけでは，一方のサル（自己）の報酬確率のみが変化し他方のサル（他者）の報酬確率は一定で，もう 1 つの条件づけでは，他者の報酬確率のみが変化し自己の報酬確率は一定とした。

その結果，予測的に給水チューブを舐める期待行動（リッキング）の出現頻度が自己の報酬確率が高いほど多くなり，他者の報酬確率が高いほど少なくなった。このことは，サルが自己のみならず他者の報酬確率に影響を受け，自己の主観的価値を行動として表現していることを意味する。また，このような行動の差異は，もう一頭のサル (他者) が眼前にいなければ生じなかった。ではこの条件づけにおいて，中脳 DA ニューロンはどのような神経応答を示すのであろうか？自己の報酬確率のみが変化する文脈においては，これまでの知見と同様，中脳 DA ニューロンは自己の報酬確率が高い程応答が増加した。一方，他者の報酬確率のみが変化する文脈において，一部の細胞群では他者の報酬確率が高いほどその応答が低下した。これらの結果から，中脳 DA ニューロンにおいて，自己のみならず他者の報酬情報をも加味した新しい報酬価値の評価軸＝主観的な報酬予測誤差と

もいえる報酬情報が形成されていることが明らかとなった。本セミナーでは，これら結果の詳細を報告したい。

（11）サル DREADD システムを利用し報酬価値情報の処理経路を探る

藤本　淳（国立研究開発法人量子科学技術研究機構 放射線医学総合研究所
脳機能イメージング研究部 システム神経回路研究チーム）

ある認知機能の神経基盤を解明するためには，関連領野から神経活動を記録し神経表現を調べるとともに，神経活動の操作によって標的とする認知機能が因果的に影響されることを示す必要がある。近年，化学遺伝学的手法のひとつである DREADDs (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) の登場により，従来の薬理学的手法と比べ高精度な神経活動操作が可能となったことから，さまざまな認知機能の神経基盤を特定する試みが大きく進展すると期待されている。

これまで，最適なウイルスベクターが存在しなかったことから，DREADDs のサル実験への応用は遅れていた。しかし，我々放医研グループは，遺伝学的手法と PET イメージングを融合させることにより，DREADD の発現をマカクサルの脳内で生きたまま評価し，特異的薬剤（Clozapine-N-Oxide, CNO）の全身投与により行動を制御するシステムを確立した（Nagai ら, Nat Comun, *in press*）。

次のステップとして，我々は DREADDs の特性を活かし，特定の神経回路の因果的役割を調べる研究を開始している。変異型 G タンパク質共役受容体である DREADDs は神経細胞の軸索終末部にも分布し，投射先におけるシナプス伝達に関与することから，CNO を特定の投射先へ局所注入することにより，標的神経路を選択的に操作することが可能である。この技術を利用し，我々は報酬価値情報の処理への関連が予想される背内側線条体(rmCD)から腹側淡蒼球（VP）への投射経路の因果的役割の解明をめざす。

本研究会では，DREADD システムによる神経路選択的操作実験に先立ち行われた，rmCD および VP の神経活動記録実験について，結果を報告する。予備的な解析から，報酬量課題（Minamimoto ら J Neurophysiol, 2009）遂行中サル単一神経活動記録実験により，rmCD/VP で手がかり刺激にもとづく報酬価値予測に関連した神経表現が見出されている。これらの結果から，rmCD→VP 経路の役割について議論する。また，DREADDs を用いた今後のサル研究の展望についても議論したい。

（12）皮質線条体路による意思決定の制御機構　-神経回路選択的な操作システムの開発から-

吉岡　望，加藤成樹，小林和人
（福島県立医科大学 医学部付属生体情報伝達研究所 生体機能研究部門）

ヒトを含む動物は，学習を重ねることで状況に応じた意思決定を円滑に下せる。経験が浅いときの意思決定は，結果を予測しながら臨機応変に行動する“目標指向型”で制御されるが，経験を積むことで繰り返してきた行動を自動的に実行する“習慣型”の意思決定に切り替わる。最近の研究では，前頭前野の眼窩前皮質から線条体に入力する皮質線条体路を薬理遺伝学で抑制することで，意思決定が目標指向型から習慣型に移行すると報告されており，意思決定を担う神経回路として皮質線条体路が注目される（Gremel et al., Neuron, 2016）。我々は，レンチウイルスベクターに狂犬病ウイルスの感染力を付加させることで効率的に遺伝子導入できる逆行性レンチウイルスベクターを開発し，これを神経回路の解析に利用してきた（Kato et al., J Neurosci, 2011）。本研究では，感覚運動野に由来する皮質線条体路の生理機能を調べた。皮質線条体路は，主に大脳皮質 5 層に分布する皮質

線条体ニューロンから起こり，線条体に興奮性の神経入力を送る。緑膿菌毒素とモノクローナル抗体の融合蛋白質であるイムノトキシンの抗原分子を発現させるために逆行性ウイルスベクターを線条体から感染させて，イムノトキシンを大脳皮質に注入することで，皮質線条体路を選択的に破壊できる。一次運動野の皮質線条体ニューロンを破壊したマウスでは，一般的な運動機能は正常であったが，レバー押し行動の反復学習による意思決定の習慣化が起こらなかった。このマウスでは，覚せい剤のアンフェタミンの反復投与によって誘導される意思決定の習慣化も起こらなかった。この結果から，一次運動野に由来する皮質線条体路は意思決定の習慣化に不可欠であると考えられた。

一次運動野の皮質線条体ニューロンは，投射様式の違いによって，脳梁を越えて両側の線条体に投射する intratelencephalic type （IT 型）と，錐体路を下行しながら同側の線条体に投射する pyramidal tract type（PT 型）に分かれるが，それぞれを役割の違いは不明である。今回，２種類のウイルスベクターに感染した神経細胞のみで遺伝子発現を誘導するウイルスベクター二重感染法によって，皮質線条体ニューロンのサブタイプ選択的な遺伝子発現系を開発したので紹介する。現在，二重感染法と薬理遺伝学を組み合わせることで，IT 型と PT 型の神経活動を選択的に操作するシステム開発も進めている。

８．上皮膜輸送調節蛋白の異常と病態生理学の融合

2016 年 11 月 24 日－11 月 25 日

代表・世話人：河原克雅（北里大学医学部生理学）
所内対応者：古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）

（１）日本における Cystic fibrosis の現状と CFTR 遺伝子変異

石黒　洋，中莖みゆき，小澤祐加，谷口いつか，山本明子
（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）

（２）日本人 CFTR 変異体の特性解析

中尾香菜子 [1]，石倉麗音奈 [2]，中莖みゆき [3]，石黒　洋 [3]，政池知子 [2]，相馬義郎 [1]
（[1] 慶應義塾大学･医学部薬理学教室，[2] 東京理科大学理工学部･応用生物科学科，
[3] 名古屋大学･大学院医学系研究科･健康栄養医学）

（３）変異型 APOL1 は細胞内炎症性シグナリングを促進しポドサイト障害を増悪させる

若新英史 [1]，安西尚彦 [1]，Jeffrey Kopp [2]
（[1] 千葉大学大学院医学研究院薬理学，[2] NIH, NIDDK, KDB）

（４）ラット耳下腺導管細胞の重炭酸イオン分泌時の細胞内 pH 動態を規定する律速分子活性

上野可織，広野　力，北川道憲，柴　芳樹，杉田　誠
（広島大学大学院医歯薬保健学研究院･基礎生命科学部門･口腔生理学研究室）

（５）腸管 Na 代謝と Na 依存性栄養素吸収機構

林　久由，中山美智子，長橋美奈，石塚典子
（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室）

（６）TMEM16F におけるイオンチャネル機能とスクランブラーゼ機能の相関性

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

（７）腎集合管 B 型-間在細胞の非生理的なアルカリ分泌

河原克雅，大嶋友美，福田英一，安岡有紀子（北里大学医学部生理学）

（８）尿細管形成と嚢胞発生機構

横山尚彦（京都府立医科大学大学院医学研究科生体機能形態科学）

（９）受容体による TASK チャネルの制御

井上真澄（産業医科大学医学部第２生理学）

(10) リンパ球 Kv1.3 チャネルの機能異常と慢性腎臓病の病態生理への関与

風間逸郎（東北大学大学院医学系研究科生体システム生理学分野）

(11) 破骨細胞の H^+チャネルを介する細胞外リン酸濃度の感受・応答メカニズム

久野みゆき [1]，李　光帥 [1,2]，三浦克之 [2]，日野佳子 [1]，森浦芳枝 [1]，川脇順子 [3]，酒井　啓 [1]
（[1] 大阪市立大学大学院医学研究科･分子細胞生理学，[2] 薬効安全性学，[3] 中央研究室）

(12) 上皮細胞における CALHM チャネル非対称性ソーティング機構

加塩麻紀子 [1]，樽野陽幸 [1]，丸中良典 [1,2]
（[1] 京都府立医科大学･細胞生理学，[2] 京都府立医科大学･バイオイオノミクス）

（13）胃幽門腺粘液細胞における PGE2/cAMP と PPARα/NO 機構を活性化するアラキドン酸の増加

田中早織 [1]，細木誠之 [3]，島本史夫 [2]，松村人志 [1]，中張隆司 [3]，丸中良典 [3]
（[1] 大阪薬科大学薬物治療学，[2] 大阪薬科大学薬物治療学Ⅱ，
[3] 京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学）

（14）胃プロトンポンプβサブユニット糖鎖のシアル化/脱シアル化

藤井拓人 [1]，清水貴浩 [1]，竹島　浩 [2]，久代京一郎 [3]，高井まどか [3]，酒井秀紀 [1]
（[1] 富山大学･薬物生理学，[2] 京都大学･生体分子認識学，[3] 東京大学･工学研究科）

【参加者名】

河原克雅（北里大学医学部生理学），風間逸郎（東北大学大学院医学系研究科生体システム生理学分野），相馬義郎（慶應義塾大学医学部薬理学教室），中尾香菜子（慶應義塾大学医学部薬理学教室），井上真澄（産業医科大学医学部第２生理学），奥井元貴（京都府立医科大医学研究科細胞生理学），孫　紅キン（京都府立医科大医学研究科細胞生理学），丸中理恵（京都府立医科大医学研究科細胞生理学），丸中良典（京都府立医科大医学研究科細胞生理学），小木曾遥香（京都府立医科大医学研究科細胞生理学），石黒　洋（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学），宮崎裕明（京都府立医科大学大学院医学系研究科細胞生理学），池内優紀子（京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学），中張隆司（京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学），横山尚彦（京都府立医科大学解剖学教室生体機能形態科学部門），田中早織（大阪薬科大学薬学部薬物治療学），酒井秀紀（富山大学大学院医学薬学研究部薬物生理学研究室），清水貴浩（富山大学大学院医学薬学研究科薬物生理学研究室），杉田　誠（広島大学大学院医歯薬保健学研究院口腔生理学研究室），樽野陽幸（京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学），加塩麻紀子（京都府立医科大大学院医学研究科細胞生理学），細木誠之（京都府立医科大大学院医学研究科細胞生理学），藤井拓人（富山大学大学院医学薬学研究部薬物生理学），大嶋友美（北里大学医学部生理学），安西尚彦（千葉大学大学院医学研究院薬理学），若新英史（千葉大学大学院医学研究院薬理学），久野みゆき（大阪市立大学大学院医学研究科分子細胞生理学），林　久由（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室），石塚典子（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室），鈴木喜朗（岡崎統合バイオサイエンス センター細胞生理研究部門）古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門），泉　裕士（生理学研究所細胞構造研究部門），大谷哲久（生理学研究所細胞構造研究部門），　菅原太一（生理学研究所細胞構造研究部門）

【概要】

われわれの体を構成する全細胞の生存環境（内部環境）は，外界（外部環境）から隔絶され，固有の至適状態を維持している。皮膚・消化管・腎臓等の上皮細胞は，まさにこの境界に位置し，特に消化管や腎臓における調節的物質輸送（吸収・分泌）は，栄養素や水電解質の吸収，酸や代謝産物の排出等を通して体細胞の生存環境（内部環境）の至適恒常性を維持している。また上皮細胞は，外界（外部環境との延長）に接するので機械センサーの役割を担い，ホメオスタティックな細胞機能を調節し外部環境の変化に対応する事が可能である。

本研究会では，上皮膜細胞の機械刺激感知機構と輸送機能が発揮される動作原理を分子・細胞・システムレベルで統合的に解析し，その時空間的ダイナミクスの理解を深めることを目的とした。そして，それらの機能の破綻による病態発現機構を探索し解明することにより，特定分子を標的とした機能回復・亢進・抑制法を開発することを可能にした。これらの議論を通して，上皮膜輸送機能の時空間ダイナミクスの異常を修復する方策，治療法の考案に対し解決の糸口を見つけることができれば，未来に向けた研究への道筋は自然と見えて来る。

本研究会には，上皮膜輸送機構と感知機構を分子・細胞・システムレベルで探究している研究者，および病態発現機構と治療法を探究する研究者に参加していただいた。本研究会での活発な議論は，上皮輸送機能の調節と動作原理の機能協関について新しい知見を提供してくれたので，輸送機能の時空間ダイナミクス統御機構を討議する場として十二分に機能したと言える。

正常な機能生理学と臨床応用に直結する病態生理学の融合は，正しい標準治療法の開発に不可欠と思われる。

（1）日本における Cystic fibrosis の現状と CFTR 遺伝子変異

石黒　洋，中莖みゆき，小澤祐加，谷口いつか，山本明子
（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）

嚢胞性線維症（cystic fibrosis：CF）は，CFTR を原因遺伝子とする常染色体劣性遺伝性疾患である。CFTR の機能喪失により全身の管腔臓器が粘稠な分泌液で閉塞するため，多くの症例では，気道感染を繰り返し，膵臓が萎縮する。CF はヨーロッパ人種の最も多い遺伝病であるが，アジア人種には稀な疾患であり，日本における頻度は出生 60 万人に 1 人程度である。CF は 2015 年に難病に指定され，当研究室は，患者登録と疫学調査の事務局および遺伝子診断を担当している。1994 年以降 103 症例（男 52，女 51）が確認されているが，生存期間の中央値は 19.8 年と予後はきわめて不良である。年間 2〜3 名の患者が新たに診断され，現在 27 名の患者（男 12，女 15）が登録されている。日本人の CFTR 遺伝子はヨーロッパ人種とは多型の分布が異なり，日本人由来の CF アレルに F508del などのヨーロッパ型の変異が検出されることはなく，稀な変異がほとんどであり，しばしば新規の変異が検出される。当研究室で全 exon のシーケンス解析とゲノムリアレンジメントの解析を行った 19 例 38 アレル中，日本人由来は 28 アレルであり，そのうち exon 16~17b の欠損変異が 13 アレルに検出された。

（2）日本人 CFTR 変異体の特性解析

中尾香菜子 [1]，石倉麗音奈 [2]，中莖みゆき [3]，石黒　洋 [3]，政池知子 [2]，相馬義郎 [1]
（[1] 慶應義塾大学･医学部薬理学教室，[2] 東京理科大学理工学部･応用生物科学科，
[3] 名古屋大学･大学院医学系研究科･健康栄養医学）

嚢胞性繊維症（Cystic Fibrosis, CF）は，CFTR 遺伝子変異を原因とする全身性の常染色体劣勢遺伝性疾患である。興味深いことに，日本人 CF 患者では，欧米人で頻度の高い病因性 CFTR 遺伝子変異（e.g. ΔF508）はほとんど検出されず，その多くがデータベースに未登録あるいは欧米人では稀な変異である。本研究会で我々は日本人型 CFTR 変異の中でも特に，大規模欠体 CFTRΔ（G970-T1122）に着目し，その発現様式，局在等に ついて報告する。この CFTRΔ（G970-T1122）は，世界的な CFTR 変異データベースに登録はされているが，これまで日本人含めたアジア人でのみ検出されているアジア人特異的な変異である。さらに，日本人 CF 患者でかなりの高頻度で検出されており（CFTR 遺伝子解析 46 例中 12 例），ホモ接合体の患者も存在する。この CFTRΔ（G970-T1122）は，150 ものアミノ酸が欠損しているにも関わらず，タンパク質として翻訳されるが，CFTR（ΔF508）と同様プロセシング異常により，細胞膜発現異常を引き起こす Class II 変異であることが明らかとなった。

（3）変異型 APOL1 は細胞内炎症性シグナリングを促進しポドサイト障害を増悪させる

若新英史 [1]，安西尚彦 [1]，Jeffrey Kopp [2]
（[1] 千葉大学大学院医学研究院薬理学，[2] NIH, NIDDK, KDB）

APOL1 は Trypanosoma 溶解因子であり，ヒトが保有する血清タンパク質である。APOL1 は Cl イオンチャネル活性を持ち，Trypanosoma の Lysosome への局在を介してダメージを与える。*Trypanosoma brucei (T.b.) rhodesiense* は Africa に生息し，sleep sickness を引き起こす。*T. b. rhodesiense* は野生型 APOL1 に耐性であるが，C-terminal

domain 変異 APOL1 は *T. b. rhodesiense* を溶解する。従来，アフリカ系アメリカ人はヨーロッパ系と比べ末期腎不全症例が 5 倍多いことが知られている。近年，アフリカ系アメリカ人の APOL1 遺伝子変異（G1, G2）が FSGS などの糸球体疾患保有と強く相関することが報告された。変異 APOL1 が腎臓病リスクを増大させる分子メカニズムは不明である。我々はタンパク分泌シグナル配列を欠損した APOL1 mRNA splice variant を新規同定した。この APOL1-B3 は血清中には存在せず，ポドサイトで発現していた。変異型 APOL1-B3-G2 トランスジェニックマウスにおいて，LPS や片腎摘による糸球体障害は野生型マウスおよび野生型 APOL1-B3-G0 トランスジェニックマウスに比し増悪しており，糸球体における IL-1 βmRNA 発現が亢進していた。 そのメカニズムとして我々は APOL1-B3 が Toll Like Receptor シグナル制御する NLRP12 やインフラマソーム NLRP3 と相互作用することを見出した。さらに野生型と比べ変異型 APOL1-G2 は NLRP12 との相互作用が大であった。近年，慢性腎臓病病態とインフラマソームの関与した慢性炎症の関連が示唆されている。変異型 APOL1 は糸球体内細胞内炎症シグナリングを促進することで糸球体疾患進行を促進していると考えられた。

（4）ラット耳下腺導管細胞の重炭酸イオン分泌時の細胞内 pH 動態を規定する律速分子活性

上野可織，広野　力，北川道憲，柴　芳樹，杉田　誠
（広島大学大学院医歯薬保健学研究院・基礎生命科学部門・口腔生理学研究室）

ラット耳下腺導管細胞では細胞内 Ca^{2+}濃度を上昇させる carbachol 刺激および細胞内 cAMP 濃度を上昇させる forskolin 刺激により，それぞれ Ca^{2+}依存性 Cl^{-}チャネルと CFTR Cl^{-}チャネルを介して HCO_3^{-}が分泌される。本研究では，耳下腺導管において細胞内 pH 動態を測定し，carbachol および forskolin により誘発される HCO_3^{-}分泌時における，Na^{+}-H^{+}交換体と炭酸脱水酵素の活性制御機構とそれら分子活性の細胞内 pH 調節への寄与を探究した。導管細胞の安静時の細胞内 pH は 7.4～7.9 であり，forskolin 刺激は常に細胞内 pH を安静時よりも減少させたが，carbachol 刺激は細胞内 pH を 7.6 に収束させた。炭酸脱水酵素阻害剤 methazolamide を作用させた際，forskolin 刺激により誘発される細胞内 pH 減少は抑制される一方で，carbachol 刺激時には常に細胞内 pH が上昇し，Ca^{2+}-calmodulin 依存的に Na^{+}-H^{+}交換体が顕著に活性化されていることが明らかとなった。Na^{+}-H^{+}交換体阻害剤 5-(N,N dimethyl) amiloride を作用させた際，forskolin 刺激により誘発される急激な細胞内 pH 減少は炭酸脱水酵素阻害により顕著に遅延される一方で，carbachol 刺激による急激な pH 減少は Cl^{-}チャネル阻害もしくは炭酸脱水酵素阻害で同程度に遅延された。Forskolin と carbachol 刺激時において，それぞれ炭酸脱水酵素活性と Na^{+}-H^{+}交換体活性が，HCO_3^{-}分泌および細胞内 pH 調節の律速過程として優位に働くことが示唆された。

（5）腸管 Na 代謝と Na 依存性栄養素吸収機構

林　久由，中山美智子，長橋美奈，石塚典子
（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室）

食事より摂取した Na は消化管で吸収され，摂取量に合わせた量が腎臓で排泄される。しかし，消化管での Na 吸収に関しては，摂取した Na のみではなく，栄養素 と一緒に多量の Na が吸収されている。これは一部の Na みが体循環に入ることを示唆しているが，この Na 代謝機構については十分に検討されていない。このため，本研究では Na 依存性グルコース輸送（SGLT1）に伴う，経上皮性の Na フラックスの特性を明らかにすることを試みた。また傍細胞経路の関与を検討するため，クロージン 15 欠損マウスを用いた。小腸をユッシングチャンバーに装着し，グ

ルコース添加に伴う経上皮性 ^{22}Na フラックス及び電気的パラメーターを測定した。野生型マウスでは，短絡電流上昇（ΔIsc）とほぼ一致する ^{22}Na フラックス（$J_{M\ to\ S}$）の増加が短絡条件下で観察された。非短絡条件下では，短絡電流条件下とほぼ等価の ΔIsc は観察されたが，$J_{M\ to\ S}$ は強く抑制された（>90%）。クロージン 15 欠損マウスでは，非短絡条件下では，$J_{M\ to\ S}$ の抑制は野生型に比べ小さかった（<30%）。以上より，SGLT1 により栄養素吸収細胞に取り込まれた Na は，細胞間隙に汲み出された後に，起電性の SGLT1 により発生した粘膜側の負電位を駆動力とし，傍細胞経路を介し，管腔側に再循環している可能性が示唆された。

（6）TMEM16F におけるイオンチャネル機能とスクランブラーゼ機能の相関性

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

Transmembrane protein 16F (TMEM16F) は，細胞内遊離 Ca^{2+}濃度（$[Ca^{2+}]_i$）の上昇によりリン脂質を双方向に輸送するスクランブラーゼとして同定された蛋白質である。一方で我々は，これまでにヒト胎児腎臓由来細胞（HEK293T）に過剰発現したヒト TMEM16F が，$[Ca^{2+}]_i$ 上昇により活性化する Cl^-チャネル（CaCC）として機能することを明らかにしている。そこで本研究では，ヒト TMEM16F の CaCC 機能およびスクランブラーゼ機能がどのように制御されているのかについて検討した。イオンチャネル機能およびスクランブラーゼ機能は，それぞれホールセルパッチクランプ法および annexin V-phycoerythin (PE) を用いたフローサイトメトリー法により観測した。CaCC 阻害剤やヒト TMEM16F の各種変異体を用いた両機能解析により，CaCC 機能とリン脂質スクランブラーゼ機能が正に相関していることが明らかとなった。これらの結果から，ヒト TMEM16F 分子がイオンチャネル機能とリン脂質スクランブラーゼ機能を有する可能性が示唆された。

（7）腎集合管 B 型-間在細胞の非生理的なアルカリ分泌

河原克雅，大嶋友美，福田英一，安岡有紀子
（北里大学医学部生理学）

腎集合管は細胞外液の水電解質組成・量および浸透圧・pH を正常域内に維持するため，少なくとも３種類に分化し（主細胞 PC, A/B 型-間在細胞（IC-A, IC-B）），ホルモン調節性に上皮輸送（再吸収・分泌）している。IC-B 管腔膜に局在する Cl^-/HCO_3^-交換輸送体（Pendrin）は，アルカリ負荷で発現量が増加し，尿中へのアルカリ（HCO_3^-）分泌を亢進し，血漿 pH を正常域内に維持する。一方，IC-B（側底膜）には Ca 感知受容体（CaSR）が局在し，その発現量は，酸/アルカリ負荷で減少/増加した（Yasuoka et al, 2014）。しかし，その機能的役割は依然不明である。我々は，低リン食誘導-高 Ca 血症マウス（B6）が，（１）Pendrin の発現亢進と IC-B 細胞の肥大化を示し，（２）奇妙な「酸塩基バランス異常」（高 Cl^-性代謝性アシドーシスでアルカリ尿）を示す事を発見した。IC-B（側底膜）CaSR の機能評価をするため，Fluo4-AM 負荷-単離皮質（CCD）・髄質外層集合管（OMCD）を LSM 下で観察し，CaSR アゴニスト（R568, Neomycin）に応答する細胞内 Ca シグナルをリアルタイムで測定した。その結果，CCD で，ヘンレループの太い上行脚（TAL）細胞と同期して Ca 応答する細胞を特定した。一方，OMCD には存在しなかった。これらの結果は，集合管の CaSR は IC-B に特異的に発現し，高 Ca 血症時には非生理的に尿中へのアルカリ分泌を亢進させ，意図しないアシドーシスを招く可能性を示唆した。

（8）尿細管形成と嚢胞発生機構

横山尚彦
（京都府立医科大学大学院医学研究科生体機能形態科学）

一定の長さおよび管腔径をもつ成熟した尿細管の形成には，尿細管上皮細胞の①細胞移動，②細胞増殖，③細胞分裂軸の３つの要素が影響する。尿細管（集合管）の一部もしくは全体が拡張した病態は，嚢胞性腎疾患と言われるが，多くの遺伝性疾患が知られている。遺伝性嚢胞性腎疾患の原因遺伝子産物（嚢胞蛋白）の多くが，繊毛に存在することがわかってきており，繊毛が尿細管管腔径の決定にかかわっていることが考えられている。尿細管細胞の繊毛は，シグナルに関与することが推定されているが，その分子機構は依然不明である。

繊毛は，細胞表面より突出する膜に覆われた構造体で，微小管よりなる軸糸が内部に存在する。また，繊毛は基部より，基底小体（＝母中心体），移行帯，Inv compartment（＝doublet region?），singlet region，先端に分類される。嚢胞蛋白は，繊毛全体に一様に分布しているのではなく，繊毛内の特定の部位に局在する。嚢胞蛋白はその局在により，(1) 繊毛膜局在，(2) Inv compartment 局在，(3) 移行帯局在の３つに分けられる。本研究会では，Inv compartment に局在する Inv, NEK8, Nphp3, ANKS6 の４つの嚢胞蛋白の相互関係，および，繊毛からのシグナルについて報告する。

（9）受容体による TASK チャネルの制御

井上真澄
（産業医科大学医学部第２生理学）

TASK チャネルは静止膜電位を形成するチャネルであり，2PK チャネルファミリーの中の 1 つのサブファミリーを形成している。このサブファミリーには，TASK-1，TASK-3, そして TASK-5 が含まれる。これらの TASK チャネルは生体内で広く分布している。TASK チャネルの特徴は，細胞外 H イオンにより抑制されることである。この H イオンによる抑制の IC50 は，TASK1 が pH7.3，TASK3 が pH6.8 である。副腎髄質（AM）細胞では TASK-1 が発現している。細胞外の pH の低下は，TASK チャネ ルを抑制して，膜電位を脱分極させて，カテコールアミン分泌を誘発する。これらの実験結果，及び TASK-1 チャネルの H イオンに対する感受性から，TASK-1 チャネルは，AM 細胞においてアシドーシスのセンサーとして機能していると考えらえる。AM 細胞における細胞膜の TASK-1 チャネルは，NGF 刺激によりエンドサイトーシスされる。この NGF 誘発性エンドサイトーシスには，TrkA 受容体の下流の PLC 系と PI3-kinase 系を介して，最終的には Src による TASK-1 の C 末端のチロシン残基（Y370）のリン酸化が関与する。

（10）リンパ球 Kv1.3 チャネルの機能異常と慢性腎臓病の病態生理への関与

風間逸郎
（東北大学大学院医学系研究科生体システム生理学分野）

胸腺由来リンパ球（T リンパ球）の細胞膜上には，電位依存性遅延整流型 K^+チャネル（Kv1.3）が数多く発現する。われわれは一連の研究を通して，本チャネル活性が細胞性免疫を賦活化し，腎間質におけるその過剰発現

が慢性腎臓病の病態を進行させることを明らかにした。さらに，電気生理学的手法を用いた研究により，非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）や一部の抗菌薬に加え，降圧薬（Ca^{2+}拮抗薬）やマクロライド系抗生物質も，リンパ球 Kv1.3 チャネル電流を有意に抑制することにより，免疫抑制作用を発揮することを明らかにした。

中でも，日常診療で頻用されている Ca^{2+}拮抗薬である Benidipine は，本チャネル電流を強力かつ持続的に阻害したことから，末期腎不全モデルラットに対し，本薬剤の治療的な投与を試みた。その結果，Benidipine は腎間質リンパ球で過剰発現した Kv1.3 を標的にして，腎臓局所における炎症性細胞の増殖・活性を抑え，それにより，腎線維化の進行を有意に抑制することを明らかにした。これら一連の研究成果により，われわれは，選択的 Kv1.3 チャネル阻害薬に加え，本チャネル阻害作用を有する既存の頻用薬も，慢性腎臓病をはじめ，いわゆる“慢性炎症性疾患”に対する治療薬として有用である可能性を示した。

（11）破骨細胞の H^+チャネルを介する細胞外リン酸濃度の感受・応答メカニズム

久野みゆき [1]，李　光帥 [1,2]，三浦克之 [2]，日野佳子 [1]，森浦芳枝 [1]，川脇順子 [3]，酒井　啓 [1]
（[1] 大阪市立大学大学院医学研究科・分子細胞生理学，[2] 薬効安全性学，[3] 中央研究室）

無機リン酸（Pi）は，骨組織の細胞機能を制御する細胞外シグナルと考えられている。骨基質（hydroxyapatite;リン酸カルシウム）の分解を担う破骨細胞の微小環境では Pi 濃度が大きく変動する。私達は，RAW 細胞由来破骨細胞において細胞外 Pi 濃度の増加に伴い voltage-gated H^+ channel の活性が増強することを発見し，そのメカニズムを検討した。Pi 効果は，細胞外 Na^+の除去，Na^+依存性 Pi transporter の inhibito（r PFA）によって減弱したため，主に Na^+依存性に取り込まれた Pi により誘起されると推測された。Pi は maximal conductance 増加，gating 促進，activation curve の過分極シフトをもたらし，H^+排出能を大きく増強した。gating 促進が conductance 増加に比べ低濃度の Pi で起こるなど，parameter により Pi 感受性に違いがあり，複数のメカニズムの関与が示唆された。Conductance 増加は主に Pi による細胞内 pH（pH_i）低下に起因し，gating 促進は細胞内 Pi 濃度に依存し protein kinase C の inhibitor（GF109203X）で部分的に抑えられた。以上より，破骨細胞において，H^+チャネル活性の増強が Pi に対する初期応答の仕組みのひとつであると推測される。

（12）上皮細胞における CALHM チャネル非対称性ソーティング機構

加塩麻紀子 [1]，樽野陽幸 [1]，丸中良典 [1,2]
（[1] 京都府立医科大学・細胞生理学，[2] 京都府立医科大学・バイオイオノミクス）

Calcium Homeostasis Modulator 1（CALHM1）は遅発性アルツハイマー病発症関連遺伝子の１つとして近年発見された電位依存性イオンチャネルである（Cell 133:1149, 2008; PNAS 109:E1963, 2012）。CALHM1 は大きなポア（直径 14.2 Å）ゆえにイオン選択性が低く，Ca^{2+}および ATP 透過性を有する。CALHM1 は，味蕾において甘味・苦味・うま味受容を担うⅡ型味細胞に選択的に発現し，ATP を神経伝達物質とするプリン作動性味覚神経伝達を担う（Nature 495:223, 2013）。

神経上皮細胞ともいわれる味細胞の細胞膜は，密着結合を介して頂端膜と基底膜に分かれ，両膜領域間で膜タンパクの拡散が制限されている。そのため，口腔に面する頂端膜には味物質の受容体分子，求心性神経とコンタクトする基底膜では味情報の処理・神経伝達に関わる分子と，必要な分子を選択的にソーティングする必要があると考えられる。CALHM1 は，プリン作動性神経伝達を担うことから味細胞では基底膜で機能すると予想されるが，CALHM1 が頂端膜と基底膜のいずれの膜領域にソーティ

ングされるのか不明である。

本発表では，上皮細胞モデルである MDCKII 細胞における CALHM1 の選択的基底膜ソーティングと，その分子メカニズム解析の結果を含め, 進捗を紹介のうえ議論したい。

（13）胃幽門腺粘液細胞における PGE2/cAMP と PPARα/NO 機構を活性化するアラキドン酸の増加

田中早織 [1]，細木誠之 [3]，島本史夫 [2]，松村人志 [1]，中張隆司 [3]，丸中良典 [3]
（[1] 大阪薬科大学薬物治療学，[2] 大阪薬科大学薬物治療学Ⅱ，
[3] 京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学）

胃幽門腺粘液細胞 ACh 刺激性開口放出は 2 つのオートクリン機構（PGE_2/cAMP，PPARα/NO）により維持されているが，それぞれの活性化がどのように調節されているのかは明らかにされていない。アラキドン酸（AA）は PPARα のリガンド，かつ PGs 基質であり，2 つのオートクリン機構の鍵となる物質である。今回は，AA 産生について検討した。

胃幽門腺粘膜において ACh は AA 産生を増加し，PPARα を介し NO を産生，開口放出を増強した。この ACh 効果はイオノマイシンにより再現され，PLA_2 阻害薬により消失した。さらに $AACOCF_3$ は PPARα を介し NO 産生を増加，開口放出を増強した。このように，ACh は Ca^{2+}活性化 PLA_2 を介し AA を産生し，PPARα を活性化した。一方，インドメタシン（IDM）は AA・NO 産生を増加させた。IDM 存在下で ACh（1・10 μM）は ACh 濃度依存性に AA・NO 産生を増加した。PGE^2 産生は 10 μM ACh のみで増加し IDM により消失した。ACh 刺激性開口放出は 1 μM に比べ 10 μM では約 4 倍に増加し，$[Ca^{2+}]_i$ も 10 μM ACh で高かった。また IDM は 1 μM ACh 開口放出を増強したが，10 μM では抑制した。これらの結果は PGE_2/cAMP 機構活性化は高い$[Ca^{2+}]_i$ が必要であり，PGE_2 産生は AA 濃度に依存することが示唆された。

（14）胃プロトンポンプ β サブユニット糖鎖のシアル化/脱シアル化

藤井拓人 [1]，清水貴浩 [1]，竹島　浩 [2]，久代京一郎 [3]，高井まどか [3]，酒井秀紀 [1]
（[1] 富山大学･薬物生理学，[2] 京都大学･生体分子認識学，[3] 東京大学･工学研究科）

胃プロトンポンプ（H^+,K^+-ATPase）は，触媒鎖の α サブユニット（αHK）と糖蛋白質の β サブユニット（βHK）で構成されている。本研究では，βHK 糖鎖のシアル化/脱シアル化が αHK 活性に及ぼす効果を検討した。H^+,K^+-ATPase 安定発現 LLC-PK1 細胞において, neuraminidase 処理による βHK の脱シアル化は, αHK の発現量や局在を変化させずに酵素活性を有意に減少させた。pH5 溶液により同様の βHK の脱シアル化および αHK の酵素活性減少が見られたが，pH6 の溶液では見られなかった。H_2 ブロッカー（famotidine）投与ラットの胃酸分泌細胞では有意なシアル酸蛍光標識が検出されたが，histamine 投与ラットでは検出されなかった。また，famotidine 投与ラットでは histamine 投与ラットに比べて，単位蛋白質量当たりの αHK の酵素活性が有意に上昇した。Neuraminidase 処理により，これらの famotidine による効果は消失した。胃内は通常 pH1 に保たれているが，　消化性潰瘍等で famotidine を服用した場合，pH は約 6 まで上昇することから，胃内 pH 変化に伴い βHK の脱シアル化/シアル化が起こっていることが想定される。酸分泌抑制による βHK のシアル化は, プロトンポンプ活性のポジティブフィードバック機構の一部として機能している可能性がある。

９．大脳皮質の機能原理を探る

2016 年 12 月 7 日－12 月 8 日

代表・世話人：宋　文杰（熊本大学大学院生命科学研究部）
所内対応者：川口泰雄（生理学研究所大脳神経回路論研究部門）

（１）神経活動依存的遺伝子発現レポーターツールの開発と大脳機能解析への応用
奥野浩行（京都大学大学院医学研究科）

（２）皮質下ループによる時間情報処理
田中真樹（北海道大学大学院医学研究科）

（３）大脳皮質の多領域間スパイク・コミュニケーションの解明を目指して
礒村宜和（玉川大学脳科学研究所）

（４）一次運動野における AMPA/GABA シナプス可塑性による運動学習のメカニズム
木田裕之（山口大学大学院医学系研究科）

（５）体性感覚を知覚する神経回路メカニズムの解明
真仁田　聡（理化学研究所脳科学総合研究センター，山梨大学大学院総合研究部）

【参加者名】

宋　文杰, 福田孝一（熊本大学大学院生命科学研究部），木田裕之，酒井　鴻（山口大学大学院医学系研究科），鈴木里佳（佐賀大学大学院医学系研究科），水関健司，北西卓磨，宮脇寛行，松本英之（大阪市立大学大学院医学研究科），苅部冬紀（同志社大学大学院脳科学研究科），奥野浩行，古田貴寛，日置寛之，柴田憲一，石田葉子，兼重美希（京都大学大学院医学研究科），田中琢真（滋賀大学データサイエンス教育研究センター），片上茂樹（岐阜大学医学部医学科），山下貴之（名古屋大学環境医学研究科），松原崇紀（名古屋大学大学院医学系研究科），水谷晃大（愛知学院大学心身科学部），真仁田　聡（山梨大学大学院総合研究部），礒村宜和，川端政則（玉川大学脳科学研究所），深井朋樹，村山正宜，水田恒太郎（理化学研究所脳科学総合研究センター），小島久幸（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科），山下晶子（日本大学医学部），森田賢治（東京大学大学院教育学研究科），小山内　実（東北大学大学院医学系研究科），田中真樹，竹谷隆司（北海道大学大学院医学研究科），山下　映，片山香織，松田隆志（基礎生物学研究所），石川理子，木村梨絵，川口泰雄，窪田芳之，大塚　岳，森島美絵子，畠中由美子，孫　在隣，Agahari Fransiscus Adrian，任　翔壎（生理学研究所）

【概要】

「大脳皮質の機能原理を探る」研究会は，12 月 7 日から 8 日にかけて行われました。初日にまず，京都大学の奥野浩行先生が，シナプス活動応答性エレメント SARE やその改良版 E-SARE の開発から，それらを記憶研究に応用した最新な研究まで披露されました。神経活動を分子タグで可視化する方法は今後の神経科学の発展に大きく貢献する可能性を示されました。続いて，北海道大学の田中真樹先生が霊長類の線条体と小脳において時間処理に関わる単一ニューロン活動からヒトの心理実験データまで披露されました。電気生理による記録と薬物による神経活動操作で，時間処理における基底核と小脳の役割分担を明確に示されました。最後に，玉川大学の礒村宜和先生が大脳皮質の多領域間コミュニケーションに関して発表されました。自ら開発した頭部固定学習標本を用いて，大脳皮質の多くの部位から，大規模スパイクデータを収集し，運動野の機能や行動抑制の仕組みを示されました。また，脳における機能結合を大規模で解析する新しい方法も披露されました。

二日目には，まず山口大学の木田裕之先生が，ロータロッド学習に伴う大脳皮質運動野の可塑的変化を，興奮性シナプスと抑制性シナプスの両方において，電気生理と生化学的な方法で探索され，多くの研究者が興味を持

つ問題に果敢に挑戦されました。最後に，山梨大学の真仁田聡先生が二次運動野から一次体性感覚野へのトップダウン入力が皮膚感覚の成立に必須であることを示され，感覚研究におけるパラダイムシフトを感じさせられました。

例年より参加者が多く，例年と同じように発表の途中から討論が活発に行われました。特に若手の研究者から多くの質問が出て，初めて参加した人から，また参加したい感想が寄せられました。最後に，講演者の先生方と，研究会の世話をした生理研川口研究室の皆さまに感謝申し上げます。

（1）神経活動依存的遺伝子発現レポーターツールの開発と大脳機能解析への応用

奥野浩行（京都大学大学院医学研究科）

大脳の神経回路における活性化神経細胞集団を可視化・定量する多種多様の方法の一つとして，神経活動依存的に発現する前初期遺伝子(immediate-early genes, IEGs)を免疫組織化学や in situ hybridization によって検出する方法がある。演者らはこれまで，この IEG マッピングの手法を用い記憶課題遂行中の神経回路解析を行い，また，IEG の活動依存的発現メカニズムや IEG 産物によるシナプス可塑性制御に関する研究を行ってきた。本口演では，まず，大脳における代表的な IEGs の一つである *Arc* の神経活動依存的な発現様式について概説し，それを担うゲノム配列であるシナプス活動応答エレメント SARE（synaptic activity responsive element）の同定とその制御機構に関する研究紹介を行った。また，SARE やその改良型である E-SARE を利用したウイルスレポーターやトランスジェニックマウスなどの遺伝学ツールの開発，および，これらを用いた新しい活性化神経回路標識の原理について紹介した。さらに，演者らが現在取り組んでいる長期記憶回路のシナプス構造変化や記憶遷移過程に伴う活性化脳領域の変化の検出に関する研究結果や進捗状況についての報告を行った。

（2）皮質下ループによる時間情報処理

田中真樹（北海道大学大学院医学研究科）

時間情報は日常生活に不可欠であり，処理する時間の長さによって様々な皮質下領域が関与する。数百ミリ秒から数十秒の時間情報は大脳-基底核ループや大脳-小脳ループなどによって神経性に生成されると考えられているが，そのメカニズムは明らかではない。その解明のため，時間情報が必要となる２種類の行動課題を行っているサルの神経活動を調べた。「時間生成課題」では，手がかり刺激から一定の時間経過をサッカードで答えさせる。運動の前に漸増する神経活動が尾状核と小脳歯状核から記録されたが，その時間経過は両者で異なり，前者は計時の構えに応じてゲインを変化させるのに対し，後者は生成する時間長によらず運動の直前に漸増する活動を示した。基底核は数秒までの計時に関わり，小脳は運動タイミングの微調整に働くと考えられる。「欠落検出課題」では，一定間隔で繰り返される視聴覚刺激の不意の欠落を検出する。課題の最中に活動を増加させるニューロンが小脳歯状核，尾状核，視床 VL 核から記録されており，繰り返し刺激のタイミング予測に関与すると考えられる。小脳変性症や心理物理実験の結果と合わせて，そのメカニズムを考察した。

（3）大脳皮質の多領域間スパイク・コミュニケーションの解明を目指して

礒村宜和（玉川大学脳科学研究所）

動物が目的の行動を発現するとき，脳の内部ではどのようにスパイク信号をやりとりしているのであろうか？この疑問を解明するために，前肢でレバーを適切に操作すると報酬を得る行動課題をラットに効率よく学習させる実験系を確立した。マルチニューロン記録法や傍細胞記録法と組み合わせることにより，この行動の発現に関与する大脳皮質（一次・二次運動皮質，後頭頂皮質，眼窩前頭皮質，視覚野など），大脳基底核（線条体），海馬などの神経細胞の機能的活動を調べる研究を進めてきた。例えば，運動皮質では，興奮性の錐体細胞は多様な機能的活動を示し，特に前肢の保持に関与する細胞は浅層よりも深層に多いこと，浅層と深層の細胞はシータ波の異なる位相で発火すること，運動情報は発火同期性よりも発火頻度そのものに表現されることなどを示した。現在，脳領域の間を行き交うスパイク信号を細胞単位かつミリ秒単位で計測する Multi-Linc 法の開発に取り組んでいる。これは逆行性の軸索刺激とコリジョン試験という古典的で信頼できる投射同定法を，マルチニューロン記録とオプトジェネティクスを活かして効率化するものである。将来，このような研究手法を活かして，行動発現を担う多領域間スパイク・コミュニケーションの解読を目指したい。

（4）一次運動野における AMPA/GABA シナプス可塑性による運動学習のメカニズム

木田裕之（山口大学大学院医学系研究科）

AMPA および GABA 受容体を介したシナプス可塑性は，記憶・学習などの高次脳機能に関与する。大脳皮質一次運動野（M1）においては，運動学習後に長期にわたりシナプス伝達効率が上昇することが報告されているが，その神経メカニズムはよく分かっていない。本研究では急性脳スライス標本を用いてラット（4 週齢）一次運動野 II/III 層のニューロン活動を記録した。運動学習課題としてローターロッドテスト（1 日 10 試行）を最大 2 日間行った。

ラットは 1 日目のトレーニング中からロッド上滞在時間を徐々に延長させ，2 日目には学習スコアはプラトーに達した。運動学習後には II/III 層水平結合を電気刺激すると，AMPA/NMDA 比の上昇が観察された。微小興奮性シナプス後電流は運動 1 日目では振幅のみ，運動 2 日後には，振幅・頻度ともに非学習群と比較して有意に上昇した。また運動学習直後より AMPA 受容体のリン酸化が増加した。これらの結果は AMPA 受容体がシナプスへ移行したことを示唆する。さらに運動 2 日後には連続刺激応答は減弱し，シナプス前終末側のグルタミン酸放出確率の増加が確認された。一方で，抑制性シナプスの可塑性に関しては，微小興奮性シナプス後電流の頻度は運動 1 日目でのみ有意に減少した。

以上より，M1 の II/III 層ニューロンでは，学習段階に応じて，プレ・ポストシナプス両側でダイナミックな興奮性・抑制性シナプスの可塑的変化が起こることが判明した。

（5）体性感覚を知覚する神経回路メカニズムの解明

真仁田　聡（理化学研究所脳科学総合研究センター，山梨大学大学院総合研究部）

皮膚で受け取る情報は脊髄を経由して第 1 体性感覚野（S1）へと伝わり，高次な脳領域へボトムアップな情報として伝わる。一方，私たちは高次脳領域が関連する注意といった情報が知覚に影響を与えることを主観的に

経験できる。これは知覚の形成にはボトムアップ入力だけではなくトップダウン入力も関連することを示す。しかし，知覚を司る神経回路に対するトップダウン入力の役割は十分に検証されていない。マウスにおいて第 2 運動野(M2)は S1 に対する高次脳領域の一つであり，高次脳機能との関連が示唆されてきた。そこで本研究においては，知覚に対するトップダウンの入力の影響を明らかにするため，M2 および S1 で構成される神経回路の解剖学的および生理学的な同定をマウスを用いて検討した。その結果，ボトムアップの情報は S1 を活性化し，その活動は M2 へと伝達され，活性化された M2 は再び S1 を活性化することが明らかになった。また，この M2 からのシナプス入力が S1 の第 5 層(L5)錐体細胞において樹状突起 C^{2+}スパイクを伴う細胞体の持続的な発火活動を誘発することを見いだした。さらに，この M2 からの入力を抑制するとマウスは正常な知覚行動ができなくなることを示した。これらの結果から，正常な知覚の形成にはトップダウンの入力が必須であることが示された。

10. 第 6 回社会神経科学研究会『社会のなりたちを支える内分泌学』

2016 年 11 月 24 日－11 月 25 日

代表・世話人：菊水健史（麻布大学獣医学部・教授）

所内対応者：定藤規弘（生理学研究所心理生理学研究部門・教授）

（1）オキシトシン受容体遺伝子と向社会的行動の関連

高岸治人（玉川大学脳科学研究所）

（2）オキシトシンと社会的コミュニケーションの障害

山末英典（浜松医科大学精神医学講座）

（3）神経ペプチドによる行動の制御

櫻井　武（筑波大学医学医療系/国際統合睡眠医科学研究機構）

（4）社会性に関わる神経への入力経路同定と回路機能解析

山中章弘（名古屋大学環境医学研究所）

（5）メダカの三角関係（オス・オス・メス）を生み出す分子神経基盤

竹内秀明（岡山大学大学院自然科学研究科）

（6）マウスの社会行動発達における幼少期オキシトシンの役割

茂木一孝（麻布大学獣医学部）

【参加者名】

櫻井　武（筑波大学医学医療系/国際統合睡眠医科学研究機構），高岸治人（玉川大学脳科学研究所），竹内秀明（岡山大学大学院自然科学研究科），茂木一孝（麻布大学獣医学部獣医学部動物応用科学科伴侶動物学研究室），山末英典（浜松医科大学精神医学講座），山中章弘（名古屋大学環境医学研究所），尾仲達史（自治医科大学医学部生理学講座），亀田哲也（東京大学大学院人文社会系研究科），高橋英彦（京都大学大学院），春野雅彦（情報通信研究機構（NICT）脳情報通信融合研究センター），松田哲也（玉川大学脳科学研究所），明和政子（京都大学大学院教育学研究科），阿部一美（群馬県立県民健康科学大学），池田和司（奈良先端科学技術大学院大学），磯崎三喜年（国際基督教大学），井出野　尚（慶應義塾大学），糸魚川幸宏（ウィズダム・インク），犬飼朋恵（神戸親和女子大学），上島淳史（東京大学），上田竜平（京都大学），江頭優佳（九州大学大学院），岡本士毅（生理学研究所），加藤正晴（同志社大学），加藤梨沙（名古屋大学），河田　淳（東京大学），岸田　文（九州大学），金　ヘリン（北海道大学），黒田起吏（東京大学），齋藤美松（東京大学大学院），坂本考司（花王㈱），桜井芳生（鹿児島大学），佐々木章宏（理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター），高橋宗良（玉川大学），高橋陽香（花王㈱），高橋　晃（静岡大学），高橋佳代（理化学研究所），滝口慎一郎（福井大学医学部附属病院），田邊宏樹（名古屋大学），谷口康祐（同志社大学），崔　多美（産業技術総合研究所），富永仁志（京都大学），内藤朝雄（明治大学），永澤美保（自治医科大学），仁科国之（玉川大学），野元謙作（麻布大学），前岡　浩（畿央大学），松永昌宏（愛知医科大学），水野　敬（理化学研究所），宮園貞治（旭川医科大学），吉岡　歩（名古屋大学），青木直哉（総合研究大学院大学），伊藤嘉邦（生理学研究所心理生理学），北田　亮（生理学研究所心理生理学），小池耕彦（生理学研究所心理生理学），西東倫太朗（総合研究大学院大学），菅原翔（早稲田大学），角谷基文（総合研究大学院大学），谷川　翼（総合研究大学院大学），近添淳一（生理学研究所生体情報機能解析室），當山峰道（生理学研究所心理生理学），中川恵理（生理学研究所医学生理学教育開発室），濱野友希（総合研究大学院大学），原田宗子（生理学研究所心理生理学），福永雅喜（生理学研究所心理生理学），間野陽子（生理学研究所心理生理学），宮田紘平（生理学研究所心理生理学），山本哲也（生理学研究所心理生理学），吉本隆明（総合研究大学院大学），足澤悦子（生理学研究所視覚情報処

理），柿木隆介（生理学研究所統合生理），木村梨絵（生理学研究所視覚情報処理），郷　康広（生理学研究所新分野創成センター），鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常発達），丸山めぐみ（生理学研究所研究力強化戦略室），山浦　洋（生理学研究所視覚情報処理）

【概要】

ヒトを含めた動物は，群れを形成し，お互いに影響を与えつつ，調和のとれた集団となる。群れ全体の適応性を上げることはすなわち，個体の適応度の上昇にも資するため，群集を 1 つの機能的な有機体と捉えることが可能である。このような群れの中では，個々の社会的な役割分担が集団の機能性を向上させる。これまでこのような研究は社会性昆虫が主体となり，モデルが提唱されてきたが，多様な動物種で同じような至近要因が機能する可能性も示唆されてきた。その 1 つがホルモンによる社会行動の制御である。

ホルモンは産生臓器から分泌され，抹消のみならず中枢にも作用し，その効果が非常に永続的であることが特徴である。よく知られた例として，周産期のステロイドホルモンがオスとメスの機能を決定づけ，生涯にわたる脳機能，行動を変容させる。このオスとメス，も群れの中のオスとしての役割，メスとしての役割を担うと考えると，ホルモンによる社会的役割の特徴付け，とも言えるだろう。雌雄のみならず，親としての役割，仔の役割，社会的階級の役割，など群れの機能性の向上に内分泌学が重要な役割を担っていると言える。そこで，本研究会では，中枢機能や行動における内分泌学を見直し，それらの行動が社会（群れ）の中でどのように機能性の向上に貢献するか，を基礎神経科学，神経内分泌学，社会心理学，精神医学の各領域からリーダー的に活躍する先生方をお呼びし，討議した。特に，演者の先生方に加え，社会心理学や発達心理学，神経内分泌学，神経機能解析などの領域で第一線で活躍される先生方を招聘し，指定討論者として，2 時間程度の議論の場を設けた。これまで接点のなかった分野間での交流，さらにはその分野間に横たわるギャップ，そのギャップを埋めるための研究手法や今後の発展性に関して，非常に有意義な情報共有ができ，今後の日本における社会神経科学の発展性が期待される会となった。

（1）オキシトシン受容体遺伝子と向社会的行動の関連

高岸治人（玉川大学脳科学研究所研究）

資源の公平分配，協力行動，互恵行動といった向社会的行動はヒトという種に顕著に見られる。本研究では向社会的行動の遺伝的基盤としてオキシトシン受容体遺伝子（OXTR）rs53576 に注目し，OXTR rs53576 と向社会的行動の関連，および脳の特定の部位がそれらの関連を媒介しているかどうかについての報告を行う。研究では，約 400 名の一般人を対象にし，向社会的行動の指標として，囚人のジレンマゲーム，独裁者ゲーム，公共財ゲーム，信頼ゲームを用いた。

オキシトシン受容体の多型の頻度は欧米と日本では大きく異なっていた。また日本人の成人を対象とした結果から，オキシトシン受容体の多型は，信頼行動と一般的信頼のいずれにも影響する可能性が示された。媒介分析の結果，信頼行動への影響は一般的信頼を媒介した効果であることが分かった。またオキシトシン受容体のみならず，バソプレシン受容体においても，社会的報酬や協力に影響を持つ可能性が示唆された。

遺伝子型と脳構造との関連を調べたところ，OTR の遺伝的多型は左側の偏桃体の体積を変化させ，偏桃体が小さいほど，相手に対する一般的信頼が高いことが示された。これらのことは，偏桃体の高活性化が，不安や恐怖反応と相関すること，偏桃体の損傷が対人距離を圧倒的に縮小することと一致し，オキシトシン受容体の多型が偏桃体機能を変化させて，一般的信頼に影響を与えることが示唆された。

討議では日本人と欧米人で異なるアレル頻度が観察された点を生活史と合わせて考えた場合に何がいえうるのか，受容体の多型がどのような分子，神経回路メカニズムンを介して，最終的な一般的信頼に結びつくのか，というような深い指摘がなされた。

（2）オキシトシンと社会的コミュニケーションの障害

山末英典（浜松医科大学精神医学講座）

自閉スペクトラム症（ASD）の中核症状である社会的コミュニケーションの障害は，表情や声色あるいは言語を介した意思疎通の障害を主徴とする。近年，この中核症状に対する初の治療薬候補としてオキシトシンが注目されている。本演題では，行動評価に加えて脳画像解析を Surrogate endpoint として用いてオキシトシン点鼻スプレーの薬効を評価した自主臨床試験の成果が紹介され，オキシトシンと社会的コミュニケーションの障害について論じた。前頭葉の中でも前背側内野は ASD と定型発達児との間で活性に差が検出され，またそれに並行して偏桃体の高活性化が認められた。ASD の遺伝性が知られていることから，オキシトシン受容体の多型とオキシトシンの鼻腔内投与への反応性の関連を調べたところ，オキシトシン受容体の RS53526 の GG 型では反応性が上昇してることが分かった。またオキシトシンの鼻腔内投与が ASD におけるいくつかの認知症状を改善したことから，臨床応用を目指して 6 週間の連続投与を実施した。しかし，6 週間の投与により，オキシトシンへの反応性は低下し，薬効が消失した。今後，遺伝子型だけでなく，投与法の改善，家庭内での投与効果の測定などの重要性が議論された。

（3）神経ペプチドによる行動の制御

櫻井　武（筑波大学医学医療系/国際統合睡眠医科学研究機構）

櫻井らのグループは，新規神経ペプチドを見出し，その機能解析を行うことによって新たな生理機能を持つシステムの同定を目指して研究を進めてきた。その中で，本研究会の「社会性」というテーマを鑑み，櫻井らが得てきた知見の中からトピックス的に社会行動，あるいは，環境に適応するための機能に関わる二つの話題を議論した。

オレキシンは，1998 年に見出された視床下部外側野に局在する神経細胞群によって産生されるペプチドであるが，その機能的欠損はナルコレプシーの原因となることが知られており，覚醒の維持にきわめて重要な働きをしていることが明らかになっている。櫻井らは，オレキシン系が，覚醒の維持のみではなく，様々な外界の情報に応じて行動を変容させる機能を持つことを見出してきた。今回は，恐怖記憶に関わるオレキシン系の機能について発表された。視床下部の外側部に局在するオレキシン神経細胞は BNST などの不安情動系の神経回路からの情報の入力をうけ，情動喚起による覚醒に関わることがわかった。その投射先は青斑核であり，そこから覚醒が支配されることが明らかとなった。

またニューロペプチド W および B(NPB/W)は，2003 年に同定されたペプチドである。これらは，脳幹に局在する神経細胞が産生し，扁桃体外側野に働いて情動や自律神経機能を制御する。これらは，マウスおよびヒトにおいて社会性の制御に関わっていることが示されており，本研究会ではその一端について紹介された。情動や社会性がこのような生命維持機能との間にどのような機能的連関があるのかを明らかにする方向性の重要性が議論された。

（4）社会性に関わる神経への入力経路同定と回路機能解析

山中章弘（名古屋大学環境医学研究所 神経系分野）

青斑核ノルアドレナリン神経は，脳全体に投射しており，様々な情報を処理して睡眠覚醒調節のみならず，動機，気分，情動などに影響を与えており，社会性においても重要な役割を担っている。そこで，カルシウムイメージングを用いて青斑核ノルアドレナリン神経活動に影響を与える物質の探索を行った。60 物質から，新規に 5 因子を同定した。今回，これらの中から MCH 神経細胞に関しての生理的役割について議論した。MCH を欠損したマウスでは睡眠のなかでも NREM が低下することが分かった。野生型のマウスで，睡眠中の MCH 神経細胞の活性を測定すると，NREM 中に高くなることがわかった。人為的に MCH 神経細胞を活性化させると，海馬における神経細胞の活性が低下した。興味深いことに，MCH 欠損マウスでは記憶能力が増強しており，衝動性が高まっていた。睡眠とこれらの関係性はいまだに明らかではないが，このような生命維持機能と記憶学習が関連していること，さらに社会行動との関連性もみえつつあり，社会性は生命の維持機能の一つと考えられるのでは，との議論がなされた。

（5）メダカの三角関係（オス・オス・メス）を生み出す分子神経基盤

竹内秀明（岡山大学大学院自然科学研究科）

竹内らは動物社会の縮図として，メダカの三角関係（オス・オス・メス）に注目し，社会的コンピテンスを生み出す脳の分子神経基盤の解明を行ってきた。三角関係において，メダカメスは長時間「そばにいたオス」を視覚記憶し，積極的に配偶相手として選択する。一方，オスはライバルのオスがメスに記憶されないように，継続的に配偶者防衛行動を示す。本研究会では当該行動実験と神経ペプチド変異体を用いた最新の知見を紹介した。メダカの配偶者選択に関わる分子基盤を解明する目的で，変異体系統の行動検定を行った. 神経発生や性決定に異常があるいくつかの変異体系統を入手し，メスの受け入れの程度を定量化したところ，お見合していないオスに対しても受け入れの亢進を示す変異体系統として，GnRH3 を同定した。終神経に存在する GnRH3 ニューロンは，軸索を脳内に広く伸ばしており，ペプチドホルモンである GnRH3 を脳全体へ放出することで脳全体の機能を修飾する働きがあると予想された。また神経生理学的特徴として，10 Hz 以下の規則的な発火パターンを示すが，お見合い相手（オス）の視覚情報が GnRH3 ニューロンに入力されているかどうかを検証する目的で，ルースセルパッチクランプ法により ex vivo での発火頻度の計測を行った. その結果，お見合いをしていないメスの GnRH3 ニューロンは 2 Hz 程度の遅いリズムを示す一方で，お見合い後のメスでは 4〜5 Hz 程度まで発火リズムが有意に速くなることを見いだし，お見合い相手（オス）の情報が GnRH3 ニューロンに蓄積され，通常状態から活性化状態へスイッチするモデルが想定された。このような社会的意思決定機構をメダカで明らかにすることで，その起源と進化的意味を問えることができ，大変有意義な議論も行われた。

（6）マウスの社会行動発達における幼少期オキシトシンの役割

茂木一孝[1]，大山留泉[1]，永澤美保[2]，菊水健史[1]
（[1]麻布大学，[2]自治医科大学）

動物が調和のとれた社会集団を形成するための社会性は生後環境によって大きく影響を受ける。母乳で子育てをする哺乳類では特に母子関係の重要性が古くから示唆されているが，本発表ではこの母子関係によってマウスの社会行動が発達するメカニズムに関して，幼少期のオキシトシンに着目した研究結果が紹介された。また，人工哺乳で育ったマウスの解析から示唆される母乳の未知なる役割なども紹介された。これまでオキシトシンの即時的な効果が良く知られていたが，オキシトシンの長期的な効果はよく知られていなかった。オキシトシンの欠損マウスでは社会性の低下が認められるが，この時，生後 1 日目の子マウスにオキシトシンを投与すると，その障害が改善されることがわかった。一度の投与で効果があることから，オキシトシンには短期的な効果に加え，長期的に，社会脳を育むことが示唆された。特に母マウスとの接触時間が子マウスのオキシトシンを上昇させることが分かった。またこのようなオキシトシンを介した母子間のポジティブループが絆を形成し，マウスにおいても，音声やにおいを介して絆が形成されることが明らかになった。このような社会性の成長に，ヒトで共感性との関連が知られている前帯状回が関与するが，子マウスでもオキシトシンの分泌が前帯状回でされ，また時期特異的にオキシトシン受容体が発現することがわかった。オキシトシンと社会性の発達的側面が朗となり，非定型発達児に対する効果も期待できるだろうと，議論された。

11. 神経回路研究と精神疾患研究の連合による情動機構解明

2016 年 10 月 17 日－10 月 18 日

代表・世話人：関口正幸（国立精神・神経医療研究センター神経研究所）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常性発達研究部門）

（1）先天的と後天的な恐怖情報の統合と行動制御メカニズム

小早川　高（関西医科大学付属生命医学研究所神経機能部門）

（2）トラウマ・情動記憶処理に関わる睡眠

栗山健一（滋賀医科大学精神医学講座）

（3）マーモセットの社会性情動

一戸紀孝（国立精神・神経医療研究センター／理化学研究所･BSI･革新脳・一戸班）

（4）消化管を標的とする中鎖ペプチドによる情動および食欲調節作用

大日向耕作（京都大学大学院農学研究科食品生理機能学分野）

（5）内受容感覚から考える不安

寺澤悠理（慶應義塾大学文学部心理学専攻）

（6）肝環境と情動性　－ 迷走神経を介した情動行動制御 －

山田大輔，関口正幸（国立精神･神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部）

（7）オピオイドδ受容体作動薬の臨床開発を目指して

斎藤顕宜，山田光彦（国立精神神経医療研究センター精神保健研究所精神薬理研究部）

（8）雄マウスにおける子殺しと子育ての神経制御機構

時田賢一（理化学研究所脳科学総合研究センター親和性社会行動研究チーム）

（9）不安を司る分界条床核の神経回路メカニズム

野村　洋（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室）

（10）反復ストレスによる情動変化を担う炎症関連分子の機能的多様性と精神疾患創薬への意義

古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野）

（11）活性脂質レゾルビン類の抗うつ作用

南　雅文（北海道大学薬学研究院薬理学研究室）

【参加者名】

赤木希衣（国立精神･神経医療研究センター･精神保健研究所 精神薬理研究部），秋山智志（神戸大学大学院･医学研究科･薬理学分野），天野大樹（北海道大学大学院･薬学研究院･薬理学研究室），一戸紀孝（国立研究開発法人 国立精神･神経医療研究センター･国立神経研究所･微細構造研究所），小池翔太（神戸大学･医学研究科･薬理学教室），大澤匡弘（名古屋市立大学･大学院薬学研究科･神経薬理学分野），大日向耕作（京都大学大学院･農学研究科･食品生物科学専攻食品生理機能学分野），大森翔太（名古屋市立大学･薬学研究科薬学部･神経薬理学分野），岡本　仁（理研･脳センター･発生遺伝子制御），北岡志保（神戸大学･医学研究科･薬理学分野），栗山健一（滋賀医科大学･精神医学講座），小早川　高（関西医科大学･附属生命医学研究所･神経異能部門），斎藤顕宜（国立精神･神経医療研究センター･精神保健研究所･精神薬理研究部），佐々木　努（群馬大学･生体調節研究所･代謝シグナル解析分野），篠原亮太（神戸大学･大学院医学研究科･薬理学分野），関口正幸（国立精神･神経医療研究センター神経研究所･疾病研究第四部･電気生理室），征矢晋吾（筑波大学　国際統合睡眠医科学研究機構･医学医療系），竹内絵理（国立精神･神経医療研究センター･神経研究所･疾病研究第四部），谷口将之（神戸大学･医学研究科･薬理学分野），塚原飛央（鹿児島大学･医歯学総合研究科･歯科応用薬理学分野），寺澤悠理（慶應義塾大学･文学部･心理学専攻），遠山　卓（昭和薬科大学･薬学研究科薬学専攻博士課程･薬物治療学研究室），時田賢一（理化学研究所･脳科学総合研究センター･

親和性社会行動研究チーム），友廣彩夏（神戸大学･医学研究科･薬理学分野），中武優子（東京理科大学･薬学部生命創薬科学科），野村　洋（北海道大学･大学院薬学研究院･薬理学研究室），長谷川尚美（昭和薬科大学･薬学研究科薬学専攻博士課程･薬物治療学研究室），東田　崇（神戸大学･大学院医学研究科･薬理学分野），古屋敷智之（神戸大学･大学院医学研究科･薬理学分野），松田真悟（昭和薬科大学･薬学部･薬物治療学研究室），皆川栄子（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所･疾病研究第四部），南　雅文（北海道大学･大学院薬学研究院･薬理学研究室），八十島安伸（大阪大学大学院･人間科学研究科･行動生理学研究分野），山田大輔（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所･疾病研究第四部），李　コウ（国立精神･神経医療研究センター，神経研究所･疾病研究第二部），渡部文子（東京慈恵会医科大学･総合医科学研究センター･神経科学研究部），上田修平（名古屋大学），宮下俊雄（生理学研究所），纐纈大輔（生理学研究所），岡本士毅（生理学研究所），郷　康広（生理学研究所），鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），江藤　圭（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），稲田浩之（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），中畑義久（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），竹田育子（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），堀内　浩（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），中村佳代（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），穐吉亮平（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），戸田拓弥（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

【概要】

神経回路についての研究は情動に根ざした行動の理解に重要な役割を果たしてきたが，近年，この情動回路研究の成果が，精神疾患の病態や病因理解の目的で盛んに取り上げられるという，ある面では意外な展開が進行している。その結果，神経回路情報は精神疾患病態理解のための重要なパーツとなりつつある。このような状況を鑑みると，情動神経回路研究と精神疾患研究の効果的カップリングを促進することは重要である。そのためには，情動回路について研究する基礎系研究者と，精神疾患について研究する臨床系研究者が一堂に会し，それぞれの研究に関して詳細な研究発表と充分な議論を行い，ひいては将来の連携を模索することが必要となるが，このような機会は必ずしも充分とは言えないのが現状である。

本研究会は，このような必要性の基盤の上に，従来，共通のテーマのもとで交流することが少なかった基礎系，臨床系研究者が，「情動神経回路と精神疾患」という共通キーワードのもとに参集し，両者が詳細な研究成果発表と充分な議論を行える場を提供することを主目的として開催された。本研究会においては，個々の研究のより一層の高品質化が第一目標ではあるが，両研究に有益な共同研究が企画されることも重要な目標とした。

更に，睡眠・全身代謝といった生体維持に必須な生理現象と情動との関係は未知の部分も多く，これについての先進的研究を紹介することにより，「情動神経回路研究と心身医学的研究のリンク」という全く新たな学問領域の創出も試みた。

（1）先天的と後天的な恐怖情報の統合と行動制御メカニズム

小早川　高（関西医科大学付属生命医学研究所 神経機能部門）

脳の行動制御は先天的と後天的なメカニズムに分解できる。私たちは，嗅覚刺激による先天的と後天的な匂い情報が鼻腔内で異なる神経回路により分離して脳へ伝達され行動を制御することを解明した（Kobayakawa et al., Nature 2007, Matsuo et al., PNAS 2015）。また，脳の中枢部においても先天的と後天的な情報は分離した回路で処理されることが報告されている。これらの結果は，先天的と後天的な情報は感覚入力から中枢に至るまでの複数の段階において分離した回路で処理されることを示す。一方で，先天的と後天的な情報の統合処理メカニズムは長らく解明の手が付けられていなかった。このような背景で，最近私たちは，嗅覚刺激による先天的と後天的な恐怖情報が，扁桃体中心核のセロトニン２Ａ受容体細胞において統合され，その結果，先天的な恐怖行

動が後天的な恐怖行動に優先されるという階層制御を受けることを解明し（Isosaka et al., Cell 2015），先天的と後天的な情報の統合メカニズムの研究に先鞭を付けた。この成果を端的に言えば，後天的に獲得した行動制御メカニズムは，先天的な行動制御メカニズムにより打ち消されるということになる。このモデルに従えば，先天的メカニズムにより形成された幼弱な神経回路が，後天的な刺激を受けて適応的に変化するという従来のモデルは拡張され，この拡張により先天的と後天的なメカニズムが互いに融合や拮抗を介して行動を支配する未知の原理に迫ることができる。

（2）トラウマ・情動記憶処理に関わる睡眠

栗山健一（滋賀医科大学精神医学講座）

PTSD（Posttraumatic Stress Disorder）や一部の不安障害には，情動記憶の一種である恐怖条件づけ記憶の過剰強化および消去不全の病態が関与していることが示唆されている。これらの疾患には高率に不眠が合併することが知られており，不眠が上記病態を促進している可能性も示唆されている。

PTSD やうつ病では REM 密度の増加や REM 潜時の短縮が認められ，情動記憶の障害と関連した睡眠所見であると推測されている。健常人を対象とした機能画像研究では, REM 睡眠中に情動制御に係る神経領域である偏桃体，内側前頭領野，前帯状回等の活動が亢進することが示されており，これが記憶に伴う情動の減弱化に関与する可能性が示唆されている。REM 睡眠中には抗ストレスホルモンであるコルチゾルの分泌亢進やアセチルコリン作動性神経活動が亢進し，扁桃体と大脳新皮質・海馬間での神経伝達機能に影響を与え，情動記憶の強化に関連している可能性が推測されるが，詳細は分かっていない。

よりミクロのレベルでは, 記憶の強化には神経細胞間のシナプス可塑性や，これに関わる遺伝子発現の制御・調節が関与していると考えられている。トラウマ体験直後に睡眠を剥奪すると, その後の情動記憶想起が減弱することから, 睡眠中に情動記憶を強化する過程が存在することが推測されるが，我々は薬理学的手法を用い，睡眠中の情動記憶強化は遺伝子発現レベルの過程が関与している可能性を明らかにした。これらの知見は，情動・記憶の神経学的メカニズム解明のみならず，PTSD や不安障害の治療戦略を開発する上で重要な知見となる。

（3）マーモセットの社会性情動

一戸紀孝（国立精神・神経医療研究センター／理化学研究所・BSI・革新脳・一戸班）

我々はバルプロ酸の母体投与により生まれた仔（VPA 群）の, 自閉症モデルとしてのテストの開発を行っている。このテスト開発を通じてマーモセットの社会性および情動が見えて来たのでこの機会に報告したい。被検体のマーモセットを３つの互いに連続した部屋に入れ，1 側の部屋に全部で６頭におよぶ新規正常成長個体を透明プラスチックに入れて行動を観察するテストでは，非投与群(UE 群)内に共通して強い注意を払われる新規個体があるにもかかわらず，VPA 群は，そのような特別な新規個体への選好が見られなかった。このことは，マーモセットによってマーモセットを評価させる実験として, 人では検知できない愛すべきポイントを UE 群は検知できるのに対して，VPA 群はそのような検知ができないことを示していると考えられる。また，ヒトが二人いて，一人が相互利益性を持っていない芝居をした場合に, それを UE マーモセットは見分けて, 相互利益性を持っていないヒトからエサをとらないのに対して，VPA 群はこのヒトのキャラクターを見分けることができず, キャラクターにかかわらずエサをランダムにもらうことも見出した。社会で柔軟に生きていく正常発達マーモセットは，いろいろな点で，他者の特徴

を見分けて，それに応じた柔軟な行動を示すと考えられ，それが失われる VPA マーモセットは，社会性の低下のために，生きにくくなって自閉症モデルと考えられた。

（4）消化管を標的とする中鎖ペプチドによる情動および食欲調節作用

大日向耕作（京都大学大学院農学研究科食品生理機能学分野）

生体内にはペプチドホルモンや神経ペプチドが存在し多彩な生理作用を示す。これらの内因性ペプチドは，前駆体タンパク質の酵素消化により生成する。今日では，このような前駆体タンパク質と見なされていなかった食品タンパク質を酵素消化した場合に，様々な生理活性ペプチドが生成することが判明している。最近，このような外因性ペプチドの中に，比較的分子量が大きいにも関わらず，経口投与により情動調節作用や摂食調節作用を示すものが存在することが明らかとなってきた。本講演では，吸収を前提とせず，おそらく消化管を標的として作用する中鎖ペプチドの例を紹介する。

大豆由来の 10 残基ペプチド soy-deprestatin（sDPS）が経口投与（0.3 mg/kg）により抗うつ様作用を示すことを見出した。迷走神経切除により sDPS の抗うつ様作用が阻害され迷走神経を介していることから，腸－脳連関による作用機序が想定される。

グレリンは，末梢投与で摂食促進作用を示す唯一の内因性ペプチドである。近年樹立されたグレリン分泌細胞 MGN3-1 を用いて，大豆タンパク質の酵素消化物から 11 残基のグレリン分泌促進ペプチドを，牛乳タンパク質の酵素消化物から 9 残基のグレリン分泌抑制ペプチドを見出し，それぞれ soy-ghretropin [1]と lacto-ghrestatin と命名した。いずれも経口投与で生理活性を示す。今後，消化管における中鎖ペプチドシグナルの生理的意義の解明が期待される。

[1] Nakato J et al. FEBS Lett. 2016; 590(16): 2681-9.

（5）内受容感覚から考える不安

寺澤悠理（慶應義塾大学 文学部 心理学専攻）

感情は身体の状態と密接に関連している。内受容感覚はこの関係性を紐解くために，注目された感覚である。身体内部から生じる感覚をさし，内臓の状態や痛み，体温を含む内部環境を把握し恒常性を保つために重要な役割を担っている。内受容感覚の正確さには個人差が存在し，不安，パニック，鬱といった様々な精神疾患との関連も明らかになってきている。このような知見は，身体からの情報に対する敏感さや，この情報を処理する傾向が，個人の感情の感じ方に影響を及ぼし，ひいては感情に関する疾患と関連することを示唆する。

内受容感覚の処理に関わる島皮質は，同時に主観的感情の生起にも深く関わっていることが脳機能画像研究によって明らかにされてきた。複数の研究で島皮質の活動は，個人の不安傾向と強く関連していることも指摘されている。また近年，島皮質の活動は，内受容情報の予測と結果の誤差のコーディングを表象する可能性が提示され，感情の生起との関係性についても研究が行われている。このような現状において，内受容感覚に着目し，感情経験のメカニズムを解き明かすことは，不安の発症機序の理解を深めることにも寄与できると考えられる。

我々は，このような視点に基づいて，脳機能画像研究，神経心理学研究，認知心理学研究を実施してきた。本演題では，先行研究や我々の行った研究をご報告し，自己の身体状態に関する情報処理と不安傾向の関わりについて議論したい。

（6）肝環境と情動性　－ 迷走神経を介した情動行動制御 －

山田大輔，関口正幸（国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部）

脳は内臓の状態を感知し体全体の恒常性を保つ機能を有すると考えられているが，これを仲介するシステムとして，自律神経系を中心とした反射経路が知られている。一方，難治性てんかんの治療に頸部迷走神経電気刺激が臨床応用されている。げっ歯類においても迷走神経の切除は不安様行動や条件性恐怖記憶の変動を引き起こし，また，頸部迷走神経束の電気刺激は恐怖記憶の消去学習を促進することなどが知られている。これらの事実は，反射経路における迷走神経求心路の活性化が，実は情動機能を司る脳部位と共役し関連行動に影響を及ぼす可能性を示唆するが，詳細は不明である。我々は今回，肝臓を起点とする既知の代謝性反射経路のひとつである，肝臓→求心性迷走神経肝臓枝→中枢→交感神経遠心路→褐色脂肪組織を利用して，反射経路と情動回路のカップリングについて検討した。その結果，高脂肪食で飼育したマウスの不安様行動（ホールボード試験で評価）は，上記反射経路の活性化により強く影響を受けることが見出された。この不安様行動量の変化は，迷走神経肝臓枝切除，同カプサイシン処理で起こらなくなったが，褐色脂肪組織への交感神経の切除では影響を受けなかった。この結果は，全身恒常性維持のために主要な役割を担う求心性迷走神経が情動に関わる脳内回路とカップリングする可能性を示唆する。これと内環境受容との関係についても議論する。

（7）オピオイドδ受容体作動薬の臨床開発を目指して

斎藤顕宜，山田光彦（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所精神薬理研究部）

医薬品として使用可能なオピオイド δ 受容体作動薬は未だ存在していない。オピオイドδ受容体作動薬には様々な生理活性が報告されているが，これまでに合成されてきたプロトタイプ化合物の多くが痙攣誘発作用を示したことから，その開発が大きく制限されていたのである。一方我々は，新規に合成されたオピオイド δ 受容体作動薬 KNT-127 が痙攣誘発作用を示さないことを見出し，KNT-127 をリード化合物とした向精神薬開発を行ってきた。興味深いことに，KNT-127 は，選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）よりも早期に抗うつ様作用を示す可能性が示唆され，加えて，SSRI やベンゾジアゼピン系抗不安の有する有害な副作用を示さない。そのため，KNT-127 は既存薬と比較してより安全で有効性の高い向精神薬の開発につながるのではないかと期待されている。既に我々は，日本医療研究開発機構（AMED）産学連携医療イノベーション創出プログラム（ACT-M）の枠組みの中で，共同研究者らとともに化学構造のさらなる最適化を行い，複数の新規化合物の中から，KNT-127 よりも優れた薬理プロフィールを有する開発候補化合物を絞り込むことに成功した。現在，初回ヒト投与試験開始に向けた非臨床試験を進めている。本研究の成果は，オピオイドδ受容体をターゲットとした画期的向精神薬の開発に繋がることが期待される。

（8）雄マウスにおける子殺しと子育ての神経制御機構

時田賢一（理化学研究所脳科学総合研究センター親和性社会行動研究チーム）

養育的な雌マウスとは異なり，交尾未経験の雄マウスの多くは子殺し（喰殺行動）をするが，雌との交尾・同居・雌による仔の出産を経て父親となると子育て（養育行動）をするようになる（父性の目覚め）。我々は 2013

年にフェロモンを検出する鋤鼻器の阻害が雄マウスの子への攻撃を抑え，子育てを促すことを見いだしている。しかし，父性の目覚め現象は，鋤鼻器が退化している類人猿でも見られることから，感覚モダリティは異なっても，子への攻撃や子育てを制御するための共通した中枢神経メカニズムが存在すると考えられた。本研究では，交尾未経験雄マウスの子殺しには分界条床核（bed nucleus of the stria terminalis; BST）の亜核である BSTrh が重要であり，また父親マウスの子育て行動には内側視索前野中央部（central part of the medial preoptic area; cMPOA）が必要であることを明らかにした。また，cMPOA 活動しているときは BSTrh の活動が低いこと，cMPOA を光遺伝学的手法により活性化すると交尾未経験オスマウスの子への子殺し行動が減弱すること，メスとの交尾経験後は cMPOA が活性化したことから，父親になるときには BSTrh の活動に対し cMPOA の活動が優位になることで，子への攻撃をやめ養育する「父性の目覚め」が起こる可能性が示唆された。

（9）不安を司る分界条床核の神経回路メカニズム

野村　洋（北海道大学 大学院薬学研究院 薬理学研究室）

分界条床核（BNST）は不安に重要であり，その神経活動は不安の増大と関連する。しかし個々の BNST ニューロンが, 不安を誘発する刺激をどう符号化するかは不明である。私たちは，自由行動下のマウスに対して in vivo カルシウムイメージングとオプトジェネティクスを適用し，BNST ニューロンによる不安の処理機構を調べた。カルシウムセンサーGCaMP6s を BNST ニューロンに導入し，GRIN レンズを介して活動を測定した。マウスには高架式十字迷路を行わせた。一部の BNST ニューロンはオープンアームで優先的に活動を上昇させたのに対して, クローズドアームで活動を上昇させる BNST ニューロンも存在した。この結果は，不安を誘発する刺激を符号化するニューロンと, 不安を抑える刺激を符号化するニューロンが共に BNST 内に存在することを示唆する。次に，Prepronociceptin（PNOC）を発現する BNST ニューロンが不安，抗不安のどちらの刺激に応答するかを調べた。PNOC は Nociceptin/orphanin FQ の前駆体で, BNST の一部のニューロンに高発現している。PNOC ニューロンは不安を誘発する刺激に対して優先的に応答した。また Channelrhodopsin-2 を用いて PNOC ニューロンを活性化した場合，オープンアームへの滞在は短縮した。一方，Halorhodopsin を導入して抑制した場合，オープンアームでの滞在は長くなった。一連の結果から，BNST には不安を誘発する刺激と緩和する刺激を符号化するニューロンが存在すること，特に PNOC を発現する BNST ニューロンは不安を誘発する刺激を符号化し, 不安様行動を促進することを明らかにした。

（10）反復ストレスによる情動変化を担う炎症関連分子の機能的多様性と精神疾患創薬への意義

古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野）

社会や環境から受ける慢性的なストレスは抑うつや不安亢進など情動変化を引き起こし，うつ病など精神疾患のリスク因子となる。基礎研究と臨床研究の両面から，ストレスやうつ病における炎症関連分子の重要性が示されているが，その意義には不明な点が多い。我々は，マウスの反復社会挫折ストレスによる社会忌避行動に炎症関連分子 PGE2 による内側前頭前皮質ドパミン系の抑制が重要であることを示し，ミクログリアに由来する PGE2 産生が関与することを示唆してきた。また，自然免疫分子 TLR の欠損マウスで反復社会挫折ストレスによる社会忌避行動や不安亢進，内側前頭前皮質での神経細胞の形態や応答性の減弱，ミクログリア活性化が消失することを見出し，反復社会挫折ストレスによる社会忌避行動に内側前頭前皮質のミクログリアの TLR が必須

であることを示しつつある。並行して他の研究グループからは，反復ストレスによる情動変化にミクログリアに由来する IL-1β による末梢から脳内への単球の浸潤や神経幹細胞制御が重要であることも提唱されている。これらの研究は，反復ストレスにおける炎症関連分子を介した神経細胞と炎症関連細胞の相互作用の重要性を示しているが，複数の炎症関連分子の違いや関連性は不明である。本講演ではこれらの最新の知見を紹介し，慢性ストレスによる情動変化を担う複数の炎症関連分子の機能的多様性と精神疾患創薬への意義について議論する。

（11）活性脂質レゾルビン類の抗うつ作用

南　雅文（北海道大学 薬学研究院 薬理学研究室）

うつ病は生涯有病率が高く，「ストレス社会」と言われる現代においてその患者数は増加している。既存の抗うつ薬はセロトニンやノルアドレナリンなどのモノアミン系を標的としたものが中心であり，効果発現までに数週間を要すること，また，うつ病患者の約２割は既存の抗うつ薬が奏功しない難治性であることが問題となっている。一方，ドコサヘキサエン酸（DHA）やエイコサペンタエン酸（EPA）などの ω-3 系不飽和脂肪酸が抗うつ作用を有する可能性が報告されているが，作用メカニズムについては不明な点が多い。本研究では，DHA の活性代謝産物であるレゾルビン D1, D2（RvD1, RvD2）と EPA の活性代謝産物であるレゾルビン E1, E2, E3（RvE1, RvE2, RvE3）に着目し，リポポリサッカライド（LPS）誘発うつ病モデルマウスを用いて，これら生理活性物質の抗うつ効果を調べるとともに，その作用機序についても検討を加えたので紹介する。

12. 第１回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会

2016 年 6 月 17 日－6 月 18 日

代表・世話人：佐々木　努（群馬大学生体調節研究所）

所内対応者：箕越靖彦（生殖・内分泌系発達機構研究部門）

（１）視床下部室傍核による食物選択行動の調節とストレス応答

岡本士毅（生理学研究所）

（２）視床下部室傍核のヒスタミン H1 受容体発現ニューロンと CRH ニューロンと食欲

堀尾修平（徳島大学）

（３）マウスへの一晩絶食は摂食リズム異常（明期過食）を誘導し，脂質代謝を低下させ，体脂肪蓄積を誘導する

岩崎有作（自治医科大学）

（４）Sirt1 はオキシトシンを介してショ糖嗜好性を抑制する

松居　翔（群馬大学）

（５）脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスにおけるショ糖嗜好性亢進

松坂　賢（筑波大学）

（６）脂肪のおいしさは過食を招くのか

松村成暢（京都大学）

（７）運動環境下のラットにおける高脂肪食に対する嗜好性の減弱について

坂井勇介（久留米大学）

（８）視床下部ドパミン神経による摂食調節機構

池田弘子（星薬科大学）

（９）肥満のなかのヤセ

千葉政一（大分大学）

(10) 新規視床下部分泌性小タンパク質によるエネルギー代謝調節

浮穴和義（広島大学）

(11) 環境温度が食欲および嗜好性に与える影響について

長阪玲子（東京海洋大学）

(12) 卵巣摘出ラットの高脂肪食摂取におけるエストロゲンの抑制作用

高橋春花（奈良女子大学）

(13) かつおだし嗜好性に関与する 3 つの主要因子

近藤高史（株式会社味の素）

(14) 微量栄養素を動物はどのように過不足なく摂取できているのか？

安尾敏明（朝日大学）

(15) 味覚および消化管栄養素受容機構解析の新しいツール

岩槻　健（東京農業大学）

(16) 神経活動の人工制御システムを用いた空腹による味覚修飾機構の解明

中島健一朗（東京大学）

(17) 食経験に起因する味嗜好性変化とその発生要因の解析

成川真隆（東京大学）

(18) 味覚嫌悪学習における分界条床核の役割

乾　賢（大阪大学）

（19）“人は食べたものでできている”食べ物による食行動調節回路のリモデリング

後藤伸子（慶応義塾大学）

（20）味・風味の神経表象の探索 −ヒト fMRI 研究−

山城博幸（藍野大学）

【参加者名】

青谷大介（京都大学），安達真一（宇都宮大学），池田弘子（星薬科大学），石丸喜朗（東京大学），伊藤禎浩（名古屋大学），乾　賢（大阪大学），岩井　優（東京大学），岩﨑有作（自治医科大学），岩槻　健（東京農業大学），浮穴和義（広島大学），浦田朋実（滋賀県立大学），郭　婷婷（京都大学），門東梨奈（至学館大学），金内則子（自治医科大学附属さいたま医療センター），川久保充裕（名古屋大学），神田　一（京都大学），日下部　徹（京都大学），小塚智沙代（琉球大学），後藤伸子（慶応義塾大学），小林令奈（東京海洋大学），金剛健太（至学館大学），坂井勇介（久留米大学），硲　哲崇（朝日大学），佐々木　努（群馬大学），佐藤貴弘（久留米大学），志内哲也（徳島大学），鹿野健史朗（広島大学），柴垣千滉（至学館大学），清水彬礼（京都大学），杉山摩利子（名古屋大学），鈴木裕一（仙台白百合女子大学），高橋春花（奈良女子大学），田中智洋（京都大学），田中　都（名古屋大学），谷口睦男（高知大学），千葉政一（大分大学），恒川　卓（名古屋大学），出口香菜子（至学館大学），十枝内厚次（至学館大学），中川　淳（金沢医科大学），長阪玲子（東京海洋大学），中島健一朗（東京大学），成川真隆（東京大学），西田基宏（生理学研究所），沼野利佳（豊橋技術科学大学），野村英生（京都大学），則竹晶代（至学館大学），原田圭子（大阪市立大学），坂野僚一（名古屋大学），檜山武史（基礎生物学研究所），傅　欧（東京大学），福島篤（聖マリアンナ医科大学），福原正太（京都府立医科大学），堀尾修平（徳島大学），松居　翔（群馬大学），松坂　賢（筑波大学），松下夏樹（愛知医科大学），松村成暢（京都大学），溝口　暁（名古屋大学），宮本理人（徳島大学），村上太郎（至学館大学），森　紀之（滋賀県立大学），森下紗帆（常葉大学），森本恵子（奈良女子大学），森脇千夏（中村学園大学），安尾敏明（朝日大学），安本有希（東北大学），八十島安伸（大阪大学），谷田亮太（至学館大学），山口正洋（高知大学），山城博幸（藍野大学），吉澤史昭（宇都宮大学），米持奈央美（星薬科大学），間馬彬大（㈱羊土社），安藤貴史（㈱豊田中央研究所），岩畑慎一（ハウス食品㈱），宇野　勲（江南病院），加藤直樹（アサヒグループホールディングス㈱），加藤るみ子（八千代病院），近藤高史（味の素㈱イノベーション研究所），齋藤弘貴（サッポロホールディングス㈱），櫻井敬展（日清食品 HD㈱），鈴木未宇（八千代病院），寺田育夫（高砂香料工業㈱），戸田安香（キッコーマン㈱），中川康雄（㈱ADEKA），野尻健介（長谷川香料㈱），藤井　徹（八千代病院），伏見宗士（花王㈱），不破　喬（サントリー食品インターナショナル），星　朱香（キリン㈱），松本英希（味の素㈱），森　卓（味の素㈱イノベーション研究所），岡本士毅（生理学研究所），齊藤久美子（生理学研究所），佐藤達也（生理学研究所），林　めぐみ（生理学研究所），箕越靖彦（生理学研究所），横田繁史（生理学研究所），Farehan Asgar（生理学研究所）合計 100 人

【概要】

何を食べるのかの判断根拠となる「食欲・食嗜好」は健康に大きな影響を与えるため予防医学的に重要や研究テーマであり，その分子・神経基盤の解明の端緒となる第１回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会が 6/17-18 の２日間にわたり開催された。

分野横断的に集まった参加者（合計 101 名）が，unpublished data を中心とした２０演題の口頭発表に対して様々な観点から議論を行い，新規研究領域としてお互いの研究を進めていくためのフィードバックを行った。中堅・若手中心に十分に討論時間を確保した発表形式としたため，通常の学会よりも多くの質疑応答がなされ，研究領域の活性化の端緒となった。また，直近の専門領域よりも広い演題内容がそろい，参加者の多くが新たな知見や視点・アイデアを得ることができた。参加者 101 名のうち企業から 15 名の参加があり，将来的な産学連携の基礎となる信頼醸成の場を提供することができた。

参加者に対する５段階評価での事後アンケート（有効返答数 61，参加者の 60.4%）の結果，「研究会の充実度」は「高い（５）」と「やや高い（４）」が 89%を占めた。また，「来年も参加したい？」，「知り合いの研究者に薦めたい？」という質問にも，「すごく思う（５）」と「やや思う（４）」の合計がそれぞれ 94％と 89%であり，初回の研究会としては大好評であった。また，「期間が足りない・質疑の時間が短い」と，「演題数が多い・発表の持ち時間が長い」が並存した結果となっており，自由記載のコメントも考慮すると，「発表の質を担保するために，発表フォーマットを多様化したうえで会期の延長が必要」という課題が見えた。また，学際的な研究分野なため，異分野交流をより促進する積極的取り組みへの期待も高いことが分かった。来年度さらに研究会を発展させるべく，改善策を準備したい。

（1）視床下部室傍核による食物選択行動の調節とストレス応答

岡本士毅，佐藤達也，箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

AMP キナーゼ(AMPK)は，細胞内エネルギーレベルの低下などによって活性化し，糖，脂質，蛋白質代謝を制御して ATP レベルを回復させる。視床下部 AMPK は，摂食調節に関与し，絶食させると室傍核（PVH）など視床下部神経核において AMPK 活性が高まる。マウスを絶食後に再摂食させると，高脂肪食ではなく高炭水化物食を多く選択摂取するが，AMPK に対する shRNA を PVH に発現させると完全に消失する事を見出した。この食物選択行動は，PVH に存在する数種類のニューロペプチドの中で，コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)を PVH に微量投与した時のみ観察され，Cre 選択的 DREADD 発現系を用いて CRH ニューロンを選択的に活性化しても，高炭水化物食の選択摂取が有意に増加した。さらに CRH ニューロン選択的に AMPK を活性化させると，絶食時と同様に高炭水化物食の選択摂食が有意に増加し，逆に AMPK に対する shRNA を CRH ニューロン特異的に発現させると消失した。以上から，PVH に含まれる CRH ニューロンが，AMPK を介して炭水化物食と脂肪食の選択行動を制御すると考えられた。また，古くから CRH はストレス応答性ホルモンとして考えられているので，ストレス負荷時の食餌選択行動に関して検討した結果を報告した。

（2）視床下部室傍核のヒスタミン H1 受容体発現ニューロンと CRH ニューロンと食欲

堀尾修平（徳島大学大学院医歯薬学研究部）

視床下部室傍核にはヒスタミン H1 受容体（H1R）発現ニューロンが存在している。マウスでこのニューロンを選択的に死滅させると摂食亢進がおこる。すなわち，このニューロンは，正常時には摂食を抑制する方向に働いていると考えられる。ヒスタミン神経系が活動すると摂食を抑制すると言われているが，この結果はそれを説明するメカニズムの１つと考えることができる。この H1R ニューロンを死滅させたとき，室傍核の CRH ニューロンのかなりの部分が死滅したが，オキシトシンニューロン，AVP ニューロン，TRH ニューロンはほとんど影響を受けなかった。このことから，摂食調節に関係しているのは，CRH ニューロンである可能性が考えられる。室傍核の CRH ニューロンは，元来神経内分泌ニューロンと考えられていたが，最近では，脳内の様々な部位に神経線維を送っていると考えられるようになった。CRH ニューロンは摂食調節においても，このような神経回路を通して関わっていると考えられる。室傍核の CRH ニューロンと一口に言っても，実は様々なタイプのニューロンが存在すると考えられる。従来の研究では，それらのタイプを区別し，同定することは容易ではなかった。本発表では，CRH ニューロンをその脳投射部位によってタイプ分けするという新しい試みについて発表した。

（3）マウスへの一晩絶食は摂食リズム異常（明期過食）を誘導し，脂質代謝を低下させ，体脂肪蓄積を誘導する

岩崎有作，矢田俊彦（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

一日中だらだらと食事をする“食リズム異常”は肥満の成因であり，ヒトにおいても間食や夜食が肥満，メタボリック症候群を誘導・悪化させる。しかし，満腹感が継続せず間食や夜食を食べ，食リズムが障害される原因とその予防・治療法は明らかでない。本研究の長期的な目標は，食リズム異常の原因を明らかとし，食リズム異常による肥満，メタボリック症候群の予防・治療法の確立である。

発表者は，一晩絶食させたマウスに通常食を自由給餌で再摂食させると，明期の過食（食リズム異常）が３～４日間継続し，その間脂質燃焼が強く抑制されることを見出した。週に一度の一晩絶食を 8 週間継続すると，体重には変化が見られなかったが，内臓脂肪を 150％に有意に増加させ，肝臓中の脂肪蓄積を誘導させた。時間給餌制限により明期過食を抑制すると，脂質燃焼低下は改善した。従って，食リズム異常が脂質代謝を抑制の上流に位置していることが明らかとなり，食リズム異常への介入が肥満・メタボリック症候群治療に重要であることが示唆された。

一晩絶食後に誘導される食リズム異常は，肥満誘発性食リズム障害と共通の機序が存在する可能性があり，食リズム異常の研究をする上での良いモデルになるかもしれない。今後，「一晩絶食による食リズム異常モデル」を確立させるために，明期過食・食リズム異常を誘導する原因脳内因子を同定する必要がある。

（4）Sirt1 はオキシトシンを介してショ糖嗜好性を抑制する

松居　翔[1]，佐々木　努[1]，河野大輔[2]，橋本博美[1]，小林雅樹[1]，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]群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット）

【背景】肥満の原因となる過食の背景にある食嗜好性の機序解明の一端として，中枢神経系 Sirt1 による高ショ糖食（HSD）嗜好性調節の分子機序の解明を目的とし以下のことを検討した。

【方法】神経特異的 Sirt1 過剰発現（NS-KI）マウスに Oxt 受容体アンタゴニスト（Oxtr-A）を腹腔内（ip）投与し，HSD 嗜好性を検討した。Oxt 特異的 Sirt1 過剰発現（Oxt-KI）マウスを用い，HSD 嗜好性試験および Oxtr-A の ip 投与による HSD 嗜好性への影響を検討した。Sirt1 による Oxt 転写抑制機序解明のために視床下部細胞株で Sirt1 の過剰発現を行い，Oxt プロモーター活性を測定した。

【結果】NS-KI マウスで認められる HSD 摂食抑制作用は，Oxtr-A の ip 投与によりキャンセルされた。さらに，Oxt-KI マウスでは HSD 摂食量が減少し，その効果は Oxtr-A の ip 投与によりキャンセルされた。また，Sirt1 は，-5kb のプロモーター活性を上方制御した。さらに，-5kb よりも短いプロモーター解析の結果，-3.2kb～-2.1kb 領域の消失により Sirt1 の効果が消失した。

【結論】Sirt1 による HSD 嗜好性の抑制には，Oxt シグナルが必要であり，Oxt ニューロンの Sirt1 は HSD 嗜好性を抑制するのに十分であることが明らかとなった。

（5）脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスにおけるショ糖嗜好性亢進

松坂　賢，島野　仁（筑波大学 医学医療系 内分泌代謝・糖尿病内科）

【背景・目的】Elovl6 は炭素数 12-16 の飽和および一価不飽和脂肪酸を基質とし，炭素数 18 の長鎖脂肪酸の

合成を行う脂肪酸伸長酵素である。近年，脳において脂肪酸が摂食制御に重要な役割を担うことが明らかになってきた。本研究では，Elovl6 欠損マウスを用いて摂食調節機構における Elovl6 の役割について検討した。【方法】野生型マウスおよび Elovl6 欠損マウスを用い，普通食，高ショ糖食，高脂肪食を単独または選択条件で与え，その摂食パターンと摂食量を経時的に観察した。また，食餌嗜好性との関連が報告されているカンナビノイドやオピオイドのアゴニストまたはアンタゴニストの投与が Elovl6 欠損マウスの摂食行動におよぼす影響を検討した。【成果】野生型と比較して，Elovl6 欠損マウスは普通食および高脂肪食の摂食量は変わらなかったが，高ショ糖食では摂食量が有意に増加した。普通食と高ショ糖食を同時に与えて餌を選択させた場合，普通食と高ショ糖食を合わせた総摂食量は野生型マウスと Elovl6 欠損マウスで同等であるが，Elovl6 欠損マウスは高ショ糖食をより多く摂食し，普通食の摂食量が減少した。Elovl6 欠損マウスのショ糖嗜好性は，オピオイド受容体のアンタゴニストの投与により一部キャンセルされた。【結論と考察】Elovl6 による脂肪酸組成の変化は，恒常性維持のための摂食には影響せず，嗜好性に基づく摂食に影響をおよぼす。Elovl6 欠損マウスのショ糖嗜好性の亢進にはオピオイド受容体からのシグナルの関与が示唆された。

（6）脂肪のおいしさは過食を招くのか

松村成暢（京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻）

トロや霜降り肉など脂肪を多く含む食品は嗜好性が高い。脂肪は食べ物を美味しくさせることは明らかであるがその機構は不明であった。我々の研究グループは脂肪分子が味を感じる細胞である味細胞により受容体を介して化学的に受容されることをこれまで報告してきた。つまり，脂肪分子が他の味質，甘味やうま味などと同様に味細胞に受容される，これが脂肪の美味しさであると考えてきた。また in vivo において脂肪分子による味細胞刺激，つまり脂肪を舐めることによりドーパミンおよびエンドルフィン分泌が促進されることを明らかとした。これらの神経伝達物質は脳内で快感を生み出し，脂肪の美味しさを際立たせると考えられる。

マウスに高脂肪食を与えると過食を招き，肥満を誘導することが一般的に知られているがいまだに未解明な部分が多いように思われる。マウスや人間において，実際高脂肪食を摂取していても肥満にならないケースも多々あるからである。そもそも脂肪は消化管ホルモンなどを介して強力に食欲を抑制する。健常人は脂肪を食べ過ぎると次の日まで食欲がなくなるのである。

我々は脂肪の美味しさがいかにして動物の体重調節を狂わせるのか，そのメカニズムの解明を行っている。予備的な検討と最新の知見を紹介した。

（7）運動環境下のラットにおける高脂肪食に対する嗜好性の減弱について

坂井勇介[1]，河原幸江[2]，田尻祐司[3]，佐藤貴弘[4]，児島将康[4]，御船弘治[1]
（[1]久留米大学医学部･動物実験センター，[2]久留米大学医学部･薬理学，
[3]久留米大学医学部･内分泌代謝内科学，[4]久留米大学･分子生命科学研究所）

【背景・目的】食事の変化は身体だけでなく脳や精神活動にも影響を及ぼすことは広く知られているが，身体的活動が食事に及ぼす影響は不明である。今回我々は，食嗜好性に及ぼす運動環境の影響を明らかにするために，運動環境下におけるラットの食嗜好性の変化を検討し，そのメカニズムを解析した。

【方法・結果】4 週齢 ♂ SD ラットに，高脂肪食と普通食を同時に自由選択摂取させ，自発運動（Ex）群として回転カゴ付チャンバーにて週末（金～日曜：３日/週）のみ自発運動環境下にて飼育，非運動（Se）群として回転

カゴなしの通常ケージにて各々9 週齢時まで飼育した。側坐核ドーパミン量の各々の反応をマイクロダイアリシス法にて測定した。Se 群では全測定期間中を通して HFD 食に対する嗜好性が強かったが，Ex 群では自発運動環境下にて飼育後は，一日の摂餌量に占める CD 食の割合が増加し，特に５～７週齢時では摂餌量の約半分は CD 食であった。Se 群では CD 食給与時と HFD 食給与時の両者で，ドーパミン放出量は basal level の約 1.5 倍上昇した。Ex 群では CD 食給与時のドーパミン放出量は Se 群と同様に上昇したが，HFD 食給与ではドーパミンの上昇は認められなかった。

【結語】定期的な自発運動により食餌の嗜好性が変化することが明らかとなり，中枢ドーパミン報酬関連神経系の変化が関与することが示唆された。

（8）視床下部ドパミン神経による摂食調節機構

池田弘子，米持奈央美，亀井淳三（星薬科大学薬物治療学教室）

中枢のドパミン神経は，食の嗜好性に深く関与することが知られている。嗜好性食物の摂取は中脳辺縁系ドパミン神経を活性化し，この活性化がさらなる摂取の欲求に繋がると考えられている。一方で，アンフェタミンやマジンドールは古くから食欲抑制作用を有することが知られているが，これらはいずれもドパミン神経を活性化することから，中脳辺縁系ドパミン神経を介してこれらの作用が発現しているとは考えにくい。演者らは，摂食行動の中枢である視床下部に着目し，視床下部のドパミン神経が摂食行動に関与することを研究してきた。これまでに，摂食中枢として知られる視床下部外側野のドパミン神経は摂食により活性化すること，また，同部位のドパミン D1 および D2 受容体を刺激することにより摂食行動が抑制されることを明らかにした。これらの結果から，摂食により視床下部外側野のドパミン神経が活性化し，これがドパミン D1 および D2 受容体を介して摂食行動を終了させることが考えられる。この機構はアンフェタミンやマジンドールのドパミン神経を活性化することで摂食抑制作用を示すという機序と一致するものである。さらに，ドパミン D1 受容体または D2 受容体を刺激することにより，視床下部においてそれぞれ異なる摂食調節ペプチドの発現量を制御することから，ドパミン D1 受容体と D2 受容体は異なるペプチド含有神経を介して摂食抑制作用を示すことが考えられる。

（9）肥満のなかのヤセ

千葉政一，伊奈啓輔，藤倉義久（大分大学医学部分子解剖学講座）

通常飼育の野生型実験動物は over night fasting などの比較的短期間の給餌制限に反応し，給餌再開直後から強い食行動を示す。この反応は肥満モデル動物で特に認められ，過体重にも関わらず，反応性の過食行動が観察出来る。

我々は比較的短期間のエネルギー欠乏に誘導される食行動促進反応に着目し，視床下部でのいくつかの食行動調節物質の関与を検討した。その結果，エネルギー欠乏情報で誘導される視床下部神経ヒスタミン機能は CRH によって促進されるが，NPY/AgRP および αMSH には影響を受けないことを観察した。つまりエネルギー欠乏条件下の視床下部では，食行動促進系の NPY/AgRP ニューロンと食行動抑制系のヒスタミンニューロンが独立して機能することが伺えた。

その意義を検討するために，over night fasting を野生型マウスおよびヒスタミン H1 受容体欠損(HIKO)マウスに負荷し視床下部神経ヒスタミン代謝，体温反応，肩甲骨間褐色脂肪組織 UCP1 蛋白発現量，再摂食量について解析した。この結果，over night fasting によって活性化された視床下部神経ヒスタミンは H1 受容体を介して褐色脂肪組織 UCP1 タンパク発現量を増加させ体温を維持しながら再給餌による過剰な食行動を抑制性に制御していることが判明した。

（10）新規視床下部分泌性小タンパク質によるエネルギー代謝調節

浮穴和義，岩越栄子，鹿野健史朗（広島大学大学院総合科学研究科）

NPGL は鳥類や哺乳類において脳の視床下部に特異的に発現し，80 アミノ酸残基からなる分泌性小タンパク質をコードする。本遺伝子は，絶食時や糖尿病モデル動物で発現が上昇する。本研究では，NPGL の生理機能の解明を目的とし，ラットを用いて視床下部での NPGL 遺伝子の過剰発現及び小タンパク質の脳室内慢性投与を行い，生じる表現型を解析した。

1.5 ヵ月間の NPGL 遺伝子過剰発現及び 2 週間の NPGL 脳室内慢性投与のいずれにおいても，体重差はないものの脂肪蓄積の促進効果が認められ，呼吸商の上昇を伴った。肝臓，白色脂肪組織，褐色脂肪組織での脂肪代謝関連因子の遺伝子発現解析より，褐色脂肪組織での脂肪合成関連遺伝子群の発現の有意な上昇を認めた。また，褐色脂肪組織の白色脂肪組織化，ノルアドレナリン代謝回転の低下，低温曝露時の褐色脂肪組織温度の低下が認められた。さらに，マクロ栄養素飼料給餌条件下での NPGL 脳室内投与は，炭水化物摂取を増加させた。

以上より，NPGL は絶食時に合成が高まり，エネルギーを早急に得るために炭水化物摂取を促進させることが示唆された。一方，栄養条件が良い時には，脂肪組織を支配する交感神経活動の低下を引き起こすことにより，脂肪合成を促進し，結果として脂肪蓄積が生じることが示唆された。

（11）環境温度が食欲および嗜好性に与える影響について

長阪玲子，中地はづき，小野寺柚香，石川雄樹（東京海洋大学学術研究院 食品生産科学部門）

哺乳類は体温を一定に保つため，環境温度が低温になると熱産生量を増加させエネルギー消費が亢進される。そのため哺乳類にとって，環境温度の変化に伴い摂食を制御することは非常に重要である。エネルギー代謝の変動は摂取量だけでなく栄養素の選択にも影響すると考えられるが，環境温度の変化にともなう食嗜好性の変動については明確な報告はない。そこで本研究では，温度別に飼育したマウスの給餌試験を行い，それにともなう食欲関連因子の解析によって摂餌行動の評価を行い，環境温度が食欲と嗜好性に及ぼす影響について検討した。

マウスを異なる環境温度（10,20,30 ℃）で 30 日間飼育し，高脂質食（HFD）および高炭水化物食（HCD）を自由摂取させた。飼育試験終了後にサンプリングを行い，食欲制御因子である血漿レプチン濃度およびグルコース濃度を測定し，食欲を制御している脳視床下部での食欲制御因子の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法によって解析した。これらの解析結果を報告した。

（12）卵巣摘出ラットの高脂肪食摂取におけるエストロゲンの抑制作用

高橋春花，土井菜々子，永友　優，川原真理子，横田直子，森本恵子
（奈良女子大学大学院 心身健康学専攻 生活健康学コース）

【目的】雌性ラットの高脂肪食誘発性肥満に対するエストロゲンの抑制作用を検討するため，卵巣摘出ラットを用いて脂肪投与部位の違いがその後の高脂肪食摂取量に与える影響とそれに対するエストロゲンの作用を検討した。さらに，脂肪酸受容体の発現へのエストロゲンの影響について検討した。

【方法】9 週齢にて Wistar 系雌性ラットの両側卵巣摘出手術を行い 13 週齢で Placebo（Pla）群，Estradiol（E2）

群に分け，各々のペレットを埋め込み，高脂肪食（HFD）投与を開始した。17 週齢で 16 時間絶食後，口腔内・胃内・静脈内への脂肪乳剤投与（20 ml/kg 体重）を行い，30 分毎に 3 時間後まで HFD 摂取量を測定した。加えて舌・胃の CD36，GPR120 の遺伝子・タンパク質発現を測定した。

【結果】13 週齢以降 Pla 群ではエネルギー摂取量と体重の増加が見られたが E2 群では減少した。絶食終了後 30 分間の HFD 摂取量は Pla 群と比べ E2 群で抑制された。一方，脂肪乳剤の口腔内投与では両群とも摂取量は変化しなかったが，胃内投与により Pla 群では HFD 摂食抑制が生じ，E2 群との差が見られなくなった。各臓器の脂肪酸受容体 mRNA およびタンパク質発現量には両群で差はなかった。

【考察】長期の HFD 投与時には卵巣摘出ラットへの E2 補充により摂食が抑制された。絶食終了後 30 分間の HFD 摂取量についてもエストロゲンは抑制作用を示したが，脂肪乳剤の胃内投与は E2 補充の有無に限らず摂食を抑制した。E2 群の HFD 抑制には口腔内脂肪刺激が関与している可能性が示唆された。

（13）かつおだし嗜好性に関与する 3 つの主要因子

近藤高史（味の素㈱ イノベーション研究所新事業探索研究グループ）

【背景】かつおだしは，日本の代表的伝統食品であり，和食の味付けに欠かせない。そのおいしさには，うま味成分（イノシン酸）と独特の香りが重要であると言われているが，動物が嫌う酸味成分（乳酸）と苦味成分（ヒスチジン，クレアチニンなど）も大量に含まれているため，単純ではないと予想される。

【目的】ラット／マウスを用いて天然かつおだしの嗜好性に関与する因子を調べた。

【方法】Sprague-Dawley ラット，C57BL/6N マウス，および ICR マウスを用い，さまざまな濃度の液体かつおだしを用意し，水と共に与え摂取量を測定し，嗜好性（好き・嫌い）を評価した。かつおだし溶液の提示順序は，上昇濃度系列および下降濃度系列の両方で実施した。飼料として高脂肪食または正常食（カロリー計算でそれぞれ 45%および 10%の脂肪を含む飼料）を摂取させた。

【結果】かつおだし嗜好性は，動物種により異なった。また，かつおだし嗜好性は 45%高脂肪食摂取により著しく低下した。しかし，過去にかつおだしを好んで摂取した体験／学習があると，高脂肪食摂取による嗜好性低下は認められなかった。

【結論】かつおだし嗜好性には，少なくとも 3 つの因子が関与する。すなわち 1) 遺伝因子，2) 高脂肪食摂取，および 3) 過去のかつおだし摂取体験／学習である。本結果は，摂取後に生じる生理的効果（健康機能）を学習することによりかつおだし嗜好性が高まる可能性が強く示唆された。

（14）微量栄養素を動物はどのように過不足なく摂取できているのか？

安尾敏明，硲　哲崇（朝日大学･歯･口腔生理）

一般的に，味覚の生理学的意義のひとつとして「栄養素の発見・検索」があるが，私たち動物が摂取する栄養物の中には，無機塩，ビタミン，必須アミノ酸など，恒常性の維持に必須であるにも関わらず，その 1 日必要量が微量であり，味覚では検知しにくい物質が多く存在する。我々の研究室では，このような微量栄養素を動物がどのように見つけ出し，過不足なく摂取することができているのかについて，行動学的・電気生理学的・内分泌学的な手法を用いて検討している。本発表では，ある種の必須無機塩あるいはビタミンの欠乏状態に陥った動物が，いかにこれらの物質を見つけ出し，摂取することができているかについて，また，これらの栄養素が欠乏した動物に生じる行動学的・神経科学的変化について紹介した。

（15）味覚および消化管栄養素受容機構解析の新しいツール

岩槻　健（東京農業大学 食品安全健康学科）

消化管は消化・吸収の他，栄養素認知，ホルモン産生，免疫，バリア，粘液分泌，輸送など様々な機能を有しており，それらの機能は特殊化した消化管上皮細胞により担われている。しかしながら，消化管機能を in vitro にて解析する実験系は限られていた。最近になり，消化管幹細胞が特定され，続いて消化管幹細胞の三次元培養系（オルガノイド培養系）が開発されたことで，これまで困難であった in vitro での消化管細胞実験が可能となり，各種因子が消化管の細胞に与える影響を簡単に観察できるようになった。

本発表はこの新しいオルガノイド培養系を用いて，実際の生体内環境に近い状態で消化管の栄養素受容細胞の解析ができる事を紹介した。また，消化管のみならず，同じ内胚葉由来の味蕾についても同様の培養方法にて味幹細胞の維持・増殖が可能である事や，最近の取り組みについても紹介した。

（16）神経活動の人工制御システムを用いた空腹による味覚修飾機構の解明

中島健一朗，傅　欧，岩井　優（東京大学大学院 農学生命科学研究科）

摂食は動物にとって，自身の生存や子孫の繁殖のために重要な行動である。このうち味覚は食物の価値の判断基準として機能する。糖質，アミノ酸，脂質などは基本的に高栄養価で甘味や旨味を呈し，多く摂取される。一方，腐敗物や毒物は強い酸味や苦味を呈し，有害であり忌避される。摂取された栄養因子は末梢の臓器や脳で受容され，全身の恒常性が維持される。

国内外の最近の多くの研究で脳が味覚や栄養の情報を別々の伝導路を介して受け取り，身体全体の活動を制御することが明らかになりつつある。

その一方，満腹・空腹といった生理状態の変化や肥満・老化など健康状態の変化に伴い，味の感じ方がなぜ変わるのかは不明なままである。その原因は，栄養因子が末梢の臓器のホルモンレベルや様々な神経の活動レベルを変化させるので，脳内で味覚と栄養の情報の統合・評価に重要な部位の活動や機能を正確に把握することが困難なためである。

本研究では，マウスの視床下部で摂食中枢を司る神経の活動を化学遺伝学・光遺伝学的にコントロールした。そして，末梢の臓器による副次的な影響を除いた条件で，いわば人為的に空腹状態を再現した際の味覚感受性の評価を試みた。発表では，その結果について報告するとともに，摂食中枢神経の活動が味覚受容におよぼす影響について考察した。

（17）食経験に起因する味嗜好性変化とその発生要因の解析

成川真隆，三坂　巧（東京大学大学院 農学生命科学研究科）

生まれてすぐの新生児においても，甘いや酸っぱい，苦いなどの味を認識することができる。しかし，自分がおいしいと思ったものでも，他人が必ずしもおいしいと思うわけではない。すなわち，食の嗜好性には個人差がある。これまでにポテトチップスやピザなど塩分の高い食物を食べた乳児は塩に対する嗜好性が上昇すること，チョコレートやビスケットなどジャンクフードを食べたラットから生まれた仔ラットは脂肪に対する嗜好性が上昇することなどが報告されている。また，ヒトで香辛料の摂取頻度が嗜好性に影響を与えることも報告されている。これらの知見から，食経験が個人の食嗜好性に影響を与える可能性が強く示唆されるが，いつ，何を

食べることで嗜好性の変化が誘発されるのかを理解するためには十分でない。

そこで本研究では食経験による味嗜好性の変化とその発生要因を明らかにすることを目的とし，実験を行った。まず，味嗜好性変化を評価するための実験系の構築を試み，異なる生育ステージのマウスを用いて，嗜好性の形成に最も影響を与える時期の特定を試みた。さらに，この嗜好性変化に口腔内の味覚感受性の変化が関与するかどうか，味を伝える味覚神経応答や味蕾における味情報関連分子の発現から評価を行った。これらの成果について発表した。

（18）味覚嫌悪学習における分界条床核の役割

乾　賢（大阪大学･大学院人間科学研究科･行動生理学研究分野）

食べ物に対する嫌悪には，危険物の摂取を回避し，生命を維持するという生物学的意義がある。多種多様な動物が食べ物に対する嫌悪を表出することから，共通の生物学的基盤が存在することを示唆している。したがって，そのメカニズムを明らかにすることは摂食行動の仕組みを理解することにつながると考えられる。食べ物に対する嫌悪の一つに味覚嫌悪学習がある。これは食べ物を摂取した後に体調不良を経験すると，その食べ物の味に対する嫌悪を獲得し，以後の摂取を回避するようになる現象である。味覚嫌悪学習の中枢メカニズムに関するこれまでの研究によって，分界条床核といわれる脳部位の関与が示唆された。分界条床核は味覚情報処理に関わる結合腕傍核や食欲に関わる腹側被蓋野と相互連絡がある。また，不安や恐怖といったネガティブな情動において重要な役割を果たしている。このような機能的・解剖学的特徴があるにも関わらず，味覚嫌悪学習への関与を積極的に示唆する報告はなされていない。そこで本研究では，分界条床核を薬理学的に操作し，微細行動分析によってその影響を調べた結果を報告する。そして，本発表を含めた味覚嫌悪学習の中枢メカニズムに関する研究が食欲・食嗜好という研究領域にどのように資するかについて議論した。

（19）“人は食べたものでできている”食べ物による食行動調節回路のリモデリング

後藤伸子（慶応義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科･(独)日本学術振興会特別研究員 RPD）
入江潤一郎，中江　淳，伊藤　裕（慶応義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科）

肥満症患者の食行動は生活の一部であり，社会的背景やライフイベントと切り離すことが出来ない。これまで減量がうまくいったことのない慢性の高度肥満者であっても，何らかの契機から一気に減量が進むことがある。逆に，何らかの契機から一気に体重増加・再増加が進むことがある。これは，肥満症患者の脳に広範な器質的変化が生じており，前者はその変化を凌駕する「動機づけ」が脳の機能的および器質的再変化をもたらし，後者はその器質的変化によりストレスなどへの「抵抗力」が落ちる結果 emotional eating など逸脱した食行動の振幅が大きくなるため，と筆者らは考えている。これらを背景に，筆者らは「動機づけ」と「抵抗力」および広範な器質的変化について，ヒトおよびモデルマウスを対象としたアセスメント方法の開発に取り組み，最終的には治療介入に結び付けることを目指している。本研究会では，その試みの途中経過について報告した。

（20）味・風味の神経表象の探索　−ヒト fMRI 研究 −

山城博幸[1]，山本洋紀[2]，村瀬智一[3]，梅田雅宏[3]，樋口敏宏[4]
（[1]藍野大学臨床工学科，[2]京都大学大学院人間･環境学研究科，
[3]明治国際医療大学医療情報学，[4]明治国際医療大学脳神経外科学）

味覚刺激を用いたヒト脳イメージング研究により，島・弁蓋部の第一次味覚野や眼窩前頭皮質の第二次味覚野が，味やおいしさに反応することがわかってきた。しかし，味の質や風味の違いが，どの領野のどのような活動によって表現されているか未解明である。本研究では，味覚刺激を味わっている時のヒト脳活動を fMRI で測定し，デコーディング解析（多変量パターン解析）を行い，味の質や風味を表象する脳領域の同定を試みた。実験は，２種類の刺激（基本味と複雑な風味）で行った。基本味実験では綿棒に含ませた砂糖または食塩の水溶液を刺激とし，風味実験ではプリン味またはメロン味の棒付き飴を刺激として用いた。刺激の呈示は手動で行った。実験者によって被験者の右手に刺激が手渡されると，被験者は自ら刺激を口へ運び 4 秒または 6 秒間味わってから実験者へ返した。刺激に対する脳活動から，刺激の種類（砂糖か塩か，あるいは，プリンかメロンか）を区別できる脳活動パターンを示す脳領域を探索した結果，島皮質を含む多数の領域で，高い正確性で区別が可能だった。即ち，味の質や風味の違いが第一次味覚野だけでなく多数の脳領域の活動によって表現されていることが示唆された。ただし今回の刺激呈示方法では被験者の手や頭部の動きが刺激呈示と同期しており，味・風味以外の要因を分離できてない。より正確な味・風味の神経表象の同定のために，刺激呈示方法の改良が必要である。

13. 臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み

2016 年 9 月 10 日－9 月 11 日

代表・世話人：山内敏正（東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科）

所内対応者：箕越靖彦（生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門）

（１）肥満関連病態に対する貪食制御因子 MFG-E8 の役割

黒田雅士（徳島大学）

（２）肥満脂肪組織における in vivo 代謝動態解析：グルタミン酸上昇とその病態学的意義について

長尾博文（大阪大学）

（３）糖・脂質代謝改善作用を持つアディポネクチン受容体アゴニストの臨床応用への挑戦

岩部美紀（東京大学）

（４）糖尿病状態における性ステロイドホルモンの病態生理学的役割

稲田明理（先端医療センター）

（５）嗅覚受容体は膵β細胞に発現しグルコース応答性インスリン分泌を促進する

宗像佑一郎（東北大学）

（６）ストレプトゾトシン糖尿病の代謝異常に及ぼす骨格筋 AMPK の調節作用

横田繁史（生理学研究所）

（７）腸を起点とした食由来脂肪酸代謝物によるエネルギー制御機構

木村郁夫（東京農工大）

（８）肝由来分泌タンパクヘパトカインによる運動感受性ならびに熱産生制御

御簾博文（金沢大学）

（９）肝臓における hypoxia-inducible factor 1α の活性化はコレステロール胆石形成を促進する

浅井洋一郎（東北大学）

(10) 脂肪肝における肝再生障害のメカニズムの解明

稲葉有香（金沢大学）

(11) 細胞死を起点とする非アルコール性脂肪性肝炎発症機構の解明

伊藤美智子（東京医科歯科大学）

(12) 肝臓の脂肪酸合成酵素による代謝調節機構の解明

松本道宏（国立国際医療研究センター研究所）

(13) 網羅的発現解析に基づく内分泌細胞の機能制御メカニズムの研究 - 新規グレリン分泌調節因子の探索

小山博之（京都大学）

(14) エネルギー代謝調節におけるドパミン神経の役割

池田弘子（星薬科大学）

(15) 摂食リズムによる視床下部グルココルチコイド感受性亢進と AgRP 発現増強の生理的意義

志内哲也（徳島大学）

(16) 脳こそが循環動的恒常性維持システムの中枢である ～何を見て・何を守ろうとしているのか～

岸　拓弥（東北大学）

(17) 希少糖 D-Allulose による GLP-1 分泌と求心性迷走神経を介した摂食リズム障害・肥満・糖尿病の改善

岩﨑有作（自治医科大学）

【参加者名】

山田哲也（東北大学），岡村將史（東北大学），浅井洋一郎（東北大学），宗像佑一郎（東北大学），岩崎有作（自治医科大学），佐々木　努（群馬大学），伊藤美智子（東京医科歯科大学），荒井　誠（東京医科歯科大学），池田弘子（星薬科大学），米持奈央美（星薬科大学），山内敏正（東京大学），木村郁夫（東京農工大学），松本道宏（国立国際医療研究センター研究所），井上　啓（金沢大学），御簾博文（金沢大学），稲葉有香（金沢大学），酒井友梨子（金沢大学），小山博之（名古屋市立大学），八木崇志（名古屋市立大学），髙木一代（名古屋経済大学），田中　都（名古屋大学），多田敬典（国立長寿医療研究センター），田之頭大輔（国立長寿医療研究センター），王　振吉（生理学研究所），田中智洋（京都大学），前田法一（大阪大学），長尾博文（大阪大学），稲田明理（先端医療センター），阪上　浩（徳島大学），志内哲也（徳島大学），黒田雅士（徳島大学），岸　拓弥（九州大学），佐藤貴弘（久留米大学），箕越靖彦（生理学研究所），岡本士毅（生理学研究所），横田繁史（生理学研究所），佐藤達也（生理学研究所），Nur Farehan Nohamed Asgar（生理学研究所）

合計 38 名

【概要】

個体の糖・脂質・エネルギー代謝の恒常性維持は生命の存続に必須であり，そのメカニズムの正しい理解は健康で心豊かな生活を送る上で不可欠である。糖・脂質・エネルギー代謝の制御は，多様な生体制御システムによる臓器相関により成り立っており，そのメカニズムの理解には様々な研究分野を横断した学際研究によるアプローチが求められる。本研究会では，神経系，内分泌系，炎症・免疫系，循環器系，腸内環境系の専門家が，一堂に会し，最新の知見を提示することで，臓器相関のメカニズムの統合的理解を共有し，今後チャレンジすべき課題を議論することを目指した。また，細胞から臓器・個体を対象として，ゲノム・エピゲノム，転写・タンパク・代謝産物，神経制御から個体表現型までにおよぶ最新の解析技術を紹介することで，今後の共同研究の取り組みの推進・加速に取り組んだ。臓器相関に関わる若手・女性研究者の教育と人材育成にも取り組み，7 名の若手研究者，4 名の女性研究者に発表をお願いした。具体的な発表は，脂肪組織からの代謝制御（黒田・長尾・岩部等），骨格筋からの代謝調節（横田等），肝臓からの代謝制御（御簾・浅井・稲葉・伊藤・松本等），腸管での代謝センサーと代謝調節（宗像・木村・小山・岩崎等），中枢神経および自律神経による代謝制御（池田・志内等），循環器から自律神経を介した代謝制御（岸等），末梢から中枢神経へ作用する代謝調節（稲田等）について行った。本研究会は，若手研究者を加え，研究分野を超えた参画者の活発な議論を行い，知見・研究技術・人的交流を深めることで，臓器相関による糖・脂質・エネルギー代謝研究の推進に繋がるものとなった。

（1）肥満関連病態に対する貪食制御因子 MFG-E8 の役割

黒田雅士（徳島大学大学院 医歯薬学研究部代謝栄養学分野）

〔目的〕脂肪組織慢性炎症は 2 型糖尿病をはじめ，様々な肥満関連疾患の発症・進展に深く関与している。肥満により生じる脂肪細胞死はマクロファージとの相互作用などを介して肥満病態形成に重要な役割を担う。我々は DNA マイクロアレイ解析により，肥満マウスにおいて脂肪組織特異的に発現が誘導される遺伝子 Milk-fat globule EGF factor 8（MFG-E8）を同定した。分泌タンパク質 MFG-E8 はアポトーシスを起こした細胞表面に表出するホスファチジルセリンに結合し，マクロファージなどによる速やかな貪食・排除に寄与することが明らかとなっている。我々は肥満に伴う脂肪組織局所炎症及び代謝異常と MFG-E8 との関連を明らかにすることを目的に検討を行った。〔方法〕3T3-L1 培養脂肪細胞株 MFG-E8 発現に対する脂肪肥大及びアポトーシスの影響を検討した。野生型と MFG-E8 ノックアウトマウスに対し高脂肪食により肥満を誘導し，OGTT による糖代謝，脂肪組

織遺伝子発現変化等を解析した。同時に脂肪組織中のマクロファージの形質についてフローサイトメトリーを用いて解析した。〔結果〕長期培養による脂肪肥大及びスタウロスポリンによるアポトーシスの誘導によって 3T3-L1 脂肪細胞での MFG-E8 発現が顕著に誘導されていた。高脂肪食負荷 MFG-E8 ノックアウトマウスでは体重増加・脂肪組織重量に野生型と変化認められなかったが，グルコース負荷試験におけるインスリン濃度の低下が認められた。また，MFG-E8 ノックアウトマウスでは精巣上体白色脂肪組織における TNFα，IL-1β，IL-6 など炎症性サイトカイン発現が抑制されていた。脂肪組織浸潤マクロファージをフローサイトメトリーにより解析したところ，野生型に比べて炎症性 M1 マクロファージの増加がノックアウトマウスで抑制されていた。肥満誘導時に浸潤マクロファージより形成される Crown-Like Structure の数に変化は認められないものの，ノックアウトマウスでは肥満の誘導により生じる TUNEL 陽性死脂肪細胞の数が野生型に比べて増加していた。〔考察〕以上の所見より，肥満により増加する MFG-E8 は死脂肪細胞のマクロファージによる貪食・排除過程を調節しており，脂肪組織へ浸潤したマクロファージの炎症性変化を制御していると示唆される。

（2）肥満脂肪組織における in vivo 代謝動態解析：グルタミン酸上昇とその病態学的意義について

長尾博文（大阪大学大学院医学系研究科 内分泌･代謝内科学）

【背景】肥満脂肪組織における各代謝経路の相互連関や代謝動態変化は明らかでない。

【目的】肥満脂肪組織における静的及び動態学的な代謝変化を明らかにする。さらにそれと脂肪細胞機能異常との関連を検討する。

【方法】肥満マウスの脂肪組織，肝臓，骨格筋の各種代謝物量を解析し，さらにグルコース安定同位体を用いて in vivo 代謝動態解析を施行した。脂肪組織におけるグルタミン酸(Glu）トランスポーターの発現を検討した。3T3-L1 脂肪細胞に Glu を添加し，アディポネクチン分泌や糖取り込み等の脂肪細胞機能への影響を検討した。

【結果】肥満脂肪組織特異的に Glu 及び TCA 回路の代謝物量増加を認め，それらのグルコース由来の生合成上昇が明らかとなった。肥満脂肪組織では Glu トランスポーターである GLAST の発現低下を介し，脂肪組織内への Glu 取り込みは低下していた。3T3-L1 脂肪細胞への Glu 添加により，アディポネクチン分泌低下や，糖取り込み及び Akt リン酸化の抑制がみられた。

【考察】肥満脂肪組織において，グルコース由来に TCA 回路の代謝回転及び Glu 合成が亢進していた。脂肪細胞内 Glu 上昇が，アディポネクチン分泌低下やインスリンシグナルの低下といった脂肪細胞機能異常につながることが示唆された。

（3）糖・脂質代謝改善作用を持つアディポネクチン受容体アゴニストの臨床応用への挑戦

岩部美紀（東京大学大学院医学系研究科糖尿病･代謝内科）

我が国の死因の上位を占める心血管疾患（心筋梗塞，脳梗塞等）の主要な原因はメタボリックシンドローム・糖尿病と考えられている。これらの生活習慣病は増加の一途をたどっており，その原因を解明し，予防・治療法を開発，先制医療を実現することは，我が国だけでなく，国際的な課題の解決に貢献する挑戦的な取り組みといえる。生活習慣病に対する先制医療の実現は，世界中で渇望されている。

我々は，肥満症に伴うメタボリックシンドローム・２型糖尿病・心血管疾患等の生活習慣病の病因・病態の分子メカニズムを解明し，それを標的とした治療への応用を目指している。その一連の研究成果として，生活習慣病の「鍵分子」であるアディポネクチン受容体を活性化する低分子化合物（AdipoRon）を見出すことに成功した。

AdipoRon は経口投与可能な低分子化合物で，糖・脂質代謝を改善し，生活習慣病モデルマウスの短くなった寿命を延長することが明らかとなっており，先制医療のコンセプトではなく，確かな手がかりとして，健康長寿に資する画期的な新規生活習慣病治療薬として期待できると考えている。また，最近，アディポネクチン受容体の立体構造を明らかにし，構造ベース創薬の実現も視野に入ってきた。

今後，アディポネクチン受容体アゴニストのヒトへの最適化を加速し，大学発の新規糖尿病・生活習慣病治療薬として，臨床応用への実現に向けて，挑戦したい。

（4）糖尿病状態における性ステロイドホルモンの病態生理学的役割

β-cell induction *in vivo* in severely diabetic male mice by changing the circulating levels and pattern of the ratios of estradiol to androgens

稲田明理（先端医療振興財団 先端医療センター医薬品研究開発部門医薬品研究開発グループ）

β-cell dysfunction is an important characteristic of the progression of diabetes, and reduced β-cell mass is a significant contributing factor to the diminished insulin secretion in type 2 diabetes. Previously we have generated transgenic (Tg) mice developing severe diabetes early in life with a profound depletion of β cells with β-cell directed expression of inducible cAMP early repressor (ICER Iγ). Only male mice continue to demonstrate hyperglycemia throughout life. To investigate this sexual dimorphism, we treated severely diabetic male Tg mice with orchiectomy (ORX) or 17β-estradiol (E2) pellet implantation alone or in combination with ORX and E2-implantation to change the circulating levels and patterns of the ratio of estradiol to androgens. In the Tg-ORX group, the blood glucose levels decreased to a certain level within several weeks, but never reached the female Tg-control level. In contrast, the Tg-ORX+E2 or Tg-E2 group showed a more rapid drop in blood glucose to the basal level with a substantial increase in β cells, thus preventing the occurrence of severe diabetes in the male mice. The β cells, not only within islet but also in and adjacent to ducts and scattered β-cell clusters, were strongly induced by one week after treatment, and the islet morphology dramatically changed. Enhanced β-cell induction in the ducts occurred concomitantly with markedly increased levels of PDX-1 and related transcription factors, indicating an activated PDX-1 regulatory cascade. The glucose-lowering and β-cell increasing effects were independent of the age at which the treatment is started. These data provide evidence that the circulating level of E2 and the ratio of E2 to testosterone greatly affect the blood glucose levels, β-cell induction, and islet morphology in diabetic male Tg mice. This novel mechanism offers great potential for developing strategies to increase the number of β cells *in vivo*.

（5）嗅覚受容体は膵β細胞に発現しグルコース応答性インスリン分泌を促進する

宗像佑一郎（東北大学大学院 医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野）

嗅覚受容体は嗅上皮にて外部環境認識を担っている。我々は，マウス単離膵島や MIN6 細胞のマイクロアレイ解析により多数の嗅覚受容体の発現を見出した。そのうち Olfr15 は，膵β細胞細胞膜に発現していた。Olfr15 のリガンドであるオクタン酸刺激は，膵 β 細胞からのグルコース応答性インスリン分泌(GSIS)を促進し，糖負荷後の血糖を改善した。GSIS 促進効果は MIN6 細胞の Olfr15 の発現抑制により著明に抑制された。さらに，Olfr15 を介した GSIS は，PLC および IP_3 受容体の阻害により抑制され，IP_3 を介した細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇が関与することが示唆された。

以上から，膵β細胞に発現する異所性嗅覚受容体は，食物由来の外的環境の変化を知覚する化学受容器として機能し，PLC- IP_3 経路を介して GSIS を促進し糖代謝調節に寄与していることが示唆された。

（6）ストレプトゾトシン糖尿病の代謝異常に及ぼす骨格筋 AMPK の調節作用

横田繁史（生理学研究所 生体機能調節研究領域 生殖・内分泌系発達機構研究部門）

AMPK (AMP-activated protein kinase)は，細胞内のエネルギー枯渇を感知して活性化するセリン/スレオニンリン酸化酵素である。我々は，ストレプトゾトシン(STZ)を投与した糖尿病マウス（STZ 糖尿病マウス）の骨格筋において，AMPK が活性化することを見出した。驚いたことに，骨格筋選択的 dominant negative-AMPK 発現マウス(DN-AMPK)では, AMPK の下流シグナルが抑制されるとともに，高血糖，高脂肪酸血症，高ケトン体血症，体重減少，筋肉および脂肪組織の萎縮，致死率が改善した。このメカニズムを解明するため，野生型マウスと DN-AMPK Tg マウスに parabiosis（双体結合）を施行し，STZ の効果を調べた。その結果，野生型同士を parabiosis したマウスに比べて高血糖，高脂肪酸血症，高ケトン体血症，などの代謝異常が改善した。

そこで，骨格筋から分泌され脂肪組織に作用する myokine として IL-6，myonectin の効果を調べた。STZ 糖尿病マウスでは，骨格筋における IL-6 のタンパク質発現および血中濃度がいずれも上昇し，DN-AMPK マウスでは低下していた。一方，myonectin は，STZ 糖尿病マウスにおいて，逆に血中濃度が低下し，DN-AMPK マウスでは正常化していた。STZ 野生型マウスに IL-6 抗体を投与すると，STZ による代謝異常が有意に改善した。逆に STZ DN-AMPK マウスに recombinant IL-6 を投与すると，代謝異常の改善はなくなり，症状が悪化した。さらに，STZ DN-AMPK マウスに myonectin 抗体を投与すると，代謝異常が悪化した。以上から，STZ 糖尿病による代謝異常には，骨格筋から分泌される IL-6，myonectin などマイオカインが関与する可能性がある。

（7）腸を起点とした食由来脂肪酸代謝物によるエネルギー制御機構

木村郁夫（東京農工大学大学院 農学研究院 応用生命化学専攻 代謝機能制御学分野）

古くから“医食同源”の概念として知られる様に，食生活は生体内の恒常性を調節し，その調節機構の破綻は生活習慣病に繋がる。近年の食品科学の進歩に伴い，食と健康の関係が単なる現象論だけではなく，その分子作用機序の解明という科学的根拠に基づいた証明が為され始めた。特に，細胞膜上脂肪酸受容体群の同定により，食由来脂肪酸が単なるエネルギー源であるだけではなく，シグナル分子として重要であることが明らかとなり，肥満・糖尿病等の代謝疾患の創薬標的分子として，これら脂肪酸受容体群は注目されている。また，腸内細菌叢がその宿主のエネルギー調節や栄養の摂取，免疫機能等に関与し，その結果，肥満や糖尿病などの病態に直接的に影響するという多数の報告から，医学的側面からも食と腸内細菌，健康への関心は益々高まり，その結果，腸内細菌と宿主恒常性維持の分子機序の解明が早急の課題となった。この中で，我々は独自にこれら脂肪酸受容体と腸内細菌叢の関連に着目した。食品由来の，特に食物繊維由来，腸内細菌代謝物である短鎖脂肪酸や，食用油，リノール酸，αリノレン酸に代表される ω6-，ω3-脂肪酸の腸内代謝脂肪酸による生理機能への影響について，この脂肪酸受容体を介したエネルギー代謝制御に基づき，腸内代謝物と肥満の関係を証明する新たな知見を紹介する。

（8）肝由来分泌タンパクヘパトカインによる運動感受性ならびに熱産生制御

御簾博文（金沢大学 大学院 医学系研究科 内分泌・代謝内科学分野 糖尿病研究室）

肝臓はアルブミンや血液凝固因子などの分泌タンパクを放出することで全身の恒常性を制御しているが，その分泌異常は様々な疾患の発病につながる可能性がある。我々はこれまでに微量元素セレンの輸送タンパクとして知られていた selenoprotein P (SeP)の産生が 2 型糖尿病の肝臓で上昇すること，SeP がインスリン抵抗性を惹起することで高血糖を発症させる“ヘパトカイン”であることを報告した (Cell Metabolism 2010)。

その後の研究で，siRNA を用いたスクリーニングの結果, SeP の骨格筋受容体が Low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1)であることを同定した。SeP が LRP1 を介して運動の効果を減弱させる“運動抵抗性”の原因になることを見出した。さらに最近になって, SeP が褐色脂肪組織における熱産生の制御にも寄与することが明らかになった。さらなる研究によってヘパトカインを標的とした過栄養関連疾患に対する新たな治療法が開発されることが期待される。

（9）肝臓における hypoxia-inducible factor 1α の活性化はコレステロール胆石形成を促進する

浅井洋一郎[1]，山田哲也[1]，突田壮平[1]，高橋　圭[1]，前川正充[2]，本間　緑[1]，近藤泰輝[3]，
澤田正二郎[1]，中村保宏[4]，笹野公伸[4]，眞野成康[2]，上野義之[5]，下瀬川　徹[3]，片桐秀樹[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野，
[2]東北大学病院 薬剤部，[3]東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学分野，
[4]東北大学大学院医学系研究科 病理診断学分野，[5]山形大学医学部 消化器内科学分野）

非アルコール性脂肪肝疾患(NAFLD)では，脂肪蓄積により肝細胞が肥大し微小血流が低下することで Hypoxia-inducible factor 1α (HIF-1α)が活性化する。NAFLD は疫学的に胆石症のリスクとされるが機序は不明であり, 我々は肝臓の HIF-1α が重要な因子である可能性を想起し研究を行った。Cre/loxP システムを用いて肝細胞選択的・後天的 HIF-1α ノックアウト(iH-HIFKO)マウスを作成し，胆石形成への影響を検討した。1%コレステロール/0.5%コール酸を含有する食餌負荷により，対象マウスでは脂肪肝と HIF-1α 活性化を認め，約 90%にコレステロール胆石が形成された。一方，iH-HIFKO マウスでは，胆石の基質となる胆汁脂質の濃度が有意に低値であり, 胆石形成が約 20%まで著明に抑制された。iH-HIFKO マウスでは，肝細胞から胆汁への水排出を担うアクアポリン 8(AQP8)の発現が亢進し，更に，胆汁流量が亢進していた事から，肝細胞からの水排出増加により胆汁脂質が薄まり, 胆石が抑制された事が示唆された。培養肝細胞を用いた in vitro 実験では，HIF-1α は AQP8 の発現を負に制御している事が明らかとなった。更に，胆石症を合併した NAFLD 患者群では胆石を有しない NAFLD 患者群と比べて肝臓の HIF-1α と下流遺伝子の発現が有意に亢進しており, ヒトにおいても脂肪肝に伴う胆石症に HIF-1α 活性化が寄与している可能性が示唆された。今後，肝臓の低酸素応答へ介入する事が，脂肪肝に伴う胆石症への治療手段に繋がる可能性が考えられた。

（10）脂肪肝における肝再生障害のメカニズムの解明

稲葉有香，井上　啓（金沢大学 新学術創成研究機構 栄養・代謝研究ユニット）

脂肪肝では，肝臓の再生能が障害される。我々は，脂肪肝再生障害において，統合的ストレス応答(ISR)に伴う肝細胞死亢進が重要な役割を担うこと，脂肪肝切除後再生過程で，転写因子 CHOP・ATF3 の発現が亢進することを見出している。本研究では，脂肪肝再生障害における細胞死誘導メカニズムの解明を目的とし，ISR 増強モデルとして Gadd34 ノックダウンマウス(G-KD)を用いて，CHOP または ATF3 の脂肪肝切除後の再生過程における役割を検討した。

Gadd34/CHOP ダブルノックダウンマウス(G/C-DKD)では，ISR は G-KD と同等であるが，G-KD で増強した活性型カスパーゼ３，壊死誘導因子 RIP3 の発現が軽減した。G-KD では，壊死巣の出現及び，小葉内のタネル染色陽性細胞(アポトーシス細胞)が増加するが，G/C-DKD では，壊死巣が消失し，アポトーシス細胞も減少した。次に，Gadd34 ノックダウン肝臓 ATF3 欠損マウス（G/A-DKD)を用い，脂肪肝再生過程を検討した。G/A-DKD においても，壊死巣が消失した。一方，G/A-DKD では，G-KD と比べ，カスパーゼ３活性化，小葉内のアポトーシス細胞数に差を認めなかった。

本研究により，脂肪肝再生過程における ISR 増強は，CHOP・ATF3 の発現を亢進し，アポトーシス・RIP3 を介した細胞死など，複数の細胞死様式を誘導し，肝再生を障害する可能性が示唆された。

（11）細胞死を起点とする非アルコール性脂肪性肝炎発症機構の解明

伊藤美智子（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科臓器代謝ネットワーク講座）

非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）は高率に肝硬変・肝細胞癌へ進展する病態として注目されている。我々は，メラノコルチン 4 型受容体欠損（MC4R-KO）マウスを用いて新規 NASH モデルを確立した。本モデルでは肝病変の形成に先立って脂肪組織の炎症・線維化が認められ，脂肪蓄積能の低下が肝異所性脂肪蓄積に関与することが示唆される。さらに，NASH に特徴的な像として，細胞死に陥った肝細胞をマクロファージが取り囲んで貪食・処理する hepatic crown-like structure (hCLS)を見出した。本研究では，hCLS 構成マクロファージの動態，および線維化形成における意義を検討した。肝臓には F4/80 を高発現する組織マクロファージと CD11b を高発現する骨髄由来の浸潤マクロファージが存在すると考えられる。浸潤マクロファージはケモカイン系である MCP-1/CCR2 系に依存して脂肪肝発症早期から増加するが，hCLS は組織マクロファージが中心となって形成され，肝細胞との相互作用により機能的に変化すると考えられた。また，hCLS を消去することにより線維化の発症が抑制されるため，hCLS が肝線維化の起点になることが確認された。今後，hCLS 構成マクロファージの機能を明確にすることで，NASH の病態生理の解明，新たなバイオマーカーや治療標的の探索につながることが期待される。

（12）肝臓の脂肪酸合成酵素による代謝調節機構の解明

松本道宏（国立国際医療研究センター研究所 糖尿病研究センター 分子代謝制御研究部）

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は非アルコール性脂肪肝（NAFL）と非アルコール性脂肪肝炎（NASH）からなり，肥満・2 型糖尿病と高率に合併しメタボリックシンドロームの肝臓における表現型と考えられてい

る。肝硬変，肝細胞癌へと進展するリスクはNASHでは高く，NAFLからNASHへの移行の可能性があることから，NAFLD 患者では生活習慣への介入等により脂肪肝の軽減を図る必要がある。NAFLD では脂肪酸の新規合成（*de novo* lipogenesis: DNL）の亢進が脂肪蓄積を惹起するが，これは糖質の過剰摂取と DNL 経路の反応を触媒する一連のリポジェニック酵素の発現亢進により起こると考えられている。リポジェニック酵素の 1 つである脂肪酸合成酵素（FAS）はマロニル-CoA からパルミチン酸を合成すると共に，絶食時の脂肪酸酸化の制御分子である PPARα のリガンドの合成へも寄与することが明らかにされた。本酵素は DNL の活性化のみならず，多彩な代謝調節作用を有する可能性がある。これまで我々は，肥満・2 型糖尿病・NAFLD の病態における肝臓の FAS の関与を，肝臓特異的欠損マウスを用いて解析してきた。本講演では FAS 欠損が糖代謝，NAFLD の病態，肝発癌に与える影響を紹介し，インスリン抵抗性を呈する肝臓における FAS の活性化の意義について議論したい。

（13）網羅的発現解析に基づく内分泌細胞の機能制御メカニズムの研究 - 新規グレリン分泌調節因子の探索

小山博之（名古屋市立大学大学院医学研究科 消化器・代謝内科学）

グレリンは胃から分泌されるアシル化ペプチドホルモンで，成長ホルモン分泌作用に加え，中枢神経系を標的とした摂食促進作用や脂肪蓄積作用を有する。ヒトの血中グレリン濃度は空腹時には高値を示し，食事により低下するという特異的な日内変動を示し，その分泌制御にホルモン，神経伝達物質および栄養素が関与することが報告されているが，詳細なメカニズムは理解されていない。

我々の研究室ではグレリン分泌細胞株MGN3-1の樹立に成功し，分泌調節についても報告を行ってきた。今回，内分泌細胞の機能制御に重要な役割を果たす G 蛋白共役型受容体(GPCR)に注目し，RNASeq 解析にて MGN3-1 での発現量上位 GPCR についてリガンドが細胞内シグナルとグレリン分泌に及ぼす影響を検討した。

既知のアドレナリン β1 受容体に加え，Gs 共役型のプロスタグランジン受容体 4 型(Ptger4)の高発現を認め，PGE2 が Ptger4 を介してグレリン分泌を促進することを示した。高発現を認めたムスカリン 4 型受容体は Gq/Gi の両方に共役し，ムスカリンの単独添加はグレリン分泌に影響を与えないが，Gs 活性化による分泌には抑制的に作用することを見出した。さらに GPR142 の高発現を認め，リガンドとして報告のあるトリプトファンを添加するとグレリン分泌が促進された。またこの作用は GPR142 のノックダウンにより阻害された。

（14）エネルギー代謝調節におけるドパミン神経の役割

池田弘子，池上めぐみ，三上理沙，米持奈央美，亀井淳三（星薬科大学 薬学部 薬物治療学教室）

多元受容体標的化抗精神病薬のオランザピンは，副作用として糖代謝異常を起こすことが知られている。オランザピンは中枢に作用することから，この糖代謝異常は中枢を介したものであることが推測される。しかし，中枢神経による血糖調節機構には不明な点が多い。演者らはこれまでに，オランザピンによる血糖調節機構について研究してきた。まず，オランザピンをマウスの脳室内に投与したところ血糖値が上昇したことから，オランザピンは中枢神経を介して血糖上昇作用を示すことが明らかになった。また，オランザピンは視床下部において，エネルギー代謝に関わるシグナル伝達分子として知られる 5’AMP-activated protein kinase (AMPK) を活性化することで血糖値を上昇させることを示した。さらに，オランザピンや AMPK 活性化薬の脳室内投与により交感神経の活性化を介して肝糖産生が亢進することを示唆する結果も得られた。オランザピンは様々な受容体に作

用することが知られるが，ドパミン D_2 受容体や α_1 アドレナリン受容体，ヒスタミン H_1 受容体の拮抗によっても血糖上昇作用が認められたことから，中枢のドパミン神経やノルアドレナリン神経，ヒスタミン神経が血糖調節において重要な役割を果たすことが考えられる。演者らは現在，中枢のドパミン神経に注目し研究を進めており，本発表にてドパミン神経による血糖調節機構について紹介したい。

（15）摂食リズムによる視床下部グルココルチコイド感受性亢進と AgRP 発現増強の生理的意義

志内哲也 [1,2]，大塚愛理 [1]，清水紀之 [1]，近久幸子 [1]，勢井宏義 [1]
（[1] 徳島大学 大学院医歯薬学研究部 統合生理学分野，[2] 科学技術振興機構 さきがけ）

摂食リズムの破綻はインスリン抵抗性を惹起することが知られているが, 視床下部による代謝調節機構との関連やその生理的意義については明らかになっていない。本研究では，摂食時間を暗期後半 4 時間のみ（Evening 群）に制限した群と，摂餌時間を暗期前半 4 時間に制限した群（Morning 群），および暗期のみ自由摂食（Ad-lib 群）の 3 群を作成し，8 週間飼育した後のインスリン感受性を評価した。その結果，Evening 群の骨格筋においてインスリン感受性の低下を示すとともに, 視床下部 AgRP の発現が増強することを見出した。Evening 群のマウスにグルココルチコイド受容体（GR）阻害剤を経口投与すると，増強していた AgRP 発現が有意に低下した。そこで, Cre-lox システムを用いて AgRP ニューロン特異的 GR 欠損マウスを作成し, 摂食リズムを上記の 3 群に分けて飼育した。その結果，Evening 群で飼育しても，AgRP 発現増強は見られず, 骨格筋におけるインスリン感受性の低下も見られなくなった。以上より, 活動期後半中心の食餌リズムにおける骨格筋インスリン感受性低下の原因として, 視床下部のグルココルチコイド感受性亢進による AgRP 発現増強が示唆される。現在, その生理的意義について探索中である。

（16）脳こそが循環動的恒常性維持システムの中枢である～何を見て・何を守ろうとしているのか～

岸　拓弥（九州大学循環器病未来医療研究センター未来心血管治療学共同研究部門）

心臓・血管・腎臓など多臓器が維持する循環動的（静的ではない）恒常性破綻である慢性心不全は，個別要素に介入する現存治療に限界がきている。我々は，多臓器と神経・液性因子で接続され神経を用いて多臓器に指令を出している【脳】に着目し，慢性心不全における【脳】内異常として，1) アンジオテンシン II 受容体（AT1R）により産生される酸化ストレス・2) グリア細胞アストロサイトの AT1R 異常による神経グリア連環異常・3) toll-like receptor 4 による炎症性サイトカイン産生，が過剰な交感神経活性化を惹起し慢性心不全の病態を悪化させることを報告した。また，【脳】の入出力関係異常として, 4) 圧受容器反射不全は正常ラット左房圧を不安定にする・5) 圧受容器反射不全では血圧・左房圧の容量不耐性が瞬時かつ可逆的に惹起される・6)圧受容器反射の電気的補完（バイオニックブレイン）により容量耐性は完全に正常化化学受容器反射除神経は拡張不全型心不全動物の予後を改善する・7) 尿量に対し腎入力圧と圧受容器反射が同等のゲインを要する・8) 迷走神経求心路刺激は圧受容器反射を正常化する，ことを報告した。これらの結果は，【脳】が多臓器の状況を把握し，多臓器を遠心性神経で制御して循環恒常性を維持していること，さらに【脳】の機能不全が慢性心不全の本質的な原因で未達の治療標的であることを強く示唆する。

（17）希少糖 D-Allulose による GLP-1 分泌と求心性迷走神経を介した摂食リズム障害・肥満・糖尿病の改善

岩﨑有作[1]，Kumari Parmila[1]，比良徹[2]，荒井健[1]，出崎克也[1]，原　博[2]，徳田雅明[3]，矢田俊彦[1]
（[1]自治医科大学 医学部 生理学講座統合生理学部門，
[2]北海道大学大学院農学研究院 基盤研究部門 生物機能化学分野 食品栄養学研究室，
[3]香川大学 医学部 細胞情報生理学講座）

【目的】希少糖の 1 種である D-Allulose (Allu, 別名 D-Psicose)はゼロカロリー甘味料である。Allu には抗肥満，抗糖尿病効果が報告されているがその作用機序は不明である。一方，GLP- 1 受容体アゴニストは，耐糖能改善に加えて摂食抑制, 肥満改善作用を示す。本研究では Allu の摂食抑制，糖代謝改善，肥満改善作用における GLP-1 と求心性迷走神経の関与を検討した。

【方法・結果】マウスへの Allu 単回経口投与は GLP-1 分泌を促進した。健常マウスへの Allu 経口投与は摂食および糖負荷試験時の血糖上昇を有意に抑制し，この作用は GLP-1 受容体阻害剤で抑制された。短寿命の GLP-1 の生理作用発揮には求心性迷走神経を介した中枢入力が重要である。Allu 経口投与は求心性迷走神経とその投射先である延髄孤束核で神経活性化マーカー発現を誘導し，Allu による摂食抑制及び耐糖能向上作用は迷走神経切断によって完全に消失した。高脂肪食負荷肥満マウスへの Allu の連日経口投与（10 日間）は，明期の過食，1 日摂食量，血糖値，体重，内臓脂肪重量，肝臓脂肪量を有意に減少させ，耐糖能を改善させた。

【結論】ゼロカロリー甘味料の Allu を新規 GLP-1 リリーザーとして同定し，Allu による GLP-1 分泌は求心性迷走神経を介して摂食リズム障害，過食，耐糖能障害，肥満を改善することを明らかとした。

14．心臓・血管系の包括的な機能統合研究

2016 年 10 月 24 日－10 月 25 日

代表・世話人：松岡　達（福井大学医学部 統合生理学）

所内対応者：西田基宏（生理学研究所 心循環シグナル研究部門）

（１）【特別講演】心機能と cAMP

○石川義弘（横浜市立大学 大学院医学研究科 循環制御医学）

（２）【特別講演】心臓イオンチャネル病　－この３０年の研究を通してわかってきたこと－

○堀江　稔（滋賀医科大学 呼吸循環器内科）

（３）ヒト心筋 Kv1.5 チャネルの SKF-96365 による抑制作用の解析

○上田梨加，林　維光，松浦　博（滋賀医科大学 生理学講座 細胞機能生理学部門）

（４）心筋内向き整流 K^+チャネルの K^+透過は細胞外 K^+に依存するのか

○柳（石原）圭子，鷹野　誠（久留米大学医学部 生理学講座 統合自律機能部門）

（５）Cav1.2 型 Ca^{2+}チャネル C 末端部のチャネル活性調節機序

○高　青華[1,2]，徐　建軍[1]，呂　力婷[1,3]，蓑部悦子[1]，郝　麗英[2]，亀山正樹[1]

（[1]鹿児島大学医歯学総合研究科神経筋生理学，[2]中国医科大学薬学院薬理毒理学，

[3]中国東北大学機械工程 自動化学院過程装備 環境工程研究所）

（６）心筋細胞における核内 Ca^{2+}濃度制御機構と Ca^{2+}センサーNCS-1 の役割

○西谷（中村）友重[1]，中尾　周[2]，若林繁夫[3]

（[1]国立循環器病研究センター 分子生理部，[2]マンチェスター大学，[3]大阪医科大学 薬理学）

（７）心筋トロポニンＴΔK210 拡張型心筋症ノックインマウスの作製と治療薬

○森本幸生（九州大学大学院医学研究院臨床薬理学分野）

（８）心臓の発達と恒常性維持におけるアクチン重合機構の役割

○武谷　立[1]，牛島智基[2]，藤本智子[2]，神尾明君[2]，鹿毛陽子[1]，松山　翔[1]，住本英樹[2]

（[1]宮崎大学医学部薬理学，[2]九州大学大学院医学研究院生化学）

（９）死細胞の貪食と心筋梗塞

○仲矢道雄，渡　健治，松田翔一，長坂明臣，黒瀬　等

（九州大学 大学院薬学研究院 薬効安全性学分野）

（10）肺高血圧症におけるトロンビン受容体の役割

○平野勝也（香川大学医学部自律機能生理学）

（11）血管内皮 TRPM7 チャネルによる肺動脈リモデリングが肺高血圧病態形成に果たす役割

○倉原　琳[1]，平石敬三[1]，胡　耀鵬[1]，古賀佳織[2]，鬼塚美樹[2]，阿部弘太郎[3]，

佐藤 徹[4]，平野真弓[5]，　Yuwen Jian[6]，井上隆司[1]

（[1]福岡大学 医学部 生理学，[2]同病理学，[3]九州大学大学院医学研究院循環器内科，

[4]杏林大学医学部循環器内科，[5]九州大学大学院医学研究院 付属心臓血管研究施設 分子細胞情報学部，

[6]College of Letters and Science, University of California, Davis）

（12）門脈平滑筋における TMEM16A チャネルの生理機能と門脈圧亢進症での発現変化

○山村寿男，大城隼也，近藤るびい，古川奈美，鈴木良明，今泉祐治

（名古屋市立大学 大学院薬学研究科 細胞分子薬効解析学分野）

（13）創傷治癒に伴う血管新生のライブイメージングから明らかになった血管新生の新たな制御機構

弓削進弥[1,2]，國田　樹[3]，有馬勇一郎[3]，横川隆司[4]，三浦岳[5]，望月直樹[2]，西山功一[3]，○福原茂朋[1,2]

（[1]日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門，[2]国立循環器病研究センター研究所 細胞生物学部，
[3]熊本大学 国際先端医学研究機構，[4]京都大学大学院工学研究科，[5]九州大学大学院医学研究院）

（14）活性イオウによる心筋ミトコンドリア品質管理の分子機構

○西村明幸[1]，島内　司[1,2]，冨田拓郎[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

（15）ミトコンドリアの動的な形態制御とその意義

○石原直忠（久留米大学分子生命科学研究所）

（16）新規ミトコンドリアエネルギー代謝数理モデルを用いた心臓エネルギー代謝制御メカニズムの解析

○竹内綾子[1]，齋藤隆太[2]，姫野友紀子[3]，松岡　達[1]
（[1]福井大学学術研究院医学系研究部門 統合生理学，[2]田辺三菱製薬株式会社 先端医薬研究所，
[3]立命館大学生命科学部 生命情報学科）

（17）再分極予備能の定量的評価による活動電位延長の予測

○村上慎吾，冨田太一郎，三上義礼，伊藤雅方，赤羽悟美（東邦大 医 統合生理）

（18）心臓生理学教育のための電子教材の開発（e-Heart プロジェクト）

○野間昭典，姫野友紀子，天野　晃（立命館大学生命科学部生命情報学科）

（19）肺静脈心筋細胞における新規 Cl^-電流の分子生物学的研究

○岡本洋介[1]，尾野恭一[2]，石井邦明[1]
（[1]山形大学医学部 薬理学講座，[2]秋田大学大学院医学系研究科 細胞生理学講座）

（20）2 型リアノジン受容体(RyR2)変異による催不整脈疾患の多様性と Ca^{2+}遊離特性

○呉林なごみ[1]，村山　尚[1]，哲翁直之[1]，太田亮作[2]，山下富義[2]，
鈴木純二[3]，金丸和典[3]，飯野正光[3]，櫻井　隆[1]
（[1]順天堂大学大学院　細胞・分子薬理，[2]京都大学 大学院薬学研究科 薬品動態制御学分野，
[3]東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理学教室）

（21）実験およびシミュレーション結果に基づく Ca 誘発 Ca 放出モデルの開発

○姫野友紀子，天野　晃，野間昭典（立命館大学生命科学部生命情報学科）

（22）心室性不整脈トリガーとしての早期後脱分極の動的生成機序の解析

○津元国親[1]，倉田康孝[2]，倉智嘉久[1]（[1]大阪大学医学系研究科，[2]金沢医科大学医学部）

（23）心筋細胞の数理モデルによる活動機序の解析

○嶋吉隆夫（九州大学情報基盤研究開発センター）

（24）脂質平面膜法を用いた TRP チャネルの機能解析

○内田邦敏[1,2,3]，Eleonora Zakharian[2]，富永真琴[3]，山﨑　純[1]
（[1]福岡歯科大学 細胞分子生物学講座 分子機能制御学分野，
[2]Department of Cancer Biology and Pharmacology, University of Illinois College of Medicine Peoria,
[3]生理学研究所 （岡崎統合バイオサイエンスセンター） 細胞生理研究部門）

（25）2 型リアノジン受容体（RyR2）チャネルゲーティングにおける S4-S5 リンカーの役割

○村山　尚[1]，呉林なごみ[1]，小川治夫[2]，鈴木純二[3]，金丸和典[3]，飯野正光[3]，櫻井　隆[1]
（[1]順天堂大 医 薬理，[2]東大 分生研，[3]東大院 医 細胞分子薬理）

（26）ペースメーカーチャネル HCN4 の陰性変時作用における機能

○小佐々優子[1,2]，中島則行[1]，武谷三恵[1]，牛島一男[2]，鷹野　誠[1]
（[1]久留米大学医学部生理学講座統合自律部門，[2]久留米大学医学部麻酔学講座）

（27）ドキソルビシン心筋症における TRPC3-Nox2 の役割

○島内　司[1,2]，冨田拓郎[1]，西村明幸[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所 心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝）

（28）運動による虚血後の末梢循環回復効果における TRPC6 の役割

○冨田（沼賀）拓郎[1]，島内　司[2]，西村明幸[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理研） 心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

（29）プリン作動性受容体 P2Y6R の機能多様性とその病態生理学的意義

○下田　翔[1,2]，西村明幸[1]，Caroline Sunggip[1]，冨田拓郎[1]，西田基宏[1,3,4]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所） 心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学薬学部創薬科学科，[3]九州大学大学院薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室，
[4]JST さきがけ「疾患代謝」）

（30）心筋梗塞時におけるプロトン感知性 GPCR (TDAG8)の役割解析

○小野達貴[1]，長坂明臣[1]，西　俊英[1]，仲矢道雄[1]，岡島史和[2]，黒瀬　等[1]
（[1]九大院薬 薬効安全性学分野，[2]群馬大 生調研 シグナル伝達分野）

（31）FGF23 による TGF-β を介した心臓線維化促進効果

久我和寛，○草刈洋一郎，南沢　享（東京慈恵会医科大学 細胞生理学講座）

（32）小児四肢疼痛発作症モデルマウスを用いた行動学的，電気生理学的解析

○奥田裕子[1,2]，野口篤子[3]，原田浩二[2]，小林　果[2]，近藤大喜[3]，高橋　勉[3]，小泉昭夫[2]
（[1]福岡大学医学部薬理学講座，[2]京都大学医学研究科環境衛生学分野，
[3]秋田大学大学院医学研究科 小児科講座）

（33）脈絡膜血管新生における AGS8 の機能

○林　寿来[1]，Mamun Abudulla Al[1]，佐喜眞未帆[1,3]，武山正行[2]，雑喉正泰[2]，矢ヶ崎莉菜[4]，
中原　努[4]，佐藤元彦[1]
（[1]愛知医科大学 医学部 生理学講座，[2]愛知医科大学 医学部 眼科学講座，
[3]修文大学 健康栄養学部，[4]北里大学 薬学部 分子薬理学講座）

（34）肺気腫病態評価における自動計測フェレ径の有用性に関する検討

中嶋竜之介[1]，亀井竣輔[1,2]，野原寛文[1,2]，藤川春花[1,2]，丸田かすみ[1]，
川上太聖[1]，江藤結花[1]，メリーアンスイコ[1]，甲斐広文[1]，○首藤剛[1]
（[1]熊本大学大学院薬学教育部 遺伝子機能応用学分野，
[2]熊本大学博士課程教育リーディングプログラム
「グローカルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIGO」）

【参加者名】

平野勝也（香川大学），平野真弓（九州大学），石川義弘（横浜市立大学），上田梨加（滋賀医科大学），松浦博（滋賀医科大学），石原直忠（久留米大学），内田邦敏（福岡歯科大学），倉智嘉久（大阪大学），津元国親（大阪大学），鷹野　誠（久留米大学），柳（石原）圭子（久留米大学），武谷三恵（久留米大学），小佐々優子（久留米大学），堀江　稔（滋賀医科大学），呉林なごみ（順天堂大学），村山　尚（順天堂大学），南沢　享（東京慈恵会医科大学），草刈洋一郎（東京慈恵会医科大学），佐藤元彦（愛知医科大学），林　寿来（愛知医科大学），武谷　立（宮崎大学），竹内綾子（福井大学），松岡　達（福井大学），山崎大樹（国立医薬品食品衛生研究所），倉原　琳（福岡大学），亀山正樹（鹿児島大学），蓑部悦子（鹿児島大学），高　青華（鹿児島大学），

児玉昌美（東京医科歯科大学），福田　俊（東京医科歯科大学），西田基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター），冨田拓郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター），西村明幸（岡崎統合バイオサイエンスセンター），島内司（岡崎統合バイオサイエンスセンター），下田　翔（岡崎統合バイオサイエンスセンター），首藤　剛（熊本大学），喜多紗斗美（福岡大学），田頭秀章（福岡大学），永田　旭（福岡大学），野間昭典（立命館大学），姫野友紀子（立命館大学），赤羽　悟美（東邦大学），村上慎吾（東邦大学），冨田太一郎（東邦大学），三上義礼（東邦大学），福原茂朋（日本医科大学），仲矢道雄（九州大学），小野達貴（九州大学），嶋吉隆夫（九州大学），西谷(中村)友重（国立循環器病研究センター），森本幸生（九州大学），岡本洋介（山形大学），山村寿男（名古屋市立大学），伊藤章吾（久留米大学），井上和秀（九州大学），井本敬二（生理学研究所），坂本貴和子（生理学研究所），黒瀬　等（九州大学大学），中井淳一（埼玉大学），大戸茂弘（九州大学），津田　誠（九州大学），野中美希（国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所），塩谷孝夫（佐賀大学），安河内　緑（福岡大学），植田　正（九州大学），牛島智基（九州大学），萩原　柾（九州大学），寺脇　毅（九州大学），永田拓也（九州大学），伊藤峻太（九州大学）

【概要】

多様なアプローチで心臓・血管系研究に携わる研究者が集まり研究会を開催し，二日間で 70 名の参加があった。今回は多くの初参加者を迎えることができ，昨年度以上に多様で深化した研究会となった。特別講演を石川義弘教授（心臓アデニル酸シクラーゼ研究）と堀江稔教授（心臓不整脈研究）に依頼した。両氏ともこれまでの研究の流れをたどりつつ最先端の研究を紹介して頂き，特に学生及び若い研究者には刺激的な内容であった。一般講演及びポスターで，以下の項目について 32 演題の発表があり活発な討論が行われた：チャネル研究（ヒト心筋 Kv1.5 チャネル, 心筋内向き整流 K^+チャネル, Cav1.2 型 Ca^{2+}チャネル，肺静脈心筋細胞 Cl^-電流，TRP チャネル, HCN4 チャネル, 門脈平滑筋 TMEM16A チャネル），病態生理研究（心筋梗塞と死細胞貪食，肺高血圧症におけるトロンビン受容体・血管内皮 TRPM7 チャネルの役割，2 型リアノジン受容体変異による催不整脈疾患，ドキソルビシン心筋症における TRPC3-Nox2 の役割，運動虚血後の末梢循環回復における TRPC6 の役割，心筋梗塞におけるプロトン感知性 GPCR (TDAG8)の役割，FGF23 による心臓線維化促進，小児四肢疼痛発作症モデルマウス，肺気腫病態評価における自動計測フェレ径の有用性，プリン作動性受容体 P2Y6R とリモデリング），心筋核内 Ca^{2+}濃度制御機構，心筋収縮蛋白，心臓アクチン重合機構，血管新生機構（創傷治癒における血管新生，脈絡膜血管新生），ミトコンドリア機能（活性イオウによる心筋ミトコンドリア品質管理，ミトコンドリアの動的形態制御，心臓エネルギー代謝制御），数理モデル研究（再分極予備能の定量的評価，心臓生理学教育のための電子教材，Ca^{2+}誘発 Ca^{2+}放出数理モデル，早期後脱分極の動的生成機序，心筋細胞数理モデルの活動機序解析）。

（1）心機能と cAMP

○石川義弘（横浜市立大学 大学院医学研究科 循環制御医学）

心機能の最大の制御メカニズムは, 血行力学的にはフランクスターリング法則であり, 神経内分泌的には交感神経である。交感神経刺激は，心筋膜表面のベータ受容体に結合し, G タンパク質の活性化からアデニル酸シクラーゼを刺激する。産生された cAMP は，古典的なセカンドメッセンジャーとして，プロテインキナーゼ A を活性化する。心機能制御に関わる種々のタンパク質をリン酸化する事により，心臓はより強く早く拍動する。この様に，交感神経は，心機能亢進には必須であるが，一方では慢性的な亢進が心筋細胞死を起こし, 心不全を誘発する事がわかっている。実はこの事象は，臨床的な知見が先行し，基礎的なメカニズムの解明はなされていなかった。90 年代の遺伝

子操作動物を用いた研究によって，交感神経亢進が心臓に限定して起これば，初期には心機能亢進が，後期には低下が起こる事が証明された。また交感神経刺激によるダイナミックな心機能上昇には，心筋に特異的に発現するアデニル酸シクラーゼサブタイプ特有な機能が必須である事，さらにその下流酵素が大切である事がわかってきた。本講演では，基礎研究の観点から見た歴史を解説した。

（2）心臓イオンチャネル病　－この３０年の研究を通してわかってきたこと－

○堀江　稔（滋賀医科大学 呼吸循環器内科）

私の研究ベースは，心臓電気生理学であり，1980 年代に生理学研究所の入澤宏先生のラボでパッチクランプ法の ABC を教えて頂いた。当時すでに京都大学の沼研が続々とイオンチャネルのクローニングデータを発表し，その構造が明らかとなりつつある，大変エクサイティングな時代であった。入澤研では，野間先生がパッチクランプ法をいち早く持ち帰られ，哺乳類心筋の単離法を応用して，単離心筋細胞から各種イオンチャネルを電気現象として記録されていた。しかし，沼研で発見された DNA シークエンスが，直接，機能を有するチャネル蛋白の機能と結びつくことは，当時まだまだ想像の域を超えるものであった。その後，卵母細胞や培養細胞を用いてヒト DNA から，チャネル蛋白を発現させ，これにパッチクランプ法を応用，さらに DNA レベルで遺伝子組み換えを行い，種々の変異株を作成し一つの蛋白分子の構造と機能の関連を詳しく研究することが可能となった。私は，1990 年，機会があり米国ロックフェラー大学に留学し，Cystic Fibrosis の原因遺伝子である CFTR の機能解析に携わり，これがイオンチャネル病との出会いとなった。帰国後，循環器内科学教室に在籍していたが，1995 年に QT 延長症候群の原因遺伝子が初めて報告され，その後，遺伝性不整脈疾患を中心に研究を進めてきた。本講演では，３０年の心臓イオンチャネル研究の軌跡を紹介した。

（3）ヒト心筋 Kv1.5 チャネルの SKF-96365 による抑制作用の解析

○上田梨加，林　維光，松浦　博（滋賀医科大学 生理学講座 細胞機能生理学部門）

心筋 Kv1.5 チャネルはヒトにおいては主に心房筋に発現しており，このチャネルが抑制されると活動電位持続時間が延長するため，心房細動などのリエントリー性不整脈の発生や予防に有効である。本研究では，ヒト Kv1.5（hKv1.5）チャネルに対する SKF-96365 の作用を解析した。

全細胞型パッチクランプ法による解析では，SKF-96365（10 μM）がオープンチャネルブロッカーとして非常に速く（時定数 ＝3.3±1.1 ms）hKv1.5 チャネル電流を抑制し，その作用は濃度依存性（IC50 = 2.53±0.11 μM）であることがわかった。SKF-96365 の作用するアミノ酸を調べるために，部位特異的点変異導入法を用いてポア領域に存在する 13 個のアミノ酸に対して 1 残基変異体を作成した。そのうち，5 種類の変異体（T480A, I502A, V505A, V512A, V516A）において，SKF-96365（10 μM）の hKv1.5 チャネル電流に対する抑制率が WT と比べて有意に減少した（n = 6）。ドッキングシミュレーション法による解析では，SKF-96365 が hKv1.5 チャネルのポア領域の中で安定して存在できるポーズにおいて，9 種類のアミノ酸と相互作用があることが示された。

（4）心筋内向き整流 K^+チャネルの K^+透過は細胞外 K^+に依存するのか

○柳（石原）圭子，鷹野　誠（久留米大学医学部 生理学講座 統合自律機能部門）

強い内向き整流性を示す Kir2.1 チャネルは，心筋の活動電位の速い再分極を引き起こし，その静止電位を K^+の平衡電位付近に維持するはたらきを持つ。このチャネルは構造上，膜電位センサーを持たない２回膜貫通型ファミリーに属し，強い内向き整流性（外向き電流抑制）をもたらすチャネルの開閉は，有機カチオンである細胞内ポリアミンによる電位依存性ブロックによるとされている。このチャネルは細胞外に K^+が無い状態で完全に抑制され，K^+透過性は細胞外 K^+濃度のほぼ平方根に比例して増加することが知られている。また細胞外 K^+濃度が変化すると，チャネル開閉の電位依存性は K^+の電気化学ポテンシャル勾配に依存してシフトすることが知られている。これらは細胞外 K^+濃度の変動（高 K^+血症，低 K^+血症）や，心筋虚血に伴う細胞内 K^+濃度の減少によって生じる心筋機能の変化を理解する上で重要な現象であるが，そのメカニズムは十分に解明されていない。本研究会では，Kir2.1 チャネルの細胞外 K^+-free による抑制のメカニズムと細胞外 K^+に依存する K^+透過のメカニズムに関して，我々が最近得た知見を報告した。

（5）Cav1.2 型 Ca^{2+}チャネル C 末端部のチャネル活性調節機序

○高　青華[1,2]，徐　建軍[1]，呂　力婷[1,3]，蓑部悦子[1]，郝　麗英[2]，亀山正樹[1]
（[1]鹿児島大学医歯学総合研究科神経筋生理学，[2]中国医科大学薬学院薬理毒理学，
[3]中国東北大学機械工程 自動化学院過程装備 環境工程研究所）

Cav1.2 型 Ca^{2+}チャネルは神経細胞，心筋，平滑筋等に広く分布している。その主サブユニットの C 末端には Ca^{2+}チャネルの活性調節機能がある。我々は pull-down 法で C 末近位部のカルモジュリン（CaM）結合部位（CT1B）と遠位部（CT3D）が相互作用することを見いだし，両者の相互作用が CaM を介してチャネル活性を調節するという仮説を提唱した。この仮説を検証するために，patch clamp 法で CT1B と CT3D の Ca^{2+}チャネル活性に対する作用を調べた。Inside-out 法で CT1B はチャネル活性を維持するとともに，CaM+ATP 存在下で活性を増加させた。CT3D は CaM+ATP 存在下で活性を減少させた。さらに whole-cell 法で，ピペットを介して細胞内に投与した CT3D はチャネルの Ca^{2+}依存性不活性化を促進させた。これらの結果は，C 末端の近位部と遠位部の相互作用が CaM を介してチャネル活性調節に関与するという仮説を支持している。

（6）心筋細胞における核内 Ca^{2+}濃度制御機構と Ca^{2+}センサーNCS-1 の役割

○西谷（中村）友重[1]，中尾　周[2]，若林繁夫[3]
（[1]国立循環器病研究センター 分子生理部，[2]マンチェスター大学，[3]大阪医科大学 薬理学）

心臓において，細胞内 Ca^{2+}濃度は電気刺激や受容体刺激の際，大きく増減し，筋収縮や遺伝子発現に寄与している。一方，このような Ca^{2+}濃度の増減が核内でも生じることが知られているが，その制御機構や生理的役割は不明な点が多い。そこで今回，オルガネラ特異的に発現する蛍光 Ca^{2+}プローブ GECO および Fluo-4 を用いて，心筋核内 Ca^{2+}濃度を解析した。その結果，電気刺激の際は，Ca^{2+}放出チャネルであるリアノジン受容体を介して上昇した細胞質内 Ca^{2+}が核内に入ってくること，一方，受容体刺激の際は，IP_3 受容体を介して核膜内などから

Ca^{2+}が供給されることを示唆する結果が得られた。私たちは以前, 心筋 IP_3R の活性化を介して心肥大を調節する因子として Ca^{2+}センサーNCS-1 を見出した（*Circ. Res. 2011*）。そこで，NCS-1 の心筋核内 Ca^{2+}濃度調節における役割を遺伝子欠損マウス（*NCS1*$^{-/-}$）を用いて解析したところ，IGF 刺激による核内 Ca^{2+}濃度上昇が野生型に較べて *NCS1*$^{-/-}$で低いことなどから，NCS-1 が受容体刺激による核内 Ca^{2+}濃度調節し，心肥大形成などに寄与している可能性が示唆された（*PLoS ONE 2015*）。このように，核内では刺激の種類に応じたメカニズムを介して Ca^{2+}制御を行い，異なる生理機能が発揮されていることが示された。

（7）心筋トロポニンＴΔK210 拡張型心筋症ノックインマウスの作製と治療薬

○森本幸生（九州大学大学院医学研究院臨床薬理学分野）

拡張型心筋症症例の約３割は何らかの遺伝子突然変異によって引き起こされている。我々は，重篤な拡張型心筋症を引き起こす心筋トロポニンＴ遺伝子における一アミノ酸欠失突然変異 ΔK210 に注目して研究を行ってきた。この変異を患者と同じく自分自身の心筋トロポニンＴ遺伝子に導入したノックインマウスは, ヒトと同様に若年においてほぼすべてが死滅する重篤な拡張型心筋症を発生した。さらに，このマウスから作製した心筋スキンドファイバーの収縮反応の Ca^{2+}感受性が正常野生型マウスに比べて有意に低下していたことから, トロポニン複合体を介した Ca^{2+}による心筋収縮脱抑制メカニズムがこの突然変異によって傷害されていることが明らかになった。その結果, 心臓の収縮機能が低下し容量負荷が増加するため遠心性心臓リモデリングが生じるものと考えられる。臨床で使用される強心薬であるピモベンダンは, 心筋ミオフィラメントに直接作用してその Ca^{2+}感受性を上昇させることが知られている。ピモベンダンをこのノックインマウスに反復投与したところ, 遠心性心臓リモデリングを強力に抑制するとともに突然死と心不全死の発生をほぼ完全に抑えた。以上の結果は，何らかの遺伝子変異によって心臓収縮機能の低下が内因性にもたらされている拡張型心筋症に対して, ピモベンダンのような心筋ミオフィラメント Ca^{2+}感受性増強薬は極めて有用である可能性を示している。

（8）心臓の発達と恒常性維持におけるアクチン重合機構の役割

○武谷　立[1]，牛島智基[2]，藤本智子[2]，神尾明君[2]，鹿毛陽子[1]，松山　翔[1]，住本英樹[2]
（[1]宮崎大学医学部薬理学，[2]九州大学大学院医学研究院生化学）

心臓は胎生期に拍動を開始して以降，負荷に応じて収縮力を的確に調節することでポンプ機能を保つ。この応答機構の破綻は，様々な心疾患の共通原因となりうるにも関わらず，その分子機構には依然不明な点が多い。我々は，心筋収縮の最小単位である“サルコメア”の主要な構成蛋白質アクチンの重合制御因子 Fhod3 に注目し，Fhod3 が心発達と心機能の維持に果たす役割について検討している。これまでに，Fhod3 ホモ欠損マウスがサルコメアの成熟不全による心発生異常によって胎生致死となること，また Fhod3 がヒト拡張型心筋症の原因遺伝子となりうること等を明らかにしてきた。今回，心発生が完了した出生期，ならびに成獣期に時期特異的に Fhod3 を欠損するマウスをそれぞれ作出したところ，前者は著明な心肥大とサルコメア構造の破綻を伴って死亡した。一方で後者は致死とならずサルコメア構造の破綻も見られなかったが, α1 アドレナリン受容体刺激に対してより高度の心肥大と心機能の低下を認めた。以上より Fhod3 は，心臓への負荷増大に対する応答過程でのサルコメア構築を通じて，心機能の維持に重要な役割を果す可能性が示唆された。

（9）死細胞の貪食と心筋梗塞

○仲矢道雄，渡　健治，松田翔一，長坂明臣，黒瀬　等
（九州大学 大学院薬学研究院 薬効安全性学分野）

心筋梗塞を含めた虚血性心疾患は，欧米では死因の第一位，わが国でも第二位を占めている。従って，心筋梗塞に対する画期的，効果的な治療法の確立が早急に望まれている。心筋梗塞時には，梗塞領域周辺において多くの壊死細胞が生じる。これら死細胞はマクロファージなどの貪食細胞によって速やかに貪食される。しかしながら，心筋梗塞時における死細胞貪食の分子メカニズムは，これまでほとんどわかっていなかった。そこで我々は，心筋梗塞モデル処置（左冠状動脈前下後枝の結紮）により，心臓において発現が増加する貪食関連分子を調べた。その結果，Milk fat globule EGF factor-8（MFG-E8）の発現量が処置後に顕著に上昇する事を見出した。MFG-E8 とは，アポトーシスを起こした細胞表面上に露出される phosphatidylserine と貪食細胞表面上の integrin αvβ3 との橋渡しをして，貪食を促進する分子である。我々は，MFG-E8 およびその産生細胞が心筋梗塞時における死細胞の貪食，さらには心筋梗塞後の心臓病態にどのように関与するのかについて研究を行った。

（10）肺高血圧症におけるトロンビン受容体の役割

○平野勝也（香川大学医学部自律機能生理学）

トロンビンは，主にプロテイナーゼ活性化型受容体 1（PAR_1）を介して血管内皮および平滑筋作用を発揮する。体循環系正常動脈では内皮作用が主体であるに対し，肺動脈では収縮などの平滑筋作用が発揮される。肺高血圧症は肺血管抵抗の進行性上昇を特徴とし，肺血管抵抗の上昇には，血管収縮，血管リモデリング，血栓形成が重要な役割を果たす。本研究では，PAR_1 拮抗薬および PAR_1 欠損マウスを用いて，PAR_1 が肺高血圧症の病態に重要な役割を果たすことを検証した。ラット肺動脈における PAR_1 発現は体循環系動脈よりも有意に高く，また，その発現はモノクロタリン誘発肺高血圧ラットにおいて亢進した。摘出肺灌流実験で観察される PAR_1 活性化ペプチドの肺動脈圧昇圧作用は，肺高血圧ラットにおいて増強した。肺高血圧ラットに PAR_1 拮抗薬 Atopaxar（エーザイ株式会社）を経口投与すると，右室収縮期圧の上昇，肺血管抵抗の上昇，右室肥大，肺動脈中膜肥厚病変形成が抑制され，生存率が改善した。低酸素飼育により PAR_1 遺伝子欠損マウスに肺高血圧を誘導すると，野生型マウスの場合と比較して，右室収縮期圧の上昇，右室肥大，肺動脈の筋性化が抑制された。以上の結果から PAR_1 が肺高血圧の病態形成に重要な役割を果たすことが示された。PAR_1 は新たな肺高血圧治療標的分子として期待される。

（11）血管内皮 TRPM7 チャネルによる肺動脈リモデリングが肺高血圧病態形成に果たす役割

○倉原　琳[1]，平石敬三[1]，胡　耀鵬[1]，古賀佳織[2]，鬼塚美樹[2]，
阿部弘太郎[3]，佐藤　徹[4]，平野真弓[5]，Yuwen Jian[6]，井上隆司[1]
（[1]福岡大学 医学部 生理学，[2]同病理学，
[3]九州大学大学院医学研究院循環器内科，
[4]杏林大学医学部循環器内科，
[5]九州大学大学院医学研究院 付属心臓血管研究施設 分子細胞情報学部，
[6]College of Letters and Science, University of California, Davis）

「背景・目的」: 肺動脈性肺高血圧症（PAH）の重症・難治例では叢状病変の形成や著明な内膜・中膜の肥厚に特徴づけられる高度な肺血管リモデリングが生じている。本研究では，PAH 時の血管リモデリングにおける TRPM7 の潜在的重要性やその薬物治療分子標的としての可能性について，in vitro 及び in vivo で検討した。

「結果」: TRPM7 アンタゴニスト FTY-720 （1 μM）や冬虫夏草エタノール抽出成分の投与，あるいは TRPM7 siRNA 処置によって TRPM7 チャネルの発現や機能を抑制すると, TGF-β 刺激による内皮細胞ストレスファイバーの形成や EndoMT マーカーの変化が抑制された。また PAH モデルラットに冬虫夏草を 10 日間投与することにより, PAH に伴う右心室内圧の上昇, 肺動脈肥厚, 右心室肥大, 右室拡張や心筋線維化の抑制効果が認められた。ヒト PAH 組織の中膜肥厚・内膜肥厚・新生内膜・叢状病変部位において αSMA と共在する TRPM7 の発現が強く観察された。

「考察」: 以上の結果は, 血管内皮細胞に発現する TRPM7 チャネルが，PAH 時の肺血管リモデリングに強く関与していることを示唆している。

（12）門脈平滑筋における TMEM16A チャネルの生理機能と門脈圧亢進症での発現変化

○山村寿男，大城隼也，近藤るびい，古川奈美，鈴木良明，今泉祐治
（名古屋市立大学 大学院薬学研究科 細胞分子薬効解析学分野）

血管平滑筋に発現する Ca^{2+}活性化 Cl^-（Cl_{Ca}）チャネルの活性化は，静止膜電位を脱分極側へシフトさせるため，血管筋緊張の増大をもたらす。近年，血管平滑筋に発現する Cl_{Ca} チャネル分子として TMEM16A が同定された。本研究では, 門脈平滑筋に発現する TMEM16A チャネルの生理機能と病態での発現変化を解析した。マウス門脈平滑筋細胞において，TMEM16A 選択的阻害薬である $T16A_{inh}$-01 に感受性を有する電流が記録された。また，TIRF 顕微鏡を用いた FRET 解析によって, TMEM16A は二量体で機能的 Cl_{Ca} チャネルを形成していることが示唆された。次に，循環器疾患における TMEM16A の発現変化を検索した。胆汁鬱滞性の肝硬変に併発して門脈圧亢進症を発症させる BDL マウスの門脈平滑筋細胞において，TMEM16A の発現量および電流量が減少していた。BDL マウス門脈平滑筋の自発収縮における $T16A_{inh}$-A01 感受性も小さかった。最後に，門脈平滑筋をアンジオテンシンⅡ存在下で組織培養した結果，TMEM16A の発現低下が観察された。BDL 群における TMEM16A の発現低下は，門脈圧上昇に対する代償機構として，門脈平滑筋を抑制的に制御していることが推測される。本研究で得られた知見は，TMEM16A チャネルの血管生理機能や門脈圧亢進症における病態形成機構の解明につながると考えられる。

（13）創傷治癒に伴う血管新生のライブイメージングから明らかになった血管新生の新たな制御機構

弓削進弥[1,2]，國田　樹[3]，有馬勇一郎[3]，横川隆司[4]，三浦　岳[5]，望月直樹[2]，西山功一[3]，○福原茂朋[1,2]
（[1]日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門，[2]国立循環器病研究センター研究所 細胞生物学部，
[3]熊本大学　国際先端医学研究機構，[4]京都大学大学院工学研究科，[5]九州大学大学院医学研究院）

成体では，創傷などによって組織が虚血状態に陥ると血管新生が誘導される。今回我々は，これまで技術的に困難であったゼブラフィッシュ成魚の長時間ライブイメージング法を確立し，皮膚の創傷治癒に伴う血管新生について解析を行った。

創傷治癒における血管新生では，既存血管からの血管枝の出芽よりも，損傷血管の伸長が主に誘導された。またその際，血流に対して上流側の血管枝は伸長せず，下流側の血管の内皮細胞が活発に遊走・増殖し，損傷血管を再生することが分かった。心臓のポンプ機能によって，損傷血管の上流では内腔圧が高く，下流では低いと考えられる。そこで，「血管の内腔圧が血管新生における血管枝の伸長を制御している」という仮説を立て検証を行った。微小流体デバイスを用いて3次元環境下で血管新生を誘導し，伸長した血管枝の内腔に圧を負荷したところ，内皮細胞は互いの接着を強め，管腔構造を形成し，それにより血管枝の伸長が抑制された。さらに，皮膚血管に傷害を加え，その後，血流に対して上流側の血管枝のさらに上流を切断し内腔圧を除去したところ，上流側の血管枝の伸長が誘導された。以上の結果から，血管の内腔圧は，内皮細胞間接着の増強と管腔形成を誘導することで，血管枝の伸長を負に制御していることが示された。

本研究で確立した成魚長時間ライブイメージング法により，血管新生におけるメカノトランスダクションの新たな役割を明らかにした。

（14）活性イオウによる心筋ミトコンドリア品質管理の分子機構

○西村明幸[1]，島内　司[1,2]，冨田拓郎[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

心臓は絶え間ないポンプ機能を維持するために大量のエネルギーを必要としており，エネルギー産生をつかさどるミトコンドリアの品質管理が非常に重要な役割を担っておる。Dynamin-related protein 1（Drp1）はミトコンドリア分裂に関与する GTP 結合タンパク質であり，様々な刺激により活性化されることが知られている。私たちは，心筋梗塞処置マウスの梗塞周辺領域において，低酸素シグナルの誘導に伴って Drp1 が活性化され，心筋細胞でのミトコンドリア過剰分裂と早期老化が誘導されることを見出した。Drp1 は，神経障害を起こさない低濃度のメチル水銀（MeHg）暴露によっても活性化され，ミトコンドリアの過剰分裂が心臓の圧負荷に対する抵抗性を低下させる原因になる可能性が示された。Drp1 は C 末側のシステイン（Cys^{624}）が活性イオウによりポリイオウ化（$-S_n$-SH）されることで GTPase 活性を負に調節しており，MeHg は Drp1 Cys624 のイオウを奪い取ることで Drp1 を活性化する可能性が示唆された。NaHS 処置は，MeHg 暴露による Drp1 の脱イオウ化を抑制し，これに伴ってミトコンドリアの過剰分裂や心機能低下を有意に抑制した。以上の結果は，Drp1 がポリイオウ化を介して心筋ミトコンドリアの品質管理を制御し，様々な外的ストレスを逸早く感知するセンサーとして働くことを示唆している。

（15）ミトコンドリアの動的な形態制御とその意義

○石原直忠（久留米大学分子生命科学研究所）

ミトコンドリアは酸素呼吸によるエネルギー生産のみならず，様々な物質の代謝や細胞死等の細胞機能制御など多彩な機能を持っている。ミトコンドリアは生細胞観察を行うと，細胞内で動き頻繁に融合と分裂を繰り返す様子を観察できる。これまでの研究から，ミトコンドリアの２重膜の融合と分裂の制御に GTPase タンパク質群（外膜融合：Mfn1, Mfn2, 内膜融合：OPA1, 分裂：Drp1）が機能することが明らかになっている。しかし，それらの制御の分子機構に関して不明な点が多く残されている。我々は培養細胞を用いた生細胞観察を進めることで，ミトコンドリアの動的特性の分子機構詳細とその意義の解析を進めた。また Drp1 の遺伝子を条件特異的に欠損したマウスを構築し，神経や心筋など様々な組織におけるミトコンドリア形態変化の意義の解析を進めた。ミトコンドリアのダイナミックな形態変化の分子理解を基にして，個体レベルでの機能解析が進みつつあり，今後これらの知見の幅広い応用が期待される。

（16）新規ミトコンドリアエネルギー代謝数理モデルを用いた心臓エネルギー代謝制御メカニズムの解析

○竹内綾子[1]，齋藤隆太[2]，姫野友紀子[3]，松岡　達[1]
（[1]福井大学学術研究院医学系研究部門 統合生理学，[2]田辺三菱製薬株式会社 先端医薬研究所，
[3]立命館大学生命科学部 生命情報学科）

心臓のエネルギー代謝産物（ATP，ADP，NADH など）は，仕事量が増大してもほぼ一定に保持される。すなわち，心臓はエネルギーの消費に見合うように供給を制御する仕組みをもつ。そのメカニズムのひとつとして Ca^{2+}による脱水素酵素や基質輸送体の制御が示唆されるが，未だコンセンサスは得られていない。本研究では，心臓仕事量増大時におけるエネルギー代謝産物安定性のメカニズムについて，新たに構築したミトコンドリアエネルギー代謝数理モデルを用いて解析を行った。

新たに構築したミトコンドリアエネルギー代謝モデルは，単離ミトコンドリアを用いた Ca^{2+} や無機リン酸依存性などの種々の実験データを再現できた。本モデルを簡易心筋細胞モデルと統合し，心臓仕事量とエネルギー代謝産物の関係について解析を行った。その結果，単離ミトコンドリア実験で汎用される基質条件（malate/glutamate）では，Ca^{2+}による制御が代謝産物の安定性に重要な役割を果たす一方，生理的な基質組成（malate/ glutamate/pyruvate/citrate/2-oxoglutarate/aspartate）では，Ca^{2+} による代謝産物の安定化が消失した。従って，Ca^{2+}による代謝制御の寄与は基質組成に依存することが示唆され，生理的条件下では，その寄与は小さいと考えられた。

（17）再分極予備能の定量的評価による活動電位延長の予測

○村上慎吾，冨田太一郎，三上義礼，伊藤雅方，赤羽悟美（東邦大 医 統合生理）

薬物誘発性不整脈の機序は，これまで遅延整流性カリウム電流（I_{Kr}）の薬物阻害による活動電位延長によって説明されてきた。しかし，近年，I_{Kr} 阻害と薬物誘発性不整脈発生リスクの関連性は当初の想定ほど高くはないことが指摘されており，より正確な薬物誘発性不整脈発生の予測には，I_{Kr} 阻害に加え新たな因子を含める必要があると考えられている。我々は，I_{Kr} 阻害が状況により異なる活動電位延長効果をもたらす理由を説明し，薬物誘

発性不整脈発生リスクの予測に役立てることを目的として，repolarization reserve（再分極予備能）に着目して定量的な評価法の確立を試みた。再分極予備能とは，I_{Kr}が阻害された条件下では，他のイオンチャネル電流が代償的に再分極に貢献するという概念である。再分極予備能は，I_{Kr}が阻害されても活動電位の延長が限定的である時に，その現象の説明に抽象的に使われてきたが，定量的に捉えられて来なかった。そこで我々は，この再分極予備能を定量的な評価に応用可能な指標として発展させた。O'Hara Rudy らによるヒト心室筋細胞モデルに活動電位固定法を適用し活動電位幅を延長し，再分極予備能を担う膜電流を計算した。この再分極予備能を担う膜電流の IV 関係を定量的に評価することにより，活動電位幅の変化は定量化された再分極予備能の特性により説明・予測できることを示した。

（18）心臓生理学教育のための電子教材の開発（e-Heart プロジェクト）

○野間昭典，姫野友紀子，天野　晃（立命館大学生命科学部生命情報学科）

生理学者は実験を通じて，細胞が内部環境の恒常性を維持するための様々な機能について研究し，その巧妙さにより関心を深めてきた。その細胞機能の面白さを学生に伝え，生体機能についての洞察力を養うために，我々は電子教材を開発している。実験をウェットではなくドライで行うため，教材は主にシミュレーターとその解説から成る。シミュレーターは細胞機能毎に準備されている（イオンチャネル，膜興奮，興奮－収縮連関，細胞容積調節，筋収縮，ATP 消費と合成，心筋細胞モデル，不整脈，ラプラス心，毛細血管，など）。特に細胞生理学に焦点を絞って内容を充実させてきた。教材は e-Heart のホームページからダウンロードされたい（ http://www.eheartsim.com/ ）。

（19）肺静脈心筋細胞における新規 Cl^- 電流の分子生物学的研究

○岡本洋介[1]，尾野恭一[2]，石井邦明[1]
（[1]山形大学医学部 薬理学講座，[2]秋田大学大学院医学系研究科 細胞生理学講座）

最も頻度の高い不整脈である心房細動は，肺静脈に存在する心筋細胞が異所性に興奮し発生する。近年，我々は，ラットの肺静脈心筋細胞を用いて，異所性興奮のメカニズムを研究する過程で，過分極で活性化される Cl^- 電流を新規に発見した。既に，過分極活性型の Cl^- チャネルとしては，Clcn2 遺伝子がコードする，ClC-2 チャネルが知られている。肺静脈で観察された Cl^- 電流のキネティックスは，ClC-2 電流と類似していた。しかし，ClC-2 電流は低浸透圧で電流振幅が増大し，細胞内 Cl^- 濃度を増大させると電位依存性が脱分極側にシフトするのに対し，肺静脈で観察された Cl^- 電流は低浸透圧で電流が小さくなり，細胞内 Cl^- 濃度の増大によって電位依存性は過分極側にシフトした。我々は，先ず，新規 Cl^- 電流の分子実体として，Clcn2 のスプライスバリアントを想定し，RT-PCR 法によりラット肺静脈から Cl^- チャネルをクローニングした。その結果，肺静脈では Clcn2 の全長 mRNA だけが発現しており，スプライスバリアントは確認できなかった。細胞免疫染色の結果，肺静脈心筋細胞膜における Clcn2 蛋白の発現が確認された。以上のことから，ClC-2 電流とは物理化学的な応答が異なっているものの，新規 Cl^- 電流の主要分子は Clcn2 であると考えられた。このため，Clcn2 由来のチャネルを制御する未知の調節因子の存在が示唆された。

（20）2 型リアノジン受容体(RyR2)変異による催不整脈疾患の多様性と Ca^{2+}遊離特性

○呉林なごみ [1]，村山　尚 [1]，哲翁直之 [1]，太田亮作 [2]，山下富義 [2]，鈴木純二 [3]，金丸和典 [3]，
飯野正光 [3]，櫻井　隆 [1]
（[1] 順天堂大学大学院 細胞・分子薬理，[2] 京都大学 大学院薬学研究科 薬品動態制御学分野，
[3] 東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理学教室）

2 型リアノジン受容体（RyR2）は心筋の興奮収縮連関において中心的な役割を果たす小胞体 Ca^{2+} 遊離チャネルである。RyR2 のアミノ酸変異によりカテコラミン誘発性多型性心室頻拍（CPVT），特発性心室頻拍（IVF），不整脈原性右室心筋症（ARVC），QT 延長症候群（LQTS）といった多様な不整脈疾患が起こることが知られる。これらの疾患変異体は心筋細胞で異常な自発的 Ca^{2+} 遊離を起こして不整脈を惹起すると想定されるが，なぜ様々な不整脈が起こるのかは不明である。我々は野生型および疾患変異 RyR2 を HEK293 細胞に発現させ，Ca^{2+} 遊離の性質を，細胞質および小胞体の Ca^{2+} イメージングと [^{3}H]リアノジン結合による Ca^{2+} 依存性 Ca^{2+} 遊離活性の測定により調べた。CPVT 変異は共通して gain-of-function タイプの活性を示し，静止 Ca^{2+} 濃度における CICR 活性を促進，Ca^{2+} オシレーション頻度を増加，自発的 Ca^{2+} 遊離時の小胞体の見かけの閾値レベルを低下させた。一方 IVF および LQTS 変異は，Ca^{2+} 遊離活性を促進する gain-of-function タイプと，著しく抑制する loss-of-function タイプの 2 種類に分けられた。この性質は心筋由来細胞である HL-1 細胞を用いた実験でも確認された。変異体の発現解析は疾患の原因同定と治療に重要であることが分かった。

（21）実験およびシミュレーション結果に基づく Ca 誘発 Ca 放出モデルの開発

○姫野友紀子，天野　晃，野間昭典（立命館大学生命科学部生命情報学科）

クプロンはL型Caチャネルと向かい合って存在する複数のリアノジン受容体チャネルから成る機能的な基本単位であり，心筋の筋小胞体からの Ca 誘発 Ca 放出(CICR)を引き起こすのに重要な役割を果たす。我々は近年，局所 Ca 濃度によってクプロンの活性が制御される CICR モデルを構築した(Himeno *et al*., *Biophys J*, 2015)。クプロンの活性は単一リアノジン受容体チャネルやクプロンの実験やシミュレーション結果から得られたデータに基づき，モデル化された。クプロンが感受する局所 Ca 濃度は，Hinch らによって開発されたアルゴリズム(Hinch *et al*., *Biophys J*, 2004)を用い，瞬時平衡の式で計算する。本手法では，確率論的シミュレーションを行う場合と比較して非常に効率よく計算ができ，計算コストを大幅に下げることに成功した。今回構築した我々の CICR モデルは，単一チャネルレベルでのリアノジン受容体チャネルの開閉に加え，クプロンレベルでの開閉，また包括的心筋細胞を用いた全細胞レベルでのCICRやCaスパークも再現できたので報告する。

（22）心室性不整脈トリガーとしての早期後脱分極の動的生成機序の解析

○津元国親 [1]，倉田康孝 [2]，倉智嘉久 [1]
（[1] 大阪大学医学系研究科，[2] 金沢医科大学医学部）

心筋細胞の活動電位第 2〜3 相において，一過性の脱分極を伴う早期後脱分極(EAD)は，心室性不整脈のトリガーになると考えられている。EAD の発生は，心筋活動電位の持続時間(APD)の延長(再分極遅延)が，活動電位応答を

不安定化する結果として引き起されると考えられているが, 如何なる動的機序によって発生するのかは未だ議論の残るところである。本研究では, 活動電位の動的安定性を調べることで, 心室筋細胞に発生する EAD の生成機序を検討した。解析の結果, コントロール条件下での正常な活動電位の APD は, 急速活性型遅延整流性カリウムチャネル電流(I_{Kr})の減少により延長した。一方で, この再分極遅延を伴う活動電位応答は, 不安定な応答と対消失を引き起した。そして活動電位の消失の後, EAD を伴う異常興奮応答が顕在化した。更に, 細胞内 Na^+, Ca^{2+}濃度といった初期条件に応じて, 通常の活動電位応答もしくは EAD を伴う異常興奮応答へと至る双安定状態を示す I_{Kr} 電流強度が存在することを示した。本解析の結果は, APD が異常に延長した活動電位が連続的に EAD へ変化するという従来の予想とは異なる可能性を示唆している。

（23）心筋細胞の数理モデルによる活動機序の解析

○嶋吉隆夫（九州大学情報基盤研究開発センター）

近年, 実験データに基づく詳細なヒト心筋細胞の数理モデルがいくつか提案されており, 細胞モデルの数値解析・数理解析により生理機能の仕組みを調べる研究が進められている。著者らはこれまでに, 細胞モデルを対象とした新たな数値解析法として, 動態分析法[Shimayoshi 2015]を開発している。この手法は, モデルの動的な挙動に対する各時刻における各要素の定量的な寄与度を, 数学的に算出するものである。本発表では, ヒト心筋細胞モデルである ORd モデル[Grandi 2011]と HuVEC モデル[Himeno 2015]を対象に, 動態分析法を用いて膜電位再分極およびカルシウム動態のメカニズムについて解析した結果を報告した。再分極の解析結果は, 良く知られている機序と定性的に一致し, さらに各電流の各ゲートによる影響を定量的に示した。カルシウム動態の解析結果では, 筋小胞体からのカルシウム放出が終了する機序がモデル間で大きく異なることが示された。

（24）脂質平面膜法を用いた TRP チャネルの機能解析

○内田邦敏[1,2,3], Eleonora Zakharian[2], 富永真琴[3], 山﨑　純[1]
([1]福岡歯科大学 細胞分子生物学講座 分子機能制御学分野,
[2]Department of Cancer Biology and Pharmacology, University of Illinois College of Medicine Peoria,
[3]生理学研究所 （岡崎統合バイオサイエンスセンター） 細胞生理研究部門）

人工再構成系の一つである脂質平面膜法は, 生体膜の代わりに人工的に形成した脂質二重膜にイオンチャネルタンパク質を埋め込み, その機能を電気生理学的に解析する手法である。この方法の大きな特徴は, 1）単純な実験系であること, 2）培養細胞等を用いた検討では困難な膜脂質も自由にコントロール可能であることが挙げられる。

私は細胞膜脂質と膜タンパク質であるイオンチャネルとの相互作用に着目し, 近年神経系を含む様々な組織でその生理的役割が明らかになりつつある TRP チャネルを対象に研究を行っている。特に, 温度や機械刺激などの物理的刺激によって活性化される TRP チャネルがこれら刺激によって開口するメカニズムを明らかにすることを研究目的としている。

今回, 神経ステロイドや電位作動性カルシウムチャネル阻害剤の nifedipine で活性化されるチャネルで 2013 年にその温度依存的な活性化が報告された TRPM3 チャネルを脂質平面膜法を用いて解析した。その結果, TRPM3 は nifedipine で活性化されるが神経ステロイドでは活性化されなかった。また, 温度によっても活性化はみられなかった。次に, 細胞内カルシウムによって活性化される TRPM5 チャネルについても同様の解析を行った結果, TRPM5 は温度依存的な活性化が人工再構成系でも認められた。

（25）2 型リアノジン受容体（RyR2）チャネルゲーティングにおける S4-S5 リンカーの役割

○村山　尚[1]，呉林なごみ[1]，小川治夫[2]，鈴木純二[3]，金丸和典[3]，飯野正光[3]，櫻井　隆[1]
（[1]順天堂大 医 薬理，[2]東大 分生研，[3]東大院 医 細胞分子薬理）

【目的】2 型リアノジン受容体（RyR2）は心筋筋小胞体（SR）の Ca^{2+}遊離チャネルであり，心筋の興奮収縮連関に中心的な役割を果たしている。RyR2 は C 末端の約 500 アミノ酸が 6 回膜貫通型の P 型チャネルを形成している。S4-S5 リンカーは膜貫通セグメント S4 と S5 を繋ぐ配列で，細胞質側で SR 膜に平行な α ヘリックス構造を形成している。RyR2 の S4-S5 リンカーのアミノ酸変異は催不整脈性疾患を引き起こすことからチャネル制御に重要であると考えられるが，その詳細は不明である。本研究では，S4-S5 リンカーに変異を導入した RyR2 の機能解析を行い，その結果を構造モデルで説明することで S4-S5 リンカーのチャネルゲーティングにおける役割を検討した。【方法】マウス RyR2 の S4-S5 リンカーの各アミノ酸をアラニン置換した変異体を HEK 細胞に安定発現した。チャネル活性は細胞質／小胞体内腔 Ca^{2+}測定および[^{3}H]リアノジン結合法で評価した。RyR2 の構造モデルはクライオ電子顕微鏡法による RyR1 の近原子分解能構造を元に構築した。【結果･考察】アラニン置換はアミノ酸特異的にチャネル活性を促進または抑制した。その効果は S4-S5 リンカーが膜貫通セグメントおよび SR 膜と相互作用することでうまく説明できた。以上の結果は，S4-S5 リンカーが複数の相互作用を介してチャネルを制御していることを示唆している。

（26）ペースメーカーチャネル HCN4 の陰性変時作用における機能

○小佐々優子[1,2]，中島則行[1]，武谷三恵[1]，牛島一男[2]，鷹野　誠[1]
（[1]久留米大学医学部生理学講座統合自律部門，[2]久留米大学医学部麻酔学講座）

洞房結節 (sino-atrial node : SAN) の自律神経応答には，細胞膜上のイオンチャネルや細胞内 Ca^{2+} 調節蛋白質が関与するが，その中でも過分極誘発陽イオンチャネル HCN4 の役割については議論が多い。我々は HCN4 を生理的発現部位において過剰発現する遺伝子改変マウス (OEx) と，ドキシサイクリン投与により可逆的かつ完全に HCN4 発現を抑制できるマウス (KD) とを作成した。これらのマウス心臓の HCN4 発現量と，単離 SAN 細胞の HCN 電流を比較し，有意に増減していることを確認した後，個体から単一細胞レベルにおいて，SAN の生理学的機能変化を解析した。まずテレメトリー心電図で記録した心拍数ヒストグラムを比較したところ，そのピークが OEx では頻脈側に, KD では徐脈側に偏移していた。また非活動期には KD では 100～200 bpm の重篤な徐脈を呈した。次に麻酔下に頚部迷走神経を直接電気刺激して心電図を記録した。迷走神経刺激中，KD は完全に洞停止したが，OEx の心拍数は WT と差を認めなかった。さらに単離 SAN 細胞における自発活動電位を比較したところ，KD では ACh による発火頻度の低下，拡張期脱分極速度の低下が有意に認められた。これらの結果より HCN4 は副交感神経系による SAN の過度の徐脈応答を防ぎ，安定した自動能を維持するリミッターして働く事が示唆された。

（27）ドキソルビシン心筋症における TRPC3-Nox2 の役割

○島内　司[1,2]，冨田拓郎[1]，西村明幸[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所 心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝）

ドキソルビシン（DOX）は悪性腫瘍に効果的な治療薬であるが，重篤な副作用として心毒性を示す。DOX 心筋症の発症に活性酸素種 (ROS)が重要な役割を果たすことが知られている。我々は最近，TRPC3 チャネルが ROS 生成酵素（Nox2）と機能共役することを見出した。そこで本研究では，TRPC3-Nox2 機能連関が DOX 心筋症の進展に関与するかどうかマウスを用いて検討した。DOX 投与心臓では TRPC3 と Nox2 の発現量が著しく増加しており，Nox2 発現増加に伴った著しい心重量低下が観察された。DOX 投与心臓では，低酸素誘導因子の発現量が顕著に増加していた。ラット新生児心筋細胞に低酸素刺激を行ったところ，Nox2 の発現上昇および ROS 産生が惹起され，これらは TRPC3 阻害剤 Pyrazole-3 により完全に抑制された。TRPC3 欠損マウスに DOX 投与したところ，DOX 投与した野生型マウスで観察された心機能低下や心重量低下が有意に抑制されていた。以上の結果は，TRPC3-Nox2 機能連関が DOX 心筋症を発症する重要仲介因子となること，および TRPC3 が DOX 副作用軽減の新規標的分子となることが強く示唆された。

（28）運動による虚血後の末梢循環回復効果における TRPC6 の役割

○冨田（沼賀）拓郎[1]，島内　司[2]，西村明幸[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理研） 心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

末梢循環障害は下肢血流の低下に伴う機能不全により生命予後を悪化させる要因として注目されている。その最も効果的な治療法が運動療法である。しかしながら，運動の持つ虚血後の末梢循環回復効果を担う分子機構は未だ明らかにされていない。そこで我々は，下肢虚血モデルマウスに対して術前・術後に運動負荷を与え，その血流回復に対する効果を検討した。その結果，運動処置マウスでは，血管新生ではなく血管の成熟が有意に促進し，これにより末梢血流障害が改善された。この現象は非選択的カチオンチャネルである TRPC6 の欠損マウスに下肢虚血モデルを適用した際に観察された結果と同様であった。骨格筋に由来する血管成熟促進因子の mRNA 発現を解析した結果，スフィンゴシン-1-リン酸の合成酵素である Sphk1 の発現が，運動負荷マウスおよび TRPC6 欠損マウスに共通して上昇していた。さらに，運動処置は TRPC6 タンパクのリン酸化レベルを増大することで TRPC6 チャネル活性を抑制すること，および TRPC6 リン酸化欠損変異体を血管平滑筋細胞特異的に発現させたマウスでは運動による血流改善効果が完全に消失することを明らかにした。以上の結果は，運動による虚血後の血流改善効果に TRPC6 の抑制が関与することを強く示唆しており，TRPC6 を標的とした運動を模倣した創薬の可能性が考えられた。

（29）プリン作動性受容体 P2Y6R の機能多様性とその病態生理学的意義

○下田　翔 [1,2]，西村明幸 [1]，Caroline Sunggip[1]，冨田拓郎 [1]，西田基宏 [1,3,4]
（[1] 岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門，
[2] 九州大学薬学部創薬科学科，[3] 九州大学大学院薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室，
[4] JST さきがけ「疾患代謝」）

P2Y6 受容体（P2Y6R）は細胞外ヌクレオチドをリガンドとする G 蛋白質共役型受容体（GPCR）である。今回，我々は P2Y6R 欠損マウスを用いて，心血管リモデリングにおける P2Y6R の役割について解析を行った。

昇圧ペプチドであるアンジオテンシン II (Ang II) は，血管恒常性の維持に重要な役割を担うが，高血圧を誘導するという負の一面も有している。P2Y6R 欠損マウスでは野生型マウスで観察される Ang II 誘発性の血圧上昇や血管中膜の肥厚が有意に抑制された。P2Y6R は細胞膜上で AT1R と複合体を形成し，この複合体形成は P2Y6R 阻害剤処置により抑制された。マウス血管平滑筋細胞において，P2Y6R は発生に伴い発現上昇すること，そして加齢に伴い AT1R-P2Y6R 複合体数が増加することで Ang II 刺激に対する細胞応答が β アレスチン依存的な増殖から G 蛋白質依存的な肥大に変化することが明らかとなった。

一方，P2Y6R 欠損マウスの心機能は圧負荷により著しく低下した。また，P2Y6R は機械的負荷によりリガンド非依存的に活性化されることを明らかにした。以上の結果は，P2Y6 受容体が，従来のヌクレオチドリガンドに依存したシグナル伝達ではなく，細胞膜タンパク質間相互作用（ヘテロ二量体化や機械受容応答）を介して心血管リモデリングに寄与することを示唆している。

（30）心筋梗塞時におけるプロトン感知性 GPCR (TDAG8) の役割解析

○小野達貴 [1]，長坂明臣 [1]，西　俊英 [1]，仲矢道雄 [1]，岡島史和 [2]，黒瀬　等 [1]
（[1] 九大院薬 薬効安全性学分野，[2] 群馬大 生調研 シグナル伝達分野）

心筋梗塞は，動脈硬化や血栓により冠動脈が閉塞し，虚血によって心筋細胞が壊死する虚血性心疾患の 1 つである。虚血部位では pH の低下が生じることが知られているが，この pH の低下が心筋梗塞後の心臓にどのような生理的影響を及ぼすかは解明されていない。そこで私は，pH の低下により活性化するプロトン感知性 GPCR の 1 つである TDAG8 に着目し解析を行い，pH 低下の生理的意義を見出すことを目的とした。

まず，私は TDAG8 欠損型マウスにおける心筋梗塞処置後の生存率と心機能が，野性型マウスと比べて有意に低下することから，TDAG8 が心保護的に働くことを見出した。次に，私は TDAG8 の心保護メカニズムを解明するため，野生型マウスと TDAG8 欠損型マウスの心筋梗塞後の病態比較を詳細に行った。その結果，TDAG8 欠損型マウス虚血部位では，細胞死と線維化が有意に亢進し，その原因分子と考えられる IL-17A の発現量とその産生細胞である γδT 細胞の浸潤量が顕著に増加していることを見出した。さらに，γδT 細胞の浸潤を促進する CCL20 の発現量も有意に増加していることが分かった。以上の結果より，TDAG8 は心筋梗塞時に pH の低下を感知して CCL20 の産生を抑制し，IL-17A の産生細胞である γδT 細胞の浸潤を抑制することで，心保護的な作用を示していると考えられる。

（31）FGF23 による TGF-β を介した心臓線維化促進効果

久我和寛，○草刈洋一郎，南沢　享（東京慈恵会医科大学 細胞生理学講座）

<背景> Fibroblast growth factor（FGF）23 は Klotho と FGF 受容体（FGFR）1 の複合体に作用して腎尿細管におけるリン排泄を調節することで知られている。一方で心臓において FGF23 は左室肥大を引き起こすという報告があり(Faul C et al., 2011), 心疾患との関連が注目されている。これまで我々は，線維化心臓において FGF23 の mRNA レベルが上昇することを報告してきた。本研究では正常ラット心臓から初代細胞を抽出し，FGF23 が心臓線維化に及ぼす影響について検討した。

<方法> SD ラット(♂，8-13 週令)の心臓をコラゲナーゼ法にて心筋細胞と線維芽細胞に分離した。FGF23 及び TGF-β を添加して線維芽細胞を培養し，α-smooth muscle actin（α-SMA）の mRNA 発現量を測定した。

<結果及び考察> 心筋細胞と線維芽細胞を比較すると，心筋細胞では FGF23 の mRNA 量が高く，線維芽細胞では FGFR1 が高かった。FGF23 単独添加では，線維芽細胞の α-SMA 発現量に変化はなかったが，FGF23 と TGF-β を同時に添加すると α-SMA 発現量は上昇した。このことから，FGF23 は心筋細胞から分泌され，線維芽細胞の FGFR1 を介し，TGF-β と共存することで筋線維芽細胞への誘導が促進されることが示唆された。

（32）小児四肢疼痛発作症モデルマウスを用いた行動学的，電気生理学的解析

○奥田裕子[1,2]，野口篤子[3]，原田浩二[2]，小林　果[2]，近藤大喜[3]，高橋　勉[3]，小泉昭夫[2]
（[1]福岡大学医学部薬理学講座，[2]京都大学医学研究科環境衛生学分野，
[3]秋田大学大学院医学研究科 小児科講座）

我々は，乳児期より思春期に掛け四肢の大関節の痛みを来す遺伝性慢性疼痛発症（小児四肢疼痛発作症）の 6 家系において網羅的遺伝子解析を行い，疼痛に関わるナトリウムチャネル（Nav1.9）の変異（R222S,H）を同定した。本研究では，NaV1.9 変異型（R222S）knock-in マウスモデルを作製し，行動学的・電気生理学的な解析を行うことで疼痛を呈するメカニズムの解明を行うことを目的とした。まず，熱刺激及び機械刺激による疼痛行動解析を行った結果，変異型マウスでは正常マウスに比べ有意に疼痛行動を示すことを見いだした。次に，変異型マウスから疼痛伝達経路である後根神経核（DRG）ニューロンを単離，初代培養を行い，電気生理学的手法により活動電位の特性を解析した。その結果，変異型マウスでは活動電位の振幅が有意に大きく，後脱分極が過分極側にシフトしていることが判明した。また，発火頻度においても変異型マウスは有意に増大していた。以上のことから，NaV1.9 の R222S 変異により DRG ニューロンが過剰に興奮することで疼痛発生に関与することが示唆された。

（33）脈絡膜血管新生における AGS8 の機能

○林　寿来[1]，Mamun Abudulla Al[1]，佐喜眞未帆[1,3]，武山正行[2]，
雑喉正泰[2]，矢ヶ崎莉菜[4]，中原　努[4]，佐藤元彦[1]
（[1]愛知医科大学 医学部 生理学講座，[2]愛知医科大学 医学部 眼科学講座，
[3]修文大学 健康栄養学部，[4]北里大学 薬学部 分子薬理学講座）

近年，受容体とは独立して G 蛋白の活性調節を行う G 蛋白活性調節因子（activator of G-protein signaling, AGS）の存在が明らかとなり，我々はなかでも Gβγ 結合蛋白である AGS8 を同定し機能解析を行っている。最近，AGS8 は血管内皮細胞増殖因子（VEGF）２型受容体と複合体を形成し VEGF シグナルおよび血管新生を制御することを報告した（Hayashi et al., *JCS* 2016）。本研究では，脈絡膜血管新生に着目して研究を進めた。動物モデルとして野生型マウス眼球にレーザー凝固を行い，脈絡膜に血管新生を誘導した。その結果，血管新生に伴う AGS8 mRNA の発現上昇と，新生血管部位特異的な AGS8 蛋白の発現誘導が認められた。そこで，硝子体に siRNA の投与を行い AGS8 の knockdown を行ったところ，脈絡膜での AGS8 分子の発現が抑制され，これに符合するように新生血管の退縮が確認された。以上の実験結果から，AGS8 は脈絡膜血管新生を制御することが示唆された。

（34）肺気腫病態評価における自動計測フェレ径の有用性に関する検討

中嶋竜之介[1]，亀井竣輔[1,2]，野原寛文[1,2]，藤川春花[1,2]，丸田かすみ[1]，川上太聖[1]，
江藤結花[1]，メリーアンスイコ[1]，甲斐広文[1]，○首藤　剛[1]
（[1]熊本大学大学院薬学教育部 遺伝子機能応用学分野，[2]熊本大学博士課程教育リーディングプログラム
「グローカルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIGO」）

肺気腫は，肺胞壁の破壊などにより，終末細気管支よりも末梢における気腔が拡大した状態を呈する疾患であり，慢性閉塞性肺疾患（COPD）における重要な病態の一つである。一般に，実験動物における肺気腫は，平均肺胞径（MLI : Mean linear intercept）を指標として評価されてきたが，本法は，1) 測定に時間を要すること，2) 実験者の違いによる計測誤差が生じること，3) 撮像画像が，肺の一部の肺胞領域に限定的であり，個体全体の肺気腫の程度を評価するには不向きであること，などが問題であった。本研究では，KEYENCE 社の BZ-X700 に内蔵した計測モジュールで自動測定できるパラメーターの中から，フェレ径（単一の肺胞領域に外接する長方形の縦および横の長さ）に着目し，その値とマニュアルカウントした MLI 値の相関性について検討した。その結果，2 種類の異なる肺気腫モデルマウス（エラスターゼ誘発肺気腫モデルマウスおよび気道上皮特異的上皮型 Na^+チャネル β サブユニット過剰発現マウス）におけるフェレ径は，MLI と有意な相関を認めることが示された。今後，他の肺気腫モデルマウスを用いた検討や，計測モジュールで計測可能な他のパラメーターを用いた検討なども必要ではあるが，本研究は，MLI との高い相関性を示し，迅速性かつ客観性を有するフェレ径が，肺気腫解析に有用であることを示した。

15. 生体の応答多様性に関わる TRP チャネルからのメッセージ「TRPs and SOCs　～脂質シグナルのアクセプター～」

2016 年 6 月 2 日－6 月 3 日

代表・世話人：森誠之（京都大学）

所内対応者：西田基宏（生理学研究所）

（１）PKD2L1 チャネルの膜電位依存性ゲーティングの分子基盤

沼田朋大（福岡大学 医・生理学）

（２）神経栄養効果を示す新規 DAG 感受性 TRPC チャネル活性化剤の同定

澤村晴志朗（京都大院・工）

（３）心筋細胞における TRPC3 チャネルを介した伸展誘発遅発性カルシウム応答の制御機構

山口陽平（岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 システム生理学）

（４）皮膚と免疫組織の生体イメージング

岡田峰陽（理化学研究所 統合生命医科学研究センター）

（５）TRP チャネルに焦点を当てた鎮痒薬クロタミトンの標的分子探索

橘高裕貴（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

（６）human TRPM3 isoform に対する diclofenac の薬理効果

村木克彦（愛知学院大学 薬学部 薬効解析学講座）

（７）Structural basis for TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species-specific differences

Rupali Gupta（Division of Cell Signaling，Okazaki Institute for Integrative Bioscience）

（８）捕食者回避には TRPA1 が必要である

桑木共之（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 統合分子生理学）

（９）リポクオリティから解き明かす生命現象

有田　誠（理化学研究所 統合生命医科学研究センター）

（10）シグナル複合体プラットフォームとしての TRPC3 の役割

冨田（沼賀）拓郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

（11）TRP イオンチャネル機構の動的構造基盤

三尾和弘（産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング／バイオメディカル）

（12）Characterization and functional role of zebrafish transient receptor potential melastatin 2（zTRPm2）

Tran Nam Ha（Graduate School of Global Environmental Studies, Kyoto University）

（13）プロリン水酸化による TRPA1 チャネルの冷感受性制御機構

三宅崇仁（京都大学 薬学研究科 生体機能解析）

（14）味覚，消化管炎症における TRPV4 チャネルの機能

松本健次郎（京都薬科大学 薬物治療学分野）

（15）網膜剥離後の視細胞死にはミュラーグリアの TRPV4 活性化が関与する

柴崎貢志（群馬大 医 分子細胞）

（P1）メカノセンサーTRPV2 活性化に伴い軸索伸長が促される分子基盤

杉尾翔太（群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学）

（P2）TRPA1 チャネルを選択的に活性化できるトランスニトロシル化化合物とその他の物性

大和田智彦（東京大学大学院 薬学系研究科 薬化学教室）

（P3）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割

島内　司（自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター･心循環シグナル研究部門 / 九州大学大学院薬学研究院）

（P4）鳥類知覚ニューロンにおける冷感知機構-TRPM8 依存性及び非依存性機構の存在-

山本　茜（鳥取大学 農学部 獣医薬理）

（P5）OGU1 タンパク質を介した TRPC チャネルの輸送経路の解析

大野知幸（東京工業大学 生命理工学研究科 分子生命科学専攻）

（P6）ウシ毛様体筋における M_3 ムスカリン受容体作動性 Ca^{2+} 透過イオンチャネルの分子候補としての TRPC と Orai1

宮津　基（旭川医科大学 生理学講座 自律機能分野）

（P7）アトピー性皮膚炎の慢性掻痒における末梢神経構造と機能解析

髙橋苑子（理化学研究所統合生命医科学研究センター組織動態研究チーム, 横浜市立大学大学院生命医科学研究科）

（P8）肺高血圧病態における TRPM7 を介した血管内皮リモデリングの検討

倉原　琳（福岡大学 医学部 生理学）

（P9）スフィンゴシン-1-リン酸誘発アストロサイト細胞応答における TRPC6 の関与

白川　久（京都大学 薬学研究科 生体機能解析学分野）

【参加者名】

柴崎貢志（群馬大学大学院），杉尾翔太（群馬大学大学院），大和田智彦（東京大学），西田基宏（生理学研究所），冨田拓郎（生理学研究所），西村明幸（生理学研究所），伊藤智哉（生理学研究所），島内　司（生理学研究所），桑木共之（鹿児島大学），浅野周一（名古屋大学医学系研究科），渡邊泰秀（浜松医科大学），高井章（旭川医科大学），白川久志（京都大学），金子周司（京都大学），三宅崇仁（京都大学），樋口拓哉（京都大学），大橋佳奈（京都大学），抱　将史（京都大学），戸谷秀太郎（小諸厚生総合病院），有田　誠（理化学研究所），森　泰生（京都大学），森　誠之（京都大学），黒川竜紀（京都大学），澤村晴志朗（新潟大学），Onur Polat（京都大学），Tran Nam Ha（京都大学），内山　誠（京都大学），南　瞭子（京都大学），石津健一郎（アステラス製薬），太田利男（鳥取大学），長澤雅裕（群馬大学），城戸瑞穂（佐賀大学），篠原祐平（日本たばこ産業㈱），藤田隆二郎（日本たばこ産業㈱），Rupali Gupta （総研大），吉本怜子（九州大学大学院），松本健次郎（京都薬科大学），村木克彦（愛知学院大学），波多野紀行（愛知学院大学），鈴木裕可（愛知学院大学），大野知幸（東京工業大学），長澤隆介（小野薬品工業㈱），笹村　崇（小野薬品工業㈱），金治敏也（小野薬品工業㈱），角出実千昭（小野薬品工業㈱），上村雄一郎（小野薬品工業㈱），桑原宏一郎（京都大学大学院），森内健史（京都大学大学院），富永真琴（生理学研究所），鈴木喜郎（生理学研究所），内田邦敏（生理学研究所），齋藤茂（生理学研究所），高山靖規（生理学研究所），Derouiche Sandra（生理学研究所），橘髙裕貴（生理学研究所），孫　武平（生理学研究所），Kurganov Erkin（生理学研究所），山野井　遊（生理学研究所），李　天邦（生理学研究所），藤山雄一（生理学研究所），梶岡俊一（九州大学大学院医学研究院），李　賢（九州大学大学院医学研究院），三尾和弘（産業技術総合研究所），岡田泰昌（独立行政法人国立病院機構村山医療センター），宮津　基（旭川医科大学），岡田峰陽（理化学研究所），髙橋苑子（理化学研究所），石田　梓（理化学研究所），川津　猛（日産化学工業㈱），山口陽平（岡山大学），成瀬恵治（岡山大学），長谷直樹（帝人ファーマ㈱），加藤賢太（帝人ファーマ㈱），熊谷渉平（帝人ファーマ㈱），倉原　琳（福岡大学），佐藤主税（国立研究開発法人産業技術総合研究所），小田紗矢香（生理学研究所），下田　翔（生理学研究所），沼田朋大（福岡大学），小林泰良（豊田中央研究所），石橋正祥（昭和大学），佐藤幸治（ＯＩＩＢ），野中茂紀（基生研），谷口篤史（基生研），宍戸祐二（ラクオリア創薬），渡邉修造（ラクオリア創薬），白石拓也（京都大学），檜山武史（基生研），野村憲吾（基生研），岡本浩明（小林製薬㈱），高橋光太（名古屋大学）

【概要】

TRP タンパク質はカチオン透過型イオンチャネルであり，これまで 30 種以上の類縁分子が発見されている。その機能は，多様な内外界からの刺激（光，熱，圧，化学物質）に対するセンサー等，様々な生命における重要性に注目が集まっている。近年新たにイノシトールリン脂質，アラキドン酸，リノール酸等，脂質性リガンドのターゲットとして TRP チャネルが着目されつつあることを踏まえ，脂質シグナルに着目した TRP 研究会を開催した。口頭発表 15 題，ポスター発表 9 題，および 91 名もの国内外からの参加者があった。製薬，食品等企業からの参加者も多数あり，多様な人材の交流の場を提供した。特別に理化学研究所有田誠氏，岡田峰陽氏を講師としてお呼びし，それぞれ脂質シグナルの多様性，免疫系細胞のダイナミクスについて最新のデータと共に講演して頂いた。参加者にとって異なるフィールドとの関連性を勉強する貴重な機会であった。その他の発表では温度変化や，心臓，神経に対する物理的刺激や行動と絡めた生理的刺激に応答する上で TRP 分子群の幅広い重要な機能的知見が得られつつある状況が報告された。更に薬理作用，分子構造学的観点に立脚した深遠な方向性における確実な進歩も見られていた。一方，混沌とした状況から踏み出すには，個々の優れた研究に立脚した共同研究を積極的に進めるサポートが必要であるとの声を頂いた。幸い懇親会においてもシニア，学生，企業からの多数の参加者を得て賑やかなうちに交流が成され，無事に研究会を終了することが出来た。

（1）PKD2L1 チャネルの膜電位依存性ゲーティングの分子基盤

沼田朋大[1]，井上隆司[1]，森　泰生[2]
（[1]福岡大学医学部生理学，[2]京都大学大学院工学研究科 合成･生物化学）

PKD2L1 チャネルは，心臓，腎臓など広範囲に発現し，pH やカルシウムイオン濃度変化によって活性化する非選択的カチオンチャネルである。近年，PKD2L1 は，電位依存性を持つことが報告されているが，膜電位依存性ゲーティングの分子基盤については，不明のままである。そこで，我々は HEK 細胞も用いた発現系において，PKD2L1 の正確な物理化学的性質についてパッチクランプ法による詳細な解析を行った。また，変異体を用いた実験的解析とシミュレーションを用いた解析より，典型的な電位依存性ゲーティングやそれでは説明のつかない電位依存性制御機構について考察した。

（2）神経栄養効果を示す新規 DAG 感受性 TRPC チャネル活性化剤の同定

澤村晴志朗[1]，波多野雅彦[1]，高田宜則[1,2]，日野恭介[2]，川村哲也[2]，谷川　潤[2]，
中川拓士[2]，長谷英治[1]，中尾章人[1]，平野　満[1]，Rachapun Rotrattanadumrong[1]，
清中茂樹[1]，森　誠之[1]，西田基宏[3]，胡　耀鵬[4]，井上隆司[4]，永田　龍[2]，森　泰生[1]
（[1]京都大院・工，[2]大日本住友製薬，[3]岡崎統合バイオサイエンスセンター，[4]福岡大・医）

我々は，化合物ライブラリーから，DAG 感受性の TRPC3/TRPC6/TRPC7 に対して活性化効果を持つピペラジン骨格を有する化合物群（PPZ 化合物）を同定した。その中でも，PPZ1 および PPZ2 化合物は，TRPC チャネル群の中で，TRPC3/TRPC6/TRPC7 を選択的に活性化することを見出した。また，PPZ2 が，門脈血管平滑筋細胞および小脳顆粒細胞において TRPC 様の電流を活性化することを見出した。更に，PPZ1, PPZ2 は小脳顆粒細胞および海馬神経細胞において神経突起伸展促進および神経保護作用を示した。この効果は TRPC3/TRPC6/TRPC7 の阻害によって抑えられたことから，PPZ 化合物は TRPC3/TRPC6/TRPC7 を活性化して神経栄養効果を示すことが示唆され

た。また，神経突起伸展の促進効果は，CaMK など Ca^{2+} 依存的シグナル分子の阻害によって減弱したこと，PPZ2 の処置によって CREB の活性が増強したことから，PPZ 化合物は，TRPC3/TRPC6/TRPC7 の活性化を介して Ca^{2+} シグナリングを誘導することで，神経栄養効果を発揮することが示唆された。

（3）心筋細胞における TRPC3 チャネルを介した伸展誘発遅発性カルシウム応答の制御機構

山口陽平，入部玄太郎，成瀬恵治（岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 システム生理学）

心筋に数分間の伸展刺激を加えると細胞内 Ca^{2+} 濃度（$[Ca^{2+}]_i$）上昇により収縮力が緩徐に増加する現象が観察される。この現象は slow force response to stretch （SFR）として知られる。SFR は伸展誘発性アンギオテンシンⅡ（AII）放出により細胞内 Na^+ 濃度を増加させ Na^+/Ca^{2+}交換輸送体を介して$[Ca^{2+}]_i$を増加させる。しかし，SFR における陽イオン（Na^+，Ca^{2+}）流入経路は未解明である。本研究では AII 1 型受容体（AT1R）/TRPC3 系の SFR への関与と SFR に関連する可能性が高い TRPC3 の心筋細胞内局在について検討した。Fura-4F を負荷したマウス単離心筋細胞の持続伸展刺激による緩徐な$[Ca^{2+}]_i$ 上昇は AT1R 阻害剤と PLC 阻害剤，TRPC3 阻害剤で抑制され，さらに TRPC3 欠損マウスでも観察されなかった。AII による AT1R 活性化を介した緩徐な$[Ca^{2+}]_i$ 上昇も PLC 阻害剤・TRPC3 阻害剤で抑制された。また，SFR 発生に関わる TRPC3 の細胞内局在を免疫染色法と TRPC3 様チャネルモデルを組み込んだ心筋細胞数理モデルにより検討したところ，TRPC3 は形質膜上にも存在し，伸展刺激により活性化した形質膜上の AT1R/TRPC3 チャネル系が SFR の陽イオン（Na^+，Ca^{2+}）流入に関与していることが強く示唆された。

（4）特別講演１「皮膚と免疫組織の生体イメージング」

岡田峰陽（理化学研究所 統合生命医科学研究センター 組織動態研究チーム）

大学院生時代に TRPC ファミリーの研究に携わり，その後，縁あってイメージングを用いた免疫・炎症研究を行っています。この１５年間，リンパ球や樹状細胞などの免疫細胞のどのような振る舞いによって，リンパ節や脾臓といった免疫組織における免疫応答が成り立っているのか，そしてケモカインや脂質メディエーターはそれをどのように制御しているかについて，二光子顕微鏡を用いて解析してきました。今回は，これらの研究について簡単にお話しさせて頂くとともに，最近開始した皮膚炎と末梢神経の研究についても紹介させて頂きたいと思います。TRP ファミリーは，様々な末梢神経においても重要な役割を持っていると考えられています。私たちの研究ではまだ TRP それ自体を扱っていませんが，健常な皮膚や掻痒を伴う皮膚炎における感覚神経線維の構造や振る舞いについて，イメージングを主体とした新しいデータをもとに議論したいと思います。

（5）TRP チャネルに焦点を当てた鎮痒薬クロタミトンの標的分子探索

橘高裕貴 [1]，富永真琴 [1,2]（[1] 岡崎統合バイオサイエンスセンター [2] 生理学研究所）

ヒスタミン薬，ステロイド薬，局所麻酔薬および抗炎症薬などと共に鎮痒外用薬成分として 1950 年代から使用されてきた。それにもかかわらずその作用標的は不明のままであった。クロタミトンについて調べてみると抗ヒスタミン作用，ステロイド作用，局所麻酔作用および抗炎症作用などの報告は無かった。そこで我々は末梢神

経および皮膚に発現する TRP (transient receptor potential) チャネルがクロタミトンの標的分子であると仮定し TRPV (vanilloid) 1，TRPV2，TRPV3，TRPV4，TRPA (ankyrin) 1 および TRPM (melastatin) 8 についてクロタミトンの活性化・抑制作用について強制発現系を用いてパッチクランプ法で検討した。その結果，クロタミトンは TRPV4 を最も強く抑制することを見出した。本研究会ではさらにクロタミトンの TRPV4 抑制に関する詳細な機能解析について報告した。

（6）human TRPM3 isoform に対する diclofenac の薬理効果

鈴木裕可，佐々木英至，中川亜友美，児玉尭駿，村木由起子，波多野紀行，○村木克彦
（愛知学院大学 薬学部 薬効解析学講座）

The pharmacological effects of an acetic acid derivative-type non-steroidal anti-inflammatory drug, diclofenac (Dic), were examined on the function of transient receptor potential (TRP) melastatin (TRPM) 3 (TRPM3) in HEK293 cells with recombinant human TRPM3 isoforms ($TRPM_{1325}$, TRPM3-3, TRPM3-9, and TRPM3-S) and in a neuroblastoma cell line IMR-32. TRPM3 responses evoked by pregnenolone sulfate (PregS) were substantially inhibited by Dic in a concentration-dependent manner in Ca^{2+} measurement and electrophysiological assays. The apparent IC_{50} for PregS-induced Ca^{2+} response of $TRPM3_{1325}$, TRPM3-3, and TRPM3-9 was calculated to be 19, 43, and 7 μM, respectively. In contrast, an acetoxymethyl analogue of Dic (aceclofenac) had little effects on PregS-induced TRPM3 responses. Constitutive channel activity of TRPM3-S without PregS was also inhibited by Dic, excluding the possibility of interaction of Dic against PregS to the channel binding sites. Moreover, Dic reversibly inhibited TRPM3 single channel activity recorded in excised outside-out patches without affecting the channel conductance. In differentiated neuronal IMR-32 cells with endogenous TRPM3, Dic inhibited PregS-evoked Ca^{2+} responses with an apparent IC_{50} of 17 μM. Taken together, these results demonstrate that clinically used Dic is a putative inhibitor of TRPM3.

（7）Structural basis for TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species-specific differences

Rupali Gupta[1,2], Shigeru Saito[1,2], Yoshiharu Mori[3,4], Satoru Itoh[3,4], Hisashi Okumura[3,4], Makoto Tominaga[1,2]
([1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience, [2]Department of Physiological Sciences,
[3]Research Center for Computational Science, Institute for Molecular Science,
[4]Department of Structural Molecular Science, SOKENDAI)

Pain is a harmful sensation that usually arises from noxious stimuli. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) is one target for studying pain mechanisms. TRPA1 is known to be activated by various stimuli such as noxious cold, environmental irritants, and pungent natural products like cinnamaldehyde (CA). Since TRPA1 is an attractive target for pain therapy, many TRPA1 antagonists have been developed and some function as analgesic agents. The responses of TRPA1 to agonists and antagonists vary among species and these species differences have been utilized to identify the structural basis of activation and inhibition mechanisms. HC-030031 (HC), a TRPA1 antagonist, failed to inhibit frog TRPA1 (fTRPA1) activity by CA, but did inhibit CA-evoked currents in human TRPA1 (hTRPA1) in a heterologous expression system using *Xenopus* oocytes. Chimeric studies between fTRPA1 and hTRPA1, as well as analyses using channel point mutations, revealed that a single amino acid residue located in the linker region of the 4th and 5th transmembrane domains in hTRPA1 significantly

contributed to the inhibitory activity of HC. Molecular dynamics simulation suggested that HC stably binds to this amino acid. These findings provide novel insights into the structure-function relationship of TRPA1 and could lead to the development of more effective analgesics targeted to TRPA1.

（8）捕食者回避には TRPA1 が必要である

桑木共之，赤星里佳，片山由璃子，山口　蘭，米満　亨，Jordan Pauli，柏谷英樹
（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 統合分子生理学）

鼻腔内の TRPA1 は吸気中のホルマリンやワサビ成分などの刺激性危険物を検出して回避行動をとらせる為の最前線のセンサーである事を既に報告した。今回は広い意味での危険物である捕食者の匂い・刺激検出にも TRPA1 が関与しているのではないかとの仮説を立て，これを検証した。

1）TRPA1-KO および OB はキツネの糞ならびにその成分である TMT を回避しなかった。2）TRPA1-KO は床敷きの下に埋めた餌を WT と同様に発見することができたが，OB は発見時間が有意に延長した。3）TMT の刺激で WT の血中 ACTH 濃度は有意に増加したが，TRPA1-KO および OB では変化しなかった。4）鼻腔内において TRPA1 は嗅上皮層には少なく，三叉神経の分布域である呼吸上皮層に主として存在した。

以上の結果から，キツネの糞ならびにその臭気成分の検出には三叉神経に存在する TRPA1 と嗅神経の双方が必要であり，一方が欠失しただけで危険回避が不可能になることが明らかになった。双方からの情報は脳内で統合されてから危険シグナルとして危機回避行動や内分泌反応をトリガーするものと考えられた。

（9）特別講演 2「リポクオリティから解き明かす生命現象」

有田　誠（[1] 理化学研究所 統合生命医科学研究センター メタボローム研究チーム，
[2] 横浜市立大学 大学院生命医科学研究科）

生体内には多様な脂質分子種が存在し，その質の違いや代謝バランスの変化が，膜タンパク質の機能制御や生理活性脂質による情報伝達など様々な生体制御に関わることが示唆されている。脂質の構造的な特質を「リポクオリティ」と捉え，リポクオリティの多様性がもつ生物学的意義について考える必要がある。そのためには，リポクオリティを網羅的かつ明確に区別する解析技術を研ぎ澄まし，またリポクオリティを制御・識別する分子機構の生理的役割やその破綻に起因する病態を理解することが重要である。

近年の質量分析技術の進歩は，各々の脂質分子種の代謝，分布，動態を詳細に捉えることを可能にした。このような背景のもと我々は，生体内の脂肪酸代謝物を包括的に捉えるための測定系を確立し，炎症の制御において脂肪酸代謝の質的変化が関与する可能性を見いだしてきた。さらに我々は，特定の脂質分子種を選択的に測定する従来型のターゲット解析（LC-tripleQ MS）に加え，分子種を特定しないノンターゲット解析（LC-QTOF MS）を組み合わせることで，先入観のない探索範囲の拡大および解析データの質の向上を目指している。これにより，各種脂質の合成・代謝酵素の遺伝子改変動物，あるいは栄養要因によって体内の脂質代謝バランスが変化した状況において，リポクオリティの違いを機能的に反映する脂質代謝系および活性代謝物の同定を目指している。

本講演では，さらに進化しつつあるリピドミクス新技術の有用性と今後のリポクオリティ研究の発展性について議論したい。

（10）シグナル複合体プラットフォームとしての TRPC3 の役割

冨田（沼賀）拓郎[1]，北島直幸[2]，西村明幸[1]，森　泰生[3]，西田基宏[1,2]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院，[3]京都大学大学院工学研究科）

TRPC チャネルファミリーの内 TRPC3/C6/C7 は受容体刺激の下流において PLC による PIP_2 の代謝産物であるジアシルグリセロール（DAG）により活性化される。我々はこれまでに，B 細胞受容体シグナルにおいて，TRPC3 が PLCγ2・Protein kinase Cβ の形質膜への膜移行を制御することにより，Ca^{2+} および DAG シグナルの増幅に寄与することを明らかにした。この TRPC3 を中心としたシグナル分子の集合は TRPC3 近傍での Ca^{2+}・DAG の集約による効率的なシグナル伝達に重要と考えられた。近年，細胞に対する細胞周辺の微小環境の重要性が注目されている。心臓の機械的ストレス適応についての研究から，心筋細胞において TRPC3 が PKC および NADPH oxidase 2 と複合体を形成し，機械的伸展を活性酸素シグナルに転換する働きを有することを明らかにした。即ち，TRPC3 は従来の体液性シグナルだけではなく機械的シグナルの伝達においても重要な役割を果たしていた。以上から，TRPC3 はシグナル伝達複合体のプラットフォームとして多様な細胞刺激を統合しシグナル伝達の時空間制御を担うと考えられた。

（11）TRP イオンチャネル機構の動的構造基盤

三尾和弘[1]，池崎圭吾[2]，関口博史[3]，佐々木裕次[2]，清中茂樹[4]，森　泰生[4]，佐藤主税[1]
（[1]産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング／バイオメディカル
[2]東京大学大学院新領域創成科学研究科 物質系専攻，
[3]Spring-8，[4]京都大学工学研究科 合成・生物化学専攻）

我々は動物細胞培養系で発現させた TRP チャネルを高純度で精製し，大量の電子顕微鏡画像データから統計学的計算で元の 3 次元構造を導き出す，「単粒子解析法」の技術開発とそれを用いた構造解析を行ってきた。その中には細胞内カルシウム濃度を感知してチャネル開閉を行う TRPC3，酸化ストレスに応答する TRPM2，マスタードなどに含まれるアリルイソチオシアネートやプロスタグランジン J2, 分子状酸素などを感知する TRPA1 が含まれる。共通する基本構造は持つものの，得られた立体構造からはそれぞれの TRP チャネルの機能に応じた特徴が見出されている。また本技術はタンパク質の結晶化が不要であり，不安定な複合体や反応中間体の解析にも応用が可能である。一方，TRP チャネルの機能制御がどのように行われているのか？それを理解するために，我々は X 線 1 分子追跡法（DXT）で分子運動解析を開始した。DXT は数十 nm 程度の微小金ナノ結晶を観察タンパク質分子に化学的に付加し，分子の内部運動に連動した標識ナノ結晶の動きを X 線・ラウエ斑点の動きとしてマイクロ秒時分割追跡する手法である。本技術は個々の分子運動を高速（100 マイクロ秒の時分解能）かつ高精度（ピコメートル）解析が可能であり，KcsA やアセチルコリン受容体（nAChR）などの分子運動解明が報告されている。更に異なる大きさの金ナノ粒子を用いた結果の比較からは，分子運動の強度に関する情報も導き出すことが可能である。TRP のリガンド活性化や温度感受機構の解明を目指している。

（12）Characterization and Functional Role of Zebrafish TRPM2

Tran Nam Ha [a]; Tomohiro Numata [d]; Masayuki X. Mori [c]; Shingo Maegawa [b];
Hiroshi Hosokawa [b]; Shingo Tanaka [e] and Yasuo Mori [a,c]
（[a] Grad. Sch. of Global Environmental Studies, Kyoto Univ.; [b] Grad. Sch. of Informatics, Kyoto Univ.;
[c] Grad. Sch. of Engineering, Kyoto Univ.; [d] Fukuoka Univ. Sch. of Med;
[e] Graduate School of Biostudies Kyoto Univ.）

In this research, we characterize the function of zebrafish TRPM2 (zTRPM2) heterologuosly expressed in HEK293T cell and role of zTRPM2 in the fish immune system. The result showed that cDNA of zTRPM2 has an open reading frame encoding a protein of 1470 amino acids which shows a similarity of 64.73 % to the human TRPM2 protein, 64.99 % to the mouse TRPM2 protein, and 63.95 % to the rat TRPM2 protein. The expression of recombinant zTRPM2 in HEK293T that has molecular mass of 168 kDa, it located on the cell membrane and expressed in immune cells like macrophage and neutrophil, in immune organs such as spleen and liver in zebrafish. Interestingly, the functional analysis using calcium imaging revealed that zTRPM2 is activated by pollutants such as hydrogen peroxide (H_2O_2) (EC_{50} = 104 μM), nitrite (NO_2^-) (EC_{50} = 22.5 mM) and NO (SNAP EC_{50} = 70 μM). Furthermore, the activation of zTRPM2 was inhibited by mammalian TRPM2 inhibitor econazole (IC_{50} = 0.5 μM) and clotrimazole (IC_{50} = 10 μM). The results suggest a functional role of TRPM2 in the detection of oxidants that are known as pollutants and zTRPM2 inhibitors may assists in protecting fish from the polluted environments.

（13）プロリン水酸化による TRPA1 チャネルの冷感受性制御機構

三宅崇仁 [1]，中村彩希 [1]，趙　萌 [1]，宗可奈子 [1]，井上圭亮 [2]，沼田朋大 [3]，高橋重成 [2]，白川久志 [1]，
森　泰生 [2]，中川貴之 [1,4]，金子周司 [1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析，[2]京都大学 工学研究科 合成生物化学
[3]福岡大学 医学部 生理，[4]京大病院 薬剤部）

TRPA1 は当初, 侵害的冷刺激受容器として報告されたものの，その生理学的意義については未だに論争が繰り広げられている。そこで我々は TRPA1 依存的な冷刺激過敏行動を引き起こすとされるオキサリプラチンの分解産物であるシュウ酸がオキサロ酢酸と類似構造を持つこと，オキサロ酢酸が hTRPA1 の Pro^{394} 残基を水酸化するプロリン水酸化酵素（PHD）の活性制御に関わることに着目し検討を開始した。すると過酸化水素（0.1 μM）存在下において，hTRPA1-P394A 変異体が冷刺激によって活性化されることを電気生理学的に見出した。さらに Ca^{2+} imaging において, PHD の阻害薬である DMOG を前処置することにより野生型 hTRPA1・mTRPA1 両方の冷刺激感受性が増強されること，それが ROS スカベンジャーにより抑制されることがわかった。マウスに DMOG を前投与すると冷刺激過敏応答が惹起され, それが HC030031 や ROS スカベンジャーによって抑制された。以上より TRPA1 の冷感受性の新たな制御機構が示唆された。

（14）味覚，消化管炎症における TRPV4 チャネルの機能

松本健次郎[1]，山崎華歩[1]，成川麻衣[1]，天ヶ瀬紀久子[1]，富永真琴[2]，加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 薬物治療学分野，[2]自然科学研究機構 生理学研究所 細胞器官・細胞生理）

本研究ではマウス舌における TRPV4 の局在と味感受性，そして DSS 誘起炎症性腸疾患モデルにおける TRPV4 の局在変化と病態への関与について検討を行った。

正常マウスの舌，食道，胃，小腸，大腸において TRPV4 は舌に最も多く発現し，舌の基底細胞上に局在していることが明らかとなった。さらに WT と TRPV4KO マウスを用いて，2 瓶選択嗜好性試験を行ったところ，TRPV4 は酸味と塩味の感知に関与していることが示唆された。DSS 投与による顕著な体重減少と下痢・下血は，TPRV4KO マウスでは WT マウスと比較して有意に軽度であった。TRPV4 は正常マウスでは上皮細胞のみに発現が確認されたが，DSS 処置に伴い，結腸粘膜および粘膜下の血管において顕著に増加した。2 重免疫染色から TRPV4 は血管内皮細胞に局在していることが明らかとなった。さらにエバンスブルーを用いた血管透過性の検討から，TRPV4 は炎症時の血管透過性の亢進を介して，大腸炎を悪化させていることが示唆された。

（15）網膜剥離後の視細胞死にはミュラーグリアの TRPV4 活性化が関与する

松本英孝[1]，杉尾翔太[2]，池中一裕[3]，石崎泰樹[2]，岸　章治[1]，柴崎貢志[2]
（[1]群馬大学 医学部 眼科，[2]群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞，[3]生理研 分子神経生理）

今回我々は，マウスにおける網膜剥離モデルを作製することに成功し，この有用なシステムを用いて，網膜剥離後に視細胞死がどのような分子メカニズムで進行していくのかを TRPV4 に着目して調べた。まず，TRPV4 の網膜内発現を *in situ* hybridization 法，IHC 法，Ca^{2+}-イメージング法で調べた結果，報告されているようにミュラーグリアに発現していることを確認出来た。

以前に我々は，脳において，TRPV4 陽性アストロサイトは約 20％程度のマイナーなサブタイプを構成し，TRPV4 の活性化に伴い，ATP などのグリオトランスミッターが遊離し，興奮を伝播していくことを突き止めている(柴崎ら，JBC 2014)。網膜内に存在するミュラーグリアは，脳アストロサイトと性質が類似した網膜内における唯一のグリア細胞である。これらの点より，網膜剥離時に生じる機械刺激や PLA2 活性化に伴うアラキドン酸（TRPV4 リガンド）産生によりミュラーグリアの TRPV4 が活性化し，大量の ATP 放出が生じ，これが視細胞を細胞死へと導くのではないかと仮説を立て，その検証を行った。さらに，WT と TRPV4KO マウスに網膜剥離を引き起こしたところ，WT と比較し，TRPV4KO マウスでは細胞死は半数以下にまで抑制された。これらの結果より，網膜剥離の病態悪化にはミュラーグリアの TRPV4 が深く関与する可能性を見いだした。

（P1）メカノセンサーTRPV2 活性化に伴い軸索伸長が促される分子基盤

杉尾翔太，小島　至，石崎泰樹，柴崎貢志（群馬大学大学院，医学系研究科，分子細胞生物学）

我々はこれまでに TRPV2 が膜伸展刺激よって活性化し，発生期の脊髄運動神経や感覚神経の軸索伸長を促進させることを明らかにしている(柴崎ら，J Neurosci 2010)。今回，我々は機械刺激による TRPV2 活性化と軸索伸長を促す分子基盤について神経分化モデル細胞(PC12 細胞)を用いて検討した。

PC12 細胞には内在性の TRPV2 が発現していなかった。そこで, TRPV2 過剰発現 PC12 細胞を作製し, コントロール細胞との比較を行ったところ, TRPV2 過剰発現により, 軸索伸長が有意に促進し，この効果は，機械刺激を付加した環境下でより増強された。続いて，機械刺激がどのようなメカニズムを介して TRPV2 を活性化するのかを免疫細胞化学法，パッチクランプ法，免疫沈降法を用いて解析した。TRPV2 は PC12 細胞の成長円錐に集積しており，細胞骨格であるアクチンと相互作用していた。成長円錐に記録電極を指入し，機械刺激を負荷した際に生じる TRPV2 活性化電流を測定したところ，アクチン重合阻害剤の投与によって優位な減少が認められた。以上の結果から，機械刺激依存的な TRPV2 活性化には細胞骨格と TRPV2 の相互作用が重要で，成長円錐の自発的運動や外界からの機械刺激などによって生じる細胞骨格の変動が TRPV2 活性化を惹起し，細胞骨格の再編成(運動性)が亢進することで，軸索伸長効果を発揮する可能性を見いだした。

（P2）TRPA1 チャネルを選択的に活性化できるトランスニトロシル化化合物とその他の物性

大和田智彦（東京大学大学院 薬学系研究科 薬化学教室）

タンパク質のシステイン残基の酸化修飾（*S*-ニトロシル化）は重要なシグナル伝達機構である。複数の transient receptor potential（TRP）チャネルが *S*-ニトロシル化により活性化されることが報告された。本研究では，NO を遊離せず特定のタンパク質に対してトランスニトロシル化能を有する小分子を見いだし, TRPA1 チャネルのみを選択的に *S*-ニトロシル化し活性化することを発見した。本化合物の光刺激 NO 放出についても言及する。本研究は（京大院工・地球環境）森泰生グループとの共同研究である。

（P3）末梢循環障害における TRPC6 チャネルの役割

島内　司 [1,2]，冨田拓郎 [1]，西村明幸 [1]，西田基宏 [1,2]
([1] 自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）・心循環シグナル研究部門，
[2] 九州大学)

動脈硬化症等による末梢循環障害に対して，微小毛細血管の動脈化促進が治療法として有効である。近年，末梢循環の修復には血管新生よりむしろその後の血管成熟が重要と考えられつつある。しかし未だ血管成熟を制御する分子メカニズムは明らかでない。我々は，血管の筋原性緊張に必須の非選択的カチオンチャネル TRPC6 が末梢循環のリモデリングを負に制御する因子であることを本研究にて明らかにした。TRPC6 欠損マウスにおいて下肢虚血後の血流回復が WT よりも有意に促進していた。血流回復の促進は血管新生ではなく血管成熟の亢進を伴っていた。下肢虚血後の末梢血管における TRPC6 は一過的にリン酸化されており，その後時間経過に伴ってリン酸化レベルは低下した。末梢循環障害改善薬であるシロスタゾールは TRPC6 リン酸化レベルの増加と相関して血管成熟および血流回復を促進させた。以上の結果から，末梢血管における TRPC6 のリン酸化による抑制が下肢虚血後の血流回復度の決定因子であることを明らかにした。

（P4）鳥類知覚ニューロンにおける冷感知機構-TRPM8 依存性及び非依存性機構の存在-

山本　茜[1]，高橋賢次[1]，齋藤　茂[2]，富永真琴[2]，太田利男[1]
（[1]鳥取大学 農学部 獣医薬理，[2]岡崎統合バイオ 細胞生理）

近年，温度感受性 TRP には著明な種間多様性があることが見出され，我々もこれまで哺乳類（齧歯目）において冷感受性である TRPA1 が，鳥類では熱感受性を示すことを明らかにしている。本研究では，哺乳類において清涼物質や冷刺激により活性化される TRPM8 の鳥類ホモログに対する薬物反応性や鳥類における冷感知機構について検討した。ニワトリ TRPM8 発現細胞は menthol 及びその誘導体（WS-12）により活性化したが，icilin では活性化しなかった。ニワトリ知覚神経（c DRG）に対して，icilin は$[Ca^{2+}]_i$ 増加を引き起こし，その反応は TRPA1 阻害薬で抑制された。ニワトリ TRPM8 は哺乳類と同様，冷刺激により活性化した。cDRG においても，menthol 感受性神経は冷反応性を示したが，menthol 非感受性で活性化温度が低い冷反応性神経も多数存在した。この細胞における冷刺激による$[Ca^{2+}]_i$ 増加反応は細胞外 Ca^{2+} 除去や PLC-IP_3 経路の阻害薬によって抑制されず，SERCA 阻害薬によって消失した。TRPA1 欠損マウス由来知覚神経では c DRG とは異なり，menthol 非感受性の冷反応性神経は殆ど存在しなかった。以上の成績より，鳥類 TRPM8 は哺乳類と同様に冷感受性チャネルとして機能すること，更に TRPM8 には薬物感受性に種間差があることが分かった。また，鳥類知覚神経には TRPM8 非依存性の冷反応性神経が多数存在し，このニューロンにおける冷刺激による$[Ca^{2+}]_i$ 増加は細胞内ストア依存性であり，この機構は鳥類に特有である可能性が示された。

（P5）OGU1 タンパク質による TRPC チャネル輸送機構の解析

大野知幸[1]，相澤康則[1,2]
（[1]東京工業大学 生命理工学研究科 分子生命科学専攻，[2]東京工業大学 バイオ研究基盤支援総合センター）

OGU1 タンパク質は，TRPC3，6，7 に対する新規の活性化因子であり，その活性化には，TRPC チャネルの新しい細胞内輸送機構が関わっている可能性が示唆されている。そこで私たちは，小胞体からゴルジ体を経由する Conventional な輸送経路を抑制する各種阻害剤や，OGU1 や TRPC の各種変異体を用いて，OGU1 依存的な TRPC 輸送機構をより詳細に理解するための解析を進めた。本発表では，これら実験の最新データを紹介し，細胞内輸送制御による TRPC チャネル活性化機構に関する議論をしたい。

（P6）ウシ毛様体筋における M_3 ムスカリン受容体作動性 Ca^{2+}透過イオンチャネルの分子候補としての TRPC と Orai1

宮津　基，竹谷浩介，金子智之，高井　章（旭川医科大学 生理学講座 自律機能分野）

我々は，化合物ライブラリーから，DAG 感受性の毛様体筋は M_3 型ムスカリン受容体(M_3R)刺激に伴い平滑筋としては非常に速やかに収縮し(初期相)，その後刺激の続く限り一定の張力を保持し続ける(持続相)という特性があり，それが迅速で安定な焦点調節を可能にしている。収縮持続相は細胞外からの持続的 Ca^{2+} 流入を必要とするが，膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルは発現しておらず，主な Ca^{2+} 流入経路として機能するのは単位コンダクタンスの大きく異なる 2 種類の非選択性陽イオンチャネル[NSCCL (35 pS)と NSCCS (100 fS)]である。これまで NSCCS は，筋小胞体(SR)の Ca^{2+} 貯蔵の枯渇を介して活性化されるイオンチャネルである可能性が示唆された。SR の Ca^{2+} センサー

の分子本体として注目される STIM1，および Ca^{2+} 枯渇活性化チャネルのポア構成サブユニットである Orai1 はいずれも毛様体筋に発現していることを確認した。STIM1 は組織あるいは単離して間もない毛様体筋には強く発現していたが，3 日間の培養で著しく減少した。短期培養した毛様体筋では NSCCL 電流のみの応答がよく観察された。NSCCL の本体候補である TRPC は 4 種類(TRPC1, 3, 4 & 6)の発現が確認された。まだ検討すべき点は多いが，NSCCS は，STIM1/Orai1 をその構成サブユニットとして保持し Ca^{2+} 貯蔵の枯渇に伴って活性化される可能性が示唆された。

（P7）アトピー性皮膚炎の慢性掻痒における末梢神経構造と機能解析

髙橋苑子，石田　梓，岡田峰陽
（理化学研究所統合生命医科学研究センター組織動態研究チーム 横浜市立大学大学院生命医科学研究科）

痒みを担う神経は末梢の無髄神経であるＣ線維であると考えられており，痒みを引き起こす物質の受容体を発現する神経の存在などが，近年徐々に明らかになってきた。しかしながら，アトピー性皮膚炎の慢性掻痒状態において，感覚神経にどのような変化が起こっているのかは不明である。本研究では，アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける感覚神経の構造変化や遺伝子発現変化を明らかにするための解析を行った。アトピー性皮膚炎を自然発症するモデルマウスを使用し，皮膚組織の三次元免疫組織染色によって末梢神経の構造を観察した。その結果，症状の進んだ皮膚では，真皮の神経繊維の束がほどけるなど，劇的な構造変化が起こっていた。一方，表皮においては症状が進行する前から，神経繊維が表皮バリア機能を担うタイトジャンクションよりも外側に突出するという，正常皮膚では見られない現象が観察された。また，生体における表皮神経繊維のダイナミクスを解析するために，感覚神経特異的に蛍光タンパク質を発現するレポーターマウスを二光子レーザー顕微鏡観察したところ，表皮の感覚神経繊維は活発に伸縮したり，Ca^{2+} 濃度上昇とともに神経繊維の一部が消失したりすることが明らかとなった。このことは，常に内から外へとケラチノサイトのターンオーバーが起こる中で，神経繊維が表皮バリアの外側に突出しないための機構に寄与しているのではないか考えられる。今回明らかとなった皮膚神経の構造変化や遺伝子発現変化が，アトピー性皮膚炎における掻痒の惹起や慢性化に関与している可能性が考えられた。

（P8）肺高血圧病態における TRPM7 を介した血管内皮リモデリングの検討

倉原　琳，平石敬三，井上隆司（福岡大学 医学部 生理学）

血管リモデリングには，炎症による内皮細胞の間葉系細胞への移行過程(内皮間葉転換;EndMT)が深くかかわっている。本研究では，EndMT の分子機序における TRPM7 の潜在的役割および TRPM7 チャネルを抑制する生薬「冬虫夏草」を用いた肺高血圧治療の可能性について検討を行った。ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用い，TGF-β2 誘導によるストレスファイバーの発現を蛍光免疫染色法で観察し, EndMT マーカーの変化についてウェスタンブロット法を用いて評価した。また，モノクロタリン肺高血圧モデルラットにおける冬虫夏草の治療・予防効果について検討を行った。TGF-β2 で HUVEC を刺激すると, ストレスファイバーの形成やその他の EndMT に特徴的な変化が観察できた。この時, TRPM7 拮抗薬 FTY-720 （1 μM）や siRNA の処置によって TRPM7 チャネルの発現や機能を抑制すると，ストレスファイバーの形成や EndMT に伴う形態変化が抑制された。このことから TRPM7 は EndMT を促進することが推察された。FTY-720 は冬虫夏草由来成分に基づいて合成された新規化合

物であるが，冬虫夏草のエタノール抽出成分にも FTY-720 と同様の効果が観察された。肺高血圧モデルラットでは肺動脈内膜・中膜に TRPM7 の発現が観察され，モデル動物に冬虫夏草を１０日間（0.75g/kg BW/day）経口投与した結果，肺高血圧モデルで見られた体重減少・右室内圧・右室肥大・肺動脈中膜肥厚・心筋線維化に対して有意な抑制効果が観察された。以上の結果は，EndMT における新たなシグナル伝達経路 TRPM 7 の存在を示唆している。今後，これを手掛かりに，肺高血圧症の病態の理解や治療法の開発が進むことが期待される。

（P9）スフィンゴシン-1-リン酸誘発アストロサイト細胞応答における TRPC6 の関与

白川久志[1]，勝本るみ[1]，永安一樹[1]，中川貴之[2]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析学分野，[2]京都大学附属病院 薬剤部）

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P)は血中に豊富に存在し，かつ脳内で局所産生も行われる生理活性脂質であり，特異的な GPCR を介して標的細胞の増殖，生存，遊走など多様な細胞機能を制御する。S1P により活性化されるシグナル経路の一つに Ca^{2+} 動員があるが，脳内に最も豊富に存在するグリア細胞であるアストロサイトにおける S1P 誘発 Ca^{2+} 応答の詳しい機序は明らかにされていない。そこで本研究では S1P 誘発 Ca^{2+} 応答とそれに続くアストロサイト活性化における TRPC チャネルの関与について検討した。S1P (1 μM) をラット大脳皮質由来培養アストロサイトに投与したところ，一過性とそれに続く持続的な細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が Ca^{2+} イメージング法により観察され，その応答は $S1P_2$ 受容体阻害薬 JTE013，$S1P_3$ 受容体阻害薬 CAY10444，非選択的 TRPC チャネル阻害薬 Pyr2 で抑制された。さらに，多面的な作用を有するケモカイン CXCL1 の遊離が S1P 投与により惹起され，それは JTE013，CAY10444，Pyr2，MAPK 阻害薬，TRPC6 ノックダウン等により有意に抑制された。S1P はアストロサイトにおいて Gq 型 GPCR である $S1P_2$, $S1P_3$ を活性化させ，TRPC6 を介して流入した Ca^{2+} による細胞内シグナルが CXCL1 の産生・遊離を促進すると考えられた。

16. オルガネラネットワークの制御機構とその生理的意義

2016 年 7 月 28 日－7 月 29 日

代表・世話人：富澤一仁（熊本大学大学院生命科学研究部･分子生理学分野）
所内対応者：西田基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）
心循環シグナル研究部門）

（１）【特別講演】環境変化に伴うオルガネラ機能分化
－ペルオキシソームの機能転換と動態を中心として－
○西村幹夫（基礎生物学研究所･研究力強化戦略室）

（２）がん細胞と免疫細胞におけるミトコンドリア代謝と細胞機能
○康　東天（九州大学大学院医学研究院･臨床検査学）

（３）温度変化―熱産生は細胞内局所ナノメートル空間で観察できるか？
○森　泰生（京都大学 工学研究科･合成生物化学専攻）

（４）Taurino-modification of mitochondrial tRNAs governs cellular proteostasis that contributes to the development of mitochondrial disease
○魏　范研，富澤一仁（熊本大学大学院生命科学研究部･分子生理学分野）

（５）新しい Cysteine Persulfide Synthase の発見とそのミトコンドリア機能制御
○赤池孝章（東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学分野）

（６）レシオ型 pH 蛍光プローブ開発とオルガネラの pH 定量への応用
○花岡健二郎（東京大学大学院薬学系研究科･薬品代謝化学教室）

（７）自然免疫分子 STING はゴルジ体でのパルミトイル化で活性化する
○田口友彦，新井洋由（東京大学大学院薬学系研究科･衛生化学教室）

（８）オルガネラ分解の自在制御に向けて
○有本博一（東北大学大学院生命科学研究科･分子情報化学）

（９）MITOL によるミトコンドリアと小胞体の接着制御と生理機能
○長島　駿，武田啓佑，柳　茂（東京薬科大学生命科学部･分子生化学研究室）

（10）小胞体機能に対する酸化ストレスの影響
○上原　孝（岡山大学医歯薬学総合研究科･薬効解析学）

（11）Hippo/YAP シグナル経路におけるリサイクリングエンドソームの役割
○新井洋由（東京大学大学院薬学系研究科･衛生化学教室）

（12）環境中に存在する親電子物質および電子受容体で活性イオウ分子の役割を探る
○熊谷嘉人（筑波大学医学医療系･環境生物学研究室）

（13）オルガネラ形態ダイナミクスの物理モデリング
○立川正志，望月敦史（理化学研究所･望月理論生物学研究室）

（14）柔らかい分子集合体で創る人工細胞
○栗原顕輔（岡崎統合バイオサイエンスセンター（分子科学研究所）生体分子機能研究門）

（15）カルモジュリンキナーゼ群のレドックス感受性の相違とその意義
○渡邊泰男（昭和薬科大学･薬理学研究室）

（16）カドミウムの肝毒性に対する活性イオウ分子の防御的役割
○新開泰弘，秋山雅博，鵜木隆光，熊谷嘉人（筑波大学医学医療系･環境生物学研究室）

（17）Drp1－細胞骨格の相互作用による心筋ミトコンドリア品質管理

○島内　司[1,2]，西村明幸[1]，冨田（沼賀）拓郎[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所･心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院･創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

（18）細胞膜 TRPC3-NOX2 相互作用による心臓の硬さ制御

○冨田（沼賀）拓郎[1]，北島直幸[2]，西村明幸[1]，森　泰生[4]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所･心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院･創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」，
[4]京都大学大学院工学研究科・合成生物化学専攻）

（19）活性イオウによる H-Ras パルミトイル化の調節機構

○西村明幸[1]，冨田（沼賀）拓郎[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所･心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院･創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

（20）ヒトミトコンドリアマトリクスに局在するプロテアーゼ Lon の特異的基質の探索

○松島雄一，高橋和也，瀬戸山大樹，康　東天（九州大学大学院医学研究院･臨床検査医学）

（21）ミトコンドリア局在型可視光制御 NO 放出剤によるミトコンドリア断裂誘導

喜多村佳委，川口充康，家田直弥，○中川秀彦
（名古屋市立大学大学院薬学研究科･薬化学分野）

（22）血清アルブミンの S-ホモシステイン化修飾

○柴田貴広[1,2]，中島史恵[1]，内田浩二[1]
（[1]名古屋大学大学院生命農学研究科･食品機能化学研究分野，[2]JST さきがけ）

（23）8-nitro-cGMP による膜融合調節タンパク質の機能制御

○岸本祐典[1]，赤池孝章[2]，居原　秀[1]
（[1]大阪府立大学理学系研究科･生物科学専攻，
[2]東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学分野）

（24）血管平滑筋細胞において筋小胞体とカベオラの近接化により Ca2+マイクロドメインを形成する
ジャンクトフィリン 2 機能の解明

○佐伯尚紀[1]，鈴木良明[1]，山村寿男[1]，竹島　浩[2]，今泉祐治[1]
（[1]名古屋市立大学大学院薬学研究科･細胞分子薬効解析学分野，
[2]京都大学大学院薬学研究科･生体機分子認識学分野）

（25）Mitofusin によるミトコンドリア酸素・カルシウム制御機構の解明

○川崎桂輔，稲垣　奏，鈴木良明，山村寿男，今泉祐治
（名古屋市立大学大学院薬学研究科･細胞分子薬効解析学）

（26）NLRP3 インフラマソーム活性化のレドックス制御機構

○張　田力[1]，津々木博康[1]，小野勝彦[1]，赤池孝章[2]，澤　智裕[1]
（[1]熊本大学大学院生命科学研究部･微生物学分野，
[2]東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学分野）

（27）樹状突起スパインにおける local translation 機構と疾患
～tRNA 修飾欠損による X 染色体連鎖性精神遅滞発症メカニズム～

○永芳　友，魏　范研，富澤一仁（熊本大学大学院生命科学研究部･分子生理学分野）

（28）tRNA イオウ化修飾と活性イオウシグナル

○高橋　望[1]，魏　范研[1]，澤　智裕[2]，赤池孝章[3]，富澤一仁[1]

（[1]熊本大学大学院生命科学研究部・分子生理学分野，
[2]熊本大学大学院生命科学研究部・微生物学分野，
[3]東北大学大学院医学系研究科・環境保健医学分野）

（29）システイン tRNA 合成酵素欠損細胞株を用いたシステインパースルフィド合成酵素の探索

○守田匡伸，井田智章，松永哲郎，笠松真吾，西村　明，藤井重元，赤池孝章
（東北大学大学院医学系研究科・環境保健医学分野）

（30）システイン tRNA 合成酵素によるミトコンドリア機能制御

○松永哲郎[1]，井田智章[1]，魏　范研[2]，笠松真吾[1]，西村明幸[3]，守田匡伸[1]，
西村　明[1]，藤井重元[1]，西田基宏[3,4]，富澤一仁[2]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科・環境保健医学分野，
[2]熊本大学大学院生命科学研究部・分子生理学分野，
[3]自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）・心循環シグナル研究部門，
[4]九州大学大学院薬学研究院・創薬育薬研究施設統括室）

（31）酵母をモデル生物としたシステインパースルフィドの生理機能の解明

○西村　明[1]，那須野　亮[2]，松永哲郎[1]，井田智章[1]，笠松真吾[1]，
守田匡伸[1]，藤井重元[1]，高木博史[2]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科・環境保健医学分野，
[2]奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科）

（32）アミノアシル tRNA 合成酵素によるシステインパースルフィド合成とタンパク質ポリサルファ化

○井田智章[1]，魏　研范[2]，居原　秀[3]，守田匡伸[1]，笠松真吾[1]，松永哲郎[1]，
富澤一仁[2]，澤　智裕[4]，本橋ほづみ[5]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科・環境保健医学，
[2]熊本大学大学院生命科学研究部（医）分子生理学，
[3]大阪府立大学大学院理学部生物科学，
[4]熊本大学大学院生命科学研究部（医）・微生物学，
[5]東北大学加齢医学研究所加齢制御研究部門・遺伝子発現制御）

【参加者名】

赤池孝章（東北大学），新井洋由（東京大学），有本博一（東北大学），井田智章（東北大学），伊藤智哉（岡崎統合バイオサイエンスセンター），稲垣　奏（名古屋市立大学），居原　秀（大阪府立大学），今泉祐治（名古屋市立大学），魏　范研（熊本大学），上原　孝（岡山大学），内田邦敏（福岡歯科大学），内田浩二（名古屋大学），大野伸彦（生理学研究所），小田紗矢香（岡崎統合バイオサイエンスセンター），片山香織（基礎生物学研究所），川口充康（名古屋市立大学），川崎桂輔（名古屋市立大学），康　東天（九州大学），岸本裕典（大阪府立大学），橘髙裕貴（岡崎統合バイオサイエンスセンター），朽津和幸（東京理科大学），熊谷嘉人（筑波大学），栗原顕輔（岡崎統合バイオサイエンスセンター），佐伯尚紀（名古屋市立大学），佐藤幸治（岡崎統合バイオサイエンスセンター），澤　智裕（熊本大学），柴田貴宏（名古屋大学），島内　司（岡崎統合バイオサイエンスセンター），下田　翔（岡崎統合バイオサイエンスセンター），新開泰弘（筑波大学），鈴木良明（名古屋市立大学），田口友彦（東京大学），武田啓佑（東京薬科大学），立川正志（理化学研究所），徳山剛士（東京薬科大学），富澤一仁（熊本大学），冨田拓郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター），中川秀彦（名古屋市立大学），長島　駿（東京薬科大学），永芳　友（熊本大学），鍋倉淳一（生理学研究所），西田基宏（岡崎統合バイオサイエンスセンター），西村明幸（岡崎統合バイオサイエンスセンター），西村　明（東北大学），西村幹夫（基礎生物学研究所），野中茂紀（基礎生物学研究所），花岡健二郎（東京大学），東島眞一（岡崎統合

バイオサイエンスセンター），前田和輝（名古屋市立大学），松木克仁（名古屋市立大学），松島雄一（九州大学），松永哲郎（東北大学），本橋ほづみ（東北大学），守田匡伸（東北大学），森　泰生（京都大学），柳　茂（東京薬科大学），山方基寛（名古屋市立大学），山越大槻（名古屋市立大学），山田啓史（名古屋市立大学），山村寿男（名古屋市立大学），山村英斗（名古屋市立大学），山本翔一（慶應義塾大学病院），渡邊泰男（昭和薬科大学）

【概要】

細胞小器官（オルガネラ）は，細胞内部で特に分化した形態や機能をもつ構造の総称であり，その高度に発達した機能によって，生命の素因子である細胞の恒常性が維持されている。核，ミトコンドリア，小胞体，ゴルジ体，エンドソーム，リソソーム，ペルオキシソームなど多くのオルガネラは生体膜で囲まれた構造体を有しており，膜系オルガネラが内構造を区画することにより，様々な化学環境下での生反応を並行することを可能にしている。本研究会では，国内で独自のオルガネラ研究またはオルガネラネットワークを媒介する化学物質の生理的研究を推進している研究者が岡崎に集い，オルガネラ内外を行き来する様々な化学物質によるオルガネラ制御タンパク質の機能修飾の分子機構とその生理的意義について各論的な研究成果を紹介した。こうした基礎情報を基に，化学物質によって仲介されるネットワーク（オルガネラネットワーク）とその生理学的意義の可能性について議論を行った。また，環境親電子物質によるオルガネラ恒常性の撹乱というユニークな観点から，環境因子と病態形成の関係についても議論を行った。さらには，上記のシグナル伝達を可視化・定量する最先端技術を共有することで，生理学の視点からオルガネラ研究の発展を促した。若手研究者には自身の最新の成果をポスター発表してもらい，本研究領域の若手研究者育成を図った。

（1）環境変化に伴うオルガネラ機能分化
－ペルオキシソームの機能転換と動態を中心として－

○西村幹夫[1]，後藤志野[2]，及川和聡[3]，真野昌二[4]
（[1]基礎生物学研究所･研究力強化戦略室，[2] Jagiellonian University, Poland,
[3]新潟大学･農学部，[4]基礎生物学研究所･多様性生物学研究室）

移動することができない植物は環境変化をシグナルとして，その生活環を営んでいる。私達は植物の環境適応の基盤となるオルガネラの機能分化の可逆性やその動態の解明に取り組んできた。本講演では，長年不明のまま残されていた，植物ペルオキシソームの照射による機能転換（グリオキシソームから緑葉ペルオキシソーム）の分子機構に関する研究を紹介するとともに，生体内可視化技術を用いて明らかになったペルオキシソームと葉緑体の物理的相互作用について得られたオルガネラの動態を取り上げることにより，オルガネラの局所的接着現象の重要性を示した。

＜文献＞

1) Highly oxidized peroxisomes are selectively degraded via autophagy in Arabidopsis.
Shibata, M. et al. Plant Cell 25: 4967-4983 (2013)
2) Chaperone and protease functions of LON protease 2 modulate the peroxisomal transition and degradation with autophagy.
Goto-Yamada, S. et al. Plant Cell Physiol. 55(3): 482-496 (2014)
3) Dynamics of the light dependent transition of plant peroxisomes.
Goto-Yamada, S. et al. Plant Cell Physiol. 56(7): 1264-1271(2015)
4) Physical interaction between peroxisomes and chloroplasts elucidated by in situ laser analysis
Oikawa K. et al. Nature Plants. 1: 15057 (2015)

（2）がん細胞と免疫細胞におけるミトコンドリア代謝と細胞機能
Regulation of functions by mitochondrial metabolisms in cancer and dendric cells

○康　東天（九州大学大学院医学研究院･臨床検査医学分野）

多くの固形がんではその内部にある細胞は多かれ少なかれ低栄養的な環境下にある。その環境を模倣するためにoncogenic HRas 遺伝子導入野生型 MEF 細胞を低血清環境下で培養したところ，呼吸能が回復し，Oct4 and Aldh1a1 の発現や抗がん剤抵抗性などがん幹細胞に類似した表現型を示した。低血清は ER ストレスレスポンスを誘導し，NO 産生を増加させた。NO 産生阻害剤の SEITU はがん幹細胞遺伝子の発現を抑制した。これらの結果から，がん細胞は栄養環境の悪化に対する生存適応反応としてがん幹細胞様の変化を起こしていること，そしてその変化は ER ストレスレスポンスと NO 産生を介していることが示唆された。我々は C1QBP/p32（以後 p32）はほとんどがミトコンドリアに局在し，酸化的リン酸化に重要であることを見出していた。さらに p32 ノックアウト MEF 細胞の解析から，p32 はミトコンドリア内で RNA シャペロン，タンパク質シャペロンとして効率的な翻訳に必須分子であること示した。樹状細胞での p32 の欠損はその遊走能には影響を与えないが，抗原提示能を強く低下させた。代謝産物解析から，その低下はミトコンドリアでの脂肪酸の代謝の変化の結果もたらされたものであった。これらの結果は，樹状細胞の活性化ひいては免疫反応の制御にミトコンドリア代謝が非常に重要であることを示している。

（3）温度変化―熱産生は細胞内局所ナノメートル空間で観察できるか？

○森　泰生（京都大学大学院･工学研究科）

温度は生体内化学反応の重要な決定因子の一つである。私たちは，生体適応における内温性とその対比としての外温性に着目し，GFP の蛍光特性を利用した遺伝子コード化型温度センサーである tsGFP を開発した。tsGFP を細胞内の特定部位・小器官に局在化させることにより，そこでの温度変化（熱産生）の可視化を試みたところ，同一細胞の同一部位・小器官においても不均一性が見られた。最近，この観察を熱力学的原理に基づく計算により否定する論証がなされ，測定できる温度変化は 10-5℃未満であるとの報告がなされた。しかし，細胞の熱伝導性等に関する前提条件上の誤り，及び基盤とする熱力学方程式の適用限界等の問題点に依拠し，本論証は容易に反論することができた。

（4）ミトコンドリアを中心とするオルガネラトキシコロジーの分子機構

○魏　范研，富澤一仁（熊本大学大学院生命科学研究部･分子生理学分野）

ミトコンドリア病は心筋，骨格筋及び神経の機能低下を伴う重篤な遺伝疾患である。多くの患者においてミトコンドリア DNA の点変異が認められ，先天的なミトコンドリア機能不全がエネルギー代謝障害を介してミトコンドリア病の発症を誘発と考えられているが，その分子基盤の全体像はまだ不明である。我々は，ミトコンドリア DNA の点変異を有する患者ではミトコンドリア tRNA のタウリン修飾が消失することを見出した。タウリン修飾欠損マウスを作製し検討したところ，欠損マウスではミトコンドリアタンパク質翻訳並び好気的呼吸が劇的に低下していた。興味深いことに，ミトコンドリア機能低下は小胞体ストレスを誘発し，細胞質側のタンパク質翻訳及び機能を低下させていた。さらに，小胞体ストレスを抑制すると，ミトコンドリアの機能が顕著に

改善した。これらの結果から，細胞内オルガネラ同士は機能的に密に連携していることが明らかになった。一方のオルガネラ（ミトコンドリア）の機能不全が他のオルガネラ（小胞体）に波及し，深刻な細胞機能不全を誘発した。ミトコンドリアを発端とするオルガネラネットワークの多発的な障害がミトコンドリア病の原因であると推測された。

（5）新しい Cysteine Persulfide Synthase の発見とそのミトコンドリア機能制御

○赤池孝章（東北大学大学院医学系研究科）

我々は，従来から知られているチオール化合物よりも反応性が高く，より強い抗酸化機能を持つ含硫分子と定義される活性イオウ分子種という概念を提唱した。活性イオウ分子種として，我々はシステインやグルタチオン，タンパク質のチオール（R-SH）にイオウ原子が過剰に付加した, パースルフィド [R-S-(S)n-SH, R-S-(S)n-S-R] が，S 原子をひとつ含む R-SH や硫化水素と比較し反応性が極めて高いことを明らかにした。我々は，化学合成した多数の安定同位体含有合成標品を内部標準として，液体クロマトグラフィー質量分析法によるパースルフィドの検出・定量法を確立した。この方法を用いて，生体内にパースルフィドが多量に生成しており，また，高い抗酸化活性，親電子物質の代謝活性を持つことを見出した。さらに，タンパク質パースルフィドの検出も行った。種々の親電子物質とパースルフィドとの反応特性を利用して，ポリスルフィドタンパク質のビオチン–ポリエチレングリコール誘導体化と組み合わせたポリアクリルアミド電気泳動およびウエスタンブロッティングの手法（PEG-maleimide-labeling gel shift assay, PMSA）を用いることで，種々のタンパク質のシステイン残基が，高い頻度と高いレベルで，パースルフィド化されていることを明らかにした。そのメカニズムとして，翻訳時にシステイニル-tRNA 合成酵素（CARS）が，新規 CPERS としてシステインパースルフィドを生合成し，それが新生ペプチド・タンパク質活性に取り込まれることで形成されることを証明した。興味あることに，ミトコンドリア型 CARS が，そのパースルフィド生成を介してミトコンドリア電子伝達系や解糖系の促進因子として機能することも明らかになった。

（6）レシオ型 pH 蛍光プローブ開発とオルガネラの pH 定量への応用

○花岡健二郎 [1]，鏡味　優 [1]，浦野泰照 [1,2,3]
（[1] 東京大学大学院薬学系研究科，[2] 東京大学大学院医学系研究科，[3]AMED CREST）

我々は近年, pH 変化に応じて高い蛍光性を保ったまま約 80 nm もの大きな吸収波長変化を示すローダミン系蛍光色素の開発することに成功した。本分子はローダミンの特徴である高い光褪色耐性を持つ有用な pH 感受性プローブとなる。さらに，異なる二波長で励起した際の蛍光強度比(レシオ)の変化を測定することで細胞内の酸性 pH を定量的に測定できる二波長励起一波長測光用のレシオ型 pH プローブであった。酸性オルガネラの pH 測定を行うための蛍光プローブとしては，pH 5〜7 の範囲でレシオが大きく変化する pKa を有すること，特定の酸性オルガネラにプローブを送達できることが必要であったため，ピペラジン環アミノ基上に電子求引性置換基を有する種々の誘導体を合成した結果，条件を満たす pH プローブの開発に成功した。さらに，本プローブを特定のオルガネラに局在する高分子であるデキストラン(Dex)または鉄輸送タンパク質トランスフェリン(Tfn)に標識し，オルガネラのライブ pH イメージングを行った結果，リソソーム，初期エンドソーム，リサイクルエンドソーム等の pH を定量的に測定することに成功した。また, 本プローブは近赤外蛍光性であるため, GFP や YFP

といった汎用される緑色から黄色蛍光タンパク質と同時に用いることが可能であり，今後 pH に関わる生命現象の解明に貢献することが期待される。

（7）自然免疫分子 STING はゴルジ体でのパルミトイル化で活性化する

○田口友彦 [1,2]，新井洋由 [1,2,3]
（[1] 東京大学大学院薬学系研究科疾患細胞生物学，[2] 東京大学大学院薬学系研究科衛生化学，[3]AMED-CREST）

炎症の初期過程において自然免疫応答は重要な役割を担っている。最近, 細胞質に露出した DNA を感知し，I 型インターフェロン応答を惹起する分子 STING が同定され，そのノックアウトマウスの解析から自然免疫応答における重要性が明らかとなった。STING は小胞体局在の４回膜貫通タンパク質であり，刺激に応じ核近傍のオルガネラに輸送されることが分かっていたが，その局在変化の意義は全く不明であった。

私たちは細胞内オルガネラの空間分布が観察しやすい COS1 細胞を用いて EGFP-mSTING 安定発現細胞を樹立し, その細胞に膜透過性のマウス特異的 STING アゴニストを添加することで EGFP-mSTING の同調した輸送とシグナルの活性化を評価する系を構築した。この系を用いて STING の細胞内輸送経路を解析したところ, STING は刺激に応じて速やかに小胞体を脱出し，ゴルジ体，リサイクリングエンドソーム，リソソームと逐次的に移行することを見出した。さらに，STING がゴルジ体に局在している時間で下流分子 TBK1/IRF3 を活性化していること，STING のゴルジ体でのパルミトイル修飾が活性に必須であることが明らかとなった。スフィンゴ脂質の脂肪酸組成を変化させると STING 経路の活性化が抑制されたことから，ゴルジ体で形成される脂質ラフト環境が STING の活性化に重要である可能性が示された。

Mukai et al., Nat Commun (2016) Vol7, 11932

（8）オルガネラ分解の自在制御に向けて

○有本博一，高橋大輝（東北大学大学院生命科学研究科･分子情報化学分野）

オートファジーは，細胞外由来物質の分解「ヘテロファジー」に対して命名された。細胞質に内在する物質の主要分解経路である。分解対象選択性がないと当初考えられていたが，分解対象を選ぶ選択的オートファジーが発見されて，大きく注目されている。

細胞内に侵入した細菌の排除は，本来ヘテロファジーの範疇に入るが，エンドソームから細胞質へ抜け出すと，オートファジー分解を受ける。私たちは A 群連鎖球菌 (GAS, JRS-4 株)の排除過程を研究するなかで，タンパク質 S-グアニル化と選択的オートファジーの関係に興味をもった。S-グアニル化は, 内因性小分子 8-ニトロ cGMP とシステイン残基の間で進行する修飾反応である 2)。GAS は，ストレプトリジン O (SLO) を分泌し，エンドソームから細胞質に脱出するが，その後オートファジーに捕捉されて分解される。オートファゴソームに隔離された細菌の S-グアニル化修飾率は，細胞質の細菌に比べて目立って高く，「排除の目印」として S-グアニル化が使われているという着想を得た。詳しく検討すると S-グアニル化は，引き続くユビキチン化と連動しており，S-グアニル化を抑制する処理は, GAS のオートファジー排除を遅延させた。目印としての S-グアニル化には多彩な応用が期待できる。

1) Ito and Saito et al., Mol. Cell 52, 794 (2013).
2) Sawa et al., Nat. Chem. Biol. 3, 727 (2007).

（9）MITOL によるミトコンドリアと小胞体の接着制御と生理機能

○長島　駿，○武田啓佑，柳　茂（東京薬科大学生命科学部･分子生化学研究室）

ミトコンドリアはエネルギー産生を担う重要な細胞小器官である。近年の研究においてミトコンドリアと小胞体の接着がミトコンドリアの機能維持に重要であることが明らかになりつつある。しかしながら，ミトコンドリアと小胞体の接着点の形成機構は未だに不明な点が多い。本研究では，ミトコンドリアに局在し，ミトコンドリアダイナミクスやミトコンドリアと小胞体である mitochondria associated ER membrane (MAM) の形成を制御するユビキチンリガーゼ MITOL に着目し，脳特異的な MITOL 欠損マウスを用いて神経細胞における MAM の機能の解明を試みた。MITOL 欠損神経細胞は MAM の減少やミトコンドリア特異的な脂質であるカルジオリピンの減少，mitochondrial supercomplex の減少や神経細胞死を示し，MAM がミトコンドリアの正常な機能を維持するために重要な働きを担うことが示唆された。本講演ではこれらの MITOL 欠損マウスの解析によって得られた知見やミクロトーム組み込み型走査電子顕微鏡 (SBF-SEM) を用いた MAM の新たな三次元解析方法について紹介した。さらに，MITOL は MAM の形成を制御するだけでなく，MAM を介して ER ストレスのセンサーを制御することも見出した。

（10）小胞体機能に対する酸化ストレスの影響

○上原　孝（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科･薬効解析学）

分泌性あるいは細胞膜局在性のタンパク質は，翻訳後，小胞体内腔でシステイン（Cys）ジスルフィド結合が構築され，正しく折りたたまれる。その後，ゴルジ体に輸送されて，複雑な糖鎖修飾を受けることで成熟化する。この過程に何らかの異常がある際，未成熟な変性タンパク質として蓄積し，小胞体ストレスを惹起する。通常，変性タンパク質は速やかに小胞体関連分解（ERAD）によって排除されるか，あるいは，小胞体膜に存在するセンサー分子が関知して unfolded protein response (UPR) と呼ばれるシグナル伝達経路を活性化させる。一酸化窒素（NO）をはじめとする親電子性を有した化合物は，ジスルフィド結合形成・再構成に重要な酵素である PDI の活性中心に存在する Cys 残基を酸化修飾することを発見した。この修飾は酵素活性の抑制をもたらすことで新生タンパク質の成熟を阻害する結果，小胞体ストレスを介して細胞死が惹起されることを証明した。さらに最近，小胞体ストレスセンサー分子である IRE1α のヌクレアーゼドメイン中の Cys 残基も NO によって修飾されることを明らかにした。このことは，NO がタンパク質成熟機構を破綻させるだけでなく，細胞の危機的状態を回避する重要なシグナル伝達である IRE1-XBP1 経路も阻害することで，さらに細胞死を促進していることが示唆された。

（11）Hippo/YAP シグナル経路におけるリサイクリングエンドソームの役割

○新井洋由 [1,2,3]
（[1] 東京大学大学院薬学系研究科･疾患細胞生物学，[2] 東京大学大学院薬学系研究科衛生化学，[3]AMED-CREST）

近年の研究から，細胞膜に加えて，各種エンドソームが細胞内シグナル伝達の起点と成りうることが明らかになってきた。初期エンドソーム／後期エンドソームにおける Toll-like receptor や NOD2 を介した先天炎症応答シグナル，リソソームにおける mTORC を介した細胞内栄養応答シグナルなどである。リサイクリングエンド

ソームは，細胞膜からエンドサイトーシスで取り込んだ物質を細胞膜へリサイクルするのに必要なエンドソームである。しかしながら，今までリサイクリングエンドソームを起点とする細胞内シグナルに関してはほとんど明らかにされていない。

私たちは，リサイクリングエンドソームの細胞質側脂質層にリン脂質 phosphatidylserine (PS) が豊富に存在することを見出し 1, この PS が起点となるシグナル伝達の可能性を考えた。我々が開発した PS 選択的かつ高親和性プローブ（evectin-2 の PH ドメインをタンデムに結合したもの）に BirA* (活性化ビオチンを放出するビオチン転移酵素）を結合し，PS 近傍分子を細胞内でビオチン化した。ビオチン化タンパク質を質量分析により同定したところ，全く予想外なことに，細胞増殖／細胞増殖停止シグナルに重要な Hippo/YAP 経路に関与する分子が，YAP を含めて複数同定されてきた。さらに，リサイクリングエンドソームの細胞質側 PS の濃縮に重要である PS フリッパーゼ ATP8A12 をノックダウンすると，YAP 依存性の細胞増殖が著しく抑制された。このことから，リサイクリングエンドソーム／PS を起点とする細胞増殖制御機構の存在が示唆された。

1. Y. Uchida et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 108, 15846-15851 (2011).
2. S. Lee et al., EMBO J. 34, 669-688 (2015).

（12）環境中に存在する親電子物質および電子受容体で活性イオウ分子の役割を探る

○熊谷嘉人（筑波大学医学医療系･環境生物学分野）

環境中には多種多様な化学物質が存在して，それらが生体内に取り込まれて有害な作用を生じることが危惧さているが，そのリスク増加に関わる分子メカニズムは詳しく理解されていない。我々はこれまで，環境化学物質の中でもタンパク質のチオール基に共有結合するアルキル化剤（親電子物質）および活性酸素種（ROS）の触媒的産生を引き起こす電子受容体の生体影響，生体応答機構等を検討してきた。たとえば，メチル水銀（MeHg）は，低濃度ではタンパク質のシステイン残基の化学修飾を介したレドックスシグナル伝達を活性化し，高濃度では当該シグナル伝達の破綻および毒性を生じた。一方，9.10-フェナントラキノン（9,10-PQ）は，NO 合成酵素の“アンカプラー”となり，本酵素活性を阻害して NO 由来血管弛緩の低下および血圧上昇を引き起こした。

ところで，活性イオウ分子（RSS）は高い求核性および抗酸化性を有することから，生体のレドックスホメオスタシスの鍵分子として注目されている。興味深い点は，MeHg は RSS からイオウ原子を捕獲して(MeHg)2S を生成し，9,10-PQ は RSS を 1 電子酸化して RSS ラジカル体を産生することが示されたことである。本講演では，RSS のレドックスホメオスタシスの役割と，当該環境物質曝露による RSS の動的平衡の破綻で生じるリスク増加について議論した。

（13）オルガネラ形態ダイナミクスの物理モデリング

○立川正志（理化学研究所･望月理論生物学研究室）

真核細胞の複雑なシステムが安定・恒常的に維持される背景には，オルガネラによって担われている高度に分業化された生化学反応がある。この分業を遂行するために，オルガネラは，進化を経て複雑な三次元構造を作り上げた。この二つの複雑性を包括的に理解することが，真核細胞を理解する上で重要であると考えられる。本研究では，この問題のうち膜系オルガネラが作り出す三次元構造の理解に，物理モデリングを用いて迫ることを試みた。膜系オルガネラの三次元形態は，脂質膜が折りたたまれる事によりその基本構造が作られている。我々は

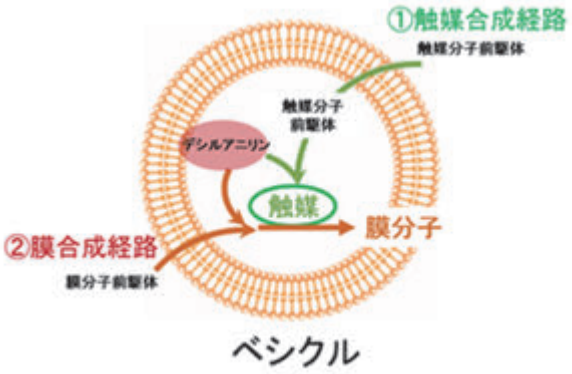
脂質膜の物理的性質に基づいた物理モデルシミュレーションを構成し，膜系オルガネラの形態が再現できるか調べた。結果，単純な脂質膜ではその形態多様性を説明できないが，膜に屈曲を与える分子（タンパク質）を１種類導入することで，扁平嚢やチューブなど，オルガネラを構成する形態要素が再現されることを見出した。このことは，個々のパーツがシンプルな物理的過程で作り出されることを意味している。次に，これらパーツがどのように配置され三次元構造を作り出していくかを見るために，細胞分裂期のゴルジ体再集合過程をモデリングによる再現を試みた。その結果，膜融合が膜形態と相関しながら進むことにより，ベシクルの集合からゴルジ様形態が再現良く自己組織化的に構築されることを見出した。

（14）柔らかい分子集合体で創る人工細胞

○栗原顕輔 [1,2,3]
([1] 自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命動秩序形成研究領域･構成生物学研究部門，
[2] 自然科学研究機構分子科学研究所 生命錯体分子科学研究領域･生体分子機能研究部門，
[3] 東京大学複雑系生命システム研究センター）

近年，生命の基本的性質を定義したモデルを構成し，それらが創発する現象から生命の普遍的性質を考察する「構成的生物学アプローチ」が注目を集めている。このアプローチに基づき，本研究室では中空状の脂質膜であるベシクル（リポソーム）を擬似細胞膜とし，有機化学的な手法を用いてベシクル型人工細胞の構築を目指している。

我々が構築した系として，生命に必須な要素である境界と代謝のための触媒を，同一のベシクル内部で合成させた系を述べる（図 1）。本系は，まずベシクルが触媒分子前駆体を取り込み，デシルアニリンと反応させて触媒を内部で合成し，次いで生成した触媒分子がベシクルの膜分子合成を促進する。膜分子増殖に伴い，ベシクルが肥大・分裂するダイナミクスを，微分干渉顕微鏡を用いてリアルタイム観察した。触媒と膜分子が同じイミン結合を持つ一本鎖型両親媒性分子とし，デシルアニリンという共通の“養分”から生成する設計を施すことで，触媒生産と膜生産が連動する系が誕生した。さらにこの系を拡張し，自己増殖する油滴システムを足場に，油滴を消費しながら自己増殖するベシクルシステムも構築した。



[1] J. W. Szostak et al., Nature 409, 387-390 (2001).
[2] L. Sheng & K. Kurihara, Chem. Lett. 45, 598-600 (2016).
[3] L. Sheng & K. Kurihara, Chem. Commun. 52, 7786-7789 (2016).

（15）カルモジュリンキナーゼ群のレドックス感受性の相違とその意義

○渡邊泰男（昭和薬科大学･薬理学研究室）

細胞機能調節に関わる細胞内情報伝達は様々なタンパク質リン酸化酵素が関与することが知られている。中でも，カルシウム/カルモデュリン（Ca^{2+}/CaM）によって活性化されるリン酸化酵素，CaM キナーゼ群は，GTPase である DRP1(dynamin-related protein 1)のリン酸化を介してミトコンドリアダイナミクスを制御している。

一方，タンパク質のリン酸化・脱リン酸化に依存せず，タンパク質の構成アミノ酸の特定のシステインチオール基（Cys-SH）の化学修飾（酸化，S-ニトロシル化，S-グルタチオン化，スルフヒドリル化：ヒドロパースルフィド化）は，そのタンパク質機能制御に関わっている。このように，細胞におけるシグナル伝達には，上記の種々のタンパク質修飾による機能制御が調和を持ちつつ相互作用していることが想定される。

私共は，これまで CaM キナーゼ群の Cys-SH のレドックス制御を見いだしてきた。本発表では，その修飾でタンパク質の機能性が障害されるサクシニル化を含んだ CaM キナーゼ群のレドックス応答性をミトコンドリア機能における意義について討論を行った。

（16）カドミウムの肝毒性に対する活性イオウ分子の防御的役割

○新開泰弘，秋山雅博，鵜　隆光，熊谷嘉人（筑波大学医学医療系・環境生物学研究室）

カドミウムは親電子性を有し，タンパク質のシステイン残基を修飾することによってその機能障害を引き起こし，それが毒性発現の一因となると考えられている。本研究では，パースルフィドやポリスルフィドなどの活性イオウ分子が高い求核性を有することに着目し，カドミウムの肝毒性に対する活性イオウ分子の防御的役割を明らかにすることを目的とした。その結果，カドミウムの曝露で生じる肝障害は，野生型マウスと比較して活性イオウ分子産生酵素の１つである cystathionine γ-lyase (CSE) の欠損により増強した。一方，ポリスルフィドのモデル化合物である Na2S4 との同時投与によりカドミウムの肝毒性は抑制された。また，マウス初代肝細胞を用いたところ，細胞内外の活性イオウ分子の量は CSE 欠損によって低下し，これと一致してカドミウムの曝露によって生じる細胞毒性はCSEの欠損により増強した。一方，Na2S4 の処理によって細胞内外の活性イオウ分子の量は増加し，これと一致してカドミウムの細胞毒性は Na2S4 の処理によって軽減された。以上より，活性イオウ分子はカドミウムを不活性化することにより，肝毒性の防御において重要な役割を担っていることが示唆された。

（17）Drp1－細胞骨格の相互作用による心筋ミトコンドリア品質管理

○島内　司[1,2]，西村明幸[1]，冨田（沼賀）拓郎[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所・心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院・創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

ミトコンドリア代謝異常は様々な疾患の原因として注目されている。我々は，心筋梗塞後の梗塞周辺領域のマウス心臓において，心筋細胞の早期老化が起こる前段階にミトコンドリア分裂が起こることを見出した。この過程において，低酸素シグナルとミトコンドリア分裂促進 GTP 結合タンパク質 dynamin-related protein 1 (Drp1) が活性化していた。ミトコンドリア分裂を指標に既承認薬のスクリーニングを行い，L/N 型 Ca^{2+}チャネル阻害薬シルニジピンがミトコンドリア分裂と心筋老化を抑制することを見出した。マウス心筋梗塞モデルにおいてシルニジピンは Drp1 活性化を抑制し，心不全を改善した。また，低酸素下で活性化した Drp1 は細胞骨格タンパク質 Filamin と相互作用していること，この相互作用はシルニジピンによって抑制されることを見出した。Filamin 欠損細胞に Filamin を発現させることで Drp1 は活性化し，その活性はシルニジピンによって抑制された。以上の結果は Filamin は Drp1 活性化に必要であり，Filamin-Drp1 相互作用の制御がミトコンドリア品質管理に重要である事が示唆された。

（18）細胞膜 TRPC3-NOX2 相互作用による心臓の硬さ制御

○冨田（沼賀）拓郎[1]，北島直幸[2]，西村明幸[1]，森　泰生[4]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所･心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院･創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」，
[4]京都大学大学院工学研究科･合成生物化学専攻）

心臓の拡張期の機械的伸展に惹起される細胞内シグナル伝達は心臓の生理的あるいは病的なストレス適応応答に重要である。最近の研究により，拡張期の心筋に対する伸展刺激は，NADPH oxidase 2 (Nox2) 依存的に局所的な活性酸素種（ROS）産生を誘導し，心筋の収縮における Ca^{2+} シグナルの調節に関わることが明らかにされた。しかしながら，その詳細な分子メカニズムは未だ明らかにされていなかった。本研究において，我々は，非選択的カチオンチャネルである canonical transient receptor potential3 (TRPC3) が機械的伸展刺激に惹起される Nox2 依存的 ROS 産生に寄与することを明らかにした。TRPC3 の特異的阻害剤 Pyr3 および siRNA 処置は，単離心筋細胞において，機械伸展刺激に惹起される Nox2 の活性化を有意に抑制した。さらに TRPC3 は Nox2 と複合体を形成することにより Nox2 の安定化にも重要であった。TRPC3 を欠損したマウスを用いて，圧負荷による心臓リモデリングを検討した結果，TRPC3 欠損マウスでは心臓の線維化（硬化）が有意に抑制されていた。一方で，心臓の肥大には大きな変化は観察されなかった。以上のことから TRPC3-Nox2 の物理的・機能的連関は心臓の機械的負荷に対して，心臓の硬度変化を利用したストレス代償機構に重要であることが示唆された。

（19）活性イオウによる H-Ras パルミトイル化の調節機構

○西村明幸[1]，冨田（沼賀）拓郎[1]，西田基宏[1,2,3]
（[1]自然科学研究機構生理学研究所･心循環シグナル研究部門，
[2]九州大学大学院薬学研究院･創薬育薬研究施設統括室，[3]JST さきがけ「疾患代謝」）

GTP 結合蛋白質（G 蛋白質）は細胞内シグナル伝達を仲介する分子スイッチとして機能する。これまでに H-Ras を含むいくつかの G 蛋白質が活性酸素感受性であり，心不全の進行に関与することが報告されている。我々はこれまでに活性酸素存在下において cGMP と NO から親電子物質 8-nitro-cGMP が産生されること，8-nitro-cGMP は H-Ras のシステイン 184 番をグアニル化修飾することで心筋老化を誘導することを報告してきた。一方，H-Ras のシステイン 184 番はパルミトイル化修飾部位としても報告されている。そこで心肥大の進行に伴う H-Ras パルミトイル化修飾の変動を調べたところ，H-Ras の親電子修飾が心肥大の進行に伴い上昇するのに対して，パルミトイル化修飾は減少することが明らかとなった。興味深いことに，H-Ras は活性イオウによりシステイン残基がポリ硫黄化されており，還元処置によりパルミトイル基が解離することが明らかとなった。さらにメチル水銀により活性イオウを枯渇させると H-Ras の脱パルミトイル化が抑制されることが明らかとなった。即ち，活性イオウによる H-Ras のポリ硫黄化がパルミトイル化修飾の可逆性に関与することが明らかとなった。

（20）ヒトミトコンドリアマトリクスに局在するプロテアーゼ Lon の特異的基質の探索

○松島雄一，高橋和也，瀬戸山大樹，康　東天（九州大学大学院医学研究院･臨床検査医学）

ミトコンドリアマトリクスには Lon, ClpXP, m-AAA の 3 種のプロテアーゼが存在し，これらはバクテリアからヒ

トまで広く保存されている。これら 3 種のプロテアーゼはタンパク質の異常な蓄積などを防ぎ, ミトコンドリア機能を正常に保っていると考えられている。一部のタンパク質は特定のプロテアーゼによって特異的に分解されることが報告されているが，その例は未だ少ない。また近年これらプロテアーゼの遺伝子変異がそれぞれ異なる疾患を引き起こすことも明らかになってきた。

我々は Lon が特異的に分解している新たなタンパク質を探索するため，siRNA により Lon をノックダウンした HeLa 細胞を用いて実験を行った。質量分析装置を用いた網羅的特異的基質探索の結果，Lon をノックダウンした HeLa 細胞では多くのミトコンドリアリボソームタンパク質が数多く蓄積することが明らかになった。またこれらミトコンドリアリボソームタンパク質が特異的に分解される条件下において Lon をノックダウンするとこの分解が阻害されること, さらにClpXPのプロテアーゼサブユニットである ClpP のノックダウンではその分解が阻害されないことから, ミトコンドリアリボソームタンパク質はLonにより特異的に分解されていることが示唆された。

（21）ミトコンドリア局在型可視光制御 NO 放出剤によるミトコンドリア断裂誘導

喜多村佳委，川口充康，家田直弥，○中川秀彦（名古屋市立大学大学院薬学研究科・薬化学分野）

一酸化窒素（NO）は，情報伝達物質として様々な生理機能に関与するが，反応性の高いガス状物質である事から，研究には一酸化窒素供与剤（NO ドナー）が汎用されてきた。特に光制御 NO ドナーは，NO 投与の時空間的な制御を実現できる事から注目されるが，従来の光制御 NO ドナーの多くは，生体障害性の大きい紫外線を要するため，その生体応用が大きく制限されてきた。本研究では，ジメチルニトロベンゼンが光異性化反応による NO 放出を起こすことに着目した上で，生体応用可能な可視光作動性 NO ドナーを目指した。可視光吸収を示す蛍光団としてローダミンに着目し，可視光制御ミトコンドリア局在型 NO ドナーとして Rol-DNB-pyr を設計合成した。Rol-DNB-pyr は黄緑色光照射により NO を放出する事が確認された。また，細胞内でミトコンドリアに局在することがミトコンドリア染色試薬との共染色によって確認された。バキュロウイルスベクターを用いてミトコンドリアに GFP を発現させた HEK293 細胞に対し，Rol-DNB-pyr を投与し，可視光照射によって NO を発生させたところ，光照射依存的なミトコンドリア断裂が観察された。この分裂誘起は Drp1 選択的阻害剤である Mdivi-1 投与で抑制され，Drp1 を介するミトコンドリア動態変化と考えられた。

（22）血清アルブミンの S-ホモシステイン化修飾

○柴田貴広 [1,2]，中島史恵 [1]，内田浩二 [1]
（[1] 名古屋大学大学院生命農学研究科・食品機能化学研究分野，[2]JST さきがけ）

血中の主要なタンパク質である血清アルブミンは, 浸透圧維持や脂肪酸，ホルモン等の保持・搬送など生体の恒常性維持に関与している重要なタンパク質である。演者らは, ヒト高脂血症患者血清について HPLC による解析を行ったところ, 健常者と比較して酸化型アルブミンが増加していることを見出した。さらに血清アルブミンの酸化状態について解析を行ったところ, 血清アルブミン中のシステイン残基がその酸化のターゲットであることを明らかにした。また質量分析を用いた解析から，血清アルブミンがホモシステイン修飾されていることを確認した。このホモシステイン化血清アルブミンの機能について解析を行ったところ, ホモシステイン化により疎水性領域が増大するとともにコレステロールなどの脂溶性分子との相互作用が増加することを見出した。さらに，マクロファージ様細胞である RAW264.7 に対し，シクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) の発現を誘導することが明らかとなった。これらの結果から, ホモシステイン化血清アルブミンは内因性の炎症誘導分子として作用する可能性が示された。

（23）8-nitro-cGMP による膜融合調節タンパク質の機能制御

○岸本祐典[1]，赤池孝章[2]，居原　秀[1]
（[1]大阪府立大学理学系研究科・生物科学専攻，[2]東北大学大学院医学系研究科・環境保健医学分野）

輸送小胞は，出芽と融合の繰り返しによって，小胞体，ゴルジ体，エンドソームなどのオルガネラ間，または細胞外と物質のやり取りを行っている。輸送小胞の標的膜との選択的膜融合は，様々なタンパク質によって仲介され，精密に制御されている。SNARE タンパク質ファミリーは，小胞膜と標的膜との相互作用に重要な機能を持ったタンパク質であり，安定な複合体を形成することによって膜融合を促進させる。

我々は，シナプス小胞とシナプス前膜が融合する際に機能するSNAREタンパク質のひとつであるSNAP25が，レドックスシグナル二次メッセンジャーである 8-nitro-cGMP によって修飾（S-グアニル化）されることを見出した。また，8-nitro-cGMP を処理したシナプトソーム中の SNARE 複合体を検出したところ，8-nitro-cGMP 濃度依存的に SNARE 複合体量が増加していた。リコンビナントタンパク質を用いた実験の結果，SNAP-25 の 90 番目のシステイン残基が S-guanyl 化の標的になることが明らかになった。SNARE 複合体と相互作用することが知られている complexin で Pull down assay した結果, 8-nitro-cGMP の処理によって，complexin で回収される SNARE 複合体量が減少した。SNARE 複合体と complexin は，シナプス小胞とシナプス前膜が膜融合する際に重要な役割を果たす構造体であり, 以上の結果から, 8-nitro-cGMP が膜融合調節に関与していることが示唆された。

（24）血管平滑筋細胞において筋小胞体とカベオラの近接化により Ca^{2+}マイクロドメインを形成するジャンクトフィリン２機能の解明

○佐伯尚紀[1]，鈴木良明[1]，山村寿男[1]，竹島　浩[2]，今泉祐治[1]
（[1]名古屋市立大学大学院薬学研究科・細胞分子薬効解析学分野，
[2]京都大学大学院薬学研究科・生体機分子認識学分野）

筋小胞体（SR）は，細胞内で Ca^{2+} を貯蔵するオルガネラとして知られる。血管平滑筋細胞（VSMCs）では，SR 膜上のリアノジン受容体（RyR）を介した自発的 Ca^{2+} 放出（Ca^{2+} スパーク）が，近傍の PM 上の BKCa チャネルを活性化させて膜電位を制御する。この機構は，Ca^{2+} マイクロドメインで効率的に機能し，我々はシグナル分子が集積する脂質ラフトの一種のカベオラが，その中心的な構造だと見出した。本研究では，平滑筋での機能的意義が未解明な構造タンパク質・ジャンクトフィリン（JP, 筋発現型 ; JP2）に着目した。横紋筋で JP2 は，PM（T 管）と SR 膜間を架橋した近接構造（結合膜構造）を形成する。そこで本研究では，T 管が存在しない VSMCs では，JP2 がカベオラと SR 膜間を架橋すると仮定し，その機能の解明を目指した。

まず, 共免疫沈降法により VSMCs での JP2 と cav1（カベオラ構成因子，カベオリン 1）の分子間相互作用が示された。次に，JP2，cav1 の蛍光タンパク標識体発現部位と Ca^{2+} スパーク発生部位を全反射蛍光顕微鏡で解析した結果, Ca^{2+} スパークは蛍光から約 400nm 以内に多く局在した。さらに，JP2 のノックダウンにより，cav1-RyR の共局在率は有意に低下した。以上より，VSMCs で JP2 はカベオラと SR 上の RyR を結び付け，Ca^{2+} マイクロドメインを形成することが示された。

（25）Mitofusin によるミトコンドリア酸素・カルシウム制御機構の解明

○川崎桂輔，稲垣　奏，鈴木良明，山村寿男，今泉祐治
（名古屋市立大学大学院薬学研究科･細胞分子薬効解析学）

【背景】ミトコンドリアは Ca^{2+} の一時的な貯蔵部位として機能する。小胞体から遊離した Ca^{2+} がミトコンドリアに取り込まれることで，細胞質の Ca^{2+} 濃度変化の緩衝や，エネルギー産生の亢進が生じる。このようにミトコンドリアと小胞体は Ca^{2+} を介した機能連関を形成しており，Ca^{2+} 恒常性を維持する上で重要である。Mitofusin(Mfn1,2) はミトコンドリアと小胞体を近接させる分子として注目されているが，ミトコンドリアの Ca^{2+} 取り込み機能への関与については不明な点が多い。本研究では血管平滑筋細胞（VSMC）に着目し，Mfn によるミトコンドリアー筋小胞体の Ca^{2+} シグナル制御機構を解明することを目的とした。

【結果】ラット大動脈平滑筋由来細胞（A10）を酸化ストレスに曝露したところ，Mfn1,2 の発現が顕著に増加した。Mfn2 ノックダウンにより，バソプレシン誘発性 Ca^{2+} 遊離に対する，ミトコンドリアの Ca^{2+} 取り込みが減少した。一方，SR から遊離した Ca^{2+} の総量は変化しなかった。さらに，Mfn2 のノックダウンは細胞増殖を抑制した。以上より，VSMC において Mfn2 がミトコンドリアの Ca^{2+} 取り込みを促進し，細胞質の Ca^{2+} 濃度の緩衝を増強することが示された。さらに，Mfn1,2 が酸化ストレスによって増加し，VSMC の収縮・増殖を制御している可能性が示された。

（26）NLRP3 インフラマソーム活性化のレドックス制御機構

○張　田力[1]，津々木博康[1]，小野勝彦[1]，赤池孝章[2]，澤　智裕[1]
（[1]熊本大学大学院生命科学研究部微生物学分野，[2]東北大学大学院医学系研究科環境保健医学分野）

NLRP3 インフラマソームは，NLRP3，ASC および pro-caspase-1 を主要な構成タンパク質とするタンパク質複合体で，不活性型の pro-caspase-1 を活性型の caspase-1 に変換し，最終的に炎症性サイトカインであるインターロイキン 1β の放出に関わる。これまでの研究から，NLRP3 インフラマソームは多段階の活性化過程を経ることがわかっている。最もよく研究されているものとして，グラム陰性菌の外膜成分であるリポ多糖（LPS）の刺激が上記タンパク質成分の発現を誘導する，いわゆる priming 過程であり，引き続き細胞外 ATP 刺激による複合体形成過程である。この ATP 刺激の際，細胞内で生成する活性酸素が重要であることが示されているが，その分子機構についてはよく分かっていない。我々は細胞内のレドックスバランスの調節に密接に関わる分子であるシステインのチオール基に過剰なイオウ原子が付加したパースルフィドが，NLRP3 インフラマソームの活性調節に関わることを見出した。本ポスターセッションでは，NLRP3 インフラマソームの活性化過程におけるパースルフィドの細胞内レベルの変動と，その NLRP3 インフラマソーム複合体へ与える影響について議論した。

（27）樹状突起スパインにおける local translation 機構と疾患
～tRNA 修飾欠損による X 染色体連鎖性精神遅滞発症メカニズム～

○永芳　友，魏　范研，富澤一仁（熊本大学大学院生命科学研究部･分子生理学分野）

X 染色体連鎖性精神遅滞（以下 XLMR）は X 染色体上の遺伝子変異により，知能低下・適応機能不全を引き起こす精神疾患である。近年の家系調査により，この XLMR の新規原因遺伝子として X 染色体上に存在する

Ftsj1 遺伝子が同定された。

我々は Ftsj1 が，哺乳動物において細胞質に存在する tRNA をメチル化（2`-O-methyl）修飾する酵素であることを見出した。大腸菌や酵母を用いた研究により，tRNA 修飾は翻訳の正確性維持に必須であることが知られている。パルスチェイス法を用いて Ftsj1 欠損マウスから作成した MEF 細胞と Ftsj1 欠損マウスの海馬における翻訳量の検討を行ったところ，Ftsj1 欠損マウスにおいて翻訳量が低下していた。またシナプス可塑性にとって重要な CaMKIIα や NMDA 型グルタミン酸受容体の各サブユニットが Ftsj1 欠損マウスのシナプトソーム分画で減少していた。

Ftsj1 欠損マウスの樹状突起スパインの形態学的な検討を行った結果，同マウスでは未熟な樹状突起スパインの形成が認められた。また，シナプス可塑性について電気生理学的検討を行った結果，NMDA 依存性長期増強（LTP）が，野生型マウスと比較し低下していた。また行動生理学的検討では，空間記憶・学習の障害が認められた。以上の結果より tRNA 修飾酵素 Ftsj1 の欠損は，樹状突起スパインにおける局所翻訳の低下を招き，その結果シナプスに形態学的ならびに電気生理学的変化を引き起こし，最終的に記憶学習能力の低下に繋がることが推察された。

（28）tRNA イオウ化修飾と活性イオウシグナル

○高橋　望[1]，魏　范研[1]，澤　智裕[2]，赤池孝章[3]，富澤一仁[1]
（[1]熊本大学大学院生命科学研究部･分子生理学分野，
[2]熊本大学大学院生命科学研究部･微生物学分野，
[3]東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学分野）

細胞質ならびにミトコンドリア tRNA は，複雑な化学修飾を受けその機能が制御されている。特にアンチコドン近傍の 37 位のアデノシンのチオメチル化（ms2）修飾は，誤翻訳や翻訳時のフレームシフトを防止する役割を担っている。最近，この修飾異常が様々な疾患の発症に繋がることが明らかになってきた。細胞質の ms2 修飾の低下は２型糖尿病を引き起こし，また，ミトコンドリアの ms2 修飾の低下は，ミトコンドリア病の病態と関連することが分かった。ms2 修飾のメチル基は，S-アデノシルメチオニン（SAM）から供与されるが，チオールのイオウがどのような機構で転移されるのか不明である。本研究では，細胞質ならびにミトコンドリア tRNA のいずれのチオメチル化修飾においても，システイン・パースルフィド（CysSSH）からイオウが供与されることを明らかにした。また，膵β細胞ならびに２型糖尿病マウスにおける CysSSH の産生を抑制すると，膵β細胞内の細胞質 tRNA の ms2 修飾が低下し，インスリン分泌が抑制された。本研究により，CysSSH が tRNA のイオウ修飾の供与体を担っていること，また活性イオウシグナルが細胞機能を制御していることが明らかになった。

（29）システイン tRNA 合成酵素欠損細胞株を用いたシステインパースルフィド合成酵素の探索

○守田匡伸，井田智章，松永哲郎，笠松真吾，西村　明，藤井重元，赤池孝章
（東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学分野）

タンパク質のポリサルファ化は重要なシグナル伝達/エフェクター分子の一つであるがその生成メカニズムおよび生体内での詳細な機能は不明である。CARS2 はシステインを tRNA に結合させるアミノアシル化 tRNA 合成酵素の一つであり，ミトコンドリアで働くことが知られている。近年我々は CARS2 の新しい機能としてタンパク質ポリサルファ化を触媒する酵素であることを発見した。この CARS2 の新規機能の細胞内での働きを解

析するためにCRISPR/Casシステムを用いてHEK293T細胞でのCARS2 KO細胞株を作製した。細胞内で産生されるタンパク質のポリサルファ化およびミトコンドリアについて解析したところ, CARS2は細胞内でのタンパク質の十分なポリサルファ化およびミトコンドリア生合成に必須であることが明らかになった。しかしながらCARS2 KO 細胞株においてもシステインパースルフィド活性化は残存し，siRNA を用いて作製した CARS2 KO/CARS1 KD 細胞株においてもシステインパースルフィド活性化を有した。このことは他のアミノアシル化 tRNA 合成酵素もシステインパースルフィド活性化能をもつことを示唆した。CARS1/2 と他のアミノアシル化 tRNA 合成酵素とのアミノ酸類似性を比較し，システインパースルフィド活性化能をもつアミノアシル化 tRNA 合成酵素としての共通 motif を検討した。

（30）システイン tRNA 合成酵素によるミトコンドリア機能制御

○松永哲郎[1]，井田智章[1]，魏　范研[2]，笠松真吾[1]，西村明幸[3]，守田匡伸[1]，西村　明[1]，
藤井重元[1]，西田基宏[3,4]，富澤一仁[2]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学分野，
[2]熊本大学大学院生命科学研究部･分子生理学分野，
[3]自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター（生理学研究所）･心循環シグナル研究部門，
[4]九州大学大学院薬学研究院･創薬育薬研究施設統括室）

【目的】我々は最近, システインパースルフィド（CysSSH）に代表される活性イオウ分子種が，生体内の主要な抗酸化・レドックスシグナル制御因子であることを明らかにした。しかし，その生成機構や機能については不明な点が多く残されている。本研究では，ごく最近明らかとなった哺乳類細胞のミトコンドリア型システイン tRNA 合成酵素 CARS2 による CysSSH 生成とミトコンドリア機能制御の関与について解析を行ったので報告する。

【方法･結果】ミトコンドリア機能を MitoTracker 染色および電子顕微鏡観察，JC-1 染色，フラックスアナライザーにより解析した結果, CARS2 欠損細胞ではミトコンドリアが丸く断片化した形態異常や膜電位・酸素消費量の著しい減少が観察された。一方 CARS2 欠損細胞に，翻訳活性は保持し CysSSH 生成活性が低下した K124/127A および K317/320A 変異体をノックインするとそれらの機能回復は見られなかった。さらに，ミトコンドリアの分裂に関与する Drp1 タンパク質は CARS2 欠損によって活性化し，タンパク質ポリサルファ化レベルが著しく減少した。

【考察】システイン tRNA 合成酵素による CysSSH 生成は，ミトコンドリア機能（形態形成や生体エネルギー形成など）を制御して，酸化ストレスによる生体防御機構において重要な役割を果たす可能性が示された。

（31）酵母をモデル生物としたシステインパースルフィドの生理機能の解明

○西村　明[1]，那須野　亮[2]，松永哲郎[1]，井田智章[1]，笠松真吾[1]，
守田匡伸[1]，藤井重元[1]，高木博史[2]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学分野，
[2]奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科）

当研究室では，ヒト細胞内において活性イオウ分子種：システインパースルフィド（cysteine hydropersulfide; CysSSH）がシステインより高い抗酸化機能を持つことを報告した。さらに，CysSSH は翻訳関連酵素であるシス

テイン tRNA 合成酵素(CysRS)により生合成され，ミトコンドリア機能を調節していることも発見した。本研究では，ミトコンドリア解析に優れた出芽酵母をモデル生物として，CysSSH によるミトコンドリア機能制御の分子メカニズムの解析を行った。まず，酵母 CysRS である YNL247W のヘテロ破壊株の細胞内 CysSSH を定量した結果，野生株に比べて CysSSH 量が減少することを見出した。また，ヘテロ破壊株の酸化ストレス感受性を解析した結果，野生株に比べて過酸化水素処理後の生存率が若干低下することも見出した。以上より，出芽酵母においても哺乳類と同様に CysRS による CysSSH 合成経路が存在することを示しており，CysRS による CysSSH 合成経路が種横断的なシステムであると考えられた。

（32）アミノアシル tRNA 合成酵素によるシステインパースルフィド合成とタンパク質ポリサルファ化

○井田智章[1]，魏　研范[2]，居原　秀[3]，守田匡伸[1]，笠松真吾[1]，松永哲郎[1]，富澤一仁[2]，
澤　智裕[4]，本橋ほづみ[5]，赤池孝章[1]
（[1]東北大学大学院医学系研究科･環境保健医学，[2]熊本大学大学院生命科学研究部（医）分子生理学，
[3]大阪府立大学大学院理学部生物科学，[4]熊本大学大学院生命科学研究部（医）･微生物学，
[5]東北大学加齢医学研究所加齢制御研究部門遺伝子発現制御）

我々は，システインパースルフィド（CysSSH）などの活性イオウ分子種が生体内で多量合成され，強力な抗酸化活性を発揮していることを明らかにした。さらに本研究において，タンパク質システインのパースルフィド生成機構を解析するなかで，翻訳のマスター酵素であるシステイン tRNA 合成酵素が，実際は，CysSSH 合成酵素であり，翻訳に共役してポリサルファ化タンパク質を合成することを見出した。

大腸菌由来のシステイン tRNA 合成酵素（EcCARS）の CysSSH 合成活性を LC-MS/MS にて解析したところ，本酵素が，システインを基質に CysSSH-tRNA を合成することが分かった。実際，biotin 標識 puromycin を用いて，リボゾームにおける新生鎖ペプチドのポリサルファ化を解析した結果，高い割合でポリサルファ化されていた。そこで，その酵素反応機構を解析した結果，EcCARS が，システインを基質に CysSSH を生合成すること，すなわち，全く新しいシステインパースルフィド合成酵素（cysteine persulfide synthase, CPERS）であることを発見した。つまり，タンパク質ポリサルファ化は翻訳に共役しながらタンパク質のペプチド新生レベルで生合成されていることが示された。また，哺乳類細胞の CysRS ホモログである CARS1/2 にも CPERS 活性を同定した。さらに，CARS1, 2 ノックダウン・アウト HEK293T 細胞における活性イオウレベルを LC-MS/MS にて定量した結果，CARS が細胞の CysSSH のほとんどの供給源であることが示された。

17. 温熱生理研究会

2016 年 8 月 29 日－8 月 30 日

代表・世話人：永島　計（早稲田大学 人間科学研究科 体温・体液研究室）

所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理）

（1）エストラジオール欠乏が暗期暑熱中の体温調節に与える影響

丸井朱里，永島　計（早稲田大学 人間科学研究科 体温・体液研究室）

（2）高体温時の認知機能低下に対する頭部冷却および全身冷却による効果

大城　岬，中田大貴，芝﨑　学（奈良女子大学 生活環境学部）

（3）暑熱負荷時の総頸動脈血管コンプライアンス

岡村さくら，永冨和音，芝﨑　学（奈良女子大学 生活環境学部）

（4）顔・手・足部位のヒト温熱認知処理過程の特性

坂本貴和子[1]，中田大貴[2]，柿木隆介[1]

（[1]生理学研究所 統合生理研究部門，[2]奈良女子大学 研究院生活環境科学系）

（5）暑熱環境下におけるヒト体性感覚認知処理過程の特性

中田大貴[1]，大城　岬[2]，難波真里[2]，芝﨑　学[1]

（[1]奈良女子大学 研究院生活環境科学系，[2]奈良女子大学 人間文化研究科）

（6）高温培養による組織工学的ヒトiPS心筋組織内残存未分化iPS細胞除去手法開発

松浦勝久[1,2]（[1]東京女子医科大学 先端生命医科学研究所，[2]東京女子医科大学 循環器内科）

（7）温度応答的な新規寿命制御因子コシャペロン*daf-41*/p23の分子機能

堀川　誠[1,2]，瀬藤光利[1,3]，Adam Antebi[2]

（[1]浜松医科大学 医学部 細胞分子解剖学講座，[2]Max-Planck Institute Biology of Aging,

[3]国際マスイメージングセンター）

（8）新規な褐色脂肪化誘導因子・分泌糖タンパク質 CREG 1

楠堂達也[1,2]，橋本理尋[2]，竹内　環[2]，片岡直也[3]，山下　均[2]

（[1]帝塚山学院大学 人間科学部，[2]中部大学 生命健康科学部，

[3]名古屋大学大学院 医学研究科）

（9）褐色脂肪細胞の活性化により核に集積するリン酸化タンパク質

水谷　嶺，井上智博，森口剛介，松村　潔

（大阪工業大学 工学部 生命工学科 工学研究科 生体情報研究室）

（10）社会心理ストレスによって活性化される腹側前頭前皮質

–視床下部背内側部の神経投射は褐色脂肪熱産生と体温上昇を駆動する

片岡直也[1]，中村和弘[1,2]（[1]名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学，[2]JST さきがけ)

（11）ニューロペプチドYは延髄網様体GABAニューロンを介して熱産生抑制を行なう

中村佳子[1]，柳川右千夫[2]，Shaun F. Morrison[3]，中村和弘[1,4]

（[1]名古屋大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]群馬大学大学院医学系研究科遺伝発達行動学，

[3]Department of Neurological Surgery, Oregon Health & Science University, USA，[4]PRESTO, JST）

（12）Hypometabolism during Torpor in Mice is Dominated by Reduction in the Sensitivity of the Thermoregulatory System

休眠マウスの代謝低下は熱産生フィードバックのオープンループゲインの低下が主たる要因である

砂川玄志郎，高橋政代
（理化学研究所 多細胞システム形成研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクト）

（13）Involvement of extracellular Ca^{2+} in the heat-evoked activation of green anole TRPA1

Erkin KURGANOV[1,2], Makoto TOMINAGA [1,2,3]
（[1]Division of Cell Signaling, NIPS, [2]The Graduate University for Advanced Studies, SOKENDAI,
[3]Okazaki Institute for Integrative Bioscience）

（14）Characterization of malarial mosquitoes' TRPA1

Tianbang LI[1,2], Wuping SUN[1,2], Makoto TOMINAGA[1,2]
（[1]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI,
[2]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience）

（15）生理的味覚性発汗神経路は温熱性発汗神経路と異なる：
味覚性半側発汗障害例の病態解析によるTRPV1刺激性発汗経路の推定

犬飼洋子，岩瀬　敏（愛知医科大学 医学部生理学講座）

（16）水循環ベストとプレクーリングの併用による暑熱負担の軽減効果

時澤　健，ソン　スヨン，岡　龍雄，安田彰典 (独立行政法人 労働安全衛生総合研究所)

（17）頸髄損傷者と健常者における暑熱・寒冷負荷に対する皮膚血管応答の比較

上條義一郎 [1]，芝崎　学 [2]，Jan van der Scheer[3]，中田朋紀 [1]，木下利喜生 [4]，
児嶋大介 [4]，橋崎孝昌 [4]，川西 誠 [4]，大野千種 [4]，西村行秀 [1]，田島文博 [1]
（[1] 和歌山県立医科大学 リハビリテーション医学, [2] 奈良女子大学 生活環境学部,
[3]Loughborough Univ. Peter Harrison Centre for Disability Sport,
[4] 和歌山県立医科大学附属病院 リハビリテーション部）

（18）皮内マイクロダイアリシスを用いたノルアドレナリンの測定

芝崎　学 [1]，上條義一郎 [2]，中田朋紀 [2]，木下利喜生 [2]，橋崎孝昌 [2]，大野千種 [2]，西村行秀 [2]，田島文博 [2]
（[1] 島根大学医学部環境生理学，[2] 金沢大学医薬保健研究域医学系）

【参加者名】

永島　計・丸井朱里・小田嶋　量・綱川みずき・津谷　彰・加藤一聖・小幡千紗（早稲田大学），松浦勝久（東京女子医科大学），時澤　健（労働安全衛生総合研究所），堀川　誠（浜松医科大学），中村和弘・片岡直也・中村佳子・大屋愛実（名古屋大学），山下　均（中部大学），犬飼洋子（愛知医科大学），坂口怜子・安好悠太・東辻宏明・藤田　潤（京都大学），松村　潔・水谷　嶺（大阪工業大学），楠堂達也（帝塚山学院大学），芝崎　学・中田大貴・大城　岬・岡村さくら・永冨和音（奈良女子大学），上條義一郎（和歌山県立医科大学），砂川玄志郎（理化学研究所），吉岡　哲（岡山大学），斎藤辰哉（川崎医療福祉大学），内田邦敏（福岡歯科大学），岡孝和・扇谷昌弘（九州大学），中村康平（トヨタ紡織株式会社），小林泰良・澤井浩子・依田　拓（㈱豊田中央研究所），森本祐子（花王㈱），坂本貴和子・江藤　圭（生理学研究所），富永真琴・鈴木喜郎・齋藤　茂・高山靖規・Derouiche Sandra・橋高裕貴・孫　武平・Gupta Rupali・Kurganov Erkin・山野井　遊・李　天邦・藤山雄一・Feng Xiaona・佐藤幸治（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

Ｈ２８年度の温熱生理研究会（代表 早稲田大学・永島計（以下敬称略））には温熱生理学の研究者が参集し，２日間にわたって最新の研究成果発表と活発な討論が行われた。

演題では１８題の最新研究成果が発表された。

１日目は, 丸井らがエストラジオールの体温調節のリズムに対する影響を紹介し, 大城らは高体温時の認知機能低下を脳波事象関連電位から客観的に評価した結果を報告

した。岡村らは暑熱負荷時の動脈コンプライアンスの測定についての報告を行い, 坂本らは顔面や末梢皮膚での温度認知についての知見を報告, 中田らは温熱環境の温度認知を処理についての知見を述べ, 松浦らは培養細胞での温度の重要性を報告, 堀川らは温度依存的な新規寿命制御因子の特徴について紹介をおこなった。

楠堂らは褐色細胞化誘導因子としてのCREG1の報告と, その生理学的意味について報告, 水谷らは褐色脂肪細胞の活性化に伴うリン酸化タンパク質意義についての研究を報告, 片岡らは社会ストレスと発熱の神経回路の研究についての紹介をした。中村らはNPYの熱産生機構への影響を神経回路の解析から説明をし，砂川らはマウスのtorpor研究の方法論と新しい知見を紹介した。Kurganov らはgreen anole を用いたパッチクランプによる細胞外カルシウムの熱に誘導されるTRPA1の活動メカニズムの研究を紹介した。Li らは蚊のTRPA1の研究から蚊の駆除方法の開発を目指した研究結果を報告した。犬養らは半側の味覚性発汗障害の症例報告を行い, 神経回路の考察にまでアプローチした。時澤らは熱中症予防としての労働者のクーリング方法の開発研究を紹介し, 上條らは頸髄損傷患者の温熱刺激による皮膚血管反応の特性を健常者と比較した研究報告をおこなった。芝崎らはマイクロダイアリシス法によるヒトの皮膚のノルアドレナリンの新しい測定方法を紹介した。

（1）エストラジオール欠乏が暗期暑熱中の体温調節に与える影響

丸井朱里，永島　計
（早稲田大学 人間科学研究科 体温・体液研究室）

エストラジオール（E_2）欠乏は暗期における尾部皮膚温の増加と深部体温リズムの変調を引き起こす。E_2欠乏による体温調節機能の乱調が暑熱耐性低下を引き起こすと予想し，雌ラットを用いて暗期暑熱曝露中の深部体温，尾部皮膚温，酸素消費量の測定を行った。

9-12 週齢の雌ラットを用い，環境温 25℃，12/12h の明暗サイクル(11:00 am より暗期)，自由摂食飲水の条件下で飼育した。イソフルラン麻酔下で後腹膜腔より両側卵巣摘出を行い，2 本のシリコンチューブ（E_2(-)群），もしくは E_2 含有シリコンチューブ(E_2(+)群)を皮下に留置した。深部体温，尾部皮膚温の測定には先端に 2 本のサーミスタが付いたテレメトリーを使用し，腹腔内，尾部皮下に各サーミスタを留置した。酸素消費量は間接カロリメトリ法により測定した。7 日間の回復期間後，恒温器に飼育ケージを移動させた。術後 9 日目の午後 13 時半より，28℃ 1 時間，31℃ 1 時間，34℃ 1 時間の暑熱曝露を連続的に行った。深部体温，尾部皮膚温，酸素消費量は 1 分毎に測定した。

深部体温は環境温 25℃下では群間に有意差は見られなかったが，環境温 28℃，31℃，34℃下では E_2(-)群は E_2(+)群よりも有意に高い値を示した。尾部皮膚温は E_2(-)群が E_2(+)群よりも有意に高い値を常に示した。酸素消費量は暑熱曝露時に E_2(+)群が E_2(-)群よりも有意に低い値を示した。暗期暑熱曝露による E_2 欠乏時の深部体温の増加は，熱放散能の減弱により熱産生量が増加した結果と考えられた。

（2）高体温時の認知機能低下に対する頭部冷却および全身冷却による効果

大城　岬，中田大貴，芝﨑　学
（奈良女子大学 生活環境学部）

暑熱環境曝露による高体温状態は認知処理系の脳活動，脳の反応性を低下させる。また，高体温時には認知機能が低下するだけではなく，脳血流量が低下することが本研究室の実験結果より明らかになった。

前年度の発表結果に基づいて，高体温時の認知機能低下に対する頭部冷却および全身冷却による回復効果を

検討した。また，本研究では Go/No-go 課題を用いることで，運動遂行過程（Go 刺激時）だけでなく，運動抑制過程（No-go 刺激時）についても検討した。脳波事象関連電位の評価には，体性感覚反応に関連する N140 および高次の認知処理系に関連する P300 のそれぞれのピークまでの潜時と振幅を用いた。さらに，認知機能と脳血流の関係性について検討するため，血管エコーを用いて総頸動脈および内頸動脈の血流量を評価した。

暑熱負荷によって，食道温は 1.3±0.2℃上昇し，脳血流量を反映する内頸動脈血流量は低下した。頭部冷却により，暑熱負荷による脳血流量の低下は回復したが，P300 の振幅の減弱はいずれの過程においても回復しなかった。全身冷却では Go 刺激に対する P300 振幅はほぼ回復したが，No-go 刺激時のそれは低下したままであった。

本研究により，高体温時の脳血流量低下と認知機能低下には関係性が低いことが示された。全身冷却による食道温の低下は運動遂行過程を回復させるが，運動抑制過程を回復するには更に冷却が必要であることが示唆された。

（3）暑熱負荷時の総頸動脈血管コンプライアンス

岡村さくら，永冨和音，芝﨑　学
（奈良女子大学 生活環境学部）

暑熱負荷による体温の上昇に伴い心拍数が増加し，心拍出量は増加する．暑熱負荷による血液温上昇は脈管系の伸展性に影響を与えるように思われるが，動脈スティフネスの指標として用いられる脈波伝播速度(PWV)は体温上昇による影響はほとんどないようである。高体温による心拍出量の増加に伴い，頭部への血液供給量は増加する（脳血流量は低下するが，頭皮などへの血液供給量が増加するため）。本研究では総頸動脈の血管特性に注目し，血管径と血圧を同時測定し，一心周期の総頸動脈血管コンプライアンスを算出し，高体温の影響を検討することを試みた。

健康な若年女性 10 名を被験者とし，水循環服によって受動的に体温を上昇させた。暑熱負荷前，暑熱負荷中，外耳道温が 0.5℃，1.0℃および 1.5℃上昇時の総頸動脈血管コンプライアンスを評価した。超音波診断装置（Vivid-I; GE healthcare）により右総頸動脈の血管径および平均血流速を測定した。総頸動脈血圧は，トノメトリー法（SphygmoCor ; AtCor Medical）により右総頸動脈で血管径計測時に同時測定した。

暑熱負荷中平均動脈圧は維持されたが，脈圧はやや上昇した。これまで用いられてきた総頸動脈血管伸展性の指標では収縮期と拡張期の圧差に対する血管径差の比を用いていたため，体温上昇による影響は認められなかったが，その関係が上方にシフトしていることが示された。

（4）顔・手・足部位のヒト温熱認知処理過程の特性

坂本貴和子[1]，中田大貴[2]，柿木隆介[1]
（[1]生理学研究所 統合生理研究部門，[2]奈良女子大学 研究院生活環境科学系）

本研究では，温熱刺激誘発電位（Contact Heat-Evoked Potentials; CHEPs）ならびに体性感覚誘発電位（somatosensory-evoked potentials; SEPs）を用い，顔・手・足部位のヒト温熱認知処理過程と体性感覚認知処理過程について検討した。被験者はそれぞれ 13 名，14 名の一般成人とし，温熱刺激は Medoc 社製 PATHWAY を用い，32℃から 51℃まで温度を上昇させた時点をトリガーとして，加算平均を行った。刺激呈示部位は右側頬部，右側前腕，右側前脛骨筋とし，各々30 回刺激を繰り返し行った。体性感覚刺激は，フェルト電極を用い，同様の

部位にそれぞれ 30 刺激呈示した。結果，刺激強度が一定にも関わらず，温熱刺激誘発電位の N2-P2 振幅は，顔＞手＞足の順と大きさとなった。N2・P2 潜時は顔＞手＞足の順で速かった。刺激に対する慣れ（Habituation）の効果を検討した結果，手・足刺激の際には後半において有意に N2-P2 振幅が低下したが，顔刺激の際にはそのような振幅低下は認められなかった。また，顔刺激の際にのみ，後半において N2・P2 潜時が有意に遅くなった。体性感覚誘発電位の N2-P2 振幅は，顔・手・足で有意な違いは見られず，慣れの効果も認められなかった。体性感覚誘発電位の N2・P2 潜時は，顔・手＞足の順で速かったが，慣れの効果は認められなかった。以上のことから，顔部位の温熱認知処理は手・足部位とは異なり，またその特性は体性感覚認知処理とも異なり，特異的であることが示された。

（5）暑熱環境下におけるヒト体性感覚認知処理過程の特性

中田大貴 [1]，大城　岬 [2]，難波真里 [2]，芝﨑　学 [1]
（[1] 奈良女子大学 研究院生活環境科学系，[2] 奈良女子大学 人間文化研究科）

本研究では，暑熱環境下における体性感覚認知処理の特性を明らかにするために，体性感覚誘発電位（somatosensory-evoked potentials; SEPs）を用いて検討した。被験者は 15 名の成人男性とし，実験条件を暑熱条件，タイムコントロール条件として，別日に 2 回計測した。体性感覚誘発電位は左手の正中神経を 3 Hz で刺激することで記録し，電極 C4’で記録される P14 成分，N20 成分，P25 成分，N35 成分，P45 成分，N60 成分の潜時と振幅，電極 Fz で記録される P14 成分，N18 成分，P22 成分，N30 成分の潜時と振幅を解析対象とした。暑熱条件では，暑熱負荷前を第 1 セッション，暑熱負荷開始直後を第 2 セッション，食道温が 1.0 °C 上昇した時点を第 3 セッション，食道温が 2.0 °C 上昇した時点を第 4 セッション，暑熱負荷終了後を第 5 セッションとし，それぞれで体性感覚誘発電位を記録した。また，別日に実施したタイムコントロール条件として，暑熱負荷せずに暑熱負荷条件と同じ時間間隔で，体性感覚誘発電位を記録した。実験の結果，電極 C4’における P14 成分，N20 成分，N60 成分，ならびに電極 Fz における P14 成分，N18 成分，P22 成分の潜時は，体温の上昇とともに有意に短縮した。さらに，電極 C4’における P25 成分と N60 成分，電極 Fz における N30 成分の振幅は，体温の上昇とともに有意に減少した。これらの結果から，体性感覚認知処理に関わる神経伝導は，体温の上昇とともに速まるが，その脳内神経活動は暑熱負荷によって影響を受けることが示された。

（6）高温培養による組織工学的ヒト iPS 心筋組織内残存未分化 iPS 細胞除去手法開発

松浦勝久 [1,2]
（[1] 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所，[2] 東京女子医科大学 循環器内科）

安全かつ効果的な iPS 細胞を用いた再生医療の実現には，移植組織内の未分化 iPS 細胞除去による腫瘍リスク軽減が不可欠である。本研究では，42℃培養におけるヒト iPS 細胞由来組織工学的心筋組織内残存未分化 iPS 細胞除去の可能性について検討した。2 日間の 42℃培養は，iPS 細胞由来心筋細胞の細胞数の減少や細胞死を誘導せず，また心筋関連遺伝子発現および自律拍動も維持する一方，iPS 細胞のアポトーシスを誘導し，特に iPS 細胞単培養ではほぼすべての細胞が細胞死に至った。さらに 42℃培養後に作成された心筋シートをヌードラット皮下に移植すると，心筋の生着は観察された一方で，腫瘍形成は認めなかった。iPS 細胞と心筋細胞では，42℃培養後時間依存的に TRPV-1 の発現が上昇したが，iPS 細胞における TRPV-1 の発現は心筋細胞に比して有意に高

く，また siRNA により TRPV-1 をノックダウンすると42℃培養による iPS 細胞死が抑制されたことから, iPS 細胞は心筋細胞より TRPV-1 の発現が高いことで，42℃培養による細胞毒性が早期に出現する可能性が示唆された。また TRPV-1 活性化薬である OLDA もまた，心筋細胞への影響少なく iPS 細胞死を誘導できることも明らかとなった。以上より，高温培養は，iPS 心筋組織内残存未分化 iPS 細胞を簡便に除去する手法として有用であると考えられた。

（7）温度応答的な新規寿命制御因子コシャペロン *daf-41*/p23 の分子機能

堀川　誠[1,2]，瀬藤光利[1,3]，Adam Antebi[2]
（[1]浜松医科大学 医学部 細胞分子解剖学講座,
[2]Max-Planck Institute Biology of Aging [Germany],
[3]国際マスイメージングセンター）

無脊椎動物から脊椎動物に至る幅広い変温動物において，環境温度は個体寿命の重要な決定因子であり，個体寿命と環境温度は逆相関を示す事が知られている。しかしながら, 温度による寿命制御の分子メカニズムは殆ど明らかになっていない。

私は，線虫（*Caenorhabditis elegans*）を用いた環境応答的な寿命制御遺伝子のスクリーニングにおいて, 温度応答的に寿命制御を行う新規遺伝子としてコシャペロン p23 の線虫ホモログ *daf-41* を同定した。この *daf-41* 変異体は，高温環境(25℃)で野生株より約 40％長寿となり, 逆に低温環境(15℃では野生株より寿命が約 30%減少した。また，線虫の標準的な飼育環境(20°C)では野生株と同等の寿命であった。さらに，遺伝学的解析により，高温環境(25℃)では *daf-41* がインスリンシグナルおよび熱ストレス応答機構を介して寿命制御を行っている事を明らかにした。低温環境(15℃)では，*daf-41* とステロイド受容体 *daf-12*/LXR が相互作用する事により寿命制御を行っている事を明らかにした。

研究会では, 低温環境における寿命制御メカニズムの新規発見を中心に発表を行いたいと考えている。

(参考文献: MHorikawa et al. 2015 PLos Genet.）

（8）新規な褐色脂肪化誘導因子・分泌糖タンパク質 CREG 1

楠堂達也[1,2]，橋本理尋[2]，竹内　環[2]，片岡直也[3]，山下　均[2]
（1 帝塚山学院大学 人間科学部，2 中部大学 生命健康科学部，3 名古屋大学大学院 医学研究科）

褐色脂肪細胞はエネルギーを熱に変えて消費する細胞であり, 小動物では寒冷時の体温維持やストレス時の発熱などに重要な役割を果たしている。近年，褐色脂肪細胞がヒトにおいても存在するだけでなく, メタボリックシンドロームの発症とも関係していることが示され, 褐色脂肪組織の活性化や増量がメタボ対策の１つとして注目されている。我々は褐色脂肪化に伴って発現量が上昇する遺伝子の１つとして Cellular Repressor of E1A-stimulated genes 1 (CREG1)を同定し，褐色脂肪化に対する作用を検討し以下の結果を得た。培養細胞系において CREG1 を発現させると褐色脂肪マーカーである UCP1 の発現が上昇し, CREG1 の発現を抑止すると UCP1 の発現は抑制された。マウス個体においても鼠蹊部脂肪組織に CREG1 を発現させると組織中の UCP1 の発現が有意に上昇し, 褐色脂肪様の細胞が観察された。また，浸透圧ポンプを用いて CREG1 タンパク質を持続投与した所，体重増加が抑制された。以上の結果，CREG1 は抗肥満に有効な新規な褐色脂肪化因子であることが明らかになった。今回の発表では，CREG1 の褐色脂肪化作用に関するこれまでの我々の研究成果について報告する。

（9）褐色脂肪細胞の活性化により核に集積するリン酸化タンパク質

水谷　嶺，井上智博，森口剛介，松村　潔
（大阪工業大学 工学部 生命工学科 工学研究科 生体情報研究室）

背景と目的

褐色脂肪組織(BAT)は燃える脂肪とも呼ばれ，新生児や冬眠動物に豊富に存在し，熱産生にかかわっている。BAT は最近の研究で一部の成人にも確認され，その機能を高めることが生活習慣病の予防に繋がると期待されている。これまでの私たちのグループの実験で，マウスを寒冷曝露すると BAT においてリン酸化 Nuclear Factor Kappa-B (NFkB) p65 に対する抗体で認識されるタンパク質が核に集積することが明らかとなった。しかしこのタンパク質が本当にリン酸化 NFkB p65 なのか，そしてその機能は何か不明である。本研究ではマウス個体 BAT と，ラット初代培養細胞 BAT において，活性化により核に集積し，上記抗体で認識されるタンパク質の分子量を検討した。

結果

マウス個体での実験では寒冷暴露群の BAT 核分画で 65kD 付近のバンドが検出された。

ラット BAT 初代培養細胞の核分画ではベータ受容体アゴニスト（Isoproterenol）刺激により 45kDa 付近でバンドが検出された。

考察

マウス個体ではこの抗体がリン酸化 NFkBp65 を検出している可能性が高い．ラット BAT 初代培養細胞で，異なる分子量のタンパク質が検出された理由は不明である。

（10）社会心理ストレスによって活性化される腹側前頭前皮質–視床下部背内側部の神経投射は褐色脂肪熱産生と体温上昇を駆動する

片岡直也 [1]，中村和弘 [1,2]
（[1] 名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学，[2] JST さきがけ）

心理ストレスは視床下部背内側部(DMH)から吻側延髄縫線核(rMR)への直接の神経投射を活性化し，褐色脂肪組織熱産生や血圧・脈拍の上昇を引き起こす。しかしながら，ストレス信号が交感神経性ストレス反応を駆動している DMH ニューロンを活性化するメカニズムは明らかになっていない。そこで，我々は DMH へストレス信号を入力する脳領域の探索を行った。

社会的敗北ストレスをラットに与えると，腹側前頭前皮質(vmPFC)から DMH へ投射するニューロンが神経の活性化マーカーである Fos を発現することが明らかとなった。さらに，vmPFC へ神経抑制剤を微量注入すると，社会的敗北ストレスによって惹起される褐色脂肪熱産生と体温上昇が大きく減弱した。そこで，vmPFC から DMH への直接の神経投射が褐色脂肪熱産生出力に機能するか検証を行った。光駆動性カチオンチャネル，ChIEF をウイルスを用いて vmPFC ニューロンに発現させると，ChIEF を含むその軸索終末が DMH に分布していた。この軸索終末へ光照射を行うと，褐色脂肪交感神経活動と褐色脂肪組織温度が上昇した。以上の結果から，心理ストレスは，vmPFC から DMH への興奮性神経伝達を活性化することにより，DMH から rMR への交感神経遠心路を活性化させ，ストレス性の褐色脂肪熱産生を惹起するとともに，その熱産生によって体温上昇を引き起こすものと考えられた。

（11）ニューロペプチドＹは延髄網様体 GABA ニューロンを介して熱産生抑制を行なう

中村佳子[1]，柳川右千夫[2]，Shaun F. Morrison[3]，中村和弘[1,4]
（[1]名古屋大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]群馬大学大学院医学系研究科遺伝発達行動学，[3]Department of Neurological Surgery, Oregon Health & Science University, USA，[4]PRESTO, JST）

ニューロペプチド Y (NPY)は，飢餓の情報が胃などの末梢臓器から脳へ伝わると視床下部弓状核のニューロンから放出されるペプチドであり，視床下部室傍核へと放出されると，摂食量が増し，代謝抑制として熱産生が抑制される。しかしながら，この飢餓反応の発現に関わる中枢神経回路メカニズムはほとんど明らかになっていない。そこで，私たちは，神経解剖学，in vivo 電気生理学などの方法を用いてその中枢経路を探索した。神経トレーサー解析によって，交感神経プレモーターニューロンの存在する延髄縫線核に投射する多数の GABA 作動性のニューロンを延髄中間網様核と延髄小細胞性網様核に発見した。この網様体領域に $GABA_A$ 受容体の拮抗薬であるビククリンを注入し，神経細胞を刺激したところ，麻酔ラットの褐色脂肪組織の交感神経活動が抑制された。これらのことから，延髄中間網様核と延髄小細胞性網様核のニューロンは，褐色脂肪熱産生の抑制に関わることが示唆された。さらに，NPY を視床下部室傍核に作用させることによって引き起こされる熱産生抑制が，延髄中間網様核と延髄小細胞性網様核のニューロンの活動を抑制すると起こらなくなったことから，視床下部の NPY による熱産生の抑制にこれらの延髄網様体ニューロンが関わっていることが示唆された。また，unit recording や juxta-cellular labeling の手法を用いて延髄中間網様核と延髄小細胞性網様核の単一の GABA 作動性ニューロンの活動を記録することで，視床下部 NPY の作用に由来する飢餓反応の神経信号伝達が，こうした延髄網様体の GABA 作動性ニューロンを活性化し，褐色脂肪熱産生の交感神経プレモーターニューロンを抑制することを示すデータを得た。

（12）Hypometabolism during Torpor in Mice is Dominated by Reduction in the Sensitivity of the Thermoregulatory System
休眠マウスの代謝低下は熱産生フィードバックのオープンループゲインの低下が主たる要因である

砂川玄志郎，高橋政代
（理化学研究所 多細胞システム形成研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクト）

再生医療を普及させるためには，組織・臓器のストック技術及び安全な輸送技術の確立はきわめて重要である。組織・臓器の長期保存には組織の代謝を落とすことが有効であるが，現在は冷やすことで代謝を抑制している。マウスを含む一部の哺乳類は冬期や飢餓時に能動的に基礎代謝を低下させる種が存在する。季節単位の低代謝を冬眠（hibernation），数時間単位の低代謝を休眠（torpor）と呼ぶが，いずれも基礎代謝が低下することで結果的に体温が低下する。そこで，我々はマウス休眠をモデルとして，人間の組織・臓器を安全に低代謝状態に導く手法を検討している。哺乳類の体温制御を放熱系と熱産生系の２つのフィードバック・ループでモデリングすると，冬眠動物の温度制御は熱産生系の理論的リファレンス温度（T_R）及びネガティブフィードバックの開ループゲイン（H）の両者の低下によるものであることがわかっている。一方で，休眠マウスの体温制御がどのようなメカニズムで起きているか明らかではない。そこで，マウス休眠を様々な環境温度で誘導し，休眠中の体温制御のパラメータを推定したところ, C57BL/6J マウスでは T_R が 3.8℃の低下に留まったのに対し，H は 88%の低下がみられ，冬眠動物との差は小さかった。今後はさらなる条件検討を行い，マウスの系統間で休眠時の体温制御メカニズムにどのような相違点があるか検討していきたい。

（13）Involvement of extracellular Ca^{2+} in the heat-evoked activation of green anole TRPA1

Erkin Kurganov[1,2], Makoto Tominaga[1,2,3]
（[1]Division of Cell Signaling, NIPS,
[2]The Graduate University for Advanced Studies, SOKENDAI,
[3]Okazaki Institute for Integrative Bioscience）

Transient receptor potential, ankyrin 1 (TRPA1) is a nonselective cation channel consisting of four subunits, each of which contains six transmembrane segments handed by cytoplasmic N and C termini. Although many TRP channel family members contain the range of 3-6 ankyrin repeats (AR) within the N-terminal region, TRPA1 is distinguished by having an unusually large number of such repeats (16-17 ARs). A number of studies have shown that intracellular Ca^{2+} is a key regulator of many TRP channels, including TRPA1. In the previous study, we found that extracellular Ca^{2+}, but not intracellular Ca^{2+} plays an important role in heat-evoked activation of green anole TRPA1 (gaTRPA1). In this study, we focus on extracellular Ca^{2+}-dependent heat sensitivity of gaTRPA1 by comparing gaTRPA1 with other heat-activated TRPA1s from rat-snake and chicken. We found that, rat-snake and chicken TRPA1s are activated by heat with small inward currents in the absence of extracellular Ca^{2+}. We identified negatively charged amino acid residues in gaTRPA1, chTRPA1 and rsTRPA1 near outer pore for activation by heat in the presence of extracellular Ca^{2+}. These results suggest that TRPA1 from green anole, chicken and rat-snake need extracellular Ca^{2+} for heat-evoked full activation.

（14）Characterization of malarial mosquitoes' TRPA1

Tianbang LI[1,2], Wuping SUN[1,2], Makoto TOMINAGA[1,2]
（[1]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI,
[2]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (NIPS)）

Mosquito vectors have long been recognized as a crucial determinant for transmission of malaria and other epidemic diseases in tropical and subtropical area. Transient receptor potential channel, subfamily A, member 1 (TRPA1) channel of mosquito is a key transducer of various sensory stimulations, which plays an important role in nociception and its orthologues have been reported to be specific repellent targets. Nevertheless, the physiological characteristics of malaria mosquitoes' TRPA1 channels are not completely unveiled. In this project, two TRPA1 isoforms of *Anopheles gambiae* (Ag), *Anopheles Stephensi* (As) and *Aedes aegypti* (Aa) mosquitoes, TRPA1a and TRPA1b were investigated. Here we cloned TRPA1 channel genes of those mosquito species. It was examined that AgTRPA1a/b are activated by both heat and several naturally produced aldehydes through calcium imaging and whole-cell patch-clamp recording. Moreover, the temperature thresholds for heat-evoked activation of AgTRPA1b and AaTRPA1b have been calculated to be quite similar values. By further laboratory assay of the behavior of mosquitoes with the potential repellents, better understanding for TRPA1 functions of different mosquito species will be achieved and new control methods for mosquito could be developed.

（15）生理的味覚性発汗神経路は温熱性発汗神経路と異なる：味覚性半側発汗障害例の病態解析による TRPV1 刺激性発汗経路の推定

犬飼洋子，岩瀬　敏（愛知医科大学 医学部生理学講座）

生理的味覚性発汗は，主にカプサイシンを含む辛い物を食べたときに，口唇周辺部で反射性に対称性に起こる。口腔内の三叉神経などの transient receptor potential vanilloid 1（TRPV1）が刺激され，興奮が三叉神経脊髄路核から交感神経下行路を伝わり頸部交感神経から顔面皮膚の汗腺へ至るためと推定されている。顔面の発汗神経は三叉神経各枝に沿うとされているが，味覚性発汗経路と温熱性発汗経路との異同は不明である。今回，味覚性発汗が半側で障害され，温熱性発汗は左右差がない 1 例で，障害部位を検討し，味覚性発汗経路を推定した。25 歳の男性。辛い物を食べると，顔面右側に多汗を自覚。味覚障害なし。発症時期は不明。Horner 症候群なし。1. 口腔内刺激発汗試験：中等温下でタバスコ®（TRPV1 刺激）やその他の味覚刺激物質を舌尖に塗布，2. 温熱発汗試験（室温 40℃）を施行し，発汗分布（Minor 法：ヨウ素デンプン反応）と皮膚温分布（サーモグラフィ）を観察した。舌 TRPV1 刺激で，発汗と皮膚紅潮は顔面左側で減退，皮膚温は額左側で下がらなかった。舌 TRPA1，他の味覚による味蕾刺激では，皮膚温に左右差はなかった。暑熱負荷では，顔面の発汗と紅潮は対称性であった。脳幹 MRI に異常なし。以上，口腔内 TRPV1 由来の発汗と皮膚紅潮（おそらく三叉神経─顔面神経反射）が顔面左半側で減退し，温熱性発汗と紅潮（三叉神経経由）は対称性であったことから，病巣は左顔面神経と思われ，口腔内 TRPV1 刺激性発汗神経は顔面神経を走行している可能性がある。

（16）水循環ベストとプレクーリングの併用による暑熱負担の軽減効果

時澤　健，ソン スヨン，岡　龍雄，安田彰典（独立行政法人 労働安全衛生総合研究所）

フィールドで実施可能なプレクーリング（Pre-Cooling）の方法として，我々は手足の冷却と送風による効果を検証し，暑熱下歩行中の深部体温の上昇を半減させることを報告した。本研究ではさらなる軽減効果を狙い，フィールド用の水循環ベストを着用する影響を検証した。

健常成人男性を対象に，歩行中に水循環ベストを着用する試行（WV），プレクーリングとして手足の冷却，顔への送風，および水循環ベストの着用を行い，歩行中に水循環ベストを着用し続ける試行（PC+WV），および身体冷却を行わないコントロール試行（CN）を行った。3.0 km/h の歩行を，室温 33℃・相対湿度 60％の環境下で防護服を着用し 1 時間行った。

深部体温（直腸温）の上昇は，CN が 0.8 ± 0.1℃であったのに対し，WV は 0.5 ± 0.1℃と有意に減少し（33%減），PC+WV は 0.2 ± 0.1℃とさらに減少した（73%減）。全身平均皮膚温の上昇は，CN の 3.2 ± 0.3℃に対し，WV が 2.5 ± 0.3℃と有意に低く，PC+WV も同程度に低値を示した（2.5 ± 0.3℃）。温度感覚および温熱的不快感は，CN と比較し WV および PC+WV で有意に低かったものの，WV と PC+WV の間で差は認められなかった。

深部体温の上昇を抑制する効果として，水循環ベストとプレクーリングは併用することで加算的に作用する可能性がある。

（17）頸髄損傷者と健常者における暑熱・寒冷負荷に対する皮膚血管応答の比較

上條義一郎 [1]，芝崎　学 [2]，Jan van der Scheer[3]，中田朋紀 [1]，木下利喜生 [4]，
児嶋大介 [4]，橋崎孝昌 [4]，川西　誠 [4]，大野千種 [4]，西村行秀 [1]，田島文博 [1]
（[1] 和歌山県立医科大学 リハビリテーション医学，[2] 奈良女子大学 生活環境学部
[3]Loughborough Univ. Peter Harrison Centre for Disability Sport
[4] 和歌山県立医科大学附属病院 リハビリテーション部）

【目的】交感神経活動が障害されている頸髄損傷者(CSCI)と健常者(AB)において暑熱・寒冷負荷時における皮膚血管反応を比較した。

暑熱負荷【方法 1】被験者に水循環スーツ(上着・パンツ)を着用させ, 33℃の水を流して 30 分以上臥位安静とした。10 分間の安静データ測定後，暑熱負荷として上着・パンツにそれぞれ 36℃，50℃を流し，食道温（T_{es}）を 1℃まで上昇させた。平均（T_{sk}）・大腿部皮膚温（T_{leg}），血圧をモニターしながら，胸・腹・大腿部の皮膚血流速度（レーザー・ドップラー法）を測定し，それぞれ平均血圧で除して皮膚血管コンダクタンス（CVC_{chest}・CVC_{abdo}・CVC_{thigh}）を算出した。【結果 1】暑熱負荷により T_{sk} と T_{leg} は全群でそれぞれ約 3℃, 7℃上昇し, CVC_{chest} は AB 群で上昇し，CSCI 群では上昇せず，CVC_{abdo} も同様の傾向を認めたが，CVC_{thigh} は両群で上昇した。

寒冷負荷【方法 2】被験者に同スーツを着用させ，同様に 10 分間の臥位安静データを測定後，寒冷負荷として 25℃の水に流し，T_{sk} を約 2℃まで低下させた。感覚残存領域（sens）および麻痺領域（insens）における皮膚血流速度をスーツで覆った場合（cover）と覆わなかった場合（uncover）で測定し，同様に皮膚血管コンダクタンス（CVC_{sens}・CVC_{insens}）を求めた。【結果 2】AB 群では両条件で CVC_{sens}, CVC_{insens} ともに低下した。CSCI 群では uncover 条件で CVC_{sens}，CVC_{insens} は低下しなかったが，cover 条件で CVC_{insens} が低下した。

【結論】CSCI では全身性暑熱・寒冷刺激に対する皮膚血管応答は欠如しているが, 局所刺激に対する同応答は機能している。

（18）皮内マイクロダイアリシスを用いたノルアドレナリンの測定

芝崎　学 [1]，上條義一郎 [2]，中田朋紀 [2]，木下利喜生 [2]，橋崎孝昌 [2]，
大野千種 [2]，西村行秀 [2]，田島文博 [2]
（[1] 奈良女子大学 生活環境学部，[2] 和歌山県立医科大学 リハビリテーション医学）

皮膚血管は, ノルアドレナリンを放出するアドレナリン作動性血管収縮神経とアセチルコリンを放出するコリン作動性血管拡張神経によって支配されている。前者からはノルアドレナリンだけでなく，神経ペプチド Y も放出され, 皮膚血管収縮反応に貢献していることが知られている。しかし, これまでのヒトの皮膚血管に関する研究ではノルアドレナリン受容体の作動薬や拮抗薬を用いた研究が主で，ノルアドレナリンの実測の報告はみあたらない。

本研究では, 交感神経活動が障害されている頸髄損傷者（CSCI）と健常者（AB）を被験者とし，マイクロダイアリシスを用いて皮内におけるノルアドレナリンの実測を試みた。大腿部に皮内マイクロダイアリシスを留置し，90 分以上の安静後, 交感神経終末からノルアドレナリンの遊離を促進するチラミンを投与した。チラミンは生理食塩水を用いて 10^{-8}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2}M の 5 濃度を各 8 分間, 毎分 4 間，の灌流速度で投与した。

個人差によるバラツキが大きかったものの, いずれのグループにおいてもノルアドレナリンを検出することができ，タキフィラシーによると思われる減弱が認められた。また, 本研究では皮内でドーパミンがチラミンの容量依存性に増加することが確認された。

18. 痛みの理解を目指した先端的アプローチ

2017 年 1 月 30 日－1 月 31 日

代表・世話人：津田　誠（九州大学大学院薬学研究院 ライフイノベーション分野）
所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門）

（1）細径線維侵害受容器終末の ASIC3 を介した遅発性筋痛の末梢神経機構

田口　徹[1,2], 松原崇紀[2], 林　功栄[2], 尾崎紀之[3], 西条寿夫[1], 山中章弘[2], 水村和枝[4]
（[1]富山大学 医学薬学研究部 神経・整復学講座，[2]名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 II
[3]金沢大学 医薬保健研究域 医学系 機能解剖学分野）

（2）Structural basis for TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species-specific differences

Rupali Gupta[1,2], Shigeru Saito[1,2], Yoshiharu Mori[3,4], Satoru Itoh[3,4], Hisashi Okumura[3,4], Makoto Tominaga[1,2]
([1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (NIPS),
[2]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI, [3]Research Center for Computational Science, IMS,
[4]Department of Structural Molecular Science)

（3）神経障害性疼痛におけるRNA編集異常

内田仁司[1]，崎村建司[1]，伊藤誠二[2]
（[1]新潟大学 脳研究所 細胞神経生物学分野, [2]関西医科大学 医化学講座)

（4）炎症性疼痛におけるスフィンゴ糖脂質の機能

渡辺　俊，佐川眞美，森田元樹，田辺光男
（北里大学薬学部薬理学教室）

（5）骨神経免疫トライアングル理論を基盤とした真菌感染随伴疼痛の発生機構ならびにその生物学的意義に関する一考察

丸山健太[1]，高山靖規[2]，富永真琴[2]，審良静男[1]，Mikael M Martino[3]，余川　隆[4]
（[1]大阪大学免疫学フロンティア研究センター，[2]岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理研究部門
[3]モナコ大学オーストラリア再生医学研究所，[4]バイオビュー生体機能イメージングセンター）

（6）ストレス性機能性胃腸症の胃痛覚過敏に肥満細胞に発現する CRF2 が関与する

小酒井友[1]，堀紀代美[1]，Aye Aye Mon[1]，白石昌武[1]，中村恒夫[1]，奥田洋明[1]，尾崎紀之[1]
（[1]金沢大学 医薬保健研究域医学系 機能解剖学）

（7）針穿刺の痛みの評価を目的としたフォンフライフィラメントによるラットの足底刺激に関する行動学的及び電気生理学的解析

青柳誠司[1]，武田侑也[1]，鈴木昌人[1]，歌　大介[2]，安東嗣修[2]
（[1]関西大学 システム理工学部，[2]富山大学 医学薬学研究部）

（8）オキサリプラチン誘発性冷刺激過敏応答におけるTRPA1の関与

三宅崇仁[1]，中村彩希[1]，趙　萌[1]，宗可奈子[1]，井上圭亮[2]，沼田朋大[3]，高橋重成[2]，
白川久志[1]，森　泰生[2]，中川貴之[1,4]，金子周司[1]
（[1]京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析，[2]京都大学大学院 工学研究科合成生物化学，
[3]福岡大学 医学部 生理，[4]京都大学医学部附属病院 薬剤部）

（9）シュワン細胞に対するタキサン系および白金系抗がん剤の異なる影響：
抗がん剤誘発末梢神経障害の発症との関連

今井哲司，小柳円花，中里　唯，松本真有奈，松原和夫，中川貴之
（京都大学医学部附属病院 薬剤部）

（10）Paclitaxel 誘起神経障害性疼痛へのマクロファージ由来 high mobility group box 1 の関与

堂本莉紗[1]，山岨大智[1]，山西広樹[1]，関口富美子[1]，坪田真帆[1]，西堀正洋[2]，川畑篤史[1]
（[1]近畿大・薬・病態薬理，[2]岡山大院・医・薬理）

（11）抗がん薬オキサリプラチン誘起神経障害性疼痛への$Ca_v3.2$ T型Ca^{2+}チャネルとHMGB1の関与について

坪田真帆[1]，福田亮太郎[1]，関口富美子[1]，宮崎貴也[1]，堂本莉紗[1]，安井洋樹[1]，
山下莉加[1]，西田武司[1,2]，石倉宏恭[2]，西堀正洋[3]，川畑篤史[1]
（[1]近畿大学 薬学部 病態薬理，[2]福岡大学 医学部 救命救急，
[3]岡山大学大学院 医歯薬学総合 薬理）

（12）母子社会分離ストレスマウスの恐怖関連行動の解析－痛みの「恐怖回避モデル」解明を目指して

小山なつ，Kenny Daun，等　誠司（滋賀医科大学 生理学講座）

（13）下肢アロディニア成立における扁桃体中心核の役割

杉本真理子，高橋由香里，加藤総夫（東京慈恵会医科大学 神経科学／痛み脳科学センター）

（14）中枢機能障害性疼痛患者における脳部位間の機能的結合と
背景要因・心理指標との関連：安静時 fMRI による検討

柴田政彦，寒　重之（大阪大学大学院 医学系研究科 疼痛医学寄附講座）

（15）成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすオレキシンAとオレキシンBの作用

王　翀，藤田亜美，鈴木里佳，馬郡信弥，平尾　崚，熊本栄一
（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 神経生理学分野）

（16）線維筋痛症モデルを用いた脊髄後角へのシグナル伝達機構解析

歌　大介[1]，宮原謙一郎[2]，坪島功幸[2]，安東嗣修[1]，西条寿夫[2]，水村和枝[3]，田口　徹[2]
（[1]富山大学 医学薬学研究部 応用薬理学教室，[2]富山大学 医学薬学研究部 神経・整復学講座
[3]中部大学 生命健康科学部 理学療法学科）

（17）脊髄 high mobility group box-1 (HMGB1) を介した脳卒中後疼痛発症機序における
脊髄 HMGB1 関連受容体とグリア細胞の関与

松浦　渉[1]，原田慎一[1]，劉　括約[2]，西堀正洋[2]，徳山尚吾[1]
（[1]神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室
[2]岡山大学 大学院医歯薬総合研究科 薬理学研究室）

（18）脳卒中後疼痛に対する dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 (DDAH1)の関与

原田慎一 1，松浦　渉 1，鷹野正興 2，徳山尚吾 1
（[1]神戸学院大学　薬学部　臨床薬学研究室，[2]神戸学院大学　薬学部　分子細胞生物学研究室）

（19）脊髄痛覚伝達におけるL-乳酸の役割

大澤匡弘，宮本啓補，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）

（20）2 型糖尿病発症カニクイザルの脊髄後角におけるケモカイン発現変動

木口倫一[1,2]，Huiping Ding[2]，雑賀史浩[1]，松﨑伸介[1]，岸岡史郎[1]，Mei-Chuan Ko[2]
（[1]和歌山県立医科大学医学部　薬理学,
[2]Dept. Physiol. Pharmacol., Wake Forest Univ. Sch. Med）

（21）慢性頭痛モデルの開発及び Photophobia 発症メカニズムの解明

田代晃正（防衛医科大学校 生理学講座）

（22）Macrophage in trigeminal ganglion contributes to ectopic orofacial pain following inferior alveolar nerve injury

Dulguun Batbold[1], Masamichi Shinoda[2] Yamaguchi Satoshi[1] and Koichi Iwata[2]
（[1]Department of Maxillofacial Surgery, Tokyo Medical and Dental University,
[2]Department of Physiology, Nihon University School of Dentistry）

（23）難治性疼痛治療を目指したPACAP特異的受容体アンタゴニストの開発

髙﨑一朗[1]，渡辺　藍[1]，長島涼太[1]，合田浩明[2]，豊岡尚樹[1]，宮田篤郎[3]，栗原　崇[3]
（[1]富山大学 大学院理工学研究部（工学），[2]昭和大学 大学院薬学研究科，
[3]鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科（医学））

（24）慢性疼痛における一次体性感覚野興奮・抑制バランスの役割

江藤　圭[1]，石川達也[1,2]，鍋倉淳一[1]
（[1]生理学研究所 生体恒常性発達研究部門,[2]福井大学 医学研究科）

（25）自発運動による脳報酬系の活性化とExercise-induced hypoalgesia

上　勝也[1]，仙波恵美子[1,2]
（[1]和歌山県立医科大学 リハビリテーション医学講座，[2]大阪行岡医療大学 医療学部）

（26）腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞の活動制御による神経障害性疼痛への影響

渡邉　萌[1]，成田　年[1,2]
（[1]星薬科大学 薬理学教室，[2]星薬科大学 先端生命科学研究センター (L-StaR)）

（27）脳内 GPR40/FFAR1 シグナル活性化は社会敗北ストレスによる痛みの回復遅延を抑制する

相澤風花，中本賀寿夫，徳山尚吾（神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室）

（28）GPR40/FFAR1は内因性疼痛抑制機構に関与する

栗原　崇[1]，千々和可怜[1]，用皆正文[1]，水沼亮太[1]，神戸悠輝[1]，
平澤　明[2]，中本賀寿夫[3]，徳山尚吾[3]，宮田篤郎[1]
（[1]鹿児島大院 生体情報薬理，[2]京都大院 薬理ゲノミクス，[3]神戸学院大 薬 臨床薬学）

（29）脊髄後角における interleukin-31 による痒み情報伝達機構に関する解析

間越祐貴，歌　大介，安東嗣修
（富山大学大学院 医学薬学研究部 応用薬理学研究室）

（30）かゆみ止め成分クロタミトンの作用機序の解明

橘高裕貴[1]，富永真琴[1,2,3]
（[1]岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門
[2]総合研究大学院大学 生理科学専攻,[3]順天堂大学 環境医学研究所）

（31）慢性掻痒に関与するアストロサイトSTAT3活性化メカニズム

白鳥美穂，山口千春，豊永穂奈美，津田　誠
（九州大学大学院薬学研究院ライフイノベーション分野）

（32）【特別講演】脊髄後角インターニューロンの多様性と局所神経回路における役割

八坂敏一（鹿児島大学 医歯学総合研究科 免疫学分野）

【参加者名】

太田大樹（帝京大学），田代晃正（防衛医科大学校），加藤総夫・高橋由香里・杉本真理子・小野里　尊・南　高岳・稲葉　祐（東京慈恵会医科大学），田辺光男・渡辺　俊（北里大学），岩田幸一・篠田雅路・久保亜抄子（日本大学），Batbold Dulguun（東京医科歯科大学），山口敬介（順天堂大学），渡邉　萌・濱田祐輔（星薬科大学），内田仁司（新潟大学），髙﨑一朗・田口　徹・歌　大介・間越祐貴・菊川　孝（富山大学），奥田洋明・堀　紀代美・中川達貴・小酒井　友（金沢大学），那須輝顕・内村佳子（中部大学），鈴木俊章（名古屋大学），大澤匡弘・杉浦健之・岩城杏奈（名古屋市立大学），小山なつ（滋賀医科大学），中川貴之・今井哲司・松本真有奈・三宅崇仁・勇　昂一・緋山　遥・矢野佑一・荻原孝史（京都大学），天谷文昌（京都府立医科大学），田中達英・寺田雄紀（奈良県立医科大学），木口倫一・上　勝也（和歌山県立医科大学），仙波恵美子（大阪行岡医療大学），柴田政彦・丸山健太（大阪大学），青柳誠司（関西大学），川畑篤史・坪田真帆・堂本莉紗（近畿大学），徳山尚吾・原田慎一・松浦　渉・相澤風花・野

崎裕大（神戸学院大学），宮地孝明・真鍋　星（岡山大学），津田　誠・白鳥美穂・林　良憲・今利一寿（九州大学），熊本栄一・藤田亜美・馬郡信弥・鈴木里佳（佐賀大学），八坂敏一・栗原　崇（鹿児島大学），石井律子（マルホ㈱），夫馬慎一郎（塩野義製薬㈱），佐々木　淳（田辺三菱製薬㈱），佃　美雪・二ノ宮理恵（花王㈱），渡邉修造・佐久間絵光・宍戸祐二・大西由英子（ラクオリア創薬㈱），森本　岳（東レ㈱），新庄勝浩（日本イーライリリー㈱），増井邦晴（丸石製薬㈱）小林淳一（キッセイ薬品工業㈱），御領憲治（日産化学工業㈱），柿木隆介・古江秀正・江藤圭・堀内　浩（生理学研究所），富永真琴・鈴木喜郎・齋藤　茂・高山靖規・Derouiche Sandra・橘高裕貴・Rupali Gupta・Erkin Kurganov・山野井　遊・Feng Xiaona・Tuminaite Inga（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

末梢神経，脊髄後角，そして脳における分子・細胞・個体レベルの研究から，痛みの受容，伝達・処理，認知，さらには負の情動など各プロセスにおける仕組みが徐々に明らかになっている。しかし，臨床での慢性疼痛は非常に複雑で，基礎研究からのエビデンスでは説明が困難，また治療薬が奏功しない等の基礎と臨床間のギャップがある。故に，近年飛躍的に痛みの理解は進んだものの，その全容解明に向けてはまだ道半ばであり，本質に迫るような画期的な分子細胞メカニズムの発見が求められている。一方で，最近のジェネティックテクノロジーの発展，さらにその技術と解剖学や電気生理学，行動薬理学的手法と組み合わせることで，特定の細胞，領域，時間的な遺伝子発現や機能制御が可能となり，従来の痛みの感覚的・情動的神経メカニズムを大きく進展，あるいは一新させる成果が次々と出はじめている。そこで，痛みの基礎および臨床研究者が一堂に会する研究会を開催して，従来の一般演題に加え，特別講演を企画し，先端技術によって疼痛研究を展開する基礎および臨床研究者による最新研究成果の発表，および双方の踏み込んだ意見交換を行い，痛みの真の理解を目指した新しい考え方や研究の方向性などを議論し，今後の研究の発展に繋げることを目的とする。加えて，将来我が国の疼痛研究をリードする若手研究者の育成においても大きな役割も持つ。

研究会では，鹿児島大学 八坂敏一先生が脊髄後角インターニューロンの多様性と局所神経回路における役割について特別講演を行った。さらに，計 31 演題の一般演題では，一次求心性神経，脊髄後角，脳，そしてそれぞれの相互連関に注目した，疼痛の生理・病態の最新の研究成果が発表され，痛みの理解を大きく前進させる新しい考え方や研究の方向性などが活発に議論された。また，参加者も 100 名を超え，大学等の助教・ポスドク・大学院生などの若手研究者も多く参加し，将来我が国の疼痛研究をリードする若手研究者の育成という目的に対しても期待通りの成果があった。

（1）細径線維侵害受容器終末の ASIC3 を介した遅発性筋痛の末梢神経機構

田口　徹[1,2]，松原崇紀[2]，林　功栄[2]，尾崎紀之[3]，西条寿夫[1]，山中章弘[2]，水村和枝[4]
（[1]富山大学 医学薬学研究部 神経・整復学講座，[2]名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 II，
[3]金沢大学 医薬保健研究域 医学系 機能解剖学分野）

遅発性筋痛 (DOMS)は運動後１～２日目にピークとなる骨格筋の機械痛覚過敏を特徴とする。これまでに我々は DOMS に筋 C 線維侵害受容器の機械感受性増大が関わること，また，酸感受性イオンチャネル (ASICs)の非選択的阻害薬 (amiloride)が DOMS の機械痛覚過敏を抑制することを報告している。しかし，これまでに，１）DOMS に筋 Aδ 線維の機械反応増大が関与するか，また，２）ASICs のうち，どのサブタイプが DOMS に関与するかは不明であり，本研究ではこの 2 点を調べた。DOMS モデルを用い，単一神経記録による電気生理学実験を行ったところ，C 線維に加え，筋 Aδ 線維の有意な機械感受性増大がみられた。DOMS モデルの筋に ASIC3 の選択的阻害薬 (APETx2, 2.2 μM)を投与すると，増大した C 線維および Aδ 線維侵害受容器の機械感受性は有意に減弱した。行動実験において

DOMS モデルの筋に APETx2 (2.2 μM)を投与すると機械逃避閾値が有意に上昇した。以上より，１）DOMS に筋 Aδ 線維の機械反応増大が関与すること，２）少なくとも筋細径線維侵害受容器(Aδ/C 線維)終末に発現する ASIC3 が DOMS に関与することが明らかになった。これらの知見は遅発性筋痛の末梢神経機構の一端として重要であると考えられる。

（2）Structural basis for TRPA1 inhibition by HC-030031 utilizing species-specific differences

Rupali Gupta[1,2], Shigeru Saito[1,2], Yoshiharu Mori[3,4], Satoru Itoh[3,4], Hisashi Okumura[3,4], Makoto Tominaga[1,2]
（[1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (NIPS),
[2]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI,
[3]Research Center for Computational Science, IMS, [4]Department of Structural Molecular Science）

Pain is a harmful sensation that usually arises from noxious stimuli. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) is one target for studying pain mechanisms. TRPA1 is known to be activated by various stimuli such as noxious cold, environmental irritants, and pungent natural products like cinnamaldehyde (CA). Since TRPA1 is an attractive target for pain therapy, many TRPA1 antagonists have been developed and some function as analgesic agents. The responses of TRPA1 to agonists and antagonists vary among species and these species differences have been utilized to identify the structural basis of activation and inhibition mechanisms. HC-030031 (HC), a TRPA1 antagonist, failed to inhibit frog TRPA1 (fTRPA1) activity by CA, but did inhibit CA-evoked currents in human TRPA1 (hTRPA1) in a heterologous expression system using *Xenopus* oocytes. Chimeric studies between fTRPA1 and hTRPA1, as well as analyses using channel point mutants, revealed that a single amino acid residue located in the linker region of the 4th and 5th transmembrane domains in hTRPA1 significantly contributed to the inhibitory activity of HC. Molecular dynamics simulation suggested that HC stably binds to this amino acid. These findings provide novel insights into the structure-function relationship of TRPA1 and could lead to the development of more effective analgesics targeted to TRPA1.

（3）神経障害性疼痛における RNA 編集異常

内田仁司[1]，崎村建司[1]，伊藤誠二[2]
（[1]新潟大学 脳研究所 細胞神経生物学分野，[2]関西医科大学 医化学講座）

神経損傷に起因する慢性疼痛（神経障害性疼痛）において，一次知覚神経の機能変調は重要な役割を果たしている。その分子基盤には，遺伝子転写調節および翻訳後修飾を介する，痛み関連分子の発現量またはその活性の異常が関与することが指摘されてきた。一方，神経障害性疼痛における転写後調節の病態学的役割については，未解明な部分が多く，重要な研究課題が残されている。代表的な転写後修飾には，RNA レベルで遺伝暗号を書き換える，具体的には二本鎖 RNA 領域の特定のアデノシンをイノシンに変換する「RNA 編集」が知られている。イノシンはシトシンと塩基対合し，翻訳時にはグアノシンとして認識されることから，RNA 編集はアミノ酸置換を引き起こす。興味深いことに，RNA 編集によりアミノ酸置換が生じる主な基質は，イオンチャネルや神経伝達物質受容体であり，RNA 編集は神経細胞の興奮性や伝達機能の調節に重要な役割を果たしている。これらの研究背景に基づき，神経障害性疼痛における RNA 編集の病態学的役割を解析した。本発表では，その解析結果について紹介する。

（4）炎症性疼痛におけるスフィンゴ糖脂質の機能

渡辺　俊，佐川眞美，森田元樹，田辺光男
（北里大学薬学部薬理学教室）

脂質二重層は多様な両親媒性脂質から構成されており，その一種であるスフィンゴ糖脂質はセラミドから生合成され，親水基として複雑で多様な糖鎖を有している。これらのスフィンゴ糖脂質は神経軸索の維持やミエリンとの相互作用などにおいて重要な機能を果たしていることが知られている。我々の以前の研究から，痛みの発生においてもスフィンゴ糖脂質が関与していることが示唆された。すなわち，スフィンゴ糖脂質の一種であるガングリオシド（糖鎖にシアル酸を含む）をマウス足底に投与したところ，皮下におけるグルタミン酸放出を介して痛覚過敏を引き起こすことが明らかとなった。炎症性疼痛における機械的アロディニアはシアル酸分解酵素の投与により緩和され，反対に健常動物へのガングリオシド投与によりアロディニアが引き起こされた。さらに，炎症時にシアル酸を含むスフィンゴ糖脂質が皮膚に出現することが明らかとなった。一方，糖脂質は多様な糖転移酵素により糖が付加されて生成されていくので，炎症性疼痛における糖転移酵素の mRNA 発現量を後根神経節や脊髄を採取し解析したところ，いくつかの糖転移酵素の発現量変化が認められた。以上から，疼痛の制御においてスフィンゴ糖脂質が関与していることが示唆された。

（5）骨神経免疫トライアングル理論を基盤とした真菌感染随伴疼痛の発生機構ならびにその生物学的意義に関する一考察

丸山健太 [1]，高山靖規 [2]，富永真琴 [2]，審良静男 [1]，Mikael M Martino[3]，余川　隆 [4]
（[1] 大阪大学免疫学フロンティア研究センター，
[2] 岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理研究部門，
[3] モナコ大学オーストラリア再生医学研究所，[4] バイオビュー生体機能イメージングセンター）

先天性無痛症は温痛覚消失を伴った常染色体劣性の遺伝病である。温痛覚を担う後根神経節は自由神経終末を抹消に投射しているが，先天性無痛症患者ではこれらの神経繊維が選択的に欠損する。興味深いことに，先天性無痛症患者には重篤な四肢骨折，細菌/真菌性の関節炎，骨髄炎といった障害が多発する。こうした易感染性・易骨破壊性は身体に異常な力が加わってもそれを感知できないことが原因であると漠然と考えられているが，骨代謝系や自然免疫系の異常が症状発現に寄与している可能性については殆ど検討がなされていない。また，現時点において感覚神経系と炎症性骨破壊の関連を調べた研究は少なく，痛覚神経を欠損する患者の特徴的病態を理解するためには自然免疫—感覚神経—破骨細胞系のクロストーク探求を基盤とする「骨神経免疫トライアングル系」の解明が不可欠である。我々は数年前より痛覚神経を遺伝学的手法によって除去したマウスとカンジダやその構成成分を用いた真菌性骨髄炎モデルならびに resting state fMRI 解析を組みあわせることで，感覚神経の骨自然免疫系における機能の全貌解明に取り組んでおり，今回はその過程で明らかとなってきた真菌随伴疼痛の詳細な分子機序ならびに「骨自然免疫系抑制ニューロン」の存在を示唆する遺伝学的証左についてご報告させていただく。

（6）ストレス性機能性胃腸症の胃痛覚過敏に肥満細胞に発現する CRF2 が関与する

小酒井友[1]，堀紀代美[1]，Aye Aye Mon[1]，白石昌武[1]，中村恒夫[1]，奥田洋明[1]，尾﨑紀之[1]
（[1]金沢大学 医薬保健研究域医学系 機能解剖学）

【目的】明らかな器質的病変が見られないにも関わらず痛みなどの上部消化管症状を呈する疾患として機能性胃腸症（FD）がある。本研究では，我々が開発・検討を進めている FD の動物モデルを用い，ストレスを加えたときの胃の痛覚の変化を調べ，痛覚の亢進への副腎皮質刺激ホルモン放出因子（CRF）ファミリーおよび IL-6 の関与を調べた。

【材料と方法】雄性ラットの胃にバルーン，僧帽筋に筋電図測定用の電極を留置し，胃をバルーン伸展した時の筋電図の変化を胃の痛覚として測定した。1 日 1 時間の Water avoidance ストレス（WAS）を 10 日間反復して負荷し，経時的に胃の痛覚を評価した。また，拮抗薬を用い行動薬理試験を行った。WAS 後の胃粘膜を取り出し CRF，CRF2 受容体，urocortin(UCN)，肥満細胞の発現を調べた。

【結果】WAS の反復負荷により胃の痛覚が亢進し, CRF1 受容体拮抗薬は効果を示さなかったが，CRF 受容体拮抗薬及び CRF2 受容体拮抗薬で抑制され，更に IL-6 中和抗体による抑制傾向が見られた。胃粘膜には CRF, UCN1, UCN2 及び受容体である CRF2 が発現しており，肥満細胞との共発現も一部見られた。

【結論】反復 WAS における胃の痛覚過敏には CRF2 受容体が関与しており，機能性胃腸症のメカニズムへの関与が示唆された。

（7）針穿刺の痛みの評価を目的としたフォンフライフィラメントによるラットの足底刺激に関する行動学的及び電気生理学的解析

青柳誠司[1]，武田侑也[1]，鈴木昌人[1]，歌　大介[2]，安東嗣修[2]
（[1]関西大学 システム理工学部，[2]富山大学 医学薬学研究部）

人間は蚊に刺されてもほとんど痛みを感じない。筆者のうち青柳，鈴木は蚊の穿刺メカニズムの解明を行い，それに基づき痛みの軽減を目指したマイクロ注射針の開発を行ってきた。今後動物実験により，この針の痛みの評価を行う必要がある。

本研究では，以下のような痛みの評価方法を提案する。1) フォンフライフィラメントでラット足底に刺激を与え，生じた反応を，0 点:反応なし, 1 点:足をずらす, 2 点:足を上げる, 3 点:足を舐める，としてスコア化する。これよりフィラメントの番手（ターゲットフォース）と反射行動とを対応づける（行動学的解析）。 2) 脊髄後角表層細胞から in vivo 細胞外記録を行い，フォンフライフィラメント刺激により誘起された発火頻度を解析する。これよりフィラメントの番手と発火頻度とを対応づける（電気生理学的解析）。3) 開発した無痛針とコントロールとしての市販針を麻酔下ラットの足底に穿刺し，この際誘起される脊髄後角表層細胞の発火から 1), 2)の結果を用いて，針穿刺の痛みが反射反応を生じさせないほど小さい，足をずらしたり足を上げたりする程度の痛みである，足を舐めるほど痛い，等の評価を行う。

本報では，上記のうち 1)の行動学的解析の結果について報告する。フィラメントの番手が上がるほど反射行動のスコアも増加することが確認された。また 2)の電気生理学的解析についても一部実施し，フィラメントの番手と脊髄後角表層細胞の発火頻度との関係を調査した。

（8）オキサリプラチン誘発性冷刺激過敏応答における TRPA1 の関与

三宅崇仁[1]，中村彩希[1]，趙　萌[1]，宗可奈子[1]，井上圭亮[2]，沼田朋大[3]，高橋重成[2]，
白川久志[1]，森　泰生[2]，中川貴之[1,4]，金子周司[1]
（[1]京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析，[2]京都大学大学院 工学研究科 合成生物化学，
[3]福岡大学 医学部 生理，[4]京都大学医学部附属病院 薬剤部）

抗がん剤であるオキサリプラチンは，投与直後から 1 週間以内にかけて，冷たい物体に触れるとしびれ感に似た感覚異常を引き起こすことが知られている。この感覚異常の発症メカニズムに関して，Nav1.6 をはじめとしたイオンチャネルの関与が示されているものの，その全容が明らかとなったわけではない。我々は以前より transient receptor potential ankyrin 1（TRPA1）に着目しており，コールドプレートを用いた実験において，オキサリプラチンを投与したマウスが過剰な逃避行動を見せ，TRPA1 の活動を薬理学的･遺伝学的に抑制すると，この逃避行動が抑えられることを示した。本研究においては分子メカニズムのさらなる解明を目指した結果，オキサリプラチンの特徴的な代謝産物であるシュウ酸がプロリン水酸化酵素を阻害すること，それにより TRPA1 が過酸化水素に対して過敏化することを見出した。これらの知見の冷刺激感受性に対する関与を調べるため in vitro において電気生理学的解析を行った結果，ヒト TRPA1 は通常冷刺激に対しては反応しないが，低濃度の過酸化水素が存在しプロリン水酸化酵素を阻害した条件においてのみ冷刺激に反応することが明らかとなった。以上より，ヒト TRPA1 は通常冷刺激を感知しないが，ある条件が整うと冷刺激感受性を獲得することが示唆された。

（9）シュワン細胞に対するタキサン系および白金系抗がん剤の異なる影響：抗がん剤誘発末梢神経障害の発症との関連

今井哲司，小柳円花，中里　唯，松本真有奈，松原和夫，中川貴之
（京都大学医学部附属病院 薬剤部）

【目的】タキサン系および白金系抗がん剤は，副作用として抗がん剤誘発末梢神経障害 (CIPN) を誘発するが，その発症機序には不明な点が多い。一方，末梢神経において髄鞘を形成するシュワン細胞の機能異常が，末梢神経障害の引き金となることが知られている。そこで本研究では，ラット坐骨神経由来シュワン細胞培養系用いて，CIPN の発症機序について検討を行った。【方法】新生児ラット坐骨神経から，初代培養シュワン細胞を調製・精製し，forskolin/heregulin 処置により myelin basic protein（MBP）陽性，p75 陰性の成熟シュワン細胞に分化させた。【結果】Paclitaxel (TXL)，cisplatin (CDDP)あるいは oxaliplatin (L-OHP)をシュワン細胞に処置したところ，いずれも細胞生存率の減少ならびに MBP 発現低下が引き起こされた。CDDP あるいは L-OHP 処置群では細胞形態に変化は認められなかったものの，ミトコンドリア障害が惹起された。一方，TXL 処置群では双極性突起が消失し，MBP 発現低下，p75 発現増加で示されるシュワン細胞の脱分化が観察された。【考察】以上の結果より，白金系抗がん剤によるミトコンドリア障害を伴ったシュワン細胞の細胞死あるいは TXL によるシュワン細胞の脱分化による脱髄が CIPN 発症の一因であることが明らかとなった。

（10）Paclitaxel 誘起神経障害性疼痛へのマクロファージ由来 high mobility group box 1 の関与

堂本莉紗[1]，山岨大智[1]，山西広樹[1]，関口富美子[1]，坪田真帆[1]，西堀正洋[2]，川畑篤史[1]
（[1]近畿大・薬・病態薬理，[2]岡山大院・医・薬理）

High mobility group box 1 (HMGB1) は，histone acetyltransferase (HAT)でアセチル化されて核内から細胞質へ移行し，細胞外に放出された後，TLR4, RAGE, CXCR4 などの受容体を介して炎症や痛みを増強する。今回は，paclitaxel（PCT）誘起神経障害性疼痛へのマクロファージ (Mφ)由来 HMGB1 の関与を検討した。マウスにおいて PCT 誘起アロディニアは，抗 HMGB1 中和抗体，リポソーム化 clodronate による Mφ 枯渇，Mφ からの HMGB1 遊離を抑制する ethyl pyruvate，NFκB 阻害薬 PDTC，抗酸化薬 N-acetylcysteine (NAC)，RAGE あるいは CXCR4 拮抗薬により阻止されたが，TLR4 拮抗薬の影響を受けなかった。PCT 処置後，坐骨神経において Mφ の蓄積が認められた。Mφ 様 RAW264.7 細胞において，PCT は HAT 発現誘導，HMGB1 細胞質移行および細胞外放出，ROS 産生を誘起した。PCT 誘起 HMGB1 遊離は PDTC，NAC あるいは p38MAPK 阻害薬 SB203580 により抑制された。以上より，PCT 誘起神経障害性疼痛には，ROS/p38/NF-κB/HAT 系シグナルを介して Mφ から分泌された HMGB1 による RAGE および CXCR4 の活性化が関与する可能性が示唆された。

（11）抗がん薬オキサリプラチン誘起神経障害性疼痛への $Ca_v3.2$ T 型 Ca^{2+}チャネルと HMGB1 の関与について

坪田真帆[1]，福田亮太郎[1]，関口富美子[1]，宮崎貴也[1]，堂本莉紗[1]，安井洋樹[1]，
山下莉加[1]，西田武司[1,2]，石倉宏恭[2]，西堀正洋[3]，川畑篤史[1]
（[1]近畿大学 薬学部 病態薬理，[2]福岡大学 医学部 救命救急，[3]岡山大学大学院 医歯薬学総合 薬理）

Paclitaxel (PCT) 誘起神経障害性疼痛には $Ca_v3.2$ T 型 Ca^{2+}チャネルとマクロファージ（Mφ）由来 high mobility group box 1 (HMGB1) が関与する。今回は，oxaliplatin (OHP) 誘起神経障害性疼痛にこれらの分子が関与するか否かを検討した。マウスに OHP を 1 回腹腔内投与すると，投与初日（急性期）から 1 週間（慢性期）以上持続する機械的アロディニアが検出された。T 型 Ca^{2+}チャネル拮抗薬および $Ca_v3.2$ のノックダウンは慢性期アロディニアを抑制し，抗 HMGB1 中和抗体，HMGB1 を吸着分解する thrombomodulin α，HMGB1 の標的分子である RAGE，CXCR4 あるいは TLR4 の拮抗薬は，急性期および慢性期アロディニアを消失させた。一方，ethyl pyruvate, minocycline あるいはリポソーム化 clodronate によって Mφ からの HMGB1 遊離を抑制してもアロディニアは抑制されなかった。また OHP は坐骨神経における Mφ 集積を誘起しなかった。さらに，OHP は，Mφ 様 RAW264.7 細胞では HMGB1 遊離を起こさなかったが，初代培養シュワン細胞から HMGB1 を放出させた。以上より，OHP 誘起神経障害性疼痛には，$Ca_v3.2$ とシュワン細胞などの Mφ 以外の細胞に由来する HMGB1 が関与することが示唆された。

（12）母子社会分離ストレスマウスの恐怖関連行動の解析－痛みの「恐怖回避モデル」解明を目指して

小山なつ，Kenny Daun，等　誠司（滋賀医科大学 生理学講座）

痛みの慢性化に対して「恐怖回避モデル」が注目されているが，そのメカニズムは明らかではない。恐怖回避傾向

には，遺伝的要因や後天性のストレスの関与が予想される。

げっ歯類を対象とする母子分離モデルにはさまざまな手法があり結果はまちまちである。本研究では C57BL/6J 系の雄マウスを対象とし，母マウスと同腹仔の両方から分離する母子社会分離(MSS)を採用した。ストレスホルモンに対する低反応期である生後 2 週間（early-MSS 群）あるいは，低反応期後の生後 3 週目（late-MSS 群）に，1 日 3 時間母子分離を行い，成熟後に恐怖関連行動を解析した。

不安行動，聴覚性驚愕反応には有意差は認められなかったが，恐怖条件付けテストにおいて興味深い結果が得られた。フットショック（無条件侵害刺激）と明るいチャンバー（文脈条件刺激）や音刺激（手がかり条件刺激）を組み合わせる連合学習が成立すれば，無条件刺激がなくてもマウスは不動化する。恐怖条件付け後に文脈テストと手がかりテストを行った。early-MSS 群では海馬依存性の文脈テストにおいて，late-MSS 群では海馬非依存性の手がかりテストにおいて不動時間の減少がみられた。ともに恐怖消去学習の効果は対照群と変わらなかったので，MSS 群は恐怖に過剰反応しないと示唆された。母子分離に関連する機構が解明されれば，恐怖回避傾向の対応策に結びつく可能性が示唆された。

（13）下肢アロディニア成立における扁桃体中心核の役割

杉本真理子，高橋由香里，加藤総夫（東京慈恵会医科大学 神経科学／痛み脳科学センター）

侵害受容器からの情報は脊髄後角もしくは三叉神経脊髄路核を介して，情動の中枢である扁桃体中心核（CeA）に投射する。これらに加え，CeA には，皮質・視床を介した統合的侵害受容情報も投射しており，これらの直接的・間接的侵害受容情報が，痛みの情動的側面の形成に関与する。実際，慢性痛動物モデルや慢性痛患者で，扁桃体の興奮性・自発活動亢進，灰白質容積増大などが報告されている。

一方，健常マウス CeA への MAP キナーゼ活性化薬投与が下肢アロディニアを誘発する成績も報告されており（Carrasquillo and Gereau, 2007），扁桃体の役割は，痛み情動の形成にとどまらない可能性がある。我々は，三叉神経支配域における炎症性疼痛が慢性痛移行相において下肢アロディニアを生じる事実を見出しており，アロディニア形成に何らかの脳機構が関与している可能性がある。この「異所性痛覚過敏」モデルを用い，下記の 2 種のアプローチでアロディニア形成における CeA の役割を検討した。（1）成熟ラット CeA への薬物微量投与用カニューレ装着，および，（2）VGAT-cre ラット CeA への AAV-DIO-hM4D ウィルスベクター注入を行い，数週間後，口唇部にホルマリン溶液を皮下注射し，急性炎症性疼痛行動を観察した。その終息後，投与 1.5 時間以降から，両側下肢の機械性逃避閾値（PWT）を経時的に観察した。ホルマリン投与 1.5 時間後から 72 時間後まで著明な PWT 低下が両側性に生じたが，（1）CeA 内への CGRP 受容体遮断薬投与，および，（2）clozapine-N-oxide（CNO, i.p.）投与によって一過性に軽減した。この効果は再現性があり，投与部位に依存し，さらに，右側 CeA のみへの投与で両側性に観察された。以上より，CeA は痛み関連情動の発現のみならず，慢性痛における痛覚過敏／異痛症の発現にも関与することが示された。

（14）中枢機能障害性疼痛患者における脳部位間の機能的結合と背景要因・心理指標との関連：安静時 fMRI による検討

柴田政彦，寒　重之（大阪大学大学院 医学系研究科 疼痛医学寄附講座）

【目的】線維筋痛症や複合性局所疼痛症候群 I 型など慢性痛の発症には中枢神経系の機能異常が関連していると考えられており，安静時 fMRI を用いた先行研究において自発脳活動の同期性が健康成人と異なることが報

告されている。この違いの要因を明らかにするため，本研究では，患者群における脳部位間の機能的結合と背景要因や心理指標との関連を検討した。

【方法】34 名（女性 27 名，平均 55.9±16.0 歳）の中枢機能障害性疼痛患者に対して 5 分間の安静時 fMRI をおこなった。前帯状皮質，後帯状皮質，島皮質，扁桃体，中脳水道灰白質の機能的結合を被験者ごとに評価し，痛み，罹患期間，HADS（不安・うつ），PCS（破局化）などの因子との関係を重回帰分析により調べた。

【結果】左扁桃体と左島皮質の間の機能的結合は，平均の痛みの強さとの間に正の相関を示した。一方，罹患期間は，前帯状皮質と島皮質前部の機能的結合と負の相関を示した。また，HADS の不安は右扁桃体内の機能的結合と負の相関を示した他, PCS は右扁桃体と右海馬傍回，右帯状皮質と右視床との間の機能的結合と正の相関を示した。

【結論】中枢機能障害性疼痛患者では，健常人では独立して働いている痛覚認知に関連する脳部位と情動に関連する脳部位とに同期性が認められ，背景要因や心理指標と相関していたことから，これらの脳内ネットワークの変化が，痛みの慢性化と関連している可能性が示唆された。

（15）成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすオレキシン A とオレキシン B の作用

王　翀，藤田亜美，鈴木里佳，馬郡信弥，平尾　崚，熊本栄一
（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 神経生理学分野）

オレキシン(OX)A や OXB はオキシトシン(OXT)と同様，脊髄後角で鎮痛に働く視床下部由来ペプチドである。我々は以前, OXT が成熟ラットの脊髄膠様質(SG)ニューロンのシナプス伝達に及ぼす作用を調べ，幼若ラットの結果と異なることを報告した。SG ニューロンのシナプス伝達に及ぼす OXA と OXB の作用は, 幼若ラットで報告があるが成熟ラットで不明である。今回，成熟ラット脊髄横断薄切片の SG ニューロンにパッチクランプ法を適用し，保持膜電位-70 mV で記録される自発性 EPSC や保持膜電流に及ぼす OXA や OXB の作用を調べた。幼若ラットと同様，いずれも自発性 EPSC の振幅の変化を伴わない発生頻度の増加と内向き膜電流を誘起した。これらの作用は濃度依存的で OXB 作用の EC_{50} 値はそれぞれ 0.051 μM と 0.020 μM であった。OXA は OXB よりも高い割合のニューロンで応答を示したが，効果の大きさに差がなかった。OX 作用は繰り返し見られ，電位作動性 Na^+チャネル阻害薬テトロドトキシン抵抗性であった。OXA 作用は OX1 受容体と OX2 受容体の阻害薬（それぞれ SB334867 と JNJ10397049）の両方により抑制されたが，OXB 作用は SB334867 に抵抗性である一方，JNJ10397049 により抑制された。これらの OX 作用は幼若と成熟のラットの両方で鎮痛に寄与することが示唆された。

（16）線維筋痛症モデルを用いた脊髄後角へのシグナル伝達機構解析

歌　大介[1]，宮原謙一郎[2]，坪島功幸[2]，安東嗣修[1]，西条寿夫[2]，水村和枝[3]，田口　徹[2]
（[1]富山大学 医学薬学研究部 応用薬理学教室，[2]富山大学 医学薬学研究部 神経・整復学講座
[3]中部大学 生命健康科学部 理学療法学科）

線維筋痛症 (fibromyalgia, FM)は全身性の疼痛を主症状とする慢性難治性疾患である。近年，複数の FM モデル動物が作出され，行動薬理解析より鎮痛効果を示す有用な薬物がいくつか報告されている。また，我々の先行研究より，FM の末梢神経機構の一端が解明されつつあるが，中枢における神経機構はほとんど研究がなされて

いない。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)を用い，*in vivo* 細胞外記録法により脊髄後角細胞における自発発火及び von Frey フィラメント（vFF）刺激により誘起される発火の記録・解析を行った。その結果，FM モデルの脊髄後角表層において自発発火を示す細胞が観察された。このような自発発火は健常ラットや溶媒投与対照群では観察されなかった。更に，vFF 刺激により誘起される発火頻度が溶媒投与対照群に比べ FM モデルでは有意に増加していた。これらの結果から，FM モデルでは，一部の脊髄後角細胞において自発発火が発生しており，更に，，vFF 刺激に対する脊髄後角細胞の機械感受性が増大していることが明らかとなった。これらの知見は，線維筋痛症患者にみられる機械的痛覚過敏の中枢神経機構に関わると考えられる。

（17）脊髄 high mobility group box-1 (HMGB1) を介した脳卒中後疼痛発症機序における脊髄 HMGB1 関連受容体とグリア細胞の関与

松浦　渉[1]，原田慎一[1]，劉　括約[2]，西堀正洋[2]，徳山尚吾[1]
（[1]神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室，[2]岡山大学 大学院医歯薬総合研究科 薬理学研究室）

【要旨】我々は，脊髄の HMGB1 が脳卒中後疼痛 (CPSP) の発症に関与することを報告した。近年，HMGB1 がその受容体である receptor for advanced end products (RAGE), toll-like receptor 4 (TLR4) またはグリア細胞に作用し，疼痛の増悪に関与することが報告された。そこで，CPSP に対する HMGB1 を介した疼痛制御機序における RAGE, TLR4 またはグリア細胞の関与を検討した。全脳虚血モデルは 30 分の両側総頸動脈閉塞法 (BCAO) によって作成した。脊髄において，HMGB1 は神経細胞およびグリア細胞に局在した。さらに，BCAO 後の後肢に認められた機械的アロディニアは，RAGE 阻害剤 (70 μg/mice)，TLR4 阻害剤 (5, 10 μg/mice) の脊髄腔内投与，抗 HMGB1 抗体 (100 μg/mice) の静脈内投与によって有意に抑制された。さらに, BCAO 後に脊髄グリア細胞の活性化が認められたものの，抗 HMGB1 抗体静脈内投与によってミクログリア (抑制), アストロサイト (影響なし) は異なる挙動を示した。以上の結果から，CPSP の発症機序の一部に，脊髄の HMGB1 によって活性化されるミクログリアと RAGE または TLR4 シグナルの連動が関与していることが示唆された。

（18）脳卒中後疼痛に対する dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 (DDAH1) の関与

原田慎一[1]，松浦　渉[1]，鷹野正興[2]，徳山尚吾[1]
（[1]神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室，[2]神戸学院大学 薬学部 分子細胞生物学研究室）

【要旨】我々は 脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain: CPSP) の機序解明を目的に，脊髄においてプロテオーム解析を行った結果，10 因子に変化が認められ，その一つである DDAH1 に着目した。DDAH1 は，nitric oxide synthetase (NOS) の産生を誘導することが報告されている。さらに NOS は，神経障害性疼痛の増悪に関与することが見出されている。そこで，本研究では，CPSP の発現に対する DDAH1 および NOS の関与について検討した。5 週齢の ddY 系雄性マウスを用い，CPSP モデルは 30 分の両側総頸動脈閉塞法 (bilateral carotid arteries occlusion: BCAO) によって作成した。BCAO 1 日後にマウス後肢の機械的刺激に対する逃避行動回数の変化を von Frey test を用いて行った。BCAO 1 日後における有意な逃避行動回数の増加は，PD404182（DDAH1 阻害剤）および L-NAME（NOS 阻害剤）の脊髄腔内投与によって有意に抑制された。以上の結果から，CPSP の発現の一部に，脊髄における DDAH1 シグナルの変動が関与している可能性が考えられた。

（19）脊髄痛覚伝達におけるL-乳酸の役割

大澤匡弘，宮本啓補，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）

神経障害時には脊髄アストロサイトは反応性アストロサイトに形態変化し，痛覚過敏の維持に関わることが知られているが，そのメカニズムは未だ不明瞭である。そこで本研究では，アストロサイトから放出される L-乳酸に注目し，脊髄における痛覚伝達に対する影響ならびに神経障害疼痛への寄与について検討した。まず，脊髄後角アストロサイトを選択的に活性化すると，機械刺激に対する痛み閾値が低下し，モノカルボン酸トランスポーター（MCT）阻害薬により抑制された。次に，MCT により輸送される L-乳酸を脊髄くも膜下腔内へ投与すると，機械刺激に対する痛み閾値が低下した。この痛覚閾値低下は MCT 阻害薬や乳酸脱水素酵素（LDH）阻害薬により抑制された。このことから，アストロサイトの活性化による痛覚閾値の低下は L-乳酸の放出を介しており，L-乳酸は脊髄痛覚伝達を亢進させることが示唆された。また，L-乳酸の投与により，ニューロンにおいて c-Fos 陽性細胞数が増加し，この増加は MCT 阻害薬により抑制された。このことから，L-乳酸が神経細胞の活性化を惹起することが明らかになった。さらに，神経障害性モデルマウスにおける痛覚過敏は，MCT 阻害薬，LDH 阻害薬，およびアストロサイト阻害薬それぞれの急性投与により抑制された。これより，神経障害による痛覚過敏には，反応性アストロサイトから放出される L-乳酸が関与することが示唆された。

（20）2 型糖尿病発症カニクイザルの脊髄後角におけるケモカイン発現変動

木口倫一[1,2]，Huiping Ding[2]，雑賀史浩[1]，松﨑伸介[1]，岸岡史郎[1]，Mei-Chuan Ko[2]
（[1]和歌山県立医科大学医学部 薬理学，[2]Dept. Physiol. Pharmacol., Wake Forest Univ. Sch. Med）

糖尿病に付随する感覚異常の分子病態学的背景には，神経炎症が密接に関与している。げっ歯類での先行研究において，ケモカインが病的疼痛の新しい制御分子であると位置づけられているものの，霊長類においてそれを裏付ける報告は殆ど見当たらない。そこで我々は，2 型糖尿病を自然発症したカニクイザルの脊髄ならびに視床におけるケモカイン発現変動解析を目的として本研究を行った。

糖尿病群の脊髄後角を用いたリアルタイム PCR 解析により，ミクログリアマーカーである IBA1 およびアストロサイトマーカーである GFAP の発現増加が観察された。また免疫染色においても，これら両マーカーの発現増加が確認された。各種ケモカインリガンドおよび受容体の発現を同様に検討したところ，糖尿病群の脊髄後角では CC-chemokine ligand (CCL) 2，CCL3，CCL4 およびこれらに対応する受容体である CC-chemokine receptor (CCR) 2，CCR1/5 の発現がいずれも上昇しており，計 10 種のケモカイン受容体発現増加が認められた。一方で，視床においては僅かなケモカイン分子の変化のみが観察された。

これらの結果より，糖尿病時の脊髄後角では長期的なグリア細胞活性化ならびにケモカインシステムの発現増加が生じており，げっ歯類のみならず霊長類においてもこれらの因子が病的疼痛の制御に関与する可能性が示唆された。（Kiguchi et al., Biochim Biophys Acta, in press）

（21）慢性頭痛モデルの開発及び Photophobia 発症メカニズムの解明

田代晃正（防衛医科大学校 生理学講座）

慢性頭痛の動物モデル作成は困難であり，未だ確立されたモデルは存在しない。しかしながら，近年爆発事故等で発生する衝撃波が，慢性的な片頭痛症状を引き起こすことが報告されている。一方，我々は光刺激に応答するニューロンを三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)で発見し，光による副交感神経反射（眼球内の血管拡張）が Vc ニューロンを興奮させていることを報告した。今回我々は，レーザー誘起衝撃波を用いた慢性頭痛モデルを作成し，痛覚過敏や光過敏の様子を Vc の興奮性の変調に注目して検討を行った。

レーザー誘起衝撃波を雄性ラット頭頂部に照射。Eye wiping test により痛覚過敏を観察した。また，衝撃波照射 10 日後のラット角膜への，化学刺激（NaCl; 0.15-5M）及び，光刺激（放射照度；50-500W/m^2）による Vc の神経活動を記録，Naive 群と比較した。その結果，痛覚過敏は２週間以上続き，衝撃波群における化学刺激及び光刺激による Vc ニューロンの興奮性は Naive 群と比較し有意に上昇した。

頭頂部への衝撃波は慢性的な Vc の感作を引き起こし，痛覚過敏や光過敏を誘発していることが明らかとなった。また弱い光刺激に対する Vc ニューロンの興奮性の増大は Photophobia を反映していると推察でき，本モデルにより慢性頭痛下における自律神経系を含んだ侵害受容機構のダイナミックな変調を再現することが可能となった。

（22）Macrophage in trigeminal ganglion contributes to ectopic orofacial pain following inferior alveolar nerve injury

Dulguun Batbold[1], Masamichi Shinoda[2] Yamaguchi Satoshi[1] and Koichi Iwata[2]
（[1]Department of Maxillofacial Surgery, Tokyo Medical and Dental University,
[2]Department of Physiology, Nihon University School of Dentistry）

Purpose: Accidental mandibular nerve injury sometimes occurs in tooth extraction or implant procedure, resulting in ectopic orofacial pain on rare occasions. The exact mechanisms underlying the ectopic orofacial pain is still unknown. We investigated the possible ectopic orofacial pain mechanisms that interact with macrophages in trigeminal ganglion (TG) following inferior alveolar nerve transection (IANX).

Materials & Methods: We performed IANX under deep anesthesia in Sprague-Dawley rats (Male, 160-270 g). Mechanical head-withdrawal threshold (MHWT) in the whisker pad skin ipsilateral to IANX was measured every other day for 13 days. Immunohistochemically, we examined Iba1 expression in TG on day 3 after IANX. Next, we measured the MHWT in the whisker pad skin ipsilateral to IANX following successive intrathecal administration of macrophage depletion agent, liposomal clodronate clophosome-A (LCCA). In addition, TNF-α expression in TG was measured on day 3. We also tested MHWT in the whisker pad skin ipsilateral to IANX with the successive intrathecal (i.t) administration of Etanercept, TNF-α receptor antagonist.

Results & Conclusions: MHWT in the whisker pad skin was significantly reduced, and the number of Iba1 immunoreactive (IR) cells in TG was significantly increased on day 3 after IANX. LCCA administration significantly reduced the number of Iba1-IR cells in TG, and the decreased MHWT in the whisker pad skin was recovered after the administration. TNF-α expression in TG was enhanced on day 3 after IANX, which was depressed by LCCA. The reduced MHWT was recuperated with i.t. Etanercept. These findings suggest that TNF-α induced by the infiltrated macrophages in TG contributes to ectopic mechanical allodynia in the whisker pad skin following IANX.

（23）難治性疼痛治療を目指したPACAP特異的受容体アンタゴニストの開発

髙﨑一朗[1]，渡辺　藍[1]，長島涼太[1]，合田浩明[2]，豊岡尚樹[1]，宮田篤郎[3]，栗原　崇[3]
（[1]富山大学 大学院理工学研究部（工学），[2]昭和大学 大学院薬学研究科，
[3]鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科（医学））

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（PACAP）は，宮田らがヒツジ視床下部から見出した多機能神経ペプチドである。我々の研究グループは最近，PACAP特異的受容体であるPAC1受容体が，疼痛の慢性化に強く関与することを明らかにした。したがって，PAC1 受容体は新規鎮痛薬開発の良い標的となることが考えられるが，現在までPAC1受容体に対する非ペプチド性拮抗薬は報告されていない。そこで本研究では，イン・シリコ　スクリーニングによるPAC1受容体受容体拮抗薬（低分子有機化合物）のデザイン・創製を行い，細胞およびマウスを用いた薬理学的評価を行った。

PAC1受容体-PACAP 6-38複合体三次元構造（PDB ID：2JOD）を利用したイン・シリコ スクリーニングにより，既存の化合物データベースから 10 種類の候補化合物を同定した。このうち，PAC1発現CHO細胞を用いた薬理学的アッセイにより，3 種の新規 PAC1 受容体拮抗薬候補化合物（PA-8，PA-9，PA-10と命名）を見出した。これらはいずれも PACAP の髄腔内投与によって惹起される疼痛様行動を強く抑制し，PA-8においては種々疼痛モデルマウスの疼痛様行動を一部抑制する効果があることを見出した。現在，PA-8等の構造をもとに誘導体化合物の合成を展開しており，今後はより効果的な新規鎮痛薬の開発を目指したいと考えている。

（24）慢性疼痛における一次体性感覚野興奮・抑制バランスの役割

江藤　圭[1]，石川達也[1,2]，鍋倉淳一[1]
（[1]生理学研究所 生体恒常性発達研究部門，[2]福井大学 医学研究科）

一次体性感覚野（S1）は，痛みの強度・部位を認識する領域であり，慢性疼痛時にはその活動が亢進することがヒトやげっ歯類の機能的核磁気共鳴法を用いた研究により明らかにされている。また，この脳活動の変化が大きいほど痛みを強く感じることから，S1が慢性疼痛において重要な役割を担っていることが示唆されている。S1は情報を統合・出力を行う興奮性神経細胞とその細胞活動を制御する抑制性神経細胞から構成されており，両者の活動バランスが感覚処理を決定する。しかし，大脳皮質における興奮・抑制バランスの慢性疼痛における役割はほとんどわかっていない。そこで，本研究では2光子顕微鏡を用いて S1 興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の活動を可視化し，慢性疼痛における細胞活動を観察した。その結果，慢性疼痛時には障害側と反対側S1では抑制性神経細胞活動が亢進するものの，カリウム・クロライド共輸送体の発現低下により抑制力が減弱するため興奮・抑制バランスが崩れ痛みが増強されることが明らかになった。また，障害肢と同側S1においても抑制性細胞活動が亢進していた。脱抑制により興奮性シナプスの再編成が誘導され，神経活動が亢進し健常肢で慢性疼痛（ミラーイメージペイン）が発症した。これらの結果から，S1の興奮・抑制バランスは慢性疼痛発症・維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

（25）自発運動による脳報酬系の活性化と Exercise-induced hypoalgesia

上　勝也[1]，仙波恵美子[1,2]
（[1]和歌山県立医科大学 リハビリテーション医学講座，[2]大阪行岡医療大学 医療学部）

運動による除痛効果（Exercise-induced hypoalgesia : EIH）の機序は不明な点が多い。神経障害性疼痛(NPP)モデルマウスに対する自発運動(VE)は強制運動と比較して EIH の除痛効果を高める。VE はマウスにとって報酬となるため，VE による脳報酬系の活性化は EIH の機序となる可能性がある。本研究は VE が脳報酬系を活性化するか，さらに脳報酬系の活性化と EIH との関係を検討した。NPP マウスは坐骨神経部分損傷(PSL)により作製した。NPP マウスは走行盤を置いたケージで飼育する群(PSL-Run)と走行盤を不動化したケージで飼育する群(PSL-Sed)に分け，2 週間飼育した。PSL-Run の疼痛行動は有意に改善され，PSL-Run の総走行距離と疼痛閾値とは有意な正の相関を示した。腹側被蓋野(VTA)のチロシンヒドロキシラーゼ(TH)免疫染色強度は PSL-Sed で減少したが，VE はこの減少を抑制した。PSL-Run の VTA におけるリン酸化 CREB(pCREB)(+)/TH(+)ニューロン数は有意に増加し，pCREB(+)/TH(+)ニューロン数は疼痛閾値と有意な正の相関を示した。さらに VE は背外側被蓋核において VTA に投射するコリン作動性ニューロンを活性化することにより，VTA におけるドパミン作動性ニューロンを活性化する可能性を示唆する結果を得た。

（26）腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞の活動制御による神経障害性疼痛への影響

渡邉　萌[1]，成田　年[1,2]
（[1]星薬科大学 薬理学教室，[2]星薬科大学 先端生命科学研究センター (L-StaR)）

痛みは不快情動であり，また神経障害性疼痛下において脳内報酬系である中脳辺縁ドパミン神経系の機能低下が引き起こされることが知られている。一方，モルヒネは中脳辺縁ドパミン神経系の活性化を介して快情動を発現させることから，モルヒネによる鎮痛効果発現機序の一端に中脳辺縁ドパミン神経系の活動が関与する可能性が想定される。そこで本研究では，神経活動依存的に細胞標識が可能な遺伝子組換動物ならびに特定細胞の人為的活動制御手法を用い，腹側被蓋野におけるモルヒネ活性化細胞の活動制御による疼痛閾値変化を検討した。はじめに，c-Fos プロモーターの下流にタモキシフェン誘導型 Cre-loxP システムにより抑制性光感受性受容体 (eNpHR) もしくは光感受性陽イオンチャネル (ChR2) を発現する遺伝子組換え動物を作製した。これらの動物を用いて腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞の特徴を検討したところ，一部がドパミン神経であることが明らかとなった。次に，腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞を特異的に抑制したところ，モルヒネ鎮痛効果に対する有意な減弱が認められた。一方，これらの細胞を特異的に活性化した結果，神経障害性疼痛に対する一過性の除痛効果が認められた。以上，本研究より，腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞の一部はドパミン神経であり，その活動が疼痛閾値の調節に関与する可能性が示唆された。

（27）脳内 GPR40/FFAR1 シグナル活性化は社会敗北ストレスによる痛みの回復遅延を抑制する

相澤風花，中本賀寿夫，徳山尚吾（神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室）

【背景】情動は痛みと密接に関わることが明らかであるにも関わらず，その詳細は未解明な点が多い。本研究では，

脳内GPR40/FFAR1シグナルがストレスによって誘発される痛みの変容に与える影響について検討した。

【方法】C57BL/6J系統（9週齢）を用いて，10日間連続の社会敗北ストレス（SD）を負荷した。情動行動の評価には，社会性相互作用試験などを用いた。SDマウスを用いて術後疼痛モデル（SDPO）を作製した。GPR40/FFAR1アゴニストのGW9508（1.0 μg/mouse, i.c.v）及びアンタゴニストのGW1100（1.0 μg/mouse, i.c.v）はそれぞれ単回投与した。

【結果】SDPOマウスは，非ストレス群と比較して，疼痛負荷1日目から機械的アロディニアが有意に増加し，これは14日目まで持続した。GW9508の単回投与はvehicle群と比較し，投与15分後にSDPOマウスにおいて機械的アロディニアは有意に低下し，これは投与45分後には消失した。また，本効果はGW1100の単回投与によって消失した。

【考察】ストレスによって誘発される痛みの慢性化は，脳内GPR40/FFAR1シグナルの活性化によって抑制できることが示唆された。

（28）GPR40/FFAR1は内因性疼痛抑制機構に関与する

栗原　崇[1]，千々和可怜[1]，用皆正文[1]，水沼亮太[1]，神戸悠輝[1]，
平澤　明[2]，中本賀寿夫[3]，徳山尚吾[3]，宮田篤郎[1]
（[1]鹿児島大院 生体情報薬理，[2]京都大院 薬理ゲノミクス，[3]神戸学院大 薬 臨床薬学）

GPR40/FFAR1(以下FFAR1)は，遊離中/長鎖脂肪酸を内因性リガンドとするGタンパク質共役型受容体であり，インスリン分泌に関与することが知られている。一方，FFAR1は中枢神経系にも広く発現し，延髄脳幹部，黒質・線条体，脊髄は発現量の多い部位であることが当初より示唆されていたが，中枢における機能に関しては現在でも不明な点が多い。最近我々は，FFAR1作動薬の脳室内あるいは髄腔内投与が顕著な鎮痛作用を示すことを見出した。本研究では，FFAR1拮抗薬(GW1100)およびFFAR1遺伝子欠損マウスを用い，各種疼痛モデル(急性炎症性疼痛モデル:カラゲニン後肢投与; 遷延性炎症性疼痛モデル:完全アジュバント後肢投与; 末梢神経障害性疼痛モデル: L4/5 spinal nerve ligation; 術後疼痛モデル)におけるFFAR1の機能的重要性を検討した。

特に術後疼痛モデルにおいては，疼痛行動学上，患側後肢の機械的疼痛が完全寛解している術後10日目にGW1100を単回脳室内投与すると，投与後30分から患側の機械的痛覚過敏が再発するとともに，脊髄後角においては患側触刺激に伴いリン酸化ERKの発現が認められた。

すなわち，FFAR1の活性化は遷延する疼痛状態時における内因性疼痛抑制に寄与すること，そのメカニズムの1つとして，下行性疼痛抑制系賦活に関与することが示唆された。

（29）脊髄後角におけるinterleukin-31による痒み情報伝達機構に関する解析

間越祐貴，歌　大介，安東嗣修
（富山大学大学院 医学薬学研究部 応用薬理学研究室）

Interleukin-31（IL-31）は，主にT細胞から産生されるサイトカインであり，アトピー性皮膚炎などの皮膚疾患の痒みへの関与が指摘されている。IL-31は，一次感覚神経に直接作用し，信号を中枢へと伝えているが，脊髄における痒み情報伝達機構の詳細は明らかにされていない。そこで，本研究では，行動薬理学的及び電気生理学的手法を用いて，この機構の解明を試み，特に痒み特異的な神経伝達物質と考えられているガストリン放出ペプチド（GRP）の関与を検討した。

マウスへのIL-31皮内注射は，痒み関連動作である掻

き動作を惹起した。この動作は，GRP-受容体発現脊髄後角ニューロンを脱落させた bombesin-sporin 処置マウスを用いると，コントロール群と比べて有意に減少した。一方，*in vivo* 細胞外記録法による電気生理学的解析の結果，IL-31 の投与により一部の脊髄後角ニューロンにおいて持続的な発火が観察された。この発火は，GRP 受容体拮抗薬では抑制されず，非 NMDA 型グルタミン酸受容体拮抗薬により抑制された。

以上，これらの知見を勘案すると，脊髄後角における IL-31 による痒み情報の伝達には GRP 受容体発現ニューロンが関与し，その伝達物質として主にグルタミン酸が使用される可能性を示した。さらに, GRP が痒み情報の修飾に関与している可能性が考えられる。

（30）かゆみ止め成分クロタミトンの作用機序の解明

橘高裕貴 [1]，富永真琴 [1,2,3]
（[1] 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門
[2] 総合研究大学院大学 生理科学専攻,[3] 順天堂大学 環境医学研究所）

かゆみは掻破行動を惹起させる不快な感覚である。かゆみは病態において致死的ではないものの患者の QOL を著しく低下させる。かゆみ止め成分クロタミトンは 1940 年代から使用されているものの作用機序が不明であった。クロタミトンは従来のかゆみ止め成分のような抗ヒスタミン作用，抗炎症作用，局所麻酔作用を示さない。このことからクロタミトンの作用分子を末梢に発現する TRP (transient receptor potential) と仮定して電気生理学的な検討を行ったところその作用分子は TRPV (vanilloid) 4 であることを明らかにした。

（31）慢性掻痒に関与するアストロサイト STAT3 活性化メカニズム

白鳥美穂，山口千春，豊永穂奈美，津田　誠
（九州大学大学院薬学研究院ライフイノベーション分野）

慢性掻痒は，既存の治療薬が十分に効かず，患者の QOL を著しく低下させる。そのため，メカニズム解明は重要な課題である。我々は最近，脊髄後角において長期的に活性化するアストロサイトの STAT3 とそれに続くリポカリン 2(LCN2)の発現増加が慢性掻痒に重要であることを初めて見出した。

本研究では，アストロサイトの STAT3 活性化メカニズムを詳細に検討した。慢性掻痒モデルマウスの一次求心性神経において，STAT3 活性化因子である IL-6 の発現増加が認められた。初代培養アストロサイトに IL-6 を処置したところ，STAT3 の一過性で即時的な活性化（早期）と遅発性の持続的な活性化（後期）が認められ, LCN2 の発現増加は後期と相関していた。一般的に，IL-6 による JAK 依存的な STAT3 活性化は一過性で即時的であるため，後期 STAT3 活性化には別の因子の関与が考えられる。そこで, アストロサイトの Ca^{2+}動態に着目し, Ca^{2+}動態関連分子の関与を検討した。その結果，IP3R 及び TRP が関与することがわかった。また，TRP サブタイプ阻害薬を脊髄腔内に投与したところ，慢性掻痒及び LCN2 の発現が抑制された。以上の結果から，一次求心性神経由来 IL-6 による IP3R や TRP を介した Ca^{2+}流入がアストロサイトの STAT3 を長期的に活性化させ，慢性掻痒に関与することが示唆された。

（32）脊髄後角インターニューロンの多様性と局所神経回路における役割

八坂敏一（鹿児島大学 医歯学総合研究科 免疫学分野）

侵害受容器の主なターゲットは脊髄後角 I-II 層であり，この部位に存在するニューロンを解析することは，痛みの研究に重要である。脳へ情報を伝える投射細胞は I 層の 5%程度と考えられており，その他の細胞，特に II 層の細胞は全て軸索が脊髄内に終止するインターニューロンである。これらのインターニューロンは興奮性細胞と抑制性細胞を含んでおり，さらに形態学的・電気生理学的・神経化学的特徴も様々である。これらの細胞が局所回路を構築して I 層や深層に存在する投射細胞の活動を修飾すると考えられている。この局所回路は，侵害受容器だけでなく II 層の腹側領域から深層へかけて終止する低閾値機械受容器，さらには上位中枢からの下降性線維からの入力も受けており，これら入力の相互作用の場でもある。ゲートコントロール説から 50 年を経て，近年急速にその神経回路に関する情報が蓄積されている。特に遺伝学的手法を用いた結果が有名誌に複数発表されている。しかし，単一の機能的細胞集団については，さらなる研究が必要である。本発表では，脊髄後角のインターニューロンの分類について紹介し，これまで報告されている神経回路における各ニューロンの役割，特にアロディニアへの関与が推測される vertical cell（興奮性インターニューロン）とパルブアルブミン（PV）陽性細胞（抑制性インターニューロン）からなる神経回路を中心に紹介した。

19. 電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス
～ 限界を超えるための顕微鏡技術 ～

2016 年 11 月 16 日－11 月 17 日
代表・世話人：深澤有吾（福井大学）
所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（１）金ナノプローブを用いた生体分子モーターの高速・高精度１分子計測
飯野亮太（岡崎統合バイオ／分子研）

（２）タンパク質のダイナミクスを可視化する高速原子間力顕微鏡
内橋貴之（金沢大・理）

（３）ベイズ超解像による画像再構成　－カメラの限界を超える－
三好誠司（関西大・工）

（４）霊長類ミクロ・マクロコネクトーム解析
芝田晋介（慶応大・医）

（５）脳に内在する再生機構の解明と操作技術の開発
澤本和延（名古屋市大・医／生理研）

【参加者名】

荒木球沙（国立感染症研究所），案浦　健（国立感染症研究所），飯野亮太（分子研），石井啓介（日本電子㈱），石川達也（福井大学），石原あゆみ（ライカマイクロシステムズ㈱），板倉広治（名古屋大学），伊藤直樹（北海道大学病院），井上朋大（山梨大学大学院），今井篤子（生理研），入子英幸（神戸大学），内橋貴之（金沢大学），榎本早希子（名古屋大学），太田啓介（久留米大学医学部），大野伸彦（生理研），荻原伸介（日本電子㈱），小瀬洋一（㈱日立ハイテクノロジーズ），掛巣佑（㈱荏原製作所），片上茂樹（岐阜大学），加藤光彦（山梨大学），金泉大樹（埼玉大学），金丸孝昭（九州大学病院），金子奈穂子（名古屋市立大学），鎌倉快之（大阪工業大学），上村逸郎（㈱マックスネット），亀田周諭（埼玉大学），亀谷清和（信州大学），北原陽介（久留米大学医学部），北村嘉邦（信州大学），北村朋子（オリンパス㈱），木下妃咲（オリンパス㈱），古賀博則（石川県立大学），小坂光二（㈱ＴＣＫ），小関宏和（京都大学），近藤信也（テガサイエンス㈱），近能淳介（オリンパス㈱），齊藤　成（生理研），坂口美亜子（長崎大学），佐藤慧太（岡山大学），佐藤俊之（基生研），澤田雅人（名古屋市立大学），澤本和延（名古屋市立大学），芝田晋介（慶應義塾大学），志茂　聡（健康科学大学），神道慶子（京都大学），Sui Yang（山梨大学），須賀三雄（日本電子㈱），杉田修啓（名古屋工業大学），杉本明彦（㈱日立ハイテクノロジーズ），洲崎敏伸（神戸大学），鈴木英紀（日本医科大学），ソン チホン（生理研），Thai Truc Quynh（生理研），高木孝士（東北大学大学院），高橋光規（山梨大学大学院），竹市裕介（神戸大学大学院），立見貴子（健康科学大学），田所　治（松本歯科大学），玉田宏美（名古屋大学大学院），陳　林（神戸大学），角田　潤（生理研），飛田航（名古屋工業大学），中尾知代（名古屋大学），長尾賢杜（神戸大学），中道優介（大阪大学），中村一哉（㈱東レリサーチセンター），成毛章容（コニカミノルタ㈱），新岡宏彦（大阪大学），野田　亨（藍野大学），野中崇雄（㈱ニコン），林　真子（埼玉大学），林　明子（東京薬科大学），春田知洋（日本電子㈱），HUY BANG NGUYEN（Interdisciplinary Graduate School），比嘉勝孝（日本電子㈱），日高　聰（藤田保健衛生大学），平井良治（日本電子㈱），福島寛明（日本電子㈱），福田康弘（東北大学大学院），藤谷　洋（㈱日本ローパー），本郷孝四郎（日本電子㈱），前野哲輝（国立遺伝学研究

所），松本真実（名古屋市立大学大学院），円山伸一（日本電子㈱），万谷洋平（神戸大学），三科真澄（健康科学大学），水谷治央（㈱ドワンゴ），峰雪芳宣（兵庫県立大学），宮崎美季（㈱ＪＳＯＬ），三好誠司（関西大学），山田麻加（名古屋工業大学），山西治代（㈱資生堂），横田奈々（健康科学大学），渡邉敬文（信州大学），渡邊拓巳（信州大学），香山容子（テラベース㈱），斎藤善平（テラベース㈱），都築綾子（テラベース㈱），江口純一（テラベース），村田和義（生理研），小原正裕（生理研），永谷幸則（生理研），富田雅人（生理研），河口美江（生理研），山田幸子（生理研），加藤三津子（生理研），古瀬幹夫（生理研），馬場孝之（富士通研究所），前田光代（理化学研究所），太田鑑（㈱日立ハイテクノロジーズ），田中　亨（カールツァイス㈱），関川明生（カールツァイス㈱），米山　繁（㈱マックスネット）

【概要】

本研究会は，「電子顕微鏡ビッグデータが拓くバイオメディカルサイエンス」“限界を超えるための顕微鏡技術”をテーマにして開催いたしました。110 名を超える参加者を得て，5 演題の口演と 30 演題のポスター発表について活発な議論が行われました。オルガネラや細胞の 3 次元形態解析の最新の知見や，無染色の生物試料を解析するための新しい技術，光顕と電顕観察をつなぐ方法など，電子顕微鏡ビッグデータに関わるテーマを様々な角度から取り上げ，医学・生物学の幅広い研究領域をカバーする発表を行って頂きました。また生理学研究所の共同研究機器（電子顕微鏡）を中心とした多くの共同研究が紹介されました。現在のビッグデータの取得と解析の成果，そして今後に残された課題について，深い議論が行われました。

本研究会のルーツは，2000 年から提案代表者：藤吉好則先生（元京都大学），所内対応者：永山國昭先生により始まります。電子顕微鏡を主な対象として，これまで“定量化”，“位相情報回復”，“生体分子の高分解能構造解析”，“感染症の現場観察”，“環境セル観察”など，時代のニーズに対応して生体構造の可視化における先端的な内容を扱ってきました。そして今後も次々と生まれてくる電顕技術を積極的に生物電顕に応用するため，最先端顕微鏡群の研究成果とともに，生理学研究所が共同研究機器として提供している超高圧電顕，クライオ位相差電顕，SBF-SEM などの成果を持ちより，医学・生物学に必要な可視化方法と解析手法を含めてその関連技術を討論し，生体観察方法の発展と新たな展開を創造する機会を提供していきたいと考えています。

（1）金ナノプローブを用いた生体分子モーターの高速・高精度１分子計測

飯野亮太（岡崎統合バイオ・分子科学研究所）

我々は，金ナノ粒子や金ナノロッドを可視化プローブとして用いた高速散乱イメージングで，生体分子モーターの動きや構成サブユニットの構造変化のダイナミクスを１分子計測している。サイズが数 10 nm の金ナノ粒子や金ナノロッドの散乱像は非常に高いシグナルが得られるため，観察の時間分解能をマイクロ秒まで上げることが可能である。また，得られるシグナルが安定でシグナル／ノイズ比も高いため，金ナノ粒子の観察では 1 nm の位置決定精度，金ナノロッドの観察では 1°の角度（配向）決定精度を達成可能である。さらに，金ナノロッドのフォーカス像を用いると，位置と配向を同時に高精度に決定することも可能である。これらの金ナノプローブはサイズが数 nm~10 nm 程度の生体分子モーターよりも大きいが，結合させる場所をきちんと選べば，機能発現に伴う本来の動きを阻害することなく可視化することができる。本発表では，金ナノプローブを用いた１分子計測で明らかとなった回転分子モーターやリニア分子モーターの運動素過程，および一方向性の運動を達成する作動メカニズムについて紹介する。

（2）タンパク質のダイナミクスを可視化する高速原子間力顕微鏡

内橋貴之（金沢大学理工研究域）

生体内ではタンパク質や核酸などの生体高分子が互いに相互作用し，さらには立体構造を変化させながら生命活動を維持するに必要な機能を発揮している。生体分子の機能発現メカニズムを理解するためには，構造とその時間変化，さらには動的な分子間相互作用を一分子レベルで把握することが重要であるが，生理環境下にある分子の構造や離散集合のダイナミクスを一分子レベルで観察する手法はこれまで無かった。

1980 年代半ばに発明された原子間力顕微鏡（AFM）は，真空環境から液中環境までの幅広い環境下で試料表面の構造をナノメータースケールで可視化できる唯一のツールである。しかしながら，通常の AFM では 1 画像を得るのに分オーダーの時間が必要であり，動的過程はもちろん基板に強く吸着した試料しか観察できなかった。我々のグループでは，タンパク質の構造ダイナミクスの可視化を目的に AFM の高速化の技術開発に 10 年以上にわたって取り組み，2008 年頃にタンパク質の機能や構造を乱すことなく動態や分子間相互作用をリアルタイムに可視化出来るようになった。

本講演では高速化を実現するのにキーとなった要素技術とタンパク質の機能動態イメージングに成功したいくつかの観察例を紹介する。また，生きた細胞のダイナミクス観察のための高速 AFM の機能拡張や，一分子蛍光顕微鏡との複合化装置の開発についても紹介したい。

（3）ベイズ超解像による画像再構成－カメラの限界を超える－

三好誠司（関西大学システム理工学部）

超解像とはカメラ等の撮像機器の限界を超えて高解像度の画像を得る技術のことである。超解像には 1 枚の低解像画像から 1 枚の高解像画像（原画像）を推定する手法と，複数枚の低解像画像から 1 枚の高解像画像を推定する手法があるが，ここでは後者を扱う。複数枚の低解像度画像は原画像が位置ずれ（平行移動と回転），ぼけ，ダウンスケール（解像度減少），ノイズの重畳により生成されたと仮定する。この場合，まず，各低解像度画像の位置ずれパラメータを推定しなければならないが，サブピクセル量の移動を積極的に使うことにより標本化定理を超える画像情報の復元が可能となる。

Tipping らはベイズ推定に基づく超解像（ベイズ超解像）を提案した。ベイズ推定とはベイズの定理で計算される事後確率に基づく推定一般のことを言う。事後確率の計算には事前確率と尤度が必要となるが，超解像の場合で言うと，事前確率は対象となる画像に対して我々が持つ事前知識，尤度は位置ずれやぼけなどの画像劣化のプロセスに対応する。ベイズ超解像の特徴は位置ずれパラメータ推定の際に，原画像を点推定するのではなく，原画像の事後確率を周辺化することにより局所解を避ける点にある。Tipping らは変分推論と EM アルゴリズムを使うことによりベイズ超解像を実行し，良好な推定画像を得ることに成功した。

ベイズ超解像はタンパク質や細胞の観察など顕微鏡分や生物分野においても威力を発揮する可能性がある。今回の発表では，なるべく数式に頼らずにベイズ超解像を紹介する。

（4）霊長類ミクロ・マクロコネクトーム解析

芝田晋介（慶應義塾大学医学部電子顕微鏡研究室）
佐々木えりか（慶應義塾大学先導研究センター・実験動物中央研究所）

ヒトゲノムプロジェクト後の世界的な研究目標として，脳神経回路解析が注目を集めている。網羅的な神経回路地図を作成するコネクトーム解析が世界中で展開されつつあり，米国では BRAIN (Brain Research Through Advancing Innovative Neurotechnologies) Initiative が開始され，同時期にヨーロッパでも Human Brain Project がスタートした。日本では“革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト”（通称・革新脳）が開始され，霊長類のコネクトーム解析が進められている。

最もコネクトーム研究が進んでいる種は線虫であり，すべての神経細胞の種類および位置と，それらの神経細胞同士の結合が解明されている。将来の最終ゴールであるヒトの脳には線虫のおよそ約 10 億倍にも達する 1 千億個以上もの神経細胞から構成され，徒手的アプローチではとても解析を完遂できない。そのため現在ブレインマッピングの技術革命がまさに進行している。コネクトーム解析手法としては，トレーサーや遺伝子改変動物を用いた手法に加え，MRI やマイクロ CT，三次元解析のできる高速の電子顕微鏡を組み合わせて推進されている。今回，世界最先端の解析手法を応用した MRI や電子顕微鏡による大規模高速コネクトミクス解析の慶應義塾大学におけるアプローチを紹介する。

（5）脳に内在する再生機構の解明と操作技術の開発

澤本和延（名古屋市立大学・生理学研究所）

胎生期のみならず生後においても神経幹細胞から新たなニューロンが産生され，脳の可塑性や恒常性の維持，あるいは傷害後の再生過程に影響を与えることが明らかになってきた。生後脳の神経幹細胞は脳内の特定の部位に局在しているため，新生ニューロンは生まれた場所から実際に機能を果たす部位まで，かなりの距離を移動しなければならない。細胞が密集し，障害物が多く存在する脳組織の中を，ニューロンはどのようにして移動し，目的地に到達するのであろうか？新生ニューロンの移動メカニズムを理解するためには，移動するニューロンを観察する実験が欠かせない。我々は，これまで様々なイメージング法を用いて新生ニューロンを可視化し，その移動を制御するメカニズムを解明してきた。その結果，多数のニューロンが弱く接着しながら，アストロサイトのトンネルの中を集団で移動すること，再生過程において血管に沿って移動することなど，複雑な細胞間相互作用の存在が明らかになってきた。これらのメカニズムや意義を理解するためには，組織内の細胞集団を電子顕微鏡レベルの解像度で三次元的に解析することが必要となる。本講演では，生理研の連続ブロック表面走査型電子顕微鏡を用いて明らかになりつつある，新生ニューロンの形態学的特徴について紹介する。また，これらの知見を参考に神経再生を促進する技術の開発を試みているので，その経過も紹介した。

20. 体内エレメントの探索的研究と新技術の開発

2016 年 10 月 13 日－10 月 14 日

代表・世話人：小原圭吾（関西医科大学 医学部 生理学第一講座）

所内対応者：吉村由美子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門）

（1）体内エレメントという新たな視点からの探索的研究
～海馬における新 CA2 領域の出現，そして新神経回路へ向けて～
小原圭吾（関西医科大学 医学部）

（2）新規多時点多重標識および操作による記憶回路エレメントの探索
奥野浩行（京都大学大学院 メディカルイノベーションセンター）

（3）マウス表皮には性質の異なる２種類の幹細胞が共存する
佐田亜衣子（筑波大学 生命領域学際研究センター）

（4）ウイルスベクターを用いた新エレメント標識技術開発の展望
平井宏和（群馬大学大学院 医学系研究科 脳神経再生医学分野）

（5）グリア活性に依る脳可塑性の向上
平瀬　肇（理化学研究所 脳科学総合研究センター）

（6）コヒーレント光強度分布制御技術と工学応用
中田芳樹（大阪大学 レーザーエネルギー学研究センター）

（7）深部イメージングの基本的限界突破技術
磯部 佑，緑川克美（理化学研究所 光量子工学研究領域）

（8）ネックレス状超分子を用いた機能性材料
荒木　潤（信州大学学術研究院 繊維学系 信州大学国際ファイバー工学研究所）

（9）低分子 G タンパク Rap1 シグナルによるリンパ球動態の制御機構の解析
植田祥啓（関西医科大学 生命医学研究所）

(10) シナプス接着分子のダイナミズム
田中秀和（立命館大学 生命科学部 生命医科学科）

(11) 視覚経験依存的な大脳皮質視覚野の微小神経回路網の形成
石川理子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門）

(12) 脳情報処理における髄鞘化の役割
和氣弘明（神戸大学大学院 医学研究科 システム生理学分野，
自然科学研究機構 生理学研究所（兼任），さきがけ研究員（兼任））

【参加者名】

小原圭吾（関西医科大学 医学部），奥野浩行（京都大学大学院医学研究科 メディカルイノベーションセンター），佐田亜衣子（筑波大学 生命領域学際研究センター），平井宏和（群馬大学大学院 医学系研究科 脳神経再生医学分野），平瀬　肇（理化学研究所 脳科学総合研究センター），中田芳樹（大阪大学 レーザーエネルギー学研究センター），磯部圭佑（理化学研究所 光量子工学研究領域，科学技術振興機構さきがけ），荒木　潤（信州大学学術研究院 繊維学系 信州大学国際ファイバー工学研究所），植田祥啓（関西医科大学 生命医学研究所），田中秀和（立命館大学 生命科学部 生命医科学科），石川理子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門），和氣弘明（神戸大学大学院 医学研究科 システム生理学分野，自然科学研究機構 生理学研究所，科学技術振興機構さきがけ），橘　吉寿（神戸大学大学院 医学研究科 システム生理学分野），神成文彦（慶應義塾大学 理工学部），吉村由美子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門），一戸紀孝（国立精神神経医療研究センター）

【概要】

1661 年にロバート・ボイルにより，元素の概念が提唱されてから現在に至るまでに，元素に基づいた自然の科学的解明は大きく進んだ。しかしながら進化の奇跡によって誕生した命・体・知能は，元素を機能単位としておらず，最適な基本概念が不明瞭なまま，その根本からの科学的解明は遅れていた。当研究会は，「命・体・知能は，遺伝子，細胞，領域，神経回路により構成され機能する。」という基本概念をあらためて提唱し，それらを体内エレメント（体内基本要素）と新たに名付けて新フォーカスを当てる。現在，ゲノムプロジェクトの完了によって，体内エレメントのうち，遺伝子はすべて解読されたが，細胞，領域，神経回路は，まだ新規のものが豊富に埋蔵されている。物理工学, 高分子化学, 生物学, 神経科学，ウイルス工学等といった異なる分野の研究者が結集・参加する研究会を開き，命・体・知能に極めて高い親和性をもつ「光」の力を活用した技術開発研究の発表，体内エレメントである細胞，領域，神経回路の探索研究の発表等を行い，活発な議論が行われた。

（1）体内エレメントという新たな視点からの探索的研究 ～海馬における新 CA2 領域の出現，そして新神経回路へ向けて～

小原圭吾（関西医科大学 医学部 生理学第一講座）

最初に，当研究会において提唱された基本概念と，新たに命名された体内エレメント（体内基本要素）についての説明が行われた。近年，さまざまな技術革新によって，脳や体において，新たな体内エレメントが，数多く見出されてきている。我々は最近，先端複合技術を駆使することにより, 海馬 CA2 がこれまで考えられていたよりはるかに大きい領域（海馬新 CA2 領域）であることを世界に先駆けて証明した。そして光遺伝学と遺伝子工学を駆使することにより，100 年ぶりに主要な新規記憶神経回路（新 CA2 を介する新規トライシナプス性神経回路）を発見し, 新 CA2 の入力神経回路を解明した(Kohara et al. ***Nat. Neurosci*** 2014)。この研究により，記憶中枢部位海馬において事実上新たな研究可能領域が誕生し，新しい研究潮流が生み出された。さらに，海馬における新たな体内エレメントの存在の可能性と将来的な見通しについても討論された。

（2）新規多時点多重標識および操作による記憶回路エレメントの探索

奥野浩行（京都大学 大学院医学研究科 メディカルイノベーションセンター）

前初期遺伝子(immediate-early genes, IEGs)は強いシナプス刺激によって神経細胞に誘導される。このため，大脳における代表的な IEG である c-*fos*, *egr*-1 や *Arc* などは大脳神経活動の分子マーカーとして広く利用されている。特に，*Arc* は長期シナプス可塑性や認知情報処理活動との相関が深いことが示されており，記憶神経回路形成との関連が示唆されている。我々はマウスの神経細胞における *Arc* の発現制御メカニズムの解析を行った結果，*Arc* の転写開始部位より遠位に位置するエンハンサー配列が活動依存的センサーとして働いていることを見出し，これをシナプス活動応答性エレメント SARE (Synaptic Activity Responsive Element) と名付けた (Kawashima et al., PNAS, 2009)。さらにこの SARE を基にして増強型 SARE (E-SARE)を作製した(Kawashima et al., Nat Methods, 2013)。E-SARE は従来の神経活動依存プロモーターと比して，格段に強い活動依存的遺伝子発現活性を持ち，神経活動レポーターや発現ドライバーとして記憶関連神経細胞を標識あるいは機能分子を発現するなどして，大脳記憶機能の様々な解析に利用可能であると考えらえる。

（3）マウス表皮には性質の異なる２種類の幹細胞が共存する

佐田亜衣子（筑波大学 生命領域学際研究センター）

皮膚の上皮組織には，毛包間表皮，毛包，皮脂腺を生み出す幹細胞群が存在し，恒常的なターンオーバーや損傷の治癒などの役割を担う。毛包間表皮は多層構造をとり，幹細胞を含む分裂細胞が最深部の基底層に位置し，表皮上層の分化細胞を産生する。しかし，表皮幹細胞に特異的な分子マーカーが同定されていなかったため，どの細胞が真の幹細胞であるか長年論争であった。

本研究では，分裂頻度の異なる細胞を可視化・単離することが可能な Tet-Off マウスを用い，表皮において幹細胞の同定を試みた。その結果，マウス表皮では，分裂頻度の低い細胞と高い細胞が異なる皮膚の領域（ニッチ）に局在し，独立した２種類の幹細胞としてふるまうことを見いだした。さらに，これらの幹細胞は皮膚損傷等の危機的な状況に置かれると，互いの細胞系譜へと寄与し，機能を補完し合う能力を保持していた。

本研究は，分子マーカーの欠如により，長年実態が不明であったマウス表皮幹細胞の同定とその動態の解明に初めて成功し，皮膚科学の基礎・応用研究の両面において，重要な知見となる。今後は，両幹細胞の制御メカニズムの解明や，ヒト表皮幹細胞を用いた解析を進めることで，より精度の高い再生医療の実現や，皮膚がん，肌老化の予防・治療へとつながることが期待される。

（4）ウイルスベクターを用いた新エレメント標識技術開発の展望

平井宏和（群馬大学大学院 医学系研究科 脳神経再生医学分野）

この 20 年余りでウイルスベクターを用いた遺伝子導入技術は飛躍的に発展し，以前は不可能であった非分裂細胞である神経細胞にも，生きた個体の状態で極めて効率的に遺伝子導入することが可能となりつつある。我々は 2001 年よりレンチウイルスベクターを用いたマウス中枢神経系への遺伝子導入技術の研究を開始し，これまでに小脳プルキンエ細胞，小脳介在ニューロン，アストロサイト選択的かつ，効率的な遺伝子導入・発現法の開発に成功した。最近は，アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを用いて，炎症時の活性化アストロサイト選択的な標識（Sci Rep 2016）や，0.3 kb と極めて短いプロモーターによるマーモセットのアストロサイト選択的な標識（PLoS One 2016）も報告した。またレンチウイルスベクターを用いて免疫系リンパ球選択的に GFP を発現するトランスジェニックマウスの作成にも成功している（PLoS One 2012）。本発表では，これまでの我々のウイルスベクターに関する成果を紹介した上で，新規の組織幹細胞，新機能リンパ球や情報処理を優先的に担う新グリア系細胞など，新しい「細胞」「領域」を特異的に標識するウイルスベクター開発の可能性と展望について討論した。

（5）グリア活性に依る脳可塑性の向上

平瀬　肇（理化学研究所 脳科学総合研究センター）

頭皮越しに 1～2mA 程度の電流を 10 分程度流す経頭蓋直流電気刺激（tDCS）は，認知機能や記憶が向上する。さらには，うつ病が改善することも報告されており，海外では試験的に医療行為として施されつつある。しかし，その作用機序は分かっていない。我々は大脳皮質の興奮性神経細胞の一部とアストロサイトの活動をイメージングできるマウスを作製した（BAC-GLT1-G-CaMP7 Line 817，別称 G7NG817）。G7NG817 マウスを用いて，経頭蓋直流刺激（tDCS）中に，脳の細胞の挙動を観測したところ，大きな Ca^{2+}上昇がアストロサイト起こることを発

見した。また，このアストロサイトの Ca^{2+} 上昇が脳の可塑性およびうつ様行動の改善に重要な働きをしていることが解った影響を及ぼしていることが分かったので，DCS で誘発されるアストロサイトの Ca^{2+} 上昇が，神経可塑性とうつ症状の改善に重要な働きをしていることが解りつつあり，その成果を今回発表する。また，G7NG817 マウスは単純に交配できるため，疾患モデルマウスの神経グリア動態を解明する有用なツールとなり，広く利用されることを期待する。

理研バイオリソースセンター（ＢＲＣ）
http://www2.brc.riken.jp/lab/animal/detail.php?brc_no=RBRC09650&lang=en

（6）コヒーレント光強度分布制御技術と工学応用

中田芳樹（大阪大学 レーザーエネルギー学研究センター）

2014 年のノーベル化学賞が超解像顕微鏡を開発した 3 氏に授与され，生命科学をはじめとする様々な分野で注目されている。その一人であるドイツ・マックスプランク研究所の Stefan W. Hell 博士が開発した STED (stimulated emission depletion) / RESOLFT (reversible saturable optical fluorescence transitions) 超解像顕微鏡は蛍光抑制で実質的な蛍光発生領域を縮小することで超解像を達成した。我々は，超解像画像を高速で取得できる手法に関する研究を行っている。本発表では，新世代の超解像顕微鏡のコアとなる以下の技術群についてこれまでの実績を含めた説明をおこなった。

1. 画像レーザー分光測定技術
2. コヒーレント光強度分布制御技術
3. STED/RESOLFT 超解像顕微鏡

これらは光学・機械工学・計算機工学などの技術群を総動員することで実現可能である。

（7）深部イメージングの基本的限界突破技術

磯部圭佑（理化学研究所 光量子工学研究領域，科学技術振興機構さきがけ）
緑川克美（理化学研究所 光量子工学研究領域）

100 nm 以下の空間分解能を達成可能な超解像イメージング技術は，生物・医学の分野で生命現象可視化のための重要な技術となっており，製品化もされている．しかし，空間分解能を向上させると信号強度が小さくなり背景光に埋もれやすくなるため，観察可能な深さが数 10 μm 以下と浅い。そのため，生体組織などの深部イメージングに応用することは困難となっている。一方，深部イメージングが可能な技術としては，生体試料中において透過率が高い近赤外光を用いた２光子蛍光顕微鏡が最も有用な技術として用いられている。しかし，それでもなお，観察可能な深さと空間分解能が不十分な場合もある。空間分解能は励起波長が長いために 1 μm 程度と低い。また，観察する深さが深くなると波面歪みによって，空間分解能がさらに劣化する。そのため，1 μm 以下の空間分解能が欲しい細胞内微細構造と組織機能の相関解析などは困難となっている。２光子蛍光顕微鏡による生体組織観察においても，集光点以外で発生する背景蛍光によって，深さ数百 μm が現在の観察限界となっている。本発表では，深部イメージングにおいて問題となる背景光が発生するメカニズムを説明するとともに，背景光を抑制する技術を紹介した。その後，背景光を抑制することによって可能となる深部超解像イメージングへの我々の取り組みと，今後の展望について議論した。

（8）ネックレス状高分子を用いた機能性材料

荒木　潤（信州大学学術研究院 繊維学系，信州大学 国際ファイバー工学研究所）

超分子とは複数の分子が共有結合以外の弱い結合により会合して特有の機能を発揮する分子であり，ロタキサンやカテナンのように複数の分子が幾何学的に絡み合った超分子は，2016 年度のノーベル化学賞を受賞するなど注目を集めている。

本講演では，シクロデキストリンと高分子を用いたポリロタキサン（ネックレス状超分子）の合成法および特性について概説し，機能性材料への応用例を解説した。ポリロタキサンは鎖状高分子（主にポリエチレングリコール）が多数のシクロデキストリンを貫通した構造を持ち，回転・スライドなどの運動の自由度を有する。ポリロタキサンを架橋して作製した「環動ゲル」は，架橋点が自由に動けるため，高膨潤度・高延伸性を示す。さらに内部で架橋点間の短い部分が切れることなく全ての高分子鎖が応力を受け持つため，内部応力を効率よく分散し，高弾性・高強度を示す。環動ゲルの概念を拡張し，他の高分子材料とポリロタキサンを架橋して得られた材料は「環動高分子材料」とよばれ，溶媒がなくとも上記の環動ゲルと同様の性質を示し，携帯電話外装や自動車構造材へ応用が進められている。

演者はこれまで，ポリロタキサンの欠点である溶解性の低さを種々の誘導体調製や良溶媒の開発によって克服し，繊維・ゲル・フィルムなどの種々の機能性材料を創製してきた。これらの特徴を解説し，環動ゲルの膨張顕微鏡への応用の可能性について講演した。

（9）低分子 G タンパク Rap1 シグナルによるリンパ球動態の制御機構の解析

植田祥啓（関西医科大学 付属生命医学研究所 分子遺伝学）

低分子 G タンパク Rap1 の T 細胞の移動における役割を確かめるために，2 光子顕微鏡を用いた生体顕微鏡法によりリンパ節高内皮細静脈（HEV）上の接着を観察すると，正常 T 細胞が血管内皮上に停止したのに対して Rap1 を欠損する T 細胞では停止しなかった。このことから，T 細胞の HEV を介したリンパ節の移行に Rap1 が不可欠であることが明らかとなった。また，リンパ節スライス器官培養を利用して 2 光子顕微鏡により，組織中の Rap1 欠損 T 細胞の組織内遊走を観察したところ，正常型に比べ速度が半分に低下していた。このことから，抗原探索のためのリンパ節内の T 細胞の遊走に Rap1 が関与することが明らかとなった。

Rap1 の下流キナーゼである Mst1 は，インテグリンの活性化に関与し，また，Mst1 欠損マウスでは胸腺自己免疫寛容の破綻により自己免疫病を発症する。2 光子顕微鏡により，胸腺スライス器官培養中の Mst1 欠損 T 細胞の動態を観察すると，速度低下および自己抗原を提示する髄質胸腺上皮細胞との接着不全が観察された。これら胸腺細胞の動態の異常が Mst1 欠損による自己免疫寛容の破綻および自己免疫病の発症に関与する可能性が明らかとなった。

（10）シナプス接着分子のダイナミズム

田中秀和（立命館大学 生命科学部 生命医科学科）

我々の複雑な精神活動を可能にする精緻な脳神経回路は，個体発生途上で生まれた神経細胞が分化・移動し，標的に向かって伸ばした神経突起（線維）同士が鍵と鍵穴の関係で特異的に結びつけられるシナプス形成によって完

成する。このように神経線維を点と点で特異的に繋げる役割は, 接着特異性と多様性の豊かな接着分子ファミリーが担うと考えられるが, カドヘリンスーパーファミリーも候補のひとつである。特に細胞外ドメインをコードするエクソンが多数タンデムに配置され, 共通の細胞内ドメインをコードするエクソンが下流に配置されているクラスター・プロトカドヘリンファミリーが興味深い。それらと重複して，脳神経回路のシナプス結合に幅広く発現する N カドヘリンは，シナプス接着維持ばかりではなく，シナプス伝達に伴うシナプス構造と機能の可塑性に関与することもわかった。さらに，神経活動で劇的に発現誘導されるノンクラスター・プロトカドヘリン Arcadlin（別名 Protocadherin-8）も見つかっており，これは N カドヘリンに結合して局在を変えることで, シナプスの可塑性に影響を与える。Arcadlin はうつ病治療薬で誘導されることも判明しており, 治療効果における Arcadlin の関与が検討されている。

（11）視覚経験依存的な大脳皮質視覚野の微小神経回路網の形成

石川理子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門）

一次視覚野では，シナプス結合のある細胞ペアは，その周辺の興奮性細胞からのシナプス入力を共有するという規則性をもつ微小神経回路網を形成している。本研究では，この微小神経回路網の形成が生得的な機構によるのか，生後の視覚経験を必要とするかについて明らかにするために，開眼直後の生後 13－15 日齢(P13-P15) と正常な視覚体験を経た生後 22－28 日齢のラット群，さらに，生後直後から暗室で飼育した P22-P28 の暗室飼育ラット群，および開眼直前に両眼瞼を縫合して飼育した P22-P28 の両眼瞼縫合ラット群を用いた。4 群のラットから一次視覚野を含む急性切片標本を作製し，2 個の 2/3 層錐体細胞からの同時ホールセル記録とケージドグルタミン酸を用いたレーザー光刺激スキャン法を併用し，シナプス結合様式を解析した。開眼直後の未熟な視覚野では，神経結合する細胞ペアは稀で微小神経回路網も構築されていなかった。正常な視覚体験を経ると，神経結合が増加し，微小神経回路網が形成されていた。暗室飼育すると，発達に伴う個々の神経結合の増加と微小神経回路網の形成が共に阻害された。しかし，両眼遮蔽すると，個々の神経結合は増加したが，微小神経回路網が欠損していた。以上の結果は，多様な入力パターンに応じて，規則性をもつ神経ネットワーク構造が大脳皮質に形成されることを示す。

（12）脳情報処理における髄鞘化の役割

和氣弘明（神戸大学大学院 医学研究科 システム生理学分野,
生理学研究所（兼任），さきがけ研究員（兼任））

オリゴデンドロサイトは軸索周囲を髄鞘化することによって神経伝導速度を約 50 倍まで速めることができる(Sanders et al., 1946)。この髄鞘化された軸索は中枢神経系において白質を形成する。近年ヒトの MRI 画像によって白質変化を描出することが可能となり，ピアノ奏者やジャグリングの演者，タクシードライバーなど特殊技能をもつヒトは白質の信号強度が増加していることが示された(Scholz et al., 2009)。この MRI で検出された変化はミエリン塩基性タンパク質の信号変化と相関することから髄鞘の可塑的変化が訓練や学習には必要であることが示唆される。また神経活動依存性の分子メカニズムが明らかにされること(Wake et al., 2011 , Wake et al., 2015)で，この障害による情報処理異常・学習障害が着目されるようになった。本発表では神経活動依存性髄鞘化が損なわれているマウスにおける運動学習障害とその神経回路基盤について述べた。さらに光遺伝学を用

いたオプトジェネティクス法によって，神経回路活動の異常を補正することによって，学習障害が補正されるメカニズムも議論した。以上によって，髄鞘の可塑的変化が神経回路活動の時間的制御に重要な役割を持つことを示した。

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔　目　　次　〕

１．Towards elucidation of memory engram
（代表者：Yasunori Hayashi　2016 年 12 月 5 日－12 月 7 日）..... 462

２．4th International Symposium on Salivary Glands in Honor of Niels Stensen
（代表者：杉谷博士　2016 年 11 月 30 日－12 月 2 日）..... 474

1. Towards elucidation of memory engram

2016 年 12 月 5 日－12 月 7 日

代表・世話人：Yasunori Hayashi (Kyoto University/RIKEN Brain Science Institute)

所内対応者：Junichi Nabekura (National Institute for Physiological Sciences)

（１）Encoding, retrieving and consolidating memories for the continuous stream of experience

Loren Frank (UCSF)

（２）Local circuit interactions shape hippocampal timing & excitability

Thomas McHugh (RIKEN BSI)

（３）Information processing in the entorhinal-hippocampal circuit

Kenji Mizuseki (Osaka City University)

（４）Visualization and manipulation of memory engram

Naoki Matsuo (Osaka University)

（５）Physiology of Hippocampal Memory Engram

Kazumasa Tanaka (RIKEN BSI)

（６）Inter-regional interactions during novel experiences

Takuma Kitanishi (Osaka City University Graduate School of Medicine)

（７）A mechanism of the memory a trace arising in Drosophila

Yukinori Hirano (Kyoto University)

（８）Multiplexed signaling across distinct noradrenaline cell populations coordinates opposing emotional learning functions

Joshua Johansen (RIKEN BSI)

（９）Accumulation of vocal experience regulates the critical period of vocal learning in songbirds

Shin Hayase (Hokkaido University)

（10）Dissecting hippocampal circuits for navigation and learning

Attila Losonczy (Columbia)

（11）Olfactory-hippocampal coordination during associative learning

Kei Igarashi (UC Irvine)

（12）Engram dynamics underlying memory association

Kaoru Inokuchi (Toyama University)

（13）Cortical microcircuit and large-scale network for visual object memory in primates

Toshiyuki Hirabayashi (Molecular Imaging Center)

（14）Hippocampus-mediated memory trace formation in mouse neocortex

Ji-Song Guan (Tsinghua University)

（15）Representation of reward event by cell assemblies in hippocampal CA1 area

Kotaro Mizuta (RIKEN BSI)

（16）Representation of cerebellar climbing fiber signals during goal-directed behavior and learning

Kazuo Kitamura (Yamanashi University)

（17）Machine learning-based methods for extracting network structures

Shin Ishii (Kyoto University)

（18）Information-theoretic analysis of long-term memory reactivation

Masami Tatsuno (Lethbridge)

（19）(Poster Talk 1) MCH neurons in the hypothalamus regulate memory in mice

Shuntaro Izawa (Nagoya University)

（20）(Poster Talk 2) Spatial representations of self and other in the hippocampus

Teruko Danjo (RIKEN BSI)

【参加者名】

Anupratap Tomar (RIKEN, Brain Science Institute, Laboratory for Circuit and Behavioral Physiology), Hiroshi Ishimoto (Nagoya University, Graduate School of Science, Biological Science), Shin Hayase (Hokkaido university, Graduate School of Life Science), Takuma Kitanishi (Osaka City University, Graduate School of Medicine, Department of Physiology), Hiroyuki Miyawaki (Osaka City Unicersity, Graduate School of Medicine, Department of Physiology), Naohide Kondo (Nagoya University, Neurology), Takeshi Yagi (Osaka University, Graduate School for Frontier Biosciences), Kareem Mahmoud Abdou (University of Toyama, Biochemistry Department, Graduate school of Innovative life science), Khaled Adel Ghandour (University Of Toyama, Biochemsitry, Centre of innovative life sciences), Hirotaka Asai (Toyama University, Innovative Life Science, Cognitive and Emotional Neuroscience, Biochemistry), Yoshihisa Fujita (Kyoto University, Medicine), Naoya Oishi (University of Toyama, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, Department of Biochemistry), Minoru Saitoe (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science , Learning and Memory Project), Naoki Matsuo (Osaka University, Graduate School of Medicine, Department of Molecular & Behavioral Neuroscience), Pavel Prosselkov (Barin Science Institute), Shuntaro Izawa (Nagoya University, Research Institute of Environmental Medicine, Neuroscience 2, A.Yamanaka Laboratory), Hongshen He (The University of Tokyo, Life Sciences, Arts and Science), Xiaodong Li (Nagoya University, Graduate School of Science , Division of Biological Science), Kaoru Inokuchi (University of Toyama, Faculty of Medicine), Tsubasa Ito (Tokyo Institute of Technology, Department of Computational Intelligence and Systems Science), Kenji Mizuseki (Osaka City University, Department of Physiology), Masami Tatsuno (University of Lethbridge, Neuroscience), Kazuo Kitamura (University of Yamanashi, Department of Neurophysiology), Ichiro Aoki (Nagoya University, Graduate School of Science, Division of Biological Science), Teruko Danjo (BSI, RIKEN, Systems Neurophysiology), Joshua Johansen (RIKEN Brain Science Institute), Hideyuki Matsumoto (Osaka City University, Department of Physiology), Thomas John McHugh (RIKEN, Brain Science Institute, Lab for Circuit & Behavioral Physiology), Alessandro Luchetti (RIKEN, Brain Science Institute), Masaaki Sato (Saitama University), Yasunori Hayashi (Kyoto University/RIKEN Brain Science Institute), JiSong Guan (Tsinghua University, School of Lifesciences), Rie Kimura (NIPS, Visual Information Processing), Yukinori Hirano (Kyoto university, Graduate School of Medicine, Medical Innovation Center), Loren M Frank (HHMI and University of California, San Francisco, Physiology), Qi Zhang (Riken, BSI, lab. behavioral genetics), Kazumasa Z. Tanaka (RIKEN, Brain Science Institute, Laboratory for Circuit and Behavioral Physiology), Ayaka Bota (Saitama University, Science and engineering), Yoko Yamagata (National Institue for Physiological Sciences, Division of Neural Signaling), Kotaro Mizuta (RIKEN, BSI, Memory Mechanisms), Toru Ishii (Kyoto University Graduate School of Medicine, Human Brain Research Center), Ahmed Abdelwahab Mohamed Khalaf (National Institute of Natural Sciences, National Institute for Physiological Sciences, Division of Cerebral Circuitry), Shuo Li (RIKEN , Brain Science Institute), Attila Losonczy (Columbia University, Neuroscience), Akihiro Shibata (National Institute for Physiological Sciences), Kei M Igarashi (University of California, Irvine, Department of Anatomy and Neurobiology, Center for the Neurobiology of Learning and Memory), Yoshiki Ando (Kyocera Medical Corporation, Research Department), Junichi Nabekura (National Institute for Physiological Sciences), Toshiyuki Hirabayashi (National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Japan), Shin Ishii (Kyoto University, Department of Systems Science, Graduate School of Informatics), Kei Eto (NIPS, Division of Homeostatic Development), Hiroyuki Inada (NIPS, Division of Homeostatic

Development), Hiroshi Horiuchi (NIPS, Division of Homeostatic Development), Yoshihisa Nakahata (NIPS, Division of Homeostatic Development), Ikuko Takeda (NIPS, Division of Homeostatic Development), Kayo Nakamura (NIPS, Division of Homeostatic Development), Ryohei Akiyoshi (NIPS, Division of Homeostatic Development), Takuya Toda (NIPS, Division of Homeostatic Development), Masanobu Yoshida (NIPS, Division of Homeostatic Development), Masaki Fukata (NIPS), Yuko Fukata (NIPS), Tatsuo Suzuki (Shinshu University), Hideji Murakoshi (NIPS), Etsuko Tarusawa (NIPS), Takeshi Otsuka (NIPS), Yuki Hamano (NIPS), Mariko Yamamoto (NIPS), Hideki Kondo (NIPS), Yasuyuki Osanai (NIPS), Sho Sugawara (NIPS)

【概要】

近年，記憶の研究は大きな変貌を遂げている。１０年前には想像もつかなかった様々なツールが用いられるようになり，新たな概念が次々と提出されている。例えば，プローブや顕微鏡装置の技術革新により生化学反応や活動電位を生きた動物個体で可視化することが可能になり，またチャネルロドプシンやそのファミリータンパク質の発展は，神経活動を操作することを可能とした。一方で，リプレー，リバースリプレー，プレプレー，格子細胞といった新しい概念も提案され，2014 年にノーベル医学・生理学賞が Kief，Moser 夫妻に授与されたのは耳目に新しい。

本会議は “Towards Elucidation of Memory Engram”と題し，海馬を中心として細胞からシステムレベルの研究に特に的を絞った。海外から場所細胞研究の一人者である Loren Frank（UCSF），海馬二光子イメージングの一人者である Attila Losonczy（コロンビア大学）を基調講演者として招待した。また，一般講演者として大脳皮質細胞の記憶表現の異質性をイメージングで解析している Jisong Guan（清華大学），睡眠と記憶の固定化を研究している龍野正美（Lethbridge 大学），嗅覚による海馬記憶の修飾を研究している五十嵐啓（UC Irvine）も招待した。

会議の結果，国内外の最先端の記憶研究に触れることができた。一方で，“engram”をどう定義すべきかも問題となった。例えば，記憶形成時に活性化された細胞に c-fos プロモーターでチャネルロドプシンを発現させ，それを活性化させると記憶想起様行動が起こるが，それだけでそれを“engram”を再活性化させていると言っては良いのか。極端なことを言えば，感覚情報を再活性化させても行動を引き起こすであろうが，それは“engram”と呼べないであろう。これらは林が監修し，一部の招待講演者が執筆した実験医学の特集号（2016 年 6 月）にても議論をしている。

（1）Encoding, retrieving and consolidating memories for the continuous stream of experience

Loren Frank（Howard Hughes Medical Institute
Kavli Institute for Fundamental Neuroscience
Department of Physiology
University of California, San Francisco）

Experience is effectively continuous, in that during waking the senses are continuously exposed to information from the outside world. In contrast, memories are often described as episodic, with specific beginnings and ends. In this talk I will present recent results from my laboratory that have given us new insights into how the brain segments experience to creates representations of and memories for individual episodes. I will discuss our discovery of specific and distinct hippocampal and neocortical representations associated with experiences that occur during movement and immobility. I will then describe how those representations are reactivated during the replay events that have been hypothesized to contribute to memory retrieval and consolidation.

（2）Local circuit interactions shape hippocampal timing & excitability

Thomas McHugh（Lab for Circuit & Behavioral Physiology
RIKEN Brain Science Institute）

In vivo recording in the hippocampus of freely behaving rodents led to the discovering of place cells, neurons with spatially receptive fields, and has been key in linking the role of this circuit in memory to its physiological activity. In addition to the rate code found in these place cells, the hippocampus employs a temporal code, both on the single cell and ensemble level, to accurately represent space. While there is clear evidence that this precise spike timing depends on an exquisite balance of inhibition and excitation and is organized by theta and gamma oscillations present in the structure, the circuit mechanisms underlying these temporal codes remain poorly understood. My laboratory combines subregion specific genetic intervention in the hippocampal circuit with in vivo physiology to address the mechanisms of spatial coding and the consequences of circuit dysfunction. This talk will talk about our experiments looking at the contributions and interactions of the CA3 and CA2 subregions to spatial coding, information flow and excitability in the hippocampal circuit.

（3）Information processing in the entorhinal-hippocampal circuit

Kenji Mizuseki（Osaka City University Graduate School of Medicine）

Theta oscillations in the hippocampus are believed to be essential for the formation and retrieval of episodic memories. However, it is not clear how the information is handled in the hippocampal formation during theta states. To elucidate this, we simultaneously recorded the activity of many (~100) neurons and local field potentials from multiple layers of the hippocampus and entorhinal cortex of rats performing spatial tasks. Temporal delays between population activities in successive anatomical stages were much longer (~60 msec) than expected from axon conduction velocities and passive synaptic integration of feed-forward excitatory inputs. We suggest that the temporal windows set by the theta cycles allow for local circuit interactions and thus a considerable degree of computational independence in subdivisions of the entorhinal-hippocampal loop.

To uncover the mechanisms of local circuit computation, it is essential to understand how the individual neurons in a given region participate in information processing. The hippocampal CA1 region is one of the most extensively studied regions of the brain, and most studies tacitly assume that pyramidal neurons in this region represent a homogeneous cell population. However, after using high-spatial-resolution silicon probes, we found robust physiological differences along the oriens-radiatum axis in the CA1 pyramidal layer and showed that CA1 pyramidal cells in adjacent sublayers could address their targets jointly or differentially, depending on brain states and oscillations, thereby forming functionally distinct streams.

Despite the central role of spiking activity in transmitting information, only limited data about the firing rates of unbiased neuronal populations in intact networks are available. After comprehensive analysis of large collected data sets, we found that the firing rates of principal neurons in the entorhinal-hippocampal loop showed a lognormal-like distribution in all brain states. A highly active minority, which had high spatial information rates, emitted half of the spikes at all times, while a very large number of slowly discharging neurons contributed the remaining half. Importantly, firing rates of the same neurons showed high correlations in various brain states and testing conditions, as well as across familiar and novel environments. We suggest that the persistent skewed distribution of firing rates implies that a preconfigured, highly active minority dominates information transmission in cortical networks.

（4）Visualization and manipulation of memory engram

Naoki Matsuo（Department of Molecular and Behavioral Neuroscience,
Graduate School of Medicine, Osaka University）

Memories are presumably stored in a specific small subset group of neurons sparsely distributed in the brain in response to various sensory experiences. One of the major difficulties in studying the mechanism of cognitive functions including learning and memory is the identification of the "functional" neuronal populations among the hundred billions of neurons in mammalian brain. We have previously developed a transgenic system in mice that allows us a genetic manipulation in those neurons activated by a given behavioral stimulus during a limited time window. The mice express tetracycline-regulated transactivator (tTA) under the control of promoter of the c-fos gene, one of the immediate-early genes whose expression is rapidly and transiently induced in response to neuronal activities. The transgenic system provides a distinctive tool for manipulating the neuronal ensembles representing a given information or memory. In addition, direct observation of neuronal ensemble activities using in vivo calcium imaging provides great insights about the dynamics of neuronal ensembles during memory processes. I will introduce approaches trying to visualize and manipulate the memory engram to address many unanswered questions about memory.

（5）Physiology of Hippocampal Memory Engram

Kazumasa Z. Tanaka, Ph.D.（RIKEN, BSI, Laboratory for Circuit and Behavioral Physiology）

It has been suggested suggested that a memory is retrieved through activity of in the long-lasting physical trace within the brain, the so-called 'memory engram.' Previously, using c-Fos-tTA mice, we have shown that contextual memory retrieval reactivates a subset of hippocampal/cortical neurons that are c-Fos labelled during learning. Further, optogenetic inactivation of the labelled CA1 neurons impairs memory retrieval and cortical reactivations. Importantly, inactivating a distinct subset of CA1 neurons does not affect memory retrieval. Together with other studies using IEG labelling and optogenetic manipulations, these data indicate that a subset of hippocampal neurons that are c-Fos active during learning is a neuronal substrate of contextual memory and its activity is necessary for retrieval.

What remains largely unaddressed, however, is the physiological nature of the engram. Thus, questions on engram such as how these neurons support contextual memory retrieval remain to be answered. To address this issue, we have recently conducted tetrode recording from the hippocampus of freely-moving c-Fos-tTA mice. By using optogenetic identification, we have isolated activity in c-Fos labelled cells from other CA1 neurons when animals explore an environment. In the talk, I will share recent progress on our project suggesting a dynamic nature of engram physiology.

（6）Inter-regional interactions during novel experiences

Takuma Kitanishi（Department of Physiology, Osaka City University Graduate School of Medicine,
Center for Brain Science, Osaka City University Graduate School of Medicine）

Hippocampal place cells, which fire whenever animals traverse specific locations in environments, are thought to be crucial for spatial memory. However, the cellular/network mechanisms underlying place cell activity remain unclear. Synaptic plasticity may mediate the formation of place cell activity by changing inter-regional information transfer. We tested this hypothesis by blocking GluR1-dependent synaptic plasticity in CA1 pyramidal cells and by monitoring firing patterns from these plasticity-blocked cells in freely behaving rats (Kitanishi et al., Neuron, 2015). The blockade of synaptic plasticity impaired two types of firing patterns: rapid formation of spatial firing patterns in a novel environment and temporal firing patterns along slow gamma oscillations, which is thought to originate from the CA3 region. The results suggest that GluR1-dependent synaptic plasticity at CA3-CA1 synapses determines spatial and temporal firing patterns during novel experiences, which in turn enhances the information transfer through the CA3-CA1-entorhinal pathway.

The entorhinal cortex reciprocally connects with the hippocampus and is involved contextual memory. While the function of entorhinal cortex has been intensively investigated, how the entorhinal cortex collects information required for its function from other brain regions has been poorly understood. We thus sought the input brain regions of the medial entorhinal cortex (MEC) in mice using multiple tracing approaches and found that a subcortical brain area, claustrum (Cla), densely projects to MEC (Kitanishi and Matsuo, J Neurosci, in press). The MEC-projecting claustral neurons robustly expressed c-Fos after the exposure of mice to a novel environment. Optogenetic silencing of MEC-projecting Cla neurons during contextual fear conditioning impaired later memory retrieval, without affecting basal locomotor activity or anxiety-related behavior. These results suggest that previously-unanticipated dense Cla-MEC pathway is activated during novel experience and modulates MEC function in contextual memory.

（7）A mechanism of the memory a trace arising in Drosophila

Yukinori Hirano（SK Project, Medical Innovation Center, Kyoto University Graduate School of Medicine）

Based on the animals' experience, specific neurons in the information flow are involved in memory formation. In various model animals, those neurons have been visualized by monitoring gene expression, since gene expression is one of the fundamental processes in memory consolidation. We have tried to elucidate the mechanism in which those activated neurons are created in the neural network, in the fruit fly, Drosophila. In the fly brain, a neural structure, mushroom body (MB), acts as a memory center, and is consists of 7 types of subpopulations, α/βs, α/βc, α/βp, γm, γd, α'/β' ap, and α'/β'm. We found that one of the MB subpopulations, γm neurons, are required for gene expression in memory formation. The gene expression was induced in the α/βs neurons in the MBs rather than the γm neurons, suggesting that the γm neurons doesn't encode memory, but determines whether memory should be formed. Intriguingly, the γm neurons showed robust activities in the initial training session, but reduced activity in the following session. We found that the activities of the γm neurons correlates with the prediction errors. These data indicate that computation based on the prediction error in the MBs are essential for inducing gene expression in memory consolidation. We will discuss the detailed mechanism that induces gene expression through encoding the prediction errors, together with our recent report demonstrating the essential transcriptional machinery required for memory consolidation.

（8）Multiplexed signaling across distinct noradrenaline cell populations coordinates opposing emotional learning functions

Joshua Johansen（RIKEN Brain Science Institute）

Aversive experiences produce powerful emotional memories which trigger stereotyped defensive responses. However, these emotional responses need to be extinguished when they are no longer appropriate to enable normal, flexible behavior. Noradrenaline is important for both fear and extinction learning and an important drug target for the treatment of anxiety and mood disorders. Traditional views of noradrenaline function suggest that it modulates global brain states and diverse behaviors through what is believed to be a homogeneous cell population in the brainstem locus coeruleus (LC). However, it is unclear how the LC coordinates disparate behavioral functions. In direct contrast to traditional models of LC function, we've found that distinct populations of LC-noradrenaline neurons projecting to the amygdala or medial prefrontal cortex (mPFC) differentially regulate fear or extinction learning, respectively. Brain-wide efferent mapping of these cell populations revealed unique and specific connectivity with amygdala and mPFC targets. Coupled with this functional and anatomical modularity, LC neurons multiplex distinct signals during fear and extinction learning. In response to strong aversive stimuli occurring during fear learning most LC neurons are strongly activated. By contrast, distinct populations of LC neurons are selectively and mildly engaged in response to fear or safety cues. This is reflected as a shift in the balance of activity across amygdala and mPFC projecting cell modules during early and late extinction. These results suggest a revised view of LC-noradrenaline function in which a mosaic of projection- and behavior-specific modules is coupled with combinatorial activation modes to enable the adaptive tuning of emotional responding and behavioral flexibility.

（9）Accumulation of vocal experience regulates the critical period of vocal learning in songbirds

Shin Hayase（Graduate School of Life Science, Hokkaido University）

Motor learning processes, such as human language acquisition or birdsong learning, require repeated and self-motivated practice during a critical period in ontogeny. During these motor learning processes, it remains unclear how the critical period is regulated. Past studies shed light on the effect of "passive" experience, i.e. reception of sensory stimuli, on the regulation of critical periods in sensory systems. To reveal the contribution of "active" motor practice for the critical period of motor learning, we focused on songbirds, which possess an analogous vocal system to human and learn a song in juvenile stage. In the song system of songbirds, a number of neuroplasticity-related genes are induced by singing behavior. Arc, a neuroplasticity-related gene, was strongly induced by singing in juveniles than adults in pallial nuclei RA in the song system; an analogous region to motor cortex layer V in mammals. This suggests a potential effect of singing experience-dependent and brain region-specific motor-driven genes on the regulation of the critical period of vocal learning.

Then, we prevented the singing practice of juveniles until maturity to suppress singing-driven genes induction and examine the effects on vocal development. The singing-practice (-) birds produced highly plastic vocal patterns even at adult stage, while the dendritic spine density in RA projection neurons showed juvenile-like values, indicating that the accumulation of singing-practice, not aging, is crucial for regulation of vocal plasticity.

To elucidate the molecular mechanisms underlying such accumulation of singing-practice in the vocal system, we performed RNA-seq and co-expression analysis in RA on a genome-wide scale. As a result, a total of 119 motor-driven genes were regulated by the accumulation of singing-practice,

including epigenetic regulators. These genes were strongly induced by singing in RA of juveniles and singing-practice (-) birds but not in freely singing adults. In addition, the vocal learning ability of singing-practice (-) birds was preserved. These results suggest that a set of motor-driven genes engages as a count accumulator of self-motivated singing practice to coordinate the critical period of vocal learning.

Key words; Critical period, Vocal learning, Activity-dependent genes, Neuronal plasticity.

（10）Dissecting hippocampal circuits for navigation and learning

Attila Losonczy（Department of Neuroscience, Columbia University, New York）

Learning and remembering where and when salient events occur in space and time are essential for adaptive behaviors. Both spatial navigation and episodic memory have been linked to the mammalian hippocampus, but the detailed mechanisms at cellular and circuit levels remain poorly understood. To address these questions, we use in vivo functional imaging to monitor the activity of identified excitatory, inhibitory and neuromodulatory circuit motifs in the hippocampus of behaving mice during spatial exploration, fear learning and goal-directed learning. The talk will focus on our recent efforts aimed at dissecting functional roles of multimodal microcircuits at the dentate gyrus input and at the CA1 output nodes of the hippocampus. I will summarize how various types of dentate gyrus principal neurons – adult- born and mature granule cells, and hilar mossy cells contribute to context encoding and discrimination. We also monitored activity in deep and superficial subpopulations of CA1 pyramidal cells, and assessed the relationship between sublayer dynamics and learning. Finally, I will present findings on how goal-oriented learning is supported by disinhibitory GABAergic circuits in CA1. Together, our results demonstrate a functional division of labor among subpopulations of principal neurons during hippocampal- dependent behaviors.

（11）Olfactory-hippocampal coordination during associative learning

Kei M Igarashi（Department of Anatomy and Neurobiology
Center for the Neurobiology of Learning and Memory
University of California, Irvine）

Accumulating evidence points to cortical oscillations as a mechanism for mediating interactions among functionally specialized neurons in distributed brain circuits. A brain function that may use such interactions is declarative memory. Declarative memory is enabled by circuits in the entorhinal cortex (EC) that interface the hippocampus with the neocortex. During encoding and retrieval of declarative memories, entorhinal and hippocampal circuits are thought to interact via theta and gamma oscillations, which in awake rodents predominate frequency spectra in both regions. In favour of this idea, theta-gamma coupling has been observed between EC and hippocampus under steady-state conditions in well-trained rats1. However, the relationship between interregional coupling and memory formation remains poorly understood. Using multisite recording at successive stages of associative learning, we found that the coherence of firing patterns in directly-connected entorhinal-hippocampus circuits evolves as rats learn to use an odour cue to guide navigational behaviour, and that such coherence is invariably linked to the development of ensemble representations for unique trial outcomes in each area. Entorhinal-hippocampal coupling was observed specifically in the 20–40 Hz frequency band and specifically between the distal

part of hippocampal area CA1 (dCA1) and the lateral part of EC (LEC), the subfields that receive the predominant olfactory input to the hippocampal region. Taken together, the results identify 20–40 Hz oscillations as a mechanism for synchronizing evolving representations in dispersed neural circuits during encoding and retrieval of olfactory-spatial associative memory2. The potential roles of 20–40 Hz and theta oscillations for the communication between hippocampal and olfactory regions will be discussed.

（12）Engram dynamics underlying memory association

Kaoru Inokuchi（Department of Biochemistry, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan）

Memory is thought to be stored in the brain as an ensemble of cells activated during learning. Although optical stimulation of a cell ensemble triggers the retrieval of the corresponding memory, it is unclear how the association of information occurs at the cell ensemble level. Using optogenetic stimulation without any sensory input in mice, we found that an artificial association between stored, non-related contextual and fear information was generated through the synchronous activation of distinct cell ensembles corresponding to the stored information. This artificial association shared characteristics with physiologically associated memories, such as N-methyl- D-aspartate receptor activity- and protein synthesis-dependence. These findings suggest that the association of information is achieved through the synchronous activity of distinct cell ensembles. This mechanism may underlie memory updating by incorporating novel information into pre-existing networks to form qualitatively new memories.

Behavioral tagging is the transformation of a short-term memory, induced by a weak experience, into a long-term memory (LTM) due to the temporal association with a novel experience. The mechanism by which neuronal ensembles, each carrying a memory engram of one of the experiences, interact to achieve behavioral tagging is unknown. Here, we show that retrieval of a LTM formed by behavioral tagging of a weak experience depends on the degree of overlap with the neuronal ensemble corresponding to a novel experience. The numbers of neurons activated by weak training in a novel object recognition (NOR) task and by a novel context exploration (NCE) task, denoted as overlapping neurons, increases in the hippocampal CA1 when behavioral tagging is successfully achieved. Optical silencing of an NCE-related ensemble suppresses NOR–LTM retrieval. Thus, a population of cells recruited by NOR is tagged and then preferentially incorporated into the memory trace for NCE to achieve behavioral tagging.

（13）Cortical microcircuit and large-scale network for visual object memory in primates

Toshiyuki Hirabayashi（National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Japan）

Inferior temporal (IT) cortex in primates locates at the final stage of visual object processing, and serves as a storehouse of long-term object memory. Although neuronal responses in this cortical region have been characterized with various task paradigms, it remains largely unknown how individual neurons interact with each other to form a functional circuit for implementing a given cognitive demand. In this talk, I will first discuss our recent findings on the microcircuit mechanisms underlying the long-term object memory in the macaque IT cortex, focusing on the following two topics.

The first topic is dynamic operation of a microcircuit during the retrieval of long-term object memory (Hirabayashi et al., J.

Neurosci. 2010; Hirabayashi et al., Neuron 2013; Hirabayashi et al., J. Neurosci. 2014). In the IT cortex, we found a directed signal flow between functionally different classes of memory neurons, one of which maintains the presented cue information and the other encodes the retrieval signal of object memory. The dynamics and direction of the signal flow we observed suggest both mechanisms for generation and subsequent propagation of the retrieval signal through the microcircuit operation in the IT cortex.

The second topic is hierarchical object processing across cortical areas (Hirabayashi et al., Science 2013). Representation of a given feature of visual objects has been believed to be constructed in the cortical area where that representation is prevalent. However, another possible scheme is that some preparatory codes of a given feature are already generated in a lower-order area before they become predominant in a higher-order area. Using the object association task paradigm, we found two distinct microcircuits that generates and increases the representation of object association in successive lower- and higher-order areas in the IT cortex, respectively, consistent with the latter hypothesis.

In the last part of the talk, I will discuss the direction of the future research on a large-scale network mechanisms underpinning visual object memory. In particular, I will focus on our ongoing results on the causal involvement of fronto-temporal cortical network in visual short-term memory obtained by combining genetic intervention with non-invasive functional imaging in primates.

（14）Hippocampus-mediated memory trace formation in mouse neocortex

Hong Xie [1], Yi Hu [1], Wenhan Luo [1], Guangyu Wang [1], San-Xiong Liu [1], Jun Jiang [1], Da-Qing Chang[2], Yi-Ding Li [3], Xiao-Jing Chen [3], Chang-Shui Zhang [2], Xiao-Hui Zhang [3], Ji-Song Guan [1]

（[1] MOE Key Laboratory of Protein Sciences, Center for Brain inspired Computing, IDG/McGovern institute for Brain Research at Tsinghua, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China

[2] Department of Automation,Tsinghua University State Key Lab of Intelligent Technologies and Systems Tsinghua National Laboratory for Information Science and Technology (TNList) Beijing 100084, P.R.China

[3] State Key Laboratory of Cognitive Neuroscience & Learning and IDG/McGovern Institute for Brain Research, Beijing Normal University, Beijing 100875, China）

The recall of a recently acquired explicit memory depends on the hippocampal formation, but retrieval is increasingly sustainable by neocortical representation alone. Such process is defined as system-level consolidation, which lasts over weeks to years. By in vivo imaging of immediate early gene expression, we tracked cortical response changes during memory consolidation. Activities in the sensory-activated cortical ensembles, distributed in multiple areas, represented the behavior context and were closely associated with the memory recall. Hippocampus reinstated activities in those sensory-activated ensembles and gradually converted them into the consolidated ones, which became independent of hippocampus. After consolidation, those memory-related ensembles were reactivated by novel contexts, but possessing context selectivity as the population activity patterns of the ensemble. Thus, consolidation altered the representation of novel contexts by adding the consolidated memory components. These findings revealed the neural correlates of system consolidation, implicating how the brain incorporates new representations upon old knowledge.

（15）Representation of reward event by cell assemblies in hippocampal CA1 area

Kotaro Mizuta（RIKEN BSI Memory Mechanisms）

Hippocampus plays an essential role in memory formation for space and events. However, it is not well understood how hippocampal microcircuits are reorganized during the formation and retention of memory for a particular place associated with value such as a reward event. Although it has been reported that an event-related memory can be recalled by activation of a sparse but specific ensemble of hippocampal neurons (Tonegawa et al., Nature, 2012), it remains a possibility that a temporal firing sequence within the event-specific ensemble can recall the event-related-memory robustly. Furthermore, the stability of these ensembles over days and changing event conditions should be investigated. To address these questions, we conducted calcium imaging of hippocampal CA1 neurons in mice that express the fluorescent calcium sensor protein G-CaMP7. During recording, mice were head-fixed under a two-photon microscope while performing a reward-related memory task in virtual reality. Three colored zones were placed along a virtual linear track and reward was given in one of them. Mice were required to remember the correct reward zone and learn to stay there for 2 seconds to receive reward, as a delay condition. With training, mice learned to stop and stay in the reward zone to get reward, eventually reaching a success rate up to 70%. In a single session, about 10-15% of recorded neurons demonstrated time-locked activity while the mice stayed at the reward zone. Among recording sessions over days, the temporal neural activity within the reward zone remained stable for a subpopulation of neurons. When the reward zone was changed among the three before mentioned zones, 2% of all identified cells kept responding in the previous reward zone, while other subpopulations encoded the present reward zone with specific temporal firing pattern. Moreover, when reward was not given, the temporal activity of neurons representing the reward event was suppressed. However, the activity pattern of some neurons recovered after the reward condition was reinstated. These results raise an intriguing possibility that an event such as reward is coded with sequential firing within groups of CA1 neurons, and suggest a probable mechanism for robust recall of event-related-memory.

（16）Representation of cerebellar climbing fiber signals during goal-directed behavior and learning

Kazuo Kitamura（Department of Neurophysiology, University of Yamanashi）

Acquisition and execution of skilled behaviors critically depend on the cerebellum. Climbing fiber (CF) inputs to Purkinje cells carry error signals and/or timing signals for motor control and learning. Recent studies suggest that Purkinje cells also play an important role in non-motor functions. CFs separately project to longitudinal clusters of Purkinje cells (cerebellar zones), which are characterized by the presence or absence of aldolase C/zebrin II expression, and send information from the neocortex and the periphery through the inferior olive. Despite decades of investigation, functions of these CF inputs to each cerebellar zone during acquisition of skilled behaviors remain elusive. We investigated the representation of CF inputs to the distinct cerebellar zones in Crus II of the cerebellar hemisphere by using chronic in vivo two-photon calcium imaging in mice learning a go/no-go auditory discrimination task. CF inputs to the lateral part of aldolase C-positive zones were timed to the go cues and enhanced during the course of learning. Those to the lateral part of aldolase C-negative zones were timed only to the no-go cues, which declined along with learning. Those to the medial zones were longer in latency and showed lick-related representation. Our results indicate that CF inputs to the lateral aldolase C-positive zones are involved in goal-directed initiation of actions, whereas those to aldolase C-negative zones likely convey instructive signals to withhold unwanted actions. Those to the medial zones suggested their role in sensorimotor processing.

（17）Machine learning-based methods for extracting network structures

Shin Ishii（Graduate School of Informatics, Kyoto University）

We hypothetically believe that neural functions are embedded in the connectivity of constituents of the brain, neurons and glia. Examining the connectivity over all the whole brain becomes a new research field called connectome, which could be the essential first step toward understanding a variety of neural and mental disorders. Such connectomics studies can be classified, based on the special resolution, into micro (nm), meso (sub-um) and macro (sub-mm). If we can collect the static connectomics images over the whole brain of a primate with the spatial resolution of 200 nm (meso), the whole data size becomes several peta bytes; information extraction from such an image bigdata is a challenge that has never been experienced by neuroscientists. Development of (semi-)automatic information extraction tools based on machine learning and imaging processing would be the key in the connectomics studies. In this talk, I will explain several of such technologies developed in our group. First, I introduce a functional connectivity analysis method based on time-lapse neural (meso) imaging. Since the number of possible neural connections often becomes huge, we need a robust statistical method to well control the false positive rate (FDR). We developed a generalized linear model-based connectivity analysis method with an empirical Bayesian FDR control. When a similar method was applied to identification of a neuron-glia network from in the rat hippocampal region, we found facilitative connections from neurons to their neighboring glia. Next, I introduce an identification method of structural connectivity over the whole brain, based on stochastic simulations of neural fiber extension and insertion. After this method was applied to two-photon tomography of an marmoset, we found the connectivity obtained by two-photon imaging (i.e., meso) was fairly consistent with that based on diffusion tensor imaging (i.e., macro) performed on the same individual. This research was done in the Brain/MINDs project supported by Japan Agency for Medical Research and Development.

（18）Information-theoretic analysis of long-term memory reactivation

Masami Tatsuno（University of Lethbridge）

Evidence of electrophysiological study from multiple brain areas suggests that neurons selectively and cooperatively reactivate after a task, primarily during slow wave sleep. This phenomenon, which is termed memory reactivation, has been typically observed for 30 minutes to 1 hour after the task training. Here, by combining two analytical methods, spike train clustering and information geometric analysis, we show that reactivation could continue to occur for hours after the task in selective subset of cells. First, using neural network models, we show that our methods allow for reliable estimates of the correlations due to intra-network connectivity patterns and the correlations due to external input noise. Second, we use 25-hour-continuous recordings of area CA1 of HC and medial prefrontal cortex (mPFC) to illustrate the applicability of the methods to electrophysiological data. We show that reactivation could occur hours after the task both in HC and in mPFC. In addition, the analysis also suggests that reactivation in HC could be attributed mainly to modifications of the synapses within the HC network while reactivations in mPFC could be mainly driven by external inputs, possibly in part from HC.

2. 4th International Symposium on Salivary Glands in Honor of Niels Stensen

2016 年 11 月 30 日－12 月 2 日
代表・世話人：杉谷博士（日本大学）
所内対応者：村上政隆（生理学研究所）

（１）Development of salivological view through the Stensen symposia for 20 years

〇Masataka Murakami
(National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan)

（２）Medication-induced salivary gland dysfunction

〇Andy Wolff
(Saliwell Ltd. and Tel Aviv Sourasky Medical Center, Tel-Aviv, Israel)

（３）Experimental studies on secretory effects of some atypical antipsychotics with special reference to the clozapine-induced sialorrhea

〇Jörgen Ekström[1,2], Tania Herbst Godoy[1], Alessandro Riva[2]
([1]The Sahlgrenska Academy at the University of Gothenburg, Göteborg, Sweden,
[2]University of Cagliari, Cagliari, Italy)

（４）Sjögren's syndrome and autoimmune pancreatitis: Fixing the duct fixes the acini

Mei Zeng, 〇Shmuel Muallem
(NIDCR, NIH, Bethesda, MD, USA)

（５）Bicarbonate permeation through anion channels

〇Min Goo Lee
(Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea)

（６）The application of mass spectrometry to the study of the intact human salivary proteome

〇Massimo Castagnola
(Istituto di Biochimica e Biochimica Clinica, Facoltà di Medicina Università Cattolica del Sacro Cuore,
Fondazione Policlinico Gemelli, Roma, Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare,
Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma, Italy)

（７）Mechanism for selective transport of secretory proteins into secretory granules of parotid acinar cells

〇Junko Fujita-Yoshigaki, Megumi Yokoyama, Osamu Katsumata-Kato
(Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Matsudo, Japan)

（８）The role of membrane microdomains for granule maturation in the rat parotid gland

〇Osamu Katsumata-Kato, Megumi Yokoyama, Junko Fujita-Yoshigaki
(Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Matsudo, Japan)

（９）Computational modelling of epithelial ion transport - is it worth the trouble?

〇Martin Steward[1], Makoto Yamaguchi[2], Kieran Smallbone[1], Yoshiro Sohma[3], Hiroshi Ishiguro[2]
([1]University of Manchester, Manchester, UK, [2]Nagoya University Graduate School of Medicine,
Nagoya, Japan, [3] Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan)

（10）What two direct observation methods show us in membrane transport physiology: CARS microscopy and high-speed AFM

〇Yoshiro Sohma
(Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan)

（11） Analysis of electrolyte and water transport by the ex vivo mouse submandibular gland perfusion technique in genetically modified mice

〇Tetsuji Nakamoto
(Matsumoto Dental University, Matsumoto, Japan)

（12） Purinergic signaling in pancreas in health and disease

〇Ivana Novak
(University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark)

（13） Real-time imaging of ATP release induced by alveolar inflation in the rat lung ex-vivo

〇Kishio Furuya[1], Ryszard Grygorczyk[2], Masahiro Sokabe[1]
([1]Mechanobiology Labo, Nagoya University Graduate School Medicine, Nagoya, Japan,
[2]CRCHUM, Université de Montréal, Montreal, Canada)

（14） Dynamics of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethyl citosine in fetal submandibular gland development

〇Toru Hayashi[1,2], Masanori Kashimata[2]
([1]Kitasato University School of Allied Health Sciences, Sagamihara, Japan,
[2]Asahi University School of Dentistry, Hozumi, Japan)

（15） Fibroblast Growth Factor Receptor function in salivary gland progenitor populations during development

〇Matthew Hoffman
(NIDCR, NIH, DHHS, Bethesda, MD, USA)

（16） Sexual difference in the regeneration model of the rat submandibular gland

〇Tetsuya Akamatsu[1,2], Chenjuan Yao[1], Takahiro Hasegawa[1], Hiroshi Yoshimura[1]
([1]Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School, [2]Field of Biomolecular Functions & Technology, Graduate School of Bioscience & Bioindustry, Tokushima University, Tokushima, Japan)

（17） Basement membrane dynamics in developing salivary gland

〇Yuichi Kadoya
(School of Allied Health Sciences, Graduate School of Medical Sciences, Kitasato University, Sagamihara, Japan)

（18） Plasma membrane Ca^{2+} entry in regulation of salivary gland function and dysfunction

〇Indu Ambudkar
(NIDCR, NIH, Bethesda, MD, USA)

（19） Physiological functions of store-operated calcium channels in exocrine glands

〇James W. Putney, Gary S. Bird, Felicity M. Davis, Pooja Desai, Diane D'Agostin, Shilan Wu, Natacha Steinckwich-Besançon
(Calcium Regulation Group, Signal Transduction Laboratory, NIEHS, NIH, NC, USA)

（20） Functional interaction between TRPV4 and TMEM16A/ to stimulated saliva and tear secretion

〇Sandra Derouiche, Yasunori Takayama, Masataka Murakami, Makoto Tominaga
(National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan)

（21） Involvement of MARCKS phosphorylation and translocation in amylase release in exocrine gland acinar cells

〇Keitaro Satoh[1,2], Hiroshi Sugiya[3], Yoshiteru Seo[2]
([1]Asahi University School of Dentistry, Mizuho, Japan,
[2]Dokkyo Medical University School of Medicine, Mibu, Japan,
[3]Nihon University College of Bioresource Sciences, Fujisawa, Japan)

（22）NF-κB regulates MEK/ERK signaling pathway in fibroblasts

○Hiroshi Sugiya, Rei Nakano, Hisashi Tsuchiya
(Nihon University College of Bioresource Scineces, Fujisawa, Japan)

（23）Roles of muscarinic receptors on the functions of salivary glands

○Akihiko Tanimura, Akihiro Nezu, Takao Morita
(School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Japan)

（24）Microcirculation and paracellular fluid secretion in the isolated perfused submandibular gland of rat

○Masataka Murakami[1], Fei Wei[1], Takanori Narita[2], Sadamitsu Hashimoto[3], Yoshiyuki Shibukawa[3], Masaki Sato[3], Martin C Steward[4]
([1]National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan,
[2]Nihon University College of Bioresource Sciences, Fujisawa, Japan,
[3]Tokyo Dent College, Tokyo, Japan, [4]Manchester University, Manchester, UK)

（P1）PKC regulates MEK/ERK signaling pathway in fibroblasts

○Rei Nakao Rei Nakano, Hiroshi Sugiya
(Nihon University College of Bioresource Scineces, Fujisawa, Japan)

（P2）Induced expression of a subtilisin-like proprotein PACE4 in the regulation model of rat submandibular gland

○Chenjuan Yao[1], Tetsuya Akamatsu[1,2], Takahiro Hasegawa[1], Hiroshi Yoshimura[1]
([1]Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School,
[2]Field of Biomolecular Functions & Technology, Graduate School of Bioscience & Bioindustry,
Tokushima University, Tokushima, Japan)

（P3）Simulation of intracellular pH change caused by NH_4^+ and AcO^- pulses in pancreatic duct cell

○Makoto Yamaguchi[1], Martin Steward[2], Yoshiro Sohma[3], Akiko Yamamoto[1], Hiroshi Ishiguro[1]
([1]Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan,
[2]University of Manchester, Manchaster, UK, [3]Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan)

（P4）V-ATPase a_3 subunit KO mouse shows decreased salivation

○Yoshinori Sahara[1], Sawa Horie[1], Hideyuki Fukami[1], Naomi Matsumoto-Goto[2], Mayumi Nakanishi-Mastui[2], Kohjiro Tohyama[1], Masamitsu Futai[2]
([1]Iwate Medical University School of Dentistry,
[2]Faculty of Pharmaceutical Sciences, Iwate Medical University, Morioka, Japan)

（P5）The expression patterns of clock genes in rat submandibular acinar and ductal cells

Ryouichi Satou, Masaki Sato, Maki Kimura, Youichi Ishizuka, Masakazu Tazaki, Naoki Sugihara,
○Yoshiyuki Shibukawa
(Tokyo Dental College, Tokyo, Japan)

（P6）Effects of Chinese herb HQ on salivary fluid secretion by isolated and perfused rat submandibular glands

○Muxin Wei[1], Wei Ding[1], Liqun Xie[1], Ping Wang[1], Ping Hu[1], Fei Wei[2], Masataka Murakami[2]
([1]The first Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing, China,
[2]National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan)

（P7）Visualization of microcirculation and paracellular pathway in the perfused submandibular gland

○Sadamitsu Hashimoto[1], Masataka Murakami[2], Takanori Narita[3], Masaki Sato[1], Yoshiyuki Shibukawa[1]
([1]Tokyo Dental College, Tokyo, Japan, [2]National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan,
[3] Nihon University College of Bioresource Sciences, Fujisawa, Japan)

（P8）Simultaneous monitoring of Ca^{2+} response and salivary secretion reveals the threshold level of intracellular Ca^{2+} concentration for salivary secretion in rat submandibular gland

○Akihiro Nezu, Takao Morita, Akihiko Tanimura
(School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Japan)

（P9）Enhancement of salivary secretions and gene expressions in the submandibular gland and the brain by preadministration of pilocarpine

○Takao Morita, Akihiro Nezu, Akihiko Tanimura
(School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Japan)

【参加者名】

赤松徹也（徳島大学大学院生物資源産業学研究部），Indu Ambudkar（NIH, NIDCR），Massimo Castagnola（Catholic University），Sandra Derouiche（生理学研究所），Jörgen Ekström（University of Gothenburg），Xiaona Feng（生理学研究所），古家喜四夫（名古屋大学大学院医学研究科），橋本貞充（東京歯科大学），林　徹（北里大学医療衛生学部），Matthew Hoffman（NIDCR, NIH），井階一樹（大阪大学大学院歯学研究科），石黒　洋（名古屋大学総合保健体育科学センター），門谷裕一（北里大学医療衛生学部），柏俣正典（朝日大学歯学部），加藤治（日本大学松戸歯学部），橘高裕貴（生理学研究所），小山典子（朝日大学歯学部），Erkin Kurganov（生理学研究所），Min-Goo Lee（Yonsei University），Tianbang Li（生理学研究所），松下　巧（大阪歯科大学），水越堅詞（朝日大学歯学部），森田貴雄（北海道医療大学歯学部），Shmuel Muallem（NIDCR, NIH），村上政隆（生理学研究所），中本　哲自（松本歯科大学），中野　令（日本大学生物資源科学部），成田貴則（日本大学生物資源科学部），根津顕弘（北海度医療大学歯学部），Ivana Novak（University of Copenhagen），岡林　堅（日本大学生物資源科学部），小野　瞳（大阪大学大学院歯学研究科），James W Putney（NIEHS, NIH），佐原資謹（岩手医科大学歯学部），阪井丘芳（大阪大学大学院歯学研究科），佐藤慶太郎（朝日大学歯学部），瀬尾芳輝（獨協医科大学），相馬義郎（慶応大学医学部），Martin C Steward（University of Manchester），杉谷博士（日本大学生物資源科学部），鈴木喜郎（生理学研究所），高山靖規（生理学研究所），谷村明彦（北海道医療大学歯学部），富永真琴（生理学研究所），内橋賢二（大阪歯科大学），Muxin Wei（Nanjing Medical University），Andy Wolff（Saliwell），山口　誠（名古屋大学総合保健体育科学センター），姚　陳娟（徳島大学歯学部），吉垣純子（日本大学松戸歯学部）

【概要】

現在の学問体系の中で技術的に専門化が進んだ結果，多く学会で技術的側面を共通基盤とする傾向が大であり，対象はひとつでありながら形態学，生理学，生化学，薬理学，病理学，細胞生理学の研究者達は同じテーブルで成果を多角的にすりあわせる機会は少なく，技術論の情報交換が中心となり，新技術を有効に展開し具体的な目的への肉薄は狭い範囲に限定されてきた。その結果，新しい技術開発に比べ，新しい科学の認識あるいは概念の誕生は遅れる傾向が懸念された。そこで，広く世界より唾液腺および外分泌腺の碩学を集結し，唾液腺の生理，病理，病態の研究成果を徹底した討論を通じて臨床応用を踏まえた唾液腺研究の新展開をはかることを目的とし，唾液腺研究の祖であるニルス・ステンセンの名を被せたシンポジウムを開催することとした。1995 年にフローレンス（イタリア）で第 1 回目が開催され，第 2 回目が 1997 年にカリアリ（イタリア），第 3 回目が 2006 年に岡崎市（日本）で開催され，今回は 2016 年 11 月 30 日～12 月 2 日の 3 日間，岡崎カンファレンスセンターにて第 4 回目が開催された。シンポジウムは，基礎研究から臨床応用，タンパク質分泌，電解質及び水分泌，プリン作動性シグナル伝達，唾液腺の再生，細胞内カルシウムのホメオスタシスと分泌関連反応などのセッションで構成され，アメリカ，イタリア，スエーデン，デンマーク，イギリス，イスラエル，韓国，中国から 11 名の研究者を招聘し，国内研究者を含め，50 名により唾液腺を中心に最新の成果と蓄積された知識が擦り会わ

され，将来の方向性についても深く議論がなされた。また，若手の発表を促進すべくポスターセッションを設け，熱い議論が展開され，盛会のうちに終了した。

（1）Development of salivological view through the Stensen symposia for 20 years

Masataka Murakami（National Institute for Physiological Sciences）

It is 20 years since the first Stensen symposium. I have always looked forward to these symposia, because I have gained many new insights and had many preconceptions destroyed through interactions with colleagues from around the world..

It all began during a post-doc period in Dr Imai's laboratory at Osaka Medical College in Takatsuki, where I learned how to prepare an isolated perfused salivary gland from the dog. Prof Imai gave me the task of measuring energy consumption during secretion, which I did by measuring heat production. Following the creation of the National Institute for Physiological Sciences, with Prof Watari we shifted the methodology to ^{31}P NMR measurements on the isolated perfused dog SMG. To increase productivity, I visited Sydney to learn the preparation of rat SMG from Ivana Novak in John Young's laboratory. This was my first experience of international collaboration.

After moving to Okazaki from Takatsuki (Osaka Medical College), Dr Watari gave me opportunities to organize international symposia. In 1985 I invited John Young, Maynard Case and Mortimer Civan, as well as Chinese and Korean colleagues. Then in February 1991 we had the opportunity to organize a large symposium on Epithelial Transport and Energy Metabolism in many different epithelial systems. After that we planned a smaller international workshop, focusing solely on salivary glands, in September 1992 at Mikawa Heights. This time we invited several morphologists because we felt it important to bring together specialists from other fields of salivology.

In March 1994 our meeting was combined with the Japan Physiological Society meeting in Takamatsu and we invited Prof Riva. He gave me a shock by showing us that the luminal membrane is not only apical but also incorporates the intercellular canaliculi along the lateral membrane. A similar shock came from Bernie Tandler's talk on the substructure of secretary granules. We also received a shock regarding the relationship between salivary composition and fluid secretory rate, which originated from Thaysen's classic theorem. We now have to realize that large components of saliva are shifted from the circulation.

The shocks have continued during these 20 years, and I hope that some new ideas and findings will give us new shocks at this symposium, and justify its continuing association with Niels Stensen's name.

（2）Medication-induced salivary gland dysfunction

Andy Wolff（Saliwell Ltd. and Tel Aviv Sourasky Medical Center)

The World Workshop on Oral Medicine (WWOM) is a joint venture of the European Association of Oral Medicine and the American Academy of Oral Medicine. The purpose of the WWOM is to conduct systematic literature reviews on important clinical issues in the field of oral medicine. The topic "Medication-induced salivary gland dysfunction" (MISGD) was investigated by a team of 15 experts from different countries, who found thousands of studies, but no consensus about the extent of the problem, types of drugs involved, their mechanism of action, their clinical impact, and prevention and treatment methods of MISGD. About one half of the population consumes regularly at least one medication, and approximately 30% of this population segment suffers from dry mouth. We identified 56 compounds that cause dry mouth with high level of evidence and

50 with moderate level of evidence. Most of these medications are used for treatment of diseases in the following locations/systems: alimentary and metabolic (7), cardiovascular (12), genitourinary (9), nervous (58), and respiratory systems (6). Most drugs cause dry mouth through their effect on the central or peripheral nervous system, by agonistic or antagonistic action on various surface receptors of target cells in the nervous system or salivary glands. The degree of oral dryness is related to the number and the dose of drugs taken by the users. There is evidence that the phenomenon occurs more frequently in women and the elderly, and may be associated with clinical consequences such as tooth decay or oral mucosa diseases. Prevention and treatment strategies include substitution of drugs, local or systemic therapy aimed at increasing the secretion of saliva, saliva substitutes and electrical stimulation of the salivary glands. Summing up, dry mouth resulting from the use of drugs is a big burden for the population and, hence, requires the allocation of resources for research, prevention and treatment by medical institutions, universities and pharmaceutical companies.

（3）Experimental studies on secretory effects of some atypical antipsychotics with special reference to the clozapine-induced sialorrhea

Jörgen Ekström, Tania Herbst Godoy
（The Sahlgrenska Academy at the University of Gothenburg）
Alessandro Riva（University of Cagliari）

Traditionally, antipsychotic drugs are usually associated with salivary gland hypofunction and xerostomia. However, experimental studies show clozapine, amisulpride and olanzapine, drugs of the second generation of antipsychotics, to stimulate the secretion of saliva but by different mechanisms. The rat parotid and submandibular glands served as model organs. They are supplied with muscarinic-M1- and M3-receptors, α_1- and β_1-adrenergic receptors, and peptidergic receptors to vasoactive intestinal peptide (VIP), substance P and calcitonin-gene related peptide (CGRP), making them suitable for analytic pharmacology. Furthermore, the glands can be subjected to denervation experiments, excluding them from nervous influences.

Clozapine, administrated intravenously, evoked a low-graded flow of saliva from the duct-cannulated glands in the pentobarbitone-anaesthetized animal. The secretion was due to a direct effect on the muscarinic-M-receptors, being abolished by the M1-antagonist pirenzepine. *N-Desmethylclozapine,* the major metabolite of clozapine, was a stronger M1-receptor agonist than the parent compound as tested in eviscerated animals (avoiding hepatic metabolism); the two drugs did not attain full additive effects. Clozapine interacted synergistically with the β-adrenoceptor agonist isoprenaline on one hand, and with VIP on the other hand. Reflexly elicited secretion (in the awake animal) was reduced by clozapine as was the secretion evoked by stimulation of the parasympathetic and sympathetic innervations, attributed to M3- and α_1-blockade, respectively. *Amisulpride,* in contrast to clozapine, evoked no flow of saliva on its own. It did, however, enhance the reflex secretion from a low rate. Moreover, the response to parasympathetic and sympathetic stimulations as well as to autonomimetics was enhanced by amisulpride. The potentiation was a direct effect on the secretory cells but the cause of the phenomenon remains unknown. It was evidently not due to amisulpride's blockade of dopamine D1/D2- receptors. Ultrastructural signs of secretory activity suggest that amisulpride put the glands in a state of readiness, laying ground for the potentiation. *Olanzapine* evoked secretion, but in this case, by non-adrenergic, non-cholinergic mechanisms, partly involving substance P-receptors. It did also reduce reflex secretion and parasympathomimetic-evoked secretion.

The current findings have *clinical implications*. The reported dual secretory effect of clozapine, sialorrhea and dry mouth, finds its explanation. During sleep, the excitatory action (muscarinic-M1-receptors) by clozapine/*N*-desmethylclozapine dominates, while during a meal, putting high demands on the

reflex secretion, the inhibitory action (muscarinic-M3- and adrenergic-α_1-receptors) gets the upper hand. No support for amisulpride as an inhibitor of secretion, as suggested in the clinic, is gained. On the contrary, amisulpride may be of potential interest in developing dry mouth treatment. In human salivary glands, secretory cells lack a substance P-innervation, while vessels are reached by sensory substance P/CGRP- containing nerves. Olanzapine might be a potential cause to salivary gland inflammation inducing vasodilatation and oedema.

（4）Sjögren's syndrome and autoimmune pancreatitis: Fixing the duct fixes the acini

Mei Zeng, Shmuel Muallem（NIDCR, NIH）

Sjögren's syndrome (SS) and autoimmune pancreatitis (AP) are inflammatory autoimmune diseases of secretory epithelia with no known cure or efficient treatment. Both diseases result in reduced function of acinar cells and are traditionally attributed to dysfunction of acinar cells, including mislocalization of ion transporters and altered Ca^{2+} signaling. For many years, we have been arguing that these diseases must involve aberrant ductal function that is critical for initiation and propagation of the diseases. We also suggested that correction of ductal function might ameliorate the disease phenotype and even improve glandular functions. A key transporter that is affected in all inflammatory secretory epithelial diseases is CFTR, which we have shown before to be mislocalized in AP and other forms of chronic pancreatitis (Ko et al, Gastroenterology, 138:1988, 2010). Here, we took advantage of the newly available CFTR correctors and potentiators and the NOD and BMP6 mouse models of SS and AP to examine the state of CFTR in these models and the consequences of correcting CFTR on the pancreas and salivary glands functions. We will show the profound effect of correcting CFTR function on the glands, their ducts and their acinar cells functions.

（5）Bicarbonate permeation through anion channels

Min Goo Lee（Yonsei University College of Medicine）

Anion channels are an essential component of the cells for keeping them alive and mediating their diverse functions. Although many anions can permeate anion channels, chloride and bicarbonate are the two most abundant anions that can be the charge carrier of anion channels in animal cells. Increasing evidence indicates that bicarbonate permeation though anion channel is involved in many basic biologic processes ranging from epithelial fluid secretion to neuronal excitation. However, the principle of ion selection and permeation by the anion channels, in particular that of bicarbonate, is largely unknown. By employing an integrated study of combined molecular, physiological, structural, and mathematical approaches, we provide evidence that electric permittivity and channel pore diameter are cardinal features, which determine the ion selectivity of anion channels. Importantly, many cellular stimuli dynamically modulate anion channel ion selectivity by changing pore size. Pore size change affects the bicarbonate permeability of anion channels by altering energy barriers of size-exclusion and ion dehydration of bicarbonate permeation. These findings provide key insights into the mechanism of how the ion permeation and selectivity of anion channels are determined.

（6）The application of mass spectrometry to the study of the intact human salivary proteome

Massimo Castagnola
（Facoltà di Medicina Università Cattolica del Sacro Cuore）

Saliva is a very attractive bodily fluid for the diagnosis and prognosis of diseases for several reasons: i) its collection is usually low cost, “easy”, “safe” and it can be performed without the help of health care workers (it allows for home-based sampling); ii) it is considered an acceptable and non-invasive process by the patients because it does not provoke pain resulting can be easily collected also from pediatric patients and newborns.

Our group started more than fifteen years ago to study this bodily fluid with a proteomic platform based on the integration of top-down and bottom-up strategies. The lecture will describe the proteoforms of the main families of human salivary proteins, i.e. proline-rich proteins, histatins, statherins, cystatins, α-defensins and β-thymosins, characterized by these strategies. Several post-translational modifications occurring before, during and after their secretion will be described, underlying the proteolytic fragmentations from the pre-pro-proteins, which have been characterized thanks to the top-down strategy applied. Saliva contains specific families of proteins deriving from gland secretion, nonetheless, they are submitted to post-translational modifications (PTMs), i.e. phosphorylation, sulfation, glycosylation, cyclization, fragmentation, which are governed by enzymes commonly distributed in other exocrine and endocrine glands and tissues. Variations of these PTMs could be therefore relevant clues of molecular mechanisms at the basis of systemic and multi-factorial pathologies. Salivary protein profiling in relation to age, with a particular concern to the physiological variations observed in pre-term newborns and in the pediatric age range trends, will be also discussed. The putative role of some salivary proteoforms identified in the oral cavity and the demanding issues arising from the proteomic results until now obtained will be finally pointed out.

（7）Mechanism for selective transport of secretory proteins into secretory granules of parotid acinar cells

Junko Fujita-Yoshigaki, Megumi Yokoyama, Osamu Katsumata-Kato
（Nihon University School of Dentistry at Matsudo）

Salivary acinar cells have two pathways for secretory proteins: regulatory and constitutive secretory pathways. In the regulatory pathway, newly synthesized proteins are transported and concentrated in secretory granules and are released upon specific stimulation. In the constitutive pathway, proteins are immediately secreted by small vesicles. Secretory proteins may be separated into two pathways in the trans-Golgi network, yet the mechanism is unknown.

To study the sorting mechanism in parotid glands, we have been using HaloTag, a reporter protein that was constructed to bind fluorescent ligands. When HaloTag that has only a signal peptide sequence (SS25H) was expressed in the primary culture of parotid acinar cells, the signal of SS25H was overlapped with endogenous amylase, suggesting that it was sorted into secretory granules. Although SS25H was released upon stimulation with isoproterenol, its basal secretion without stimulants was higher than that of amylase. Therefore, it is likely that some of SS25H proteins were transported to the constitutive pathway. Because the signal peptide sequence is cleaved in ER during protein synthesis, SS25H probably has no specific signals when sorted in Golgi apparatus. That may be the reason that SS25H was transported into constitutive pathway.

Since we expected that endogenous salivary proteins have some specific signals for sorting to secretory granules, we constructed the HaloTag protein fused with cystatin D, one of major saliva proteins (fCst5H). when fCst5H was expressed in parotid acinar cells, the basal secretion was lower than that of SS25H. Moreover, the signal of fCst5H was overlapped and correlated with that of amylase better than SS25H. These results suggest that the amino acid sequence of cystatin D may include

some signal that promotes sorting into secretory granules in parotid acinar cells.

（8）The role of membrane microdomains for granule maturation in the rat parotid gland

Osamu Katsumata-Kato, Megumi Yokoyama, Junko Fujita-Yoshigaki
（Nihon University School of Dentistry at Matsudo）

Immature secretory granules (ISGs) are generated from Golgi complex, and then they become mature secretory granules (MSGs) for exocytosis. We have reported that ISGs were smaller than MSGs, and that distribution of membrane proteins was different between them. Syntaxin 6 and VAMP2 were concentrated in ISGs and MSGs, respectively. Although the components of membrane proteins are changed by membrane trafficking, secretory proteins such as amylase are concentrated in the granules. To examine whether secretory proteins need a certain transport signal for retention of themselves in the granule, we performed uptake of non-specific fluorescent dye as a tracer into ISGs. We observed co-localization of the dye and amylase after incubation for 2 days. It suggests that secretory proteins without a transport signal are retained in secretory granules during maturation. Next, we separated membrane microdomains as 1% Brij-58-insoluble low-density fractions from purified secretory granules. All of syntaxin 6, VAMP2 and amylase were detected in GM1a-rich fraction in ISGs. On the other hand, syntaxin 6 was detected indifferent low-density fraction from GM1a-rich one in MSGs. Our results suggest that syntaxin 6 is separated by membrane microdomains before transport from ISGs. Then, we examined comprehensive lipid analysis of ISGs and MSGs by LC-MS to identify the lipid components of a new microdomain. We detected no difference of phospholipid components between them. Now, we perform MALDI-TOF/MS analysis after separation of lipids by thin-layer chromatography to detect gangliosides which are components of membrane microdomains.

(9) Computational modelling of epithelial ion transport - is it worth the trouble?

Martin Steward[1], Makoto Yamaguchi[2], Kieran Smallbone[1], Yoshiro Sohma[3], Hiroshi Ishiguro[2]
（[1] University of Manchester, [2] Nagoya University Graduate School of Medicine,
[3] Keio University School of Medicine）

The pancreatic duct epithelium is remarkable for its ability to secrete HCO_3^- ions at a concentration of around 140 mM. Experimental work over the last 30 years has led to the molecular identification of the channels, transporters and pumps responsible for Na^+, K^+, Cl^- and HCO_3^- transport in the pancreatic duct of the guinea-pig, and we now have a detailed conceptual model of how the process occurs.

One way to find out whether the conceptual model is correct is to build a mathematical representation of it, and to use computational methods to compare the predicted behaviour of the model with real experimental data. To do this properly requires information about the kinetics and expression levels of the transporters, their regulation by cellular signalling pathways, their distribution over the cell surface, and the size and shape of the cells, interstitial spaces and ducts. Describing all these things mathematically is a huge task and a very large number of parameters have to specified or estimated. To make matters worse, there are marked structural and functional differences between different segments of the ductal tree.

However, by making reasonable simplifications and approximations, it is possible to construct a ‘minimal’ computational model that is capable of simulating most of the available experimental data from the guinea-pig ducts quite accurately (Yamaguchi et al, 2017). More importantly,

computational modelling has helped to identify critical measurements and conditions for future experiments. But at the same time it has become clear that the main conclusions from this study are fairly self-evident, and could have been reached with a few back-of-the-envelope calculations! Nonetheless we believe that simplified computational models are valuable tools for use in parallel with experimental work, and we should find ways to make user-friendly versions available to younger scientists.

（10）What two direct observation methods show us in membrane transport physiology: CARS microscopy and high-speed AFM

Yoshiro Sohma（Keio University School of Medicine）

Recent great advances in the nonlinear optical science and the nanotechnology give us novel kinds of information in the biomedical science field. In this symposium, we will introduce our challenges for the application of two emerging measurement techniques, Coherent Anti-stokes Raman Scattering (CARS) microcopy and High-Speed Atomic Force Microscopy (HS-AFM), to the epithelial transport physiology.

The CARS laser-scanning microscopy gives us H_2O images in cells and tissues from the O-H stretch vibration-specific scattering. Applying this technique to 3D cysts formed by MDCK cells, we succeeded to make a direct observation of H_2O/D_2O exchange process across the MDCK epithelium and determined the diffusional water permeability of luminal and basolateral membranes by analyzing the time-lapse image data with a computer simulation model.

The HS-AFM has enabled, for the first time, direct visualization of dynamic structural changes and dynamic interactions occurring in individual biological molecules in a solution, which has been impossible with other techniques. The HS-AFM succeeded to image dynamic structural changes in membrane proteins including CFTR channels and also visualize the binding/unbinding process of autoantibodies to human aquaporins.

We expect that these two techniques will take a new turn in the epithelial transport physiology.

（11）Analysis of electrolyte and water transport by the ex vivo mouse submandibular gland perfusion technique in genetically modified mice

Tetsuji Nakamoto（Matsumoto Dental University）

The *ex vivo* perfused submandibular gland is a well-established method to analyze salivary gland fluid secretion, and this technique has also been applied to gene disrupted mice. We analyzed knockouts over the last decade to assess the functions of K channels (IK and Maxi-K), ATP receptor (P2X7), water channel (AQP5), Na^+-K^+-$2Cl^-$ cotransporter (NKCC1), Na^+/H^+ exchangers (NHE1~3) and muscarinic receptor (M3). The Maxi-K channel is important for K+ release in saliva, while the IK and Maxi-K K channels work together to establish a negative membrane potential that drives fluid secretion by salivary acinar cells. Purinergic stimulation induced salivation was essentially eliminated in *P2X7*$^{-/-}$ mice. In addition, secretion was reduced about 30% by purinergic activation during muscarinic in *P2X7*$^{-/-}$ mice stimulation. AQP5 is the most important water channel in saliva secretion, and loss of Aqp5 expression seemed to enhance ion transport, which resulted in a higher osmotic saliva in *Aqp5*$^{-/-}$ mice. NKCC1 was critical for establishing the high $[Cl^-]_i$ in acinar cells necessary for fluid secretion, i.e. almost 70 % of salivation decreased in both *Nkcc1*$^{-/-}$ and control glands perfused with bumetanide, a potent NKCC1 inhibitor. NKCC1 is also

activated by perfusion with hypotonic solutions. NHE analysis revealed that only *Nhe1*$^{-/-}$ mice had marginally reduced salivation. Analysis of *M3*$^{-/-}$ mice previously detected only a slight reduction in salivation *in vivo*, however *ex vivo* perfusion studies showed a critical reduction in carbachol-induced salivation. Studies of gene disruptions in mice have provided critical information about the fluid secretion mechanism, however in some cases systemic knockouts are lethal. In these cases, conditional knockouts will lead to a better understanding of the fluid secretion mechanism.

（12）Purinergic signaling in pancreas in health and disease

Ivana Novak（University of Copenhagen）

ATP is the molecule essential for life. When released from a cell, it acts as a short-range signal between cells. This so called purinergic signalling is important in many cells/organs, including modulatory functions in both pancreatic endocrine and exocrine cells. Our studies showed that in pancreatic acini the intracellular ATP is accumulated in secretory zymogen granules by the vesicular nucleotide transporter, VNUT. Following physiological stimuli, ATP is released by exocytosis into the lumen of pancreatic ducts. In pancreatic ducts ATP is also released by other mechanisms and one of the most interesting triggers are bile acids. Within pancreatic ducts, ATP and adenosine act via specific purinergic receptors, e.g. P2Y2 and P2X7 receptors, to regulate duct secretion by activating Ca^{2+}-sensitive K^+ and Cl^- channels, $K_{Ca}3.1$ and TMEM16A/ANO1, which can potentially bypass CFTR, the Cl^- channel defect in cystic fibrosis.

Our recent research focusses on the role of purinergic signalling and ion channels in pancreatic cancer. Pancreatic ductal adenocarcinoma is a fatal disease, which has an overall 5-year survival rate of less than 5% and new therapeutic targets are urgently needed. Some of the hallmarks of cancers are, in general, dysregulated ion channels and high metabolic activity of cancers cells; the latter results in putatively high intra-tumor ATP concentrations. Our recent studies showed that the pH-sensitive two-pore K^+ channel (TREK-1), the Ca^{2+}-sensitive intermediate conductance K^+ channel (KCa3.1) and Ca^{2+}-sensitive Cl^- channels (TMEM16A/ANO1) are over-expressed in pancreatic adenocarcinoma cells and contribute to cancer cell proliferation and migration.

Regarding purinergic signalling, one of the receptors most relevant to human disease, including cancer, is the multifunctional P2X7 receptor. Our recent studies on pancreas show that this receptor is over-expressed duct cancer cells and fibrogenic pancreatic stellate cells. *In vitro* studies show that the receptor is important for cancer cell survival and cell migration, as well as for pancreatic stellate cell functions. *In vivo* studies on tumor-bearing mice show that treatment with specific P2X7R inhibitor AZ106006120 reduced tumor growth, and most remarkably it reduced extensive tumor fibrosis. Thus P2X7 receptor targeting has a potential as a relevant therapeutic target.

（13）Real-time imaging of ATP release induced by alveolar inflation in the rat lung ex-vivo

Kishio Furuya[1], Ryszard Grygorczyk[2], Masahiro Sokabe[1]
（[1] Nagoya University Graduate School Medicine, [2] Université de Montréal）

Extracellular ATP is now recognized as a ubiquitous autocrine/paracrine mediators in almost all tissues in the body, although its releasing mechanisms are still obscured. In the lung, ATP regulates diverse processes critical for normal functions, including mucocilliary clearance, surfactant secretion and local blood flow. ATP also contributes to the pathogenesis of a wide range of respiratory disease, including asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis and ventilator-induced lung injury (VILI). Cellular ATP release is often mechanosensitive, however, the impact of physical stimuli on ATP release during breathing has never been tested in intact lungs in real-time and remains elusive. In this study, we investigated inflation-induced ATP release in rat lungs *ex-vivo* by real-time luciferin-luciferase (L-L) bioluminescence imaging coupled with simultaneous infrared tissue imaging to identify ATP-releasing sites. With L-L solution introduced into airspaces brief inflation of lung (1-s, ~20 cmH_2O) induced transient ATP release in a limited number of air-inflated alveolar sacs during their recruitment/opening. Released ATP reached concentrations of ~10^{-6} M, relevant for autocrine/ paracrine signaling but it remained spatially restricted to single alveolar sacs or their clusters. ATP release was stimulus- dependent, prolonged (100-s) inflation evoked long-lasting ATP release while cyclic inflation/suction produced cyclic ATP release. With L-L solution introduced into blood vessels, inflation induced diffuse and transient ATP release in limited areas correspond to the alveolar responded regions. The response consisted of many small patch-like luminescence, the size of alveolar sacs. Findings suggest that inflation induces ATP release in both alveoli and the surrounding blood capillary network; the functional units of ATP release presumably consist of alveolar sacs or their clusters. Our study provides the first direct evidence of inflation-induced ATP release in lung airspaces and in pulmonary blood capillaries, and it also demonstrates the feasibility of real-time ATP-release imaging in the tissue levels.

（14）Dynamics of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethyl citosine in fetal submandibular gland development

Toru Hayashi（Kitasato University School of Allied Health Sciences）
Masanori Kashimata（Asahi University School of Dentistry）

Methylation at the 5-position of cytosines (5-mc) is an important component of the epigenetic code, and is generally associated with gene repression. Alteration of 5-mc patterns contributes to the regulation of gene expression and cell specification. Recently, a novel cytosine modification, 5-hydroxymethylcytosine (5-hmc), has been discovered. This conversion of 5-mc to 5-hmc is so far the most important and consistent mechanism underlying active demethylation of DNA (Tan and Shi, Development, 139, 1895-1902, 2012).

Fetal mouse submandibular gland (SMG) has been used to study organogenesis. Major cytodifferentiation is observed at E15. Therefore, it is reasonable to think that DNA methylation undergoes dynamic changes during the differentiation. This study investigated the temporal-spatial patterns of both 5-mc and 5-hmc in the developing SMG around E15 *in vivo* (E13, E14, E15, and E16) and *in vitro* (0 h-, 24 h-, 48 h-, and 72 h-cultured E13 SMG) using whole-mount immunofluorescence analysis.

The intensities of both 5-mc and 5-hmc signals were strong in mesenchyme. In epithelium, the 5-mc signal was detected at similar levels among all SMGs. However, strong 5-hmc staining started to appear drastically in the epithelium at the E15 and the 48 h cultured-SMG, suggested that the 5-hmc enrichment in the epithelium is related to the differentiation.

（15）Fibroblast Growth Factor Receptor function in salivary gland progenitor populations during development

Matthew Hoffman（NIDCR, NIH）

Fibroblast Growth Factor Receptors (FGFRs) are receptor tyrosine kinases and are crucial regulators of many developmental processes, tumorigenesis and progenitor cell expansion. The epithelial splice isoform of FGFR2 is essential for organogenesis of lungs, limbs, pituitary, inner ear, kidneys, teeth and salivary glands. However, it is not known whether FGFR2 is essential for progenitor function at later developmental processes, in specific cell lineages or for cell differentiation into ductal, acinar, or myoepithelial cells. We are using mice with floxed FGFR2 alleles and Cre drivers that are expressed in specific cell lineages within the submandibular salivary gland (SMG) to investigate progenitor function during development. We have deleted FGFR2 in cells expressing AP-2 (Crect), a broad ectodermal marker, Keratin14 (K14cre), which marks epithelial acinar, ductal and myoepithelial cells, Keratin5 (K5cre), which marks ductal cells, and Aquaporin 5 (ACIDcre), which is an acinar and intercalated ductal cell marker. K5, K14, and AP-2 expressing cells are all present during gland initiation. Deleting FGFR2 using either Crect or K14cre results in SMG agenesis early in development (E12), although the neural-crest derived salivary mesenchyme forms. Deleting FGFR2 using K5cre results in smaller SMGs with a 40% reduction in adult gland weight, and a significant reduction in the ductal cell compartment of the gland. Deleting FGFR2 using ACIDcre reduces acinar differentiation and overall SMG size. The severe phenotypes observed in K14cre;FGFR2$^{fl/fl}$ and Crect;FGFR2$^{fl/fl}$ embryos suggest that FGFR2 is essential in these lineages for SMG genesis. We are using conditional deletion of FGFR2 in K14 cells to study later stages of gland development. The phenotype of K5cre;FGFR2$^{fl/fl}$ SMGs shows that FGFR2 is required for complete ductal differentiation in K5+ cells. It remains to be determined whether another progenitor lineage compensates for the remaining ductal cells in the K5cre;FGFR2$^{fl/fl}$ SMG. The loss of proliferation and differentiation found in ACIDcre;FGFR2$^{fl/fl}$ SMGs also highlights the crucial role for FGFR2 in acinar formation. FGFR2 is essential for multiple progenitor cell programs during SMG development and differentiation. Understanding how FGFR function is regulated in SMG progenitor populations during development will be important for salivary gland regeneration after irradiation damage. These studies suggest that FGFR signaling will be a critical component of regenerative therapies for salivary glands.

（16）Sexual difference in the regeneration model of the rat submandibular gland

Tetsuya Akamatsu, Chenjuan Yao, Takahiro Hasegawa, Hiroshi Yoshimura
（Tokushima University）

Ligation and re-opening of the main excrete duct of submandibular gland is known as the regeneration model of the salivary gland.　We previously reported the induced expression of a subtilisin-like proprotein convertase, PACE4 and the sexual difference in this regeneration process.　In this study, we analyzed the sexual difference of salivary regeneration by using ovariectomized female rat.

Female rats with ovariectomy at 5w-old were purchased from Japan SLC, Inc.　Ligation of the main excretory duct of right side was performed at 7w-old, and the left side of the duct was kept intact as the contralateral control.　On the re-opening group, the ligation was re-opened after 1 week of the ligation. Submandibular glands were extracted at 3 or 5 weeks after ligation, and used for further analyses.

No change was observed in the contralateral glands of each rat, while the atrophy and weight decrease of the ligated gland (L3, L5) were confirmed. These changes were also observed in the re-opening group (L1O2, L1O4), but the recovery of the gland weight was significantly observed in L1O4 rats than L1O2 rats, and female than male. That of ovariectomized female rats seemed to be like male rats. By Western blotting, the induction and changes of expression of PACE4 and AQP5 were observed in the ligated glands, but not in the contralateral glands. In male rats, inverse correlation of the expression level of PACE4 and AQP5 was observed, but not in female rats. Interestingly, inverse correlation of the expression level of PACE4 and AQP5 was also observed in female rats with ovariectomy, suggesting the involvement of sex hormone, especially estrogen, in sexual difference of the salivary gland regeneration.

（17）Basement membrane dynamics in developing salivary gland

Yuichi Kadoya（Kitasato University）

Nidogens are a small family of basement membrane (BM) proteins consisting of nidogen-1 and -2. Because nidogen-1 binds to several other major BM proteins, including laminin and type IV collagen, it has been considered to play roles on the BM stabilization. Here, an attempt was made to label BM of living tissues with a recently generated recombinant human nidogen-1 with enhanced green fluorescent protein fused to the C-terminus (hNid1-EGFP)(Futaki et al, manuscript in preparation) to reveal BM dynamics. Developing submandibular glands (SMGs) of mice were chosen because of their rapid BM expansion and spatiotemporally regulated changes of major BM components. Embryonic day-13 SMGs were organ cultured in glass-bottom-dishes with a medium containing hNid1-EGFP. After 15 min of incubation, confocal microscopy revealed deposition of hNid1-EGFP that started to simultaneously appear surrounding the entire epithelial basal surface. Three- dimensional rendering indicated that the epithelial BM was a continuous thin sheet with a felt-like appearance, which fact is in good agreement to the previous histological studies of BMs of various tissues. Time-lapse confocal microscopy showed enhanced accumulation of hNid1-EGFP at the BM along the epithelial cleft, which was extending by wiggling. In addition, we noticed hNid1-EGFP accumulations as dots at the BM of very shallow concaves or notches of the epithelium, some of which grow as elongated clefts in later stage. These results reveal that BM is a flexible sheet-like. The turnover of the BM components, including nidogen-1, likely plays essential role on the epithelial clefting. We also suggest that hNid1- EGFP is a unique and useful tool to study BM dynamics in vitro.

（18）Plasma membrane Ca^{2+} entry in regulation of salivary gland function and dysfunction

Indu Ambudkar（NIDCR, NIH）

The transient receptor potential (TRP) channel family encompasses a large number of calcium-permeable channels that are widely expressed and display a plethora of functions in tissues. Among these, the TRPC subfamily consisting of (TRPCs 1-7), are activated by stimuli that cause PIP_2 hydrolysis. These channels were suggested to be molecular components of store-operated calcium entry (SOCE), a ubiquitous Ca^{2+} entry pathway that is activated in response to depletion of Ca^{2+} stores within the endoplasmic reticulum (ER) and contributes to the control of various physiological functions in a wide variety of cell types. While some TRPC channels are involved in SOCE, their activities are distinct from that of CRAC channel which is composed of Orai1 and STIM1. Among the TRPC channel, there are strong data to support a role for TRPC1 in SOCE. Further, it

is now known that TRPC1 function is dependent on STIM1 and Orai1. Our studies have led to identification of the critical mechanisms underlying activation of TRPC1 as well as the role of TRC1 in regulation of fluid secretion from exocrine glands. An important emerging concept is that unregulated or aberrant $[Ca^{2+}]_i$ signals in cells can cause or amplify the processes of cell damage, dysfunction, and disease induced by autoimmune disease or increase in ROS. We have reported that altered function or expression of key Ca^{2+} signaling components, such as STIM proteins, as well as TRP channel members can contribute to the onset of the autoimmune disease, Sjogren's Syndrome, as well as radiation-induced deleterious bystander effects in healthy tissues. Our previous and more recent studies related to pathophysiology will be discussed.

（19）Physiological functions of store-operated calcium channels in exocrine glands

James W. Putney, Gary S. Bird, Felicity M. Davis, Pooja Desai, Diane D'Agostin,
Shilan Wu, Natacha Steinckwich-Besançon（NIEHS, NIH）

Historically, cell biological studies in exocrine glands (salivary, lacrimal, pancreas) have played a major role in understanding basic mechanisms of calcium signaling. The original work leading to the discovery of the calcium releasing messenger, inositol 1,4,5-trisphosphate, was carried out in preparations of insect salivary glands and rat pancreas. The evidence for the process of store-operated calcium entry (SOCE) was obtained from studies in parotid and lacrimal glands. In the case of SOCE, the molecular players and the basic cellular signaling mechanisms have been well characterized. SOCE is activated when the release of Ca^{2+} stores (for example by inositol trisphosphate) lowers endoplasmic reticulum Ca^{2+} concentration which in turn activates a Ca^{2+} sensor STIM1 (or STIM2). STIM1 aggregates at endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions where it interacts with store-operated channels composed of Orai1 (or Orai2 or 3) subunits. The current challenge is to understand the function of this signaling mechanism in mammalian physiology and pathology. To this end, mouse models have been generated with deletions of STIM1 or 2, or Orai1, 2 or 3. Our laboratory has focused primarily on mice lacking the predominant store-operated channel subunit, Orai1. These mice are deficient in both innate and acquired immunity, in bone formation and resorption, in keratinocyte differentiation and wound healing, and male fertility. Additionally, we have used these mice to study the role of SOCE in two somewhat disparate exocrine glands, the lacrimal gland and the mammary gland.

Lacrimal glands function to produce an aqueous layer, or tear film, that helps to nourish and protect the ocular surface. Lacrimal glands secrete proteins, electrolytes and water, and loss of gland function can result in tear film disorders such as dry eye syndrome, a widely encountered and debilitating disease in ageing populations. To combat these disorders, understanding the underlying molecular signalling processes that control lacrimal gland function will give insight into corrective therapeutic approaches. Previously, in single lacrimal cells isolated from lacrimal glands, we demonstrated that muscarinic receptor activation stimulates a phospholipase C-coupled signalling cascade involving the inositol trisphosphate-dependent mobilization of intracellular calcium and the subsequent activation of SOCE. Since intracellular calcium stores are finite and readily exhausted, the SOCE pathway may be a critical process for sustaining and maintaining receptor-activated signalling. In studies of our Orai1 knockout mice, we found that lacrimal acinar cells lacking Orai1 do not exhibit SOCE following activation of the muscarinic receptor. In comparison with wild-type and heterozygous littermates, Orai1 knockout mice showed a significant reduction in the stimulated tear production following injection of pilocarpine, a muscarinic receptor agonist. In addition, calcium-dependent, but not calcium-independent exocytotic secretion of peroxidase was eliminated in glands from knockout mice. These studies indicate a critical role for Orai1-mediated SOCE in lacrimal gland signalling and function.

Mammary gland secretion is somewhat more complex than in other exocrine glands in that the secretion of milk into alveoli occurs constitutively due to hormonal changes following birth, and the release of milk to infants involves discharge of stored milk due to the contraction of myoepithelial cells surrounding alveolar structures. We found that pups born to Orai1 knockout females do not survive due to a failure of lactation in the dams. This appears due to a loss of SOCE-dependent Ca^{2+} oscillations in mammary gland myoepithelial cells which in turn results in a failure of alveolar contraction. The use of mouse models with tissue-specific deletions or modifications of STIM and Orai genes should yield important new information on physiological and pathological roles of store-operated channels in exocrine glands and other important physiological systems.

（20）Functional interaction between TRPV4 and TMEM16A/ to stimulated saliva and tear secretion

Sandra Derouiche, Yasunori Takayama, Masataka Murakami, Makoto Tominaga
（National Institute for Physiological Sciences）

Several ion channels and transporters participate in the regulation of fluid secretion in salivary and lacrimal glands. The major ion channel involved in fluid secretion has recently been identified in salivary glands as anoctamin 1 (ANO1), which constitutes the apical Ca^{2+}-activated Cl^{-} channel (CaCC) efflux pathway required for Ca^{2+}-dependent fluid secretion. The understanding of the mechanisms of activation and molecular interactions of ANO1 could offer new leads for the treatment of exocrine gland diseases such as the Sjögren syndrome. Our recent work has led to the characterization of a functional interaction between ANO1 and some members of the transient receptor potential (TRP) channels superfamily, exposing new regulators of the ANO1-mediated functions. One of them is TRP vanilloid 4 (TRPV4), a calcium- permeable channel. Interestingly, this ion channel is reported to be highly expressed in the membrane of secretory acinar cells, while its function remains unclear. Here, we report a functional interaction between TRPV4 and anoctamin 1 in salivary and lacrimal gland acinar cells isolated from mice. TRPV4 activation induced chloride currents and cell shrinkage by increasing intracellular calcium concentrations. The chloride currents evoked by the specific activator of TRPV4 (GSK1016790A) were identified as ANO1-mediated current by using its specific blocker T16Ainh-A01. Furthermore, we showed that TRPV4 could be activated through IP_3 receptors and thus enhance the muscarinic stimulation of saliva and tear secretion as these mechanisms were down regulated by a specific antagonist of TRPV4 (HC-067047) and also in TRPV4-deficient mice. Our work suggests that TRPV4 contributes to the muscarinic pathway of salivation and tear secretion through its interaction with ANO1.

（21）Involvement of MARCKS phosphorylation and translocation in amylase release in exocrine gland acinar cells

Keitaro Satoh（Asahi University School of Dentistry）
Hiroshi Sugiya（Nihon University College of Bioresource Scineces）
Yoshiteru Seo（Dokkyo Medical University School of Medicine）

Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) is known as a major cellular substrate for PKC. PKCδ has a strong affinity for MARCKS. The phosphorylation of MARCKS by PKC results in the translocation of MARCKS from the membrane to the cytosol. MARCKS is implicated in membrane trafficking in several cell types. Exocytotic amylase release is

found in parotid and pancreatic acinar cells. In parotid acinar cells, the amylase release is regulated by intracellular cAMP levels. In contrast, the amylase release is regulated by intracellular Ca^{2+} levels in pancreatic acinar cells. Here, we investigated the role of MARCKS in the cAMP- and Ca^{2+}-dependent amylase release in parotid and pancreatic acinar cells, respectively. In parotid acinar cells, the β-adrenergic agonist, isoproterenol (IPR), induced MARCKS phosphorylation and MARCKS translocation from the membrane to the cytosol. MARCKS-related peptide (MANS) as the MARCKS inhibitor inhibited the IPR-induced amylase release. The PKCδ inhibitor (rottlerin) and the PKA inhibitor (H89) inhibited the IPR-induced MARCKS phosphorylation and amylase release. IPR activated PKCδ, and the effects of IPR were inhibited by H89. In pancreatic acinar cells, cholecystokinin (CCK) induced MARCKS phosphorylation and MARCKS translocation from the membrane to the cytosol. When acinar cells were lysed by a detergent, CCK partially induced displacement of the MARCKS from lipid rafts isolated as monosialoganglioside GM1a-rich detergent-resistant membrane fractions in which Syntaxin2 is distributed. MANS inhibited the CCK-induced amylase release. Rottlerin inhibited the CCK-induced MARCKS phosphorylation and amylase release. These findings suggest that MARCKS phosphorylation and then MARCKS translocation from the membrane to the cytosol are involved in the cAMP- and Ca^{2+}-dependent amylase release. In parotid acinar cells, the PKCδ activation is the downstream of the PKA activation in the intracellular signaling of amylase release. In pancreatic acinar cells, the lipid rafts that release the MARCKS might contribute to the exocytotic amylase release. In conclusion, MARCKS signaling is a common event in amylase release in exocrine gland cells such as parotid and pancreatic acinar cells.

（22）NF-κB regulates MEK/ERK signaling pathway in fibroblasts

Hiroshi Sugiya, Rei Nakano, Hisashi Tsuchiya
（Nihon University College of Bioresource Scineces）

Mitogen-activated kinases (MAPKs) are implicated in various kinds of physiological and pathophysiological functions. In exocrine gland cells including salivary glands, MEK/ERK signaling, a MAPK pathway, has been reported to be activated by secretagogues. The activation of MEK/ERK pathway was provoked by activation of cytokine receptors and G-protein coupling receptors in canine dermal fibroblasts. NF-κB is considered to be a transcription factor. In this study, we investigated regulation of MEK/ERK pathway by NF-κB in the fibroblasts. The proinflammatory cytokine interleukin-1β (IL-1β)-induced the phosphorylation of ERK1/2 time- dependently. The MEK and ERK inhibitors, U0126 and FR180204, respectively, clearly inhibited IL-1β-induced ERK1/2 phosphorylation. In the cells treated IL-1β, phosphorylation of p65, a subunit of NF-κB, and degradation of IκBα, a binding protein as an inhibitory factor for NF-κB, were observed, indicating that NF-κB was activated by IL-1β. MEK and ERK1/2 inhibitors had no effect on the phosphorylation of p65 subunit induced by IL-1β, whereas the NF-κB inhibitor BAY 11-7082 completely inhibited IL-1β-induced phosphorylation of ERK1/2. Phosphorylation of p65 and ERK1/2 occurred in the IκBα-knocked down cells, but not in scramble siRNA-transfected cells. These findings suggest that NF-κB activation regulates activation of MEK/ERK signaling pathways in canine dermal fibroblasts.

（23）Roles of muscarinic receptors on the functions of salivary glands

Akihiko Tanimura, Akihiro Nezu, Takao Morita
（School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido）

It has been thought that the muscarinic receptor-mediated salivary secretions are mediated by the rise in intracellular Ca^{2+} concentrations ($[Ca^{2+}]_i$) that leads to the opening of ion channels (Cl^- and K^+) that is followed by the activations of ion transporters and exchangers, such as Na^+-K^+-$2Cl^-$ cotransporter and Na^+/H^+ exchanger. These models have been constructed mainly with in vitro studies using isolated salivary acinar cells.

How much of this idea is applicable in real salivary secretions? How much do we know about these responses in live animals? To ask these questions, we developed an intravital imaging system for monitoring Ca^{2+} responses in rat submandibular gland acinar cells in live animals by retrograde ductal injection of adenoviral vectors for expressing the genetically encoded Ca^{2+} indicator, YC-Nano50. We also employed a fibre optic pressure sensor and a laser speckle imaging flowmeter for the real-time monitoring of salivary flow and blood flow, respectively.

These novel in vivo experimental techniques allowed us to estimate the $[Ca^{2+}]_i$ that required for activating the salivary secretions. We also found that acetylcholine induced a tissue-wide synchronization of Ca^{2+} oscillations with the fluctuation of the salivary secretion and the blood flow. Diverse effects of different agonists and neuronal stimulations on Ca^{2+} responses and salivary secretions were also observed. In addition, we will demonstrate the effects of pilocarpine on $[Ca^{2+}]_i$, salivary secretions, and gene expressions. Based on these results, we will discuss about the functions of muscarinic receptors on the therapeutic effects of sialagogues.

（24）Microcirculation and paracellular fluid secretion in the isolated perfused submandibular gland of rat

Masataka Murakami, Fei Wei（National Institute for Physiological Sciences）
Sadamitsu Hashimoto, Yoshiyuki Shibukawa, Masaki Sato（Tokyo Dent College）
Martin C Steward（Manchester University）

Following muscarinic stimulation, interstitial hydrostatic pressure in the perfused submandibular gland of rat increases as a result of local vasodilation. This increase in pressure drives paracellular fluid secretion and secretion of the fluorescent dye (Lucifer Yellow, 500 Da) in proportion to the applied pressure. In this study, we perfused the gland with another fluorescent extracellular marker (DyLight488, ca. 1000 Da) and measured the secreted dye concentration, as a function of salivary flow rate, during perfusion at different rates. The saliva/perfusate concentration ratio (Cs/Cp) was constant over a wide range of flow rates, suggesting that the pattern of dye transfer from circulation to saliva is by solvent drag via a paracellular pathway. The arterio-venous pressure difference decreased upon cholinergic stimulation during perfusion at a constant rate, suggesting an expansion of the microcirculation. In addition, we also found that the Chinese herb danshen reduced the arterio-venous pressure immediately, but paracellular secretion was delayed by around 5 min after start of stimulation. From this finding we conclude that the onset of paracellular transport requires not only an increase in microcirculation but also an increase in the permeability of the tight junction.

（P1）PKC regulates MEK/ERK signaling pathway in fibroblasts

Rei Nakao, Hiroshi Sugiya
（Nihon University College of Bioresource Scineces）

Mitogen-activated kinases (MAPKs) are involved in various kinds of physiological and pathophysiological functions. In salivary glands, MEK/ERK signaling, a MAPK pathway, has been reported to be activated by secretagogues. The activation of MEK/ERK pathway was induced by activation of G-protein coupling receptors (GPCR) or cytokine receptors in canine dermal fibroblasts. In this study, we investigated regulation of MEK/ERK pathway via the activation of GPCR in the fibroblasts.

Bradykinin (BK), a nonapeptide, induced ERK1/2 phosphorylation time-dependently via the activation of Gq/11 type GPCR. U0126 and FR180204, MEK and ERK1/2 inhibitors, respectively, attenuated the BK-induced ERK1/2 phosphorylation. The pan-PKC inhibitor Calphostin C and the novel PKC inhibitor Rottrelin inhibited BK-induced ERK phosphorylation. When contribution of the novel PKC subtypes to the BK-induced ERK phosphorylation was examined by using siRNA, BK-induced ERK phosphorylation was significantly attenuated in PKCε-knockdown cells, but not in PKCδ-knockdown cells nor scramble siRNA-transfected cells. BK stimulated phosphorylation of PKCε, and the PKCε activator FR236924 induced ERK phosphorylation. These observations strongly suggest that PKCε plays a crucial role in ERK phosphorylation.

Next, the intracellular localization of phosphorylated-ERK and phosphorylated-PKCε was examined by subcellular fractionation. When the cells were treated with BK, phosphorylated-ERK and phosphorylated-PKCε were time-dependently increased in the nuclear fraction. The co-localization of phosphorylated ERK and nuclei marker TO-PRO-3 was observed by using immunocytochemistry. The co-localization induced by BK was attenuated by U0126, FR180204 and Rottlerin.

These observations suggest that PKCε acts as a novel regulator of MEK/ERK signaling pathway and the activation of PKCε contributes to ERK nuclear translocation.

（P2）Induced expression of a subtilisin-like proprotein PACE4 in the regulation model of rat submandibular gland

Chenjuan Yao, Tetsuya Akamatsu, Takahiro Hasegawa, Hiroshi Yoshimura
（Tokushima University）

To investigate the mechanisms of regeneration of submandibular gland (SMG), a subtilisin-like proprotein convertase, PACE4 was examined in the rat SMG underlying the atrophy by the main excrete duct ligation or re-opening. 6w-old male and female Sprague Dawley rats were gotten from Japan SLC, Inc. Ligation of the main excretory duct of right side was performed at 7w-old, and the left side of the duct was kept intact as the contralateral (CL) control. On the re-opening group, the ligation was re-opened after 1 week of the ligation. SMGs were extracted at the designated days after ligation, and used for further analyses.

The atrophy and weight decrease of the ligated glands were observed, but not the CL glands from L1 to L9. Although the decrease of gland weight in male rats was gradually observed through the period of ligation (1-9 weeks; L1-L9), that in female rats was almost same level in L2-L9 rats. In the re-opening group (L1O1-L1O8), the recovery of ligated gland weight in male rats did no more than about 60% of CL glands, even though the regeneration period is long (L1O4-L1O8). It was reached to about 80% of CL glands in female rats. By Western blotting, the induction of PACE4 expression was observed in the ligated glands, but not in the CL glands. Its

level by re-opening seemed to be inversely dependent on the recovery of AQP5 level, suggesting the correlation of PACE4 level and the functional recovery of salivary gland regeneration.

（P3）Simulation of intracellular pH change caused by NH_4^+ and AcO^- pulses in pancreatic duct cell）

Makoto Yamaguchi[1], Martin Steward[2], Yoshiro Sohma[3], Akiko Yamamoto[1], Hiroshi Ishiguro[1]
（[1] Nagoya University Graduate School of Medicine, [2] University of Manchester,
[3] Keio University School of Medicine）

Pancreatic duct cell produces isotonic HCO_3^--rich fluid secretion and the H^+/HCO_3^- transport mechanisms have been studied in cells which were acid- or alkali-loaded by NH_4^+ and AcO^- pulse techniques. The mechanisms for changes in intracellular pH (pHc) induced by NH_4^+ and AcO^- pulses were analyzed in a mathematical model of pancreatic duct cell constructed by MATLAB/Simulink. The model was composed of 4 compartments (bath, cell, intercellular space, and lumen) with basement membrane, basolateral and apical membranes, and tight junction. The basolateral membrane contained Na^+-HCO_3^- cotransporter (NBC1), Cl^-/HCO_3^- exchanger (AE2), Na^+/H^+ exchanger (NHE1), K^+ channel, Na^+-K^+ pump, etc. and the apical membrane contained CFTR anion channel and Cl^-/HCO_3^- exchanger, etc. The cell contained 4 buffering systems (HCO_3^-/CO_2, intrinsic, NH_4^+/NH_3, and AcO^-/AcOH). Cell stimulation was mimicked by increasing the permeability of NBC1, K^+ channel, CFTR, and SLC26A6. In the model, addition of 20 mM NH_4Cl to the bath caused rapid cellular alkalinization to pH ~7.49 and that of 80 mM NaAcO caused rapid cellular acidification to pH ~6.96 followed by partial recovery. Subsequent removal of NH4Cl caused rapid acidification (overshoot) to pH ~7.09, and that of NaAcO caused rapid alkalinization (overshoot) to pH ~7.63 followed by recovery to the baseline. Those changes were due to membrane diffusion of NH3 or AcOH, consumption/production of H^+ by intracellular buffering, and membrane H^+/HCO_3^- transport. When NH_4^+ pulse was performed under stimulation, the initial rate of pHc recovery from acidification was accelerated from 0.56 to 1.05 pH unit/min due to the increase of basolateral HCO_3^- uptake from 38 to167 nmol/min. When AcO^- pulse was performed under stimulation, the initial rate of pHc recovery from alkalinization was accelerated from 0.10 to 0.25 pH unit/min due to the increase of apical HCO_3^- secretion from 39 to 166 nmol/min. These suggest that NH_4^+ and AcO^- pulse techniques are useful to study the regulation of H^+/HCO_3^- transport in pancreatic duct cell.

（P4）V-ATPase a_3 subunit KO mouse shows decreased salivation

Yoshinori Sahara, Sawa Horie, Hideyuki Fukami, Naomi Matsumoto-Goto,
Mayumi Nakanishi-Mastui, Kohjiro Tohyama, Masamitsu Futai
（Iwate Medical University）

Vacuolar H^+-ATPase (V-ATPase) is localized in membranes of intracellular organelles (e.g., vacuoles, lysosomes, the Golgi apparatus, and synaptic vesicles), and is involved in membrane trafficking processes. V-ATPase is also expressed in plasma membranes, contributing to proton transport across the membrane of specialized cells, and acidifying adjacent lumen or interstitial spaces. In the salivary gland, Roussa & Thévenod (1998) showed the presence and cellular distribution of V-ATPase in the major rat salivary glands, and we reported that 1) a2, a3, d1, B2, C1, E2 subunit isoforms of V-ATPase were commonly expressed in the major mouse salivary glands; 2) the B2 subunit isoform of V-ATPase was localized in ductal cells,

but not in acinar cells, and was located in the apical membrane, basolateral membranes, and basal infoldings as well as cytosol of the striated ductal cells (Sahara et al., 2015). In order to clarify the functional role of V-ATPase in the salivary gland, here, we examined phenotypes of the knockout mouse of a3 subunit isoform (a3-KO mouse). In a3-KO mice, there is little saliva secretion and the size of major salivary glands was smaller than that in the wild type. The amount of pilocarpine- induced saliva was prominently reduced, whereas no difference was detected by isoproterenol-induced saliva in the a3-KO mice. The properties of pilocarpine-induced saliva of a3-KO mice were also changed; osmolality was increased, concentrations of Na^+, Cl^-, Mg^{2+} in the secreted saliva were affected, and pH of intraoral salivary tended to be slightly acidified. These suggest that V-ATPase would play some roles in the ductal system, such as ion transports, electrolyte absorption, anion secretion and modifying pH by unknown mechanism.

（P5）The expression patterns of clock genes in rat submandibular acinar and ductal cells

Ryouichi Satou, Masaki Sato, Maki Kimura, Youichi Ishizuka, Masakazu Tazaki,
Naoki Sugihara, Yoshiyuki Shibukawa（Tokyo Dental College）

The secretion rate of salivary substances, ions and water follows circadian rhythm, however, relationship between molecular mechanism of salivary secretion and peripheral circadian rhythm has remained to be clarified. We examined rhythmical and temporal expression of the clock genes (Bmal1, Per2, Clock and Cry1) in whole submandibular glands (SGs) and isolated acinar and ductal cells by semi-quantitative RT-PCR, under light/dark conditions.

In whole SGs, Bmal1, Per2, Clock and Cry1 mRNAs showed significant rhythmical expression (one-way ANOVA, $p<0.05$). Bmal1 expression pattern showed an opposite in phase for the temporal expression pattern of Per2. Peak maximum expression level of Bmal1 in ductal cells was higher than acinar cells at their peak time, but there is no significant difference. Maximum Per2, Clock and Cly1 mRNA peak expression levels in ductal cells were significantly higher than those in acinar cells. Expression profiles of Bmal1, Per2 and Cry1 in both isolated acinar and ductal cells, showed rhythmic patterns. The expressions of Clock mRNA in ductal cells showed rhythmical expression, but did not in acinar cells. We could not observe clear expressions peak of Clock in whole SGs and acinar cells, however ductal cells showed clear peak of it at ZT0 and ZT24. This result suggested that the obscurity of Clock rhythm in whole SGs might be caused by mixing different cycle of acinar and duct cells. It is presumed that the temporal expression patterns of clock genes in SGs are comprised of acinar and ductal mRNA expression profiles.

In conclusion, we showed that rat SGs have peripheral circadian mechanism. The strong expression of clock genes in ductal cell may be associated with modification of the ionic composition of saliva.

（P6）Effects of Chinese herb HQ on salivary fluid secretion by isolated and perfused rat submandibular glands

Muxin Wei, Wei Ding, Liqun Xie, Ping Wang, Ping Hu
（The first Affiliated Hospital with Nanjing Medical University）
Fei Wei, Masataka Murakami（National Institute for Physiological Sciences）

AIM: To study the mechanism how Chinese herb Huangqi (HQ, Radix astragali) promotes salivary fluid secretion and relieves xerostomia (dry mouth).

METHODS: Adult male Wistar rats were anesthetized with pentobarbitone sodium, and the submandibular glands were surgically isolated and transferred to an organ bath (37℃). The artery and vein were cannulated and the glands ware perfused arterially using a peristaltic pump. As a control stimulation, carbamylcholine (CCh) was added to the perfusion. Then the glands were perfused with HQ or HQ and CCh. During the experiment the saliva was leaded into the cup on the electronic balance and weighed every 3 s and transferred to the computer. At the end of this experiment, the weight data were calculated to the rate of fluid secretion. To examine whether HQ influenced energy metabolism of the glands, the partial oxygen pressure was also measured by the Clark-type electrodes at arterial and venous sides.

RESULTS: The fluid secretion was compared between a single stimulation with HQ and mixed stimulation with CCh and HQ. After stimulation of CCh, the addition of only HQ did not increase the fluid secretion, but promoted the sustained oxygen consumption. By perfusion with HQ and CCh, the amount of secreted saliva increased significantly ($P<0.05$) and then decreased slightly. Besides, addition of ouabain inhibited salivary fluid secretion sharply. The oxygen consumption during mixed stimulation with CCh and HQ was significantly higher than that stimulated by only CCh ($P<0.05$). Addition of ouabain decreased the oxygen consumption significantly ($P<0.05$).

CONCLUSION: With the stimulation of CCh, HQ can increase both salivary fluid secretion and oxygen consumption of isolated and perfused rat submandibular glands, but without CCh, HQ can only promote oxygen consumption. The promoted effect of HQ inhibited by ouabain, suggesting that HQ may work through activating Na^+-K^+-ATPase.

（P7）Visualization of microcirculation and paracellular pathway in the perfused submandibular gland

Sadamitsu Hashimoto（Tokyo Dental College）
Masataka Murakami（National Institute for Physiological Sciences）
Takanori Narita（Nihon University College of Bioresource Sciences）
Masaki Sato, Yoshiyuki Shibukawa（Tokyo Dental College）

Introduction: First step of the fluid secretion is dilatation of capillary blood vessel, and transudation of blood plasm occur in the tight junction at the endothelial cells. After permeation of acinar basement membrane, tissue fluid flow is controlled by acinar cells tight junctions. Most important function of tight junctions are, 1) selective permeability barrier in the paracellular pathway, and 2) fence mechanism in the plasma membrane structure for segregate into luminal and basolateral membrane. However, morphological change of the paracellular route for fluid secretion in the salivary gland is not fully understood. To elucidate the mechanism of water flow via paracellular pathway, during salivary secretion, we used both freeze-fracture (FF) replicas of rapidly frozen tissues viewed by three-dimensional transmission electron microscopy, and fluorescent dye-labeled lectin staining for indicating capillary blood vessel by LSM.

Materials & Methods: Submandibular glands were isolated

from male Wistar rats and perfused arterially with modified Krebs' solution, saturated by 100% O_2 gas. Isolated perfused rat SMG were non-stimulated as controls, and stimulated with CCh, or CCh with IPR. For three-dimensional analysis by the quick freezing deep etching FF replica method, fresh submandibular tissues were rapidly frozen with liquid helium. After cutting and deep etching at -110 to -100℃, freeze-fracture replicas were obtained from the fractured surfaces of specimens by rotary shadowing with platinum and carbon coating. These replicas were examined by transmission electron microscopy. For visualization of microcirculation, DyLight → 594 conjugate tomato lectin was infused into artery of perfused gland. After stimulation, perfused gland was chemically fixed by buffered formalin, tissue slice (100 μm thickness) was stained with Fluor →488 phalloidin for F-actin and DAPI for nucleic acid. Tissue slice were examined by confocal LSM.

Results and Discussions: During CCh with or without IPR treatment, the intercellular canaliculi became dilated, and the cytoskeletal actin filaments beneath the plasma membrane were arranged in a thicker layer compare with control. After stimulation, diameter of the small arterially was contracted, and lumen of the capillary blood vessel was becoming narrow and meandering. These result were suggested that, the fluid secretion were controlled by both of the cytoskeletal actin filament rearrangement beneath the plasma membrane of tight junction, and increase of the microcirculation.

（P8）Simultaneous monitoring of Ca^{2+} response and salivary secretion reveals the threshold level of intracellular Ca^{2+} concentration for salivary secretion in rat submandibular gland

Akihiro Nezu, Takao Morita, Akihiko Tanimura
（School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido）

We monitored changes in intracellular calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$) and salivary flow rate in rat submandibular gland (SMG) using an intravital Ca^{2+} imaging and an optic-fiber pressure sensor, simultaneously (Nezu A., et al., 2015). The intravenous infusion of acetylcholine (ACh, 10-720 nmol/min) increased $[Ca^{2+}]_i$ in a dose-dependent manner with parallel rise in salivary flow rate. Atropine, a muscarinic ACh receptors (mAChRs) antagonist completely blocked ACh-induced Ca^{2+} responses, whereas hexamethonium, a ganglionic blocker had no effect in SMG. These results indicate that ACh induced Ca^{2+} responses and salivary secretions predominantly due to the direct activation of mAChRs on acinar cells in SMG. This novel experimental systems revealed a clear time lag between the onset of increase in $[Ca^{2+}]_i$ and that of salivary secretion. It is thought that this time lag is caused by the period of time for increasing $[Ca^{2+}]_i$ to the level required for activating the various molecules such as Cl^-, K^+ channels and ion transporters for fluid secretion, and thus we analyzed the level of $[Ca^{2+}]_i$ elevations at the onset of salivary secretion. The time lag with the lowest dose of ACh (30 nmol/min) was 106 sec. This time lag was shortened with the increase in a dose of ACh, and it was 19 sec with the high dose of ACh (360 nmol/min), which induces maximum Ca^{2+} responses and salivary secretion in SMG. We estimated that the $[Ca^{2+}]_i$ at the onset of salivary secretions was 45-57 nM in vivo, irrespective of ACh dose. This small rise in $[Ca^{2+}]_i$ (9-20 nM) was equivalent to the Ca^{2+} responses in SMG cells induced by the low concentration of carbachol (200-300 nM).

（P9）Enhancement of salivary secretions and gene expressions in the submandibular gland and the brain by preadministration of pilocarpine

Takao Morita, Akihiro Nezu, Akihiko Tanimura
（School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido）

Pilocarpine (Pilo), which is known to be a muscarinic agonist and a therapeutic drug for Sjögren syndrome, causes the increases in salivary secretion by its long-term (more than 12 weeks) administration clinically.

We also confirmed that Pilo-induced salivary secretions from rats with preadministration of Pilo (1 week) were significantly increased. In addition, 1-week-preadministration of Bethanechol, another muscarinic agonist, and 1-day-preadministration of Pilo also caused the enhancement of Pilo-induced salivary secretions. The real-time analyses of salivary secretion from submandibular gland (SMG) showed that intravenous infusion of acetylcholine (ACh, 60- 120 nmol/min) induced oscillation-like salivary secretions. In Pilo-pretreated rats, same concentrations of ACh induced continuous salivary secretions, and resulted in an increase in the amount of saliva with relatively low concentrations of ACh. These results imply that the increase in saliva secretion is associated with changes of gene expressions through muscarinic receptor in salivary gland and/or central nervous system.

Based on this idea, we performed comprehensive analyses of the SMG and the brain to compare gene expression with or without 1-week-pretreatment of Pilo using mRNA sequence method. We found that in Pilo-preadministrated rat, 67 and 57 genes out of 10668 genes in the SMG were up-regulated and down-regulated remarkably (> 2 fold), respectively. In the brain, 50 genes were up- or down-regulated remarkably. Real-time quantitative RT-PCR (qRT-PCR) analyses confirmed that several genes were up-regulated in the SMG or the brain in Pilo-preadministrated rats. These results suggest that preadministration of Pilo increased in the salivary secretion and enhanced gene expression through activation of muscarinic receptor in the SMG and the brain.

【行　動　様　式】

行動様式

〔　目　　次　〕

１．神経成長の制御マウス群の高次脳機能調節機構の解明 502
２．時計関連遺伝子欠損マウスの行動様式解析 502
３．グルタミン酸受容体遺伝子改変マウスを用いた行動学習の分子基盤の解明 503
４．*PAPS 輸送体*ヘテロ欠損個体の行動様式の解析 504
５．FcγRIIB 欠損マウス幼少期・発達期における行動異常の解析 504
６．神経樹状突起 mRNA 輸送・局所的翻訳の高次脳機能解析 505
７．電位センサーを持った機能未知タンパク質の記憶・学習に与える影響の解析 505

1. 神経成長の制御マウス群の高次脳機能調節機構の解明

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

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

（結果）28 年度は T1KO の生化学的 CS 量を定量化し，脳内各部位の CS 量が 50%に減少していることを明確にした（Yoshioka et al.; 論文投稿中）。このマウスについて，CS が集積している perineuronal nets（PNN）での脳内各所での CS も極端に減少していた。一方，PNN で CS が結合している aggrecan というコア蛋白質は全く減少していないこと，PNN によって活性が調節される PV 細胞（Parvalbumin 陽性の神経細胞）が，同様に変化していないことを見出した。以上の結果は，これまで見出した数件の行動異常が, PNN の CS 集積減少そのものに基づき，PV 細胞数の減少などは行っていないことを明確にしたものである（Yoshioka et al.; 投稿中）。

一方，T2KO については現時点で高雄が行動解析中である。当該のマウスは病態の作成によって，末梢神経障害の低下，代謝の異常，腎のバリア機能変化，腸管バリア機能の変化, など各臓器ごとの変化が想定されるため，脳内の変化の理解が重要と推測された。

GAP-43（S96A）ノックインマウスについては，通常の成熟脳でこのリン酸化を解析したところ，可塑性の高い神経回路に局在し，そうでない神経回路にはほとんど見出せないことがわかった。従って，このノックインマウスは可塑性の異常が強く推測されることとなり，28 年度に胚操作を準備した。

（研究業績）

1. Nozumi M, Nakatsu F, Katoh K, Igarashi M (2017) Coordinated Movement of Vesicles and Actin Bundles during Nerve Growth Revealed by Superresolution Microscopy. Cell Rep 18: 2203-2216.
2. Honda A, Ito Y, Takahashi-Niki K, Matsushita N, Nozumi M, Tabata H, Takeuchi K, Igarashi M (2017) Extracellular Signals induce Glycoprotein M6a Clustering of Lipid-rafts and associated Signaling Molecules. J Neurosci, in press
3. Tanaka H, Yamamoto Y, Kashihara H, Yamazaki Y, Tani K, Fujiyoshi Y, Mineta K, Takeuchi K, Tamura A, Tsukita S (2016) Claudin-21 Has a Paracellular Channel Role at Tight Junctions. Mol Cell Biol 36: 954-64.

2. 時計関連遺伝子欠損マウスの行動様式解析

清水貴美子（東京大学･理学系研究科･生物科学専攻）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所･行動様式解析室）

地球上に生息するほぼすべての生物は概日時計をもち，睡眠・覚醒，血圧やホルモン分泌など様々な生理機能を制御している。鬱病が生体リズム異常を伴う等，基本的な生理機能だけでなく，高次脳機能も概日時計によって制御されることが最近になって示唆され始めた。しかし，時計システムと高次脳機能との連関を学術的に示した例はほとんど無く，まして，そのメカニズムに関しては何もわかっていなかった。

我々は，マウスの高次脳機能が概日時計によって調節されていることを実証するために，外界の光条件を遮断した状態で記憶効率や不安様行動の日周変動を測定した。その結果，不安様行動や海馬依存性の長期記憶効率に日

周変動がある事を見出した。さらに, 中枢時計の破壊や, 前脳特異的な（海馬・扁桃体 BLA を含む）概日時計の破壊により，不安様行動や長期記憶効率の概日変動が失われていた。我々は，概日時計からの発現調節を受ける分子 SCOP が概日時計と高次脳機能を繋ぐ鍵分子になりうると考え，SCOP 欠損マウスを用いて記憶効率と不安様行動の日周変動を検討した。海馬特異的な SCOP 欠損では長期記憶の日周変動が見られなくなり，また扁桃体 BLA 特異的な SCOP 欠損では不安様行動の日周変動が見られなくなった。概日時計と海馬依存性の長期記憶形成および不安様行動の調節機構との間には，SCOP が関わる分子シグナリングが介在する事を示した。(Shimizu *et al*. *Nature Commun* 7, 12926, 2016, Nakano *et al*. *Sci Rep* 6, 33500, 2016)

SCOP が海馬依存性の記憶効率にも扁桃体 BLA が司る不安様行動にも関わるという事は，SCOP は他の様々な脳機能と概日時計機構とを繋ぐ鍵分子である可能性が考えられる。そこで，SCOP 欠損マウスをもちいて更に多様な行動様式解析をおこなった結果，Social interaction test において変化が見られ, SCOP 欠損マウスは社会性の指向が異なることが示唆された。今後はさらに，社会性を検出するための他の解析により，SCOP 欠損マウスの社会性の変化を確認するとともに，社会性の形成における SCOP の役割を分子レベル・神経回路レベルで解明する予定である。

3. グルタミン酸受容体遺伝子改変マウスを用いた行動学習の分子基盤の解明

林　崇，伊藤政之（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所･行動様式解析室）

哺乳類の中枢神経系において，主要な興奮性神経伝達物質はグルタミン酸である。哺乳類脳におけるグルタミン酸作動性の興奮性シナプス伝達は，AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）が仲介する。AMPA 受容体のシナプス発現とイオンチャンネルとしての機能の調節はシナプス可塑性の分子実体であり，これが哺乳類の脳の働きを支える分子基盤となる。また，NMDA 型グルタミン酸受容体（NMDA 受容体）は可塑性の誘導に重要な役割を果たす。AMPA 受容体は，パルミトイル化翻訳後修飾を受けることによって局在および輸送過程が制御されており，興奮性シナプスにおける受容体の発現調節が行なわれる。本研究は，AMPA 受容体パルミトイル化修飾部位を置換した非修飾型ノックインマウスの行動様式解析を通して，興奮性シナプスにおけるグルタミン酸受容体の翻訳後分子修飾が脳機能と行動発現の制御に与える影響を明らかにし，哺乳類の行動学習の分子基盤解明を目指す。

これまでの主に培養神経細胞を用いた *in vitro* 実験の結果から，AMPA 受容体の脱パルミトイル化に伴う受容体のシナプス発現上昇およびそれに伴う興奮性シナプスの機能亢進が予想された。これらの知見を基にして，更に *in vivo* での AMPA 受容体パルミトイル化修飾の役割を解析するため，AMPA 受容体のシナプス後膜組み込みに重要な GluA1 サブユニットの C 末端パルミトイル化部位システイン残基をセリンに置換し，パルミトイル化修飾が起こり得なくした非修飾型ノックインマウスを C57BL/6N(B6N)系統由来の胚性幹細胞を用いて作製した。

この B6N 系統を遺伝的背景とする GluA1 非修飾型ノックインマウスのヘテロ雌雄同士の掛け合わせによって，同腹，同生育環境の野生型およびノックインホモマウスの雄各 20 個体を得, これらのマウスに対して標準プロトコールに準拠した網羅的行動様式試験を系統的に行なった。昨年度に続き, 不安様行動, 協調運動/平衡感覚, 恐怖条件付け，薬物反応性等に関して，これまでに有意差の見られた各種課題の再現実験を行ない，AMPA 受容体パルミトイル化修飾の影響を定量的に解析した。その結果，野生型の対照群と比較して，GluA1 非修飾型ノックインマウスは特定の課題において行動異常を示すことを確認した。

4. *PAPS 輸送体*ヘテロ欠損個体の行動様式の解析

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

硫酸化は，広汎な組織に認められる翻訳後修飾の一種であり，タンパク質のチロシン残基や糖鎖が硫酸化修飾を受けている。特に，硫酸化された糖鎖であるヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸は，モルフォゲンの分布の決定や様々なリガンド分子の受容体への結合に必須である。PAPS は，様々な硫酸転移酵のドナー基質である。細胞質で合成され，硫酸化修飾の行われるゴルジ体内腔へ PAPS 輸送体（PAPST）により輸送される。このため，PAPST の発現を制御することにより，糖鎖やタンパク質の硫酸化を制御することができる。我々は，ゴルジ体で発現する 2 種の PAPST，PAPST1[1)]と PAPST2[2)]を同定した。多くの組織では *PAPST1* と *PAPST2* の両者が発現していたが，脳では *PAPST1* の発現量は *PAPST2* の 5 倍高かった。*PAPST1* のノックアウトマウスを作製したところ，ホモ欠損個体は胎生致死であったが，ヘテロ欠損個体では様々な表現型が認められた。マウスの集団飼育の観察から，*PAPST1*ヘテロ欠損個体の行動異常が示唆されたため，網羅的な行動様式の解析に付した。

13 から 15 週齢の *PAPST1* ヘテロ欠損個体 21 匹と同腹の野生型個体 23 匹に対する解析から，複数種の行動異常が認められ，異常の原因と予測される脳部位において，*PAPST1*の発現は低下し，それに伴って硫酸化も低下していた。ヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸の様々な硫酸化修飾を染め分ける抗体で，該当する部位を染色したところ，部位により硫酸化修飾のパターンが異なっていることが分った。各種シグナルとの関連も予測されたため，現在，検討を行っている。さらに，老人性難聴への関わりを明らかにするため，老齢マウスを用いて，聴性脳幹反応 ABR の実験条件を決め，検討を行った。これらの実験から得られた結果を統合して，硫酸化修飾と行動異常との因果関係を明らかにする予定である。

1) Kamiyama S, Nishihara S *et al.*, J. Biol. Chem., 278, 25958-25963 (2003).
2) Kamiyama S, Nishihara S *et al.*, J. Biol. Chem., 281, 10945-10953 (2006).

5. FcγRIIB 欠損マウス幼少期・発達期における行動異常の解析

上野浩司（川崎医療短期大学･臨床検査科）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所･行動様式解析室）

近年，免疫に関わる分子が中枢神経系においても発現し，免疫とは異なる機能を持っていることが多数報告されている。Fcγ 受容体は免疫グロブリン IgG の Fc 部分と結合する受容体である。我々は，Fcγ 受容体の一種である FcγRIIB 受容体が中枢神経系の Parvalbumin 陽性ニューロン(PV ニューロン)上に発現していることを発見し，報告した。しかし，PV ニューロン上で FcγRIIB がどのような機能を持っているのかは不明であった。そこで，FcγRIIB 遺伝子が欠損したマウスの行動解析し，FcγRIIB の機能を知ろうと実験を行った。その結果，FcγRIIB 欠損マウスは野生型マウスと比較し，多動性傾向であることが明らかになった。全ての行動実験において FcγRIIB 欠損マウスは過活動を示した。また，FcγRIIB 欠損マウスは記憶の柔軟性が低いことも明らかになった。

FcγRIIB 欠損マウスの海馬における PV ニューロン数を計測した結果，野生型マウスと比較して PV ニューロン数が低下していた。以上のことより，FcγRIIB 欠損マウスでは PV ニューロンによる錐体細胞への抑制が弱いことが推測された。

本年度は，PV ニューロンの発達途中であるマウスの幼少期に行動実験を行おうと計画していた。しかし，まとまった研究費が得られず，発達期の FcγRIIB 欠損マウスの行動解析は行えていない。そのため，平成 29 年度以降に研究費を獲得し，FcγRIIB 欠損マウスを詳細に解析してい

く予定である。

6. 神経樹状突起 mRNA 輸送・局所的翻訳の高次脳機能解析

山下　映，片山香織，椎名伸之
（統合バイオサイエンスセンター／基礎生物学研究所･神経細胞生物学研究室）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所･行動様式解析室）

学習・記憶には，神経細胞内での翻訳が必須である。この翻訳は刺激された後部シナプス近傍で起こることから，後部シナプスが存在する樹状突起へ mRNA を輸送し，刺激依存的に局所的翻訳を活性化させる機構が重要である。RNA 顆粒は翻訳に必要な因子が集合した高次複合体であり，mRNA 輸送・局所的翻訳に中心的役割を担うことが明らかにされつつある。本研究では，RNA 顆粒を構成する RNA 結合タンパク質，NFAR2 及び RNG140 のマウスにおけるノックアウト（KO）が，学習・記憶を含めた高次脳機能にどのような影響を及ぼすかを行動テストバッテリーによって明らかにすることを目的としている。

本年度は，NFAR2 ヘテロマウス同士を掛け合わせることにより，NFAR2 ホモ KO マウスを得た。NFAR2 KO マウスは致死性を示さなかったため，行動テストバッテリーを開始するべく，22 匹の同腹の NFAR2 KO マウス及び野生型マウスを準備した。高雄の富山大学への異動に伴い，準備したマウスは富山大学へ搬入し，行動テストバッテリーを開始した。

RNG140 に関しては，CRISPR/Cas9 による KO マウス作製を進めた。RNG140 のゲノム編集が起こった 2 系統のヘテロマウスを得，このうち 1 系統にフレームシフト変異が起きていることを確認した。ホモ KO マウスを得るべく，このヘテロマウス同士を掛け合わせた。今後，NFAR2 及び RNG140 KO マウスの行動テストバッテリーを進めることによって，これら RNA 顆粒構成因子の高次脳機能への関与を明らかにする。

7. 電位センサーを持った機能未知タンパク質の記憶・学習に与える影響の解析

岡村康司（大阪大学大学院･医学系研究科）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所･行動様式解析室）

Voltage sensor only protein1 (VSOP1)は電位センサードメインのみからなり，電位依存性プロトンチャネルとして機能することが知られている。脳内ではミクログリア特異的に発現することが分かっており，近年他の研究室や我々の研究室における研究から，VSOP1 はミクログリアの活性酸素産生に寄与すること，またそれが脳梗塞時の障害の際に重要であることが明らかになってきた。一方で近年様々な精神疾患においても，脳内の活性酸素産生との関連性を示唆する報告が存在する。したがって VSOP1 がこれらの疾患に寄与している可能性も考えられる。そこで本研究では VSOP1 の機能と精神疾患の関連性について，焦点を当てた研究を進めてきた。

昨年度までの研究では，新潟大学の崎村教授との共同研究によって作出された VSOP1 遺伝子ノックアウトマウスを使用し，網羅的な行動学的解析を行ってきた。その結果，若齢マウスの状態ではノックアウトマウス・野生型間で有意差の見られなかったものの，一部の行動実験項目では加齢マウスで有意差が認められるものが存在した。

上記の結果を受け，VSOP1 の脳内での発現差異を解析してみたところ，興味深いことに VSOP1 の発現には領域による差異が認められた。以上の結果を踏まえ，今後はこのような VSOP1 の発現パターンが加齢と共にどうなるのかを検証し，また加齢に伴うミクログリアの性質変化に，VSOP1 がどのような影響を与えるのか，またそれによって神経回路機能はどのように変化するのかについて着目しながら研究を進めていきたいと考えている。

【特別プロジェクト】

特別プロジェクト

〔　目　　次　〕

１．クライオ電顕トモグラフィーを用いたコケ植物葉緑体のペプチドグリカン層の観察と解析..... 510

２．精子形成の調節因子である細胞接着分子およびその相互作用する細胞内分子のノックアウトマウスの精巣の形態学的解析..... 510

1. クライオ電顕トモグラフィーを用いたコケ植物葉緑体のペプチドグリカン層の観察と解析

高野博嘉（熊本大学大学院先端科学研究部）

藍藻は細胞壁としてペプチドグリカン層を持つが，藍藻を起源とする緑色植物の葉緑体にはペプチドグリカンが無く，二重の包膜のみで覆われていると考えられてきた。しかし，我々はペプチドグリカンがコケ植物の葉緑体分裂に関わることを明らかにし，更に最近葉緑体型ペプチドグリカンの蛍光顕微鏡下での可視化に成功した。一方，通常の電子顕微鏡観察で葉緑体型ペプチドグリカンを観察することはできていない。本研究は，クライオ電顕トモグラフィー法を用いて，葉緑体型ペプチドグリカンの電子顕微鏡下での観察を目指した。熊本地震のため熊本大学理学部生物学コースではほぼ 1 年に渡って電子顕微鏡が使用不能となったため，生理学研究所で実験を進めることができたことに感謝します。

ペプチドグリカン層の葉緑体内での構造と局在部位を明らかにするために，野生型のヒメツリガネゴケを破砕後，密度勾配遠心を用いて無傷葉緑体を単離した。単離葉緑体はそのまま観察するとともに，ペプチドグリカンを分解するリゾチーム処理を行ったサンプルについても，クライオ電顕トモグラフィーによる観察を行った。その結果，葉緑体の内包膜と外包膜の間に繊維状の構造物が存在している像を 1 例見つけることができた。一方，リゾチーム処理をした葉緑体では包膜の綺麗な観察像を撮ることはできなかった。ペプチドグリカン様の繊維状構造の観察例が少ないため，更に観察例を増やしていく必要がある。また，葉緑体が細菌に比べるとかなり大きいため，包膜画分の単離なども必要かもしれない。別の方法として，代謝標識法で葉緑体ペプチドグリカンをエチニル基標識したコケから葉緑体を単離後，アジド基付きビオチンでクリック反応を行い，更に蛍光標識アビジン-金コロイドを反応させることでペプチドグリカンに蛍光色素と金コロイドを標識する系を用いてクライオ電験トモグラフィーを行うやり方も試み，今後葉緑体ペプチドグリカンの可視化を目指したい。

2. 精子形成の調節因子である細胞接着分子およびその相互作用する細胞内分子のノックアウトマウスの精巣の形態学的解析

若山友彦（熊本大学大学院生命科学研究部･生体微細構築学分野）
大野伸彦（生理学研究所･分子神経生理研究部門）

精子形成は，精祖細胞の有糸分裂，精母細胞の減数分裂，精子細胞の形態変化（精子完成）からなる。精子完成では，精子細胞とセルトリ細胞の細胞接着分子を介した相互作用が重要である。すなわち，精子細胞に発現する細胞接着分子 Cell adhesion molecule-1（CADM1）と Nectin-3 は，それぞれセルトリ細胞に発現する Poliovirus receptor と Nectin-2 と結合する。CADM1 と Nectin-3 は，伸長精子細胞における局在が異なり，Nectin-3 は先端部に CADM1 は尾部に局在する。CADM1 と Nectin-3 のノックアウト（KO）マウスは精子形成障害を起こすが，光学顕微鏡による観察により，CADM1 の KO マウスは精子細胞の尾部の形態に異常を示し，Nectin-3 の KO マウスは先端部に異常を認めた。そこで，透過型電子顕微鏡を用いて，これらの KO マウスの精子細胞の微細構造レベルの形態異常を検討した。10-15 週令の KO マウスより精巣を採取し，細切して固定してエポン包埋標本を作製した。CADM1 の KO マウスでは，鞭毛は形成されるが尾部を形成する細胞質内の細胞内小器官が鞭毛を中心に配置せず，細胞の伸長化が障害された。尾部の異常が目立つが，先体形成や核の濃縮と先端部の伸長化は認められた。一方，Nectin-3 の KO マウスでは，尾部の伸長化は保持されるが，先体形成と核の形態異常が目立つ。したがって，CADM1 と Nectin-3 の局在の違いが，精子細胞の形態形成を制御していることが分かった。

【 各種シンポジウム 】

2016（平成 28）年度生理研国際シンポジウム

The 47th NIPS international Symposium

「第 47 回生理学研究所国際シンポジウム～Decoding Synapses～」が 10 月 26 日から 28 日の 3 日間，岡崎コンファレンスセンターにて開催されました。参加者数は総計 121 名（内，外国人 12 名）でした。本シンポジウムでは，9 名の海外からの招待演者（米国 5 名，韓国 2 名，フランス 1 名，英国 1 名），11 名の国内招待演者，および 3 名の所内講演者の合計 23 名から講演をいただきました。そのうち，David S Bredt 博士（Johnson & Johnson 社），Daniel Choquet 教授（ボルドー大学）、狩野方伸教授（東京大学）に特別講演していただきました。各講演者には，(1)シナプス伝達制御機構の最先端，(2)シナプス形成，維持，除去に関する分子機構，(3)シナプス内部構造の超解像イメージングと最先端イメージング技術，(4)神経活動依存的な神経回路発達機構，(5)シナプス蛋白質の構造生物学，などについて最新の知見を紹介していただきました。若手研究者による 6 題の short talk，12 題の Flash talk，26 題のポスター発表も行われました。講演セッション，ポスターセッションとも，充分な討論時間を確保し，活発な質疑応答や意見交換が行なわれました。

The 47th NIPS International Symposium, "*Decoding Synapses*"

October 26 – 28, 2016, Okazaki Conference Center (OCC), Okazaki, Aichi, Japan

The 47th NIPS International Symposium "*Decoding Synapses*" was held at Okazaki Conference Center from October 26th to 28th, 2016. This symposium was held with 121 participants (12 from abroad). Nine invited oversea speakers (USA 5, South Korea 2, France 1, UK 1), 11 domestic invited speakers and 3 NIPS speakers gave 23 presentations, including three special lectures by Professor David S Bredt (Janssen Pharmaceutical Companies of Johnson and Johnson, USA), Professor Masanobu Kano (The Univ of Tokyo, Japan) and Professor Daniel Choquet (CNRS-Bordeaux Univ, France). All speakers presented their recent studies with high quality level in science about (1) regulatory mechanisms of synapse transduction, (2) molecular mechanisms of synapse formation, elimination and maintenance, (3) advanced technology of synaptic imaging, (4) plasticity of synaptic circuits and (5) structural biology of synaptic proteins. There were also 6 short talks, 12 flash talks and 26 poster presentations by young researchers on these topics. In all sessions, participants enjoyed intensive and fruitful discussion.

Program

Oct 26 (Wed) 2016

Opening remarks

Keiji Imoto (Director General, NIPS, Japan)

Session 1: Regulation of receptor trafficking

Chair: Toshihisa Ohtsuka (Univ of Yamanashi, Japan)

9:10 – 9:45

Masaki Fukata (NIPS, Japan)
"Regulatory mechanisms for AMPA receptors through PSD-95"

9:45 –10:20

Katherine W Roche (NIH/NINDS, USA)
"PSD-95 plays diverse roles in regulating synaptic NMDA receptors"

10:20 – 10:55

Akihiko S Kato (Lilly Research Laboratory, USA)
"Selective pharmacological modulation of forebrain AMPA receptors: Success in the development of TARP γ-8-dependent AMPA receptor antagonist, TDAA"

Special Lecture 1

Chair: Masaki Fukata (NIPS, Japan)

11:10 – 12:00

David S Bredt (Janssen Pharmaceutical Companies of Johnson and Johnson, USA)
"Discovery of NACHO: An essential chaperone for presynaptic and postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors in brain"

Luncheon Satellite Seminar (Director-Invited Lecture)

Chair: Junichi Nabekura (NIPS, Japan)

12:15 – 13:05

Ryohei Yasuda (Max Planck Florida Institute, USA)
"Biochemical computation in single dendritic spines: implication in synaptic plasticity"

Session 2: Trans-synaptic regulation

Chair: Yuko Fukata (NIPS, Japan)

13:15 – 13:50

Eunjoon Kim (KAIST, Korea)
"Regulation of neuronal synapses by the SALM/Lrfn family of synaptic adhesion molecules"

13:50 – 14:25

Katsuhiko Tabuchi (Shinshu Univ, Japan)
"Distortion of the synaptic functions in the microcircuit of the brain in model mice for neurodevelopmental disorders"

14:25 – 15:00

Michisuke Yuzaki (Keio Univ, Japan)
"Synaptic Ménage à Trois—A Bridge Over Troubled Synapses"

Session 3: Synaptic dynamics and plasticity I

Chair: Yasuo Mori (Kyoto Univ, Japan)

15:15 – 15:50

Toshihisa Ohtsuka (Univ of Yamanashi, Japan)
"Decoding short-term synaptic plasticity: implication of CAST phosphorylation in control of synaptic plasticity at the excitatory synapses"

15:50 – 16:25

Shigeo Okabe (The Univ of Tokyo, Japan)
"Maturation-dependent regulation of synaptic density and dynamics"

16:25 – 17:00

Naoki Matsuo (Osaka Univ, Japan)
"Visualization and manipulation of memory engram"

17:00 – 17:15

Eisuke Koya (Univ of Sussex, UK)
"Enhanced excitability of nucleus accumbens, but not orbitofrontal cortex neuronal ensembles following sucrose memory recall: reversal by extinction"

17:15 – 17:30

Kazuhiko Yamaguchi (RIKEN, Japan)
"Reassessment of synaptic plasticity in mutant mice carrying mutated GluA2-CT with normal ability in motor learning: revival of LTD hypothesis"

Flash talk for poster presentations

17:35 – 18:00

Oct 27 (Thu) 2016

Special Lecture 2

Chair: Masaki Fukata (NIPS, Japan)

9:00 – 9:50

Masanobu Kano (The Univ of Tokyo, Japan)
"Multiple phases of activity-dependent synapse elimination in the developing cerebellum"

Session 4: Synaptic dynamics and plasticity II

Chair: Haruhiko Bito (The Univ of Tokyo, Japan)

10:05 – 10:40

Keiko Tanaka-Yamamoto (KIST, Korea)
"Timely regulated late endosome sorting for the maintenance of cerebellar long-term depression"

10:40 –11:15

Masahiko Watanabe (Hokkaido Univ, Japan)
"Glutamate transporter GLAST controls synaptic wrapping by Bergmann glia and ensures proper wiring in Purkinje cells"

11:15 – 11:50

Kazuo Emoto (The Univ of Tokyo, Japan)
"Spatio-temporal regulation of dendrite development and remodeling"

Special Lecture 3

Chair: Masaki Fukata (NIPS, Japan)

13:00 – 13:50

Daniel Choquet (CNRS-Bordeaux Univ, France)
"The various roles of nanoscale AMPA receptor dynamics in synaptic plasticity"

Session 5: Synaptic imaging and manipulation I

Chair: Katherine W Roche (NIH/NINDS, USA)

14:05 – 14:40

Hideji Murakoshi (NIPS, Japan)
"Spatiotemporal manipulation and imaging of signaling molecules in dendritic spines"

14:40 – 15:15

Matthew J Kennedy (Univ of Colorado Denver, USA)
"Novel approaches for controlling synaptic and cellular function with light"

15:15 – 15:30

Shigeki Kiyonaka (Kyoto Univ, Japan)
"Visualization of native AMPA receptors in live neurons by a novel chemical approach"

Session 6: Structural aspects of synaptic proteins

Chair: Makoto Kinoshita (Nagoya Univ, Japan)

15:45 – 16:20

Shuya Fukai (The Univ of Tokyo, Japan)
"Structural basis of splice insert-dependent synaptic adhesion mediated by receptor protein tyrosine phosphatase δ"

16:20 – 16:55

A Radu Aricescu (Univ Oxford, UK)
"Structural basis for integration of GluD receptors within synaptic organizer complexes"

16:55 – 17:10

Haruka Munezane (The Univ of Tokyo, Japan)
"The elucidation of the physiological function of CLAC-P/ collagen XXV in neuromuscular development"

17:10 – 17:25

William P Dempsey (Univ of South California, USA)
"In vivo single-cell labeling by confined primed conversion"

Poster session

17:30 – 18:45

Oct 28 (Fri) 2016

Session 7: Synaptic imaging and manipulation II

Chair: Akihiko S Kato (Lilly Research Laboratory, USA)

9:00 – 9:35

Junichi Nakai (Saitama Univ, Japan)
"in vivo calcium imaging with genetically encoded calcium indicators and optogenetics"

9:35 –10:10

Don B Arnold (Univ of South California, USA)
"Visualizing and ablating synapses in vivo using novel recombinant probes"

10:10 – 10:25

Alvaro Carrier-Ruiz (The Univ of Tokyo, Japan)
"Dentate granule cell activity during fear memory retrieval and extinction in freely moving mice"

Session 8: Synaptic circuit

Chair: Toshiya Manabe (The Univ of Tokyo, Japan)

10:40 – 11:15

Yumiko Yoshimura (NIPS, Japan)

"High reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is established under the guidance of epigenetic regulation"

11:15 –11: 50

Haruhiko Bito (The Univ of Tokyo, Japan)

"A critical role for activity-dependent Arc expression in long-term memory via inverse synaptic tagging"

Closing remarks

Masaki Fukata (NIPS, Japan)

【トレーニングコース】

第 27 回 生理科学実験技術トレーニングコース
“生体機能の解明に向けて”

2016 年 8 月 1 日－8 月 5 日
担当：鍋倉淳一（生体恒常性発達研究部門）

【概要】

生理科学実験技術トレーニングコースは，今年で 27 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：鍋倉淳一）。生理学研究所は，シナプスから個体行動レベルまでの各階層を縦断する研究を行い，大型共同利用機器を保有している。これらの利点を生かして，生理科学･神経科学に関する多様な技術を普及させたり，それらを使って研究レベルを向上させることが，このコースの目的である。本年度は，21 コース（約 120 名）の募集を行ったところ 208 名の応募があった。127 名の方々が採択され，下記のコースを受講された。受講者の 6 割程が大学院生で，他は学部学生と，大学や企業の研究者であった。開催にあたって，日本生理学会からご援助をいただいた。実習指導には生理研職員を中心として，他大学からの講師の先生も含めて，80 人程の研究者があたった。

【講演】

1. 「1 個体脳機能地図から２個体ネットワーク解析へ：機能的 MRI によるアプローチ」
   定藤　規弘（生理学研究所 心理生理研究部門　教授）
2. 「上皮のバリア機能を司る細胞間接着の分子機構」
   古瀬　幹夫（生理学研究所 細胞構研究部門　教授）

【紹介】

『生理学研究所の紹介』
鍋倉　淳一（生体恒常性発達研究部門　教授）

【講義】

「動物実験教育訓練：－生理学研究と動物実験－」
佐藤　浩（生理学研究所 動物実験コーディネータ室　特任教授）

【実習内容】

1. 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. 海馬神経初代培養法とシナプス超解像観察
3. 成体マウス脳切片を用いた on situ hybridization 法
4. 心臓の圧受容・適応シグナル
5. 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
6. 免疫電子顕微鏡法によるタンパク質の細胞内局在の解析
7. TEM トモグラフィーおよび SBS-SEM による三次元解析
8. ウイルスベクターの作成と導入遺伝子の発現観察
9. ゲノム編集技術による遺伝子改変動物作成のための発生工学技術
10. 遺伝子改変マウスの基本的手技と学習・記憶行動解析

11. パッチクランプ法を用いた温度感受性ＴＲＰチャネル解析
12. スライスパッチクランプ法を用いた神経・シナプス活動・回路解析
13. In vivo パッチクランプ法等による神経・シナプス活動解析
14. ２光子励起顕微鏡を用いた生体脳機能画像解析
15. 視床下部神経核への薬物微量注入法と摂食行動解析
16. 視知覚の脳内メカニズムの実験的解析
17. 覚醒下実験動物からの神経活動記録法入門
18. SPM を用いたヒト脳の fMRI 解析
19. 脳磁図によるヒト脳活動の可視化
20. 生体アンプ回路工作と機械工作入門
21. PIC による回路工作とプログラミング

各コースのさらに具体的な内容に関しては，以下を参照されたい。
http://www.nips.ac.jp/training/2016/courses2.html

トレーニングコース終了時には，例年参加者からアンケートをいただいている。下記 URL にアンケートの集計結果を示す。
http://www.nips.ac.jp/training/2016/questionnaire/TC2016Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. Large scale axonal reconstruction: How to find a needle in a haystack

Ertan Bas（Janelia Research Campus, Howard Hughes Medical Institute, Ashburn, VA 20147, USA）

(2016.4.15)

he structure of axonal arbors controls how signals from individual neurons are routed within the mammalian brain. However, the arbors of very few long-range projection neurons have been reconstructed in their entirety, as axons with diameters as small as 100 nm arborize in target regions dispersed over many millimeters of tissue. We introduce a platform for high-resolution, three-dimensional fluorescence imaging of complete tissue volumes that enables the visualization and reconstruction of long-range axonal arbors. This platform relies on a high-speed two-photon microscope integrated with a tissue vibratome and a suite of computational tools for large-scale image acquisition and analytics.

2. 低分子量 G 蛋白質 Arf6 の意外な病理学的および生理学的機能

金保安則（筑波大学医学医療系（生命医科学域）生理化学研究室）

(2016.4.22)

低分子量 G 蛋白質の Arf6 は，シグナル伝達系において分子スイッチとして機能しており，細胞レベルで細胞膜ダイナミクスに関連した細胞機能を制御している。我々は，1999 年に Arf6 がリン脂質キナーゼの PIP5K の活性をして細胞膜形態を制御するという非常に興味深い発見をして以来，Arf6 の個体レベルでの生理学的および病理学的機能への関与について解析を進めており，Arf6 シグナル伝達をターゲットとした創薬開発を模索している。本セミナーでは，これらの点について，極めて新規な知見を紹介し，議論したい。

3. 脳波と脳磁図を用いた注意の神経機構の検証

木田哲夫（システム脳科学研究領域 統合生理研究部門）

(2016.5.9)

ヒトは多感覚環境から入力される多種多様な感覚刺激に対して注意を適応的に制御することにより必要な情報を選択する。空間位置，感覚系，刺激特性などを手がかりに注意を特定の感覚刺激に向けた際，その感覚刺激に対する感度は増し，反応時間は短縮する。このようなパフォーマンスの向上と一致する知見として，注意刺激によって誘発される脳波・脳磁場反応が増大することも古くから報告されてきた。しかし，これらの研究のほとんどは個々の感覚系における注意効果を検証したものであり，複数の感覚系に関わる注意効果は不明であった。本セミナーではこれまで脳波・脳磁図を用いて調べた感覚系内，感覚系間，感覚系超の注意効果に関する知見を紹介する。また近年，複雑ネットワーク解析を導入して得られた，注意制御に関わる脳機能ネットワーク特性の多次元動態についての予備的知見を紹介する。

4. 人工再構成系を用いた温度感受性 TRP チャネルの機能解析

内田 邦敏（生理学研究所 細胞生理研究部門）

(2016.5.16)

脂質平面膜法は生体膜の代わりに人工的に形成した脂質二重膜にイオンチャネルタンパク質を埋め込み，その機能を電気生理学的に解析する手法である。このような人工再構成系の大きな特徴は，1）単純な実験系であること，2）培養細胞等を用いた検討では困難な膜脂質も自由にコントロール可能であることが挙げられる。

私は細胞膜脂質と膜タンパク質であるイオンチャネルとの相互作用に着目し，近年，神経系を含む様々な組織でその生理的役割が明らかになりつつある温度感受性 TRP チャネルを対象に研究を行っている。特に，温度や機械刺激などの物理的刺激によって活性化される温度感受性 TRP チャネルがこれら刺激によって開口するメカニズムを明らかすることを研究目的としている。本セミナーでは，2013 年に熱刺激によって活性化されることが報告された TRPM3 チャネルを脂質平面膜法を用いて解析した結果，並びに他の研究者らによる報告について紹介する。

5. 実物の神経細胞に近い形態をもつ錐体細胞と非錐体細胞のモデル細胞

窪田芳之（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

(2016.5.16)

近い将来，神経モデリング解析分野で，信頼おけるモデル細胞を使ったシミュレーション解析をいかにナチュラルにするかが，重要な要素のひとつになると見込んでいる。そこで，私達は，実物の神経細胞に近い形態をもつ錐体細胞と非錐体細胞のモデル細胞を作成し，シナプス電位伝導特性をシミュレーション解析した。なお，現状では，２コンパートメントモデル等の単純化したモデル神経細胞を数百個組み合わせた神経回路モデルを使ったシミュレーション解析が多いと思われる。

スライスホールセルパッチ電極法で，神経細胞にバイオサイチンをいれ，DAB 染色を施し，電子顕微鏡観察用に組織処理した。その神経細胞を，Neurolucida 解析により樹状突起分岐特性等を解析した上で，連続電子顕微鏡像からその神経細胞の樹状突起セグメントを３次元再構築し，断面積などの重要な形態情報を収集した。それらを盛り込んだナチュラルな樹状突起の形態を持つモデル細胞を Neuron simulator を使って作成し，passive channel 等を組み込み，単一の EPSP, IPSP シナプスコンダクタンスを樹状突起に入れ，それらの伝導特性をシミュレーション解析した。このモデル細胞は，研究者が自由にダウンロードできるように Model DB にアップロードしてある。

6. 疼痛評価を目的とした脳内情報処理の基礎的研究

大鶴直史（新潟医療福祉大学医療技術学部，新潟医療福祉大学運動機能医科学研究所）

(2016.5.17)

痛みは主観的な感覚であり，器質的，認知的，心理的要因など様々な要因によって修飾を受けることが知られている。そのため，痛みの評価には多面的評価が重要である。そこで我々は，脳波および脳磁場計測装置を用いて，「疼痛評価を目的とした脳内情報処理の基礎的研究」を主要なテーマに，以下の 3 つの研究を行ってきたので紹介する。

① 痛覚神経の選択的な刺激方法の開発 : これまで，痛みを伝える神経である Aδ および C 線維の選択的刺激は困難であるとされてきた。そこで，我々は表皮内電気刺激法とよばれる手法を開発し，Aδ および C 線維の選択的評価法を考案してきた（Inui et al., 2002, Otsuru et al., 2009,

2010)。この手法は多くの基礎研究に応用されており，一部では臨床での使用も行われている。

② 変化検出システムと痛みの心理特性：我々はこれまでに，先行情報と異なる情報が入力された時，すなわち変化を検出する際の皮質活動に関する研究を行ってきた（Inui et al., 2009, 2010 他多数, Otsuru et al., 2011, 2012）。現在，この変化検出システムの反応が，痛み受容に影響を及ぼす心理学的特性と関連があるのではないかと予想している。

③ 自己身体認知に関する研究：自分の体は自分のものであるという感覚（自己身体所有感）が，慢性疼痛患者で破綻しているという報告が数多くなされている。健常者において，自己身体所有感の操作が脳内情報処理にどのような影響を及ぼすか検討を行ってきた（Otsuru et al., 2014）。その概要をご紹介する。

7. 山手イブニングセミナー

講演者１：東島眞一 教授　講演者２：青木一洋 教授
（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

(2016.5.26)

岡崎統合バイオに着任された新任教授お二人の山手イブニングセミナーを行います。詳細は下記リンクをご覧下さい。

http://www.oib.orion.ac.jp/PDF/160526Higashijima_Aoki_Poster.pdf

8. Sensorimotor circuit function in orientation and aversion ～an evolutionary conserved blueprint～

Andreas Kardamakis（Karolinska Institute(Sweden), Senior postdoctoral researcher）

(2016.5.26)

How our brains determine where to look is a long-standing problem that embodies sensory processing and motor behavior. The optic tectum (homologue of the mammalian superior colliculus) is central for multisensory integration and motor control of gaze movements. To elicit orientation/gaze towards an object or evasivse movements to avoid for instance a collision is dependent on tectal output channels to the brainstem, it relies on multisensory input to tectum as well as input from pallium/cortex and the basal ganglia.

I will talk about the range of intact and isolated preparations that we have developed in the lamprey - which we use as our reductionist experimental model - to dissect tectal function during unisensory (visual) and multisensory (visual and electrosensory) stimulation. Excitatory multisensory inputs drive tectal output neurons but also feedforward inhibitory interneurons forming a disynaptic circuit that is able to generate spatiotemporal rivalry across the tectal map of space. I will also describe how the state of the tectal circuit can be manipulated by forebrain and dopaminergic modulation and how this in turn can control oculomotor, reticulospinal and ventral root activity.

Our overarching aim is to understand/control/model the dynamic interaction between sensory, cortical and basal ganglia inputs with the collicular microcircuit and how it leads to gaze action selection – a neural architecture that is phylogenetically conserved across the vertebrate phylum.

9. ２型糖尿病性近位腎尿細管障害における上皮細胞内代謝異常の顕微鏡解析

齊藤　成（山梨大学大学院 総合研究部 医学域基礎医学系解剖学講座 構造生物学教室 助教）

(2016.6.2)

メタボリック症候群の悪化に伴う腎機能低下は糖脂質代謝や高血圧を増悪するなどの悪循環を形成し，心・脳血管疾患のリスクを増強すると考えられている。2014 年より医療で使用が開始された Na+/グルコース共輸送体 (SGLT2) 阻害薬は，腎臓近位尿細管特異的に作用し，体重減少効果・血圧低下・脂質改善が期待されている。一方で，糖尿病性腎障害への治療効果や上皮細胞に及ぼす影響は不明な点も多い。そこで，高脂肪食負荷による２型糖尿病マウスモデルを用いて，糖尿病性近位腎尿細管障害における SGLT 阻害剤(フロリジン)の薬理効果を検証した。高脂肪食餌による２型糖尿病発症マウス(C57BL6J)にフロリジンを投与した。コントロール群として通常食餌を用いた。灌流固定後に腎組織を採取し，還元オスミウムを用いた OTO 法とウラン・鉛のブロック染色，電顕樹脂包埋を行った。SBF-SEM による連続断面画像を取得するとともに，得られた超薄切片の STEM-EDX 解析を行った。一部の固定組織は OCT コンパウンド包埋後，凍結切片上で顕微ラマン分光解析を行った。SBF-SEM による連続断面画像の立体再構築では，糖尿病モデル群の近位尿細管 S1～S2 領域を中心にミトコンドリア(Mt)の断片化と S2 領域を中心に巨大オートファゴソーム(At)が出現した。フロリジンを投与した群は，Mt 体積は増加し At は減少した。STEM-EDX 元素分析定性マッピングにより，At にリンの強い集積が見られた。最後に，顕微ラマン分光解析の At に該当する領域では，ラマンスペクトラムがスフィンゴミエリンとほぼ同一のピークで有ることを確認した。2 型糖尿病性近位腎尿細管障害では Mt 断片化と At を生じ，フロリジンにより改善される可能性が示唆された。

10. Glial glutamate transporter 1-mediated reciprocal synaptic dynamics in sleep- and wake-promoting neurons

仙波和恵（Dalhousie University, Canada）

(2016.6.9)

Astrocytes play a major role in modulating neuronal communication in the brain, and one of their functions is to clear glutamate after synaptic release via glutamate transporters. Sleep/wake states are regulated by the interaction of sleep/wake promoting neurons that are widely distributed in the brain; however, the role of astrocytes in regulating these neurons is only beginning to be understood. Our recent findings show that glial glutamate transporter 1 (GLT1) exhibits sleep history-dependent, dynamic and opposite changes in its perisomatic localization with wake-promoting orexin (ORX) and sleep-promoting melanin concentrating hormone (MCH) neurons. These GLT1 apposition changes are accompanied by modulation of excitatory transmission to ORX and MCH neurons with distinct mechanisms. This GLT1-mediated synaptic plasticity may represent a novel homeostatic mechanism for regulating sleep/wake behaviour.

11. 拡散強調 MRI を用いた視覚情報伝達機構の研究

竹村浩昌（日本学術振興会 特別研究員，大阪大学大学院生命機能研究科 招へい研究員）

(2016.6.10)

ヒトの大脳皮質は白質と呼ばれる領域を介した長距離の線維連絡を多く持ちます。白質を通じた線維連絡は，機能的に異なる様々な脳領域どうしの情報伝達に重要であると考えられます。近年の拡散強調 MRI 法の進展により，白質の線維束をヒト生体脳において同定することが可能となりました。今回の発表では拡散強調 MRI 法の

原理や特徴，解析手法の進展および神経科学研究に果たす役割について解説を行ったのち，実際に私が行っている視覚系を対象とした研究をご紹介します。

第一に，拡散強調 MRI を用いてヒトとサルの脳において空間情報処理に関わる背側視覚野と物体認識処理に関わる腹側視覚野をむすぶ白質線維束を同定した研究成果をご紹介し，この線維束が視覚処理に果たす役割やヒトとサルの類似点および違いについて論じます。第二に，網膜疾患症例を対象とした拡散強調 MRI 計測を通じて，網膜の疾患が白質組織に及ぼす影響を明らかにした研究をご紹介します。第三に，視覚系における白質線維束の組織特性とヒトの視覚機能の個人差の関係を検証した実験について紹介します。

最後に，これらの研究成果を踏まえた上での今後の展開や実際に拡散強調 MRI を用いた研究を進める上での注意点についても議論させていただきたいと思います。

12. Outsourcing Opportunity for Connectomics

Haruo Mizutani（Harvard University）

(2016.6.10)

In our previous studies, the EM connectomic technology depicted the finest neural network architecture in a mouse cerebral cortex by using the serial section technique called Automatic Tape-collecting Ultra-Microtome (ATUM) [1, 2]. It could display all cellular and sub-cellular structures, such as small neural fibers, synapses (synaptic vesicles and post synaptic densities), mitochondria and blood vessels. It took a half year to acquire EM image stack for 0.13 mm3 sample size, thus we have installed 61 barrel beam SEM (MultiSEM) to increase the data acquisition speed for ~1mm3 region of the cerebral cortex.

In a perilous side, connectomic studies include overwhelming tedious works in sample preparation, image data acquisition and computational alignment/ segmentation processes in a series of the whole procedure. This process takes months of work for a small tissue sample as described above.

Although this entire workflow is practically essential to reconstruct the neural network structure, typical biologists hope to avoid those scientifically non-essential methodological procedures. It is also certain to maintain various kinds of experts, such as EM operators, mechanical engineers, computer scientists, and medical doctors for the research.However, it would not be realistic to hire all professionals in one laboratory.

To satisfy the demand to keep away the high expense and the labors for 3D EM, we will leverage the expertise and equipment of Harvard to provide outsourced connectomics as a service for academic researchers. We will give users a detailed model of a particular brain region they□re interested in, just by sending us a small sample. The users can simply get results and focus on their own biological interests to avoid all the tedious works that we can contribute to do. This idea also implies that it would be unnecessary for the users to purchase expensive equipment such as MultiSEM and devices on connectomics.

[1] J. Morgan et al., Cell 165, 192-206 (2016)
[2] N. Kasthuri et al., Cell 162, 648-661 (2015).
http://www.oib.orion.ac.jp/PDF/160610Mizutani_Poster.pdf

13. サル視床下部外側野ニューロンによる自己および他者の報酬情報表現

則武　厚（関西医科大学・助教）

(2016.6.13)

報酬は，生体が対象へ接近するか・しないかを決定づける主要因であり，行動の動機づけや学習において重要な役割をはたす。従来の学習理論では，中脳のドパミン (dopamine, DA) ニューロンが表現する報酬予測誤差 (実際と予測した報酬の誤差) 信号の重要性が主に強調され，他の報酬情報表現の存在やその役割については議論が不十分であった。この問題を解決する試みとして，我々は視床下部外側野 (Lateral hypothalamus, LH) に着目し

た電気生理学的解析を行ってきた。LH は，中脳 DA ニューロンと前頭前野ニューロンをつなぐ報酬処理システムの一部を構成する。また大脳辺縁系とも神経回路網を形成するため，報酬と罰の情報を統合しながら接近行動全般を制御する脳のクリティカルノードと考えられる。さらに近年，社会行動における視床下部の重要性が指摘されるようになり(Noonan et al., 2014)，他者という環境要因が LH の神経活動に対してどのような影響を与えるかに関心が高まりつつある。我々はマカクザルを用い，① 単離個体に対して報酬と罰を確率的に与えた古典的条件づけと，② ２個体を同時に用いて他者という環境要因を組み込んだ「社会的枠組み」での古典的条件づけを行った。本セミナーでは，各条件づけ下で得られた LH ニューロンの応答を紹介し, LH における報酬と罰の情報処理機構について議論する。また，社会的枠組みでの古典的条件づけでは，DA ニューロンと内側前頭前野ニューロンからも神経活動を記録しており，それらとの比較をとおして明らかになった LH ニューロンの機能特性についても議論したい。

14. 競争場面におけるサル前頭連合野ニューロン活動：対戦型ゲームを用いた研究

細川貴之（東北大学・助教）

(2016.6.13)

自然界においてエサや配偶者，なわばりといった資源はその量が限られているため，個体間の競争が必然的に起こる。人間社会においても，学業やスポーツ，ビジネスなど他人と競争しなければならない場面は多くある。このような競争に勝つことは生存や社会的な地位を確保するうえで重要な意味を持つ。

我々は，競争場面に特有の脳活動を調べるため，サルに対戦型シューティングゲームを訓練し，ゲームで競い合っているときのニューロン活動を前頭連合野から記録した。競争条件ではコンピュータモニタの前に並んだ 2 頭のサルが互いにゲームで競い合った。ゲームではジョイスティックを操作することで弾を撃てるようになっており，先に相手の砲台に弾を当てると勝ちとなる。勝者には報酬（ジュース）が与えられ，敗者には何も与えられなかった。この競争条件とは別に，1 頭のサルだけがゲームをプレイする非競争条件を設けた。非競争条件では，相手側から弾が撃ち返してこない状況でターゲットに弾を当てると 50%の確率で報酬が与えられた。これら競争／非競争条件でサルがゲームをしているときに，前頭連合野から単一ニューロン活動の記録を行ったところ，①非競争条件に比べ競争条件で活動レベルが上昇するニューロン，②競争条件で報酬を得たとき（勝ったとき）に大きな活動を示すニューロン，③競争条件で報酬がなかった（負けた）ときに大きな活動を示すニューロンが多く存在することを見つけた。また，対戦相手の影響を調べるため，コンピュータが対戦相手である条件でニューロン活動を記録したところ，対戦相手がサルであるときのほうが活動が高くなる傾向が見られた。さらにニューロン活動に及ぼす「勝ち・負け」の影響と「報酬の有無」の影響を分離するため，「勝っても負けても報酬がもらえる」もしくは「勝っても負けても報酬がもらえない」といった平等報酬条件を導入した。その結果，平等報酬条件になると，弾の命中率が低下し，最初の弾を撃つまでの反応時間が長くなるなど，サルのモチベーションの低下が見られた。また，報酬期に活動するニューロンのなかに，「勝っても負けても報酬がもらえる」状況で報酬を得た（もしくは「勝っても負けても報酬がもらえない」状況で報酬がなかった）ときに比べ，自分が勝たないと報酬がもらえない状況で報酬を得たとき（もしくは報酬がなかったとき）に高い活動を示すニューロンが多く見つかった。これらの結果から，前頭連合野は競争場面と非競争場面を区別し，現在の状況と競争における自分のパフォーマンス（勝ち・負け）をコードしていると考えられる。

15. 神経解剖学的および電気生理学的手法による霊長類大脳皮質の神経ネットワークに関する研究

二宮太平（京都大学霊長類研究所・研究員）

(2016.6.13)

本セミナーでは，これまで主にマカクザルを用いておこなってきた神経解剖学的および電気生理学的研究のうち，以下の２つの研究成果を中心に紹介したい。

（１）マカクザル MT および４次視覚野（V4）への前頭葉からの多シナプス性入力様式の解析（Ninomiya T, Sawamura H, Inoue K, Takada M. J Neurosci 2012）霊長類の大脳における視覚情報処理システムは，それぞれ異なる視覚情報を処理する背側視覚路と腹側視覚路からなる，並列的かつ階層的な機能構造になっていることが知られている。それぞれの神経ネットワークにおける代表的な高次視覚野である MT および V4 への前頭葉からの top-down 入力様式を，狂犬病ウイルスによる逆行性越シナプス的神経トレーシング法を用いて解析した。その結果，MT と V4 は４６野腹側部から２次入力を受けていることが明らかになった。また，MT については，補足眼野（SEF）からも２次入力を受けていることが分かった。さらに，２種類の蛍光色素を用いた逆行性二重標識実験をおこない，前頭前野から MT と V4 に伝達される信号が，前頭眼野や外側頭頂間野の異なる神経細胞群によって中継されていることも見出した。

（２）周波数解析によるマカクザル SEF と１次視覚野（V1）における層間ネットワークの比較（Ninomiya T, Dougherty K, Godlove DC, Schall JD. J Neurophysiol 2015）V1 とその周辺の視覚野の入出力関係に関する知見（例えば，４層が入力層で２/３層が出力層である）から，大脳皮質の領野内層間ネットワークには鋳型のような共通のパターンが存在するという仮説（Canonical cortical microcircuit hypothesis，CCM 仮説）が提唱されている。しかし，V1 と異なり，顆粒細胞からなる４層が極めて乏しい SEF のような領野も存在しており，CCM 仮説は長年議論の対象となっている。CCM 仮説を検証するため，マカクザルの SEF および V1 において多点電極による局所電場電位の全層同時記録をおこない，Cross-frequency coupling 解析と呼ばれる周波数解析を用いて層間ネットワークを比較した。その結果，V1 ではアルファ帯域（７－１４Hz）とガンマ帯域（３０－２００Hz）の相互作用が５層内および５層と２/３層の間で顕著にみとめられたのに対して，SEF では３層内でのみ V1 と同じ周波数帯での相互作用がみとめられた。このことは，V1 と SEF における層間ネットワークが異なることを反映していると考えられ，CCM 仮説に反駁する結果が得られた。

また，これまでおこなってきた神経疾患モデルにおける電気生理学的研究や，皮質脊髄路の解剖学的研究に関しても，時間の許す限り紹介したい。

16. 記憶情報の脳内表現の可視化と操作

松尾直毅（大阪大学大学院 医学系研究科 分子行動神経科学講座 独立准教授）

(2016.6.16)

私たちの日々の経験により得られる記憶情報が，どこで，どのように表現されているのか？という記憶痕跡に関わる素朴な疑問は古来より多くの哲学者，科学者を魅了してきた。私たちは immediate early genes のひとつ c-fos 遺伝子のプロモーターを利用したトランスジェニックマウスの開発を行い，脳の各階層における記憶痕跡の可視化とその解析を行ってきた。さらに，神経活動を操作する遺伝学的手法を組み合わせることにより，記憶情報を担う特定の神経細胞群の活動制御を介した記憶の操作を行うことも可能となりつつある。本セミナーでは，これらの技術を活用した私たちの研究を紹介し，記憶の脳内表現と，その行動表出の制御の仕組みについて議論を交わしたい。

17. Imagining beyond Imaging

Sadao Ota（University of Tokyo）

(2016.6.24)

As a mixture of advanced imaging, microfluidic, electrical and information technologies, I recently developed a novel fluorescence imaging flow cytometry that runs at throughput >> 10,000 cells/sec. What kind of opportunities is a vailable with this invention? What kind of uses can be truly exciting? I want to discuss its clues and potentials, which may be possibly alter our view of science. Really welcome open minded criticisms, discussions, and collaborations!

Poster

http://www.oib.orion.ac.jp/PDF/160624Ota_Poster.pdf

18. 分離顆粒層細胞を用いた皮膚表皮角質バリア形成機構の解析

松井　毅（理化学研究所 統合生命医科学研究センター 皮膚恒常性研究チーム 上級研究員）

(2016.6.24)

陸上脊椎動物（両生類・爬虫類・鳥類・哺乳類）の体表面は，気相環境に適応するために，重層扁平上皮組織である表皮によって覆われている。皮膚表皮は，体表面に向かって基底層・有棘層・顆粒層・角質層からなる層構造で構成されている。基底層で分裂した表皮細胞は，有棘層・顆粒層を経て，細胞死を起こし，気相ー液相境界バリアである角質層を形成する。私達は以前，哺乳類特異的に獲得され，皮膚表皮の顆粒層に特異的に発現するレトロウイルス由来プロテアーゼの Skin Aspartic Protease (SASPase) が，マウスにおいて角質層の「保湿」を制御することを明らかにした。しかし，顆粒層細胞自体の細胞生物学的解析手段がないために，SASPase による角質層の保湿制御機構をはじめとして多くの現象に不明の部分が多い。この問題にアプローチするために私達は，最近マウス顆粒層を分離・培養し，細胞死を誘導する系を構築した。その結果，マウス顆粒層細胞の細胞死における顆粒消失や核膜の変化には，細胞外の Ca^{2+}や pH が重要な役割を果たしていることが明らかになった。この系を様々な陸上脊椎動物の皮膚表皮角質層の解析に適用することで，皮膚表皮の適応進化機構が細胞生物学的に明らかになっていくと考えられる。

19. 高齢化時代の脳の危機管理 update

松本昌泰（独立行政法人地域医療機能推進機構 星ヶ丘医療センター 院長）

(2016.6.28)

少子高齢化の急速に進行するわが国では，高齢者で多発する脳血管障害や認知症に対する対策はより深刻である。なかでも，脳卒中は高齢者に多発する「寝たきり」の最大原因であるとともに血管性認知症の原因病態でもあり，その予防法や治療法の確率，普及が不可欠と言える。さいわい，脳卒中の急性期の治療，病態診断法，発症・再発予防法は急速に進行してきているが，特に超急性期における血栓溶解療法，血管内治療法などの新たな治療手段の登場は，脳梗塞治療の革新的変化をもたらした。また，発症・再発予防法の充実は認知症の発症を防ぐ上でも最も重要である。講演では，脳卒中診療の最新の進歩につき演者等の研究成果を交えながら概説する。

20. In vivo 2 光子イメージング法による発達期マウスのミクログリア-シナプス関連の観察

宮本愛喜子（生理研生体恒常性発達研究部門）

(2016.7.11)

In vivo 2 光子イメージング法は高波長のレーザー光を用いることで非侵襲的に生体内の蛍光タンパク質を発現している細胞を観察することができる方法である。これまで中枢神経系において免疫機能を担当する細胞であるミクログリアは傷害・病態時に活性化し，傷害・病態部へ遊走，死亡した細胞や細胞片などを貪食によって取り込むなどの役割があることが知られていたが，生理的条件下のミクログリアがどのような働きをしているかは分かっていなかった。近年，in vivo2 光子イメージングにより成体のミクログリアが突起を頻繁に動かしていてシナプスと接触することで監査を行っていることが報告され，正常状態のミクログリアの機能が明らかになってきている。また，発達期においてはシナプス除去に関与することが報告されているが，本セミナーでは発達期のミクログリアがシナプス形成に関与することが in vivo 2 光子イメージング法を用いて明らかとなったので紹介したい。

21. 表象類似度解析を用いた脳機能画像からの多元的情報の抽出

近添淳一（生理研生体機能情報解析室）

(2016.7.11)

外界の情報は脳内で多元的に表現（表象）されている。例えば，初期視覚野では傾きなどの視覚的特徴，側頭葉など高次視覚野では統合された対象（例：顔や椅子の視覚イメージ）など，脳内表象は脳領域によって異なる様式をとる。近年の解析技術の進歩により，functional MRI などの非侵襲的手法により得られた脳機能画像から，表象内容の情報を読み取ることが可能になった。本セミナーでは，脳内表象の解析に特化した，多ボクセルパターン解析の一種である「表象類似度解析」を解説する。この手法を用いれば，脳内および行動レベルで観察される表象内容相互の関係から，表象の構造とそれに関連する脳領域を特定することができる。今回は，この手法を視覚刺激実験および味覚刺激実験遂行中の脳機能画像データに適用し，得られた知見を紹介する。

22. Heteromerization of K_{2P} channels: how heteromerization increases functional diversity

Sandy Blin（Institute of Molecular and Cellular Pharmacology CNRS, Sophia-Antipolis, France）

(2016.7.14)

Two-pore domain potassium channel (K_{2P}) channels produce background K^+ conductance that control resting membrane potential and influence cell excitability. They are involved in functions as diverse as cell volume regulation, neuronal excitability, cardiac rhythm, apoptosis and fluid balance. Recently, K_{2P} have emerged as promising targets for the development of new classes of anesthetics, analgesics and antidepressants. However, we demonstrated that K_{2P} channels, and particularly THIK and TREK subfamilies, assemble and form active heterodimeric channels. We combined biochemistry, immunocytochemistry, FRET as well as electrophysiology to prove physical interaction among subunits. Interestingly, heterodimers exhibit unitary conductances, pharmacology and regulations different of those of the corresponding homodimers. These results unveil a previously unexpected diversity of K_{2P} channels that will be challenging to analyze in vivo, but which opens new perspectives for the development of clinically relevant drugs.

Reference:

Blin, S, Ben Soussia, I, Kim, EJ, Brau, F, Kang, D, Lesage, F

and Delphine Bichet. Mixing and matching TREK/TRAAK subunits generate heterodimeric K_{2P} channels with unique properties. Proc Natl Acad Sci USA 2016, 113(15): 4200-4205

23. From hidden to overt: uncovering the roles of glia in hearing and hearing loss

Gabriel Corfas（Professor and Associate Chair for Research, Department of Otolaryngology—Head and Neck Surgery, Director, Kresge Hearing Research Institute, The University of Michigan）

(2016.7.19)

Hair cells in the inner ear are responsible for the detection of sound, its transduction to synaptic signals and their transmission to auditory primary neurons, which then feed this information to the auditory circuits in the brain. We are exploring the roles that glial cells associated with hair cells and spiral ganglion neurons play to define their contributions to hearing and deafness. In my seminar I we discuss our recent findings regarding the roles that inner ear glia play in the formation, maintenance and regeneration of hair cells synapses, the regenerative potential of supporting cells and the effects of demyelination on hearing. Our studies thus provide insights into basic mechanisms of neurons-glia interactions, inner ear development and function, cell regeneration and demyelinating disorders.

24. 聴性定常応答による聴覚機能に関する諸現象の基礎的検討

田中慶太（東京電機大学 理工学部 電子・機械工学系）

(2016.7.27)

我々は，これまで聴性定常応答(ASSR)の周波数選択性を利用して，聴覚機能に関する諸現象を検討している。今回は，主に以下の３つの研究に関して紹介する。

(1) 聴覚機能にみられる確率共鳴現象

確率共鳴現象とは，信号に弱い雑音を加えると，系の非線形性によって，信号に対する反応が雑音がないときよりも強くなる現象である。本研究は，聴覚において確率共鳴現象が見られるか，ASSR により検討した。その結果，刺激音に微弱な雑音を混入した方が ASSR の振幅が増加した。この結果より確率共鳴現象が聴覚でも見られることを明らかにした。

(2) 言語音の両耳聴取時における優位性の評価

言語認知に関する大脳半球機能の検査に両耳分離聴検査が用いられる。本研究では ASSR を利用して両耳聴取時における同側・対側応答を弁別し言語音に対する大脳半球機能を検討した。その結果，行動評価と同じく右耳優位性を示した。

(3) 情動による聴性定常応答への影響

情動画像呈示と律動的聴覚刺激を同時に行い，情動画像の覚醒価の変化が ASSR に及ぼす影響を検討した。その結果，Calm，Neutral 画像に比べ，Excited 画像呈示時に，ASSR の振幅は増加した。このことより情動の覚醒価により聴性定常応答は変調することを示唆する。

25. Probing the function of distal network connectivity in visual cortex

佐藤達雄（Postdoctoral Fellow (JSPS fellow), Technische Universität München, Germany）

(2016.7.27)

Neurons in different locations across the cortex are connected through polysynaptic networks including both excitatory and inhibitory neurons. However, it is not known how the networks recruit synaptic excitation and inhibition. It is also not known whether their overall impact is increase or decrease in spike activity, and whether their impact is fixed or

depends on other factors.

To answer these questions, we triggered fixed amount of spikes optogenetically in a local region of mouse primary visual cortex (V1), and then investigate their causal effects on distal V1 regions. Extracellular measurements showed that this local activation had two effects on spike activity at distal locations1: activation when cortex was silent, and suppression when sensory-stimulated. The balance between the two depended on the strength of visual stimulation, and was correctly captured by divisive normalization, one of canonical cortical computations. Furthermore, in vivo whole-cell recordings revealed that activation was caused by increase in synaptic excitation and inhibition, whereas suppression was mediated not by increase in inhibition but by decrease in both excitation and inhibition2. These results indicate that distal network connectivity can flexibly recruit or disengage synaptic inputs, achieving adaptable impact on spike activity at distal cortical locations.

1) Sato TK*, H™usser M, Carandini M. (2014), Nature Neuroscience, 17(1):30-2

2) Sato TK*, Haider B, H™usser M, Carandini M*. (2016), Nature Neuroscience, 19(4):568-70

26. Mechanisms of Critical Period Brain Development: From Perceptual to Cognitive Systems

Hirofumi Morishita（Assistant Professor Department of Psychiatry, Neuroscience, and Ophthalmology Mindich Child Health & Development Institute Friedman Brain Institute Icahn School of Medicine at Mount Sinai）

(2016.7.27)

Our behavior reflects neural circuits sculpted by experience during“critical periods”in postnatal life. Such heightened plasticity declines into adulthood, often limiting recovery of function. On the other hand, the adult brain needs stability. Failed stabilization can disrupt circuit computations by allowing modification by undesirable information, which may lead to mental disorders. How does the brain solve this stability-plasticity dilemma? The goal of our research is to identify the mechanisms of developmental critical periods to establish (1) perception and (2) cognition relevant to neurodevelopmental and psychiatric disorders. We take an integrated approach combining molecular, anatomical, imaging, electrophysiological, and behavior methodologies using mouse models. In my talk, I will first discuss our recent findings of a novel nicotinic regulator of inhibitory neuron activity to restore juvenile-like plasticity in adult visual cortex. Next, I will share results of our recent project aiming to examine to what extent a mechanism critical for regulating the critical period for visual cortex development also modulates maturation of frontal cortex-dependent cognitive functions such as attention.

27. 運動遂行・運動抑制に関する脳活動特性

中田大貴（奈良女子大学 研究院生活環境科学系 准教授）

(2016.7.29)

運動を遂行する際，我々は，外界からもたらされる様々な刺激を知覚し，そして得られた情報を瞬時かつ正確に判断した上で，最終的な実行の意志決定を行っている。このような一連の情報処理過程の結果として現れる動作は，日常生活の中で意識的に，そして時に無意識のうちに当たり前のこととして遂行されている。また反対に，運動を発現しない，言い換えれば「運動を抑制する」という決定が脳内でなされることもある。つまり我々の日常生活は，ほぼ運動遂行と運動抑制を巧みにコントロールすることによって成り立っていると言ってよい。本発表では，ヒトの運動遂行・運動抑制過程について，脳内情報処理が「いつ・どこで・どのように」働いているのか，それぞれの過程が互いにどのように関係しているのか，その神経メカニズムの一端を紹介する。また，応用研究として，暑熱環境下における運動遂行・運動抑制の脳活動特性についても紹介する。

28. Engineering controllable biomolecular motors

Zev Bryant（Stanford University）

(2016.7.29)

Molecular motors lie at the heart of biological processes ranging from DNA replication to cell migration. Engineering biomolecular motors can provide direct tests of structure-function relationships, new tools for controlling cellular processes, and customized components for harnessing molecular transport in artificial systems. Our laboratory has designed and characterized a series of modified cytoskeletal motors that reversibly change gears－speed up, slow down, or switch directions－when exposed to external signals such as metal ions or blue light. Using a modular approach, we have developed controllable motors for both actin-based and microtubule-based transport. To enable precise perturbations of mechanical functions, we have recently worked to expand the functional range of optically controlled myosins, creating next-generation designs with optimized velocities and deep modulation depths. We have also designed and tested myosin motors that incorporate rigidly attached lever arms constructed from RNA, forming hybrid assemblies in which conformational changes in protein motor domains are amplified and redirected by nucleic acid structures. Following principles established in protein engineering studies, the RNA lever arm geometry determines the speed and direction of motor transport, and can be dynamically controlled using programmed transitions in lever arm structure. Using in vitro assays of propelled actin filaments and single-molecule tracking of processive complexes, we have confirmed the operation of RNA-myosin motors designed to reverse direction under the control of strand-displacement reactions. The sequence addressability of RNA lever arm structures will allow multiplexed control of speed and direction in collections of engineered motors, enabling programming of complex transport systems. Together, an extended set of optogenetic motors and RNA-protein hybrid motors will provide a diverse toolkit for spatiotemporal control of nanoscale transport and force generation, both in living cells and in microfabricated devices that exploit the proven capabilities of biological molecular motors.

Selected publications

1. Nat Nanotechnol. 2014, 9: 693-7.
2. Nat Nanotechnol. 2014, 9: 33-8.
3. Nat Nanotechnol. 2012, 7: 252-6.

Poster

http://www.oib.orion.ac.jp/PDF/160729ProfZevBryant.pdf

29. Real-time MRI – A New Horizon

Jens Frahm（Biomedical NMR, Max Planck Institute For Biophysical Chemistry, Göttingen, Germany）

(2016.8.24)

This lecture presents recent advances towards real-time magnetic resonance imaging (MRI) which result in high-quality image series of dynamic processes with measuring times of only 10 to 40 milliseconds.

The acquisition technique employs radially encoded gradient-echo sequences with up to 30-fold data undersampling. Image reconstruction emerges as the iterative solution of a nonlinear inverse problem which is accomplished by a bypass computer fully integrated into a commercial MRI system. Apart from a brief technical description, the talk will focus on applications to oropharyngeal functions (e.g., speaking, brass playing, swallowing), cardiac function, blood flow and extensions to quantitative parametric mapping. In general, real-time MRI techniques are comfortable to the patient, provide new diagnostic opportunities (e.g., immediate physiologic responses to stress or exercise), are insensitive to irregular motion (e.g., patients with arrhythmia), and promise a revitalization of“interventional”MRI procedures.

For a few examples see:

http://www.biomednmr.mpg.de/index.php?option= com_content&task=view&id=132&Itemid=39

30. Imaging the Genome in Living Cells

Bo Huang（UCSF）

(2016.9.8)

The spatial architecture and temporal dynamics of the genome play critical roles in regulating its function. However, visualizing endogenous DNA sequences in living cells remain challenging due to the lack of imaging tools. We have developed such an imaging tool by repurposing the CRISPR system, previously engineered for RNA-guided gene editing and regulation.

Utilizing fluorescent protein-tagged endonuclease-deficient Cas9 proteins and structurally-optimized sgRNAs, we have demonstrated robust imaging of both repetitive and non-repetitive DNA sequences in mammalian cell nucleus.

The target flexibility of the CRISPR system allows us to simultaneously track multiple genomic loci in different colors, helping to elucidate chromosome structure change during the cell cycle. Our study defines a new class of genome imaging tool and highlights its potential to visualize genomic organization in living cells and how it regulates gene expression.

To systematically study the products of gene expression in a native cellular background, we sought to create libraries of cell lines expressing proteins tagged with a functional sequence at their endogenous loci. Taking advantage of the split GFP11/1-10 system and CRISPR/Cas9-mediated gene editing, we describe a scalable method for the robust, scarless, and specific tagging of endogenous human genes with GFP. Our approach requires no molecular cloning and allows a large number of cell lines to be processed in parallel. We demonstrate the scalability of our method by successfully labeling 30 human genes for fluorescence microscopy. Our method paves the way for the large-scale generation of endogenously tagged human cell lines for the proteome-wide analysis of protein localization and interaction networks in a native cellular context.

Poster
https://groups.ims.ac.jp/organization/iino_g/pdf/160908ProfBoHuang.pdf

31. 膜センサーと脂質代謝物を介した温度走性 (Thermosensation via membrane proteins and lipid metabolites)

曽我部隆彰（Assistant Project Scientist (カリフォルニア大学サンタバーバラ校)）

(2016.9.20)

環境刺激の受容と適切な応答は，生存戦略において重要な役割を果たす。特に環境温度は各生物に固有の至適範囲が存在し，運動機能に加えて成育や生殖行動など幅広い活動に影響する。多くの生物には積極的に温度をモニターするメカニズムが備わっており，多細胞動物においては TRP チャネルが温度センシングの中核を担っていることが明らかになってきた。

本セミナーでは，キイロショウジョウバエ幼虫が TRP チャネルなどの膜タンパクや脂質代謝物を介して，環境温度に応答するメカニズムを紹介する。ショウジョウバエはヒトと似た至適温度範囲（18～24℃）で生育し，特に 24℃を好むが，幼虫期の限られた期間にダイナミックな嗜好性の変化が生じ，18℃を好むようになる。我々は今回，この温度嗜好性のスイッチに光センサーとして知られる G タンパク結合型受容体ロドプシン（Rh）5 と Rh6 が関与することを明らかにした。Rh5 と Rh6 は末梢感覚神経と中枢神経に発現し，Gq/PLC 経路を介して TRPA1 を制御することで特定の低温域を感じ分ける。セミナーの後半では，膜脂質を代謝するリパーゼの冷刺激受容における役割について最新のデータを交えながら紹介し，温度嗜好性を決定する脂質依存的な分子機序モデルや，膜タンパクと脂質成分に着目した環境刺激受容メカニズムの研究展開について述べる。

32. Roles of synaptic input distribution in binaural coincidence detectors in avian brainstem

Hiroshi Kuba (Department of Cell Physiology, Graduate School of Medicine, Nagoya University)

(2016.9.23)

Spatial pattern of synaptic inputs has strong impact on their integration at dendrites, and plays a critical role in determining neuronal output. We recently found in avian coincidence detectors, which are involved in encoding interaural time differences for sound localization, that excitatory synapses are preferentially distributed at distal location of dendrites particularly in neurons tuned to low frequency sound. In this seminar, I will show evidences for this biased distribution of excitatory synapses, and discuss its implication in the signal processing of the neurons.

参考文献

Presynaptic activity regulates Na+ channel distribution at the axon initial segment (2010) Kuba H, Oichi Y, Ohmori H. Nature 465: 1075-8.

Activity-dependent and activity-independent development of the axon initial segment (2014)　Kuba H, Adachi R, Ohmori H.　J Neurosci 34: 3443-53.

Redistribution of Kv1 and Kv7 enhances neuronal excitability during structural axon initial segment plasticity (2015)　Kuba H, Yamada R, Ishiguro G, Adachi R.　Nat Commun 6:8815.

33. The role of voltage-gated potassium channels in regulating neuronal intrinsic excitability

Ian Forsythe（Department of Neuroscience, Psychology & Behaviour, University of Leicester, UK）

(2016.9.23)

My laboratory studies the mechanisms by which voltage-gated potassium channels regulate neuronal excitability. The ability of a neuron to adapt its own excitability is called “intrinsic plasticity” and is a complementary process to “synaptic plasticity”, about which we know so much more. We have focused our studies in the brainstem auditory pathway because of its clear physiological role in integrating sound information from both ears for the purpose of sound localization. This function requires extreme precision in action potential firing and coincidence detection. The adaptations include a giant synapse (Calyx of Held), fast gating glutamate receptors, along with the expression and precise localization of potassium channel subunits in the neuronal plasma membrane. We exploit this system to explore the physiological relevance of Kv1, Kv2 and Kv3 potassium channel families.　I will tell you about their localization and physiological roles within the context of auditory processing and describe our preliminary work on synaptic modulation of neuronal excitability.

参考文献

The sound of silence: ionic mechanisms encoding sound termination (2011)　Kopp-Scheinpflug C, Tozer AJ, Robinson SW, Tempel BL, Hennig MH, Forsythe ID. Neuron 71: 911-25.

Protection from noise-induced hearing loss by Kv2.2 potassium currents in the central medial olivocochlear system (2013) Tong H,,,, Forsythe ID.　J Neurosci 33: 9113-21.

Nitric oxide selectively suppresses IH currents mediated by HCN1-containing channels (2015) Kopp-Scheinpflug C, Pigott BM, Forsythe ID.　J Physiol 593: 1685-700.

34. 1. Temporal and frontal brain areas interact to set relative reward expectation
2. Do monkeys have long-term memory?

1. Dr. Barry J Richmond　2. Dr. Richard C Saunders（NIMH/NIH）

(2016.10.3)

講演１

講演者：Dr. Barry J Richmond (NIMH/NIH)

演　題：Temporal and frontal brain areas interact to set relative reward expectation

The choices we make about what actions to take reflect the relative values of the outcomes, with more valuable ones chosen more often than less valuable ones－or perhaps we infer which are more and less valuable from which are chosen more often. Thus, in day-to-day activity, choices are often from among several possibilities. This requires estimating the values, comparing them to other values and remembering these values for ongoing reference.

We have examined data from behavior, single neuron recording, and tissue inactivation in rhesus monkeys, and found that the rhinal cortex in the medial temporal lobe, the orbitofrontal cortex and the lateral prefrontal cortex are all involved in setting values. We believe that the OFC is sensitive to the reward values, that the lateral PFC is sensitive to putting values from different dimensions such as reward size and delay－to-reward, and the rhinal cortex is critical for assigning/remembering the relative values of the rewards. Our data indicate that the brain areas are engaged in a dynamic interaction to allow behavior decisions based on the relative values of predicted outcomes.

講演２

講演者：Dr. Richard C Saunders (NIMH/NIH)

演　題：Do monkeys have long-term memory?

The auditory cortex underlies effortless ability to discriminate and remember complex sounds, including speech. Anatomical findings in monkeys have raised the possibility that, like the occipitotemporal visual areas, superior temporal auditory areas send highly processed stimulus quality information to downstream targets that are important for stimulus recognition. To investigate the importance of this ventral stream in auditory memory, monkeys were trained on an auditory recognition task. We found their memory performance is limited to short-term memory, and unaffected by lesions of the rhinal cortex; this is in sharp contrast to their memory performance in vision which extends to long-term memory and is severely disrupted by a rhinal lesion. These studies suggest that monkeys may be unable to store acoustic signals in long-term memory, raising the possibility that they may therefore also lack auditory working memory (WM).

35. Estimating docking site number and releasing vesicles reveals two sequential vesicular pool model at single glutamatergic synapses

三木崇史（Laboratoire de Physiologie Cérébrale, Université Paris Descartes, Paris, France）

(2016.10.6)

Abstract:Variance analysis of postsynaptic current amplitudes suggests the presence of distinct docking sites (also called release sites) where vesicles pause before exocytosis. Docked vesicles participate in the readily releasable pool (RRP), but the relation between docking site number and RRP size remains unclear. It is also unclear whether all vesicles of the RRP are equally release competent, and what cellular mechanisms underlie RRP renewal. We address here these questions at single glutamatergic synapses, counting released vesicles using a new developed method based on deconvolution analysis. Vesicular release counts at simple synapses follow binomial statistics with a maximum that varies from 2 to 10 among experiments. This maximum presumably reflects the number of docking sites at a given synapse. We find a remarkably low variance of cumulative vesicle counts during action potential trains. This, combined with Monte Carlo simulations, indicates that vesicles transit through 2 successive

states before exocytosis, so that the RRP is up to 2-fold higher than the docking site number. The transition to the second state has a very rapid rate constant, and is specifically inhibited by latrunculin B and blebbistatin, suggesting the involvement of actin and myosin.

Reference:

Miki, T., Malagon, G., Pulido, C., Llano, I., Neher, E., and Marty, A. (2016). Actin- and myosin-dependent vesicle loading of presynaptic docking sites prior to exocytosis. Neuron 91, 808-823.

Malagon, G., Miki, T., Llano, I., Neher, E., and Marty, A. (2016). Counting vesicular release events reveals binomial release statistics at single glutamatergic synapses. J. Neurosci. 36, 4010-4025.

36. Neuro Chemical Biology: Chemical approaches for visualization or activation of neurotransmitter receptors

Shigeki Kiyonaka（京都大学）

(2016.10.21)

Yamate Evening Seminar

In central nervous systems, excitatory neurotransmission is essential for our memory and learning. Glutamate, a typical excitatory neurotransmitter in animals, is recognized by glutamate receptors in synapses. Glutamate receptors are categorized into ionotropic- or metabotropic-types. These are composed of 25 subtypes, each of which has essential roles in neurotransmission and synaptic plasticity, a putative molecular mechanism of our memory. Thus, it is highly desirable to visualize or activate a glutamate receptor subtype selectively in neurons.

Recently, we succeeded in visualization of endogenous AMPA receptor, an essential glutamate receptor subtype for synaptic plasticity in live cells by chemical approach. Importantly, our methods allowed visualizing native AMPARs deep in brain tissues. Importantly, analyses of the diffusion dynamics of endogenous AMPARs by our methods revealed that diffusible component of AMPARs was markedly lower than that revealed previously by using conventional GFP tags.

With respect to subtype-selective activation of glutamate receptors, we recently developed a novel method for selective activation of the receptor subtypes using genetic manipulation and coordination chemistry, termed On-cell Coordination Chemistry (OcCC). Our method has been successfully applied for the selective activation of the mutant glutamate receptor in live neurons, initiating a subsequent signal transduction pathway.

Poster

http://www.oib.orion.ac.jp/PDF/161021Kiyonaka_Poster_I.pdf

37. Biochemical computation in single dendritic spines: implication in synaptic plasticity

安田涼平（Scientific Director, Max Planck Florida Institute for Neuroscience）

(2016.10.26)

Activity-dependent changes in synaptic strength and structure are believed to be cellular basis of learning and memory. A cascade of biochemical reaction in dendritic spines, tiny postsynaptic compartments emanating from dendritic surface, underlies diverse forms of synaptic plasticity. The reaction in dendritic spines is mediated via signaling networks consist of hundreds of species of proteins. We have developed unique optical techniques to elucidate the operation principles of such signaling networks. First, based on 2-photon fluorescence lifetime imaging and highly sensitive biosensors, we have developed techniques to image signaling activity in single dendritic spines. We have succeeded in monitoring activity of several key signaling proteins in single spines undergoing structural and functional plasticity. This provided new insights into how the spatiotemporal dynamics of signaling are organized during synaptic plasticity. We have developed sensitive and

specific sensors for CaMKI, CaMKII, Rho GTPase proteins, Rab GTPase proteins, protein kinase C isozymes (α, β, γ etc) and a BDNF receptor TrkB. By monitoring signaling components with high spatiotemporal resolution, we expect to reveal the mechanisms underlying the spatiotemporal regulation of signaling dynamics underlying synaptic plasticity and learning and memory.

38. サルレトロウイルス（SRV）と SRV 関連内在性レトロウイルスの不思議な関係

宮沢孝幸（京都大学ウイルス・再生医科学研究所　准教授）

(2016.10.31)

2001 年から 2011 年に京都大学霊長類研究所において，サルレトロウイルス 4 型（SRV-4）の感染によりニホンザルが血小板減少症を発症し連続死する事例があった。一方，国内の別のニホンザル繁殖飼育施設においても，SRV-5 の感染によりニホンザルが血小板減少症を呈し相次いで死亡する事例があった。SRV に類似のウイルス配列（SRV 関連内在性レトロウイルス）は，マカク属のサルのゲノムに多数存在しており，病態と関わっている可能性がある。また，最近我々はアカゲザルがもっている内在性レトロウイルス（Fb1）由来タンパク質が SRV の感染をブロックすることを見いだした。本講演では, SRV と SRV 関連内在性レトロウイルスについて概説する。

39. SEM による生物組織の 3 次元超微形態解析法

大野伸彦(分子神経生理研究部門)

(2016.11.11)

近年, Serial block-face scanning electron microscopy (SBF-SEM)をはじめとする走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた連続断面観察法が開発され，電子顕微鏡レベルの連続画像の取得と 3 次元再構築が広く用いられるようになってきている。こうした手法はミトコンドリアや小胞体などの膜性オルガネラや細胞の形態を観察するには非常に強力な手法であり，また高いスループットを持つことから，様々なトランスジェニックマウスや疾患モデルの解析に有効である。また蛍光蛋白や特定のマーカーを発現する細胞の形態学的解析も，種々のラベル法を併用することで可能となる。本発表では SBF-SEM を中心に SEM を用いた生物組織の 3 次元超微形態解析法の特徴と最新の応用例を紹介するとともに，その試料作製を改良にする最近の試みについても紹介したい。

40. 上皮極性形成における密着結合の役割

大谷哲久（細胞構造研究部門）

(2016.11.11)

上皮細胞は高度に極性化しており, 体の外側に向く頂端部側と基底膜に面する側基底部側に区画化されている。上皮細胞が分泌・吸収といった機能を発現するためには，頂端部側・側基底部側にそれぞれ異なる膜輸送体が特異的に局在化することが必須であり, 上皮極性形成機構の解明は上皮生物学における中心的課題の一つである。上皮細胞の頂端部側と側基底部側の境界部には密着結合（TJ：Tight Junction）が存在し，頂端部面と側基底部面の間の物質拡散の障壁として働くと考えられてきた。しかし，TJ と上皮極性の関係については相反する結果が報告されており，現在に至るまで TJ の上皮極性形成における役割は確立していない。私たちは，モデル上皮細胞である MDCK II 細胞においてゲノム編集を用いて TJ を欠損するような変異細胞を作出したところ, 上皮極性に異常が生じることを見いだした。これらの結果を踏まえ，TJ が上皮極性形成において果たす役割について議論したい。

41. Mechanosensory specialization in the trigeminal system of tactile specialist ducks

Slav Bagriantsev（Department of Physiology, Yale University, USA）

(2016.11.14)

The sense of touch, or mechanosensitivity, is crucial for virtually all aspects of everyday life, yet among all the senses possessed by vertebrates, it remains least explored at the cellular and molecular levels. Key to touch sensitivity are neuronal mechanoreceptors, which constitute a minor group of neurons in the somatosensory ganglia of most vertebrates. The scarcity of neuronal mechanoreceptors coupled with the absence of unequivocal markers for their identification impedes progress in understanding the molecular mechanism of touch sensitivity. Towards this end, we developed a novel animal model - the trigeminal system of duck embryos. Ducks are tactile specialists capable of foraging by means of acute mechanosensitivity of the glabrous skin covering their bill. We found that in contrast to rodents and other vertebrates, the trigeminal ganglia innervating duck head are dominated by mechanoreceptors instead of thermoreceptors and nociceptors. Electrophysiological analysis showed that duck trigeminal neurons have an augmented ability to convert touch into excitation, presumably due to the properties of the resident stretch-sensitive ion channels. We determined that a majority of duck trigeminal neurons express mechano-activated ion channels of the Piezo and Nav classes. We explored functional properties of these channels in vitro and inquired into their contribution to mechanically activated excitatory current and action potential generation in rapidly-adapting neuronal mechanoreceptors. Our data suggest a molecular mechanism underlying the sense of touch in the glabrous skin of vertebrates.

42. Of TRPs and SOC: an electrophysiological study of calcium channels in prostate cancer

Loïc Lemonnier（Université Lille 1, France）

(2016.11.14)

Since the discovery of TRP (Transient receptor Potential) and SOC (Store-Operated Channel) calcium channels, many labs have shown their involvement in the regulation of cell calcium homeostasis. In general, many alterations of these channels have been associated to syndromes, diseases and cancers. One of the mechanisms linking TRP and SOC alterations to the apparition of a pathology could be the perturbation of cell calcium homeostasis resulting from this alteration. Indeed, the involvement of these perturbations in carcinogenesis and cancer progression has been suggested by many teams. These perturbations could result from quantitative and functional variations affecting these channels or the proteins modulating their activity. Over the years, we have characterized the roles of SOC and TRPM8 channels in prostate cancer, and how different partner proteins can modulate their intracellular localization and their activity. We have also shown the interplay between both channels and their isoforms, and how they preside over prostate cancer cells fate.

43. Synthesis of molecular biology and evolutionary biology

Shozo Yokoyama（Department of Biology, Emory University）

(2016.11.22)

Natural selection has played an important role in establishing various functions in nature, but molecular mechanisms of such adaptive events are not well understood. The slow progress is a consequence of mutagenesis experiments using present-day molecules and the limited scope of statistical methods used to detect adaptation. To fully appreciate functional differentiation, the precise roles of critical mutations should be understood by engineering and manipulating ancestral molecules. Experimental and quantum chemical analyses of dim-light and color vision reveal some surprising results and provide a foundation for a productive study of actual functional differentiations.

44. 毛様体平滑筋の収縮調節に関与する非選択性陽イオンチャネルの分子実体

高井　章（旭川医科大学 生理学講座 自律機能分野）

(2016.11.25)

視覚遠近調節を司る毛様体筋は典型的な副交感神経支配の平滑筋組織の一つである。この筋には，膜表面の M3 型ムスカリン受容体刺激に応じて開口する，単位コンダクタンスが 100 fS と 35 pS と大きく異なる 2 種類の非選択性陽イオンチャネル(NSCCS と NSCCL)が存在する。そのうち，いわゆる store-operated Ca^{2+} channel (SOC)様の性質を示す NSCCS については，安定的な視覚焦点合わせに重要な筋収縮持続相の維持に必要な細胞外からの Ca^{2+}の流入経路として機能することが予想されてきた。しかし，実験に供しうる十分な数の健常な単離毛様体筋細胞を得ることが難しいことが制約となり，NSCCS の分子実体の解明はなかなか進まなかった。最近われわれはコラゲナーゼ処理と Percoll 密度勾配遠心分離によりウシ毛様体筋組織から平滑筋細胞を高純度に取り出す方法を開発した。それにより調整した単離筋細胞を用いて siRNA 法などによる実験をおこなったところ，SOC の本体として注目されている STIM1/Orai1 と NSCCS との関連を強く示す知見が得られた。

45. メカノメディスン：メカノトランスダクション研究とその臨床応用

成瀬恵治（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科（医）システム生理学）

(2016.11.25)

我々の体は外界からだけではなく体内においても様々な力学的・機械的刺激（メカニカルストレス）を受容し，応答することで正常な生理機能を維持している。メカニカルストレスの受容応答機構は細胞分裂，発生過程，臓器機能発現など広範な時空間スケールにわたる生理機能の調節に寄与しており，メカニカルストレス受容応答機構の破綻が様々な病態に関与していることを示唆するエビデンスが集積されてきた。メカノセンサー分子→細胞→組織→臓器→個体レベルでの縦糸的研究に各種臓器の疾患という横糸的研究を加えた布陣をとり，メカノバイオロジーを切口とした病態解明を基に，新規治療法を開発するメカノ医療（メカノメディスン）の確立を目指し，これまでに数々の新規研究方法や研究システムを開発し問題を解決してきた。

本講演ではメカノバイオロジーに関する基礎医学的研究，特にメカニカルストレス受容機構を概説し，その研究過程で派生した再生医療（自己集合化ペプチドを用いた 3 次元培養＋メカニカルストレス負荷システム）・生殖補助医療（マイクロ流路良好運動精子分離システム・ストレッチ刺激負荷受精卵培養システム）への展開を紹介する。

46. Ca^{2+}シグナリングにおける新たな作用点：初期分泌経路における ALG-2 のアダプター機能の研究

京　卓志（名古屋大学大学院生命農学研究科）

(2016.12.9)

Ca^{2+}シグナリングは，神経伝達，筋収縮，さらには発生など様々な生理機能に関わっている。このシグナルはおもに Ca^{2+}結合タンパク質によって伝達される。そのため Ca^{2+}結合タンパク質の機能を明らかにすることは Ca^{2+}シグナリングを理解する上で極めて重要である。ALG-2 は Ca^{2+}に応答して２者のタンパク質間の相互作用を仲介するアダプタータンパク質である。これは Ca^{2+}シグナリングにおいて独特な位置を占める機能様式である。私は，初期分泌経路における ALG-2 のアダプター機能に関する研究に携わった。初期分泌経路とは，小胞体で合成されたタンパク質をゴルジ体へと輸送する経路である。この過程は COPII 小胞が担っている。COPII 小胞は小胞体の特別な領域である ERES（ER exit sites）において形成される。本セミナーでは，まず，ALG-2 が COPII 小胞の

構成タンパク質の一つである Sec31A と，リン脂質結合タンパク質 AnxA11 をアダプトすることで，小胞体からのタンパク質輸送を制御している可能性について紹介する。さらに, COPII 小胞の構成タンパク質ではないが，ERES に局在する TFG に対して，ALG-2 がアダプタータンパク質として機能することで，その多量体形成や細胞内局在を調節するという知見を報告する。Ca2+シグナリングにおける新たな作用点としての，初期分泌経路における ALG-2 の生理的役割について議論したい。

47. ミニ国際シンポジウム

(2016.12.14)

生体システム研究部門は，日本学術振興会の支援を受けてスウェーデン王立工科大学と大脳基底核 の計算論について共同研究を行っています。今回，スウェーデンのメンバーを迎えてミニ国際シンポジウムを開催しました。

Atsushi Nambu (National Institute for Physiological Sciences, Okazaki)
Welcome remarks
Britta Robbertson (Karolinska Institutet, Stockholm)
The basal ganglia over 500 million years
Carolina Bengtsson Gonzalez (Karolinska Institutet, Stockholm)
Molecular and electrophysiological diversity of striatal interneuron populations
Yoshikazu Isomura (Tamagawa University, Tokyo)
Cortical, striatal and hippocampal activations during reward-seeking behaviors
Nobuhiko Hatanaka (National Institute for Physiological Sciences, Okazaki)
GABAergic modulation of striatal neuron activity in behaving monkeys
Gilad Silberberg (Karolinska Institutet, Stockholm)
Neural Microcircuits Underlying Multisensory Integration in the Mouse Striatum
Minoru Kimura (Tamagawa University, Tokyo)
Roles of thalamostriatal projection from posterior intralaminar nuclei in associative learning of external events
Nathan Skene (Karolinska Institutet, Stockholm)
Genetic dissection of the cellular processes underlying schizophrenia
Dwi Wahyu Indriani (National Institute for Physiological Sciences, Okazaki)
Electrophysiological study on L-dopa-induced dyskineia
Arvind Kumar (KTH Royal Institute of Technology, Stockholm)
Origin of Parkinson's disease related aberrant activity in the basal ganglia
Kenji Morita (Tokyo University, Tokyo)
Forgetting in reinforcement learning: linking sustained dopamine signal to motivation
Arvind Kumar
Concluding　remarks

48. コミュニケーション場面における自他を繋ぐ神経基盤：二者同時記録 fMRI を用いた研究

小池耕彦（生理学研究所心理生理学研究部門）

(2017.1.5)

ヒトはコミュニケーションにより，五感を通して他者と情報を相互伝達，目的を共有したある種のシステムとして振る舞う。情報を相互伝達し，結果として自他を繋ぐメカニズムは，心の理論や共感といった高次社会能力の基盤と考えられているが，その神経基盤は明らかでない。自他が一つのシステムへと統合される過程は，異なる情報を保持する脳領域が情報を相互伝達し，一つのシステムとして機能するのと類似しているように思われる。我々は脳内ネットワークの研究で用いられている研究手法を拡張し，異なる情報を持つ二者がコミュニケー

ション行動を介して情報を共有して繋がるメカニズム，およびその神経基盤を研究した。研究には主に，二者同時記録 fMRI を利用した。このシステムは 2 台の MRI 内にいる被験者達が，言語/視覚コミュニケーションをしている際の脳活動を，二者から同時に記録できる。この装置を利用した研究で，視覚を通した共同作業である共同注意をおこなう際に，自分と他者の作業への関わり方に応じて，右島皮質-下前頭回の異なる下位領域が賦活されることが示された。また共同注意を特定のパートナーとおこなった経験は，二者が相互にみつめあう際の，右島皮質-下前頭回における二者間での脳活動相関の上昇として痕跡を残すことも示した。これらの結果は，二者で情報を相互伝達する際に，自分由来の信号と他者由来の情報を統合するのに，右島皮質-下前頭回が大きな役割を果たす可能性を示す。これら注意の共有にともなう脳活動の変調が，真に二者間での情報の相互伝達に拠るのか，それとも「情報を相互伝達している」という主観に拠るかを調べたところ，主観に関わらず，リアルタイムでみつめあい情報の相互伝達が起こっている場合にのみ小脳-前部帯状回の活動が上昇し，その活動は右島皮質へと入力されていた。これら一連の研究は，コミュニケーション場面において情報の相互伝達を介して自他を繋ぐ際に，右島皮質が重要な役割を果たしている可能性を示唆する。さらに，(1)二者が繋がるメカニズムを高時間解像度で解明するための二者同時記録脳波-fMRI 研究，(2)実社会の最小構成である三者のコミュニケーションを解明する手法，さらに(3)島皮質の下位領域が自他統合に果たす役割の詳細を解明するための 7T-fMRI 研究など，今後の展開についても紹介したい。

49. 社会的評価による運動技能学習の促進

菅原　翔（早稲田大学基幹理工学術院）

(2017.1.5)

新しく何かを始める時，私達は新たに複数の運動技能を習得する必要がある。もっと容易かつ早く当該技能を習得する方法があるならば，私達は生涯でより多くのことを達成できるかもしれない。運動技能を習得する上で，経験した技能を忘れずに定着させることは極めて重要である。金銭報酬などのフィードバックにより運動技能定着が促進されるという現象が，複数の研究により報告されている。特に，我々は「褒められる」という社会的評価が運動技能定着を促進することを発見した。しかし，社会的評価と運動技能定着を結びつける神経学的機序は分かっていない。この問題を解決するには，運動技能定着と社会的評価を支える神経基盤の解明が不可欠である。そのため，運動技能学習と社会的評価の処理を支える神経基盤を，機能的磁気共鳴画像を用いた一連の研究により検討してきた。運動技能学習の神経基盤としては，線条体や小脳という皮質下領域が系列運動学習の獲得と定着過程に関与することに加え，学習の痕跡が早期段階から一次運動野を中心とする皮質ネットワークで保持されることを明らかとした。社会的評価の神経基盤に関しては，肯定的評価と否定的評価の処理に関係する脳領域だけでなく，社会的評価に対する感受性が楔前部の活動と関連することを示した。

今回の発表では，これまでの研究成果を総括するとともに，これらの知見に基づく展望と現在進行形の取り組みについて紹介したい。

50. 順遺伝学的アプローチによる GPI アンカー型タンパク質の輸送と側鎖生合成の研究

平田哲也（大阪大学微生物病研究所）

(2017.1.6)

グリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）アンカーは，糖脂質 GPI によるタンパク質の翻訳後修飾であり，初期発生や神経形成等に必須である。GPI は小胞体で合成された後，タンパク質へと付加されて GPI アン

カー型タンパク質（GPI-APs）となる。合成された GPI-APs は，積荷受容体である p24 ファミリー複合体により COPII 小胞へと積み込まれ，小胞体からゴルジ体へと輸送される。その後，未解明な積荷受容体と輸送小胞により，ゴルジ体から細胞表面へと輸送される。

一方，小胞体あるいはゴルジ体で，GPI の構造変化が行われることが知られている。そのうちの一つとして，N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）糖鎖による GPI 側鎖の形成が知られている。GalNAc 側鎖の構造は約 30 年前に報告されたにもかかわらず，その生合成経路は不明であった。私は，GPI-APs の輸送や生合成機構に興味を持ち，研究を進めてきた。本セミナーでは，哺乳動物細胞での順遺伝学的スクリーニングにより得られた，GPI-APs のゴルジ体からの輸送に関わる分子，及び GalNAc 側鎖の合成酵素に関する研究成果を報告する。

51. The enigmas of color vision in nature and in art

Sérgio M.C. Nascimento（Department of Physics, University of Minho）

(2017.1.23)

Colors in nature seem to be almost unlimited. Yet, spectral imaging of natural scenes has revealed that the colors around us are limited to just a couple of million which is only a small part of the colors our visual system can perceive [1]. Daltonics perceive even fewer colors.

Theoretical estimates predict that anomalous trichromats can see 50% of the colors seen by normal individuals and dichromats less than 1% [2].

Empirical data has shown, however, that in natural scenes dichromats are little impaired as they can discriminate almost 70% of the colors perceived by normal individuals [3]. Another remarkable result revealed by spectral imaging is the enormous variation in the color of the illumination across natural scenes [4]. Nevertheless, normal individuals and daltonics exhibit a notable degree of color constancy [5].

Natural color statistics seems to be mimicked by artists in paintings.

At least in one aspect, however, natural scenes and paintings seem to differ systematically: the color gamut of paintings is generally more biased towards the red in paintings than in natural scenes [6]. But experiments on aesthetics of occidental and Japanese paintings showed, quantitatively, that the non-naturalistic nature of the gamut orientation does not constraint in any way its aesthetic value [7].

[1] Linhares, Pinto & Nascimento, J. Opt. Soc. Am. A, 25, 2918-2924 (2008).

[2] Perales, Martínez -Verdu, Linhares & Nascimento, J. Opt. Soc. Am.　A, 27, 2106-2114 (2010).

[3] Nascimento, Linhares, Pastilha, Santos & de Almeida, Journal of Vision, 16(12):638-638 (2016).

[4] Nascimento, Amano, Foster, Vision Research, 120, 39-44 (2016).

[5] Álvaro, Lillo, Moreira, Linhares, & Nascimento, Journal of Vision, 15(12): 406 (2015).

[6] Montagner, Linhares, Vilarigues, & Nascimento J. Opt. Soc. Am. A, 33, 178-183 (2016).

[7] Nascimento, Linhares, Montagner, João, Amano, Alfaro, & Bailão, Vision Research, 130, 76-84 (2017).

52. 新生仔マウスの興奮性細胞におけるギャップ結合の発現は樹状突起スパインの密度と反応の信頼性を制御する

林　健二（東京大学大学院医学系研究科　統合生理学研究室）

(2017.1.24)

新生仔マウスの新皮質において，興奮性細胞は出生後２週までギャップ結合によって相互結合し，神経回路の発達

の制御を行うと考えられています。とりわけ connexin43 サブタイプは, 興奮性細胞において胎児期および出生後の早い時期特異的に発現することが知られます。しかしながら, ギャップ結合は皮質板での神経細胞の移動に必須であり, 細胞移動に影響を与えることなくギャップ結合の機能を抑制することの技術的な難しさから, ギャップ結合の神経回路発達における機能は未解明のままでした。そこで我々は，tet 作動性のノックダウンシステムを構築し，shRNA の発現を doxycycline 依存的に制御することで，細胞の移動に影響を与えることなく，出生後の発達期にのみ connexin43 をノックダウンすることを可能にしました。成熟後の一次視覚野にて２光子励起顕微鏡で in vivo Ca2+イメージングを行い, 視覚機能に対する影響を評価したところ，ノックダウン細胞では視覚応答の信頼性が減少し，それに伴い方位選択性が鋭くなることを明らかにしました。さらに, ノックダウン細胞では樹状突起スパインの密度が低下していました。これらのことは, 適切な connexin43 の発現レベルが，スパインの密度の制御を介して，方位選択性の鋭さと反応の信頼性のバランスを調整することを示していると考えられます。

53. Microglia-neuron communication in epilepsy and pain

Long-Jun Wu（Assistant Professor, Department of Cell Biology & Neuroscience, Rutgers, The State University of New Jersey
Associate Professor, Department of Neurology, Mayo Clinic (2016~)）

(2017.1.25)

Microglia are the principal immune response cells in the central nervous system. Resting microglia constantly survey the microenvironment in the normal brain. Upon brain dysfunction, microglia are activated and exert detrimental or beneficial effects on the surrounding neurons. The long-term goal of my lab is to understand microglia-neuron communication in normal and diseased brain. We are interested in fundamental questions on: (1) How microglia sense neuronal activities? (2) How microglia regulate neuronal and synaptic function? (3) What are the molecular mechanisms and functional consequences of microglia activation in brain diseases? To address these questions, we use the combination of two photon deep-brain imaging, electrophysiology, mouse genetics to dissect the role of microglia in neuronal circuits and in brain disorders, with particular focus on epilepsy and chronic pain. Our studies provide a novel insight on microglial function in brain hemostasis and suggest microglia as a potential therapeutic target for the treatment of epilepsy and chronic pain.

54. Toward understanding mechanisms of mammalian hibernation ～ an approach with Syrian golden hamsters

Yoshifumi Yamaguchi（The University of Tokyo）

(2017.1.27)

Hibernation is an adaptive strategy to survive cold winter with little or no food. Some of mammals can hibernate to survive during the winter months by suppressing metabolisms and lowering body temperature and heart rate. Since these physiological changes are lethal to most mammals including mouse and human, it is of great interest from both basic sciences and clinical application to understand mechanisms that enable hibernation. Two fascinating topics in the mysteries of hibernation are “seasonal (chronic) body remodeling for hibernation” and “regulation of deep torpor (immobility state with low body temperature) and periodic arousal during hibernation”. We have tackled the topics by examining one of ideal animal models for hibernation research, Syrian golden hamsters (Mesocricetus auratus); they can enter hibernation throughout the year irrespective of seasons when exposed to a short day photoperiod and cold ambient temperatures under laboratory conditions. In this seminar, I will introduce our recent findings and discuss how hamsters achieve proper hibernation.

Poster
http://www.oib.orion.ac.jp/PDF/160127Yamaguchi_Poster.pdf

55. Generating astrocyte diversity in the mature brain: Implications for circuit function and brain disease

Keith Murai（Professor, Dept of Neurology and Neurosurgery Director, Centre for Research in Neuroscience
McGill University, Montreal, Canada）

(2017.1.31)

Astrocytes are important partners for neurons in the healthy brain and have active roles in the physiology and homeostasis of neural circuits. Astrocytes perform diverse functions through their rich structural and molecular properties. However, the mechanisms that create and sustain differences among astrocytes that allow them to fulfill unique physiological roles in the brain remain poorly understood. In this presentation, results will be presented showing that astrocytes have remarkable molecular plasticity in the mature, healthy brain. Moreover, mature neurons signal to neighbouring astrocytes in various brain regions to direct their molecular and physiological features. This neuron to astrocyte communication is both necessary and sufficient for astrocyte molecular diversification including the expression of key molecules including glutamate transporters and receptors, potassium channels, and water channels. Thus, neurons in the mature brain actively control astrocytes to ensure that astrocytes acquire and maintain specialized properties that are tuned to their associated brain circuits.

参考文献

Farmer WT, Abrahamsson T, Chierzi S, Lui C, Zaelzer C, Jones EV, Bally BP, Chen GG, Théroux JF, Peng J, Bourque CW, Charron F, Ernst C, Sjöström PJ, Murai KK (2016) Neurons diversify astrocytes in the adult brain through Sonic hedgehog signaling. Science 351:849-54.

Kacerovsky JB and Murai KK (2016) Stargazing In Vivo: Monitoring subcellular dynamics of brain astrocytes. Neuroscience 323:84-95.

56. Ion-channels as targets for CNS disease

Derek Bowie（Professor, Dept of Pharmacology & Therapeutics Director of GÉPROM
McGill University, Montreal, Canada）

(2017.1.31)

The Bowie Lab uses a combination of techniques to study ionotropic glutamate receptors (iGluRs), GABAA receptors and more recently, Na+ channels. All ion-channel families are widespread in the vertebrate brain and fulfill many important roles in healthy individuals as well as being implicated in disease states associated with postnatal development (e.g. autism, schizophrenia), cerebral insult (e.g. stroke, epilepsy) and aging disorders (e.g. Alzheimer's disease, Parkinsonism). Each ion-channel family is studied at two inter-related levels. In structural terms, ion-channel activation mechanisms are examined to provide insight into developing novel therapeutic compounds. At the level of brain circuits, we are studying the role of ion-channels in CNS disease. The talk will focus on recent findings linking deficits in glutamatergic signaling to the neurodevelopmental disorder, Fragile-X syndrome.

参考文献

Dawe GB, Musgaard M, Aurousseau MR, Nayeem N, Green T, Biggin PC, Bowie D (2016) Distinct Structural Pathways Coordinate the Activation of AMPA Receptor-Auxiliary Subunit Complexes. Neuron 89: 1264-1276.

Accardi MV, Daniels BA, Brown PM, Fritschy JM, Tyagarajan SK, Bowie D (2014) Mitochondrial reactive oxygen species regulate the strength of inhibitory GABA-mediated synaptic transmission. Nature Communications 5: 3168.

57. A newly identified involvement of steroid metabolism in human diseases

笹野公伸（東北大学医学部病理診断学分野）

(2017.2.3)

Hormone actions are determined by how much hormones available and their receptor expressed in the target cells. Therefore, numerous efforts have been made toward the precise measurement of hormones and their metabolites in urine and blood in the field of endocrinology. Estrogens play pivotal roles in the pathogenesis and development of estrogen dependent breast cancer patients with estrogen receptor expressed in carcinoma cells. However, there had been no differences of estrogens and their metabolites in urine and serum/plasma between estrogen dependent breast cancer patients and age matched controls of women, especially in post-menopausal settings.These results even led to the hypothesis that estrogens were not involved in the pathology of these breast cancer patients.

However, in late 1980's, estrogen concentrations in breast cancer tissue or adipose tissues around cancer turned out to be 5 to 50 times higher than adipose tissue of abdomen or buttocks of the same patients or benign breast disorders such as fibroadeoma. Post-menopausal breast cancer patients are actively converting from circulating adrenal androgens, precursors of estrogens, into estrogens through aromatase at the sites of estrogen actions. This mechanism allows breast cancer to grow and invade independent of circulation estrogen levels in post-menopausal women.

This mode of hormone action, i.e., the conversion or synthesis of active steroids from circulating precursors at the sites of actions, is termed "Intracrinology" in contrast to classical "Endocrinology". These intracrine actions of hormones could allow hormone dependent biology regardless of circulating hormones and is involved not only in estrogen dependent breast cancer but also in atherosclerosis, osteoporosis, dementia and others in postmenopausal women.

58. 天敵のにおいに対する恐怖に関わる神経回路

近藤邦生（米国 フレッドハッチンソン癌研究所）

(2017.2.7)

動物が生き残るためには危険に対して恐怖を感じ適切な対応することが重要である。マウスなど多くの動物は，天敵のにおいを嗅ぐと逃避やすくみなどの恐怖行動に加えて血中ストレスホルモンの増加を伴う恐怖の生理的反応を示す。我々は，においの情報を受け取る脳の領域である嗅皮質において，天敵のにおいに対するストレスホルモン応答に関わる領域を同定した。ストレスホルモン応答は脳の視床下部に存在する CRH ニューロンによって制御されている。CRH ニューロンに天敵のにおいの情報を伝える神経回路を明らかにするため，我々は仮性狂犬病ウイルスを用いて，特定の神経細胞にシグナルを伝達する上流の神経細胞を同定する方法を確立した。その結果，天敵のにおいによって活性化されて CRH ニューロンにシグナルを伝達する神経細胞が扁桃体梨状皮質移行領域(AmPir)と呼ばれる嗅皮質の領域に存在していることがわかった。AmPir を人為的に活性化するとストレスホルモン応答が誘導され，AmPir を抑制すると恐怖行動に影響することなく天敵のにおいによるストレスホルモン応答が抑制された。以上の結果より，AmPir が天敵のにおいに対する生理的な恐怖反応において重要な役割を果たしていることが明らかになった。

59. 骨格筋ファイバータイプ制御の分子メカニズム

榊原伊織（愛媛大学プロテオサイエンスセンター）

(2017.2.7)

骨格筋は，動物が動くために必須の器官であり，脳から運動神経を介した制御を受け，動きを実現する。その

多様なタスクに対応するために，筋繊維には代謝，および，筋収縮速度の異なるタイプが存在する。新生児期に筋繊維は胎生期タイプから遅筋タイプ，もしくは，速筋タイプへと特化する。その後，性成熟期には性ホルモンの影響を受け，骨格筋は男性的，または，女性的な性質を獲得する。

骨格筋はファイバータイプによって，エネルギー代謝に特徴があり，遅筋はミトコンドリアが発達しており，脂肪酸を主なエネルギー源とし，速筋では解糖系が発達しており，糖を主なエネルギー源とするが，絶食時にはアミノ酸，ケトン体，短鎖脂肪酸などの代謝に変化する。本講演では，筋繊維のファイバータイプに関わる３つの遺伝子，Six1，Androgen receptor，AceCS2 について紹介したい。

60. 神経活動の人工制御システムによる空腹が味覚に及ぼす影響の解明

中島健一朗（東京大学大学院農学生命科学研究科）

(2017.2.7)

摂食は動物にとって，自身の生存や子孫の繁殖のために重要な行動である。このうち味覚は食物の価値の判断基準として機能する。また，生理状態の変化に伴って食の嗜好性や味の感じ方が変化することは経験的には知られているものの，その原因は不明な点が多い。

本研究では，空腹により味の感じ方が変化する現象をモデルに，摂食中枢神経の活動が味覚受容におよぼす影響を評価した。マウスの視床下部にウイルスベクターを導入し，摂食中枢を司る神経の活動を化学遺伝学・光遺伝学的にコントロールした。この末梢臓器による副次的な影響を除き，人為的に空腹状態を再現した際の味覚感受性の評価を試みた。発表では，その結果について報告するとともに，中枢による味覚伝達経路の修飾機構について考察したい。

61. 意識，意思決定，神経ダイナミクスの次元

田嶋達裕（ジュネーヴ大学 基礎神経科学科）

(2017.2.17)

脳全体の複雑な神経ダイナミクスは認知機能に重要と考えられている．ヒトのそれのような高度な認知処理の原理を理解するには，高次元の神経集団活動を追跡するための計測技術を進歩させるだけでなく，その構造を明らかにするための新たな理論的視点を発展させる必要がある．ここではダイナミクスの構造と機能を関係づけるための２つの理論的なアプローチを紹介する．ひとつめのボトムアップ的なアプローチでは，力学系の一般理論を動機として， 理論ドリブンの強力なデータ解析手法を開発する．この方法を用いて，再構成したアトラクタ同士の非線形の埋め込み関係を行動中のサルから広域記録した電気生理データで調べる．その結果，意識下の脳ダイナミクスに普遍的な相互作用と複雑性の階層が明らかとなり，また複雑な神経システムを解読するために広く適用できる手法が示される．ふたつめのトップダウン的なアプローチは，多数の価値比較を含む意思決定の規範理論を構築することから出発し，最適な神経ダイナミクスを導く．この理論は最適な意思決定ポリシーにおける一般的な幾何学的対称性を明らかにし，ある種の連続アトラクタが最適意思決定ポリシーの神経実装に寄与している可能性を予測する．総合して，連続的なアトラクタの幾何構造やトポロジーが意思決定，意識，あるいはその他，複雑システムに現れる機能の重要な基盤になっている可能性を提案する．

References:

S. Tajima, T. Yanagawa, N. Fujii, T. Toyoizumi (2015) Untanglingbrain-wide dynamics in consciousness by cross-embedding, /PL//o//S//Computational Biology/, 11(11):e1004537. http://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1004537

S. Tajima, J. Drugowitsch, A. Pouget (2016) Optimal policy for value-based decision-making. /Nature Communications/, 7:12400. http://www.nature.com/articles/ncomms12400

62. タイ国立霊長類研究センターの設立の経緯と現況

SUCHINDA MALAIVIJITNOND（Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Thailand
Director, National Primate Research Center of Thailand）

(2017.2.22)

Thailand is geographically situated in the center of Southeast Asia and connects between mainland and islands. It is therefore in a hot and humid climatic zone which supports a variety of tropical ecosystems. From the records, as many as of 17 species of non-human primates (NHPs); from prosimians (slow loris) to lesser apes (gibbons) are listed. However, at the same time of being in the tropical regions, Thais have to face with many tropical diseases. The vaccines and drugs are needed to combat with those diseases. NHPs are required for vaccine and drug manufacturing and development, and they are also essential for toxicity and safety tests. With regard to these concerns and with the long-term experience on primates, as a pioneer of primate laboratory in Thailand for more than 45 years, Chulalongkorn University designates to establish "The National Primate Research Center of Thailand (NPRCT)" in 2012. It is the first and the only primate center owned by Thais. Three species of NHPs are planned to be bred and used for research; Thai origin cynomolgus macaques (Macaca fascicularis), Myanmar rhesus macaques (M. mulatta) and common marmoset (Callithrix jacchus). The research facilities are/will be composed of one strictly hygienic conventional building and one of Animal Biosafety Level (ABSL) 2 and 3. The center aims to provide a good quality in health and genetic of NHPs and to provide research services for both in-country and aboard.

63. 視覚弁別課題遂行中のラット一次視覚野の神経活動

木村梨絵（生理研視覚情報処理研究部門）

(2017.2.23)

頭部固定のラットに特定の方向の縞刺激（縦縞）が提示されるとレバーを押し，別の縞刺激（横縞）が提示されるとレバーを引くという視覚弁別誘発性の運動課題を学習させた。その後，視覚刺激のコントラストの違いによって課題の難易度を変えた。この課題遂行中のラットの一次視覚野の多細胞の発火活動を多点電極にて記録したところ，麻酔下で観察されるような，コントラストが高いときに活動が強くなる単純な線形性を示す細胞のみならず，コントラストが低く，難易度が高いときに活動が強くなる細胞も観察された。本セミナーでは，プレリミナリーなデータを含む研究成果を紹介し，視覚弁別の神経メカニズムについて議論したい。

64. 光応答性 CaMKII の開発とシナプス可塑性研究への応用

柴田明裕（脳機能計測・支援センター 多光子顕微鏡室）

(2017.2.23)

近年，急速に普及してきている光遺伝学は，光によって構造変化する光応答性タンパク質を遺伝学的手法により特定の細胞に発現させ，その機能を光で操作する技術である。今回我々は，学習や記憶の基盤と考えられているシナプス可塑性において必須とされているカルシウムカルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II（CaMKII）の機能を直接調べるために，光遺伝学を用いた。それには，光応答性タンパク質ドメインである LOV2 ドメインを用いて光応答性 CaMKII（photoactivatable CaMKII）を新規に開発した。この paCaMKII は，青色光もしくは二光子励起によって構造変化させることで，活性化する（不活化状態の closed form から活性化状態の open form への構造変化する）。本セミナーでは，paCaMKII の開発過程について詳しく紹介するとともに，paCaMKII を用いたシナプス可塑性研究への応用についても紹介したい。

65. 摂取する炭水化物の種類は脳・精神機能発達にどの程度影響するのか

平井志伸（東京都医学総合研究所・神経細胞分化プロジェクト 研究員）

(2017.3.17)

長年，完全な遺伝子疾患だと考えられてきた幾つかの疾患は，重症度やその発症のタイミングが環境によって大きく変化するという報告が相次いでいます。そして，統合失調症やうつ病を始めとする精神疾患は，環境要因の占める割合が，その発症に大きく影響することが近年証明されつつあります。私は，環境要因の中の“食”，さらにその中の“炭水化物の成分”に注目しました。精神疾患発症の遺伝要因と考えられている，遺伝子変異を有するマウスと“成分の異なる炭水化物を含む食”の組み合わせにより生ずる，行動，組織，生化学的変化を追いました。幾つかの異常は，環境要因と遺伝要因が重なった時のみ観察されたことから，“食”も今後考慮すべき重要な環境要因になるのではないかと考えます。

66. 脳の発達を制御する転写抑制因子 RP58

岡戸晴生（東京都医学総合研究所・神経細胞分化プロジェクト プロジェクトリーダー（副参事研究員））

(2017.3.17)

脳の発達過程において，神経細胞は，幹細胞から分化し，遊走，そして成熟します。その過程で様々な遺伝子発現の調節が行われています。われわれの注目している転写抑制因子 RP58 が，それらの各ステップに独立に必要であることが明らかとなり, RP58 は脳形成にきわめて重要な因子と考えられます。この RP58 が高次機能を量的に規定していること，大脳皮質の進化に関係する可能性についてお話したいと思います。

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 194 回（2016.4.27）
   演者：基盤神経科学研究領域　大脳神経回路論研究部門　窪田 芳之　准教授
   演題：大脳皮質の神経回路の構造

2. 第 195 回（2016.5.11）
   演者：基盤神経科学研究領域　生体恒常性発達研究部門　和氣 弘明　教授
   演題：グリアによる神経回路活動の時空間的制御機構

3. 第 196 回（2016.6.29）
   演者：システム脳科学研究領域　認知行動発達機構研究部門　西村 幸男　准教授
   演題：ブレインコンピューターインターフェイスによる機能再建

4. 第 197 回（2016.9.7）
   演者：行動・代謝分子解析センター 行動様式解析室　高雄 啓三　教授
   演題：遺伝子改変マウスの行動解析を起点とした精神疾患研究

5. 第 198 回（2016.10.12）
   演者：システム脳科学研究領域　統合生理研究部門　岡本 秀彦　准教授
   演題：ヒトにおける音信号処理

6. 第 199 回（2016.11.16）
   演者：生体機能調節研究領域　生殖・内分泌系発達機構研究部門　箕越 靖彦　教授
   演題：代謝センサー・AMP キナーゼによる食物選択行動の調節機構

7. 第 200 回（2016.12.14）
   演者：分子細胞生理研究領域　神経機能素子研究部門　久保 義弘　教授
   演題：イオンチャネル・受容体の機能と構造の動的側面

8. 第 201 回（2017.1.11）
   演者：統合バイオサイエンスセンター 生体制御シグナル研究部門 佐藤 幸治 特任准教授（プロジェクト）
   演題：化学感覚におけるシグナル伝達機構

9. 第 202 回（2017.2.1）
   演者：システム脳科学研究領域　認知行動発達機構研究部門　郷 康広　特任准教授
   演題：認知ゲノム科学 － ゲノム科学と脳科学の融合 －

10. 第 203 回（2017.3.1）
    演者：分子細胞生理研究領域　生体膜研究部門　深田 優子　准教授
    演題：てんかん関連リガンド受容体の機能と機能不全

生理学研究所年報　第３８巻

発　　行　　2017 年 12 月 25 日
編 集 者　　深　田　正　紀
発 行 者　　自然科学研究機構
生　理　学　研　究　所
〒444-8585　岡崎市明大寺町字西郷中 38
電話〈0564〉55-7700
FAX〈0564〉52-7913
URL：http://www.nips.ac.jp/
編集協力　　株式会社　エニウェイ
〒171-0014　東京都豊島区池袋 2-19-3
万葉ビル 2F
電話〈03〉3988-5656